



ŻYWNOŚĆ

Nauka Technologia Jakość

FOOD

Science Technology Quality

Nr 1 (104)

Kraków 2016

Rok 23

Redaktor naczelny: prof. nadzw. UR dr hab. Lesław Juszczyk; e-mail: rrjuszcz@cyf-kr.edu.pl; tel. 12 6624778

Zastępca redaktora naczelnego: dr hab. Mariusz Witczak; e-mail: rrwitcza@cyf-kr.edu.pl

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

Redaktorzy tematyczni: prof. dr hab. Grażyna Jaworska (żywność pochodzenia roślinnego), prof. dr hab. Danuta Kołożyn-Krajewska (mikrobiologia, bezpieczeństwo i higiena żywności), prof. dr hab. Krzysztof Krygier (technologia tłuszczów, żywność funkcjonalna), prof. dr hab. Irena Ozimek (zachowania konsumentów na rynku żywności), prof. dr hab. Mieczysław Pałasiński (technologia węglowodanów), prof. dr hab. Edward Pospiech (nauka o mięsie), dr hab. Anna S. Tarczyńska (mleczarstwo, 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)

Rada Naukowa: prof. dr hab. Tadeusz Sikora (przewodniczący), prof. dr hab. Barbara Baraniak, prof. dr hab. Nina Baryłko-Pikielna, prof. dr hab. Włodzimierz Bednarski, prof. dr hab. Janusz Czapski, prof. dr Henryk Daun (USA), prof. dr hab. Teresa Fortuna, prof. dr hab. Mariola Friedrich, prof. dr hab. Jan Gawęcki, prof. dr hab. Waldemar Gustaw, prof. dr Jerzy Jankun (USA), prof. dr hab. Agnieszka Kita, prof. dr Józef Korolczuk (Francja), prof. dr hab. Andrzej Lenart, prof. dr hab. Zdzisława Libudysz, prof. dr hab. Jan Oszmiański, prof. dr hab. Mariusz Piskula, prof. dr Jan Pokorny (Czechy), prof. dr Roman Przybylski (Kanada), prof. dr hab. Piotr Przybyłowski, prof. dr Antoni Rutkowski, prof. dr hab. Zdzisław E. Sikorski, dr Andrzej Sośnicki (USA), dr Alina Surmacka-Szcześniak (USA), prof. dr hab. Krzysztof Surówka, 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).

WYDAWCA: POLSKIE TOWARZYSTWO TECHNOLOGÓW ŻYWNOSCI WYDAWNICTWO NAUKOWE PTTŻ

W latach 1994-1999 wydawcą czasopisma był Oddział Małopolski PTTŻ

© *Copyright by Polskie Towarzystwo Technologów Żywności, Kraków 2016*
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

SKŁAD I DRUK:



Wydawnictwo Naukowe „Akapit”, Kraków

Tel. 608 024 572

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

ŻYWNOŚĆ. Nauka. Technologia. Jakość

Organ naukowy PTTŻ – dwumiesięcznik

Nr 1 (104)

Kraków 2016

Rok 23

SPIS TREŚCI

Od Redakcji.....	3
EWELINA POGORZELSKA, JADWIGA HAMUŁKA, AGATA WAWRZYŃIAK: Astaksantyna – budowa, właściwości i możliwości zastosowania w żywności funkcjonalnej.....	5
ELŻBIETA KLEWICKA, LIDIA LIPIŃSKA: Aktywność przeciwgrzybowa bakterii fermentacji mlekowej z rodzaju <i>Lactobacillus</i>	17
KATARZYNA SKRYPLONEK, MAŁGORZATA JASIŃSKA: Jakość fermentowanych napojów probiotycznych otrzymanych z mrożonej serwatki kwasowej i mleka w czasie chłodniczego przechowywania.....	32
JOANNA BARŁOWSKA, ZYGMUNT LITWIŃCZUK, PIOTR DOMARADZKI, ROBERT PASTUSZKA, ANNA WÓJCIK-SAGANEK: Wpływ sezonu na skład chemiczny i profil kwasów tłuszczowych mleka krowiego i koziego produkowanego w gospodarstwach ekologicznych.....	45
ANNA MILCZAREK, MARIA OSEK: Jakość mięsa świń rasy puławskiej żywionych mieszanką z udziałem bobiku niskotaninowego.....	57
ALDONA KAWĘCKA, EWA SOSIN-BZDUCHA, JACEK SIKORA: Ocena jakości tusz i mięsa jagniąt rodzimej owcy wrzosówki żywionych paszą z dodatkiem nasion lnu.....	68
BARBARA BIESIADA-DRZAZGA, DOROTA BANASZEWSKA, ANNA WERESZCZYŃSKA, ŁUKASZ OLEŃDZKI: Wpływ warunków przechowywania na wybrane cechy jaj pochodzących od kur rasy Zielononóżka kuropatwiana.....	79
MARIA SIELICKA, MARIA MAŁECKA: Znaczenie cech sensorycznych i fizykochemicznych w wyznaczaniu trwałości oleju lnianego tłoczonego na zimno.....	88
TOMASZ KRZYWIŃSKI, MAREK WIANECKI, GRZEGORZ TOKARCZYK, KATARZYNA FELISIAK, MARIUSZ SZYMCZAK: Wpływ dodatku mięsa z płoci na jakość i trwałość przekąsek mączno-rybnych.....	101
AGATA MARZEC, ARLETA MIESZKOWSKA, URSZULA STAŃCZYK: Wpływ czasu przechowywania w warunkach zamrażalniczych na teksturę chleba słonecznikowego z odroczonego wypieku.....	117
KATARZYNA MIKOŁAJCZYK-BATOR, DARIUSZ KIKUT-LIGAJ: Saponiny triterpenowe jako gorzkie składniki buraka ćwikłowego.....	128
KATARZYNA GAWEŁ-BĘBEN, KAMILA RYBCZYŃSKA, TOMASZ BUJAK, MONIKA KARAŚ, ANNA JAKUBCZYK, ZOFIA NIZIOŁ-ŁUKASZEWSKA: Wpływ rodzaju rozpuszczalnika na wybrane biologiczne właściwości ekstraktów z liści pietruszki zwyczajnej <i>Petroselinum crispum</i> (Mill).....	142
IRENEUSZ OCHMIAN, ANTON YORDANOV, KAMILA MIJOWSKA, PIOTR CHEŁPIŃSKI: Wpływ przechowywania owoców persymony (<i>Diospyros kaki</i>) w warunkach <i>shelf life</i> na wybrane cechy fizyczne i skład chemiczny.....	155
IZABELA POREBSKA, BARBARA SOKOŁOWSKA, ŁUCJA ŁANIEWSKA-TROKENHEIM: Wpływ ditlenku węgla w stanie nadkrytycznym na kiełkowanie i inaktywację przetrwalników <i>Alicyclobacillus acidoterrestris</i>	167
HENRYK KOSTYRA, ELŻBIETA KOSTYRA, DAGMARA ZŁOTKOWSKA: Chemia bionieorganiczna i bioorganiczna żywności.....	180
GRAŻYNA MORKIS: Problematyka żywnościowa w ustawodawstwie polskim i unijnym.....	183
LESŁAW JUSZCZAK: Nowe książki.....	186
TWÓRCY POLSKIEJ NAUKI O ŻYWNOŚCI.....	189
Z żałobnej karty Prof. dr hab. Barbara Szteke 1936-2015.....	192
Prof. dr hab. Zdzisław Targoński Doktorem Honoris Causa Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu.....	196
Technolog Żywności.....	199

Zamieszczone artykuły są recenzowane

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

FOOD. Science. Technology. Quality

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

No 1 (104)

Kraków 2016

Vol. 23

CONTENTS

From the Editor.....	3
EWELINA POGORZELSKA, JADWIGA HAMUŁKA, AGATA WAWRZY尼亚K: Astaxanthin – structure, properties, and application possibilities in functional food	5
ELŻBIETA KLEWICKA, LIDIA LIPIŃSKA: Antifungal activity of lactic acid bacteria of <i>Lactobacillus</i> genus..	17
KATARZYNA SKRYPLONEK, MAŁGORZATA JASIŃSKA: Quality of fermented probiotic beverages made from frozen acid whey and milk during refrigerated storage	32
JOANNA BARŁOWSKA, ZYGMUNT LITWIŃCZUK, PIOTR DOMARADZKI, ROBERT PASTUSZKA, ANNA WÓJCIK-SAGANEK: Impact of season on chemical composition and fatty acid profile of cow's and goat's milk produced in organic farms.....	45
ANNA MILCZAREK, MARIA OSEK: Meat quality of Pulawska breed pigs fed mixtures with low-tannin faba bean meal	57
ALDONA KAWĘCKA, EWA SOSIN-BZDUCHA, JACEK SIKORA: Evaluation of carcass and meat quality in native wrzosówka lambs fed linseed-supplemented diet	68
BARBARA BIESIADA-DRZAZGA, DOROTA BANASZEWSKA, ANNA WERESZCZYŃSKA, ŁUKASZ OLEŃDZKI: Effect of storage conditions on selected characteristics of eggs derived from green-legged partridge hens	79
MARIA SIELICKA, MARIA MAŁECKA: Role of sensory and physicochemical properties in determining shelf-life of cold-pressed flaxseed oil	88
TOMASZ KRZYWIŃSKI, MAREK WIANECKI, GRZEGORZ TOKARCZYK, KATARZYNA FELISIAK, MARIUSZ SZYMCZAK: Effect of added roach flesh on quality and shelf live of flour-and-fish snacks.....	101
AGATA MARZEC, ARLETA MIESZKOWSKA, URSZULA STAŃCZYK: Effect of storage under freezing conditions on texture of sunflower bread baked using bake-off technology	117
KATARZYNA MIKOŁAJCZYK-BATOR, DARIUSZ KIKUT-LIGAJ: Triterpene saponins as bitter components of beetroot.....	128
KATARZYNA GAWEŁ-BĘBEN, KAMILA RYBCZYŃSKA, TOMASZ BUJAK, MONIKA KARAŚ, ANNA JAKUBCZYK, ZOFIA NIZIOŁ-ŁUKASZEWSKA: Impact of solvent type on some selected biological properties of parsley <i>Petroselinum crispum</i> (Mill) leaf extracts	142
IRENEUSZ OCHMIAN, ANTON YORDANOV, KAMILA MIJOWSKA, PIOTR CHEŁPIŃSKI: Effect of storing persimmon (<i>Diospyros kaki</i>) fruits under shelf life conditions on selected physical parameters and chemical composition	155
IZABELA PORĘBSKA, BARBARA SOKOŁOWSKA, ŁUCJA ŁANIEWSKA-TROKENHEIM: Effect of supercritical carbon dioxide on inactivation and germination of <i>alicyclobacillus acidoterrestris</i> spores	167
HENRYK KOSTYRA, ELŻBIETA KOSTYRA, DAGMARA ZŁOTKOWSKA: Bioinorganic and bioorganic chemistry of food	180
GRAŻYNA MORKIS: Food problems in Polish and EU legislation	183
LESŁAW JUSZCZAK: Book reviews.....	186
Creators of the Polish food science.....	189
Contemporary Terms: Prof. dr hab. Barbara Szeke 1936-2015	192
Zdzisław Targoński Professor, Ph.D has been awarded a Doctor Honoris Causa (Dr. h.c.) degree by the Poznań University of Life Science.....	196
The Food Technologist.....	199

Only reviewed papers are published

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

OD REDAKCJI

Szanowni Państwo,

przejmując obowiązki Redaktora Naczelnego dwumiesięcznika **Żywność. Nauka. Technologia. Jakość**, pragnę serdecznie podziękować twórcy i wieloletniemu Redaktorowi Naczelnemu Panu Prof. dr hab. Tadeuszowi Sikorze za wieloletnią pracę i wysiłek włożony w organizację i rozwój naszego czasopisma, a zarazem za zaufanie jakim zostałem obdarzony, mogąc kontynuować realizację tego, tak ważnego dla naszego środowiska projektu. Równocześnie, licząc na wsparcie i pomoc, życzę Panu Profesorowi sukcesów i satysfakcji z dalszej pracy związanej z pełnieniem funkcji Przewodniczącego Rady Naukowej czasopisma.

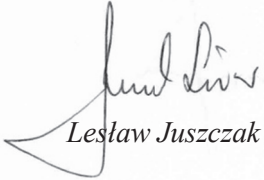
Przekazujemy Państwu nr **1 (104)** dwumiesięcznika *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, w którym zostały zamieszczone artykuły naukowe o zróżnicowanej tematyce, prezentujące wyniki badań z kilku krajowych ośrodków zajmujących się szeroko pojętą nauką o żywności. Również w bieżącym numerze czasopisma zamieszczamy szereg interesujących informacji w stałych działach.

W ostatnim numerze z 2015 roku zakończyliśmy druk 30-częściowego cyklu nt. „Interakcje składników żywności”. Pragniemy serdecznie podziękować Autorom, Panu Prof. Henrykowi Kostyrze oraz Pani Prof. Elżbiecie Kostyrze za pracę i czas poświęcony na przygotowanie materiałów i przekazanie tak interesującej wiedzy, równocześnie licząc na dalszą owocną współpracę przy tworzeniu kolejnego działu. Informujemy bowiem, że od bieżącego numeru rozpoczynamy publikowanie nowego cyklu nt. „Chemia bionieorganiczna i bioorganiczna żywności”, wyrażając jednocześnie nadzieję, że te syntetyczne opracowania będą dla naszych Czytelników interesujące.

Numer 1(104) jest pierwszym zeszytem w bieżącym roku, dlatego życzymy Państwu owocnej pracy i sukcesów w 2016 roku.

Kraków, luty 2015 r.

Redaktor Naczelnny



Lesław Juszcak

Wydział Biotechnologii i Nauk o Żywności Politechniki Łódzkiej
Instytut Technologii i Analizy Żywności
Instytut Podstaw Chemii Żywności
Polskie Towarzystwo Technologów Żywności – Oddział Łódzki
Sekcja Młodej Kadry Naukowej Polskiego Towarzystwa Technologów Żywności
Sekcja Chemii Żywności Polskiego Towarzystwa Chemicznego

zapraszają na:

XXI Sesję Naukową SMKN
„Żywność od A do Z”

oraz

V International Session of Young Scientific Staff

Łódź, 12-13 maja 2016

Informacje bieżące dotyczące Sesji zamieszczamy na stronie internetowej:

smkn2016.p.lodz.pl

Kontakt: dr inż. Elżbieta Karlińska; smkn2016@info.p.lodz.pl; tel: 42 631-27-74

EWELINA POGORZELSKA, JADWIGA HAMUŁKA, AGATA WAWRZYNIAK

ASTAKSANTYNA – BUDOWA, WŁAŚCIWOŚCI I MOŻLIWOŚCI ZASTOSOWANIA W ŻYWNOSCI FUNKCJONALNEJ

Streszczenie

Astaksantyna jest ksantofilem naturalnie występującym w przyrodzie. Nadaje charakterystyczne różowo-czerwone zabarwienie tkankom ryb, takim jak losoś i pstrąg, a także skorupom skorupiaków. Zwierzęta i ludzie nie przejawiają zdolności syntetyzowania astaksantyny *de novo*. Zdolność tę wykazują niektóre algi, drożdże, bakterie i rośliny. Dzięki budowie chemicznej astaksantyna charakteryzuje się silnymi właściwościami antyoksydacyjnymi. Jest uważana za jeden z najsilniejszych naturalnych antyoksydantów. Jak wynika z dotychczasowych badań, astaksantyna przyjmowana w dużych dawkach nie wykazuje właściwości prooksydacyjnych i toksycznych. Stąd też stosowana jest jako składnik suplementów diety, a ponadto jako dodatek do pasz dla ryb i, w mniejszym stopniu, dla drobiu. Coraz częściej znajduje również zastosowanie jako składnik żywności funkcjonalnej. W pracy przedstawiono szczegółową charakterystykę astaksantyny: jej budowę chemiczną, występowanie, bezpieczeństwo stosowania oraz możliwości jej zastosowania do produkcji żywności funkcjonalnej.

Słowa kluczowe: astaksantyna, występowanie, bezpieczeństwo stosowania, żywność funkcjonalna, suplementy diety

Wprowadzenie

Organizm człowieka narażony jest na działanie zarówno zewnętrznych, jak i wewnętrznych czynników prowadzących do zaburzenia równowagi prooksydacyjno-antyoksydacyjnej. Do obrony organizm wykorzystuje własny endogeny system antyoksydacyjny, jak również antyoksydanty pochodzące z pożywienia i/lub dostarczane w postaci suplementów diety [55]. Szczególną rolę w dostarczaniu z dietą substancji bioaktywnych o działaniu antyoksydacyjnym odgrywa żywność funkcjonalna. Rozwijający się rynek żywności funkcjonalnej zmusza producentów do poszukiwania nowych,

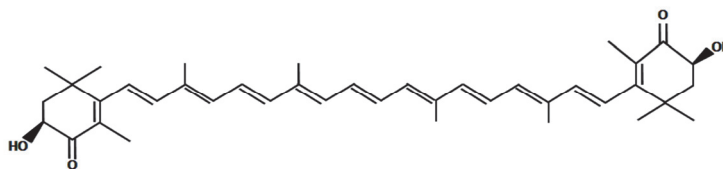
Mgr inż. E. Pogorzelska, Samodzielne Laboratorium Chemicznych Badań Żywności, dr hab. J. Hamułka, prof. nadzw., dr hab. A. Wawrzyniak, prof. nadzw., Katedra Żywienia Człowieka, Wdz. Nauk o Żywieniu Człowieka i Konsumpcji, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, ul. Nowoursynowska 159 C, 02-776 Warszawa. Kontakt: jadviga_hamułka@sggw.pl

alternatywnych komponentów bioaktywnych, spełniających z jednej strony oczekiwania konsumentów w zakresie pozytywnego oddziaływania na organizm, z drugiej zaś ze względu na bezpieczeństwo ich stosowania. Jednym z takich naturalnych komponentów jest astaksantyna. Właściwości fizykochemiczne oraz prozdrowotne tego związku czynią go atrakcyjnym składnikiem do zastosowania w przemyśle żywnościowym. Astaksantyna stała się przedmiotem licznych badań, zarówno o charakterze biotechnologicznym, jak i medycznym [16, 33, 49, 51, 57,59].

Celem pracy było przedstawienie aktualnej wiedzy na temat charakterystyki astaksantyny, bezpieczeństwa jej stosowania oraz prozdrowotnych właściwości astaksantyny, pożądanych w żywności funkcjonalnej i suplementach diety.

Astaksantyna – charakterystyka ogólna

Astaksantyna (3,3'-dihydroksy- β,β -karoten-4,4'-dion) jest substancją naturalnie występującą w przyrodzie, zaliczaną do ksantofili, tlenowych pochodnych karotenów [23, 24]. Strukturę chemiczną związku tworzy osiem jednostek izoprenowych, w których skład wchodzi 40 atomów węgla ($C_{40}H_{52}O_4$). Polienowy łańcuch węglowy zakończony jest z obydwu końców pierścieniami β -jononowymi, z których każdy ma w swojej strukturze jedną grupę ketonową i jedną grupę hydroksylową (rys. 1). Grupy te odpowiadają za większą stabilność oraz polarność astaksantyny w stosunku do innych znanych karotenoidów [24].



Rys. 1. Wzór strukturalny astaksantyny

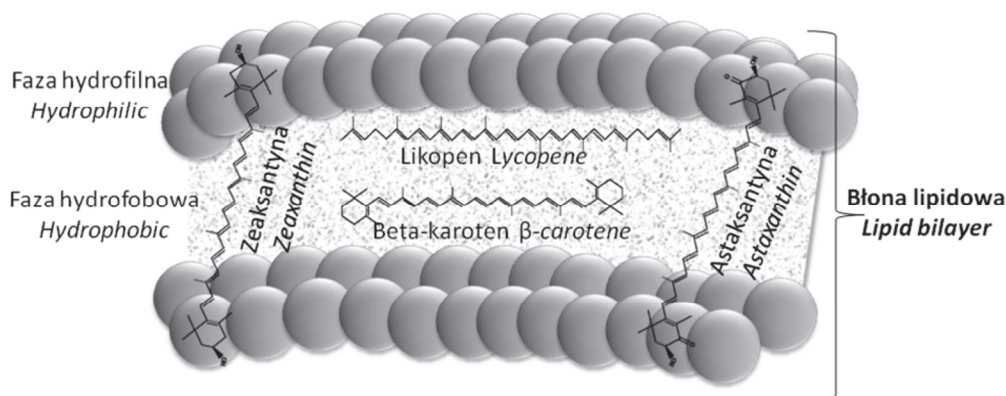
Fig. 1. Structural formula of astaxanthin

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

Udowodniono, że karotenoidy zawierające większą liczbę cząsteczek tlenu przy jednakowej liczbie wiązań podwójnych charakteryzują się większą fotostabilnością oraz większym potencjałem antyoksydacyjnym [11].

Budowa chemiczna astaksantyny odpowiada za jej właściwości, zarówno fizykochemiczne, jak i prozdrowotne. Hydrofobowy łańcuch węglowy zawierający 9 sprzężonych wiązań podwójnych i 2 niesprężone w pierścieniach β -jononowych odpowiada za wygaszanie reaktywnych form tlenu. Obecność tlenu w pierścieniach końcowych wpływa natomiast na właściwości hydrofilowe astaksantyny, przyczyniając się do neutralizacji wolnych rodników i innych substancji oksydacyjnych w środo-

wisku wodnym. Taka hydrofilowo-hydrofobowo-hydrofilowa struktura astaksantyny jest analogiczna do budowy błony komórkowej, co pozwala na jej rozmieszczenie poprzez całą jej szerokość, umożliwiając usuwanie wolnych rodników i reaktywnych form tlenu zarówno na powierzchni błony, jak i w jej wnętrzu – rys. 2 [20].



Rys. 2. Rozmieszczenie karotenoidów w lipidach błon komórkowych

Fig. 2. Distribution of carotenoids in lipid membranes

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

Astaksantyna charakteryzuje się większą odpornością na działanie światła i wysokiej temperatury w stosunku do pozostałych karotenoidów oraz swobodnym, szybkim przekraczaniem bariery krew-mózg w organizmach zwierząt [4].

Wolna, niezwiązana astaksantyna jest związkiem o barwie czerwonobrunatnej, za którą odpowiada układ sprzężonych wiązań podwójnych w łańcuchu węglowym [6] i została zakwalifikowana do grupy barwników oznaczonych symbolem E161j wg alfanumerycznego systemu oznaczeń UE.

Biosynteza i naturalne źródła występowania astaksantyny

Organizmy wyższe nie wykazują zdolności syntetyzowania astaksantyny *de novo*, jednak drogą pokarmową mogą ją gromadzić, nadając czerwone zabarwienie różnym narządom, najczęściej jednak mięśniom. Zwierzęta, takie jak: skorupiaki (krewetki, homary), niektóre gatunki ryb (łosoś, pstrąg) oraz flamingi swoją barwę zawdzięczają właśnie astaksantynie [10, 60].

Biosynteza astaksantyny ogranicza się jedynie do niektórych gatunków zielonych alg, drożdży, bakterii Gram-ujemnych oraz roślin. Wartość przemysłową mają jedynie nieliczne z nich [8]. Biosynteza astaksantyny rozpoczyna się szklakiem przemian, na skutek których powstaje β -karoten, wspólny prekursor wszystkich ksantofili. Proces ten zachodzi przy udziale czterech enzymów: (i) syntazy pirofosforanu geranylogera-

nylu (GGPP), (ii) syntazy fitoenu, (iii) desaturazy fitoenu, oraz (iv) cykazy likopenu. Następnie β -karoten, pod wpływem ketalazy β -karotenu oraz hydroksylazy β -karotenu, zostaje przekształcony do astaksantyny, przy czym przemiany te mogą przebiegać różnymi szlakami biochemicznymi [1].

Najbogatszym, naturalnym źródłem astaksantyny są algi *Haematococcus pluvalis* [21, 23]. W warunkach optymalnego wzrostu produkcja astaksantyny dochodzi do 3,0 % suchej masy. Ze względu na duże zapotrzebowanie przemysłu farmaceutycznego na naturalną astaksantynę stosuje się szereg metod poprawiających efektywność produkcji tego karotenoidu, nawet do 4,0 % suchej masy [9]. W tym celu do środowiska rozwoju alg wprowadza się szereg czynników stresogennych, takich jak: ograniczenie/eliminacja składników odżywczych [9], duże stężenie soli [49], wysokie natężenie światła [26], dodatek octanu sodu z żelazem [27]. Dodatkowo, w przypadku hodowli z wykorzystaniem lamp o niebieskiej barwie światła zwiększa się proces produkcji astaksantyny nawet do 7,0 % suchej masy [29].

Alternatywnym, naturalnym źródłem astaksantyny są algi *Chlorella zofingensis* [16]. Wytwarzają mniejsze ilości astaksantyny niż algi *Haematococcus pluvalis*, jednak rosną szybciej i kumulują znaczne ilości astaksantyny nawet w warunkach braku oświetlenia.

Kolejnym znaczącym źródłem naturalnej astaksantyny stanowią drożdże *Xanthophyllomyces dendrorhous*. Są one znacznie łatwiejsze w hodowli niż algi [50], a ponadto astaksantyna z nich pozyskana występuje głównie w formie wolnej [23]. Tak otrzymana astaksantyna jest szczególnie cenna dla hodowców akwakultur, ponieważ ryby w większym stopniu przyswajają astaksantynę w postaci wolnej niż w postaci związanej z estrami [54]. Skłoniło to naukowców do badań nad intensyfikacją astaksantyny również w drożdżach, m.in. poprzez zastosowanie medium z dodatkiem ksylozy oraz naświetlaniem drożdży światłem o różnym natężeniu [52].

Istotnym źródłem astaksantyny, wykorzystywanym do jej pozyskiwania w skali przemysłowej, są odpady poprodukcyjne ze skorupiaków (pancerzyki). Astaksantyna z tego źródła jest mieszaniną formy wolnej oraz związanej z estrami. W przypadku pancrzyków skorupiaków koszt surowca do produkcji astaksantyny jest niewielki. Problemem jest natomiast ekstrakcja, gdyż zbyt wysoka temperatura procesu prowadzi do rozkładu tego karotenoidu. Wprowadza się więc technologię ekstrakcji za pomocą rozpuszczalników organicznych, która pozwala na uzyskanie astaksantyny bez podwyższania temperatury [5].

Astaksantyna – główne źródła w diecie ludzi

Głównym źródłem astaksantyny w diecie ludzi są ryby i owoce morza. Najwięcej astaksantyny zawierają owoce morza, w tym langusta – aż 15 mg/100 g, kraby – 12 mg/100 g, krewetki – 3 ÷ 15 mg/100 g [23], natomiast wśród ryb – łosoś i pstrąg

różowy odpowiednio: 0,44 i 0,28 mg/100 g [18]. Wartości te mogą się jednak różnić od faktycznej zawartości astaksantyny w rybach, gdyż w Dyrektywie UE 2316/98 z dnia 29 października 1998 roku [61] dopuszczono stosowanie astaksantyny jako dodatku do pasz dla ryb. W Polsce dopuszczono stosowanie astaksantyny na podstawie Rozporządzenia Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z 2003 r. [62] w ilości 100 mg czystej astaksantyny/kg suchej paszy lub jej mieszanki z kantaksantyną, a jej ilość również nie może przekroczyć 100 mg/kg suchej paszy.

W hodowli drobiu i bydła zaczęto w ostatnich latach stosować pasze wzbogacone w astaksantynę w celu poprawy barwy jaj i mleka. Zjawisko to nie jest powszechne, dlatego w literaturze przedmiotu brak jest danych określających ilości astaksantyny w tych produktach finalnych oraz dotyczących spożycia tego karotenoidu z ww. produktami. Mimo obecności astaksantyny w niektórych rybach i owocach morza, nie odgrywa ona większej roli jako źródło tego składnika z uwagi na małą konsumpcję ryb, a przede wszystkim – owoców morza. Dobrym źródłem astaksantyny w diecie człowieka mogą być natomiast suplementy diety. Z analizy dotyczącej warszawskiego rynku farmaceutycznego, przeprowadzonej w 2012 roku [47], wynika, że spożycie suplementów z astaksantyną wzrosło trzykrotnie w stosunku do roku 2009 [22].

Wchłanianie i metabolizm astaksantyny

Astaksantyna, podobnie jak i inne karotenoidy, podlega przemianom w organizmie. Po spożyciu i strawieniu pokarmu w nabłonku jelita cienkiego dochodzi do hydrolizy estrów astaksantyny i jej uwolnienia [41]. Następnie astaksantyna tworzy, wraz z monoglicerydami i wolnymi kwasami tłuszczowymi, w obecności soli kwasów żółciowych, agregaty umożliwiające utrzymanie ich w wodzie w postaci roztworu micelnarnego. Następnie drogą dyfuzji biernej w obecności małej ilości tłuszczu [14], trzustkowej fosfolipazy A i lizofosfatydylocholiny astaksantyna zostaje zaabsorbowana do enterocytów, w których zostaje włączona do chylomikronów, a te są następnie wchłaniane do limfy [56]. W takiej postaci astaksantyna transportowana jest do wątroby, w której nie jest zamieniana w witaminę A, ale wiąże się z poszczególnymi lipoproteinami. W organizmie człowieka najwięcej astaksantyny występuje w połączeniu z lipoproteinami VLDL (36 ÷ 64 %), z lipoproteinami LDL (29 %) i HDL (24 %) [15, 43]. Z wątroby astaksantyna jest przenoszona wraz z krwią do poszczególnych tkanek organizmu i pełni w nich różne funkcje biologiczne [4, 44].

Prozdrowotne właściwości astaksantyny

Właściwości astaksantyny wynikają z 4 głównych obszarów jej działania, tj. antyoksydacyjnego, przeciwzapalnego, przeciwnowotworowego oraz immunomodulacyjnego.

Astaksantyna zaliczana jest do grupy naturalnych antyoksydantów wykazujących silne zdolności reagowania z reaktywnymi formami tlenu i azotu. Naguib [38] wykazał największą aktywność antyoksydacyjną astaksantyny (1,4), mierzoną ilością usuniętych nadtlenu w stosunku do pozostałych badanych związków, takich jak: kwas 6-hydroksy-2,5,7,8-tetrametylochromo-2-karboksylowy (1,0), α -tokoferol (0,9), α -karoten (0,5), likopen i luteina (0,4) oraz β -karoten (0,2). Silny potencjał antyoksydacyjny astaksantyny wykazano również wobec rodników guazynowych [17]. Wykazuje ona także zdolność stymulacji organizmu do zwiększenia aktywności enzymów antyoksydacyjnych [40, 48].

Właściwości przeciwzapalne astaksantyny są ściśle związane z jej właściwościami antyoksydacyjnymi [21]. Astaksantyna, redukując poziom cytokin prozapalnych w neutrofilach stymulowanych lipopolisacharydami, poprawia ich zdolności fagocytarne, pojemność bakterioobójczą oraz redukuje ilość produkowanego przez nie nadtlenu wodoru i anionu ponadtlenkowego [33]. Wykazuje właściwości hamujące proces powstawania mediatorów prozapalnych poprzez blokowanie aktywności syntazy tlenu azotu (iNOS) oraz cyklooksygenazy-2 (COX-2) lub poprzez blokowanie rozpadu iNOS oraz COX-2, regulując procesy zapalne. Ponadto wykazano, że astaksantyna redukuje opuchliznę będącą wynikiem procesów zapalnych zachodzących w organizmie oraz zmniejsza ilość białka C-reaktywnego (CRP), markera chronicznych stanów zapalnych [19].

Karotenoidy, w tym również astaksantyna, wykazują zdolność hamowania wzrostu nowotworów [3, 7]. Palloza i wsp. [44] dowiedli, że astaksantyna nie tylko hamuje rozwój powstałych komórek rakowych okrężnicy, ale również inicjuje proces apoptozy tych komórek. Z kolei Jyonouchi i wsp. [25] stwierdzili wzrost stymulacji komórek odpornościowych zaangażowanych w walkę ze zmutowanymi komórkami po podaniu astaksantyny. Podobne wyniki uzyskali Nakano i wsp. [39]. Z kolei u mysz, którym wszczepiono komórki raka sutka, a następnie podano astaksantynę, odnotowano wzrost w osoczu naturalnych komórek zabójców oraz poziomu interferonu γ [31]. W tym przypadku właściwości przeciwnowotworowe wynikały z właściwości immunomodulacyjnych tego związku. W ostatnich latach wykazano, że astaksantyna ze względu na swoje właściwości, zwłaszcza antyoksydacyjne i przeciwzapalne, może odgrywać istotną rolę w prewencji i/lub leczeniu wielu chorób, w tym chorób układu krążenia, nowotworów, cukrzycy oraz chorób oczu [13, 23, 36, 45, 59].

Bezpieczeństwo stosowania

Decyzją Agencji ds. Żywności i Leków (FDA) z 13.03.1995 roku astaksantyna została dopuszczona w Stanach Zjednoczonych do stosowania jako dodatek do pasz dla ryb w ilości nieprzekraczającej 80 mg/kg paszy. Stosowanie astaksantyny jest też

możliwe w Kanadzie, Japonii i w Europie. W Unii Europejskiej dodatek astaksantyny do pasz nie może przekraczać 100 mg czystego związku na kilogram paszy.

W celu oceny toksyczności astaksantyny przeprowadzono liczne badania na zwierzętach oraz z udziałem ludzi. W badaniu z udziałem 20 zdrowych mężczyzn, którym podawano astaksantynę w dawce 6 mg dziennie, nie stwierdzono żadnych skutków ubocznych [36]. Działań niepożądanych nie wykazano również w badaniach grupy osób ze zwyrodnieniem plamki żółtej (AMD), którym podawano astaksantynę w ilości 4 mg przez 12 miesięcy [45] oraz grupy mężczyzn w średnim wieku po podaniu jednorazowej dawki tego ksantofilu w ilości 100 mg [43].

Badania na zwierzętach, którym podawano jednorazowo kilkanaście, a nawet kilkadziesiąt razy większe dawki astaksantyny niż w badaniach z udziałem ludzi, sięgające 12 g/kg m.c., nie wykazały negatywnego wpływu tak dużej ilości astaksantyny na ich zdrowie.

Astaksantyna jest stosunkowo szybko usuwana z organizmu, a średni okres półtrwania wynosi do 52 h [15]. W badaniach na szczurach nie zaobserwowano zwiększonej koncentracji astaksantyny w osoczu, nawet w przypadkach długotrwałej suplementacji trwającej 90 dni [53]. Katabolizm astaksantyny zachodzi bez fazy długiego jej przechowywania w tkankach, stąd można wnioskować, że nie jest ona kumulowana w nadmiarze w organizmach ludzi i zwierząt [46].

Możliwości zastosowania astaksantyny w żywności funkcjonalnej

Astaksantyna charakteryzuje się trzema właściwościami, które stanowią o jej unikalnym działaniu bioaktywnym: (i) jest bardzo silnym przeciwutleniaczem [34, 35], (ii) jest bezpieczna nawet w przypadku stosowania dużych dawek [34, 53], a (iii) jej rozmieszczenie w błonie komórkowej pozwala na pełnienie funkcji antyoksydacyjnej zarówno na powierzchni, jak i we wnętrzu komórki [20]. Właściwości te nadają astaksantynie status związku o charakterze prozdrowotnym [57], co umożliwia jej zastosowanie do produkcji żywności funkcjonalnej.

Karotenoid ten jest z powodzeniem stosowany w hodowli drobiu jako dodatek do pasz, wzmacniający barwę mięśni oraz żółtek jaj, jak również przeciwdziałający utlenianiu tłuszczów [58]. W ostatnich latach wykazano również korzyści ze stosowania astaksantyny jako dodatku do pasz w hodowli świń. Stwierdzono bowiem, że dodatek tego karotenoidu wpływał korzystnie na trwałość różowej barwy mięsa, kojarzonej przez konsumentów z atrybutem świeżości [12]. Kolejnym przykładem zastosowania astaksantyny jest jej wykorzystanie do produkcji funkcjonalnego oleju słonecznikowego. Stwierdzono, że dodatek astaksantyny hamuje proces utleniania kwasów tłuszczowych [51]. W niektórych krajach, np. w Indiach, trwają badania nad zastosowaniem dodatku alg zawierających astaksantynę do produkcji funkcjonalnych makaronów [28].

Zainteresowanie wielu ośrodków badawczych astaksantyną, jako dodatkiem do żywności funkcjonalnej, potwierdzają składane wnioski patentowe. W ostatnim czasie zgłoszono kilka patentów dotyczących zastosowania astaksantyny do produkcji żywności innowacyjnej. Dotyczyły one m.in. wypieków z ciasta zawierającego w swoim składzie astaksantynę [42], napojów z dodatkiem astaksantyny [30] oraz mieszanki paszowej dla świń [37].

Ograniczeniem stosowania astaksantyny jako dodatku do żywności na szerszą skalę jest jej zmienna stabilność, natura hydrofobowa, a także zróżnicowana biodostępność, uzależniona od składu surowca, z którym jest przyjmowana. Astaksantyna jest najbardziej stabilna w produktach o niskim pH, takich jak soki owocowe, a jej biodostępność wzrasta w produktach z dużą zawartością białek oraz tłuszczu, takich jak mleko. Największym ograniczeniem jest jednak brak możliwości zastosowania astaksantyny w produktach wodnych, dlatego naukowcy pracują nad opracowaniem metody nanodispersji astaksantyny w roztworach wodnych, co umożliwiłoby zastosowanie astaksantyny w szerszym zakresie [2].

Podsumowanie

Astaksantyna to jeden z najsilniejszych naturalnych antyoksydantów należących do grupy ksantofili, hydroksylowych pochodnych karotenów, zaliczanych do grupy naturalnych barwników (E161j). Właściwości astaksantyny wynikające z jej działania antyoksydacyjnego, przeciwzapalnego, przeciwnowotworowego i immunomodulacyjnego oraz to, że można ją bezpiecznie stosować spowodowały wzrost zainteresowania tym karotenoidem wielu ośrodków naukowych oraz producentów żywności. Wielokierunkowe właściwości astaksantyny wynikają z jej budowy chemicznej. Dzięki obecności sprzężonych wiązań podwójnych w łańcuchu węglowym oraz grup tlenowych w pierścieniach β -jononowych astaksantyna wykazuje zdolność eliminowania wolnych rodników oraz reaktywnych form tlenu i azotu, zarówno wewnątrz błony komórkowej, jak również na jej powierzchni. Astaksantyna nie ulega konwersji do witaminy A, nie jest kumulowana w organizmie. Dotychczas nie określono maksymalnej dawki, jaka może być stosowana bez wystąpienia skutków ubocznych, stąd też astaksantyna uznawana jest za bezpieczną, a podawana w dużych ilościach (nawet do 19 mg) nie stwarza zagrożenia dla życia i zdrowia ludzi oraz zwierząt. Obecnie stosuje się ją powszechnie jako dodatek do pasz dla ryb oraz drobiu, jak również jako substancję bioaktywną w suplementach diety dla ludzi oraz coraz częściej do produkcji żywności funkcjonalnej.

Literatura

- [1] Alvarez V., Rofríguez-Sáiz M., De la Fuente J.L., Gudiña E.J., Godio R.P., Martín J.F., Barredo J.L.: The crtS gene of *Xanthophyllomyces dendrorhous* encodes a novel cytochrome P-450 hydroxylase involved in the conversion of beta-carotene into astaxanthin and other xanthophylls. *Fungal Genet. Biol.*, 2006, **43**, 261-272.
- [2] Anarjan N., Tan C.P.: Chemical stability of astaxanthin nanodispersions in orange juice and skimmed milk as model food systems. *Food Chem.*, 2013, **139**, 527-531.
- [3] Anderson M.L.: A preliminary investigation of the enzymatic inhibition of 5 α -reduction and growth of prostatic carcinoma cell line LNCap-FGC by natural astaxanthin and saw palmetto lipid extract *in vitro*. *J. Herb. Pharmacother.*, 2005, **5** (1), 17-26.
- [4] Aoi W., Naito Y., Sakuma K., Kuchide M., Tokuda H., Maoka T., Toyokuni S., Oka S., Yasuhara M., Yoshikawa T.: Astaxanthin limits exercise-induced skeletal and cardiac muscle damage in mice. *Antioxid. Redox Signaling*, 2003, **5** (1), 139-144.
- [5] Armenta-López R., Guerrero I.L., Huerta S.: Astaxanthin extraction from shrimp waste by lactic fermentation and enzymatic hydrolysis of the carotenoprotein complex. *J. Food Sci.*, 2002, **67** (3), 1002-1006.
- [6] Bartalucci G., Coppin J., Fisher S., Hall G., Helliwell J.R., Helliwell M., Liaan-Jensen S.: Unravelling the chemical basis of the bathochromic shift in the lobster carapace; new crystal structures of unbound astaxanthin, cathaxanthin and zeaxanthin. *Acta Cryst.*, 2007, **63** (2), 328-337.
- [7] Bertram J.S., Vine A.L.: Cancer prevention by retinoids and carotenoids: Independent action on a common target. *Biochim. Biophys. Acta*, 2005, **1740** (2), 170-178.
- [8] Bhosale P.: Environmental and cultural stimulants in the production of carotenoids from microorganisms. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 2004, **63** (4), 351-361.
- [9] Boussiba S., Bing W., Yuan J.P., Zarka A., Chen F.: Changes in pigments profile in the green alga *Haematococcus pluvialis* exposed to environmental stresses. *Biotechnol. Lett.*, 1999, **21** (7), 601-604.
- [10] Britton G., Liaaen-Jensen S., Pfander H.: Carotenoids today and challenges for the future. Carotenoids. In: Isolation and Analysis. T. IA. Eds. G. Britton, S. Liaaen-Jensen, H. Pfander. Birkhauser Verlag, Basel, Switzerland, 1995, pp. 13-26.
- [11] Camera E., Mastrofrancesco A., Fabbri C., Daubrawa F., Picardo M., Sies H., Stahl W.: Astaxanthin, cantaxanthin and β -carotene differently affect UVA-induced oxidative damage and expression of oxidative stress-responsive enzymes. *Exp. Dermatol.*, 2009, **18** (3), 222-231.
- [12] Carr C.C., Johnson D.D., Brendemuhl J.H., Gonzalez J.M.: Fresh pork quality and shelf-life characteristics of meat from pigs supplemented with natural astaxanthin in the diet. *Prof. Anim. Sci.*, 2010, **26** (1), 18-25.
- [13] Chew W., Mathison B.D., Kimble L.L., Mixter P.F., Chew B.P.: Astaxanthin decreases inflammatory biomarkers associated with cardiovascular disease in human umbilical vein endothelial cells. *Am. J. Adv. Food Sci. Technol.*, 2013, **1**, 1-17.
- [14] Clark R.M., Yao L., She L., Furr H.C.: A comparison of lycopene and astaxanthin absorption from corn oil and olive oil emulsions. *Lipids*, 2000, **35** (7), 803-806.
- [15] Coral-Hinostroza G.N., Ytrestøyl T., Ruyter B., Bjerkeng B.: Plasma appearance of unesterified astaxanthin geometrical E/Z and optical R/S isomers in men given single doses of a mixture of optical 3 and 3'R/S isomers of astaxanthin fatty acyl diesters. *Comp. Biochem. Physiol. Part C Toxicol. Pharmacol.*, 2004, **139**, 99-110.
- [16] Del Campo J.A., Rodriguez H., Moreno J., Vargas M.A., Rivas J., Guerrero M.G.: Accumulation of astaxanthin and lutein in *Chlorella zofingiensis* (Chlorophyta). *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 2004, **64**, 848-854.
- [17] Edge R., Gaikwad P., Navaratnam S., Rao B.S., Truscott T.G.: Reduction of oxidized guanosine by dietary carotenoids: A pulse radiolysis study. *Arch. Biochem. Biophys.*, 2010, **504**, 100-103.
- [18] Elmadfa I., Muskat E.: Wielkie tabele kalorii i wartości odżywczych. Wyd. Muza S.A., Warszawa 2011.

- [19] Genest J.: C-reactive protein: Risk factor, biomarker and/or therapeutic target? *Can. J. Cardiol.*, 2010, **26**, 41A-44A.
- [20] Goto S., Kogure K., Abe K., Kimata Y., Yamashita E., Terada H.: Efficient radical trapping at the surface and inside the phospholipid membrane is responsible for highly potent antioxidative activity of the carotenoid astaxanthin. *Biochem. Biophys. Acta.*, 2001, **1512** (2), 251-258.
- [21] Guerin M., Huntley M.E., Olaizola M.: *Haematococcus* astaxanthin: Applications for human health and nutrition. *Trends Biotechnol.*, 2003, **21** (5), 210-216.
- [22] Hamulka J., Wawrzyniak A.: Karotenoidy w suplementach diety. *Probl. Hig. Epidemiol.*, 2011, **92** (1), 67-72.
- [23] Higuera-Ciapara I., Félix-Valenzuela L., Goycoolea F.M.: Astaxanthin: A review of its chemistry and applications. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, 2006, **46** (2), 185-196.
- [24] Jackson H., Braun C.L., Ernest H.: The chemistry of novel xanthophyll carotenoids. *Am. J. Cardiol.*, 2008, **101** (10A), 50D-57D.
- [25] Jyonouchi H., Sun S., Iijima K., Gross M.D.: Antitumor activity of astaxanthin and its mode of action. *Nutr. Cancer.*, 2000, **36** (1), 59-65.
- [26] Kabayashi M., Kakizono T., Nagai S.: Astaxanthin production by a green alga, *Haematococcus pluvialis* accompanied with morphological changes in acetate media. *J. Ferment. Bioeng.*, 1991, **71** (5), 335-339.
- [27] Kabayashi M., Kakizono T., Nagai S.: Enhanced carotenoid biosynthesis by oxidative stress in acetate-induced cyst cells of a green unicellular alga *Haematococcus pluvialis*. *Appl. Environ. Microbiol.*, 1993, **59** (3), 867-873.
- [28] Kadam S.U., Parabhasankar P.: Marine foods as functional ingredients in bakery and pasta products. *Food Res. Int.*, 2010, **43** (8), 1975-1980.
- [29] Katsuda T., Shiraishi H., Ishizu N., Ranjbar R., Katoh S.: Effect of light intensity and frequency of flashing light from blue light emitting diodes on astaxanthin production by *Haematococcus pluvialis*. *J. Biosci. Bioeng.*, 2008, **105** (3), 216-220.
- [30] Kopsel C.: Pulverulent carotenoid preparation for colouring drinks. Patent US20100267838, 21.10.2010.
- [31] Kurihara H., Koda H., Asami S., Kiso Y., Tanaka T.: Contribution of the antioxidative property of astaxanthin to its protective effect on the promotion of cancer metastasis in mice treated with restraint stress. *Life Sci.*, 2002, **70** (21), 2509-2520.
- [32] List of authorized additives in feedingstuffs published in application of article 9(t) b of Council Directive 70/524/EEC concerning additives in feedingstuffs. OJEC, C 50/1. 25.02.2004.
- [33] Macedo R.C., Bolin A.P., Marin D.P., Otton R.: Astaxanthin addition improves human neutrophils function: In vitro study. *Eur. J. Nutr.*, 2010, **49** (8), 447-457.
- [34] Martin H.D., Ruck C., Schmidt M., Sell S., Beutner S., Mayer B., Walsh R.: Chemistry of carotenoid oxidation and free radical reactions. *Pure Appl. Chem.*, 1999, **71** (12), 2253-2262.
- [35] Miki W.: Biological functions and activities of animal carotenoids. *Pure Appl. Chem.*, 1991, **63** (1), 141-146.
- [36] Miyawaki H., Takahashi J., Tsukahara H., Takehara I.: Effects of astaxanthin on human blood rheology. *J. Clin. Biochem. Nutr.*, 2008, **43** (2), 69-74.
- [37] Monahan P., Hiu S.: Agent for improving carcass performance in finishing hogs. Patent US20120253078, 04.10.2012.
- [38] Naguib Y.M.A.: Antioxidant activities of astaxanthin and related carotenoids. *J. Agric. Food Chem.*, 2000, **48** (8), 1150-1154.
- [39] Nakano M., Onodera A., Saito E., Tanabe M., Yajima K., Takahashi J., Ngyuen V.C.: Effect of astaxanthin in combination with alpha-tocopherol or ascorbic acid against oxidative damage in diabetic ODS rats. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, 2008, **54** (4), 329-334.
- [40] Nishigaki I., Rajendran P., Venugopal R., Ekambaran G., Sakthisekaran D., Nishigaki Y.: Cytoprotective role of astaxanthin against glycated protein/iron chelate-induced toxicity in human umbilical vein endothelial cells. *Phyther. Res.*, 2010, **24**, 54-59.

- [41] Odeberg J.M., Lignell Å., Len Pattersson A., Höglund P.: Oral bioavailability of the antioxidant astaxanthin in humans is enhanced by incorporation of lipid based formulations. *Eur. J. Pharm. Sci.*, 2003, **19** (4), 299-304.
- [42] Ooi Y., Kitamura A., Yamashita E.: Baked food produced from astaxanthin containing dough. Patent US20130108764, 02.05.2013.
- [43] Østerlie M., Bjerkeng B., Liaaen-Jensen S.: Plasma appearance and distribution of astaxanthin E/Z and R/S isomers in plasma lipoproteins of men after single dose administration of astaxanthin. *J. Nutr. Biochem.*, 2000, **11** (10), 482-490.
- [44] Palloza P., Torelli C., Boninsegna A., Simone R., Catalano A., Mele M.C., Picci N.: Growth-inhibitory effects of the astaxanthin-rich alga *Haematococcus pluvialis* in human colon cancer cells. *Cancer Lett.*, 2009, **283** (1), 108-117.
- [45] Parisi V., Tedeschi M., Gallinaro G., Varano M., Saviano S., Piermarocchi S.: Carotenoids and antioxidants in age-related maculopathy italian study: Multifocal electroretinogram modifications after 1 year. *Ophthalmology*, 2008, **115** (2), 324-333.
- [46] Petri D., Lundebye A.K.: Tissue distribution of astaxanthin in rats following exposure to graded levels in the feed. *Comp. Biochem. Physiol. Part C Toxicol. Pharmacol.*, 2007, **145** (2), 202-209.
- [47] Pogorzelska E., Hamulka J.: Analiza rynku suplementów diety z astaksantyną w Polsce. *Handel Wewnętrzny*, 2013, **4**, 107-115.
- [48] Ranga Rao A., Raghunath Reddy R.L., Baskaran V., Sarada R., Ravishankar G.A.: Characterization of microalgal carotenoids by mass spectrometry and their bioavailability and antioxidant properties elucidated in rat model. *J. Agric. Food Chem.*, 2010, **58** (15), 8553-8559.
- [49] Sarada R., Tripathi U., Ravishankar G.A.: Influence of stress on astaxanthin production in *Haematococcus pluvialis* grown under different culture conditions. *Process Biochem.*, 2002, **37** (6), 623-627.
- [50] Stachowiak B., Czarnecki Z.: Drożdże *Phaffia rhodozyma* jako potencjalne źródło naturalnej astaksantyny. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2006, **47** (2), 17-28.
- [51] Stachowiak B., Gramza-Michałowska A., Nowak J., Reguła J.: Potencjał przeciwutleniający ekstraktów karotenoidów pozyskanych z mutantów drożdży *Phaffia rhodozyma* w emulsji kwasu linolowego. *Probl. Hig. Epidemiol.* 2011, **92** (4), 890-893.
- [52] Stachowiak B.: Astaxanthin synthesis by *Xanthophyllomyces dendrorhous* DSM 5626 and its astaxanthin overproducing mutants on xylose media under different illumination. *Acta Sci. Pol., Technol. Aliment.*, 2014, **13** (3), 279-288
- [53] Stewart J.S., Lignell A., Pettersson A., Elfving E., Soni M.G.: Safety of astaxanthin-rich microalgae biomass: Acute and subchronic toxicity studies in rats. *Food. Chem. Toxicol.*, 2008, **46** (9), 3030-3036.
- [54] White D.A., Page G.I., Swaile J., Moody A.J., Davies S.J.: Effect of esterification on the absorption of astaxanthin in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *Aquacult. Res.*, 2002, **33** (5), 343-350.
- [55] Valko M., Rhodes C.J., Moncol J., Izkovic M., Mazur M.: Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chem. Biol. Interact.*, 2006, **160** (1), 1-40.
- [56] Van Het Hof K.H., West C.E., Weststrate J.A., Hautvast J.G.A.J.: Dietary factors that affect the bioavailability of carotenoids. *J. Nutr.*, 2000, **130** (3), 503-506.
- [57] Yamashita E.: Astaxanthin as a medical food. *FFHD*, 2013, **7** (3), 254-258.
- [58] Yang Y.X., Kim Y.J., Jin Z., Lohakare J.D., Kim C.H., Ohh S.H., Lee S.H., Choi J.Y., Chae B.J.: Effects of dietary supplementation of astaxanthin on production performance, egg quality in layers and meat quality in finishing pigs. *AJAS*, 2006, **19** (7), 1019-1025.
- [59] Yang Y., Kim B., Lee J.Y.: Astaxanthin structure, metabolism, and health benefits. *J. Hum. Nutr. Food Sci.*, 2013, **1**, 1003:1-11.
- [60] Zagalsky P.F.: β -crustacyanin, the blue-purple carotenoprotein of lobster carapace: Consideration of the bathochromic shift of the protein-bound astaxanthin. *Acta. Crystallog.*, 2003, **D59** (8), 1529-1531.
- [61] Commission Regulation (EC) No 2316/98 of 26 October 1998 concerning authorisation of new additives and amending the conditions for authorisation of a number of additives already authorised in feedingstuffs. *Dz.U. UE L 289 z 28.10.1998.*

- [62] Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju wsi z dnia 8.01.2003 r. w sprawie wykazu produktów, które do dnia 26 października 2003 r. mogą być wytwarzane i wprowadzane do obrotu bez uprzedniego ich wpisania do odpowiedniego rejestru produktów. Dz. U. 2003 r. Nr 29, poz. 243.

ASTAXANTHIN – STRUCTURE, PROPERTIES, AND APPLICATION POSSIBILITIES IN FUNCTIONAL FOOD

S u m m a r y

Astaxanthin is a naturally occurring xanthophyll. It gives the tissues of fish, such as salmon or trout, as well as the shells of crustaceans a characteristic pink-red colour. Animals and people do not have the ability to synthesize astaxanthin *de novo*. Some algae, yeast, bacteria, and plants possess this ability. Owing to its chemical structure, astaxanthin is characterized by strong antioxidant properties. It is considered one of the most powerful natural antioxidants. Scientific studies carried out so far have proven that astaxanthin, if taken in large doses, does not exhibit any prooxidative and toxic properties. Hence, astaxanthin is used as an ingredient in dietary supplements and, moreover, as a feed additive for fish and, to a lesser extent, for poultry. More and more frequently, it is also applied as a functional food component. The paper presents a detailed characterization of astaxanthin in terms of its chemical structure, occurrence, application safety, and potential applications thereof to produce functional food.

Key words: astaxanthin, occurrence, safety, functional food, dietary supplements 

ELŻBIETA KLEWICKA, LIDIA LIPIŃSKA

AKTYWNOŚĆ PRZECIWGRZYBOWA BAKTERII FERMENTACJI MLEKOWEJ Z RODZAJU *LACTOBACILLUS*

Streszczenie

Jedną z metod ochrony żywności fermentowanej przed bytującymi w niej niepożądanymi mikroorganizmami jest zastosowanie bakterii mlekowych jako naturalnych biokonserwantów. Szczególnie korzystna jest obecność bakterii fermentacji mlekowej (LAB) w żywności. Oprócz spodziewanej aktywności antibakteryjnej i przeciwgrzybowej LAB cechują się korzystnym wpływem na organizm człowieka poprzez stymulowanie przewodu pokarmowego do zapobiegania zakażeniom pokarmowym i poprawę ogólnego stanu zdrowia. Spektrum aktywności przeciwgrzybowej bakterii z rodzaju *Lactobacillus*, która jest głównym przedmiotem niniejszej publikacji, wynika z syntezy metabolitów o właściwościach przeciwgrzybowych: pierwotnych – kwas mlekowy i kwas octowy oraz wtórnych – inne kwasy organiczne, cykliczne dipeptydy, kwasy tłuszczowe i ich hydroksylowane pochodne, związki niskocząsteczkowe, bakteriocyny, nadtlenek wodoru. Zdolność do syntezy powyższych związków nie jest cechą wszystkich bakterii z rodzaju *Lactobacillus*, a jedynie cechą szczepową pojedynczych kultur. Z tego względu poszukuje się szczepów bakterii mlekowych o szerokim spektrum aktywności antagonistycznej wobec grzybów, a także sposobów rozszerzenia tej aktywności, np. przez dobór optymalnych warunków fermentacji czy modyfikację składu podłoża i tym samym zmianę metabolizmu bakterii.

Słowa kluczowe: aktywność przeciwgrzybowa, antagonizm, *Lactobacillus* sp., metabolity LAB

Wprowadzenie

Fermentacja mlekowa jest jedną z najstarszych metod ochrony żywności przed niepożądaną mikroflorą. Bakterie mlekowe z rodzaju *Lactobacillus* stosowane są podczas spontanicznego i/lub kontrolowanego procesu fermentacji. Bakterie z rodzaju *Lactobacillus* należą do typu *Firmicutes*, rzędu *Lactobacillales* i ze względu na wytwarzanie kwasu mlekowego w procesie fermentacji są zaliczane do bakterii mlekowych. Występują w glebie, na roślinach, należą do komensalnej mikroflory człowieka i zwie-

Dr hab. inż. E. Klewicka, mgr inż. L. Lipińska, Instytut Technologii Fermentacji i Mikrobiologii, Wydz. Biotechnologii i Nauk o Żywności, Politechnika Łódzka, ul. Wólczańska 171/173, 90-924 Łódź. Kontakt: elzbieta.klewicka@p.lodz.pl

rząt oraz są składnikiem żywności fermentowanej, a ich obecność wywiera wpływ na cechy żywności, takie jak: konsystencja, zapach i smak [28]. Pod względem morfologicznym bakterie z rodzaju *Lactobacillus* to Gram dodatnie pałeczki o wymiarach $0,5 \div 1,2/1,0 \div 10,0 \mu\text{m}$. Występują w środowisku bogatym w składniki odżywcze o niewielkim stężeniu tlenu.

Dane literaturowe wskazują, że zakres hamowania wzrostu mikroorganizmów przez szczepy bakterii z rodzaju *Lactobacillus* obejmuje zarówno bakterie tego samego i innego gatunku, jak i grzyby, także gatunki patogenne i toksynotwórcze [2, 20]. Spektrum aktywności antagonistycznej bakterii mlekowych jest zróżnicowane i związane z obecnością takich metabolitów, jak kwas mlekowy i kwas octowy, nadtlenek wodoru, diacetyl czy bakteriocyny. Związki te powodują hamowanie wzrostu przede wszystkim mikroorganizmów spokrewnionych, głównie tego samego rodzaju oraz innych bakterii. W przypadku drożdży i pleśni aktywność antagonistyczna bakterii z rodzaju *Lactobacillus* jest ograniczona, jednak w ostatnich latach prowadzonych jest coraz więcej badań w tym zakresie. Do kluczowych metabolitów o aktywności przeciugrzybowej, produkowanych przez bakterie mlekowe, zaliczane są m.in. związki o małej masie molekularnej, hydroksylowane kwasy tłuszczowe, kwas fenylomlekowy, cykliczne dipeptydy.

Aktywność antagonistyczna bakterii z rodzaju *Lactobacillus*

Mechanizm aktywności antagonistycznej bakterii z rodzaju *Lactobacillus* jest ściśle związany z syntezą specyficznych produktów hamujących wzrost niepożądaną mikroflory, dlatego istotne jest poznanie zakresu właściwości przeciugrzybowych poszczególnych szczepów bakterii mlekowych. Zakres ten przedstawiono w tab. 1. Na podstawie zestawienia można stwierdzić, że aktywność przeciugrzybowa bakterii z rodzaju *Lactobacillus* jest cechą szczepową [21], wynikającą ze specyficznej interakcji między szczepem bakteryjnym a szczepem wskaźnikowym. Niektóre bakterie z rodzaju *Lactobacillus* mają szerokie spektrum hamowania wzrostu grzybów. Szczególnie odporne na działanie związków produkowanych przez bakterie mlekowe są drożdże, w szczególności chorobotwórcze szczepy *Candida* sp. [17]. Niemniej niektóre szczepy bakterii mlekowych (*L. acidophilus*, *L. rhamnosus* GR-1 i *L. fermentum* RC-14) hamują wzrost drożdży *Candida albicans* oraz ograniczają ich adherencję do nabłonka pochwy [17]. Zróżnicowanie aktywności przeciugrzybowej bakterii z rodzaju *Lactobacillus* zaobserwowali Fhoula i wsp. [18], którzy badali aktywność przeciugrzybową 119 szczepów bakterii mlekowych, spośród których szczep *Lactobacillus plantarum* AB755639 wykazał silną inhibicję grzybów *Botrytis cinerea* oraz *Penicillium expansum*, natomiast słabo hamował wzrost *Verticillium dahliae* i nie wykazał aktywności przeciugrzybowej w stosunku do pleśni *Aspergillus niger*.

Mechanizm aktywności antagonistycznej bakterii *Lactobacillus*

Mechanizm aktywności antagonistycznej bakterii *Lactobacillus* nie jest dokładnie poznany. Przypuszcza się, że polega on na zmianie warunków środowiska pod wpływem wytwarzania kwasów organicznych i innych metabolitów niekorzystnych dla wzrostu grzybów. Do takich czynników środowiskowych należą: temperatura, pH, skład podłoża, przy których bakterie mlekowe wytwarzają produkty o aktywności przeciwrzybowej i przeciwbakteryjnej.

Produkty metabolizmu bakterii *Lactobacillus* sp. o aktywności przeciwrzybowej

Bakterie z rodzaju *Lactobacillus* wytwarzają podczas fermentacji mlekowej metabolity pierwotne oraz wtórne. Niektóre z nich wykazują właściwości przeciwbakteryjne i przeciwrzybowe, zwykle skierowane wobec specyficznej grupy mikroorganizmów. Przykładem jest *Lactobacillus casei* AST18 wytwarzający kwasy: mlekowy (93,70 g·l⁻¹), winowy (9,59 g·l⁻¹), cytrynowy (1,29 g·l⁻¹), octowy (2,42 g·l⁻¹) oraz związki potencjalnie przeciwrzybowe: cyklo-(Leu-Pro), 2,6-difenylopiperydyna oraz 5,10-dietoksy-2,3,7,8-tetrahydro-1*H*,6*H*-dipirolo[1,2-*a*;1',2'-*d*]pirazyna [32]. Powyższe metabolity, działając synergistycznie (razem), są zdolne do hamowania wzrostu pleśni *Penicillium* sp. Kolejnym przykładem szczepu o aktywności przeciwdrobnoustrojowej jest *Lactobacillus curvatus* A61, który wytwarza bakteriocyny ograniczające wzrost grzybów *Cladosporium* sp. i *Fusarium* sp. oraz bakterii *Bacillus cereus* i *Listeria monocytogenes* [1].

Tabela 1. Spektrum aktywności przeciwrzybowej bakterii z rodzaju *Lactobacillus*
Table 1. Spectrum of antagonistic activity of bacteria of the genus *Lactobacillus*

Gatunek bakterii Species of bacteria	Szczep hamowany / Inhibited strain
<i>L. casei</i>	<i>P. expansum</i> , <i>A. flavus</i> , <i>B. cinerea</i> , <i>C. gloeosporioides</i> [9], <i>F. oxysporum</i> [58], <i>C. albicans</i> [40], <i>A. niger</i> , <i>Penicillium</i> sp., <i>F. graminearum</i> , <i>G. citri-aurantii</i> , <i>P. digitatum</i> [19], <i>P. expansum</i> , <i>M. plumbeus</i> , <i>K. lactis</i> , <i>P. anomala</i> [16], <i>Penicillium</i> sp. [32, 33], <i>P. chrysogenum</i> [34], <i>F. latenicum</i> , <i>M. hiemalis</i> , <i>A. niger</i> , <i>A. ochraceus</i> , <i>C. mycoderma</i> , <i>A. alternata</i> , <i>G. candidum</i> [29], <i>A. fumigatus</i> , <i>A. flavus</i> , <i>F. moniliforme</i> , <i>P. commune</i> , <i>R. oryzae</i> [25], <i>A. niger</i> , <i>A. fumigatus</i> , <i>E. floccosum</i> , <i>M. canis</i> [21]
<i>L. fermentum</i>	<i>P. expansum</i> , <i>A. flavus</i> , <i>B. cinerea</i> , <i>C. gloeosporioides</i> [9], <i>A. niger</i> , <i>Penicillium</i> sp., <i>F. graminearum</i> , <i>G. citri-aurantii</i> , <i>P. digitatum</i> [19], <i>A. terreus</i> , <i>A. fumigatus</i> , <i>A. corymbifera</i> , <i>P. lilacinus</i> , <i>Fusarium</i> sp., <i>S. brevicaulis</i> , <i>C. lunata</i> , <i>C. albicans</i> , <i>Penicillium</i> sp. [24]
<i>L. rhamnosus</i>	<i>P. expansum</i> , <i>A. flavus</i> , <i>B. cinerea</i> , <i>C. gloeosporioides</i> [9], <i>A. niger</i> , <i>Penicillium</i> sp., <i>F. graminearum</i> , <i>G. citri-aurantii</i> , <i>P. digitatum</i> [19], <i>P. expansum</i> , <i>M. plumbeus</i> , <i>K. lactis</i> , <i>P. anomala</i> [16], <i>D. hansenii</i> , <i>R. mucilaginosus</i> , <i>P. brevicompactum</i> [15], <i>C. albicans</i> [30, 40]

Gatunek bakterii Species of bacteria	Szczep hamowany / Inhibited strain
<i>L. reuteri</i>	<i>P. expansum</i> , <i>A. flavus</i> , <i>B. cinerea</i> , <i>C. gloeosporioides</i> [9], <i>C. albicans</i> [30], <i>A. niger</i> , <i>Penicillium</i> sp., <i>F. graminearum</i> , <i>Geotrichum citri-aurantii</i> , <i>P. digitatum</i> [19], <i>A. niger</i> , <i>A. fumigatus</i> , <i>M. gypseum</i> , <i>E. floccosum</i> , <i>M. canis</i> [21]
<i>L. sakei</i>	<i>P. expansum</i> , <i>A. flavus</i> , <i>B. cinerea</i> , <i>C. gloeosporioides</i> [9] <i>A. fumigatus</i> , <i>A. flavus</i> , <i>F. moniliforme</i> , <i>P. commune</i> , <i>R. oryzae</i> [25] <i>A. fumigatus</i> , <i>F. sporotrichioides</i> , <i>R. mucilaginosa</i> [36]
<i>L. acidophilus</i>	<i>P. expansum</i> , <i>A. flavus</i> , <i>B. cinerea</i> , <i>C. gloeosporioides</i> [9], <i>A. niger</i> , <i>Penicillium</i> sp., <i>F. graminearum</i> , <i>Geotrichum citri-aurantii</i> , <i>P. digitatum</i> [19], <i>F. sporotrichioides</i> [36], <i>Penicillium</i> sp. [13], <i>C. albicans</i> [40], <i>F. latenicum</i> , <i>M. hiemalis</i> , <i>A. niger</i> , <i>A. ochraceus</i> , <i>C. mycoderma</i> , <i>A. alternata</i> , <i>G. candidum</i> [26]
<i>L. harbinensis</i>	<i>P. expansum</i> , <i>D. hansenii</i> , <i>P. Roquefortii</i> [6], <i>Y. lipolytica</i> [14] <i>R. mucilaginosa</i> , <i>P. brevicompactum</i> [15]
<i>L. brevis</i>	<i>A. niger</i> , <i>Penicillium</i> sp., <i>F. graminearum</i> , <i>Geotrichum citri-aurantii</i> , <i>P. digitatum</i> [19], <i>F. culmorum</i> , <i>F. avenaceum</i> , <i>F. poae</i> , <i>F. tricinctum</i> , <i>F. graminearum</i> [37] <i>A. fumigatus</i> , <i>M. gypseum</i> , <i>M. gypseum</i> , <i>E. floccosum</i> , <i>M. canis</i> [21], <i>A. awamori</i> , <i>P. claviforme</i> , <i>A. niger</i> , <i>A. flavus</i> , <i>Trichoderma viride</i> , <i>F. graminearum</i> [56]
<i>L. curvatus</i>	<i>A. niger</i> , <i>Penicillium</i> sp., <i>F. graminearum</i> , <i>G. citri-aurantii</i> , <i>P. digitatum</i> [19] <i>A. fumigatus</i> , <i>A. flavus</i> , <i>F. moniliforme</i> , <i>P. commune</i> , <i>R. oryzae</i> [25]
<i>L. bulgaricus</i>	<i>A. niger</i> , <i>Penicillium</i> sp., <i>F. graminearum</i> , <i>G. citri-aurantii</i> , <i>P. digitatum</i> [19]
<i>L. collinoides</i>	<i>A. niger</i> , <i>Penicillium</i> sp., <i>F. graminearum</i> , <i>G. citri-aurantii</i> , <i>P. digitatum</i> [19]
<i>L. paracasei</i>	<i>F. proliferatum</i> , <i>F. graminearum</i> , <i>P. crustosum</i> , <i>A. candidus</i> [23]
<i>L. pentosus</i>	<i>A. fumigatus</i> , <i>A. flavus</i> , <i>F. moniliforme</i> , <i>P. commune</i> [25]
<i>L. arizonensis</i>	<i>M. gypseum</i> , <i>E. floccosum</i> , <i>M. canis</i> [21]
<i>L. zaeae</i>	<i>R. mucilaginosa</i> , <i>P. brevicompactum</i> , <i>P. expansum</i> [15]
<i>L. helveticus</i>	<i>C. albicans</i> [36]
<i>L. hammesii</i>	<i>A. niger</i> , <i>M. plumbeus</i> [7]
<i>L. lactis</i>	<i>A. fumigatus</i> , <i>A. flavus</i> , <i>F. moniliforme</i> , <i>P. commune</i> , <i>R. oryzae</i> [25], <i>A. niger</i> , <i>A. fumigatus</i> , <i>Penicillium</i> sp. [42]
<i>L. plantarum</i>	<i>P. expansum</i> , <i>A. flavus</i> , <i>B. cinerea</i> , <i>C. gloeosporioides</i> [9] <i>A. niger</i> , <i>A. flavus</i> , <i>A. oryzae</i> , <i>F. oxysporum</i> [51], <i>F. oxysporum</i> [58] <i>P. expansum</i> , <i>P. digitatum</i> , <i>R. stolonifer</i> , <i>P. notatum</i> , <i>P. roqueforti</i> , <i>F. culmorum</i> , <i>A. fumigatus</i> , <i>R. mucilaginosa</i> [10, 11], <i>P. notatum</i> , <i>P. commune</i> , <i>P. expansum</i> , <i>P. digitatum</i> , <i>P. verrucosum</i> , <i>P. roqueforti</i> , <i>A. nidulans</i> , <i>D. hansenii</i> , <i>R. mucilaginosa</i> , <i>R. glutinis</i> [46], <i>A. niger</i> , <i>Penicillium</i> sp., <i>F. graminearum</i> , <i>G. citri-aurantii</i> , <i>P. digitatum</i> [19], <i>P. expansum</i> , <i>M. plumbeus</i> , <i>K. lactis</i> , <i>P. anomala</i> [16], <i>G. boninense</i> , <i>C. albicans</i> [31], <i>Borytis</i> sp, <i>A. niger</i> , <i>C. cladosporioides</i> , <i>P. roqueforti</i> [64], <i>A. flavus</i> , <i>A. parasiticus</i> [51], <i>P. digitatum</i> , <i>P. citrinum</i> [59], <i>A. flavus</i> [62] <i>A. fumigatus</i> , <i>A. petrakii</i> , <i>A. ochraceus</i> , <i>A. nidulans</i> , <i>E. nigrum</i> , <i>C. gossypicola</i> , <i>P. roqueforti</i> [61], <i>A. niger</i> , <i>F. graminearum</i> , <i>F. graminearum</i> , <i>F. culmorum</i> , <i>F. oxysporum</i> [12], <i>A. nidulans</i> [61], <i>Penicillium</i> sp. [52] <i>A. clavatus</i> , <i>A. oryzae</i> , <i>B. elliptica</i> , <i>S. vaccinii</i> , <i>A. fumigatus</i> , <i>A. niger</i> , <i>S. fusca</i> [57] <i>P. expansum</i> , <i>B. cinerea</i> [20], <i>P. commune</i> , <i>P. solitum</i> , <i>A. versicolour</i> , <i>C. herbarum</i> [8], <i>A. fumigatus</i> , <i>A. nidulans</i> , <i>F. sporotrichioides</i> , <i>P. commune</i> , <i>Rhodotorula mucilaginosa</i> [36], <i>P. roqueforti</i> , <i>P. commune</i> , <i>A. nidulans</i> , <i>A. fumigatus</i> , <i>K. marxianus</i> , <i>R. mucilaginosa</i> , <i>P. anomala</i> [51], <i>F. sporotrichioides</i> , <i>A. fumigatus</i> , <i>K. marxianus</i> [54], <i>B. cinerea</i> , <i>G. cingulata</i> , <i>P. drechsleri</i> , <i>P. citrinum</i> , <i>P. digitatum</i> , <i>F. oxysporum</i> [60], <i>A. terreus</i> , <i>A. fumigatus</i> , <i>A. corymbifera</i> , <i>P. lilacinus</i> , <i>Fusarium</i> sp., <i>S. brevicaulis</i> , <i>C. lunata</i> , <i>C. albicans</i> , <i>Penicillium</i> sp. [24]

Gatunek bakterii Species of bacteria	Szczep hamowany / Inhibited strain
<i>L. mali</i>	<i>A. niger</i> , <i>Penicillium sp.</i> , <i>F. graminearum</i> , <i>G. citri-aurantii</i> , <i>P. digitatum</i> [19]
<i>L. paracasei</i>	<i>A. niger</i> , <i>Penicillium sp.</i> , <i>F. graminearum</i> , <i>G. citri-aurantii</i> , <i>P. digitatum</i> [19]
<i>L. coryniformis</i>	<i>A. niger</i> , <i>Penicillium sp.</i> , <i>F. graminearum</i> , <i>G. citri-aurantii</i> , <i>P. digitatum</i> [19] <i>P. expansum</i> , <i>M. plumbeus</i> , <i>K. lactis</i> , <i>P. anomala</i> [16], <i>A. fumigatus</i> , <i>A. nidulans</i> , <i>F. sporotrichioides</i> , <i>P. commune</i> , <i>R. mucilaginosa</i> [36], <i>Cerinosterus sp.</i> , <i>Cladosporium sp.</i> , <i>Penicillium sp.</i> , <i>R. oryzae</i> , <i>A. flavus</i> , <i>E. fibuliger</i> [13]
<i>L. buchneri</i>	<i>P. expansum</i> , <i>M. plumbeus</i> , <i>K. lactis</i> , <i>P. anomala</i> [16]
<i>L. perolens</i>	<i>P. expansum</i> , <i>M. plumbeus</i> , <i>K. lactis</i> , <i>P. anomala</i> [16]
<i>L. delbrueckii</i>	<i>P. expansum</i> , <i>M. plumbeus</i> , <i>K. lactis</i> , <i>P. anomala</i> [16]
<i>L. salivarius</i>	<i>P. expansum</i> , <i>M. plumbeus</i> , <i>K. lactis</i> , <i>P. anomala</i> [16], <i>A. nidulans</i> , <i>F. sporotrichioides</i> , <i>P. commune</i> , <i>R. mucilaginosa</i> [36]
<i>L. amylovorus</i>	<i>A. fumigatus</i> , <i>F. culmorum</i> , <i>A. niger</i> , <i>P. expansum</i> , <i>P. roqueforti</i> [4, 35, 47], <i>P. expansum</i> , <i>F. culmorum</i> , <i>A. niger</i> [6], <i>Cerinosterus sp.</i> , <i>Cladosporium sp.</i> , <i>E. fibuliger</i> , <i>Penicillium sp.</i> , <i>R. oryzae</i> [13]

Kwasy organiczne

Wszystkie szczepy bakterii z rodzaju *Lactobacillus* wytwarzają kwasy będące metabolitami pierwszorzędowymi (kwas mlekowy i octowy), natomiast niektóre z nich dodatkowo wytwarzają inne kwasy organiczne, oddziałujące specyficznie z obcą mikroflorą, takie jak: propionowy, heksanowy, salicylowy, bursztynowy, mrówkowy, 2-pirolidono-5-karboksyłowy, 3-fenylomlekowy, 4-hydroksyfenylomlekowy (metabolity wtórne, II-rzędowe) [5, 36, 38]. Wiadomo, że aktywność biologiczna kwasów organicznych jest związana z obniżeniem pH medium. Niezdysocjowana, bardziej hydrofobowa forma kwasu dyfunduje przez membranę komórkową i wewnątrz komórki ulega dysocjacji, uwalniając jony wodorowe, które zwiększają kwasowość cytoplazmy. Co więcej, niezdisocjowane kwasy zmniejszają elektrochemiczny gradient protonów w komórce, wywołując efekt bakteriostatyczny [49]. Kwasy octowy i propionowy są wytwarzane przez heterofermentatywne szczepy bakterii mlekowych w obecności zewnętrznych akceptorów elektronów. Kwas octowy wytwarzany jest zwykle w znacznie większej ilości niż propionowy, natomiast kwas propionowy oraz jego sole wykazują efekt przeciwrzybowy w środowisku o niskim pH, często w obecności kwasu mlekowego [49].

Produktem wytwarzanym przez bakterie z rodzaju *Lactobacillus*, któremu przypisuje się wysoką aktywność przeciwrzybową, jest kwas 3-fenylomlekowy (PLA). PLA jest produkowany przez liczne szczepy bakterii z rodzaju *Lactobacillus*, m.in. *L. casei*, *L. fermentum*, *L. rhamnosus*, *L. reuteri*, *L. sakei* [36, 39]. Hamowanie wzrostu grzybów związane z obecnością kwasów organicznych potwierdzili Cortés-Zavaleta i wsp. [9], którzy zidentyfikowali w supernatancie po fermentacji mlekowej kwasy: octowy,

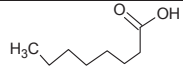
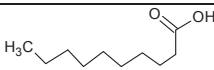
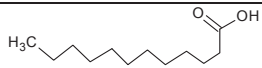
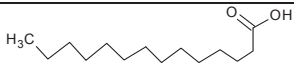
heksanowy i PLA. Minimalne stężenie hamujące (MIC) PLA wobec badanych grzybów wskaźnikowych wynosiło od $5 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ (*Colletotrichum gleosporoides*) do $6,0 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ (*Aspergillus flavus*) i wzrastało w szeregu: *C. gleosporoides* < *B. cinerea* < *P. expansum* < *A. flavus*. Przeciwwgrzybowe właściwości PLA potwierdzono także w badaniach antagonizmu *L. plantarum* IMAU10014 [60]. PLA wykazał inhibicję wobec grzybów: *P. drechsleri* Tucker, *G. cingulate*, *B. cinerea*, *P. citrinum*, *P. digitatum*, przy czym najbardziej wrażliwe na jego obecność okazały się *F. oxysporum* oraz *P. drechsleri* Tucker, natomiast najmniej wrażliwy – *P. citrinum*. Podobne oddziaływanie wobec badanych grzybów wykazał kwas benzenooctowy, drugi związek przeciwwgrzybowy wyizolowany z *L. plantarum* IMAU10014 [60]. Mu i wsp. [38] zaobserwowali, że bakterie *Lactobacillus* sp. SK007 oprócz PLA wytwarzają także kwas 4-hydroksyfenylomlekowy, wykazujący potencjalny efekt przeciwwgrzybowy wobec *A. niger* i *P. roqueforti*. Belguesmia i wsp. [5] badali aktywność przeciwwgrzybową kwasów organicznych wytwarzanych przez *Lactobacillus harbinensis* K.V9.3.1Np. Wykazali oni, że ilość wytwarzanych kwasów organicznych była zależna od czasu trwania fermentacji, prowadzonej przez 3, 7 bądź 9 dni. Oszacowali, że wybrany szczep produkuje kwasy: octowy i heksanowy (po 7 i 9 dniach), mlekowy, L-(-)-fenylomlekowy, 2-pirolidyno-5-karboksyłowy i bursztynowy (po 3, 7 i 9 dniach). Aktywność antagonisticzna mieszanin wymienionych kwasów wskazała, że obecność kwasu heksanowego była czynnikiem determinującym aktywność antagonistyczną wszystkich badanych mieszanin kwasów wobec grzybów: *D. hansenii* UBOCC-A-211003, *P. expansum* CBS 325 45 NT oraz *P. roqueforti* UBOCC-A-112138 [5]. Podobne doświadczenie przeprowadzili Guo i wsp. [21], którzy zidentyfikowali metabolity wytwarzane przez *L. reuteri* i hamujące wzrost grzybów *M. canis*, *M. gypseum* i *E. floccosum*, wykorzystując metodę LC-FTMS (ang. *Liquid Chromatography Fourier Transform Mass Spectrometry*). Oprócz kwasu mlekowego wyizolowali bardziej złożone kwasy organiczne o aktywności przeciwwgrzybowej: (S)-(-)-2-hydroksyizokaprynowy, hydrocynamonowy, fenylomlekowy, azelainowy, 4-hydroksybezoesowy, p-kumarynowy, wanilinowy, DL-P-hydroksyfenylomlekowy oraz 3-hydroksydekanowy.

Kwasy tłuszczowe i ich pochodne

Kwasy tłuszczowe oraz hydroksylowane kwasy tłuszczowe, produkowane przez niektóre szczepy bakterii mlekowych, są związkami o silnej aktywności antagonistycznej wobec drożdży i pleśni [36]. Kwasom tłuszczowym przypisuje się mniejszą rolę w hamowaniu wzrostu grzybów niż hydroksylowanym kwasom tłuszczowym, co może mieć związek z potencjalnymi właściwościami cytotoksycznymi kwasów tłuszczowych wobec komórek nabłonka [3, 43, 53]. Kwasy: kaprylowy, kaprynowy, laurynowy, mirystynowy (tab. 2) hamują wzrost niektórych szczepów drożdży *Candida* sp. (gatunki: *C. albicans*, *C. parapsilosis*, *C. famata*, *C. glabrata*, *C. lipolytica*, *C. tropicalis*).

lis) [53]. Minimalne stężenie hamujące badanych kwasów tłuszczowych znajduje się w zakresie od 0,3 g·l⁻¹ (kwas kaprynowy) do powyżej 2,5 g·l⁻¹ (kwas mirystynowy).

Tabela 2. Kwasy tłuszczowe o właściwościach przeciwgrzybowych
Table 2. Fatty acids having antifungal properties

Nazwa / Name	Wzór chemiczny Chemical formula	Struktura / Structure
Kwas kaprylowy / Caprylic acid	C ₈ H ₁₆ O ₂	
Kwas kaprynowy / Capric acid	C ₁₀ H ₂₀ O ₂	
Kwas laurynowy / Lauric acid	C ₁₂ H ₂₄ O ₂	
Kwas mirystynowy / Miristic acid	C ₁₄ H ₂₈ O ₂	

Źródło: / Source: [53]

Pierwszym opisanym w literaturze przykładem przeciwgrzybowych właściwości hydroksylowanych kwasów tłuszczowych były produkty fermentacji mlekowej szczepu *L. plantarum* MiLAB 14 [51]. Zaobserwowano, że aktywność biologiczna kwasów tłuszczowych wzrasta wraz z długością łańcucha, jednak po osiągnięciu długości 10 - 11 węgli zostaje ograniczona ze względu na małą rozpuszczalność długołańcuchowych kwasów tłuszczowych w wodzie. Najsilniejsze właściwości przeciwgrzybowe wykazują 3-hydroksylowane kwasy tłuszczowe, zawierające 12 atomów węgla w łańcuchu [51]. Minimalne stężenie hamujące (MIC) badanych 3-hydroksylowanych kwasów tłuszczowych: 3-(R)-hydroksydekanowego, 3-hydroksy-5-cis-dodecenowego, 3-(R)-hydroksydodekanowego i 3-(R)-hydroksytetradekanowego wyniosło od 0,01 g·l⁻¹ do powyżej 0,1 g·l⁻¹. Było ono porównywalne z MIC amfoterycyny B, antybiotyku przeciwgrzybowego wytwarzanego naturalnie przez bakterie *Streptomyces* sp. Zaobserwowano, że drożdże wykazują większą wrażliwość na obecność hydroksylowanych kwasów tłuszczowych niż pleśń [36, 51].

W badaniach szczepów *L. sanfranciscensis* oraz *L. hammesii* wykazano, że wytwarzają one izomery 18-węglowych kwasów tłuszczowych, zawierające od 0 do 3 grup hydroksylowych oraz od 0 do 3 wiązań podwójnych. Przeważającą część stanowiły monohydroksylowe kwasy tłuszczowe, z których największe znaczenie miał izomer o wzorze C₁₈H₃₃O₃ [7]. Minimalne stężenie hamujące dihydroksylowanych oraz trihydroksylowanych kwasów tłuszczowych wyniosło powyżej 20 g·l⁻¹, natomiast MIC najbardziej efektywnej frakcji monohydroksylowych kwasów tłuszczowych wyizolowanych z *L. hammesii* oraz kwasu (R)-13-hydroksy-cis-9,trans-11-oktadekadienowego

oszacowano jako $0,7 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ – *A. niger* oraz $0,1 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ – *P. roqueforti*. MIC kwasu rycynolowego w stosunku do *A. niger* wyniosło $2,4 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$, a kwasy: oleinowy, stearynowy oraz nasycone tłuszczowe nie wykazały aktywności przeciwgrzybowej [7].

Bakteriocyny

Bakteriocyny są peptydami syntetyzowanymi rybosomalnie, wykazującymi aktywność przeciwdrobnoustrojową [65]. Są związkami o właściwościach kationowych, zbudowanymi z 20 ÷ 50 aminokwasów i składającymi się z dwóch części: hydrofobowej oraz hydrofilowej [49]. Cechują się znaczną aktywnością przeciwbakteryjną oraz ograniczonymi właściwościami przeciwgrzybowymi względem wąskiej grupy drożdży i pleśni. Oprócz bakteriocyn wyizolowanych ze szczepu *Lactobacillus curvatus* A61, ograniczających wzrost *Cladosporium* sp. i *Fusarium* sp. [1], niewiele jest doniesień literaturowych na temat inhibicji wzrostu grzybów przez inne bakteriocyny wytwarzane przez bakterie *Lactobacillus* sp. Bakteriocyny wykazują najsilniejsze działanie antagonistyczne wobec gatunków spokrewnionych, czego przykładem jest plantarycyna ZJ008, związek wytwarzany przez *L. plantarum* ZJ008 i charakteryzujący się wysoką aktywnością przeciwbakteryjną, także wobec drobnoustrojów patogennych. Mechanizm aktywności antagonistycznej bakteriocyn może być związany z zahamowaniem syntezy DNA, RNA i ATP, ograniczeniem syntezy białek, zaburzeniem potencjału membranowego, zakłóceniem równowagi jonowej czy gradientu pH [64]. Bakteriocyny są wykorzystywane jako naturalne konserwanty żywności, czego przykładem jest nizyna, policykliczny peptyd złożony z 34 aminokwasów i wytwarzany przez *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*. Nizyna ma status GRAS (ang. *generally recognized as safe*) i jest stosowana do produkcji serów dojrzewających, bitej śmietany, deserów czy sera Mascarpone oraz jako stabilizator aktywny wobec bakterii Gram-dodatnich.

Niskocząsteczkowe metabolity

Metabolity o masie cząsteczkowej mniejszej niż $10\cdot 10^3$ Da są postrzegane jako związki o silnych właściwościach przeciwgrzybowych [19, 22, 45]. Przykładem niskocząsteczkowych związków o działaniu przeciwgrzybowym jest pentocin TV35b, bakteriocynopodobny peptyd o masie cząsteczkowej $(2,35 \div 3,40)\cdot 10^3$ Da, produkowany przez *Lactobacillus pentosus* i powodujący inhibicję grzybów *Candida albicans* [41].

Innym związkiem niskocząsteczkowym o wysokiej aktywności przeciwdrobnoustrojowej jest reuteryna (aldehyd 3-hydroksypropionowy), która hamuje wzrost niektórych bakterii Gram-dodatnich i Gram-ujemnych, a także drożdży i pleśni. Niektóre szczepy bakterii mlekowych *Lactococcus lactis* są zdolne do jej wytwarzania w obecności glicerolu [36].

Voulgari i wsp. [59] wyizolowali z jogurtów oraz serów niestarterowe heterofermentatywne szczepy bakterii z rodzaju *Lactobacillus*, które wytwarzały niskocząstecz-

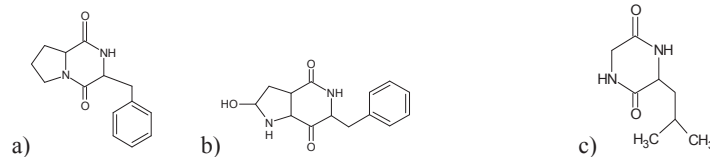
kowe substancje białkowe. Budowa tych związków nie została opisana w literaturze, jednak potwierdzono ich aktywność przeciwgrzybową wobec pleśni *Penicillium* sp. oraz drożdży *D. hansenii* i *S. cerevisiae*.

Inne produkty *Lactobacillus* o aktywności przeciwgrzybowej

Istotnym związkiem o aktywności przeciwgrzybowej jest nadtlenuk wodoru, wytwarzany przez niektóre szczepy bakterii z rodzaju *Lactobacillus*. Wykazuje on silne właściwości przeciwdrobnoustrojowe, także przeciwgrzybowe, które zostały zaobserwowane wobec wybranych szczepów wskaźnikowych drożdży zasiedlających żeński układ rozrodczy: *C. albicans*, *C. pseudotropicalis*, *C. tropicalis* [41]. Zaobserwowano, że bakterie z rodzaju *Lactobacillus*, wyizolowane zarówno od zdrowych, jak i chorych pacjentek, wytwarzały najwięcej nadtlenuku wodoru między 48. a 72. godziną hodowli. Po tym czasie niektóre szczepy rozpoczęły zwiększoną produkcję kwasu mlekowego. Szczepy bakterii z rodzaju *Lactobacillus*, które mają enzym oksydazę flawoproteiową, są zdolne do wytwarzania nadtlenuku wodoru w warunkach tlenowych [49].

Wysoką aktywność przeciwgrzybową, zwłaszcza w środowisku o pH poniżej 7,0, przypisuje się także diacetylowi (butanodiolowi). Ogunshe i wsp. [41] zbadali zdolność szczepów bakterii z rodzaju *Lactobacillus*, wyizolowanych z układu rozrodczego kobiet zdrowych oraz chorych na kandydozę, do produkcji diacetylu. Zaobserwowano, że cztery szczepy *Lactobacillus* sp. pochodzące od zdrowych pacjentek wykazały dużą zdolność wytwarzania diacetylu od 24. do nawet 120. godziny hodowli, natomiast w przypadku bakterii mlekowych wyizolowanych od kobiet zakażonych drożdżami *Candida* sp. zaobserwowano znaczne zróżnicowanie w zakresie produkcji tego związku.

Inną grupę metabolitów przeciwgrzybowych stanowią cykliczne dipeptydy (2,5-diketopiperazyny), związki niskocząsteczkowe produkowane przez szczepy bakterii mlekowych, takie jak *L. brevis* oraz *L. plantarum*. Ze względu na wysoką aktywność biologiczną cykliczne dipeptydy mają zastosowanie zarówno przemysłowe, jak i kliniczne [4, 31]. Wykazują one aktywność przeciwgrzybową przy stężeniach od 0,5 mg do kilku gramów w litrze medium [4, 36]. Przykładami związków o budowie cyklicznej wytwarzanymi przez bakterie z rodzaju *Lactobacillus*, które hamują wzrost drożdży *Candida* sp. oraz *Cryptococcus neoformans* są: cyklo(Phe-Pro), cyklo(Gly-Leu), cyklo(Leu-Pro) oraz cyklo(Phe-4-OH-Pro) (rys. 1) [34, 40]. Silną aktywność przeciwdrożdżową przypisuje się także *cis*-cyklo(L-Val-L-Pro) i *cis*-cyklo(L-Phe-L-Pro), produkowanym przez szczep *L. plantarum* LBK-K10 [31].



Rys. 1. Cykliczne dipeptydy: a) cyklo(Phe-Pro), b) cyklo(Phe-OH-Pro), c) cyklo(Gly-Leu)

Fig. 1. Cyclic dipeptides: a) cyclo(Phe-Pro), b) cyclo(Phe-OH-Pro), c) cyclo(Gly-Leu)

Źródło: / Source: [36]

Projektowanie aktywności antagonisticznej bakterii mlekowych

Modulowanie metabolizmu bakterii *Lactobacillus* sp. jest mało poznanym kierunkiem badań. Opublikowano dotąd niewiele prac na ten temat, jednak wskazuje się, że jest to obiecująca metoda syntezy metabolitów hamujących wzrost grzybów zanieczyszczających żywność. Rolę związków stymulujących aktywność przeciwwgrzybową bakterii z rodzaju *Lactobacillus* mogą pełnić poliole (polihydroksyalkohole) oraz ich galaktozydowe pochodne [26, 27, 29]. Dodanie do podłoża polioli takich, jak: glicerol, laktitol, erytritol, sorbitol i mannitol powoduje zwiększenie stref zahamowania wzrostu grzybów wskaźnikowych: *F. latenicum*, *M. hiemalis*, *A. niger*, *A. ochraceus*, *C. vini*, *A. alternata* oraz *G. candidum* [26]. Co więcej, zaobserwowano, że spektrum aktywności antagonisticznej bakterii *Lactobacillus* jest cechą szczepową, natomiast dodanie polioli do podłoża wykazuje zróżnicowany wpływ na badane szczepy pleśni i drożdży [26]. Może to świadczyć o ukierunkowaniu metabolizmu badanych szczepów bakterii na wytwarzanie specyficznych produktów przeciwwgrzybowych. Podobną zależność zbadano po dodaniu do podłoża hodowlanego galaktozydowych pochodnych polioli, galksylitolu, gal-sorbitolu oraz gal-erytritolu [27]. Badane szczepy *L. casei* (ŁOCK 0908, ŁOCK 0910), *L. paracasei* (ŁOCK 0919, ŁOCK 0922), *L. acidophilus* (ŁOCK 0927, ŁOCK 0933) wykazały znaczną rozbieżność kinetyki wzrostu oraz ilości wytwarzanych kwasów mlekowego i octowego w zależności od zastosowanego podłoża [27]. Co więcej, modyfikacja podłoża fermentacyjnego spowodowała zmianę pH medium MRS. Medium, do którego dodano galaktozydowe pochodne polioli (gal-sorbitol, gal-erytritol i gal-ksylitol), wykazało niższe pH po fermentacji wybranych szczepów *L. acidophilus* (18 szczepów), *L. casei* (15 szczepów) oraz *L. paracasei/casei* (13 szczepów) niż w obecności polioli (sorbitolu, erytritolu i ksylitolu) [29].

Ważnym czynnikiem determinującym aktywność przeciwwgrzybową *Lactobacillus* sp. jest temperatura. Crowley i wsp. [11] zaobserwowali, że badane szczepy *L. plantarum* (62 i 16) wykazują najsilniejszą aktywność przeciwwgrzybową podczas wzrostu w temp. 25 ÷ 30 °C oraz przy pH w zakresie 4,0 ÷ 6,0. Dane literaturowe wskazują, że temperaturę wzrostu należy dobierać nie tylko względem wybranego szczepu bakterii,

lecz także względem szczepu wskaźnikowego [21]. Przykładem jest szczep *L. reuteri* ee1p, który powoduje inhibicję wzrostu pleśni *A. niger* najsilniej w temp. 30 °C, natomiast słabiej w temp. 37 °C. Ten sam szczep wykazuje silny efekt hamujący wobec pleśni *A. fumigatus* w temp. 37 °C, a w temp. 30 °C nie wykazuje aktywności antagonistycznej wobec *A. fumigatus* [21].

Podsumowanie

Odpowiednio wyselekcjonowane szczepy bakterii fermentacji mlekowej, zdolne do ograniczania zanieczyszczeń grzybowych są stosowane do produkcji żywności fermentowanej na świecie. Przykładem jest produkt o nazwie Bio Profit (Danisco Niebüll GmbH, Niemcy), w którym zastosowano kultury starterowe *Lactobacillus rhamnosus* LC705 (DSM 7061) oraz bakterie fermentacji propionowej *Propionibacterium freudenreichii* subsp. *shermanii* JS (DSM 7076) o właściwościach ograniczających wzrost drożdży i grzybów strzępkowych [55]. Innym przykładem jest Micrograd™ (Wesman Foods Inc., OR, USA), w którym do wytworzenia fermentowanego napoju mlecznego użyto bakterii *Propionibacterium freudenreichii* subsp. *shermanii*. Napój ten był stabilny i wykazywał właściwości ograniczania wzrostu drożdży, grzybów strzępkowych i bakterii Gram-ujemnych [50]. Kolejnym przykładem jest zastosowanie dodatkowo, obok szczepionki typowej do produkcji jogurtu, preparatu zawierającego bakterie *Propionibacterium jensenii* SM11 i *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei* SM20, SM29 lub SM63, który ogranicza wzrost drożdży z rodzaju *Candida*, nie wpływając na cechy sensoryczne produktu końcowego [50].

Bakterie z rodzaju *Lactobacillus* wykazują selektywną aktywność antagonistyczną wobec grzybów zanieczyszczających żywność. Spektrum tej aktywności jest zależne zarówno od szczepu bakterii, jak i od szczepu wskaźnikowego grzybów. Dostępne obecnie metody zwiększania zakresu hamowania wzrostu grzybów przez bakterie z rodzaju *Lactobacillus* nie zostały dotąd dostatecznie zoptymalizowane i nie pozwalają na inhibicję szerokiego spektrum drożdży i pleśni, jednak perspektywy zastosowania ich w przyszłości jako naturalnych metod ochrony żywności przed grzybami są obiecujące.

Praca finansowana w ramach grantu NCN, no 2013/09/B/NZ29/01806.

Literatura

- [1] Ahmadova A., Todorov S.D., Hadji-Sfaxi I., Choiset Y., Rabesona H., Messaoudi S., Kuliyeu A., Franco B.D., Chobert J.M., Haertlé T.: Antimicrobial and antifungal activities of *Lactobacillus curvatus* strain isolated from homemade Azerbaijani cheese. *Anaerobe*, 2013, **20**, 42-49.
- [2] Arasu M.V., Al-Dhabi N.A., Rejiniemon T.S., Lee K.D., Huxley V.A.J., Kim D.H., Durairandiyar V., Karupiah P., Choi K.C.: Identification and characterization of *Lactobacillus brevis* P68 with

- antifungal, antioxidant and probiotic functional properties. *Indian J. Microbiol.*, 2015, **55** (1), 19-28.
- [3] Aroui A., Mouritsen O.G.: Membrane-perturbing effect of fatty acids and lysolipids. *Prog. Lipid Res.*, 2013, **52** (1), 130-140.
- [4] Axel C., Zannini E., Arendt E.K., Waters D.M., Czerny M.: Quantification of cyclic dipeptides from cultures of *Lactobacillus brevis* R2Δ by HRGC/MS using stable isotope dilution assay. *Anal. Bioanal. Chem.*, 2014, **406** (9-10), 2433-2444.
- [5] Belguesmia Y., Rabesona H., Mounier J., Pawtowsky A., Le Blay G., Barbier G., Haertlé T., Chobert J.M.: Characterization of antifungal organic acids produced by *Lactobacillus harbinensis* K.V9.3.1Np immobilized in gellan-xanthan beads during batch fermentation. *Food Control*, 2014, **36** (1), 205-211.
- [6] Belz M.C., Mairinger R., Zannini E., Ryan L.A., Cashman K.D., Arendt E.K.: The effect of sourdough and calcium propionate on the microbial shelf-life of salt reduced bread. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 2012, **96** (2), 493-501.
- [7] Black B.A., Zannini E., Curtis J.M., Gänzle M.G.: Antifungal hydroxy fatty acids produced during sourdough fermentation: Microbial and enzymatic pathways, and antifungal activity in bread. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2013, **79** (6), 1866-1873.
- [8] Cheong E.Y.L., Sandhu A., Jayabalan J., Kieu Le T.T., Nhiep N.T., My Ho H.T., Zwielenher J., Bansa N., Turner M.S.: Isolation of lactic acid bacteria with antifungal activity against the common cheese spoilage mould *P. commune* and their potential as biopreservatives in cheese. *Food Control*, 2014, **46**, 91-97.
- [9] Cortés-Zavaleta O., López-Malo A., Hernández-Mendoza A., García H.S.: Antifungal activity of lactobacilli and its relationship with 3-phenyllactic acid production. *Int. J. Food Microbiol.*, 2014, **173**, 30-35.
- [10] Crowley S., Mahony J., Morrissey J.P., Van Sinderen D.: Transcriptomic and morphological profiling of *Aspergillus fumigatus* Af293 in response to antifungal activity produced by *Lactobacillus plantarum* 16. *Microbiology*, 2013, **159** (Pt 10), 2014-2024.
- [11] Crowley S., Mahony J., Van Sinderen D.: Broad-spectrum antifungal-producing lactic acid bacteria and their application in fruit models. *Folia Microbiol.*, 2013, **58** (4), 291-299.
- [12] Dal Bello F., Clarke C.I., Ryan L.A.M., Ulmer H., Schober T.J., Ström K., Sjögren J., Van Sinderen D., Schnürer J., Arendt E.K.: Improvement of the quality and shelf life of wheat bread by fermentation with the antifungal strain *Lactobacillus plantarum* FST 1.7. *J. Cereal Sci.*, 2007, **45** (3), 309-318.
- [13] De Muynck C., Leroy A.I., De Maeseneire S., Arnaut F., Soetaert W., Vandamme E.J.: Potential of selected lactic acid bacteria to produce food compatible antifungal metabolites. *Microbiol. Res.*, 2004, **159** (4), 339-346.
- [14] Delavenne E., Cliquet S., Trunet C., Barbier G., Mounier J., Le Blay G.: Characterization of the antifungal activity of *Lactobacillus harbinensis* K.V9.3.1Np and *Lactobacillus rhamnosus* K.C8.3.II in yogurt. *Food Microbiol.*, 2015, **45** (Pt A), 10-17. DOI: 10.1016/j.fm.2014.04.017.
- [15] Delavenne E., Ismail R., Pawtowski A., Mounier J., Barbier G., Le Blay G.: Assessment of lactobacilli strains as yogurt bioprotective cultures. *Food Control*, 2013, **30** (1), 206-213.
- [16] Delavenne E., Mounier J., Déniel F., Barbier G., Le Blay G.: Biodiversity of antifungal lactic acid bacteria isolated from raw milk samples from cow, ewe and goat over one-year period. *Int. J. Food Microbiol.*, 2012, **155** (3), 185-190.
- [17] Falagas M.E., Betsi G.I., Athanasiou S.: Probiotics for prevention of recurrent vulvovaginal candidiasis: A review. *J. Antimicrob. Chemother.*, 2006, **58** (2), 266-272.
- [18] Fhoula I., Najjari A., Turki Y., Jaballah S., Boudabous A., Ouzari H.: Diversity and antimicrobial properties of lactic acid bacteria isolated from rhizosphere of olive trees and desert truffles of Tunisia. *Biomed Res. Int.*, 2013, **2013**, 1-14.

- [19] Gerez C.L., Torres M.J., Font de Valdez G., Rollán G.: Control of spoilage fungi by lactic acid bacteria. *Biol. Control*, 2013, **64** (3), 231-237.
- [20] Goderska K., Rychlik T., Andrzejewska E., Szkaradkiewicz A., Czarnecki Z.: Antagonistyczny wpływ *Lactobacillus acidophilus* DSM 20079 i DSM 20242 na bakterie patogenne izolowane od ludzi. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2012, **82** (3), 114-131.
- [21] Guo J., Brosnan B., Furey A., Arendt E., Murphy P., Coffey A.: Antifungal activity of *Lactobacillus* against *Microsporum canis*, *Microsporum gypseum* and *Epidermophyton floccosum*. *Bioeng. Bugs*, 2012, **3** (2), 104-113.
- [22] Gupta R., Srivastava S.: Antifungal effect of antimicrobial peptides (AMPs LR14) derived from *Lactobacillus plantarum* strain LR/14 and their applications in prevention of grain spoilage. *Food Microbiol.*, 2014, **42**, 1-7.
- [23] Hassan Y.I., Bullerman L.B.: Antifungal activity of *Lactobacillus paracasei* ssp *tolerans* isolated from a sourdough bread culture. *Int. J. Food Microbiol.*, 2008, **121** (1), 112-115.
- [24] Ho P.H., Luo J.B., Adams M.C.: Lactobacilli and dairy propionibacterium with potential as biopreservatives against food fungi and yeast contamination. *Appl. Biochem. Microbiol.*, 2009, **45** (4), 414-418.
- [25] Kim J.D.: Antifungal activity of lactic acid bacteria isolated from Kimchi against *Aspergillus fumigatus*. *Mycobiology*, 2005, **33** (4), 210-214.
- [26] Klewicka E.: Antifungal activity of lactic acid bacteria of genus *Lactobacillus* sp. In the presence of polyols. *Acta Alimentaria*, 2007, **36** (4), 495-499.
- [27] Klewicka E., Klewicki R.: *In vitro* fermentation of galactosyl derivatives of polyols by *Lactobacillus* strains. *Czech J. Food Sci.*, 2009, **27** (1), 65-70.
- [28] Klewicka E., Libudzisz Z.: Antagonistic activity of *Lactobacillus acidophilus* bacteria toward selected food-contaminating bacteria. *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, 2004, **13/54** (2), 169-174.
- [29] Klewicki R., Klewicka E.: Antagonistic activity of lactic acid bacteria as probiotics against selected bacteria of the *Enterobacteriaceae* family in the presence of polyols and their galactosyl derivatives. *Biotechnol. Lett.*, 2004, **26** (4), 317-320.
- [30] Köhler G.A., Assefa S., Reid G.: Probiotic interference of *Lactobacillus rhamnosus* GR-1 and *Lactobacillus reuteri* RC-14 with the opportunistic fungal pathogen *Candida albicans*. *Infect. Dis. Obstet. Gynecol.*, 2012, **2012**, 1-14.
- [31] Kwak M.K., Liu R., Kim M.K., Moon D., Kim A.H., Song S.H., Kang S.O.: Cyclic dipeptides from lactic acid bacteria inhibit the proliferation of pathogenic fungi. *J. Microbiol.*, 2014, **52** (1), 64-70.
- [32] Li H., Liu L., Zhang S., Cui W., Lv J.: Identification of antifungal compounds produced by *Lactobacillus casei* AST18. *Curr. Microbiol.*, 2012, **65** (2), 156-161.
- [33] Li H., Liu L., Zhang S., Uluko H., Cui W., Lv J.: Potential use of *Lactobacillus casei* AST18 as a bioprotective culture in yogurt. *Food Control*, 2013, **34** (2), 675-680.
- [34] Li H., Zhang S., Lu J., Liu L., Uluko H., Pang X., Sun Y., Xue H., Zhao L., Kong F., Lv J.: Antifungal activities and effect of *Lactobacillus casei* AST18 on the mycelia morphology and ultrastructure of *Penicillium chrysogenum*. *Food Control*, 2014, **43**, 57-64.
- [35] Lynch K.M., Pawlowska A.M., Brosnan B., Coffey A., Zannini E., Furey A., McSweeney P.L.H., Waters D.M., Arendt E.K.: Application of *Lactobacillus amylovorus* as an antifungal adjunct to extend the shelf-life of Cheddar cheese. *Int. Dairy J.*, 2014, **34** (1), 167-173.
- [36] Magnusson J.: Antifungal activity of lactic acid bacteria. PhD thesis, Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala, Sweden 2003, **397**.
- [37] Mauch A., Dal Bello F., Coffey A., Arendt E.K.: The use of *Lactobacillus brevis* PS1 to in vitro inhibit the outgrowth of *Fusarium culmorum* and other common *Fusarium* species found on barley. *Int. J. Food Microbiol.*, 2010, **141** (1-2), 116-121.

- [38] Mu W., Yang Y., Jia J., Zhang T., Jiang B.: Production of 4-hydroxyphenyllactic acid by *Lactobacillus* sp. SK007 fermentation. *J. Biosci. Bioeng.*, 2010, **109** (4), 369-371.
- [39] Mu W., Yu S., Zhu L., Zhang T., Jiang B.: Recent research on 3-phenyllactic acid, a broad-spectrum antimicrobial compound. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 2012, **95** (5), 1155-1163.
- [40] Nyanzi R., Awouafack M.D., Steenkamp P., Jooste P.J., Eloff J.N.: Anticandidal activity of cell extracts from 13 probiotic *Lactobacillus* strains and characterisation of lactic acid and a novel fatty acid derivative from one strain. *Food Chem.*, 2014, **164**, 470-475.
- [41] Ogunshe A.A.O., Omotoso M.A., Bello V.B.: The in vitro antimicrobial activities of metabolites from lactobacillus strains on *Candida* species implicated in *Candida vaginitis*. *Malays J. Med. Sci.*, 2011, **18** (4), 13-25.
- [42] Oranusi S.U., Braide W., Oguoma O.I.: Antifungal properties of lactic acid bacteria (LAB) isolated from *Ricinus communis*, *Pentaclethra macrophylla* and yoghurts. 2013, *Glob. Adva. Res. J. Food Sci. Technol.*, 2013, **2** (1), 01-06.
- [43] Quan X., Zhang L., Li Y., Liang C.: TCF2 Attenuates FFA-induced damage in islet β -cells by regulating production of insulin and ROS. *Int. J. Mol. Sci.*, 2014, **15** (8), 13317-13332.
- [44] Rather I.A., Seo B.J., Rejish Kumar V.J., Choi U.H., Choi K.H., Lim J.H., Park Y.H.: Isolation and characterization of a proteinaceous antifungal compound from *Lactobacillus plantarum* YML007 and its application as a food preservative. *Lett. Appl. Microbiol.*, 2013, **57** (1), 69-76.
- [45] Rizzello C.G., Cassone A., Coda R., Gobetti M.: Antifungal activity of sourdough fermented wheat germ used as an ingredient for bread making. *Food Chem.*, 2011, **127** (3), 952-959.
- [46] Rouse S., Harnett D., Vaughan A., Van Sinderen D.: Lactic acid bacteria with potential to eliminate fungal spoilage in foods. *J. Appl. Microbiol.*, 2008, **104** (3), 915-923.
- [47] Ryan L.A., Zannini E., Dal Bello F., Pawlowska A., Koehler P., Arendt E.K.: *Lactobacillus amylovorus* DSM 19280 as a novel food-grade antifungal agent for bakery products. *Int. J. Food Microbiol.*, 2011, **146** (3), 276-283.
- [48] Sangmanee P., Hongpattarakere T.: Inhibitory of multiple antifungal components produced by *Lactobacillus plantarum* K35 on growth, aflatoxin production and ultrastructure alterations of *Aspergillus flavus* and *Aspergillus parasiticus*. *Food Control*, 2014, **40**, 224-233.
- [49] Schnürer J., Magnusson J.: Antifungal lactic acid bacteria as biopreservatives. 2005, *Trends Food Sci. Technol.*, 2005, **16** (1-3), 70-78.
- [50] Schwenninger S.M., Meile L.: A mixed culture of *Propionibacterium jensenii* and *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei* inhibits food spoilage yeasts. *Syst. Appl. Microbiol.*, 2004, **27**, 229-237.
- [51] Sjögren J., Magnusson J., Broberg A., Schnürer J., Kenne L.: Antifungal 3-hydroxy fatty acids from *Lactobacillus plantarum* MiLAB 14. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2003, **69** (12), 7554-7557.
- [52] Sorrentino E., Reale A., Tremonte P., Maiuro L., Succi M., Tipaldi L., Coppola R.: *Lactobacillus plantarum* 29 inhibits *Penicillium* spp. involved in the spoilage of black truffles (*Tuber aestivum*). *J. Food Sci.*, 2013, **78** (8), M1188-M1194.
- [53] Souza J.L., Da Silva A.F., Carvalho P.H., Pacheco B.S., Pereira C.M., Lund R.G.: Aliphatic fatty acids and esters: Inhibition of growth and exoenzyme production of *Candida*, and their cytotoxicity in vitro: Anti-*Candida* effect and cytotoxicity of fatty acids and esters. *Arch. Oral. Biol.*, 2014, **59** (9), 880-886.
- [54] Ström K., Sjögren J., Broberg A., Schnürer J.: *Lactobacillus plantarum* MiLAB 393 produces the antifungal cyclic dipeptides cyclo (L-Phe-L-Pro) and cyclo (L-Phe-trans-4-OH-L-Pro) and 3-phenyllactic acid. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2002, **68** (9), 4322-4327.
- [55] Suomalainen T.H., Mäyrä-Mäkinen A.M.: Propionic acid bacteria as protective cultures in fermented milks and breads. *Le Lait*, 1999, **79** (1), 165-174.
- [56] Tropcheva R., Nikolova D., Evstatieva Y., Danova S.: Antifungal activity and identification of *Lactobacilli*, isolated from traditional dairy product "katak". *Anaerobe*, 2014, **28**, 78-84.

- [57] Valan Arasu M., Jung M.W., Ilavenil S., Jane M., Kim D.H., Lee K.D., Park H.S., Hur T.Y., Choi G.J., Lim Y.C., Al-Dhabi N.A., Choi K.C.: Isolation and characterization of antifungal compound from *Lactobacillus plantarum* KCC - 10 from forage silage with potential beneficial properties. J. Appl. Microbiol., 2013, **115** (5), 1172-1185.
- [58] Varsha K.K., Priya S., Devendra L., Nampoothiri K.M.: Control of spoilage fungi by protective lactic acid bacteria displaying probiotic properties. Appl. Biochem. Biotechnol., 2014, **172** (7), 3402-3413.
- [59] Voulgari K., Hatzikamari M., Delepoglou A., Georgakopoulos P., Litopoulou-Tzanetaki E., Tzanetakis N.: Antifungal activity of non-starter lactic acid bacteria isolates from dairy products. Food Control, 2010, **21** (2), 136-142.
- [60] Wang H., Sun Y., Chen Ch., Sun Z., Zhou Y., Shen F., Zhang H., Dai Y.: Genome shuffling of *Lactobacillus plantarum* for improving antifungal activity. Food Control, 2013, **32** (2), 341-347.
- [61] Yang E.J., Chang H.C.: Antifungal activity of *Lactobacillus plantarum* isolated from kimchi. Korean J. Microbiol. Biotechnol., 2008, **36** (4), 276-284.
- [62] Yang E.J., Chang H.C.: Purification of a new antifungal compound produced by *Lactobacillus plantarum* AF1 isolated from kimchi. Int. J. Food Microbiol., 2010, **139** (1-2), 56-63.
- [63] Yang S.C., Lin Ch.H., Sung C.T., Fang J.Y.: Antibacterial activities of bacteriocins: application in foods and pharmaceuticals. Front Microbiol., 2014, **5**, 241.
- [64] Zamani-Zadeh M., Soleimani-Zad S., Sheikh-Zeinoddin M.: Biocontrol of gray mold disease on strawberry fruit by integration of *Lactobacillus plantarum* A7 with ajwain and cinnamon essential oils. J. Food Sci., 2013, **78** (10), M1582-M1588.
- [65] Zheng J., Gänzle M.G., Lin X.B., Ruan L., Sun M.: Diversity and dynamics of bacteriocins from human microbiome. Environ. Microbiol., 2015, **17**(6), 2133-2143.

ANTIFUNGAL ACTIVITY OF LACTIC ACID BACTERIA OF *LACTOBACILLUS* GENUS

S u m m a r y

One of the methods of protecting fermented foods against undesirable microorganisms living therein is using the lactic acid bacteria as natural bio-preservatives. The occurrence of lactic acid bacteria (LAB) in food is particularly beneficial. In addition to their expected antibacterial and antifungal activities, LAB are also characterized by their advantageous effect on human health for they stimulate gastrointestinal track to prevent food-borne infections and they improve overall health. The spectrum of antifungal activity of bacteria of the *Lactobacillus* genus, which is the main subject in this paper, results from the synthesis of metabolites with antifungal properties, i.e. of primary metabolites: lactic acid and acetic acid, and of secondary metabolites: other organic acids, cyclic dipeptides, fatty acids and their hydroxylated derivatives, low molecular weight compounds, bacteriocins, and hydrogen peroxide. The ability to synthesize the above named compounds is not a feature common to all bacteria of the *Lactobacillus* genus; it is a strain-linked ability of some individual bacterial cultures. Therefore, such strains of lactic acid bacteria are sought, which have a broad spectrum of antagonistic activity against fungi as are the methods of increasing that activity, for example by selecting optimal conditions of the fermentation process or by modifying the composition of a medium, thus, changing the metabolism of lactic acid bacteria.

Key words: antifungal activity, antagonism, *Lactobacillus* sp., metabolites of LAB ☒

KATARZYNA SKRYPLONEK, MAŁGORZATA JASIŃSKA

JAKOŚĆ FERMENTOWANYCH NAPOJÓW PROBIOTYCZNYCH OTRZYMANÝCH Z MROŻONEJ SERWATKI KWASOWEJ I MLEKA W CZASIE CHŁODNICZEGO PRZECHOWYWANIA

Streszczenie

Serwatka stanowi produkt uboczny przemysłu mleczarskiego charakteryzujący się właściwościami odżywczymi oraz prozdrowotnymi, a niezagospodarowana stanowi zagrożenie dla środowiska. Stale zwiększająca się produkcja serów i – w konsekwencji – serwatki, zmusza do poszukiwania nowych sposobów wykorzystania serwatki, głównie w przemyśle spożywczym. Jedną z możliwości jest produkcja probiotycznych napojów fermentowanych z udziałem serwatki. Spośród szczepów probiotycznych do produkcji mlecznych napojów fermentowanych bardzo często wykorzystywane są bakterie *Lactobacillus acidophilus*. Celem pracy było określenie jakości fermentowanych napojów zawierających probiotyczny szczep *L. acidophilus* La-5, otrzymanych z rozmrożonej serwatki kwasowej połączonej z mlekiem w stosunku 1 : 1. Wyprodukowano 4 warianty napojów: bez dodatków funkcjonalnych, z dodatkiem oligofruktozy, z dodatkiem koncentratu białek serwatkowych WPC 35 oraz z dodatkiem oligofruktozy i WPC 35, które przechowywano w warunkach chłodniczych przez 14 dni. Po 1, 7 oraz 14 dniach przechowywania napoje poddano ocenie sensorycznej oraz określono ich kwasowość i zawartość aldehydu octowego, a także liczbę bakterii *L. acidophilus*. Stwierdzono, że wszystkie warianty napojów charakteryzowały się bardzo dobrym lub dobrym smakiem i zapachem, jednak ich wadą była wyraźna synergeza. W czasie przechowywania obserwowano zwiększenie kwasowości i zmniejszenie zawartości aldehydu octowego w ocenianych napojach probiotycznych. Liczba *L. acidophilus* przez cały okres przechowywania kształtowała się na wysokim poziomie, przekraczając znacznie rekomendowaną przez WHO liczbę bakterii – 10^6 jtk/cm³ w produktach probiotycznych.

Słowa kluczowe: serwatka kwasowa, serwatka mrożona, napój probiotyczny, *Lactobacillus acidophilus*

Mgr inż. K. Skryplonek, dr hab. M. Jasińska, prof. nadzw., Zakład Technologii Mleczarskiej i Przechowywania Żywności, Wydz. Nauk o Żywności i Rybactwa, Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie, ul. Papieża Pawła VI 3, 71-459 Szczecin.

Kontakt: katarzyna.skryplonek@zut.edu.pl

Wprowadzenie

Serwatka to produkt uboczny przemysłu mleczarskiego powstający w dużych ilościach głównie podczas produkcji serów podpuszczkowych oraz twarogowych. Objętość serwatki stanowi $85 \div 90$ % objętości mleka użytego w procesie produkcji. Serwatka składa się w ok. 93 % z wody, a zawiera ok. 55 % składników suchej masy mleka. Głównym składnikiem suchej masy serwatki jest laktoza, która w ok. 96 % przechodzi z mleka do serwatki. Zawartość białek w serwatce wynosi ok. 1 %, przy czym są to głównie białka serwatkowe charakteryzujące się wysoką wartością odżywczą oraz właściwościami prozdrowotnymi. Serwatka zawiera ponadto znaczne ilości związków mineralnych, w tym głównie wapnia i fosforu, a także witaminy z grupy B. Dodatkowo wywiera ona korzystny wpływ na funkcjonowanie organizmu m.in. poprzez działanie przeciwdrobnoustrojowe, zapobieganie rozwojowi osteoporozy, przeciwdziałanie niektórym nowotworom oraz wspomaganie odchudzania [10, 17].

Przetwórstwo serwatki polega w głównej mierze na stosowaniu procesów membranowych, takich jak: odwrócona osmoza, nanofiltracja i ultrafiltracja oraz procesów suszenia w celu otrzymania koncentratów oraz izolatów białek serwatkowych, a także serwatki w proszku, znajdujących zastosowanie w wielu gałęziach przemysłu spożywczego. Produkty te otrzymywane są przede wszystkim z tzw. serwatki słodkiej, powstającej podczas produkcji serów podpuszczkowych [24]. Zagospodarowanie serwatki kwasowej, będącej produktem ubocznym przy produkcji twarogów, jest znacznie utrudnione ze względu na jej niskie pH (<5) [2]. Zainteresowanie wykorzystaniem płynnej serwatki do produkcji żywności jest niewielkie. Stosuje się ją przede wszystkim do wytwarzania serów serwatkowych, takich jak włoska ricotta. Na rynku krajowym brakuje natomiast napojów z serwatki.

Wzrastający popyt na mleczne napoje fermentowane oraz zwiększające się zainteresowanie żywnością funkcjonalną sprawia, że pożądanym kierunkiem przetwórstwa serwatki może być jej wykorzystanie do produkcji probiotycznych napojów fermentowanych, w tym napojów zawierających szczepy bakterii *Lactobacillus acidophilus* [11]. Proces fermentacji wpłynie na zwiększenie walorów serwatki poprzez zmniejszenie zawartości laktozy oraz zmniejszenie alergenicności białek serwatkowych. Zastosowanie w procesie fermentacji szczepów bakterii probiotycznych umożliwiłoby uzyskanie produktu o cechach żywności funkcjonalnej.

Celem pracy było określenie wybranych cech jakościowych fermentowanych napojów probiotycznych otrzymanych z rozmrożonej serwatki kwasowej i mleka w czasie chłodniczego przechowywania.

Material i metody badań

Przedmiotem badań były napoje wytworzone z serwatki kwasowej zamrożonej, a następnie rozmrożonej i mleka, poddane fermentacji mlekowej z udziałem szczepionki bakterii probiotycznych *Lactobacillus acidophilus* La-5 firmy Chr. Hansen (Dania). Kulturę typu DVS uaktywniano poprzez rozprowadzenie 0,6 g liofilizowanej kultury w 1000 ml sterylizowanego odtłuszczonego mleka (firmy Paturages, Belgia) i inkubację w temp. 42 °C przez 4 h, do momentu otrzymania skrzepu.

Serwatka kwasowa pochodziła z przemysłowej produkcji twarogu półtłustego i otrzymano ją z jednego z zakładów mleczarskich z okolic Szczecina. Serwatkę pozyskano bezpośrednio z linii produkcyjnej, a następnie przetransportowano w warunkach chłodniczych do Zakładu Technologii Mleczarskiej i Przechowalnictwa Żywności Zachodniopomorskiego Uniwersytetu Technologicznego w Szczecinie. Bezpośrednio po przewiezieniu serwatkę poddano procesowi pasteryzacji w temp. 72 °C przez 10 min. Następnie serwatkę schładzano, zamrażano oraz przechowywano w temp. -18 ± 1 °C przez 3 tygodnie. W przeddzień produkcji napojów serwatkę rozmrażano poprzez 18-godzinne przetrzymanie w szafie chłodniczej w temp. 5 ± 1 °C. W serwatce kwasowej po rozmrożeniu oznaczano kwasowość potencjalną w °SH [8], kwasowości czynną za pomocą pehametru, gęstość – metodą areometryczną z wykorzystaniem laktodensymetru [8] oraz zawartość suchej masy – metodą odwoławczą poprzez suszenie serwatki na zwiniętych paskach bibuły do sączenia. Gęstość serwatki wynosiła 1,026 g/cm³, zawartość suchej masy – 5,77 %, kwasowość potencjalna (miareczkowa) – 26,3 °SH, natomiast kwasowość czynna (pH) – 4,45.

W ramach doświadczenia przygotowano w warunkach laboratoryjnych 4 partie napojów fermentowanych metodą termostatową. Rozmrożoną serwatkę łączono w proporcji 1 : 1 z mlekiem UHT, firmy Paturages (Belgia), o zawartości 3,2 % tłuszczu, 4,6 % laktozy i 3 % białka (zgodnie z deklaracją producenta). Wybór mleka UHT wynikał z jego większej czystości mikrobiologicznej w porównaniu z mlekiem pasteryzowanym. Wzbogacenie serwatki w mleko miało na celu zwiększenie zawartości suchej masy oraz nadanie napojom cech mlecznych napojów fermentowanych. Jak podają Bulatović i wsp. [3], dodatek mleka do serwatki zwiększa przeżywalność bakterii probiotycznych w produkcji. Otrzymaną mieszaninę podgrzewano do temp. 42 °C, a następnie dzielono na 4 części. W pierwszej partii napoju (N) nie zastosowano żadnego dodatku. Do drugiej partii (NO) dodano 2 % (m/v) prebiotyku oligofruktozy ORAFI P95, firmy Hortimex (Polska). W przypadku trzeciej partii napoju (NW) zastosowano 1-procentowy dodatek koncentratu białek serwatkowych WPC 35, firmy Spomlek (Polska), o zawartości ok. 35 % białek. Ostatni wariant napoju (NOW) wzbogacono w 2-procentowy dodatek oligofruktozy oraz 1-procentowy – WPC 35. Każdy z wariantów napoju zaszczepiano poprzez dodatek 5 % (v/v) zakwasu otrzymanego w wyniku wcześniejszego uaktywnienia szczepionki probiotycznej. Po dokładnym

wymieszaniu napoje rozlewano po ok. 50 ml do pojemników jednostkowych z tworzywa sztucznego PE-LD o pojemności 80 ml, przykrywano folią aluminiową i poddawano inkubacji w temp. 42 °C przez 4 h do momentu otrzymania skrzepu. Czas ukwaszania był taki sam dla wszystkich wariantów fermentowanego napoju. Pomimo że optymalna temperatura wzrostu bakterii *L. acidophilus* zawiera się w zakresie 35 ÷ 40 °C [9], zdecydowano się, na podstawie wcześniejszych badań, na zastosowanie wyższej temperatury, która nie przekraczała jednak maksymalnej temperatury wzrostu wynoszącej 42 °C [9]. Jak podają Bulatović i wsp. [3], podniesienie temperatury inkubacji pozwala na zmniejszenie czasu fermentacji i otrzymanie produktu o niższej kwasowości [3]. Kwasowość produktu jest natomiast czynnikiem wpływającym na przeżywalność *L. acidophilus*, która najbardziej wzrasta w środowisku o pH 6,4 ÷ 4,5 [25]. Otrzymane w ten sposób próby doświadczalne schładzano i przechowywano w warunkach chłodniczych w temp. 5 ± 1°C przez 14 dni. Próbkę do analiz pobierano po 1, 7 oraz 14 dniach przechowywania.

Otrzymane probiotyczne napoje serwatkowe oceniano sensorycznie, oznaczano w nich wybrane wskaźniki fizykochemiczne oraz poddawano je analizie mikrobiologicznej. Punktową ocenę sensoryczną napojów przeprowadziła przeszkolona 6-osobowa grupa oceniających, w pomieszczeniu przystosowanym do analiz sensorycznych, zgodnie z wytycznymi podanymi w literaturze i normie [1, 23]. Określano wygląd, smak, zapach i konsystencję napojów według skali 5-punktowej rozszerzonej o oceny połówkowe. Nota 5 oznaczała bardzo dobrą jakość danego wyróżnika, a nota 1 – złą. Określano także ogólną jakość sensoryczną napojów w skali od 1 do 5, którą obliczano sumując poszczególne wyróżniki oceny sensorycznej pomnożone przez współczynniki ważkości. Współczynniki ważkości przyjęte dla poszczególnych cech to: wygląd – 0,15, smak i zapach – po 0,30, konsystencja – 0,25 [21]. Analiza właściwości fizykochemicznych napojów obejmowała: pomiar kwasowości potencjalnej (miareczkowej), wyrażanej w stopniach Soxhleta-Henkla (°SH) [8], pomiar kwasowości czynnej (pH) przy użyciu pehametru, model pHep HI 98128 (Hanna Instruments, Włochy), zgodnie z instrukcją producenta, oznaczenie zawartości aldehydu octowego metodą dyfuzyjną z chlorowodorkiem hydrazonu w naczynkach Conwaya [15] oraz oznaczenie zawartości suchej masy metodą techniczną, poprzez suszenie w 130 °C przez 30 min [8]. Analiza mikrobiologiczna polegała na oznaczeniu liczby bakterii probiotycznych *Lactobacillus acidophilus* w 1 ml napoju. Przygotowane zgodnie z wytycznymi Polskiej Normy [22] rozcieńczenia dziesiętne napojów posiewano na podłoże MRS Agar (firma BTL, Polska). Posiewy wykonywano metodą płytek lanych z nawarstwieniem dodatkową warstwą podłoża w celu uzyskania warunków mikroaerofilnych. Tak przygotowane posiewy inkubowano w temp. 37 °C przez 72 h [6].

Wszystkie oznaczenia wykonano w trzech powtórzeniach, a uzyskane wyniki porównano statystycznie testem t-Studenta na poziomie istotności $p = 0,05$ przy użyciu programu Microsoft Excel 2007.

Wyniki i dyskusja

Z przeprowadzonych badań wynika, że zastosowane dodatki oraz czas chłodniczego przechowywania w zróżnicowany sposób wpływały na zawartość mikroflory oraz właściwości fizykochemiczne badanych napojów probiotycznych.

Właściwości sensoryczne

Wszystkie warianty probiotycznych napojów serwatkowych miały zbliżone cechy sensoryczne. Wyniki punktowej oceny sensorycznej przedstawiono w tab. 1. Każdy z wariantów charakteryzował się bardzo wyraźnym podciekiem serwatki, wynoszącym do 1/3 objętości próbki. Wada ta wpływała na niską ocenę wyglądu napojów. Nie zaobserwowano wpływu dodatku oligofruktozy oraz koncentratu białek serwatkowych na wielkość synerезy. Konsystencja wszystkich wariantów napojów określona została jako mało zwarta i półpłynna. Wygląd i konsystencja napojów praktycznie nie uległy zmianom w czasie przechowywania i wyróżniki te oceniono podobnie po 1, 7 oraz 14 dniach doświadczenia. Smak i zapach napojów były czyste, orzeźwiające, łączyły odczucia charakterystyczne dla serwatki i mleka fermentowanego. W przypadku prób wzbogaconych w oligofruktozę wyczuwalny był posmak słodki, charakterystyczny dla tego składnika. Wraz z wydłużającym się okresem przechowywania zwiększała się intensywność kwaśnego smaku i zapachu napojów. Określono także ogólną jakość sensoryczną napojów, na którą w największym stopniu wpływały oceny za smak i zapach, a w najmniejszym ocena wyglądu [21]. Najwyższą jakością sensoryczną w całym okresie przechowywania charakteryzował się napój zawierający oba dodatki funkcjonalne, a najniższą – napój bez dodatków. Jakość sensoryczna wszystkich wariantów napoju ulegała obniżeniu w czasie przechowywania.

Dla konsumenta najważniejszym wskaźnikiem jakości produktu fermentowanego są jego właściwości sensoryczne. Istotne jest jednak nie tylko osiągnięcie pożądaných cech sensorycznych, ale także ich stabilność w czasie chłodniczego przechowywania produktu [4]. Tę stabilność uzyskano w otrzymanych napojach. Najwyżej ocenianymi wyróżnikami jakości sensorycznej były smak i zapach produktów, którym w początkowym okresie przechowywania przypisano oceny bardzo dobre, a w końcowym oceny dobre. Jak podają Kołczak i Kupiec [12], to właśnie te wyróżniki są czynnikami najistotniejszymi dla konsumenta.

Tabela 1. Wyniki oceny sensorycznej napojów probiotycznych w czasie chłodniczego przechowywania
 Table 1. Results of sensory assessment of probiotic beverages during refrigerated storage

Wyróżniki jakościowe Quality factors	Czas przechowywania [dni]/ Storage time [days]											
	1				7				14			
	N	NO	NW	NOW	N	NO	NW	NOW	N	NO	NW	NOW
Wygląd Appearance	1,7	1,8	2,1	2,2	1,7	1,7	2,1	2,2	1,7	1,8	2	2,1
Smak / Taste	4,9	5 ¹	4,8	5 ¹	4,3	4,9 ¹	4,5	5 ¹	3,9	4,2 ¹	4	4,2 ¹
Zapach / Smell	5	5	5	5	5	4,9	4,6	4,9	4,5	4,1	4	4,2
Konsystencja Consistency	3	3	3,2	3,3	2,8	3	3,2	3,2	2,7	2,7	3,1	3,2
Ogólna jakość sensoryczna Overall sensory quality	3,98	4,02	4,06	4,16	3,75	3,95	3,85	4,10	3,45	3,44	3,48	3,64

Objaśnienia / Explanatory notes:

N – napój bez dodatków funkcjonalnych / beverage without functional additives; NO – napój z dodatkiem oligofruktozy / beverage with oligofructose added; NW – napój z dodatkiem WPC 35 / beverage with WPC 35 added; NOW – napój z dodatkiem oligofruktozy i WPC 35 / beverage with oligofructose and WPC 35 added; 1 – smak słodkawy / slightly sweet taste.

Właściwości fizykochemiczne

Zawartość aldehydu octowego, czyli jednego z głównych związków kształtujących aromat mlecznych napojów fermentowanych [13] kształtowała się na niskim poziomie $0,175 \div 0,529 \text{ mg/dm}^3$ w całym okresie trwania doświadczenia (tab. 2). Najwięcej tego związku w czasie 14 dni przechowywania było w napoju probiotycznym bez dodatków (wariant N). Jednak stwierdzone różnice pod względem zawartości aldehydu octowego w poszczególnych napojach były statystycznie nieistotne ($p = 0,05$) – tab. 3. Wszystkie próbki charakteryzowały się znacznym zmniejszeniem zawartości aldehydu octowego w czasie przechowywania, przy czym największy ubytek tego związku wystąpił w napoju NOW – o 64 % pomiędzy 1. a 14. dniem doświadczenia, a najmniejszy w przypadku napoju N – o 38 % w tym samym czasie.

Zawartość aldehydu octowego w mlecznych napojach fermentowanych jest zróżnicowana i w jogurtach może wynosić nawet $10 \div 15 \text{ mg/dm}^3$ [16], a próg jego wyczuwalności przez zmysł węchu człowieka wynosi $0,415 \text{ mg/dm}^3$ [14]. Substratem do produkcji aldehydu octowego przez bakterie fermentacji mlekowej są: laktoza i inne sacharydy, a także związki azotowe, w tym aminokwas treonina. Mała zawartość aldehydu octowego w badanych napojach może wynikać z mniejszych zdolności bakterii *Lactobacillus acidophilus* do wytwarzania związków lotnych w porównaniu z kulturą

jogurtową [26]. Znacznie mniejsza zawartość aldehydu octowego od przytoczonego zakresu została stwierdzona także w jogurcie z mleka krowiego [20] oraz w napojach fermentowanych z mleka koziego w czasie chłodniczego przechowywania [18, 19].

Kolejnym wyznacznikiem jakości napojów była kwasowość potencjalna (miareczkowa) oraz kwasowość czynna (pH). Kwasowość miareczkowa kształtowała się na poziomie $25,1 \div 31,3$ °SH (tab. 2). Najniższą kwasowość miareczkową w całym okresie trwania doświadczenia oznaczono w napojach wariantu N (bez dodatków funkcjonalnych), najwyższą po 1 i 7 dniach badań – w napojach wariantu NOW (z dodatkiem oligofruktozy i koncentratu białek serwatkowych), a po 14 dniach przechowywania – w napojach wariantu NW (z dodatkiem koncentratu białek serwatkowych), co wynika również ze zwiększenia zawartości białek w tym wariantcie napoju. Pod względem kwasowości miareczkowej, napój bez dodatków różnił się statystycznie istotnie ($p = 0,05$) od napojów NW oraz NOW (tab. 3). W przypadku napoju bez dodatków funkcjonalnych oraz napoju z dodatkiem oligofruktozy kwasowość miareczkowa wzrastała w całym okresie przechowywania odpowiednio o 19 i 23 %. W napojach NW i NOW obserwowano wzrost wartości tego wskaźnika pomiędzy 1. a 7. dniem oraz nieznaczne obniżenie pomiędzy 7. a 14. dniem przechowywania. Sumaryczny wzrost kwasowości pomiędzy pierwszym a ostatnim pomiarem wynosił w tych napojach odpowiednio: 17 i 15 %. Mniejszy wzrost kwasowości w tych napojach może wynikać z buforującego działania dodanych białek serwatkowych [11]. Dodatek oligofruktozy należącej do fruktooligosacharydów nie wpływał istotnie na kwasowość miareczkową napojów. Brak wpływu inuliny należącej również do fruktooligosacharydów, jednak o wyższym stopniu polimeryzacji niż oligofruktoza, na kwasowość fermentowanej serwatki stwierdzili także Drgalić i wsp. [6].

Kwasowość czynna napojów wzrastała we wszystkich ocenianych próbkach w całym okresie przechowywania, co wyrażało się obniżeniem wartości pH. Po pierwszym dniu przechowywania wartość pH kształtowała się na poziomie $4,82 \div 4,88$, po 7 dniach – na poziomie $4,49 \div 4,57$, a po 14-dniowym przechowywaniu wartość pH była najniższa i wynosiła $4,40 \div 4,45$. Statystycznie istotna różnica kwasowości czynnej wystąpiła jedynie pomiędzy napojem NO a napojem NW. Po 14 dniach przechowywania najwyższe wartości pH oznaczono w napojach wzbogaconych w koncentrat białek serwatkowych, co może wynikać z ich właściwości buforujących.

Podobne zjawisko wzrostu kwasowości w czasie przechowywania biojogurtów zawierających *L. acidophilus* stwierdzili Shah i wsp. [25]. Wzrost kwasowości mógł być spowodowany dalszą aktywnością bakterii fermentacji mlekowej mimo ograniczenia temperatury chłodniczej. Aktywność kwaszącą bakterii *L. acidophilus* w czasie chłodniczego przechowywania napojów na bazie serwatki podpuszczkowej i mleka zaobserwowali także Castro i wsp. [5]. Tendencję do wzrostu kwasowości miareczkowej oraz kwasowości czynnej w napojach z rekonstruowanej serwatki podpuszczko-

wej ukwaszonej przez szczep *L. acidophilus* La-5 stwierdzili Drgalić i wsp. [6], a Shah i wsp. [25] wykazali obniżenie wartości pH jogurtów zawierających bakterie *L. acidophilus* podczas przechowywania.

Tabela 2. Właściwości fizykochemiczne oraz liczba bakterii probiotycznych w fermentowanych napojach serwatkowych w czasie chłodniczego przechowywania

Table 2. Physicochemical properties and count of probiotic bacteria in fermented whey beverages during refrigerated storage

Warianty doświadczalne Experimental variants	Czas przechowywania [dni] / Storage period [days]		
	1	7	14
Zawartość aldehydu octowego [mg/dm ³] / Content of acetaldehyde [mg/dm ³]			
N	0,529 ± 0,01	0,479 ± 0,03	0,326 ± 0,00
NO	0,513 ± 0,04	0,387 ± 0,02	0,249 ± 0,03
NW	0,488 ± 0,03	0,392 ± 0,01	0,205 ± 0,02
NOW	0,491 ± 0,03	0,299 ± 0,02	0,175 ± 0,01
Różnice istotne stat.*	Brak różnic/ no differences		
Kwasowość miareczkowa [°SH] / Titratable acidity [°SH]			
N	25,1 ± 0,23	29,6 ± 0,00	30,0 ± 0,40
NO	25,3 ± 0,46	29,7 ± 0,23	31,2 ± 0,00
NW	26,5 ± 0,23	31,3 ± 0,23	31,1 ± 0,23
NOW	26,8 ± 0,00	31,3 ± 0,23	30,8 ± 0,00
Różnice istotne stat.*	N:NW, N:NOW		
Kwasowość czynna [pH] / Active acidity [pH]			
N	4,88 ± 0,04	4,54 ± 0,04	4,40 ± 0,01
NO	4,83 ± 0,01	4,49 ± 0,04	4,40 ± 0,01
NW	4,88 ± 0,03	4,57 ± 0,04	4,44 ± 0,01
NOW	4,82 ± 0,01	4,54 ± 0,04	4,45 ± 0,01
Różnice istotne stat.*	NO:NW		
Zawartość suchej masy [%] / Dry matter content [%]			
N	8,46 ± 0,01	8,60 ± 0,22	8,39 ± 0,08
NO	9,93 ± 0,33	10,21 ± 0,10	9,84 ± 0,18
NW	9,44 ± 0,11	9,21 ± 0,09	9,15 ± 0,10
NOW	10,94 ± 0,07	10,90 ± 0,15	10,71 ± 0,16
Różnice istotne stat.*	Wszystkie napoje różnią się między sobą / All beverages differ		
Liczba komórek <i>L. acidophilus</i> [log jtk/ml] / Count of cells of <i>L. acidophilus</i> [log jtk/ml]			
N	8,39 ± 0,09	8,45 ± 0,16	8,38 ± 0,01
NO	8,36 ± 0,08	8,36 ± 0,12	8,24 ± 0,15
NW	8,38 ± 0,22	8,41 ± 0,30	8,37 ± 0,28
NOW	8,46 ± 0,17	8,45 ± 0,15	8,44 ± 0,28
Różnice stat. istotne *	NO: NOW		

Objaśnienia / Explanatory notes:

N, NO, NW, NOW – objaśnienia symboli jak w tab. 1. / explanations of symbols as in Tab. 1. W tabeli przedstawiono wartości średnie ± odchylenia standardowe / Table shows mean values and standard deviations; * – poziom istotności p = 0,05 / level of significance p = 0.05.

Tabela 3. Wyniki porównań parami właściwości fizykochemicznych oraz liczby bakterii probiotycznych w napojach
 Table 3. Results of pairwise comparisons of physicochemical properties and counts of probiotic bacteria in beverages

Warianty doświadczalne Experimental variants	NO	NW	NOW
Zawartość aldehydu octowego / Content of acetaldehyde			
N	t = 2,5559 p = 0,1250 (-)	t = 3,5806 p = 0,0699 (-)	t = 2,8395 p = 0,1049 (-)
NO	-	t = 1,0739 p = 0,3952 (-)	t = 3,2009 p = 0,0853 (-)
NW	-	-	t = 1,4204 p = 0,2913 (-)
Kwasowość miareczkowa / Titratable acidity			
N	t = 1,4237 p = 0,2905 (-)	t = 8,0829 p = 0,015 (+)	t = 4,6667 p = 0,043 (+)
NO	-	t = 1,7538 p = 0,2215 (-)	t = 1,3832 p = 0,3008 (-)
NW	-	-	t = 0 p = 1 (-)
pH / pH			
N	t = 2 p = 0,1835 (-)	t = 1,9414 p = 0,1917 (-)	t = 0,1048 p = 0,9261 (-)
NO	-	t = 4,715 p = 0,0422 (+)	t = 1,5 p = 0,2724 (-)
NW	-	-	t = 1,3152 p = 0,3190 (-)
Zawartość suchej masy / Dry matter content			
N	t = 30,0007 p = 1,1092 E-3 (+)	t = 7,2905 p = 0,0183 (+)	t = 41,5496 p = 5,7875 E-4 (+)
NO	-	t = 4,8979 p = 0,0392 (+)	t = 9,2496 p = 0,0115 (+)
NW	-	-	t = 28,2358 p = 1,2519 E-3 (+)
Liczba komórek <i>L. acidophilus</i> / Count of cells of <i>L. acidophilus</i>			
N	t = 2,4763 p = 0,1316 (-)	t = 1,796 p = 0,2143 (-)	t = 1,9964 p = 0,1840 (-)
NO	-	t = 1,857 p = 0,2044 (-)	t = 4,5864 p = 0,0444 (+)
NW	-	-	t = 4,1711 p = 0,0529 (-)

Objaśnienia / Explanatory notes:

N, NO, NW, NOW – objaśnienia symboli jak w tab. 1. / Explanations of symbols as in Tab. 1;

t – wartości statystyki testowej t / values of t parameter; p – poziomy istotności / significance level; (+) – różnice statystycznie istotne (p = 0,05) / statistically significant differences (p = 0.05); (-) – różnice statystycznie nieistotne (p = 0,05) / statistically insignificant differences (p = 0.05).

Ostatnim badanym wskaźnikiem fizykochemicznym napojów była zawartość suchej masy. Najmniej suchej masy zawierał napój bez dodatków funkcjonalnych – średnio 8,48 %, następnie napój z koncentratem białek serwatkowych – 9,27 %, napój z oligofruktozą – 9,99 %, a najwięcej suchej masy miał napój wzbogacony w oba dodatki – 10,85 %. Zawartość suchej masy w napojach nie ulegała zmianom w czasie ich chłodniczego przechowywania. Wszystkie warianty napojów różniły się między sobą statystycznie istotnie ($p = 0,05$) pod względem tego wskaźnika (tab. 3).

Przeżywalność bakterii probiotycznych

Ważnym wskaźnikiem jakości napojów fermentowanych zawierających probiotyczne szczepy bakterii kwasu mlekowego jest określenie liczby tych bakterii w 1 ml produktu, w całym okresie jego przydatności do spożycia. Zgodnie z wytycznymi FAO/WHO [7] minimalna liczba bakterii probiotycznych w produkcie gwarantująca osiągnięcie efektu terapeutycznego wynosi 6 log jtk/ml. Zawartość żywych komórek bakterii probiotycznych w badanych napojach w całym 14-dniowym okresie przechowywania nie wykazywała istotnych wahań i kształtowała się na poziomie $8,24 \div 8,46$ log jtk/ml (tab. 2). Oznacza to, że otrzymane napoje spełniły kryterium stawiane produktom probiotycznym i mogą być do nich zaliczone.

Pod względem wpływu dodatków wprowadzonych do napojów wykazano, że jednoczesny dodatek oligofruktozy oraz WPC 35 wpłynął na istotne zwiększenie liczby bakterii probiotycznych w stosunku do wariantu z samą oligofruktozą. Najwyższa liczba bakterii La-5 w napoju wariantu NOW dowodzi, że wprowadzenie białek serwatkowych wpłynęło pozytywnie na przeżywalność bakterii poprzez stabilizację kwasowości i zwiększenie zawartości związków azotowych. Dodatek samej oligofruktozy nie spowodował wzrostu przeżywalności oznaczanego szczepu bakterii w napojach serwatkowych. Drgalić i wsp. [6] stwierdzili taką samą zależność w przypadku dodatku inuliny, która nie miała istotnego wpływu na zawartość bakterii La-5 w fermentowanej serwatce, przechowywanej w warunkach chłodniczych. Zawartość bakterii w serwatce bez dodatku inuliny oraz z jej dodatkiem kształtowała się w początkowych 14 dniach przechowywania na poziomie $7,5 \div 8$ log jtk/ml, a więc była zbliżona do wyników uzyskanych w niniejszych badaniach. Shah i wsp. [25] analizowali przeżywalność bakterii *L. acidophilus* w komercyjnych biojogurtach przechowywanych przez 5 tygodni i wykazali, że liczba bakterii kształtowała się w różnych produktach w zakresie $5 \div 8$ log jtk/ml i ulegała nieznacznemu zmniejszeniu w początkowych 14 dniach przechowywania. W uzyskanych przez Mituniewicz-Małek i wsp. [18] biojogurtach z mleka koziego zawartość bakterii z rodzaju *Lactobacillus* sp. podczas 3-tygodniowego przechowywania wynosiła $7,2 \div 7,9$ log jtk/ml i podobnie jak w przypadku niniejszych napojów nie ulegała obniżeniu w czasie przechowywania. Należy podkreślić, że liczba bakterii probiotycznych zarówno w wytworzonych z mleka jogur-

tach, jak i w otrzymanych na bazie serwatki połączonej z mlekiem napojach z niniejszego doświadczenia oraz w fermentowanej serwatce kształtowała się na podobnym poziomie. Potwierdza to stwierdzenie Castro i wsp. [5], że zastąpienie mleka serwatką w napojach fermentowanych nie powoduje zmniejszenia przeżywalności bakterii probiotycznych.

Wnioski

1. Fermentowane probiotyczne napoje na bazie mrożonej serwatki kwasowej zostały wysoko ocenione pod względem smaku i zapachu. Ich wadą była półpłynna konsystencja oraz wyraźna synereza.
2. W okresie przechowywania w fermentowanych napojach probiotycznych obserwowano wzrost kwasowości oraz zmniejszenie zawartości aldehydu octowego.
3. Liczba komórek bakterii probiotycznych w napojach w okresie trwania badań (14 dni) przekraczała 8 log jtk/ml i była wyższa od minimalnej dawki terapeutycznej rekomendowanej dla produktów probiotycznych.
4. Napój na bazie serwatki kwasowej i mleka jest dobrym środowiskiem zapewniającym przeżywalność bakterii *Lactobacillus acidophilus* i może być uznany za nowy wyrób probiotyczny.

Literatura

- [1] Baryłko-Pikielna N., Matuszewska I.: Sensoryczne badania żywności. Podstawy. Metody. Zastosowania. Wyd. II. Wyd. Nauk. PTTŻ, Kraków 2014.
- [2] Bednarski W.: Doskonalenie technologii oraz organizacji przetwarzania serwatki w Polsce. Przem. Spoż., 2001, **2**, 32-34.
- [3] Bulatović M.L., Krupić T.Ž., Vukašinić-Skulić M.S., Zarić D.B., Rakin M.B.: Quality attributes of a fermented whey-based beverage enriched with milk and a probiotic strain. Roy. Soc. Ch., 2014, **4**, 55503-55510.
- [4] Bulatović M.L., Rakin M.B., Mojović L.V., Nikolić S.B., Vukašinić-Skulić M.S., Đukić Vuković A.P.: Improvement of production performance of functional fermented whey-based beverage. Chem. Ind. Chem. Eng. Q., 2014, **20** (1), 1-8.
- [5] Castro W.F., Gruz A.G., Bisinotto M.S., Guerreiro L.M.R., Faria J.A.F., Bogini H.M.A., Cucha R.L., Deliza R.: Development of probiotic dairy beverages: Rheological properties and application of mathematical models in sensory evaluation. J. Dairy Sci., 2013, **96**, 16-25.
- [6] Drgalić I., Tratnik L., Božanić R.: Growth and survival of probiotic bacteria in reconstituted whey. Lait, 2005, **85**, 171-179.
- [7] FAO/WHO: Report of a Joint FAO/WHO Expert Consultation on Evaluation of Health and Nutritional Properties of Probiotics in Food Including Powder Milk with Live Lactic Acid Bacteria. Córdoba, Argentina, 1-4 October 2001.
- [8] Gawel J., Molska I.: Analiza techniczna w przetwórstwie mleczarskim. WSiP, Warszawa 1990
- [9] Gomes A.M.P., Malacata F.X.: *Bifidobacterium* spp. and *Lactobacillus acidophilus*: Biological, biochemical, technological and therapeutic properties relevant for use as probiotics. Trends Food Sci. Technol., 1999, **10**, 139-157.

- [10] Ha E., Zemel M.B.: Functional properties of whey, whey components, and essential amino acids: Mechanisms underlying health benefits for active people (Review). *J. Nutr. Biochem.*, 2003, **14**, 251-258.
- [11] Kailasapathy K., Chin J.: Survival and therapeutic potential of probiotic organisms with reference to *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium* spp. *Immunol. Cell Biol.*, 2000, **78**, 80-88.
- [12] Kołczak T., Kupiec B.E.: Analiza sensoryczna w opracowywaniu nowych produktów spożywczych. *Przem. Spoż.*, 2004, **1**, 32-37.
- [13] Kornacki K.: Mikrobiologia mleka i jego przetworów. W: *Mleczarstwo. Tom I. Red. S. Ziajka. Wyd. UWM, Olsztyn 2008*, ss. 152-204.
- [14] Lees G.J., Jago G.R.: Role of acetaldehyde in metabolism: A review 2: The metabolism of acetaldehyde in cultured dairy products. *J. Dairy Sci.*, 1978, **61** (9), 1216-1224.
- [15] Less G.J., Jago G.R.: Methods for the estimation of acetaldehyde in cultured dairy products. *Aust. J. Dairy Technol.*, 1969, **24**, 181-185.
- [16] Libudzisz Z.: Tworzenie związków aromatu przez bakterie fermentacji mlekowej. W: *Bakterie fermentacji mlekowej. Klasyfikacja, metabolizm, genetyka, wykorzystanie. Red. Z. Libudzisz, P. Walczak, J. Bardowski. Wyd. Politechniki Łódzkiej, Łódź 1998*, ss. 110-122
- [17] Madureira A.R., Pereira C.I., Gomes A.M.P., Pintado M.E., Malcata F.X.: Bovine whey proteins – Overview on their main biological properties. *Food Res. Int.*, 2007, **40**, 1197-1211.
- [18] Mituniewicz-Małek A., Dmytrów I., Balejko J., Ziarno M.: Komercyjne kultury probiotyczne *Lactobacillus* sp. (*Lb. plantarum*, *casei* i *Lb. acidophilus*) w napojach fermentowanych z mleka koziego. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2013, **88** (3), 99-110.
- [19] Mituniewicz-Małek A., Dmytrów I., Nowak Z.: Cechy jakościowe jogurtu wyprodukowanego z mleka koziego przechowywanego w warunkach chłodniczych. *Przeł. Mlecz.*, 2009, **7**, 4-8.
- [20] Mituniewicz-Małek A., Dmytrów I., Pilarczyk R., Brajer A.: Ocena wybranych cech jakościowych jogurtów o podwyższonej zawartości tłuszczu w czasie chłodniczego przechowywania. *Przeł. Mlecz.*, 2010, **6**, 12-18.
- [21] Pieczonka W.: *Mleko i przetwory mleczne. Standaryzacja jakości i metody badań. Wyd. UR w Krakowie, Kraków 2015.*
- [22] PN-EN ISO 6887-5:2010. Mikrobiologia żywności i pasz. Przygotowanie próbek zawiesiny wyjściowej i rozcieńczeń dziesięciokrotnych do badań mikrobiologicznych. Część 5: Specyficzne zasady przygotowania mleka i przetworów mlecznych.
- [23] PN-ISO 22935-2:2013-07. Mleko i przetwory mleczne. Analiza sensoryczna. Część 2: Zalecane metody oceny sensorycznej
- [24] Prazeres A.R., Carvalho F., Rivas J.: Cheese whey management: A review. *J. Environ. Manag.*, 2012, **110**, 48-68.
- [25] Shah N.P., Lankaputhra W.E.V., Britz M.L., Kyle W.S.A.: Survival of *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium bifidum* in commercial yoghurt during refrigerated storage. *Int. Dairy J.*, 1995, **5**, 515-521.

QUALITY OF FERMENTED PROBIOTIC BEVERAGES MADE FROM FROZEN ACID WHEY AND MILK DURING REFRIGERATED STORAGE

S u m m a r y

Whey is a by-product in the dairy industry and it is characterized by nutritional values and health benefits; however, if unmanaged, it poses a serious danger to the environment. The steadily increasing production of cheese and, consequently, of whey makes it necessary to search for new methods of utilizing

whey, mainly in the food industry. One of the options is the production of probiotic fermented beverages containing whey. Of the probiotic strains applied to the fermented milk beverages production, *Lactobacillus acidophilus* bacteria are those that are very often used. The objective of this research study was to determine the quality of fermented beverages containing the *L. acidophilus* La-5 probiotic strain made from frozen acid whey mixed with milk in the ratio 1:1. Four variants of beverages were produced: N without functional additives; NO containing oligofructose; NW with a WPC 35 whey protein concentrate; and NOW with oligofructose and WPC 35; all of them were stored under refrigerated conditions for a period of 14 days. After the 1st, 7th, and 14th day of storage, their organoleptic properties, acidity, and the content of acetaldehyde were determined as was the number of *L. acidophilus* therein. It was found that all the variants of beverages were characterized by a very good or good taste and smell; however, the apparent syneresis was their disadvantage. During the storage, there were reported an increase in the acidity and a decrease in the content of acetaldehyde. During the entire period of storage, the number of viable probiotic bacteria was high and significantly exceeded a level of 10^6 cfu /cm³, i.e. the minimum level as required by WHO in the probiotic products.

Key words: acid whey, frozen whey, probiotic beverage, *Lactobacillus acidophilus* ☒

JOANNA BARŁOWSKA, ZYGMUNT LITWIŃCZUK, PIOTR DOMARADZKI,
ROBERT PASTUSZKA, ANNA WÓJCIK-SAGANEK

WPLYW SEZONU NA SKŁAD CHEMICZNY I PROFIL KWASÓW TŁUSZCZOWYCH MLEKA KROWIEGO I KOZIEGO PRODUKOWANEGO W GOSPODARSTWACH EKOLOGICZNYCH

Streszczenie

W pracy analizowano podstawowy skład chemiczny i profil kwasów tłuszczowych w tłuszczu mleka krowiego i koziego, wyprodukowanego w certyfikowanych gospodarstwach ekologicznych Polski południowo-wschodniej. Oceniono 54 próbki mleka krowiego, w tym 28 pobranych na początku marca (sezon żywienia zimowego) i 26 – w końcu lipca (żywienie letnie) oraz 60 próbek mleka koziego (po 30 pobranych w tych samych terminach). Wykazano, że zawartość podstawowych składników w mleku krowim była większa ($p \leq 0,01$) niż w kozim, niezależnie od sezonu produkcji. Udziały kwasów nasyconych w tłuszczu mleka krowiego i koziego były na zbliżonym poziomie (suma odpowiednio: 70,08 i 71,75 %), przy czym mleko kozie charakteryzowało się istotnie ($p \leq 0,01$) większą zawartością krótko- i średniołańcuchowych kwasów tłuszczowych (SCFA + MCFA) – o 4,04 p.p.). Udział kwasów polienowych (PUFA) był istotnie ($p \leq 0,01$) wyższy w ocenianym mleku krowim. W mleku obu analizowanych gatunków zwierząt odnotowano wzrost udziału tych kwasów w okresie żywienia letniego (w krowim o 22 %, a w kozim o 27 %). Wynikało to głównie ze wzrostu zawartości sprzężonego kwasu linolowego (CLA) – w krowim o 38 %, a w kozim o 52 %, co należy zapewne wiązać z żywieniem zielonką pastwiskową. Sezon produkcji wpływał istotnie na zawartość 26 z 37 ocenianych kwasów tłuszczowych.

Słowa kluczowe: krowy, kozy, mleko, kwasy tłuszczowe, sezon żywienia

Wprowadzenie

Ważnym i dynamicznie rozwijającym się sektorem żywności ekologicznej w Unii Europejskiej jest produkcja mleka, która wynosi ok. 2,5 mld litrów [8]. Szacuje się, że w Polsce w 2012 r. wyprodukowano ok. 36 tys. ton takiego mleka [12]. Zgodnie

Prof. dr hab. J. Barłowska, dr inż. P. Domaradzki, mgr inż. R. Pastuszka, Katedra Towaroznawstwa i Przetwórstwa Surowców Zwierzęcych, prof. dr hab. Z. Litwińczuk, mgr inż. A. Wójcik-Saganek, Katedra Hodowli i Ochrony Zasobów Genetycznych Bydła, Wydz. Biologii i Hodowli Zwierząt, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, ul. Akademicka 13, 20-950 Lublin. Kontakt: joanna.barlowska@up.lublin.pl

z Rozporządzeniem Rady (WE) nr 834/2007 z dnia 28 czerwca 2007 [16] oraz krajowymi aktami prawnymi, w ekologicznym chowie przeżuwaczy podstawą żywienia jest zielonka pastwiskowa, a w zimowym – siano i kiszonki z runi łąkowej. Ograniczony jest natomiast udział pasz treściwych w dawce pokarmowej. Wykazano, że taki system żywienia zwierząt (udział w dawce pokarmowej świeżych zielonek) podwyższa koncentrację substancji biologicznie czynnych w mleku, zarówno frakcji białkowej, tj. α -laktoalbuminy, β -laktoglobuliny i laktoferyny [10], jak i tłuszczowej. Ellis i wsp. [7] stwierdzili, że mleko krowie z gospodarstw ekologicznych zawierało o 14 % więcej kwasów polienowych (PUFA), w tym o 40 % więcej kwasów z grupy $n-3$ w porównaniu z mlekiem z gospodarstw konwencjonalnych. Mleko to było również bogatszym źródłem kwasu wakcenenowego (o 15 %) i CLA (o 11 %). Tudisco i wsp. [21] również wskazują na większą o 20 % zawartość PUFA, w tym – o 33 % CLA, w tłuszczu mleka kóz utrzymywanych w systemie ekologicznym. Collomb i wsp. [6] przeanalizowali skład kwasów tłuszczowych mleka krów różnych ras, utrzymywanych w gospodarstwach ekologicznych i konwencjonalnych, znajdujących się w regionach górskich Szwajcarii i nie wykazali istotnych różnic pod względem zawartości nasyconych kwasów tłuszczowych. Mleko z gospodarstw ekologicznych zawierało jednak więcej PUFA (o 5,5 %), CLA (o 14,9 %), $n-3$ FA (o 12,3 %) i rozgałęzionych FA (o 4,7 %). Mleko z gospodarstw konwencjonalnych zawierało natomiast więcej MUFA (o 2,3 %) i $n-6$ FA (o 4,2 %). Autorzy twierdzą, że różnice (aczkolwiek niewielkie) w składzie kwasów tłuszczowych mleka pozyskiwanego od zwierząt z gospodarstw prowadzonych według różnych systemów mogą wynikać z większego udziału traw i mniejszego – pasz treściwych w dawkach pokarmowych podawanych zwierzętom w gospodarstwach ekologicznych.

Największą zawartością CLA charakteryzuje się mleko owcze, następnie krowie, a najmniejszą – kozie [13]. Większa zawartość krótkołańcuchowych kwasów tłuszczowych w połączeniu z podatnością tłuszczu mleka koziego na procesy lipolityczne jest przyczyną tzw. zapachu koziego [17]. Mleko kozie w porównaniu z krowim odznacza się także wyższą strawnością tłuszczu mlecznego, wynikającą z mniejszych rozmiarów kuleczek tłuszczowych (MFGs) oraz wyższego udziału kwasów krótko- i średniołańcuchowych [3, 9].

Celem pracy była ocena składu chemicznego i profilu kwasów tłuszczowych w mleku krowim i kozim, wyprodukowanym w gospodarstwach ekologicznych w okresie żywienia letniego i zimowego.

Material i metody badań

Oceniono 54 próbki mleka pobrane od krów rasy simentalskiej, z tego 28 – na początku marca (sezon żywienia zimowego) i 26 – w końcu lipca (żywienie letnie) oraz 60 próbek mleka pobranych od kóz mieszańców międzyrasowych (po 30 w tych sa-

mych terminach). Zwierzęta utrzymywano w 4 certyfikowanych gospodarstwach ekologicznych (w 2 – krowy i w 2 – kozy). Gospodarstwom utrzymującym kozy i krowy certyfikaty nadały odpowiednio: BIOCERT Małopolska Sp. z o.o. i Polskie Centrum Akredytacji oraz Biuro Certyfikacji COBICO Spółka z o.o. Gospodarstwa były zlokalizowane w makroregionie Polski – Pogórze Środkowobeskidzkie na wysokości 370 ÷ 430 m n.p.m. W sezonie zimowym podstawą żywienia kóz były siano (ok. 1,5 kg) i sianokiszonka (ok. 2 kg). Uzupełnieniem dawki pokarmowej była pasza treściwa w postaci śruty pszenno-owsianej (ok. 0,3 kg), która była podawana podczas doju o godzinie 7 i 19. Dawka pokarmowa dla krów w tym sezonie składała się z siana w ilości ok. 5 kg i sianokiszonki (ok. 15 kg). Ponadto krowy otrzymywały paszę treściwą (śrutę pszenżytnio-owsianą) w ilości ok. 2,0 kg podczas doju o godzinie 6 i 18. W sezonie letnim kozy korzystały do woli z zielonki pastwiskowej (od godziny 7:30 do godziny 18:30), a podczas doju podawano śrutę pszenno-owsianą w ilości ok. 0,3 kg. Wypas pastwiskowy krów trwał od godziny 6:30 do 17:30 i w tym czasie zwierzęta pobierały ok. 50 kg zielonki. Uzupełnieniem żywienia pastwiskowego było siano w ilości ok. 2 kg oraz śruta pszenżytnio-owsiana (ok. 2,0 kg) zadawane podczas porannego i wieczornego doju. Zarówno w okresie żywienia letniego, jak i zimowego kozy i krowy miały nieograniczony dostęp do świeżej wody.

Krowy i kozy doiono dwukrotnie w ciągu doby. Reprezentatywne próbki mleka o objętości 350 ml pobierano indywidualnie od każdego zwierzęcia z całego wieczornego doju dwukrotnie, tzn. na początku marca (żywienie zimowe) i przy końcu lipca (żywienie letnie). Przewożono je następnie w warunkach chłodniczych do laboratorium.

W każdej próbce mleka oznaczano podstawowy skład chemiczny, tj. zawartość tłuszczu, białka, laktozy i suchej masy aparatem Infrared Milk Analyzer (firmy Bentley, USA). Zawartość kwasów tłuszczowych oznaczano po uprzedniej ekstrakcji tłuszczu wg AOAC Method Nr 905.02 [1]. Zawarte w nim kwasy tłuszczowe przeprowadzano w estry metylowe (FAME) zgodnie z normą PN-EN ISO 12966-2:2011 [15]. Rozdział FAME przeprowadzano techniką chromatografii gazowej (GC) wg PN-EN ISO 12966-1:2015-01/AC [14] przy użyciu chromatografu Varian CG 3900 (WalnutCreek, CA USA) z detektorem płomieniowo-jonizacyjnym (FID). Zastosowano kolumnę kapilarną CP 7420 (Agilent Technologies, USA) o długości 100 m, średnicy wewnętrznej 0,25 mm i grubości filmu 0,25 µm. Początkowa temperatura pieca kolumny wynosiła 50 °C, a końcowa – 260 °C. Temperatura dozownika i detektora wynosiła 270 °C, przepływ gazu nośnego (wodoru) – 2 ml/min, ilość dozowanej próbki – 1 µl, współczynnik podziału 1 : 50. Identyfikację kwasów tłuszczowych prowadzono przez porównanie czasów retencji poszczególnych FAME obecnych w próbce z czasami retencji wzorców estrów metylowych kwasów tłuszczowych (firmy Sigma, Niemcy – Lipid Standard). Uzyskane wyniki wyrażano w postaci udziału procentowe-

go poszczególnych KT w całkowitej ilości estrów metylowych wg PN-EN ISO 12966-1:2015-01/AC [14]. Stosowano program Star GC Workstation ver. 5.5.

W ocenie profilu kwasów tłuszczowych wyodrębniono następujące grupy:

- nasycone kwasy tłuszczowe (SFA), w tym krótko- i średniołańcuchowe (SCFA+MCFA), wśród których uwzględniono kwasy od C4:0 do C12:0 oraz długołańcuchowe (LCFA) – od C13:0 do C22:0;
- nienasycone kwasy tłuszczowe (UFA), w tym monoenowe (MUFA) i polienowe (PUFA).

Wyniki opracowano statystycznie za pomocą programu StatSoft Inc. Statistica, wykorzystując jedno- i dwuczynnikową analizę wariancji (z interakcją), wyróżniając jako źródło zmienności gatunek zwierząt oraz sezon żywienia. Istotność różnic pomiędzy średnimi wartościami poszczególnych czynników wyznaczano testem Tukeya HSD.

Wyniki i dyskusja

Zawartość podstawowych składników w mleku krowim, tj. suchej masy, w tym tłuszczu, białka i laktozy była większa niż w kozim, niezależnie od miesiąca pozyskania (tab. 1). Soliman [18], po porównaniu składu chemicznego mleka różnych gatunków zwierząt, podaje również, że mleko krowie zawierało więcej składników suchej masy w porównaniu z mlekiem kozim (odpowiednio: 13,30 i 12,62 %), tłuszczu (odpowiednio: 4,14 i 4,04 %) oraz laktozy (odpowiednio: 4,70 i 4,27 %). Podobne tendencje wykazali także Mahmood i Usman [11]. Barłowska i wsp. [2] porównali skład chemiczny i wybrane parametry przydatności technologicznej mleka koziego produkowanego w gospodarstwie ekologicznym i konwencjonalnym i wykazali, że kozy z tego pierwszego produkowały średnio o 0,2 kg mniej mleka. Przebieg laktacji u tych zwierząt był jednak bardziej wyrównany. Średnia zawartość podstawowych składników (tłuszczu, białka, laktozy, suchej masy), a także kazeiny była istotnie mniejsza w mleku kóz z gospodarstwa ekologicznego. Mleko to miało również istotnie krótszy czas krzepnięcia po wpływie podpuszczki.

W badaniach własnych mleko obu gatunków zwierząt produkowane w okresie żywienia letniego charakteryzowało się większą zawartością suchej masy (w krowim o 0,2 p.p., a w kozim o 0,57 p.p.). Wynikało to przede wszystkim z większej zawartości białka w mleku obu gatunków (w krowim o 0,31 p.p., a w kozim o 0,14 p.p.) i tłuszczu w kozim, w tym sezonie (tab. 1). Różnice wykazane między sezonami pod względem wydajności dobowej i składu mleka krow i kóz użytkowanych w gospodarstwach ekologicznych związane są, obok żywienia, w pewnym stopniu także ze stadium ich laktacji. U kóz, podobnie jak u owiec, występuje sezonowość aktywności płciowej. Faza laktacji jest zatem związana z sezonem produkcji. Jej początek przypada na pierwsze miesiące roku, a więc na okres żywienia zimowego paszami konser-

wowanymi. Krowy utrzymywane w gospodarstwach ekologicznych wycielają się z reguły na przełomie zimy i wiosny (aby obniżyć koszty żywienia). Po rozpoczęciu wypasu (młoda zielonka pastwiskowa) wydajność krów i kóz zauważalnie wzrasta.

Suma kwasów nasyconych w mleku krowim i kozim (tab. 2) była na zbliżonym poziomie (średnio 70,08 i 71,75 %), jednak to ostatnie charakteryzowało się większą (o 4,04 p.p.) zawartością krótko- i średniołańcuchowych KT (SCFA+MCFA). W mleku krowim wyższy był udział kwasów C4:0 i C6:0, przy czym masłowego (C4:0) było aż 4-krotnie więcej. W mleku kozim wyższy był natomiast udział KT C8:0 i C10:0, z tym że tego drugiego było ponad 3-krotnie więcej. Należy zaznaczyć, że niezależnie od miesiąca pobrania próbek (początek marca lub koniec lipca) zależności te były zachowane. W okresie żywienia zimowego udział kwasów SCFA+MCFA w mleku kozim był wyższy o ponad 10 %, a w krowim o ok. 9 %. Wyższy udział kwasów średniołańcuchowych (C8:0 – C10:0) w mleku kozim (syntetyzowanych *de novo* w gruczole mlekowym) potwierdzają Chilliard i wsp. [5]. Ceballos i wsp. [4] podają, że tłuszcz mleka koziego w porównaniu z tłuszczem mleka krowiego zawierał o 69,9 % więcej kwasu C8:0, o 80,2 % – C10:0, a mniej o 75 % – C4:0.

Także suma zawartości kwasów monoenowych (MUFA) w mleku obydwu gatunków zwierząt była zbliżona (krowie – średnio 25,69 %, kozie – 24,72 %) – tab. 3. Wykazano istotny ($p \leq 0,01$) wpływ sezonu żywienia na udział tych kwasów, przy czym w mleku krowim różnice te były większe (16 vs 5 %). Wynikało to głównie ze wzrostu o 17 % udziału kwasu oleinowego (C18:1 *c9 n9*) w mleku krowim, w sezonie letnim, a w kozim o ok. 7 % (tab. 3). W okresie tym (żywienia letniego) zaobserwowano także znaczący wzrost udziału kwasów o konfiguracji *trans*, w tym najważniejszego – wakcenenowego (w krowim 2,2-krotnie, a w kozim aż 3-krotnie). Talpur i wsp. [19] twierdzą, że w mleku kóz występuje nieznacznie mniej kwasu C18:1 niż w mleku krów, jednak w obu surowcach jego zawartość wzrasta w okresie żywienia letniego.

Udział kwasów polienowych (PUFA) był istotnie ($p \leq 0,01$) wyższy (o 16,5 %) w mleku krowim (tab. 4). Tsiplakou i Zervas [20] twierdzą, że największą zawartość kwasu wakcenenowego i CLA obserwuje się zazwyczaj w mleku owiec, następnie krów, a najmniejszą – w mleku kóz. Sugerują, że rozbieżności międzygatunkowe pod względem zawartości CLA mogą wynikać także z różnic aktywności $\Delta 9$ -desaturazy. W mleku obu gatunków zwierząt stwierdzono wzrost udziału sumy kwasów polienowych w okresie żywienia letniego (koniec lipca), tzn. w krowim o 22 % i kozim – o 27 %. Wynikało to głównie ze wzrostu zawartości CLA (w krowim o 38 %, a w kozim o 52 %).

Tabela 1. Wydajność dobową i podstawowy skład chemiczny mleka krowiego i koziego, w zależności od sezonu żywienia

Table 1. Daily yield and basic chemical composition of cow's and goat's milk depending on the feeding season

Wyszczególnienie Itemization	Gatunek Species		Sezon żywienia Feeding season				Wpływ czynnika Impact of factor		Interakcja gatunek × sezon Interaction: species × season
	Krowy Cow	Kozy Goat	Zimowy Winter		Letni Summer		Gatunek Species	Sezon Season	
			Krowy Cow	Kozy Goat	Krowy Cow	Kozy Goat			
n	54	60	28	30	26	30			
Wydajność do- bową mleka Daily milk yield [kg]	16,96 ± 6,67	1,77 ± 0,64	14,34 ^B ± 4,75	1,61 ^A ± 0,66	19,03 ^B ± 7,37	1,95 ^A ± 0,58	***	**	ns
Zawartość tłuszcza Fat content [%]	3,91 ± 0,49	3,11 ± 0,54	3,89 ^B ± 0,45	2,74 ^A ± 0,38	3,92 ^b ± 0,53	3,51 ^a ± 0,38	***	**	**
Zawartość białka Protein content [%]	3,27 ± 0,32	2,71 ± 0,63	3,10 ± 0,30	2,64 ± 0,76	3,41 ^A ± 0,28	2,78 ^B ± 0,45	***	**	ns
Zawartość lak- tozy Lactose content [%]	4,84 ± 0,28	4,27 ± 0,52	4,93 ^b ± 0,28	4,43 ^a ± 0,63	4,78 ^B ± 0,28	4,10 ^A ± 0,31	***	***	ns
Zawartość suchej masy / Dry matter content [%]	12,72 ± 0,76	10,79 ± 0,72	12,61 ^B ± 0,67	10,52 ^A ± 0,62	12,81 ^B ± 0,83	11,09 ^A ± 0,74	***	*	***

Objaśnienia: / Explanatory notes:

W tabeli przedstawiono wartości średnie ± odchylenia standardowe / Table shows mean values and standard deviation; n=114;

A, B – różnice między gatunkami w obrębie sezonu statystycznie istotne przy $p \leq 0,01$ / statistically significant differences between species within the season at $p \leq 0,01$; a, b – istotne przy $p \leq 0,05$ / significant at $p \leq 0,05$; wpływ czynnika / impact of factor: * – istotny przy $p \leq 0,05$ / significant at $p \leq 0,05$; ** – przy $p \leq 0,01$ / at $p \leq 0,01$; *** – przy $p \leq 0,001$ / at $p \leq 0,001$; ns – nieistotny / insignificant.

Tabela 2. Zawartość nasyconych kwasów tłuszczowych w mleku krowim i kozim, w zależności od sezonu żywienia

Table 2. Concentration of saturated fatty acids in cow's and goat's milk depending on the feeding season

Kwasy tłuszczowe Fatty acids [%]	Gatunek Species		Sezon żywienia / Feeding season				Wpływ czynnika Impact of factor		Interakcja gatunek × sezon Interaction: species × season
	Krowy Cow	Kozy Goat	Zimowy Winter		Letni Summer		Gatunek Species	Sezon Season	
			Krowy Cow	Kozy Goat	Krowy Cow	Kozy Goat			
n	54	60	28	30	26	30			
C4:0	4,12 ± 0,46	0,93 ± 0,19	4,57 ^B ± 0,22	0,99 ^A ± 0,17	3,66 ^B ± 0,15	0,86 ^A ± 0,12	***	*	ns
C6:0	2,15 ± 0,40	1,53 ± 0,23	2,34 ^B ± 0,45	1,67 ^A ± 0,17	1,95 ^B ± 0,37	1,38 ^A ± 0,18	**	*	*
C8:0	1,15 ± 0,35	2,95 ± 0,39	1,25 ^A ± 0,35	3,17 ^B ± 0,29	1,04 ^A ± 0,35	2,72 ^B ± 0,35	***	**	ns
C10:0	2,31 ± 0,82	8,36 ± 1,79	2,22 ^A ± 0,85	8,19 ^B ± 1,09	2,40 ^A ± 0,82	8,53 ^B ± 1,62	***	*	**
C11:0	0,03 ± 0,01	0,05 ± 0,01	0,03 ^a ± 0,01	0,05 ^b ± 0,01	0,03 ^A ± 0,01	0,04 ^B ± 0,01	**	ns	ns
C12:0	3,13 ± 0,80	3,08 ± 0,88	3,04 ± 0,96	2,70 ± 0,99	3,21 ± 0,69	3,46 ± 0,53	ns	ns	ns
C13:0	0,09 ± 0,03	0,08 ± 0,02	0,10 ^b ± 0,03	0,08 ^a ± 0,03	0,08 ± 0,02	0,07 ± 0,01	*	ns	ns
C14:0	11,76 ± 1,57	10,24 ± 2,20	11,72 ^B ± 2,01	9,60 ^A ± 2,48	11,79 ^b ± 1,20	10,88 ^a ± 0,98	***	ns	**
C15:0	1,74 ± 0,32	1,35 ± 0,36	1,94 ^b ± 0,32	1,54 ^a ± 0,42	1,54 ^B ± 0,19	1,16 ^A ± 0,12	***	***	ns
C16:0	30,92 ± 2,16	28,47 ± 1,63	32,40 ^B ± 4,44	28,42 ^A ± 2,61	29,44 ± 2,33	28,51 ± 2,26	***	*	***
C17:0	0,88 ± 0,20	1,00 ± 0,37	1,01 ^A ± 0,19	1,33 ^B ± 0,19	0,75 ^b ± 0,11	0,67 ^a ± 0,07	**	ns	***
C18:0	11,61 ± 2,19	13,55 ± 3,56	11,93 ± 2,41	13,99 ± 4,15	11,28 ^A ± 1,89	13,10 ^B ± 1,83	**	ns	ns
C20:0	0,14 ± 0,05	0,05 ± 0,01	0,17 ^B ± 0,05	0,04 ^A ± 0,01	0,10 ^B ± 0,03	0,05 ^A ± 0,01	***	*	***
C22:0	0,08 ± 0,02	0,11 ± 0,06	0,08 ^A ± 0,02	0,14 ^B ± 0,06	0,07 ± 0,02	0,07 ± 0,02	*	**	*
Σ SCFA+MCFA	12,88 ± 2,60	16,92 ± 3,31	13,45 ^A ± 2,88	17,85 ^B ± 3,20	12,30 ^A ± 2,41	15,99 ^B ± 1,96	**	**	*
Σ LCFA	57,20 ± 2,52	54,83 ± 3,26	59,35 ^B ± 3,62	55,14 ^A ± 3,10	55,05 ^a ± 2,04	54,51 ^b ± 2,47	**	**	***
Σ SFA	70,08 ± 4,80	71,75 ± 6,39	72,80 ± 5,75	72,99 ± 4,40	67,35 ^A ± 3,33	70,50 ^B ± 2,77	ns	***	***

Objaśnienia: / Explanatory notes:

SCFA – krótkołańcuchowe kwasy tłuszczowe / short-chain fatty acids; MCFA – średniołańcuchowe kwasy tłuszczowe / medium-chain fatty acids; LCFA – długołańcuchowe kwasy tłuszczowe / long-chain fatty acids; SFA – nasycone kwasy tłuszczowe / saturated fatty acids; Pozostałe objaśnienia jak pod tab. 1. / Other explanatory notes as in Tab. 1.

Tabela 3. Zawartość monoenurowych kwasów tłuszczowych w mleku krowim i kozim, w zależności od sezonu żywienia

Table 3. Concentration of monounsaturated fatty acids in cow's and goat's milk depending on the feeding season

Kwasy tłuszczowe Fatty acids [%]	Gatunek Species		Sezon żywienia Feeding season				Wpływ czynnika Influence of the factor		Interakcja gatunek × sezon Interaction species × season
	Krowy Cow	Kozy Goat	Zimowy Winter		Letni Summer		Gatunek Species	Sezon Season	
			Krowy Cow	Kozy Goat	Krowy Cow	Kozy Goat			
C10:1	0,32 ± 0,13	0,09 ± 0,04	0,37 ^B ± 0,10	0,09 ^A ± 0,04	0,26 ^B ± 0,14	0,09 ^A ± 0,03	***	**	ns
C14:1	0,49 ± 0,36	0,49 ± 0,17	0,45 ^A ± 0,11	0,57 ^B ± 0,20	0,53 ^B ± 0,12	0,41 ^A ± 0,04	ns	ns	*
C15:1	0,38 ± 0,09	0,35 ± 0,11	0,43 ± 0,09	0,42 ± 0,10	0,33 ^B ± 0,06	0,27 ^A ± 0,05	*	*	ns
C16:1c7 n9	0,25 ± 0,04	0,44 ± 0,11	0,25 ^A ± 0,06	0,52 ^B ± 0,07	0,24 ^A ± 0,02	0,35 ^B ± 0,05	***	*	***
C16:1c9 n7	1,46 ± 0,24	0,77 ± 0,38	1,70 ^B ± 0,28	1,10 ^A ± 0,23	1,21 ^B ± 0,15	0,44 ^A ± 0,09	***	***	***
C17:1	0,35 ± 0,07	0,40 ± 0,25	0,40 ^A ± 0,06	0,62 ^B ± 0,13	0,29 ^B ± 0,04	0,17 ^A ± 0,04	*	***	***
Σ C18:1 od t6 do t11	2,05 ± 1,59	1,82 ± 1,14	1,30 ± 1,01	0,93 ± 0,40	2,80 ^b ± 0,97	2,70 ^a ± 0,84	ns	***	***
C18:1c9 n9	19,1 ± 3,48	19,67 ± 6,66	17,62 ^A ± 4,57	18,97 ^B ± 3,22	21,19 ^a ± 2,50	20,36 ^b ± 4,61	ns	***	***
C18:1c11 n7	0,70 ± 0,11	0,59 ± 0,11	0,70 ± 0,15	0,67 ± 0,08	0,70 ^B ± 0,07	0,50 ^A ± 0,05	**	ns	ns
C20:1c11 n9	0,11 ± 0,04	0,06 ± 0,04	0,11 ^b ± 0,02	0,08 ^a ± 0,04	0,11 ^b ± 0,05	0,03 ^a ± 0,02	***	*	*
C20:1 n7	0,20 ± 0,11	0,07 ± 0,04	0,15 ^b ± 0,08	0,06 ^a ± 0,03	0,24 ^B ± 0,13	0,08 ^A ± 0,04	***	***	ns
Σ MUFA	25,69 ± 4,26	24,72 ± 6,47	23,48 ^A ± 5,29	24,03 ^B ± 4,46	27,90 ^B ± 3,12	25,40 ^A ± 2,83	ns	***	***

Objaśnienia: / Explanatory notes:

MUFA – monoenurowe kwasy tłuszczowe / monounsaturated fatty acids.

Pozostałe objaśnienia jak pod tab. 1. / Other explanatory notes as in Tab. 1.

Tabela 4. Zawartość polienowych kwasów tłuszczowych w mleku krowim i kozim, w zależności od sezonu żywienia

Table 4. Concentration of polyunsaturated fatty acids in cow's and goat's milk depending on feeding season

Kwasy tłuszczowe Fatty acids [%]	Gatunek Species		Sezon żywienia Feeding season				Wpływ czynnika Impact of factor		Interakcja gatunek × sezon Interaction: species ×season
	Krowy Cow	Kozy Goat	Zimowy Winter		Letni Summer		Gatunek Species	Sezon Season	
			Krowy Cow	Kozy Goat	Krowy Cow	Kozy Goat			
C18:2 <i>t</i> 12	0,11 ± 0,05	0,20 ± 0,03	0,11 ^A ± 0,06	0,21 ^B ± 0,03	0,11 ^A ± 0,03	0,19 ^B ± 0,02	***	**	**
C18:2 <i>c</i> 9 <i>t</i> 12	0,12 ± 0,06	0,16 ± 0,03	0,10 ± 0,04	0,15 ± 0,03	0,14 ± 0,07	0,16 ± 0,03	ns	ns	ns
C18:2 <i>c</i> 9 <i>c</i> 12 n6	0,88 ± 0,37	0,43 ± 0,37	0,73 ^b ± 0,22	0,55 ^a ± 0,21	1,02 ^B ± 0,19	0,30 ^A ± 0,45	**	*	***
C18:3 <i>c</i> 6,9,12 n6	0,09 ± 0,03	0,15 ± 0,28	0,07 ± 0,02	0,10 ± 0,13	0,11 ^A ± 0,03	0,20 ^B ± 0,07	**	*	ns
C18:3 <i>c</i> 9,12,15 n3	1,47 ± 0,25	0,51 ± 0,22	1,39 ^B ± 0,28	0,34 ^A ± 0,12	1,55 ^B ± 0,15	0,67 ^A ± 0,17	***	***	***
Σ CLAc9 <i>t</i> 11+ <i>t</i> 9 <i>c</i> 11	1,07 ± 0,42	0,89 ± 0,12	0,82 ^B ± 0,10	0,58 ^A ± 0,09	1,32 ^B ± 0,37	1,20 ^A ± 0,11	***	***	***
C20:2	0,11 ^X ± 0,29	0,83 ^Y ± 0,77	0,09 ^A ± 0,41	0,56 ^B ± 0,15	0,13 ^A ± 0,09	1,10 ^B ± 0,76	***	**	***
C 20:3 <i>c</i> 8,11,14 n6	0,07 ± 0,03	0,04 ± 0,03	0,07 ^b ± 0,01	0,02 ^a ± 0,00	0,06 ± 0,03	0,05 ± 0,02	*	ns	ns
C20:4	0,08 ± 0,02	0,12 ± 0,05	0,08 ^A ± 0,02	0,16 ^B ± 0,03	0,08 ± 0,02	0,08 ± 0,02	***	*	***
C20:5	0,09 ± 0,03	0,06 ± 0,02	0,08 ± 0,03	0,07 ± 0,02	0,10 ^B ± 0,02	0,04 ^A ± 0,01	***	*	***
C22:5	0,15 ± 0,05	0,13 ± 0,07	0,17 ± 0,06	0,18 ± 0,07	0,12 ^B ± 0,04	0,07 ^A ± 0,03	*	*	*
C22:6	0,01 ± 0,02	0,05 ± 0,02	0,01 ^A ± 0,01	0,06 ^B ± 0,02	0,01 ^A ± 0,03	0,04 ^B ± 0,01	***	ns	*
Σ PUFA	4,24 ± 0,86	3,54 ± 0,56	3,72 ^B ± 0,60	2,98 ^A ± 0,45	4,75 ^B ± 0,46	4,10 ^A ± 0,64	***	***	***

Objaśnienia: / Explanatory notes:

CLA – sprzężony kwas linolowy / conjugated linoleic acid; PUFA – polienowe kwasy tłuszczowe / poly-unsaturated fatty acids.

Pozostałe objaśnienia jak pod tab. 1. / Other explanatory notes as in Tab. 1.

Wyniki obliczeń statystycznych przedstawione w tabelach 2 - 4 wskazują na wiele istotnych interakcji (gatunek × sezon produkcji) dotyczących zawartości poszcze-

gólnych kwasów tłuszczowych w ocenianym mleku. Najwięcej interakcji stwierdzono w przypadku zawartości kwasów polienowych, tzn. 9 na 12 ocenianych.

Wnioski

1. Mleko krowie (w porównaniu z kozim) produkowane w gospodarstwach ekologicznych zawierało istotnie więcej podstawowych składników, przy podobnym udziale w tłuszczu mleka sumy kwasów nasyconych (SFA) i monoenowych (MUFA), jednak z wyraźnie zaznaczonymi różnicami w udziale poszczególnych kwasów.
2. Mleko obu gatunków zwierząt produkowane w okresie żywienia letniego charakteryzowało się większą zawartością suchej masy. Wynikało to przede wszystkim z większej zawartości białka w mleku obu gatunków zwierząt i tłuszczu w mleku kozim w tym sezonie.
3. Sezon produkcji istotnie wpływał na zawartość 26 z 37 ocenianych kwasów tłuszczowych, nie miał natomiast wpływu na zawartość kwasów: undekanowego, dodekanowego (laurynowego), tridekanowego, tetradekanowego (mirystynowego), heptadekanowego (margarynowego), oktadekanowego (stearynowego), *cis*- Δ^9 -tetradekenowego (mirystooleinowego), *cis*- Δ^{11} -oktadekenowego, *cis*, *trans* $\Delta^{9,12}$ -oktadekadienowego i *all cis*- $\Delta^{8,11,14}$ -ikozatrienowego (dihomo- γ -linolenowego).

Literatura

- [1] AOAC:2000. Official Methods of Analysis. International. Method Nr IDF-ISO-AOAC Nr 905.02. Gravimetric method (Röse-Gottlieb).
- [2] Barłowska J., Litwińczuk Z., Wolanciuk A., Szmatoła T.: Chemical composition and selected parameters of technological suitability of caprine milk produced in organic and conventional farms. *Ital. J. Food Sci.*, 2013, **25** (1), 105-108.
- [3] Barłowska J., Sz wajkowska M., Litwińczuk Z., Król J.: Nutritional value and technological suitability of milk from various animal species used for dairy production. *Comp. Rev. Food Sci. F.*, 2011, **10** (6), 291-302.
- [4] Ceballos L.S., Morales E.R., De la Torre Adarve G., Castro J.D., Martínez L.P., Sampelayo M.R.S.: Composition of goat and cow milk produced under similar conditions and analyzed by identical methodology. *J. Food Comp. Anal.*, 2009, **22** (4), 322-329.
- [5] Chilliard Y., Ferlay A., Rouel J., Lambert G.: A review of nutritional and physiological factors affecting goat milk lipid synthesis and lipolysis. *J. Dairy Sci.*, 2003, **86**, 1751-1770.
- [6] Collomb M., Bisig W., Bütikofer U., Sieber R., Bregy M., Etter L.: Fatty acid composition of mountain milk from Switzerland: Comparison of organic and integrated farming systems. *Int. Dairy J.*, 2008, **18**, 976-982.
- [7] Ellis K.A., Innocent G.T., Grove-White D., Cripps P., Mclean W.G., Howard C.V., Mihm M.: Comparing the fatty acid composition of organic and conventional milk. *J. Dairy Sci.*, 2006, **89**, 1938-1950.

- [8] Gabryszuk M., Sakowski T., Metera E., Kuczyńska B., Rembiałkowska E.: Wpływ żywienia na zawartość składników bioaktywnych w mleku krów z gospodarstw ekologicznych. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2013, **88** (3), 16-26.
- [9] Kompan D., Komprej A.: The effect of fatty acids in goat milk on Health. In: Milk production - an up-to-date overview of animal nutrition, management and health. Ed. Narongsak Chaiyabutr. In Tech - Open Access Publisher, Chapter 1, 2012, pp. 3-28.
- [10] Król J., Litwińczuk Z., Litwińczuk A., Brodziak A.: Content of protein and its fractions in milk of simmental cows with regard to rearing technology. *Ann. Anim. Sci.*, 2008, **8** (1), 57-61.
- [11] Mahmood A., Usman S.A.: Comparative study on the physicochemical parameters of milk samples collected from buffalo, cow, goat and sheep of Gujrat, Pakistan. *Pak. J. Nutr.*, 2010, **12** (9), 1192-1197.
- [12] Ramowy plan działań dla żywności i rolnictwa ekologicznego w Polsce na lata 2014-2020. Ministerstwo Rolnictwa i Rozwoju Wsi. Warszawa 2014.
- [13] Park Y.W., Juárez M., Ramos M., Haenlein G.F.W.: Physico-chemical characteristic of goat and sheep milk. *Small Ruminant Res.*, 2007, **68**, 88-113.
- [14] PN-EN ISO 12966-1:2015-01/AC. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Chromatografia gazowa estrów metylowych kwasów tłuszczowych. Część 1. Przewodnik do nowoczesnej chromatografii gazowej estrów metylowych kwasów tłuszczowych.
- [15] PN-EN ISO 12966-2:2011. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Chromatografia gazowa estrów metylowych kwasów tłuszczowych. Część 2. Przygotowanie estrów metylowych kwasów tłuszczowych.
- [16] Rozporządzenie Rady (WE) nr 834/2007 z dnia 28 czerwca 2007 r. w sprawie produkcji ekologicznej i znakowania produktów ekologicznych i uchylające rozporządzenie (EWG) nr 2092/91
- [17] Silanikove N., Leitner G., Merin U., Prosser C.G.: Recent advances in exploiting goat's milk: Quality, safety and production aspects. *Small Ruminant Res.*, 2010, **89**, 110-124.
- [18] Soliman G.Z.A.: Comparison of chemical and mineral content of milk from human, cow, buffalo, camel and goat in Egypt. *Egypt J. Hosp. Med.*, 2005, **21**, 116-130.
- [19] Talpur E.N., Bhangar M.I., Khooharo A.A., Memon G.Z.: Seasonal variation in fatty acid composition of milk from ruminants reared under the traditional feeding system of Sindh, Pakistan. *Livest. Sci.*, 2008, **118**, 166-172.
- [20] Tsiplakou E., Zervas G.: Comparative study between sheep and goats on rumenic acid and *vaccenic* acid in milk fat under the same dietary treatments. *Licest. Sci.*, 2008, **119**, 87-94.
- [21] Tudisco R., Cutrignelli M.I., Calabro S., Piccolo G., Bovera F., Guglielmelli A., Moniello G., Infascelli F.: Influence of organic systems on milk fatty acid profile and CLA in goats. *Small Ruminant Res.*, 2010, **88**, 151-155.

IMPACTT OF SEASON ON CHEMICAL COMPOSITION AND FATTY ACID PROFILE OF COW'S AND GOAT'S MILK PRODUCED IN ORGANIC FARMS

S u m m a r y

In the research study, there were analyzed the basic chemical composition and fatty acids profile in the fat of cow's and goat's milk produced in certified organic farms in southeastern Poland. A total of 54 samples of cow's milk were evaluated including 28 samples collected at the beginning of March (winter feeding season), 26 samples at the end of July (summer feeding), and 60 samples of goat's milk (30 samples in each feeding season collected on the same dates as those of cow's milk). The contents of the basic components of cow's milk were proved to be higher ($p \leq 0.01$) than that of the goat's milk, irrespective of

the production season. The amount of saturated fatty acids in the cow's and goat's milk fat was at the same level (in total: 70.08 % and 71.75 %, respectively); however, the goat's milk was characterized by a significantly ($p \leq 0.01$) higher (4.04 pp.) content of short-chain and medium-chain fatty acids (SCFA+MCFA). The amount of polyunsaturated fatty acids (PUFA) was significantly ($p \leq 0.01$) higher in the cow's milk. In the milk of the two animal species, an increase was reported in the amount of those acids during the summer feeding period (22 % in the cow's milk and 27 % in the goat's milk). This fact was mainly owing to the increase in the amount of conjugated linoleic acid (CLA; 38 % in the cow's milk and 52 % in the goat's milk), which should most probably be linked with the pasture forage in the animals food diet. The production season significantly impacted the content of 26 fatty acids out of the 37 analysed.

Key words: cows, goats, milk, fatty acids, feeding season ☒

**Zakład Higieny i Zarządzania Jakością Żywności
Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie
Katedra Technologii Mięsa i Zarządzania Jakością
Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie**

oraz

Polskie Towarzystwo Technologów Żywności - Zarząd Główny

zapraszają na

**KROKUSOWE
VII SYMPOZJUM NAUKOWE
„Probiotyki w żywności“**

Kiry k. Zakopanego

20-22 kwietnia 2016

**Kontakt: dr inż. Barbara Sionek
e-mail: barbara_sionek@sggw.pl**

ANNA MILCZAREK, MARIA OSEK

JAKOŚĆ MIĘSA ŚWIŃ RASY PUŁAWSKIEJ ŻYWIANYCH MIESZANKĄ Z UDZIAŁEM BOBIKU NISKOTANINOWEGO

Streszczenie

Materiał doświadczalny stanowiło 30 mięśni *longissimus lumborum* i 30 mięśni *semimembranosus* pobranych ze świń rasy puławskiej z 2 równolicznych grup żywieniowych (I, II). Zwierzęta grupy I (kontrolnej) żywione były mieszanką zawierającą jęczmień, pszenżyto, poekstrakcyjną śrutę sojową i dodatki mineralno-witaminowe, natomiast tuczniaki grupy doświadczalnej otrzymywały mieszankę, do której wprowadzono 10 % nasion bobiku niskotaninowego w miejsce części poekstrakcyjnej śruty sojowej. Zastąpienie w mieszance części sojowej śruty poekstrakcyjnej śrutą z bobiku nie miało statystycznie istotnego ($p \geq 0,05$) wpływu na zawartość składników podstawowych i związków mineralnych oraz na udział nasyconych i nienasyconych kwasów tłuszczowych w lipidach obu analizowanych mięśni. Wpłynęło jednak istotnie ($p \leq 0,05$) na zwiększenie w mięśniach *longissimus lumborum* i *semimembranosus* tuczniaków z grupy II zawartości kwasu α -linolenowego odpowiednio: o 0,02 i 0,01 % oraz dihomo- γ -linolenowego – o 0,18 i 0,05 %. Zastosowany skład mieszanki paszowej dla świń rasy puławskiej nie miał wpływu na odczyn mięśni (pH₁ i pH₂₄) oraz wodochłonność i parametry barwy L* i b* obydwu mięśni. Mięśnie świń doświadczalnych cechowały się większym nasyceniem barwy czerwonej (a*), aczkolwiek różnica jako statystycznie istotna ($p \leq 0,05$) została potwierdzona tylko w przypadku *m. longissimus lumborum*. Mięśnie *longissimus lumborum* i *semimembranosus* świń otrzymujących mieszankę z bobikiem charakteryzowały się istotnie ($p \leq 0,05$) mniejszym wyciekaniem naturalnym (odpowiednio: o ok. 20 % i o ok. 10 %) oraz lepszymi walorami smakowymi, w szczególności wyróżnikami tekstury – soczystością i kruchością.

Słowa kluczowe: świnię rasy puławskiej, żywienie, bobik niskotaninowy, jakość wieprzowiny

Wprowadzenie

Mięso wieprzowe zalicza się do cennych składników diety człowieka, głównie ze względu na zawartość pełnowartościowego białka oraz istotnej ilości dobrze przyswa-

Dr inż. A. Milczarek, prof. dr hab. M. Osek, Katedra Żywienia Zwierząt i Gospodarki Paszowej, Wydz. Przyrodniczy, Uniwersytet Przyrodniczo-Humanistyczny w Siedlcach, ul. B. Prusa 14, 08-110 Siedlce, Kontakt: amilczarek@uph.edu.pl

jalnego żelaza, cynku, selenu i miedzi. Dodatkową cechą mięsa jest duża zawartość witamin z grupy B i antyoksydacyjnych, a także związków bioaktywnych (tauryny, karnozyny, ubichinonu, kreatyny itp.). Pod względem żywieniowym bardzo ważna jest również zawartość tłuszczu i jego profil kwasów tłuszczowych, w którym znaczną część stanowią nasycone kwasy tłuszczowe [20].

Konsumenci poszukują mięsa kulinarnego, które będzie spełniało ich oczekiwania dotyczące zarówno właściwości sensorycznych, jak i walorów prozdrowotnych. Większość konsumentów preferuje jasnoróżową barwę mięsa z minimalnym otluszczeniem i wyciekaniem soku mięsnego. Ciemnoczerwona barwa mięsa i duży wyciek związane są z utratą jego świeżości [15]. W przypadku mięsa po obróbce cieplnej największą uwagę zwraca się na jego jakość sensoryczną, tj. smakowość, kruchość oraz soczystość, które zależą od wycieku soku mięsnego i zawartości tłuszczu. Projektując nowy produkt mięsny, wytwórca musi uwzględnić czynniki wpływające na jego jakość, takie jak: rasa świń, ich genotyp, sposób żywienia, postępowanie ze zwierzętami podczas obrotu przedubojowego oraz postępowanie z surowcem po uboju [5, 9, 13, 18, 19, 24].

Atrakcyjnym surowcem może być mięso świń rasy puławskiej. Jest to rodzima rasa zwierząt z terenu wschodniej Lubelszczyzny i zachodniego Mazowsza. W porównaniu z rasami typowo mięsnymi charakteryzuje się niższymi wartościami wskaźników tuczu (mniejszymi przyrostami dobowymi i większym zużyciem paszy), mniejszą mięsnością i nieznacznie większym otluszczeniem, ale mięsem o wyraźnie wyższej jakości [19, 25]. Jednym z istotnych elementów wpływających na wysoką jakość wieprzowiny jest struktura włókienek mięśniowych i zawartość tłuszczu śródmięśniowego (IMF), które decydują o parametrach sensorycznych mięsa (i jego przetworów), a głównie o jego smakowości. Stwarza to m.in. możliwość wykorzystania mięsa świń rasy puławskiej do produkcji wyrobów markowych, np. szynki puławskiej [2, 19].

Ważnym czynnikiem środowiskowym wpływającym na jakość, w tym na wartość odżywczą wieprzowiny jest żywienie zwierząt. Podstawą dawki pokarmowej świń są zboża uzupełniane surowcami wysokobiałkowymi, najczęściej poekstrakcyjną śrutą sojową, którą próbuje się zastępować np. nasionami roślin strączkowych [10, 14, 17, 24]. Wykorzystanie nasion roślin bobowatych w mieszankach dla zwierząt monogastrycznych jest ograniczone obecnością w nasionach różnych substancji przeciwżywniowych. W nasionach bobiku odmian tradycyjnych są to głównie taniny. Prace hodowlane doprowadziły już do wytworzenia wielu odmian bobiku niskotaninowego, co pozwala na wykorzystanie ich jako źródeł białka w mieszankach paszowych dla zwierząt monogastrycznych [11, 14, 17].

Celem podjętych badań było określenie właściwości fizykochemicznych i sensorycznych mięśni *longissimus lumborum* i *semimembranosus* świń rasy puławskiej żywionych mieszanką z udziałem bobiku niskotaninowego.

Material i metody badań

Material doświadczalny stanowiło 60 mięśni pobranych ze świń (wieprzków) rasy puławskiej, pochodzących z dwóch równolicznych grup żywieniowych (I i II). Zwierzęta grupy I (kontrolnej) żywiono mieszanką pełnoporcjową zawierającą jęczmień, pszenżyto, poekstrakcyjną śrutę sojową i dodatki mineralno-witaminowe, natomiast tuczniczki grupy doświadczalnej (grupy II) otrzymywały mieszankę pełnoporcjową, do której wprowadzono 10 % nasion bobiku niskotaninowego w miejsce części poekstrakcyjnej śruty sojowej. Wartość pokarmową mieszanek wyliczono zgodnie z zaleceniami Norm żywienia świń [23]. Tucz zwierząt prowadzono do średniej masy ciała około 116 kg, następnie zwierzęta były ubijane zgodnie z technologią obowiązującą w zakładach mięsnych. Po upływie 45 min od uboju oznaczano początkowy odczyn (pH_1) mięśni *semimembranosus* i *longissimus* (pomiędzy ostatnim kręgiem piersiowym, a pierwszym lędźwiowym). Pomiar wykonywano przy użyciu przenośnego pH-metru (firmy Mettler Toledo, USA) wyposażonego w elektrodę szklaną. Następnie tusze poddawano 24-godzinnemu chłodzeniu w temp. $0 \div 4$ °C, po czym ponownie oznaczano odczyn (pH_{24}) w tych samych mięśniach. Pobrano 30 próbek *musculus longissimus lumborum* i 30 próbek *m. semimembranosus* do analiz fizykochemicznych i oceny sensorycznej.

W obydwu mięśniach oznaczano zawartość: suchej masy, związków mineralnych w postaci popiołu, białka ogółem oraz tłuszczu – według AOAC [1]. Na podstawie zawartości i wartości energetycznej białka ($5,75 \text{ kcal}\cdot\text{g}^{-1}$) oraz tłuszczu ($9,46 \text{ kcal}\cdot\text{g}^{-1}$) wyliczano wartość energetyczną mięsa. Zawartość wybranych składników mineralnych oznaczano po uprzedniej mineralizacji próbek mięsa i dodaniu po 10 cm^3 10-procentowego HCl do kolby o pojemności 50 cm^3 . W uzyskanych roztworach oznaczano całkowitą zawartość pierwiastków metodą atomowej spektrometrii emisyjnej ze wzbudzeniem w plazmie sprężonej indukcyjnie (ICP-AES), przy użyciu aparatu Optima 3200RL (firmy Perkin Elmer, USA). Skład i udział poszczególnych kwasów tłuszczowych we frakcji lipidowej mięśni oznaczano po przeprowadzeniu kwasów tłuszczowych w estry metylowe, metodą chromatografii gazowej, przy użyciu chromatografu Varian 450-GC (firmy Varian Inc., USA), wyposażonego w detektor płomieniowo-jonizacyjny (powietrze – wodór). Zastosowano kolumnę kapilarną Select™ Biodiesel for FAME ($30 \text{ m} \times 0,32 \text{ mm} \times 0,25\mu\text{m}$) z wypełnieniem Select Biodiesel for FAME Fused Silica. Temperatura komory nastrzykowej wynosiła 250 °C, detektora – 300 °C, a kolumny – 200 °C (początkowa) i 240 °C (końcowa). Gazem nośnym był hel o przepływie $2,5 \text{ ml}\cdot\text{min}^{-1}$. W mięśniach oznaczano wyciek naturalny po 48 i 72 h od uboju według metody Prange i wsp. [27] oraz wodochłonność metodą Graua i Hamma [12] w modyfikacji Pohja i Ninivarry [26]. Instrumentalną ocenę barwy mięśni wykonywano w systemie $L^*a^*b^*$ przy użyciu spektrofotometru tróchromatycznego Minolta CR-310 (firmy Conica Minolta Inc., Japonia). W głowicy pomiarowej zastosowano

iluminację szerokokątową (oświetlenie szerokoobrazowe), geometrię 0° kąta projekcji i 50-milimetrowy obszar pomiarowy. Miernik kalibrowano przy użyciu białej płytki wzorcowej CR-A44. Na podstawie pomiarów parametrów barwy a^* i b^* obliczano indeks nasycenia (C) i odcień barwy (H), zgodnie z równaniami [22]:

$$C = [(a^*)^2 + (b^*)^2]^{0,5}$$
$$H = b^*/a^*$$

Ocenę sensoryczną mięśni po obróbce cieplnej wykonywano w skali 5-punktowej: od 1 (minimum) do 5 (maksimum) [4]. Mięśnie ogrzewano w wodnym roztworze 0,8-procentowego NaCl (przyjmując stosunek mięsa do wody 1 : 2) do osiągnięcia temp. 80 °C w geometrycznym centrum próbki. Ocenę wykonywała grupa 8 przeszkolonych osób. Próbkę oceniano pod względem zapachu, smakowitości, soczystości i kruchości.

Uzyskane wyniki opracowano statystycznie z wykorzystaniem programu Statistica 12. W celu stwierdzenia istotności różnic pomiędzy wartościami średnimi grup zastosowano test t-Studenta (na poziomie istotności $p = 0,05$) [30].

Wyniki i dyskusja

Nie stwierdzono statystycznie istotnego ($p > 0,05$) wpływu mieszanki zawierającej bobik niskotaninowy w żywieniu świń rasy puławskiej na zawartość składników podstawowych i mineralnych w mięśniach *longissimus lumborum* i *semimembranosus* oraz ich wartość energetyczną (tab. 1).

Zawartość białka w mięśniu *longissimus lumborum* była zbliżona do oznaczonej przez Babicza i wsp. [2] w mięśniu świń tej samej rasy. Poziom tłuszczu śródmięśniowego w ww. mięśniu można uznać za jakościowo optymalny. Jak podają De Vol i wsp. [7], Wajda i wsp. [31] oraz Daszkiewicz i wsp. [6], do osiągnięcia optymalnego smaku, kruchości i soczystości mięsa niezbędna jest zawartość tego składnika na poziomie 2,5 ÷ 3 %. Mniej (1,19 ÷ 2,20 %) tłuszczu śródmięśniowego i jednocześnie mniejszą wartość energetyczną mięśnia najdłuższego grzbietu świń puławskich wykazali Osek i Milczarek [24], Piórkowska i wsp. [25] oraz Kasprzyk i wsp. [19]. Schwörer i wsp. [29] uważają, że zawartość tłuszczu śródmięśniowego poniżej 1 % wpływa na obniżenie walorów smakowych mięsa. Szczególnie po obróbce termicznej staje się ono suche i łykowane. Z kolei zawartość IMF powyżej 2,5 % może wpłynąć na niższą ocenę mięsa przez konsumentów z powodu jego marmurkowatości [5]. Zawartość tłuszczu (4,00 i 4,09 %) oznaczoną w badaniach własnych w mięśniu *semimembranosus* (w szynce) należy uznać za dużą, ale pożądaną z uwagi na smakowitość mięsa poddanego działaniu temperatury [29]. Mniej tego składnika w szynce oznaczyli Babicz i wsp. [3] oraz Lechowski i wsp. [21]. Brak wpływu bobiku niskotaninowego w mieszance dla tuczników na zawartość tłuszczu śródmięśniowego jest potwierdzeniem wyników badań Gatta i wsp. [10].

Tabela 1. Skład chemiczny i wartość energetyczna mięśni świń rasy puławskiej

Table 1. Chemical composition and energy value of Pulawska pigs muscles

Wyszczególnienie / Item	<i>Musculus longissimus lumborum</i>			<i>Musculus semimembranosus</i>		
	I	II	SEM	I	II	SEM
Zawartość składników podstawowych / Basal nutrients content [g·100 g ⁻¹]						
Sucha masa / Dry matter	27,19	27,24	0,28	27,06	27,22	0,28
Związki mineralne jako popiół / Mineral compounds in form of crude ash	1,10	1,10	0,01	1,08	1,08	0,01
Białko ogółem / Total protein	22,95	22,96	0,18	21,81	21,96	0,21
Tłuszcz surowy / Crude fat	3,00	2,96	0,12	4,00	4,09	0,14
Wartość energetyczna / Energy value [kcal·100 g ⁻¹]	160,34	160,02	2,09	163,25	164,96	2,28
Zawartość związków mineralnych / Mineral compounds content [mg·100 g ⁻¹]						
P	204,8	198,6	9,06	208,5	215,1	9,69
K	391,0	381,7	1,05	381,9	381,3	9,98
Ca	7,10	6,60	0,57	7,20	7,40	0,56
Mg	24,5	23,0	1,04	24,2	25,7	1,07
Na	46,5	44,8	0,60	53,1	54,4	0,59
Fe	1,02	0,89	0,01	1,01	1,19	0,05
Zn	1,76	1,25	0,002	1,51	1,65	0,002
Mn	0,016	0,011	0,001	0,014	0,022	0,001
Cr	0,012	0,013	0,005	0,011	0,019	0,006
Co	0,002	0,001	0,002	0,002	0,002	0,001
Cu	0,088	0,104	0,006	0,108	0,148	0,005
Mo	0,022	0,014	0,007	0,005	0,010	0,005
B	0,005	0,007	0,002	0,097	0,199	0,003
Ni	0,007	0,003	0,002	0,003	0,003	0,01

Objaśnienia / Explanatory notes:

W tabeli przedstawiono wartości średnie / Table shows mean values.

SEM – błąd standardowy średniej z prób: kontrolnej i doświadczalnej / standard error of the mean of the control and experimental samples; n = 15.

Niższą wartość energetyczną mięśnia *longissimus lumborum* podają Kasprzyk i wsp. [19], co należy wiązać z mniejszą (2,20 %) zawartością tłuszczu w tym mięśniu. Potwierdzeniem tego jest wyższa wartość energetyczna *m. semimembranosus*, który zawierał ok. 4 % tłuszczu.

Tabela 2. Profil kwasów tłuszczowych wybranych mięśni świń rasy puławskiej [% sumy kwasów tłuszczowych]

Table 2. Fatty acids profile of selected muscles of Pulawska pigs [% of total FA]

Wyszczególnienie Item	<i>M. longissimus lumborum</i>			<i>M. semimembranosus</i>		
	I	II	SEM	I	II	SEM
C10:0	0,13	0,13	0,003	0,14	0,14	0,003
C12:0	0,09	0,10	0,002	0,09	0,11	0,002
C14:0	1,49	1,47	0,04	1,62	1,60	0,05
C15:1	0,02 *	0,05 *	0,009	0,03	0,02	0,008
C16:0	27,46	27,17	0,29	26,94	26,30	0,29
C16:1	4,98	4,92	0,18	5,12	5,19	0,22
C17:0	0,14	0,14	0,02	0,15	0,16	0,04
C17:1	0,21	0,23	0,03	0,18	0,16	0,01
C18:0	12,43	12,46	0,49	12,58	12,55	0,38
C18:1	49,57	49,51	0,58	50,02	49,99	0,49
C18:2 _{n-6}	2,14	2,21	0,13	2,05	2,09	0,11
C18:3 _{n-3}	0,11 *	0,13 *	0,003	0,09 *	0,10 *	0,003
C20:0	0,18	0,19	0,005	0,20	0,21	0,005
C20:1	0,84 *	0,92 *	0,004	0,88 *	0,98 *	0,004
C20:2	0,09	0,10	0,08	0,10	0,11	0,08
C20:3 _{n-6}	0,05 *	0,23 *	0,06	0,04 *	0,09 *	0,09
Inne / Others	0,07	0,04	0,08	0,17	0,20	0,08
SFA	41,92	41,66	0,67	41,32	41,07	0,71
UFA	58,01	58,30	0,67	58,51	58,73	0,71
MUFA	55,62	55,63	0,71	56,23	56,34	0,72
PUFA	2,39	2,67	0,17	2,28	2,39	0,16
PUFA/SFA	0,057	0,064	0,04	0,055	0,058	0,05
DFA = UFA + C18:0	70,44	70,76	0,31	70,59	71,28	0,33
OFA = C14:0 + C16:0	28,95	28,63	0,31	28,56	27,90	0,33

Objaśnienia / Explanatory notes:

SFA – nasycone kwasy tłuszczowe / saturated fatty acids; UFA – nienasycone kwasy tłuszczowe / unsaturated fatty acids; MUFA – jednonienasycone kwasy tłuszczowe / monounsaturated fatty acids; PUFA – wielonienasycone kwasy tłuszczowe / polyunsaturated fatty acids; DFA – neutralne i hipocholesterolemiczne kwasy tłuszczowe / neutral and hypocholesterolemic fatty acids; OFA – hipercholesterolemiczne kwasy tłuszczowe / hypercholesterolemic fatty acids;

SEM – błąd standardowy średniej / standard error of the mean;

* – wartości średnie mięśni *longissimus* lub *semimembranosus* oznaczone gwiazdką w wierszach różnią się statystycznie istotnie na poziomie istotności $p \leq 0,05$ (w zależności od rodzaju mięśnia) / mean values of muscles *longissimus* or *semimembranosus* in rows and denoted by asterisk differ statistically significantly at $p \leq 0.05$ (depending on the type of muscle).

Zastosowane żywienie nie wpłynęło na ogólną zawartość składników mineralnych w obydwu mięśniach. Zbliżoną ilość P, Mg i Fe, mniej K, Na Cu oraz więcej Ca podają Kunachowicz i wsp. [20] w schabie surowym w porównaniu z oznaczeniami własnymi. Z kolei Lechowski i wsp. [21] w mięśniu *adductor femoris* świń tej rasy wykazali większą ogólną zawartość związków mineralnych, w tym zbliżoną ilość Mg, mniejszą K, Ca i Na oraz większą Fe i Zn.

Wartość dietetyczna mięsa warunkowana jest także składem i udziałem kwasów tłuszczowych we frakcji lipidowej mięsa (tab. 2).

Tabela 3. Cechy fizyczne wybranych mięśni świń rasy puławskiej
Table 3. Physical characteristic of selected muscles of Pulawska pigs

Wyszczególnienie / Item	<i>M. longissimus lumborum</i>			<i>M. semimembranosus</i>		
	I	II	SEM	I	II	SEM
pH ₁	6,11	6,10	0,06	6,21	6,15	0,10
pH ₂₄	5,58	5,61	0,04	5,67	5,67	0,09
Wodochłonność Water holding capacity [%]	21,03	20,41	0,59	22,34	22,04	0,68
Wyciek naturalny po 48 h Drip loss after 48 h [%]	2,18 *	1,68 *	0,20	2,05 *	1,86 *	0,20
Wyciek naturalny po 72 h Drip loss after 72h [%]	3,68 *	2,98 *	0,23	3,39 *	2,94 *	0,21
Barwa / Colour						
L*	53,17	52,60	0,21	50,17	49,02	0,24
a*	13,29 *	14,83 *	0,26	13,51	14,6	0,28
b*	2,36	2,02	0,12	2,09	2,03	0,12
$C = [(a^*)^2 + (b^*)^2]^{0.5}$	13,50	14,97	0,20	13,67	14,74	0,21
$H = b^*/a^*$	0,18	0,14	0,09	0,15	0,14	0,10

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

W analizowanych mięśniach *longissimus lumborum* i *semimembranosus* nie wykazano statystycznie istotnych ($p \geq 0,05$) różnic pod względem sumy kwasów tłuszczowych nasyconych (SFA) i nienasyconych (UFA), w tym jednonienasyconych (MUFA) i wielonienasyconych (PUFA) oraz neutralnych i hipocholesterolemicznych (DFA) oraz hipercholesterolemicznych (OFA). W mięsie zwierząt żywionych mieszanką z bobikiem stwierdzono jednak istotnie ($p \leq 0,05$) więcej kwasu α -linolenowego (C18:3_{n-3}), eikozenowego (C20:1) i dihomo- γ -linolenowego (C20:3_{n-6}). Wyższy udział wymienionych kwasów tłuszczowych prawdopodobnie można wiązać z wartością odżywczą bobiku, w tym z jego profilem lipidowym. Kwasy α -linolenowy (C18:3_{n-3}) i dihomo- γ -linolenowy zaliczane są do niezbędnych nienasyconych kwasów tłuszczowych (NNKT), pełniących zasadniczą rolę biologiczną

w organizmie. Wchodzą one w skład wszystkich tkanek ustroju, regulują wiele ważnych czynności fizjologicznych, obniżają poziom triacylogliceroli w surowicy krwi oraz są substratami w syntezie ważnych związków o szerokim *spectrum* aktywności fizjologicznej i farmakologicznej [16].

Tabela 4. Wyniki oceny sensorycznej mięśni świń rasy puławskiej po obróbce cieplnej [pkt]
Table 4. Results of sensory analysis of muscles of Pulawska pigs after heat treatment [points]

Wyszczególnienie / Item	<i>M. longissimus lumborum</i>			<i>M. semimembranosus</i>		
	I	II	SEM	I	II	SEM
Zapach / Flavour						
intensywność / intensity	4,49	4,62	0,16	4,56	4,69	0,20
pożądalność / desirability	4,72	4,75	0,15	4,78	4,78	0,19
Soczystość / Juiciness	4,40 *	4,56 *	0,12	4,48*	4,62*	0,12
Kruchość / Tenderness	4,40 *	4,71 *	0,14	4,18 *	4,50 *	0,12
Smakowitość / Palatability						
intensywność / intensity	4,65	4,76	0,13	4,62	4,64	0,14
pożądalność / desirability	4,75	4,76	0,15	4,80	4,78	0,15
Średnia ocena ogólna Mean of overall rate	4,57	4,69	0,14	4,54	4,67	0,15

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

Nie stwierdzono istotnego wpływu zastosowanego żywienia na kwasowość mierzoną 45 min i 24 h od uboju oraz wodochłonność mięśni (tab. 3). Brak istotnego wpływu bobiku niskotaninowego w mieszance paszowej na pH, wodochłonność i jasność barwy (L^*) mięśnia *longissimus lumborum* jest potwierdzeniem badań Gatty i wsp. [13]. Uzyskane wyniki dowodzą, że zastosowane żywienie świń nie miało wpływu na stężenie jonów wodorowych (pH_1 i pH_{24}) czy tempo glikolizy poubojowej, a wartości pomiarów były charakterystyczne dla mięsa „normalnego”, czyli dobrej jakości. Według klasyfikacji podanej przez Przybylskiego i wsp. [28], mięso „normalne”, to takie, które wykazuje $pH \geq 6,0$ i $\geq 5,5$ odpowiednio 45 min i 24 h od uboju. Podobną kwasowość (pH_1 i pH_{24}) mięśnia *longissimus* rasy puławskiej podają Babicz i wsp. [3] oraz Piórkowska i wsp. [25], z wyjątkiem wyższego pH_1 (6,25). Wprowadzenie bobiku do mieszanki dla świń spowodowało zmniejszenie ($p \leq 0,05$) wycieku naturalnego z mięśni, co było efektem pozytywnym. Uzyskane wyniki wycieku naturalnego są korzystniejsze od wartości podawanych przez Kasprzyk i wsp. [19] w przypadku mięsa ras puławskiej i PBZ, odpowiednio: 4,20 i 6,40 %. Obydwa mięśnie świń z grupy II cechowały się istotnie większym ($p \leq 0,05$) nasyceniem barwy czerwonej (a^*), a wartości pomiarów były niższe od uzyskanych przez Kasprzyk i wsp. [19]

w mięśniu *longissimus* świń rasy puławskiej (16,99). Badania własne są zbieżne z obserwacjami Florka i wsp. [8].

W analizie sensorycznej próbek po obróbce cieplnej obydwu mięsni świń żywionych mieszanką zawierającą bobik oceniono wyżej za wyróżniki tekstury w stosunku do próby kontrolnej (tab. 4). Różnice statystycznie istotne ($p \leq 0,05$) dotyczyły kruchości i soczystości. Według Wooda i wsp. [31] za wysoką ocenę tekstury mięsa mierzoną kruchością i soczystością odpowiada kwas stearynowy (C18:0) oraz wysoki udział kwasów nasyconych (SFA) i jednonienasyconych (MUFA), czego nie potwierdzono w badaniach własnych, gdyż zawartość wymienionych kwasów była podobna. Z kolei Czarniecka-Skubina i wsp. [5] oraz Kasprzyk i wsp. [19] wskazują, że mięsień najdłuższy grzbietu zawierający więcej tłuszczu śródmięśniowego jest oceniany wyżej. Lechowski i wsp. [21] wskazują niższe noty za walory smakowe mięśnia szynki *adductor femoris* zawierającego mniej tłuszczu w porównaniu z wynikami własnymi dotyczącymi mięśnia szynki *semimembranosus*.

Wnioski

1. Bobik niskotaninowy jako częściowy zamiennik poekstrakcyjnej śruty sojowej w mieszance dla świń rasy puławskiej nie wpłynął na zawartość składników podstawowych i mineralnych w mięśniach *longissimus lumborum* i *semimembranosus*, wpłynął natomiast pozytywnie na zmodyfikowanie profilu kwasów tłuszczowych tych mięśni.
2. Nie stwierdzono wpływu zastosowanej mieszanki paszowej na kwasowość, wodochłonność oraz parametry barwy L^* i b^* mięśni, aczkolwiek wprowadzenie śruty z bobiku do żywienia świń wpłynęło istotnie ($p \leq 0,05$) na zmniejszenie wycieku naturalnego i zwiększenie nasycenia barwy czerwonej (a^*) ocenianych mięśni.
3. Mięśnie *longissimus lumborum* i *semimembranosus* świń żywionych mieszanką zawierającą bobik niskotaninowy oceniono wyżej za wyróżniki tekstury: soczystość i kruchość w porównaniu z mięśniami próby kontrolnej.
4. Uzyskane wyniki badań pozwalają na sformułowanie zalecenia o stosowaniu śruty z bobiku niskotaninowego w mieszance dla świń rasy puławskiej na poziomie 10 %.

Literatura

- [1] AOAC: Official Methods of Analysis. 15th Edition. Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC, 1990.
- [2] Babicz M., Kamyk P., Stasiak A., Pastwa M.: Opportunities to use Puławska pigs for heavy fattener production. *Ann. Anim. Sci.*, 2009, **9** (3), 259-268.
- [3] Babicz M., Kamyk P., Rejduch B., Kozubska-Sobocińska A., Stasiak A., Lechowski J.: Use of Puławska breed pig for specific-quality pork production. *Med. Weter.*, 2010, **66** (8), 555-558.
- [4] Barylko-Pikielna N., Matuszewska I.: Sensoryczne badania żywności. Podstawy. Metody. Zastosowania. Wyd. II. Wyd. Nauk. PTTŻ, Kraków 2014.

- [5] Czarniecka-Skubina E., Przybylski W., Jaworska D., Wachowicz I., Urbańska I., Niemyjski S.: Charakterystyka jakości mięsa wieprzowego o zróżnicowanej zawartości tłuszczu śródmięśniowego. *Żywność Nauka. Technologia. Jakość*, 2007, **6 (55)**, 285-294.
- [6] Daszkiewicz T., Bąk T., Denaburski J.: Quality of pork with a different intramuscular fat (IMF) content. *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, 2005, **14 (1)**, 31-36.
- [7] De Vol D.L., McKeith F.K., Bechtel P.J., Novakofski J., Shanks R.D., Carr T.R.: Variation in composition and palatability traits and relationships between muscle characteristics and palatability in random sample of pork carcasses. *J. Anim. Sci.*, 1988, **66**, 385-395.
- [8] Florek M., Litwińczuk A., Skąlecki P., Topyła B.: Influence of pH₁ of fatteners' *musculus longissimus lumborum* on the changes of its quality. *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, 2004, **13/54**, 195-198.
- [9] Florowski T., Pisula A., Adamczak L., Buczyński J.T., Orzechowska B.: Technological parameters of meat in pigs of two Polish local breeds Zlotnicka Spotted and Pulawska. *Anim. Sci. Pap. Rep.*, 2006, **24, 3**, 217-224.
- [10] Gatta D., Russo C., Giuliotti L., Mannari C., Picciarelli P., Lombardi L., Giovannini L., Ceccarelli N.: Influence of partial replacement of soya bean meal by faba beans or peas in heavy pigs diet on meat quality, residual anti-nutritional factors and phytoestrogen content. *Arch. Anim. Nutr.*, 2013, **67 (3)**, 235-247.
- [11] Giuliotti, L., Salvadori, G., Moscati L., Sensi M., Ventura A., Benvenuti M.N., Russo C., Gatta D.: Influence of partial introduction of protein sources alternative to soybean on some metabolic and immunological parameters in fattening pigs. *Large Animal Review*, 2014, **20 (2)**, 59-62.
- [12] Grau R., Hamm R.: Eine einfache Methode zur Bestimmung der Wasserbindung im Muskel. *Naturwissenschaften*, 1953, **40**, 29.
- [13] Gunawardena C.K., Zijlstra R.T., Beltranena E.: Characterization of the nutritional value of air-classified protein and starch fractions of field pea and zero-tannin faba bean in grower pigs. *J. Anim. Sci.*, 2010, **88**, 660-670.
- [14] Hanczakowska E., Książek J.: Krajowe źródła białkowych pasz roślinnych jako zamienniki śruty sojowej GMO w żywieniu świń. *Rocz. Nauk. Zoot.*, 2012, **39, 2**, 171-187.
- [15] Jaworska D., Przybylski W., Kołożyn-Krajewska D., Czarniecka-Skubina E., Wachowicz I., Trzaskowska M., Kajak K., Lech A., Niemyjski S.: The assessment of relationships between characteristics determining technological and sensory quality of pork. *Anim. Sci. Pap. Rep.*, 2006, **24 (2)**, 121-135.
- [16] Jelińska M.: Kwasy tłuszczowe – czynniki modyfikujące procesy nowotworowe. *Biul. Wydz. Farm. AMW*, 2005, **1**, 1-14.
- [17] Jezierny D., Mosenthin R., Bauer E.: The use of grain legumes as a protein source in pig nutrition: A review. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 2010, **157**, 111-128.
- [18] Kasprzyk A., Stasiak A., Babicz M.: Meat quality and ultrastructure of muscle tissue from fatteners of Wild Boar, Pulawska and its crossbreed Pulawska × (Hamshire × Wild Boar). *Archiv Für Tierzucht-Archives of Animal Breeding*, 2010, **53 (2)**, 184-193.
- [19] Kasprzyk A., Babicz M., Kamyk-Kamiński P., Lechowski J.: Slaughter value and meat quality of Pulawska and Polish Landrace breeds fatteners. *Annales UMCS, sec. EE, Zootechnica*, 2013, **31 (3)**, 1-9.
- [20] Kunachowicz H., Nadolna I., Przygoda B., Iwanow K.: Tabele składu i wartości odżywczej żywności. *Wyd. Lek. PZWL, Warszawa* 2005.
- [21] Lechowski J., Kamyk-Kamiński P., Kasprzyk A., Zuba J.: Influence of magnesium added to diet of pulawska breed fatteners on physical and chemical properties of meat. *J. Elem.*, 2013, **18 (1)**, 99-105.
- [22] Mordenti A.L., Martelli G., Brogna N., Nannoni E., Vignola G., Zaghini G., Sardi L.: Effects of soybean-free diet supplied to Italian heavy pigs on fattening performance, and meat and dry-cured ham quality. *Ital. J. Anim. Sci.*, 2012, **11 (80)**, 459-465.

- [23] Normy żywienia świń. Zalecenia żywieniowe i wartość pokarmowa pasz dla świń. Grell E.R., Skomiał J. (Red.). Instytut Fizjologii i Żywienia Zwierząt PAN, Jabłonna 2014.
- [24] Osek M., Milczarek A.: Wyniki tuczu, wartość rzeźna oraz jakość mięsa świń rasy puławskiej żywionych mieszankami z udziałem nasion bobiku i rzepaku. *Rocz. Nauk. Zoot.*, 2005, **32** (2), 103-113.
- [25] Piórkowska K., Tyra M., Rogoz M., Ropka-Molik K., Oczkiewicz M., Różycki M.: Association of the melanocortin-4 receptor (MC4R) with feed intake, growth, fatness and carcass composition in pigs raised in Poland. *Meat Sci.*, 2010, **85**, 297-301.
- [26] Pohja N.S., Ninivaara F.P.: Bestimmung der Wasserbindung des Fleisches mittels der Konstantdruckmethode. *Fleischwirtschaft*, 1957, **9**, 193-195.
- [27] Prange H., Jugrrt L., Scharner E.: Untersuchungen zur Muskelfleischqualität beim Schwein. *Archiv für Experimentelle Veterinärmedizin*, 1977, **31** (2), 235-248.
- [28] Przybylski W., Jaworska D., Boruszewska K., Borejko M., Podsiadły W.: Jakość technologiczna i sensoryczna wadliwego mięsa wieprzowego. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2012, **80** (1), 116-127.
- [29] Schwörer D., Hofer A., Lorenz D., Rebsamen A.: Selection progress of intramuscular fat in Swiss pig production. EAAP, No. 100, Zurich, Switzerland, 25 August 2000, pp. 69-72.
- [30] StatSoft, Inc.: 2001, STATISTICA (data analysis software system), ver. 6.
- [31] Wajda S., Daszkiewicz T., Winarski R., Borzuta K.: Współzależność między zawartością tłuszczu śródmięśniowego a składem tkankowym tusz wieprzowych. *Rocz. IPMiT*, 2004, **XLI**, 119-129.
- [32] Wood J.D., Richardson R.I., Nute G.R., Fisher A.V., Campo M.M., Kasapidou E., Sheard P.R., Enser M.: Effects of fatty acids on meat quality: a review. *Meat Sci.*, 2004, **66** (1), 21-32.

MEAT QUALITY OF PULAWSKA BREED PIGS FED MIXTURES WITH LOW-TANNIN FABA BEAN MEAL

S u m m a r y

The research material comprised 30 *longissimus lumborum* and 30 *semimembranosus* muscles that were taken from the Pulawska pigs organized in two feeding groups (I, II) with the same quantity of animals. The animals in group I (control) were fed mixtures of barley, triticale, extracted soybean meal, and mineral and vitamin additives. The fatteners in the experimental group were, however, fed mixtures with 10 % of low-tannin faba bean seeds that replaced the post-extraction soybean meal. The partial substitution of post-extraction soybean meal with a faba bean meal had no statistically significant ($p \geq 0.05$) effect on the content of basic nutrients and minerals as well as on the share of saturated and unsaturated fatty acids in the lipids of the two muscles analysed. Though, in the *musculus longissimus lumborum* and *semimembranosus* of the fatteners in group II, it significantly ($p \leq 0.05$) increased the percent content of α -linolenic acid (by 0.02 % and 0.01 %, respectively) and dihomo- γ -linolenic acid (by 0.18 % and 0.05 %, respectively). The composition of the feed mixtures used to feed Pulawska pigs did not impact the hydrogen ion concentration (pH_1 and pH_{24}), water holding capacity, and colour parameters L^* and b^* of the both muscles. The muscles of the experimental pigs were characterized by a larger saturation of the red colour (a^*); however, only in the case of *m. longissimus* this difference was confirmed to be statistically significant. The *Longissimus lumborum* and *semimembranosus* muscles of the pigs fed mixtures with faba bean were characterized by a significantly ($p \leq 0.05$) lower drip loss (20 % and 10 % respectively), and by better sensory characteristics, in particular by the better texture parameters: tenderness and juiciness ($p \leq 0.05$).

Key words: Pulawska breed pigs, nutrition, low-tannin faba bean, pork quality 

ALDONA KAWĘCKA, EWA SOSIN-BZDUCHA, JACEK SIKORA

OCENA JAKOŚCI TUSZ I MIĘSA JAGNIĄT RODZIMEJ OWCY WRZOSÓWKI ŻYWIANYCH PASZĄ Z DODATKIEM NASION LNU

Streszczenie

Celem pracy była charakterystyka jakości tusz i mięsa pozyskiwanych z jagniąt rasy wrzosówka, żywionych mieszanką z udziałem nasion lnu. Badaniami objęto 20 jagniąt (tryczków) ze stada objętego programem ochrony zasobów genetycznych. Po osiągnięciu 120 dni życia zwierzęta podzielono na dwie grupy żywieniowe, po 10 osobników w każdej. Tryczki otrzymywały siano łąkowe i słomę do woli oraz około 0,3 kg mieszanki treściwej na jagnię. W grupie kontrolnej była to mieszanka CJ, w grupie doświadczalnej do mieszanki wprowadzono 5 % nasion lnu paszowego. Po zakończeniu tuczu przeprowadzono ubój. Ocena użyteczności rzeźnej obejmowała ocenę poubojową tusz, określenie udziału wyrębów oraz składu tkankowego udźca. Oznaczenia składu chemicznego przeprowadzono na mięśni najdłuższym grzbiecie. Stwierdzono, że zastosowana pasza nie miała wpływu na przyrosty masy ciała jagniąt oraz parametry tuszy. Na podstawie analizy składu tkankowego udźca stwierdzono około 1,5 raza większe otłuszczenie tego wyrębu w przypadku zwierząt żywionych mieszanką treściwą z 5-procentowym dodatkiem lnu. Nie stwierdzono różnic w podstawowym składzie mięsa. Żywienie miało natomiast wpływ na profil kwasów tłuszczowych. Tłuszcz śródmięśniowy jagniąt, których paszę wzbogacono w len, zawierał o 0,68 p.p. kwasu linolenowego więcej, co wpłynęło na zwiększenie puli kwasów PUFA-3 o 1,2 p.p., a w konsekwencji na obniżenie stosunku kwasów $n-6/n-3$ wobec grupy kontrolnej odpowiednio: o 3,11 i 4,99.

Słowa kluczowe: owca wrzosówka, jagnięta, mięso, nasiona lnu, kwasy tłuszczowe

Wprowadzenie

Wrzosówka to rodzima rasa owiec o charakterystycznej siwej wełnie, odznaczająca się użytecznością kożuchową, dużą plennością i doskonałym przystosowaniem do trudnych warunków środowiska. Mimo niskich parametrów rzeźnych, jagnięcina

Dr hab. A. Kawęcka, dr inż. E. Sosin-Bzducha, dr inż. J. Sikora, Dział Ochrony Zasobów Genetycznych Zwierząt, Instytut Zootechniki – Państwowy Instytut Badawczy, 32-083, Balice k. Krakowa. Kontakt: aldona.kawecka@izoo.krakow.pl

z wrzosówki postrzegana jest jako produkt delikatesowy, przez wielu konsumentów porównywany do dziczyzny ze względu na specyficzny smak, aromat i barwę mięsa. Jagnięcina uważana jest za żywność funkcjonalną, czyli taką, która oprócz funkcji odżywczej wywiera dodatkowy korzystny wpływ na organizm człowieka. Prozdrowotne właściwości produktów owczych związane są m.in. z profilem kwasów tłuszczowych tłuszczu śródmięśniowego, w tym z dużą zawartością kwasów nienasyconych oraz sprzężonego kwasu linolowego. Wprowadzenie do mieszanki paszowej jagniąt surowca bogatego w kwasy *n-3*, np. nasion lnu, może podwyższyć jakość jagnięciny poprzez wzrost udziału niezbędnych nienasyconych kwasów tłuszczowych.

Celem pracy była charakterystyka wartości tusz i jakości mięsa pozyskiwanych z jagniąt rasy wrzosówka, żywionych paszą z dodatkiem nasion lnu.

Material i metody badań

Do doświadczenia wybrano 20 jagniąt (tryczków) rasy wrzosówka, ze stada objętego programem ochrony zasobów genetycznych, należącego do Instytutu Zootechniki PIB. Po osiągnięciu 120 dni życia zwierzęta podzielono na dwie grupy żywieniowe, po 10 osobników w każdej. Tryczki otrzymywały siano łąkowe i słomę do woli oraz około 0,3 kg mieszanki treściwej na jagnię [9]. W grupie kontrolnej (K) była to mieszanka CJ, w grupie doświadczalnej (L) do mieszanki wprowadzono 5 % nasion lnu paszowego (tab. 1). Wartość pokarmową mieszanek treściwych wyliczano za pomocą programu INRA-tion ver. 4.07 (tab. 2). Tucz trwał 120 dni (do 8 miesięcy życia). Ubój i analizę rzeźną wykonywano według procedur stosowanych w IZ PIB [13]. Ocena użytkowości mięsnej jagniąt obejmowała ocenę poubojową tusz, określenie udziału wyrębów oraz składu tkankowego udźca. Ocena poubojowa obejmowała określenie masy tuszy i półtuszy. Na prawej półtuszy wykonywano pomiary: długości i szerokości grzbietu, obwodu udźca oraz wielkości polędwicy. Oznaczenia składu chemicznego przeprowadzano na mięśni najdłuższym grzbietu, wypreparowanym z antrykotu podczas dysekcji tusz jagnięcych (łącznie oceniono 20 próbek mięsa). Próbki mięsa przekazano do Centralnego Laboratorium IZ PIB w Aleksandrowicach, gdzie metodami standardowymi zgodnie z AOAC [1] wykonywano oznaczenia zawartości: suchej masy, białka ogółem, związków mineralnych w postaci popiołu i tłuszczu [1]. Ekstrakcję tłuszczu prowadzono metodą Folcha [6]. Skład kwasów tłuszczowych analizowano przy użyciu chromatografu gazowego VARIAN 3400 (Varian, Walnut Creek Instrument Division, USA), stosując kolumnę Rtx 2330 (o wymiarach 105 m × 0,32 mm × 0,2 μ). Temperatura pracy kolumny: początkowa 60 °C przez 10 min, wzrost temperatury o 20 °C/min do 120 °C, wzrost temperatury o 3 °C/min do 240 °C; czas analizy: 60 min; temperatura dozownika: 250 °C; detektor: 250 °C; gaz nośny: hel, 3 ml/min; nastrzyk 1,0 ml. Oznaczenie zawartości cholesterolu wykonywano przy użyciu chromatografu gazowego GC-2010 Shimadzu (Shimadzu Corp., Japonia) wyposażonego w detektor FID

(Flame Ionization Detektor) i kolumnę Zebron ZB-5 o wymiarach 30 m × 0,25 mm × 0,5 µm. Temperatura pracy kolumny: początkowa 100 °C przez 2 min, wzrost temperatury o 30 °C/min do 150 °C, następnie o 15 °C/min do 360 °C. Czas analizy: 60 min; temperatura dozownika: 250 °C; detektor: 300 °C; gaz nośny: hel o przepływie 1,7 ml/min; nastrzyk 1,0 ml.

Tabela 1. Skład komponentowy mieszanek treściwych [%]

Table 1. Ingredient composition of mixed concentrates [%]

Komponent Component	Rodzaj mieszanki Type of concentrate	
	M-K	M-L
Pszenica / Wheat	20	20
Jęczmień / Barley	52	50
Otręby pszenne / Wheat bran	5	5
Śruta poekstrakcyjna sojowa Post-extraction soya bean middling	15	14
Makuch rzepakowy / Rapeseed expeller	5	3
Polfamix CJ	3	3
Len / Linseed	-	5

Objaśnienia: / Explanatory notes:

Typ mieszanki: M-K – dla grupy kontrolnej (CJ) / Type of mixture: M-K – for control group (CJ), M-L – dla grupy doświadczalnej / M-L – for experimental group.

Tabela 2. Skład chemiczny i wartość pokarmowa mieszanek treściwych

Table 2. Chemical composition and nutritional value of mixed concentrates

Komponent Component	Rodzaj mieszanki Type of mixed concentrate	
	M-K	M-L
Sucha masa / Dry matter [%]	87,4	87,5
Białko ogólne / Crude protein [%]	19,2	19,1
Tłuszcz surowy / Crude fat [%]	2,5	4,1
Włókno surowe / Crude fibre [%]	5,4	5,5
Popiół ogólny / Crude ash [%]	6,7	6,4
Związki bez-N wyciągowe / N-free extract [%]	48,8	51,2
BTJN / PDIN [g]	133	132
BTJE / PDIE [g]	124	121
JPŻ / UFV	1,07	1,09

Objaśnienia: / Explanatory notes:

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

BTJN – suma białka właściwego paszy rzeczywistego trawionego w jelicie cienkim oraz białka właściwego mikroorganizmów żwacza, rzeczywistego trawionego w jelicie cienkim, obliczonego na podstawie dostęp-

nego w żwaczu azotu paszy / PDIN – total of protein truly digestible in the small intestine when N limits microbial protein synthesis; BTJE – suma białka właściwego paszy rzeczywiście trawionego w jelicie cienkim oraz białka właściwego mikroorganizmów żwacza, rzeczywiście trawionego w jelicie cienkim, obliczonego na podstawie dostępnej w żwaczu energii z paszy / PDIE – protein truly digestible in the small intestine when energy limits microbial protein synthesis; JPŻ – jednostka paszowa produkcji żywca / UFV – feed units for meat production.

Wyniki opracowano statystycznie przy użyciu pakietu Statistica ver. 10 [14] z zastosowaniem jednoczynnikowej analizy wariancji. W przypadku stwierdzenia istotnego wpływu czynnika na badaną cechę stosowano test rozstępu Duncana. Testowanie prowadzono na poziomie istotności $p \leq 0,05$ i $p \leq 0,01$.

Wyniki i dyskusja

Cechy tuczne i rzeźne

Końcowa masa ciała jagniąt żywionych mieszanką z nasionami lnu wynosiła 24,44 kg i była większa o 1,6 kg od masy ciała jagniąt w grupie kontrolnej, mimo to różnica ta nie była statystycznie istotna ($p > 0,05$) – tab. 3. Wyniki oceny poubojowej przedstawiono w tab. 4. Nie stwierdzono istotnych ($p > 0,05$) różnic między grupami, jednak masa tuszy jagniąt tuczonych mieszanką z udziałem nasion lnu była większa. Ponadto tusze te miały lepiej rozwinięte partie przodu i udźca, na co wskazują wartości pomiarów tuszy. Podobnie Borowiec i Augustyn [4] nie stwierdzili istotnego wpływu mieszanki z dodatkiem lnu na wyniki produkcyjne w zakresie przyrostów masy ciała jagniąt, wykorzystanie paszy i wydajność rzeźną. W przypadku kozłat Horoszewicz i wsp. [8] uzyskali większe przyrosty dobowe oraz większą wydajność rzeźną w grupie kozłat żywionych mieszanką wzbogaconą nasionami lnu (10 %) w porównaniu z grupą kontrolną. Efektem podawania kozłatom nasion lnu w mieszance był również większy udział tłuszczu okołonerkowego w tej grupie.

Porównując masę poszczególnych wyrębów w półtuszach nie stwierdzono statystycznie istotnych ($p > 0,05$) różnic między badanymi grupami zwierząt (tab. 5). Udział wyrębów wartościowych w półtuszy, do których zaliczany jest udziec, comber, i antrykot wynosił w obu grupach 42 %. Baranowski i wsp. [3] przy żywieniu do woli jagniąt granulatem z dodatkiem siemienia lnianego nie stwierdzili wpływu żywienia na wydajność rzeźną, udział wyrębów wartościowych w tuszy oraz skład tkankowy udźca. W badaniach własnych (tab. 6) nie stwierdzono statystycznie istotnego ($p > 0,05$) wpływu zastosowania nasion lnu w paszy na udział mięsa w udźcu tryczków, choć w grupie K był on nieznacznie wyższy (73,7 %) niż w grupie L (72 %). Obserwowano różnice pod względem zawartości pozostałych tkanek, tj. tłuszczu i kości. Próbkę udźców tryczków grupy L zawierały więcej tłuszczu niż udźce tryczków z grupy kontrolnej ($p \leq 0,01$). Borowiec i wsp. [5] nie potwierdzili statystycznie istotnego wpływu

skarmiania mieszanek z 10-procentowym udziałem nasion lnu różnych odmian na przyrosty masy ciała jagniąt, wykorzystanie paszy, wydajność rzeźną i skład chemiczny mięsa.

Tabela 3. Wyniki tuczu jagniąt (tryczków) [kg]

Table 3. Results of ram fattening [kg]

Wyszczególnienie Specification	K		L	
	\bar{x}	s / SD	\bar{x}	s / SD
Masa początkowa / Initial weight	14,30	0,95	13,63	1,19
Masa końcowa / Final weight	22,86	2,37	24,44	1,01
Przyrost masy ciała / Gain in body weight	8,56	0,31	10,81	0,41

Objaśnienia: / Explanatory notes:

Grupy żywieniowe: / Feeding group: K – kontrolna / control; L – doświadczalna / experimental

\bar{x} – wartość średnia / mean value; s - odchylenie standardowe / SD – standard deviation; n = 10;

pomiędzy wartościami średnimi w wierszach brak różnic statystycznie istotnych na poziomie istotności $p > 0,05$ / among mean values in rows there are no statistically significant differences at $p > 0.05$

Tabela 4. Masa tusz [kg] oraz pomiary półtuszy jagniąt [cm]

Table 4. Weight of carcasses [kg] and half-carcass measurements of lambs [cm]

Wyszczególnienie Specification	K		L	
	\bar{x}	s / SD	\bar{x}	s / SD
Masa tuszy zimnej / Cold carcass weight	7,78	1,06	8,04	0,88
Masa półtuszy prawe j/ Right half-carcass weight	3,83	0,56	3,90	0,45
Szerokość przodu / Width of anterior portion	21,25	1,08	22,00	1,06
Długość półtuszy / Length of half-carcass	52,15	1,84	50,44	1,95
Długość pośladka / Length of loin	25,85	1,52	25,44	0,88
Długość udźca / Length of leg	30,00	1,68	30,44	1,70
Długość podudzia / Length of shank	19,15	0,91	19,50	0,75
Obwód udźca / Round of leg	30,15	1,41	29,77	1,68

Objaśnienia jak pod tab. 3. / Explanatory notes as in Tab. 3.

Tabela 5. Masa wyrębów z tusz jagnięcych [g]

Table 5. Weight of cuts of lamb carcasses [g]

Wyszczególnienie Specification	K		L	
	\bar{x}	s / SD	\bar{x}	s / SD
Szyja / Neck	266,10	58,10	271,28	31,81
Karkówka / Middle neck	265,80	74,45	301,59	83,03
Antrykot / Entrecote	280,80	63,31	328,62	79,83
Comber / Rump	262,19	59,44	273,70	58,99
Łopatka / Shoulder	483,12	63,31	489,54	79,83
Łata z mostkiem / Breast and brisket	772,70	125,45	874,26	157,19
Udziec / Leg	1002,2	136,15	1058,6	113,35
Goleń przednia / Foreshank	134,05	17,22	140,98	21,97
Goleń tylna / Hindshank	208,40	24,42	222,46	17,43

Objaśnienia jak pod tab. 3. / Explanatory notes as in Tab. 3.

Tabela 6. Skład tkankowy udźca jagniąt [g]

Table 6. Tissue composition of lamb leg [g]

Wyszczególnienie Specification	K		L	
	\bar{x}	s / SD	\bar{x}	s / SD
Mięso / Meat	727,36	104,14	767,93	101,79
Tłuszcz / Fat	53,08 ^A	21,51	80,75 ^B	12,86
Kości / Bones	206,29	22,53	218,20	22,89

Objaśnienia: / Explanatory notes:

Objaśnienia symboli grup jak w tab. 3. / Explanations of group symbols as in Tab. 3.

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

Tabela 7. Skład chemiczny mięsa jagnięcego (*m. longissimus dorsi*)Table 7. Chemical composition of lamb meat (*m. longissimus dorsi*)

Wyszczególnienie Specification	K		L	
	\bar{x}	s / SD	\bar{x}	s / SD
Sucha masa / Dry matter [%]	23,71	2,24	23,14	1,53
Tłuszcz / Fat [%]	3,30	2,73	2,44	1,36
Białko / Protein [%]	19,28	0,98	19,87	1,01
Popiół / Ash [%]	1,09	0,05	1,11	0,05
Cholesterol [mg/100 g]	74,24	4,44	74,20	4,16

Objaśnienia jak pod tab. 3. / Explanatory notes as in Tab. 3

Jakość mięsa

W badaniach własnych nie zaobserwowano wpływu uzupełnienia mieszanki treściwej nasionami lnu w ilości 5 % na podstawowy skład chemiczny mięsa (tab. 7). Podobne wyniki przy zastosowaniu 5 % nasion lnu uzyskała Michalec-Dobija [10]. Zmianę podstawowego składu chemicznego mięsa, głównie wzrost zawartości tłuszczu, autorka uzyskała po wprowadzeniu do mieszanki treściwej dla jagniąt 10 i 20 % nasion lnu. Według tej autorki, zastosowanie nasion lnu w takich ilościach powodowało również wzrost zawartości cholesterolu w mięsie, natomiast zastosowanie 5 % nasion lnu do mieszanki – zmniejszenie zawartości cholesterolu w mięsie. Micek i wsp. [11] stwierdzili, że zastosowanie 10 % nasion lnu w mieszankach nie wpłynęło w sposób istotny na podstawowy skład chemiczny mięsa tuczonych jagniąt oraz zawartość cholesterolu w mięśni najdłuższym grzbiecie i udźcu. Obserwowali oni jednak tendencję wzrostu zawartości tłuszczu w grupie jagniąt żywionych mieszankami z udziałem nasion lnu. Atti i wsp. [2] stwierdzili natomiast wzrost zawartości białka, a zmniejszenie – tłuszczu w mięsie jagniąt lekkich rasy Queue Fine de l'Quest, żywionych mieszankami z 15- i 30-procentowym dodatkiem nasion lnu. Baranowski i wsp. [3] natłuszczali granulaty paszowe olejem lnianym, nie zaobserwowali jednak jego wpływu na podstawowy skład chemiczny mięśnia najdłuższego grzbiecie, stwierdzili w nim natomiast istotnie większą zawartość cholesterolu. W badaniach własnych zastosowanie nasion lnu w ilości 5 % w mieszance nie miało istotnego ($p > 0,05$) wpływu na zawartość cholesterolu całkowitego w mięśni najdłuższym grzbiecie. Również Borowiec i Augustyn [4] nie stwierdzili takiego wpływu na zawartość cholesterolu w badanych tkankach po zastosowaniu mieszanki treściwej z 2-procentowym udziałem nasion lnu w żywieniu jagniąt polskiej owcy górskiej.

Profil kwasów tłuszczowych jest wskaźnikiem wartości dietetycznej mięsa. W grupie kwasów tłuszczowych o szczególnym znaczeniu fizjologicznym dla człowieka wyróżnia się kwasy wielonienasycone (PUFA), spośród których linolowy C18:2 i linolenowy C18:3 zaliczane są do niezbędnych nienasyconych kwasów tłuszczowych (NNKT), ponieważ organizm człowieka ich nie wytwarza i muszą być dostarczane z pożywieniem. Kwasy te są formami wyjściowymi dla innych wyższych kwasów tłuszczowych niezbędnych w organizmie, takich jak kwas arachidonowy (AA, C20:4, *n*-6), eikozapentaenowy (EPA, C20:5, *n*-3) i dokozaheksaenowy (DHA, C22:6, *n*-3). Wielonienasyconym kwasem tłuszczowym o właściwościach prozdrowotnych jest również sprzężony kwas linolowy (CLA – *conjugated linoleic acid*). Jego obecność stwierdzono przede wszystkim w tkance mięśniowej oraz w tłuszczu mleka zwierząt przeżuwających. Porównując mięso różnych gatunków zwierząt gospodarskich pod względem zawartości CLA stwierdzono, że jagnięcina jest najbogatszym jego źródłem, natomiast inne gatunki mięsa nie zawierają tego składnika bądź występuje on w śladowych ilościach [12].

Tabela 8. Skład kwasów tłuszczowych mięsa jagnięcego [%]

Table 8. Fatty acid composition of lamb meat [%]

Wyszczególnienie Specification	K		L	
	\bar{x}	s / SD	\bar{x}	s / SD
C10:0	0,044	0,082	0,067	0,091
C12:0	0,170	0,072	0,197	0,041
C14:0	1,666	0,457	1,720	0,497
C16:0	22,387	1,377	22,016	1,216
C16:1	1,811	0,216	1,653	0,116
C18:0	23,038	4,883	23,203	3,975
C18:1	37,907	2,954	37,252	3,241
C18:2 n-6	5,787	1,517	5,808	1,842
gamma18:3	0,064	0,019	0,057	0,018
C18:3 n-3	1,082 ^A	0,180	1,757 ^B	0,406
C20:0	0,089	0,065	0,118	0,031
CLA c9-t11	0,431	0,057	0,465	0,062
CLA t10-c12	0,009	0,013	0,002	0,007
CLA c9-c11	0,007	0,013	0,005	0,016
CLA t9-t11	0,062	0,027	0,069	0,021
C20:4	4,477	1,880	4,127	1,774
C20:5 n-3	0,745	0,313	1,158	0,595
C22:6 n-3	0,209	0,098	0,314	0,183
SFA	47,403	5,179	47,324	4,428
UFA	52,597	5,179	52,675	4,428
MUFA	39,718	3,113	38,908	3,315
PUFA	12,878	3,852	13,767	4,607
PUFA-6	10,330	3,346	9,994	3,554
PUFA-3	2,036 ^a	0,542	3,231 ^b	1,155
DFA	75,635	1,659	75,878	1,608
OFA	24,364	1,659	24,121	1,608
UFA/SFA	1,129	0,210	1,129	0,191
DFA/OFA	3,121	0,292	3,162	0,271
MUFA/SFA	0,849	0,136	0,830	0,117
PUFA/SFA	0,279	0,097	0,298	0,116
PUFA n-6/n-3	4,986 ^A	0,505	3,11 ^B	0,447
CLA	0,511	0,065	0,542	0,081

Objaśnienia: / Explanatory notes:

Objaśnienia symboli grup jak w tab. 3. / Explanations of group symbols as in Tab. 3.

Wartości średnie oznaczone różnymi literami w wierszach różnią się statystycznie istotnie: a, b – $p \leq 0,05$, A, B – $p \leq 0,01$ / mean values in rows and denoted using different letters differ statistically significantly: a, b – $p \leq 0,05$, A, B – $p \leq 0,01$.

Przeprowadzone badania wskazują, że niewielki udział nasion lnu w mieszance treściwej dla jagniąt pozwala modyfikować profil kwasów tłuszczowych tłuszczu mięsa (tab. 8). W mięsie jagniąt rodzimej rasy wrzosówki stwierdzono istotny ($p \leq 0,01$) wzrost zawartości kwasu C18:3 (linolenowego) w grupie zwierząt otrzymujących mieszankę z nasionami lnu. Miało to odzwierciedlenie w wyższym udziale grupy kwasów PUFA $n-3$ w ogólnej puli kwasów tłuszczowych. W grupie doświadczalnej stwierdzono również niższy stosunek kwasów $n-6/n-3$ w porównaniu z grupą kontrolną odpowiednio: 3,11 i 4,99. Ponad 6-krotny wzrost zawartości kwasu C18:3 stwierdzili Fuente-Vazquez i wsp. [7] w mięsie jagniąt lokalnej rasy, żywionych do woli mieszanką treściwą z 12,5-procentowym udziałem nasion lnu. Autorzy zaobserwowali także wzrost zawartości innych kwasów z grupy $n-3$ (C20:5, C22:5, C22:6), co również miało wpływ na znacznie niższy, a więc korzystniejszy stosunek $n-6/n-3$ w grupie żywionej mieszanką z dodatkiem nasion lnu. W badaniach przeprowadzonych przez Borowca i wsp. [5] oraz Micka i wsp. [11], dodatek nasion lnu spowodował wzrost sumy nienasyconych kwasów tłuszczowych (UFA) mięsa jagniąt w grupach doświadczalnych. Niezależnie od rodzaju mięśnia pobranego do analizy, w grupach zwierząt otrzymujących nasiona lnu nastąpił wzrost udziału kwasu oleinowego C18:1 i prawie 2-krotny wzrost udziału kwasu C18:3, a także CLA w tłuszczu mięsa oraz obniżeniu uległ stosunek $n-6/n-3$. Atti i wsp. [2] stwierdzili wzrost zawartości kwasu C18:3 i PUFA $n-3$ w grupach jagniąt otrzymujących mieszankę treściwą z 15- i 30-procentowym udziałem nasion lnu i kilkakrotne obniżenie stosunku kwasów $n-6/n-3$ w porównaniu z grupą kontrolną. Zsédely i wsp. [16] stosowali dodatek oleju lnianego do pasz i stwierdzili prawie dwukrotnie większy udział kwasu linolenowego, co wpłynęło również na istotnie większą zawartość ogólnej puli kwasów $n-3$ i obniżenie stosunku kwasów $n-6/n-3$. Wachira i wsp. [15] stwierdzili znaczny wzrost zawartości kwasu linolenowego w mięśniach jagniąt otrzymujących nasiona lnu, bez względu na ich genotyp.

Wnioski

1. Zastosowanie 5-procentowego dodatku nasion lnu do mieszanki treściwej w żywieniu jagniąt nie miało istotnego wpływu na parametry wartości rzeźnej oraz podstawowy skład chemiczny mięsa jagnięcego.
2. W tłuszczu śródmięśniowym mięsa jagniąt rodzimej rasy wrzosówki otrzymującej mieszankę z nasionami lnu stwierdzono wzrost zawartości kwasu C18:3 (linolenowego) o 0,68 p.p., wyższy udział grupy kwasów PUFA $n-3$ w ogólnej puli kwasów tłuszczowych oraz niższy stosunek kwasów $n-6/n-3$ (3,11 wobec 4,99 w grupie kontrolnej).

3. Nawet niewielki udział nasion lnu w mieszankach treściwych stosowanych w tuczu jagniąt może powodować zmiany profilu kwasów tłuszczowych tłuszczu mięsa, korzystne dla zdrowia człowieka.

Literatura

- [1] AOAC. Official Methods of Analysis of AOAC Int., 18th ed., USA, 2007.
- [2] Atti N., Methlouthi N., Saidi C., Mahouachi M.: Effects of extruded linseed on muscle physico-chemical characteristics and fatty acid composition of lambs. *J. Appl. Anim. Res.*, 2013, **41** (4), 404-409.
- [3] Baranowski A., Gabryszuk M., Józwiak A., Bernatowicz E., Chyliński W.: Fattening performance, slaughter indicators and meat chemical composition in lambs fed the diet supplemented with linseed and mineral bioplex. *Anim. Sci. Pap. Rep.*, 2007, **25** (1), 35-44.
- [4] Borowiec F., Augustyn R.: Effect of dietary unsaturated fatty acids on some indicators in blood plasma and fatty acid content in selected tissues of fattening lambs. *J. Cent. Eur. Agric.*, 2009, **10** (1), 13-18.
- [5] Borowiec F., Micek P., Marciński M., Barteczko J., Zajac T.: Linseed-based diet for sheep. 2. Performance and chemical composition of meat and liver. *J. Anim. Feed Sci.*, 2004, **13**, Suppl. 2, 19-22.
- [6] Folch J., Lees M., Sloane-Stanley G.H.: A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J. Biol. Chem.*, 1957, **226**, 497-509.
- [7] Fuente-Vazquez J., Díaz-Díaz-Chirón T., Pérez-Marcos C., Cañeque V., Sánchez-González C., Alvarez-Acero I., Fernández-Bermejo C., Rivas-Cañedo A., Lauzurica S.: Linseed, microalgae or fish oil dietary supplementation affects performance and quality characteristics of light lambs. *Spanish J. Agric. Res.*, 2014, **12** (2), 436-447.
- [8] Horoszewicz E., Pieniak-Lendzion K., Niedziółka R.: Wyniki tuczu i wartość rzeźna koziołków żywionych paszą z dodatkiem nasion lnu. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2010, **69** (2), 40-45.
- [9] IZ-INRA. Normy żywienia przeżuwaczy. Wartość pokarmowa francuskich i krajowych pasz dla przeżuwaczy. Wyd. IZ – PIB, Kraków 2009.
- [10] Michalec-Dobija J.: Wpływ skarmiania pełnych nasion lnu i rzepaku na efektywność tuczu jagniąt, wskaźniki fizjologiczne krwi i jakość mięsa. Rozprawa doktorska. Zakład Paszoznawstwa i Surowców Pochodzenia Zwierzęcego Instytutu Zootechniki w Krakowie, 2002, 1-77.
- [11] Micek P., Borowiec F., Marciński M., Barteczko J., Zajac T.: Wpływ dawek pokarmowych z udziałem nasion lnu na skład kwasów tłuszczowych i zawartość cholesterolu w mięsie i mleku owiec. *Rośliny Oleiste*, 2004, **Tom XXV**, 597-609.
- [12] Milewski S.: Walory prozdrowotne produktów owczych. *Med. Weter.*, 2006, **62** (5), 516-519.
- [13] Ocena użyteczności mięsnej jagniąt na tle wymogów oraz metod stosowanych w krajach Unii Europejskiej. Praca zbiorowa. Wyd. IZ PIB, Kraków 2009, s. 32.
- [14] StatSoft, Inc. 2011. Statistica (data analysis software system), version 10. www.statsoft.com.
- [15] Wachira A.M., Sinclair L.A., Wilkinson R.G., Enser M., Wood J.D., Fisher A.V.: Effects of dietary fat source and breed on the carcass composition, *n-3* polyunsaturated fatty acid and conjugated linoleic acid content of sheep meat and adipose tissue. *Brit. J. Nutr.*, 2002, **88**, 697-709.
- [16] Zsédely E., Király A., Szabó Cs., Németh K., Dóka O., Schmidt J.: Effect of dietary linseed oil soap on lamb meat. *World Academy of Science, Engineering and Technology*, 2012, **6** (3), 229-232.

EVALUATION OF CARCASS AND MEAT QUALITY IN NATIVE WRZOSÓWKA LAMBS FED LINSEED-SUPPLEMENTED DIET**S u m m a r y**

The objective of the research study was to characterize the quality of carcasses and meat of Wrzosówka lambs fed a linseed-supplemented diet. The research study comprised 20 lambs (rams) from a stock covered by a genetic resources conservation programme. At the age of 120 days, the animals were divided into two feeding groups, 10 rams in each group. They were fed hay and straw ad libitum and about 0.3 kg of mixed concentrate per one lamb. In the control group, the mixed concentrate was a C-J mix, whereas in the experimental group, this was the CJ mix with 5 % of flax seed fodder added. As soon as the fattening period ended, the animals were slaughtered. The evaluation of the slaughter performance included: carcasses assessment of slaughtered animals, determination of the content of carcass cuts, and determination of the tissue composition of leg. The chemical composition was performed using the longest dorsal muscle. It was found that the feed applied had no effect on the gains in body weight of the lambs and on their carcass parameters. Based on the analysis of the tissue composition of leg, it was found that, in the case of the animals fed the concentrate with 5 % of linseed added, the fat content in this cut was ca. 1.5 times higher. No differences were reported in the major composition of meat. However, the feed type had an effect on the fatty acid profile. The intramuscular fat of lambs fed the linseed-enriched feed mix contained more linolenic acid (about 0.68 p.p.), which contributed to the increase in the total content of *n*-3 PUFA by ca. 1.2 p.p., thus reducing the *n*-6/*n*-3 ratio, compared to the control group, by 3.11 and 4.99, respectively.

Key words: Wrzosówka sheep, lambs, meat, linseed, fatty acids ☒

BARBARA BIESIADA-DRZAZGA, DOROTA BANASZEWSKA,
ANNA WERESZCZYŃSKA, ŁUKASZ OŁĘDZKI

WPLYW WARUNKÓW PRZECHOWYWANIA NA WYBRANE CECHY JAJ POCHODZĄCYCH OD KUR RASY ZIELONONÓŻKA KUROPATWIANA

Streszczenie

Celem pracy było porównanie wybranych cech jaj pochodzących od kur rasy Zielononóżka kuropatwiana w zależności od czasu i temperatury ich przechowywania. Materiałem doświadczalnym były jaja uzyskane od 50-tygodniowych kur tej rasy. Badania przeprowadzono na próbie 60 jaj, podzielonych losowo na trzy grupy doświadczalne. Grupę pierwszą oceniano jako jaja świeże, drugą grupę stanowiły jaja przechowywane w chłodniarce w temperaturze 6 °C przez 20 dni, a trzecią grupę jaja przechowywane przez 20 dni w temperaturze 24 °C. Oceniano jaja w całości, a następnie po ich wybiciu na szklaną płytkę. Przechowywanie jaj przez 20 dni w temperaturze 24 °C znacznie zintensyfikowało procesy ich starzenia się. Zwiększone parowanie wody z treści jaj w tej temperaturze wpłynęło na zwiększenie wysokości komory powietrznej, istotne zmniejszenie masy jaj (z 32,55 do 27,93 g), zmniejszenie zawartości białka ogólnego (z 32,55 do 27,93 g) oraz obniżenie jednostek Hougha (JH) białka i wzrost zasadowości białka. Zaobserwowano istotnie większą ($p \leq 0,05$) masę żółtka w jajach przechowywanych przez 20 dni w temperaturze 24 °C w porównaniu z masą żółtka jaj przechowywanych w temperaturze 6 °C, co było spowodowane przenikaniem wody z białka. Jednocześnie zaobserwowano istotne ($p \leq 0,01$) zwiększenie indeksu żółtka oraz nieznaczny wzrost wartości pH – z 6,01 do 6,62. Temperatura 24 °C i wydłużony czas przechowywania jaj wywarły niekorzystny wpływ na dynamikę zmian zachodzących w ocenianych jajach, co przyczyniło się do utraty ich świeżości.

Słowa kluczowe: Zielononóżka kuropatwiana, jaja, przechowywanie, ocena, składniki morfologiczne, cholesterol

*Dr hab. B. Biesiada-Drzazga prof. nadzw. dr inż. D. Banaszewska, dr A. Wereszczyńska, mgr inż. Ł. Ołędzki, Katedra Metod Hodowlanych, Hodowli Drobiu i Małych Przeżuwaczy, Wydz. Przyrodniczy, Uniwersytet Przyrodniczo-Humanistyczny w Siedlcach, ul. Prusa 14, 08-110 Siedlce.
Kontakt: barbaradrzazga@wp.pl*

Wprowadzenie

Ostatnio coraz bardziej wzrasta zainteresowanie konsumentów żywnością o cechach prozdrowotnych. Poszukiwane są m.in. surowce i produkty pochodzące z chowu ekologicznego lub przyzagrodowego, w tym jaja od kur rasy Zielononóżka kuropatwiana. Dowiedziono wysokiej wartości odżywczej i funkcjonalnej jaj pochodzących od kur tej rasy [6, 13]. Kury rasy Zielononóżka kuropatwiana osiągają dojrzałość płciową w wieku 170 ÷ 195 dni i znoszą w ciągu roku średnio 160 ÷ 190 jaj o bladokremowej skorupie. Okres użytkowania kur wynosi 2 ÷ 3 lata. Stosunkowo niewiele badań dotyczy zmian właściwości jaj zachodzących w procesie ich starzenia się, czyli w czasie przechowywania [2]. Powszechnie bowiem wiadomo, że wszystkie zmiany związane z procesem starzenia się jaj przyczyniają się do stopniowej utraty ich świeżości, a tym samym przydatności kulinarnej i przetwórczej.

Celem pracy było porównanie wybranych cech jaj pochodzących od kur rasy Zielononóżka kuropatwiana w zależności od czasu i temperatury ich przechowywania.

Material i metody badań

Materiałem doświadczalnym były jaja kur rasy Zielononóżka kuropatwiana. Ptaki w stadzie liczącym około 100 szt. utrzymywano w chowie przyzagrodowym, w gospodarstwie ekologicznym. Kury żywiono mieszankami uzupełniającymi i paszami gospodarskimi, a dzienna dawka pokarmowa zawierała średnio: 15,0 ÷ 15,5 % białka ogółem, do 6 % włókna i 10,8 ÷ 10,9 MJ EM (energii metabolicznej). Do badań pobrano 60 jaj pochodzących od kur w 50. tygodniu życia. Wszystkie jaja zważono i zmierzono, a następnie podzielono losowo na trzy grupy doświadczalne. Grupę pierwszą (1) oceniano jako jaja świeże, drugą grupę (2) stanowiły jaja przechowywane w chłodniarce w temp. 6 °C przez 20 dni, a trzecią grupę (3) – jaja przechowywane przez 20 dni w temp. 24 °C.

Ocenę jaj prowadzono zgodnie z metodyką Mrocza [8]. Analizowano jaja w całości, a następnie po ich wybiciu na szklaną płytkę.

Ocena całych jaj obejmowała określenie cech zewnętrznych:

- barwy i stanu skorupy – według standardowej skali;
- masy jaja – przy użyciu wagi elektronicznej WTB 2000 (Radwag, Polska), z dokładnością do 0,01 g;
- długości osi poprzecznej i podłużnej jaja – mierzonej suwmiarką elektroniczną Stainless Hardened (Shenzhen JYC Technology Ltd., Chiny) 0 ÷ 150 mm, z dokładnością do 0,01 mm.

Po wybiciu jaj na szklaną płytkę oceniano cechy wewnętrzne:

- grubość skorupy w części równikowej jaja – mierzono śrubą mikrometryczną MMZb-C 0-25/0.01mm DIN 863-1 (Helios-Preisser, Niemcy);

- masę skorupy ($\pm 0,01$ g);
- długość i szerokość białka strukturalnego – mierzono za pomocą elektronicznej suwmiarki ($\pm 0,01$ mm);
- masę białka rzadkiego zewnętrznego ($\pm 0,01$ g);
- masę białka gęstego ($\pm 0,01$ g);
- masę białka rzadkiego wewnętrznego ($\pm 0,01$ g);
- masę białka chalazotwórczego ($\pm 0,01$ g);
- średnicę żółtka mierzoną za pomocą suwmiarki elektronicznej ($\pm 0,01$ mm);
- wysokość żółtka mierzoną za pomocą śruby mikrometrycznej na trójnożu (Haugh Tester, Baxlo Precision, Hiszpania);
- masę żółtka ($\pm 0,01$ g);
- barwę żółtka oceniano według 15 punktowej skali La Roche'a;
- konsystencję białka wyrażoną w jednostkach Haugha, które wyliczano na podstawie równania [15]:

$$JH = 100 \log (h + 7,6 - 1,7 M^{0,37}),$$

gdzie:

h – wysokość białka [mm],

W – masa jaja [g].

Ponadto w badanych jajach mierzono wysokość komory powietrznej za pomocą specjalistycznej podziałki milimetrowej oraz wykonywano pomiary pH białka i żółtka pH-metrem Conduity Meter CPC-505 (Elmetron, Polska). Przeprowadzono także analizy chemiczne w celu określenia w białku i żółtku zawartości suchej masy i białka ogółem, a dodatkowo w żółtku jaja świeżego – zawartości cholesterolu. Analizy składu chemicznego jaj przeprowadzono wykorzystując standardowe metody:

- sucha masa metodą suszarkową wg PN-ISO 649:2002 [17],
- białko ogółem metodą Kjeldahla według PN-EN ISO 8968-1:2014-03 [18],
- związki mineralne w postaci popiołu przez spalenie w piecu w temperaturze 550 °C według PN-ISO 936:2000 [19],
- ilościowe określenie cholesterolu zmodyfikowaną kalorymetryczną metodą Libermann-Burcharda [14].

Uzyskane dane opracowano statystycznie w programie Statistica wer. 10.0 (Stat-Soft Inc., PL). Obliczono wartości średnie i współczynniki zmienności cech w kolejnych terminach badawczych [11]. O istotności różnic pomiędzy grupami wnioskowano na podstawie wyników testu Tukeya (przy poziomie istotności $p \leq 0,01$ i $p \leq 0,05$).

Wyniki i dyskusja

W tab. 1. przedstawiono wybrane cechy wewnętrzne jaj w zależności od czasu i temperatury ich przechowywania. Stwierdzono istotny wpływ czasu, a szczególnie temperatury przechowywania na wielkość komory powietrznej. W jajach przechowy-

wanych przez 20 dni w temp. 24 °C stwierdzono ponad 4,5-krotne zwiększenie komory powietrznej w porównaniu z jajami świeżymi – 1-dniowymi. Wielkość komory powietrznej zaliczana jest do podstawowych mierników świeżości jaj. W jajach świeżych komora powietrzna ma głębokość 3 ÷ 4 mm i powstaje bezpośrednio po złożeniu jaja przez noskę. Calik [2], badając jaja pochodzące od kur rasy Żółtonóżka kuropatwiana stwierdziła, że wraz z długością przechowywania jaj następował ubytek masy tych jaj z równoczesnym powiększaniem komory powietrznej, której wysokość w pierwszym dniu wahała się w zakresie 1,25 ÷ 1,75 mm, natomiast w 21. dniu przechowywania w temp. 6 i 24 °C wysokość komory powietrznej wynosiła odpowiednio: 5,64 i 8,90 mm. W badaniach własnych potwierdzono spostrzeżenia cytowanej autorki, chociaż wysokość komory powietrznej w niniejszym doświadczeniu była nieznacznie mniejsza (tab. 1). Przechowywanie jaj w temp. 24 °C znacznie zintensyfikowało procesy starzenia, istotnie zwiększając parowanie wody z treści jaja, co skutkowało wyraźnym zwiększeniem komory powietrznej.

Budowa morfologiczna jaj i struktura ich poszczególnych części (zwłaszcza skorupy i błon: podskorupowej, obiałkowej i witelinowej) pozwala na wymianę gazową i wodną między treścią jaja i środowiskiem zewnętrznym. Taka wymiana umożliwia normalny rozwój zarodka, a jednocześnie wpływa na procesy starzenia się jaj wraz z długością i warunkami ich przechowywania.

Jakość skorupy to cecha niezmiernie ważna, zwłaszcza w obrocie towarowym jaj, gdyż decyduje o liczbie powstających stłuczek. W przeprowadzonych badaniach grubość skorupy wynosiła 0,31 ÷ 0,34 mm i była niezależna od warunków przechowywania jaj. Podobnie Krawczyk i wsp. [7] stwierdzili 0,34-milimetrową grubość skorupy jaj 36-tygodniowych Zielononózek kuropatwianych. Grubość skorupy jest warunkowana m.in. liczbą porów, których ilość wynosi średnio w jajach kurzych 7,5 tys., a największa ich liczba znajduje się w tępych końcach jaja, czyli w okolicach komory powietrznej. Ponadto grubość skorupy to cecha w ogromnym stopniu zależna od czynników środowiskowych, w tym żywienia, temperatury otoczenia i zdrowotności stada [1].

Stwierdzono, że starzenie się jaj związane jest ze zmianą ich masy i udziału składników morfologicznych (tab. 1).

Tabela 1. Składniki morfologiczne jaj pochodzących od kur rasy Zielononóżka kuropatwiana w zależności od warunków przechowywania

Table 1. Morphological components of eggs derived from hens of Green-legged Partridge species depending in storage conditions.

Cecha Characteristic	Miara statystyczna Statistical measure	Grupa jaj w zależności od warunków przechowywania Group of eggs depending on storage conditions		
		1 24 h temp. of 6 °C	2 20 dni/days temp. of 6 °C	3 20 dni/days temp. of 24 °C
Masa jaja Egg weight	\bar{x} [g] V [%] [% masy jaja] [% of egg weight]	62,03 ^{Aa} 4,55 100,00	59,35 ^b 3,02 100,00	57,96 ^{Bc} 3,33 100,00
Wysokość komory powietrznej Height of air cell	\bar{x} [mm] V [%]	1,42 ^{Bb} 0,33	2,66 ^{Ba} 0,69	6,40 ^A 0,96
Masa skorupy Shell weight	\bar{x} [g] V [%] [% masy jaja] [% of egg weight]	7,65 1,97 12,33	7,50 1,23 12,64	7,23 0,98 12,47
Grubość skorupy w części środkowej Shell thickness in the middle part	\bar{x} [mm] V [%]	0,33 0,96	0,31 1,03	0,34 0,11
Masa białka ogólnego Weight of total white	\bar{x} [g] V [%] [% masy jaja] [% of egg weight]	32,55 ^{Aa} 3,89 52,47 ^a	30,40 ^b 4,01 51,22 ^a	27,93 ^{Bb} 3,97 48,19 ^b
W tym: / Including: białko rzadkie zewnętrzne outer thin white	\bar{x} [g] V [%] [% masy jaja] [% of egg weight]	7,44 ^B 1,98 22,85 ^A	8,14 ^B 0,77 13,72 ^B	12,86 ^A 1,12 22,19 ^A
białko gęste thick white	\bar{x} [g] V [%] [% masy jaja] [% of egg weight]	18,30 ^a 2,35 56,22 ^A	15,34 ^b 1,76 28,45 ^B	- - -
białko rzadkie wewnętrzne inner thin white	\bar{x} [g] V [%] [% masy jaja] [% of egg weight]	6,04 1,25 18,56 ^A	6,90 0,88 11,63 ^B	- - -
białko chalazotwórcze chalaziferous layer	\bar{x} [g] V [%] [% masy jaja] [% of egg weight]	0,77 1,22 2,37	- - -	- - -
Powierzchnia rozlewu białka gęstego Thick white area	\bar{x} [cm ²] V [%]	103,72 ^{Bb} 11,34	136,85 ^{Ba} 23,98	235,10 ^A 32,02
Jednostki Hougha Haugh units	\bar{x} [cm] V [%]	89,33 ^{Aa} 3,92	75,29 ^{bC} 4,01	53,76 ^B 3,21
pH białka pH of white	\bar{x} V [%]	7,53 0,92	9,02 0,99	9,81 1,01
Masa żółtka Yolk weight	\bar{x} [g] V [%] [% masy jaja] [% of egg weight]	21,84 2,93 35,20 ^B	21,45 ^b 3,01 36,14 ^B	22,80 ^a 2,11 39,33 ^A

Cecha Characteristic	Miara statystyczna Statistical measure	Grupa jaj w zależności od warunków przechowywania Group of eggs depending on storage conditions		
		1 24 h temp. of 6 °C	2 20 dni/days temp. of 6 °C	3 20 dni/days temp. of 24 °C
Barwa żółtka (skala La Roche'a) Yolk colour (La Roche'a scale)	\bar{x} V [%]	8,61 1,95	8,82 1,04	8,99 2,03
Indeks żółtka Yolk index	\bar{x} V [%]	2,60 ^B 0,52	2,80 ^B 0,32	4,67 ^A 1,02
pH żółtka pH of yolk	\bar{x} V [%]	6,01 0,65	6,21 0,54	6,62 0,76

Objaśnienia: / Explanatory notes:

\bar{x} – wartość średnia / mean value; V – współczynnik zmienności / coefficient of variation;

a, b – różnice między grupami istotne przy $p \leq 0,05$ / significant differences among groups at $p \leq 0,05$;

A, B – różnice między grupami istotne przy $p \leq 0,01$ / significant differences among groups at $p \leq 0,01$

Przechowywanie jaj przez 20 dni, niezależnie od temperatury, wpłynęło istotnie ($p \leq 0,01$) na zmniejszenie masy białka ogólnego (z 32,55 do 27,93 g). Zmniejszył się również udział białka ogółem (z 52,47 do 48,19 %) w jajach, co było spowodowane istotnym ($p \leq 0,05$) zmniejszeniem warstwy białka gęstego i rzadkiego wewnętrznego. Zanikowi uległy chalazy utrzymujące żółtko w centralnym położeniu i umożliwiające obroty żółtka wokół własnej osi. Niemożliwe okazało się wydzielenie białka strukturalnego, rzadkiego wewnętrznego i chalazotwórczego w jajach przechowywanych przez 20 dni w temp. 24 °C. Powierzchnia rozlewu białka gęstego istotnie zwiększała się wraz z długością i temperaturą przechowywania jaj (różnice statystycznie istotne przy $p \leq 0,05$ i $p \leq 0,01$). Na utratę świeżości jaj podczas ich przechowywania wskazują jednostki Haugha [JH] białka. Wartości JH w jajach świeżych były większe w porównaniu z jajami składowanymi przez 20 dni w temp. 6 °C i istotnie ($p \leq 0,01$) większe w porównaniu z jajami, które przechowywano przez 20 dni w temp. 24 °C. Wraz ze starzeniem się jaj istotnie wzrastała zasadowość białka, wyrażona wartościami pH – z 7,53 do 9,02 i 9,81 w jajach 20-dniowych.

Zaobserwowano istotnie większą ($p \leq 0,05$) masę żółtka w jajach przechowywanych przez 20 dni w temp. 24 °C w porównaniu z masą żółtka jaj przechowywanych w temp. 6 °C, co było spowodowane przenikaniem wody z białka. W badanym okresie zaobserwowano jednocześnie istotne ($p \leq 0,01$) zwiększanie indeksu żółtka oraz nieznaczny wzrost wartości pH – z 6,01 do 6,62. Nie stwierdzono wyraźnych zmian barwy żółtka w okresie starzenia się jaj. Należy dodać, że barwa żółtka jest dla konsumentów jedną z ważniejszych cech jakości jaj [12]. Jest to cecha jaj, która w głównej mierze zależy od sposobu żywienia niosek, w związku z czym można ją modyfikować.

Tabela 2. Skład chemiczny jaj pochodzących od kur rasy Zielononóżka kuropatwiana

Table 2. Chemical composition of eggs derived from hens of Green-legged Partridge species

Cecha Characteristics	Białko White	Żółtko Yolk
Sucha masa [%] Dry matter [%]	10,80	47,27
Białko ogółem [%] Total protein [%]	9,77	15,39
Związki miner. jako popiół surowy [%] Mineral compounds in form of crude ash [%]	0,56	1,91
Cholesterol [mg/g] Cholesterol [mg/g]	-	13,28

W tab. 2. przedstawiono skład chemiczny świeżych jaj Zielononóżki kuropatwianej. Trziszka [16] podaje, że w świeżym jajku zawartość wody w żółtku waha się od 48 do 50 % i wzrasta wraz ze starzeniem się jaj do ponad 55 %. Szczególnie duży wzrost zawartości wody zauważa się w jajach przechowywanych w wysokiej temperaturze. W badaniach własnych sucha masa w białku wynosiła 10,80 %, natomiast w żółtku – 47,27 %. Dziadek i wsp. [3] określili zawartość suchej masy w białkach jaj kur nieśnych w zakresie 10,98 ÷ 13,13 %, natomiast w żółtkach – 54,89 ÷ 59,64 %.

Cholesterol jest związkiem nieodzownym dla prawidłowego przebiegu wielu procesów metabolicznych zachodzących w komórkach i tkankach organizmów. Jako składnik błon biologicznych uczestniczy w regulacji ich struktury i funkcji. Cholesterol jest także wyjściowym substratem do biosyntezy wszystkich hormonów sterydowych kory nadnercza, hormonów płciowych, witaminy D₃ i kwasów żółciowych. Na zawartość cholesterolu w żółtku jaja wpływa duża liczba czynników, z których najważniejsze to gatunek i rasa ptaka, jego wiek, warunki utrzymania oraz żywienie [5, 9]. Zdaniem Nowaczewskiego [9] najwięcej cholesterolu znajduje się w jajach indyjskich i kaczyc, mniej w jajach kur nieśnych, a najmniej w jajach kur mięsnych i przepiórczych. Jaja bażancie również charakteryzują się mniejszą zawartością cholesterolu [10]. Dziadek i wsp. [3] wykazali, że spośród ocenianych ras kur małą zawartością cholesterolu charakteryzowały się żółtka jaj kur ISA White (13,63 mg/g) oraz Shaver 579 (13,69 mg/g), a dużą – Astra W-1 (14,50 mg/g) i Astra N (14,61 mg/g). Gornowicz i wsp. [4], używając kury ras zachowawczych w chowie ekologicznym, określili zawartość cholesterolu w żółtkach 26-tygodniowych kur rasy Zielononóżka kuropatwiana na poziomie 229,03 mg. W badaniach własnych zawartość cholesterolu w 1 g żółtka wynosiła 13,28 mg, była zatem nieznacznie mniejsza niż w jajach innych kur towarowych.

Wnioski

1. Przechowywanie jaj przez 20 dni w temperaturze 24 °C znacznie zintensyfikowało procesy ich starzenia się i wpłynęło na zwiększenie parowania wody z treści jaja, a w konsekwencji na wyraźne zwiększenie wysokości komory powietrznej z 1,42 do 6,40 mm.
2. Przechowywanie jaj przez 20 dni, niezależnie od temperatury, wpłynęło na zmniejszenie ich masy (z 32,55 do 27,93 g) oraz masy białka ogólnego (z 32,55 do 27,93 g) w jajach. Spowodowało również obniżenie wartości JH białka, przy wyraźnym wzroście zasadowości (pH) białka – z 7,53 do 9,81.
3. Temperatura przechowywania jaj przez 20 dni wpłynęła na większą masę żółtka w jajach przechowywanych w temp. 24 °C w porównaniu z masą żółtka jaj przechowywanych w temp. 6 °C, co było spowodowane przenikaniem wody z białka. Jednocześnie istotnie zwiększał się indeks żółtka oraz następował nieznaczny wzrost jego pH – z 6,01 do 6,62.

Literatura

- [1] Bernacki Z., Korytkowska H., Kuźniacka J.: Charakterystyka nieśności oraz porównanie jakości jaj kur towarowych Hy-Line Brown i Tetra SL po przymusowym przepierzaniu. *Mat. 69. Zjazdu PTZ, Siedlce 2004*, ss. 71-72.
- [2] Calik J.: Zmiany cech jakościowych jaj, pochodzących od kur nieśnych Żółtonóżka kuropatwiana (Ż-33), w zależności od warunków ich przechowywania. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2013, **87 (3)**, 73-79.
- [3] Dziadek K., Gornowicz E., Czekalski P.: Chemical composition of table eggs as influenced by the origin of laying hens. *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, 2003, **12/53 (1)**, 21-24.
- [4] Gornowicz E., Lewko L., Szablewski T.: Ecological management system as a factor influencing egg yolk quality. *J. Res. Applic. Agric. Eng.*, 2013, **58 (3)**, 161-164.
- [5] Gryzińska M., Krauze M., Strachecka A.J.: Poziom cholesterolu całkowitego i jego frakcji oraz triglicerydów w surowicy krwi kur rasy polbar w zależności od płci i wieku. *Acta Sci. Pol., Zootechnica*, 2010, **9 (4)**, 93-106.
- [6] Gwara T., Florjanowicz J., Centkiewicz M., Ciastoń A.: Ocena użytkowości reprodukcyjnej kur rasy Zielononóżka kuropatwiana ze stada zachowawczego, adoptowanych do warunków gospodarstwa ekologicznego w Parku Krajobrazowym Doliny Baryczy. *Zesz. Nauk AR we Wrocławiu*, 2004, *Zootechnika LII*, **505**, 91-98.
- [7] Krawczyk J., Sokołowicz Z., Świątkiewicz S., Sosin-Bzducha E.: Effect of outdoor access and increased amounts of local feed materials in the diets of hens covered by the gene-pool protection programme for farm animals in Poland on quality of eggs during peak egg production. *Ann. Animal Sci.*, 2013, **13 (2)**, 327-339.
- [8] Mroczek J. (Red.): *Ćwiczenia z kierunkowej technologii żywności – technologia mięsa i jaj*. Wyd. SGGW, Warszawa 1997.
- [9] Nowaczewski S.: Nieco inne spojrzenie na cholesterol w jajach. *Polskie Drobniarstwo*, 2011, **3**, 31-32.

- [10] Nowaczewski S., Szablewski T., Cegielska-Radziejewska R., Stuper-Szablewska K., Rudzińska M., Leśniewski G., Kontecka H., Szulc K.: Effect of housing system and eggshell colour on biochemical and microbiological characteristics of pheasant eggs. *Arch. Geflügelk.*, 2013, **77** (4), 226-233.
- [11] StatSoft Inc. Statistica (data analysis software system), 2011, version 10. www.statsoft.com
- [12] Strojny J., Krawczyk J., Cywa-Benka K., Wężyk S.: Upodobania konsumentów jaj. *Polskie Drobiarstwo*, 1998, **6**, 3-5.
- [13] Śmiechowska M., Podgórnjak P.: Study and assessment of selected quality parameters of organic hen eggs available on the tri-city market. *J. Res. Appl. Agric. Eng.*, 2013, **58** (4), 186-189.
- [14] Strzeżek J., Wołos A.: Steroidy. *Ćwiczenia z biochemii*. Wyd. ART, Olsztyn 1997, 121.
- [15] Świerczewska E.: *Hodowla i użytkowanie drobiu*. Wyd. SGGW, Warszawa, 1993, 53.
- [16] Trziszka T. (Red.): *Jajczarstwo*. Nauka, technologia, praktyka. Wyd. AR we Wrocławiu, Wrocław 2000.
- [17] PN-ISO 6496:2002. Pasze. Oznaczanie wilgotności i zawartości innych substancji lotnych.
- [18] PN-EN ISO 8968-1:2014-03. Mleko i przetwory mleczne. Oznaczanie zawartości azotu. Część 1. Zasada Kjeldahla i obliczanie białka surowego.
- [19] PN-ISO 936:2000. Mięso i przetwory mięsne. Oznaczanie popiołu całkowitego.

EFFECT OF STORAGE CONDITIONS ON SELECTED CHARACTERISTICS OF EGGS DERIVED FROM GREEN-LEGGED PARTRIDGE HENS

Summary

The objective of the research study was to compare some selected characteristics of eggs derived from hens of the Green-legged Partridge species depending on the time and temperature of storage. The experimental material comprised the eggs derived from 50 weeks old hens of this species. A sample of 60 eggs were analyzed; the eggs were divided randomly into three experimental groups. The eggs in the first group were assessed as fresh eggs, the eggs in the second group were stored in a refrigerator at a temperature of 6 °C for 20 days, and the eggs in the third group were stored at a temperature of 24 °C for 20 days. At first, the whole eggs were assessed; next, the eggs were spilled onto a glass plate and, then, assessed. The storing of eggs for 20 days at a temperature of 24 °C significantly intensified the processes of their ageing. An increased evaporation of water from the eggs caused the height of air cell to increase, the weight of eggs to significantly decrease (from 32.55 to 27.93 g), the content of total white to decrease (from 32.55 to 27.93 g), the IH of white to drop, and the alkalinity of white to grow. Significantly ($p \leq 0.05$) greater yolk weight was observed in the eggs stored for 20 days at 24 °C than in the eggs stored at 6 °C, which was due to penetration of water from the albumen. At the same time, it was reported a significant increase ($p \leq 0,01$) in the yolk index and a slight increase in the value of pH from 6.01 to 6.62. The temperature of 24 °C and the extended time of storing the eggs negatively affected the dynamics of changes occurring in the eggs assessed and this fact caused that the eggs lost their freshness.

Key words: Green-legged Partridge, eggs, storage, assessment, morphological components, cholesterol



MARIA SIELICKA, MARIA MAŁECKA

ZNACZENIE CECH SENSORYCZNYCH I FIZYKOCHEMICZNYCH W WYZNACZANIU TRWAŁOŚCI OLEJU LNIANEGO TŁOCZONEGO NA ZIMNO

Streszczenie

Celem niniejszej pracy była ocena zmian cech sensorycznych i fizykochemicznych w kontekście ich przydatności do wyznaczania trwałości olejów lnianych tłoczonych na zimno. Materiał doświadczalny stanowiły oleje otrzymane z dwóch odmian nasion lnu: wysokolinolenowej ‘Oliwin’ oraz niskolinolenowej ‘Linola’. Oleje poddano badaniom fizykochemicznym oraz sensorycznym podczas przechowywania w warunkach praktycznego składowania w temperaturze 5 i 25 °C przez 112 dni. Oceniano intensywność smaku gorzkiego, nut smakowitości: orzechowej, utlenionej i trawiastej oraz określano ocenę ogólną z zastosowaniem metody ilościowej analizy opisowej (QDA).

W przeprowadzonych badaniach przechowalniczych olejów lnianych nie zaobserwowano intensywnych zmian oksydacyjnych mierzonych zawartością produktów utleniania: pierwotnych (poziom nadtlenuków w próbkach nie przekroczył $4,59 \pm 0,08$ meq O₂/kg) i wtórnych (maksymalna wartość liczby anizydynowej wyniosła $2,64 \pm 0,01$). Stwierdzono istotne zmiany profilu smakowitości oraz obniżenie oceny ogólnej próbek. Smak gorzki olejów lnianych uległ najbardziej znaczącym zmianom w porównaniu z innymi wyróżnikami sensorycznymi (ponad 8-krotny wzrost intensywności w przypadku oleju ‘Linola’ przechowywanego w temperaturze 25 °C) i był najsilniej ujemnie skorelowany z oceną ogólną olejów ($r = -0,976$). Trwałość poszczególnych olejów lnianych, wyznaczona na podstawie akceptowanego poziomu gorzkości, wyniosła od 42 do 112 dni i była uzależniona od warunków przechowywania oleju oraz odmiany nasion, z której uzyskano olej.

Na podstawie uzyskanych wyników stwierdzono, że do wyznaczania trwałości oleju lnianego tłoczzonego na zimno bardziej przydatna jest ocena sensoryczna niż analiza cech fizykochemicznych.

Słowa kluczowe: olej lniany tłoczony na zimno, smak gorzki, stabilność oksydacyjna, trwałość, metoda ilościowej analizy opisowej (QDA)

Wprowadzenie

Zmiany jakości produktów żywnościowych podczas przechowywania są wynikiem procesów, które prowadzą do modyfikacji struktury poszczególnych składników żywności i powstawania związków wpływających na właściwości sensoryczne, fizykochemiczne, wartość odżywczą i w efekcie przydatność do spożycia produktów. Wyznaczanie trwałości produktu jest złożone, ponieważ charakter i nasilenie niekorzystnych przemian w dużej mierze zależy od jego właściwości fizykochemicznych, zastosowanego opakowania oraz warunków przechowywania. Jednym z głównych procesów ograniczających trwałość żywności jest utlenianie kwasów tłuszczowych [8]. W opinii Frankela [7], najskuteczniejszą metodą określania stabilności oksydacyjnej i okresu trwałości tłuszczów oraz produktów tłuszczowych jest analiza sensoryczna, a za nią kolejno: analiza związków lotnych > oznaczanie liczby nadtlenkowej > oznaczanie stężenia produktów peroksydacji lipidów reagujących z kwasem tiobarbiturowym (test TBARS) > oznaczanie potencjału antyoksydacyjnego w układzie β -karoten/kwas linolowy > test Rancimat. Broadbent i Pike [2] uważają, że wyniki analizy sensorycznej przeprowadzonej przez przeszkolony zespół ekspertów stanowią właściwy wskaźnik jakości olejów.

Podjęmowano próby oceny trwałości produktów bogatych w tłuszcze na podstawie prowadzonych równoległe badań fizykochemicznych i sensorycznych [2, 16, 22]. Zauważyć można zróżnicowany stopień korelacji wyników w zależności od badanego produktu i parametru oceny. W badaniach Samoty [22] ocena akceptacji konsumenciej przechowywanych rafinowanych olejów: rzepakowego i słonecznikowego była uzależniona od produktu i nie pokrywała się z wynikami oznaczeń chemicznych świadczących o przydatności oleju do spożycia. Ponadto większość badań nad trwałością produktów przeprowadza się z zastosowaniem testów przyspieszonego utleniania [12, 15], a przełożenie otrzymanych wyników na warunki praktycznego przechowywania, zalecanego przez producentów, może być nieadekwatne [11].

Olej lniany tłoczony na zimno jest cennym źródłem polienowych kwasów tłuszczowych, w szczególności kwasu α -linolenowego, który stanowi zazwyczaj 50 ÷ 60 % sumy kwasów tłuszczowych [14]. Świeży, tłoczony na zimno olej lniany uzyskany z nasion dobrej jakości charakteryzuje się złotą barwą, łagodnym zapachem oraz przyjemną orzechową nutą smakowitości. W trakcie przechowywania zachodzą niekorzystne zmiany cech sensorycznych polegające na powstawaniu smaku gorzkiego, co ogranicza przydatność oleju do spożycia. Zdaniem niektórych autorów [1, 3, 4], narastająca gorzkość oleju lnianego spowodowana jest utlenianiem metioniny we frakcji cyklolinopeptydów.

Celem niniejszej pracy była ocena zmian cech sensorycznych i fizykochemicznych w kontekście ich przydatności do wyznaczenia trwałości olejów lnianych tłoczonych na zimno podczas przechowywania w warunkach praktycznego składowania.

Material i metody badań

Przedmiotem badań były oleje lniane tłoczone na zimno z dwóch odmian nasion lnu: wysokolinolenowej ‘Oliwin’ (próbka WL) oraz niskolinolenowej ‘Linola’ (próbka NL), otrzymane od producenta bezpośrednio po wytłoczeniu. Deklarowany przez producenta termin przydatności do spożycia olejów wynosił 3 i 6 miesięcy w przypadku próbek odpowiednio: WL i NL.

Oleje przechowywano w symulowanych warunkach półki sklepowej, tj. w temp. $25 \pm 0,5$ °C, w szczelnie zamkniętych butelkach o pojemności 150 cm³ wykonanych z ciemnego szkła, zamkniętych nakrętkami z tworzywa sztucznego. Próbkę do analiz pobierano bezpośrednio przed badaniem, a następnie wykluczano je z doświadczenia. W drugim wariancie przechowywania, w tzw. warunkach konsumenckiego użytkowania, oleje składowano w temperaturze chłodniczej $5 \pm 0,5$ °C, w butelkach o pojemności 1000 cm³ wykonanych z ciemnego szkła, zamkniętych nakrętkami z tworzywa sztucznego. Typowe warunki konsumenckiego użytkowania symulowano poprzez wyjmowanie butelek z chłodziarki co 3 ÷ 4 dni, ich przetrzymywanie przez 15 min w temperaturze pokojowej i pobieranie każdorazowo 5 cm³ oleju.

W trakcie przechowywania olejów monitorowano zawartość pierwotnych produktów utleniania – oznaczano liczbę nadtlenkową (LOO) [20] co 14 dni oraz zawartość wtórnych produktów utleniania – oznaczano liczbę anizydynową (LA) [18] co 28 dni. Obliczano wskaźnik oksydacji tłuszczu Totox [18]. Częstotliwość pomiarów dobrano na podstawie wstępnych badań.

Oznaczano skład kwasów tłuszczowych olejów po uprzednim otrzymaniu estrów metylowych kwasów tłuszczowych (z wykorzystaniem metanolanu sodu) przy użyciu chromatografu gazowego HP 5890 Series II, firmy Hewlett-Packard (USA), wyposażonego w detektor płomieniowo-jonizacyjny (FID) i polarną kolumnę Supelcowax-10 (30 m × 0,25 mm × 0,25 μm), zgodnie z metodą opisaną przez Wąsowicza i Kamińskiego [24]. W celu scharakteryzowania materiału doświadczonego oznaczono także liczbę kwasową (LK) zgodnie z PN-EN ISO 660:2005 [17].

Analizę sensoryczną próbek oleju lnianego w odstępach 14-dniowych przeprowadzał 11-osobowy zespół oceniających, przeszkolonych zgodnie z normami przedmiotowymi [19]. W badaniach stosowano metodę ilościowej analizy opisowej (ang. *Quantitative Descriptive Analysis* – QDA) [21]. Do profilowej oceny smakowości oleju lnianego wybrano charakterystyczne składowe tego wyróżnika: orzechową, utlenioną i trawiastą (w pracy nazywane nutami smakowymi) oraz smak gorzki. Ocenę intensywności każdego wyróżnika przeprowadzano z wykorzystaniem skali liniowej o długości 10 cm (przyjętą jako 10 jednostek umownych, j.u.) z oznaczonymi określeniami brzegowymi (lewy brzeg – cecha niewyczuwalna, prawy brzeg – cecha bardzo intensywna). Ponadto zespół określał ocenę ogólną każdej próbki, również z wykorzystaniem 10-centymetrowej skali liniowej z oznaczonym początkiem i końcem. W celu

porównania wyników między sesjami ocen oraz bieżącej weryfikacji wrażliwości sensorycznej oceniających, w każdym zestawie umieszczano przez cały okres trwania badania zakodowaną próbkę odniesienia, którą stanowił olej z nasion odmiany ‘Oliwin’, przechowywany w warunkach zamrażalniczych ($-20 \pm 0,5$ °C).

Każdorazowo oceniającym zadawano pytanie, czy wyczuwalny poziom gorzkości stanowi podstawę do odrzucenia danej próbki. Gdy podczas dwóch kolejnych sesji ponad połowa zespołu oceniającego udzieliła twierdzącej odpowiedzi, próbkę eliminowano z dalszych badań sensorycznych. Po 112 dniach odrzucono ostatnią próbkę i zakończono zarówno badania sensoryczne, jak i fizykochemiczne.

Uzyskane wyniki opracowano przy użyciu programu Statistica 10 oraz IBM SPSS Statistics 21. Wyznaczono podstawowe statystyki opisowe, przeprowadzono jednoczynnikową analizę wariancji (ANOVA). Do zweryfikowania istotności różnic pomiędzy wartościami średnimi zastosowano test Tukeya. Ponadto wykonano analizę korelacji. Testowanie prowadzono na poziomie istotności $p = 0,05$.

Wyniki i dyskusja

Charakterystyka olejów lnianych

Profil kwasów tłuszczowych jest jednym z czynników determinujących właściwości i trwałość olejów. Skład kwasów tłuszczowych badanych olejów (tab. 1) był typowy dla surowców, z których je otrzymano i był zgodny z danymi literaturowymi [5, 9, 14]. Udział kwasu α -linolenowego w oleju wysokolinolenowym ‘Oliwin’ (WL) wyniósł 53,9 %, a kwasu linolowego – 17,2 %. Z kolei olej lniany z nasion odmiany niskolinolenowej ‘Linola’ (NL) zawierał 3,4 % kwasu α -linolenowego oraz 70,1 % kwasu linolowego. Oleje charakteryzowały się dużą zawartością polienowych kwasów tłuszczowych, odpowiednio: 71,1 % i 73,5 %.

Zawartość pierwotnych produktów oksydacji w świeżych olejach lnianych była niewielka i wyniosła w oleju WL $1,17 \pm 0,00$ meq O_2 /kg, a w oleju NL była statystycznie istotnie ($p < 0,05$) mniejsza – $0,56 \pm 0,02$ meq O_2 /kg (tab. 1). Wartości liczby nadtlenkowej badanych olejów nie przekraczały dopuszczalnego poziomu 15 meq O_2 /kg, określonego dla olejów tłoczonych na zimno w Kodeksie Żywnościowym [6]. Wartość liczby anizydynowej (LA) była niska i wyniosła $0,67 \pm 0,00$ w próbce NL i $1,28 \pm 0,08$ – w próbce WL (tab. 1), co zgodnie z wytycznymi ($LA \leq 2$), które zaproponowali Subramanian i wsp. [23], oznacza oleje dobrej jakości.

Zawartość wolnych kwasów tłuszczowych w badanych olejach wyniosła $1,35 \div 1,51$ mg KOH/g na statystycznie istotnym poziomie, spełniającym wymagania Kodeksu Żywnościowego dotyczące olejów i tłuszczów tłoczonych na zimno (wartość poniżej 4,0 mg KOH/g) [6].

Tabela 1. Charakterystyka badanych olejów lnianych tłoczonych na zimno
 Table 1. Profile of cold-pressed flaxseed oils analyzed

Parametr / Parameter	WL	NL
Skład kwasów tłuszczowych / Fatty acid composition [%]		
C16:0	5,8	6,5
C18:0	4,0	3,6
C18:1	18,9	16,2
C18:2 (n-6)	17,2	70,1
C18:3 (n-3)	53,9	3,4
C20:0	0,1	0,1
C20:1	0,1	0,1
Σ nasycone / Σ saturated	9,9	10,2
Σ monoenowe / Σ monoenoic	19,0	16,3
Σ polienowe / Σ polienoic	71,1	73,5
Liczba nadtlenkowa / Peroxide value [meq O ₂ /kg]	1,17 ^b ± 0,00	0,56 ^a ± 0,02
Liczba anizydynowa / Anisidine value [unit]	1,28 ^b ± 0,08	0,67 ^a ± 0,00
Totox / Totox index [unit]	3,62 ^b	1,79 ^a
Liczba kwasowa / Acid value [mg KOH/g]	1,35 ^a ± 0,05	1,51 ^a ± 0,01

Objaśnienia / Explanatory notes:

WL – olej z nasion lnu odmiany wysokooleinowej ‘Oliwin’ / oil produced from ‘Oliwin’ high-linolenic acid flaxseed var; NL – olej z nasion lnu odmiany niskooleinowej ‘Linola’ / oil produced from ‘Linola’ low-linolenic acid flaxseed var; a, b – wartości średnie oznaczone różnymi literami w wierszach różnią się statystycznie istotnie ($p < 0,05$) / mean values denoted with different letters within lines differ statistically significantly ($p < 0,05$); n = 4.

Profil smakowitości olejów lnianych

Profil smakowitości świeżych olejów lnianych WL i NL był zbliżony, z wyjątkiem intensywności smaku gorzkiego. Intensywność nuty orzechowej olejów WL i NL, w skali od 1 do 10, wynosiła odpowiednio: 4,1 j.u. i 4,0 j.u., nuty trawiastej – 2,3 j.u. i 3,3 j.u., a nuty utlenionej – 0,7 j.u. i 1,1 j.u. (rys. 1 A, 1 B, 1 C). Różnice pomiędzy intensywnością poszczególnych nut obydwu próbek były statystycznie nieistotne ($p > 0,05$). W przypadku smaku gorzkiego istotnie ($p < 0,05$) wyższą intensywnością charakteryzował się olej o dużej zawartości kwasu linolenowego (2,6 j.u.) w porównaniu z olejem z odmiany ‘Linola’ (1,1 j.u.) (rys. 1 D). Brühl i wsp. [3] stwierdzili, że w świeżo wytłoczonych olejach lnianych smak gorzki pojawia się już po 1 dniu od produkcji. Również w badaniach własnych stwierdzono smak gorzki na wy-

czuwalnym poziomie. Ocena ogólna próbki WL wyniosła 4,4 j.u., a próbki NL – 5,2 j.u. (rys. 2).

Wpływ przechowywania na zmiany oksydacyjne olejów lnianych

Zawartość pierwotnych produktów oksydacji w badanych olejach kształtowała się na niskim poziomie (tab. 2). Zaobserwowano nieznaczny wzrost zawartości nadtlenków podczas przechowywania, ale żadna z próbek nie przekroczyła dopuszczalnej wartości liczby nadtlenkowej (15 meq O₂/kg) [6]. Mała zawartość nadtlenków w przechowywanych olejach lnianych może być związana z ich właściwościami schnącymi i tworzącą się cienką warstwą na powierzchni oleju [10]. Równie mało nadtlenków stwierdził Wiesborn [25] po 15 tygodniach przechowywania oleju lnianego w temp. 4 °C (2,2 meq O₂/kg). Także Mińkowski [13] zaobserwował niewielki wzrost liczby nadtlenkowej, z 0,7 do 1,15 meq O₂/kg, w oleju wysokolinolenowym po 120 dniach przechowywania w warunkach chłodniczych.

Analizowane oleje charakteryzowały się podczas 112 dni przechowywania niskim poziomem liczby anizydynowej, który nie przekroczył wartości 2,64 ± 0,01 (tab. 2). Małą zawartość wtórnych produktów utleniania w przechowywanych olejach lnianych, potwierdzona także w badaniach Aladedunye i wsp. [1] oraz Mińkowskiego [13], jest zapewne bezpośrednio związana z niewielką zawartością nadtlenków, które są prekursorami wtórnych produktów utleniania.

Tabela 2. Wartości liczby nadtlenkowej, liczby anizydynowej oraz wskaźnika Totox w olejach lnianych tłoczonych na zimno, przechowywanych w temperaturze 25 i 5 °C

Table 2. Peroxide value, p-anisidine value, and Totox index value of cold-pressed flaxseed oils stored at temperature of 25 °C and 5 °C

Czas [dni] Time period [days]	Próbka / Sample			
	WL 25 °C	NL 25 °C	WL 5 °C	NL 5 °C
Liczba nadtlenkowa / Peroxide value [meq O ₂ /kg]				
0	1,17 ^a ± 0,00	0,56 ^a ± 0,02	1,17 ^a ± 0,00	0,56 ^a ± 0,02
14	1,58 ^a ± 0,05	0,59 ^{ab} ± 0,00	1,23 ^a ± 0,06	0,60 ^{ab} ± 0,01
28	2,85 ^b ± 0,11	0,69 ^{ab} ± 0,00	1,29 ^a ± 0,01	0,60 ^{ab} ± 0,02
42	3,48 ^c ± 0,15	0,73 ^b ± 0,04	1,33 ^a ± 0,02	0,61 ^{ab} ± 0,05
56	3,60 ^c ± 0,23	0,72 ^b ± 0,06	1,66 ^b ± 0,09	0,63 ^{ab} ± 0,07
70	3,65 ^c ± 0,01	0,94 ^c ± 0,00	1,87 ^b ± 0,12	0,64 ^{ab} ± 0,06
84	4,16 ^d ± 0,09	1,23 ^d ± 0,07	1,86 ^b ± 0,09	0,63 ^{ab} ± 0,03
98	4,33 ^{dc} ± 0,01	1,36 ^d ± 0,01	1,91 ^b ± 0,05	0,63 ^{ab} ± 0,07
112	4,59 ^e ± 0,08	1,58 ^e ± 0,00	2,36 ^c ± 0,01	0,76 ^b ± 0,00

Czas [dni] Time period [days]	Próbka / Sample			
	WL 25 °C	NL 25 °C	WL 5 °C	NL 5 °C
Liczba anizydynowa / Anisidine value [unit]				
0	1,28 ^a ± 0,08	0,67 ^b ± 0,00	1,28 ^{ab} ± 0,08	0,67 ^c ± 0,00
28	1,30 ^a ± 0,01	0,57 ^b ± 0,01	1,43 ^b ± 0,01	0,57 ^b ± 0,01
56	1,63 ^b ± 0,00	0,27 ^a ± 0,04	1,16 ^a ± 0,00	0,57 ^b ± 0,04
84	1,82 ^c ± 0,01	0,24 ^a ± 0,06	1,19 ^a ± 0,04	0,46 ^a ± 0,03
112	2,64 ^d ± 0,01	0,25 ^a ± 0,01	1,18 ^a ± 0,04	0,52 ^{ab} ± 0,00
Totox / Totox index				
0	3,62	1,79	3,62	1,79
28	7,00	1,96	4,01	1,76
56	8,83	1,51	4,48	1,83
84	10,13	2,70	4,91	1,72
112	11,82	3,41	5,89	2,04

Objaśnienia: / Explanatory notes:

Objaśnienia symboli jak pod tab. 1. / Explanations of symbols as in Tab. 1. W tabeli przedstawiono wartości średnie ± odchylenia standardowe / Tab. shows mean values ± standard deviations; n = 4;

a, b – wartości średnie oznaczone różnymi literami w kolumnach różnią się statystycznie istotnie (p < 0,05) / mean values denoted with different letters within columns differ statistically significantly (p < 0.05).

Na podstawie wartości liczb nadtlenukowej i anizydynowej wyliczono wskaźnik Totox, który w sposób umowny wyraża ogólny stopień utlenienia olejów. Wartość wskaźnika Totox na poziomie 10 wyznacza akceptowaną jakość olejów jadalnych [26]. Stwierdzono, że jedynie w próbce oleju WL 25 °C przekroczona została ustalona wartość Totox po upływie 84 dni. Pozostałe oleje zachowały dobrą jakość pod względem wskaźników chemicznych przez 112 dni składowania (tab. 2).

Wpływ przechowywania na cechy sensoryczne olejów lnianych

W trakcie przechowywania stwierdzono zmianę profilu smakowitości badanych olejów uzależnioną od rodzaju oleju i temperatury jego składowania (rys. 1). Przeprowadzona analiza wariancji (tab. 3) wykazała, że intensywność smaku gorzkiego oraz ocena ogólna ulegały statystycznie istotnym (p = 0,05) zmianom między poszczególnymi sesjami we wszystkich badanych olejach. W przypadku nut: orzechowej, utlenionej oraz trawiastej istotne zmiany średnich intensywności między poszczególnymi ocenami stwierdzono tylko w przypadku niektórych próbek.

Tabela 3. Istotność różnic w zakresie intensywności poszczególnych wyróżników olejów lnianych w trakcie przechowywania w temperaturze 25 i 5 °C

Table 3. Significance of differences in intensity of individual attributes of flaxseed oils during storage at temperature of 25 °C and 5 °C

Wyróżnik / Attribute	Próbka / Sample			
	WL 25 °C	NL 25 °C	WL 5 °C	NL 5 °C
Nuta orzechowa / Nutty flavour	0,153	0,467	0,000	0,011
Nuta utleniona / Oxidized flavour	0,001	0,064	0,000	0,004
Nuta trawiasta / Grassy flavour	0,255	0,136	0,002	0,445
Smak gorzki / Bitter taste	0,000	0,000	0,000	0,000
Ocena ogólna / Overall quality	0,000	0,013	0,000	0,001

Objaśnienia: / Explanatory notes:

Objaśnienia symboli jak pod tab. 1. / Explanations of symbols as in Tab. 1.

Pogrubiono istotności < 0,05; zmiana statystycznie istotna / significance < 0.05 is in bold; statistically significant change.

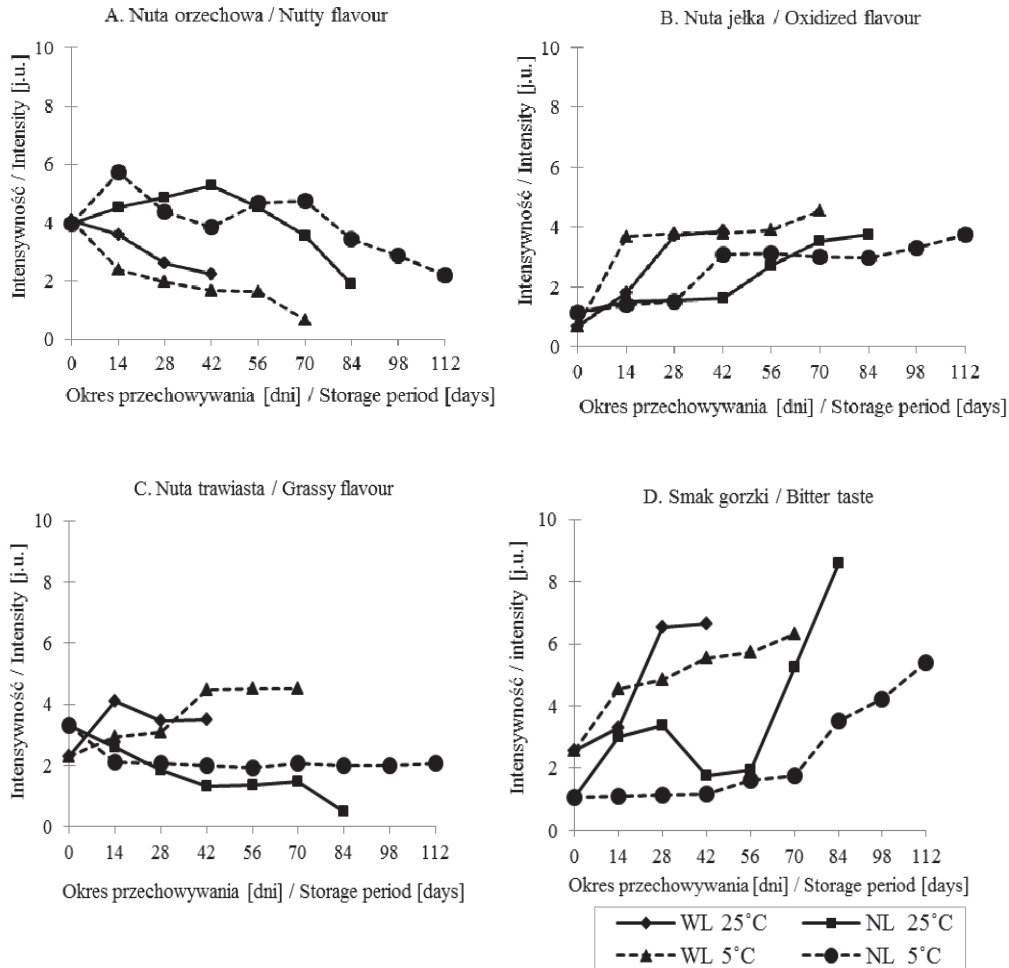
Intensywność nuty orzechowej olejów przechowywanych w temp. 25 i 5 °C malała podczas całego okresu przechowywania (rys. 1 A). Oleje NL charakteryzowały się większą intensywnością nuty orzechowej niż oleje WL, mimo że na początku doświadczenia postrzegana intensywność tego wyróżnika w próbkach była zbliżona.

Intensywność nuty utlenionej badanych próbek wzrastała w trakcie przechowywania, zarówno w temp. 25 °C, jak i 5 °C (rys. 1 B), ale nie przekroczyła 4,1 j.u. w żadnej z nich. Stwierdzono, że oleje WL charakteryzowały się wyższą intensywnością nuty utlenionej niż oleje NL w ciągu całego okresu przechowywania.

Intensywność nuty trawiastej zmieniała się w trakcie przechowywania oleju w różnym stopniu i kierunku, w zależności od próbki (rys. 1 C). W próbkach NL odnotowano zmniejszanie intensywności nuty trawiastej, a w próbkach WL – wzrost intensywności tej cechy.

W trakcie przechowywania odczucie smaku gorzkiego ulegało najintensywniejszym zmianom w porównaniu z innymi badanymi wyróżnikami sensorycznymi. W próbkach olejów WL obserwowano wzrost odczuwanej gorzkości przez cały okres składowania, przy czym dynamika zmian była wyższa w przypadku próbek przechowywanych w temp. 25 °C niż w 5 °C. Najwyższy poziom gorzkości osiągnęła próbka NL 25 °C (8,6 j.u.).

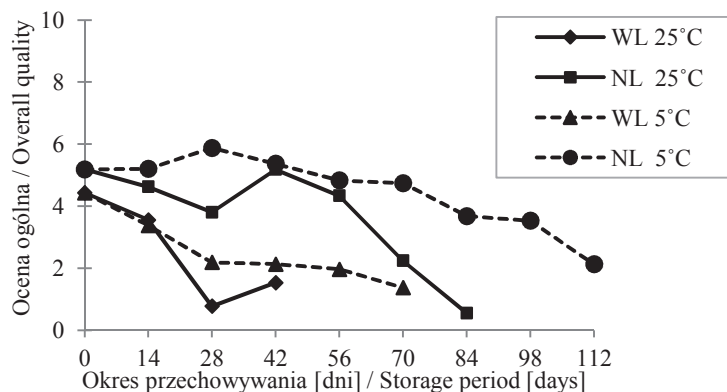
W oleju NL przechowywanym w temp. 5 °C (NL 5 °C) intensywność smaku gorzkiego utrzymywała się przez 42 dni doświadczenia na stałym poziomie – 1,1 ÷ 1,2 j.u., istotnie niższym niż w pozostałych próbkach. Następnie stwierdzono nieznaczny wzrost odczuwanej gorzkości, a po 70 dniach składowania tempo zmian zwiększyło się.



Rys. 1. Intensywność nut: orzechowej (A), utlenionej (B), trawiastej (C) i smaku gorzkiego (D) w olejach lnianych przechowywanych w temperaturze 25 i 5 °C

Fig. 1. Intensity of nutty (A), oxidized (B), and grassy (C) flavours and of bitter taste (D) of flaxseed oils stored at temperature of 25 °C and 5 °C

W czasie przechowywania olejów stwierdzono istotne obniżenie ogólnej jakości sensorycznej próbek, zwłaszcza olejów wysokolinolenowych (WL) – rys. 2. Ocena ogólna olejów była ściśle powiązana z intensywnością ocenianych wyróżników sensorycznych. Najsilniejszą ujemną korelację stwierdzono między intensywnością smaku gorzkiego a oceną ogólną próbek ($r = -0,98$), a najsilniejszą dodatnią korelację między intensywnością nuty orzechowej a oceną ogólną próbek ($r = 0,83$) podczas całego okresu przechowywania.



Rys. 2. Wyniki oceny ogólnej olejów lnianych przechowywanych w temperaturze 25 i 5 °C
 Fig. 2. Results of overall assessment of flaxseed oils stored at temperature of 25 °C and 5 °C

Biorąc pod uwagę gorzkość jako kluczowy wyróżnik sensoryczny olejów lnianych, najsilniej skorelowany z oceną ogólną, wyznaczono trwałość próbek na podstawie odczuwanego akceptowanego poziom smaku gorzkiego. Badane oleje wykazały zróżnicowaną trwałość, która kształtowała się wzrastająco: olej lniany WL 25 °C (42 dni) < olej WL 5 °C (70 dni) < olej NL 25 °C (84 dni) < olej NL 5 °C (112 dni). Przechowywanie olejów w warunkach chłodniczych pozwoliło na opóźnienie niekorzystnych zmian profilu smakowitości olejów w porównaniu z przechowywaniem w symulowanych warunkach półki sklepowej.

Wzrost odczuwanej gorzkości w badanym oleju wysokolinolenowym nastąpił znacznie wcześniej niż w oleju niskolinolenowym. Kwas α -linolenowy utlenia się 20 ÷ 40 razy szybciej niż kwas oleinowy i 2 ÷ 4 razy szybciej niż kwas linolowy [8]. Olej WL zawierał znaczne ilości kwasu α -linolenowego, przez co utlenianie zachodziło szybciej niż w oleju NL. Zatem prawdopodobnie niekorzystne zmiany cech sensorycznych są związane z wysoką zawartością kwasu α -linolenowego, chociaż nie zaobserwowano w olejach nagromadzenia się pierwotnych ani wtórnych produktów utleniania.

Wnioski

1. W olejach lnianych (wysoko- i niskolinolenowym) przechowywanych w temperaturze 25 °C oraz 5 °C przez 112 dni nie stwierdzono intensywnego przebiegu zmian oksydacyjnych mierzonych zawartością pierwotnych i wtórnych produktów utleniania, natomiast zaobserwowano istotne niekorzystne zmiany profilu smakowitości oraz ogólnej jakości sensorycznej próbek. Stwierdzono obniżenie intensywności nuty orzechowej i oceny ogólnej oraz wzrost intensywności smaku gorzkiego i nuty utlenionej we wszystkich badanych olejach.

2. Intensywność smaku gorzkiego olejów lnianych podczas przechowywania uległa najbardziej znaczącym zmianom w porównaniu z innymi badanymi wyróżnikami sensorycznymi. Smak gorzki był najsilniej ujemnie skorelowany z oceną ogólną olejów ($r = -0,98$).
3. Trwałość poszczególnych olejów lnianych, wyznaczona na podstawie akceptowanego poziomu gorzkości, była zróżnicowana (od 42 do 112 dni) i uzależniona od warunków przechowywania oleju oraz odmiany nasion, z której uzyskano olej.
4. Do wyznaczania trwałości oleju lnianego tłoczonego na zimno bardziej przydatna jest analiza sensoryczna niż ocena cech fizykochemicznych. Wartości oznaczonych parametrów LOO, LA nie przekroczyły dopuszczalnego poziomu do końca trwania eksperymentu (112 dni).

Publikacja finansowana z tematu „Kształtowanie stabilności oksydacyjnej oleju lnianego tłoczonego na zimno” (nr 51103-446, Uniwersytet Ekonomiczny w Poznaniu)

Literatura

- [1] Aladedunye F., Sosińska E., Przybylski R.: Flaxseed cyclolinopeptides: analysis and storage stability. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 2013, **90** (3), 419-428.
- [2] Broadbent C.J., Pike O.A.: Oil stability index correlated with sensory determination of oxidative stability in canola oil. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 2003, **80**, 59-63.
- [3] Brühl L., Matthäus B., Fehling E., Wiege B., Lehmann B., Luftmann H., Bergander K., Quiroga K., Scheipers A., Frank O., Hofmann T.: Identification of bitter off-taste compounds in the stored cold pressed linseed oil. *J. Agric. Food Chem.*, 2007, **55** (19), 7864-7868.
- [4] Brühl L., Matthäus B., Scheipers A., Hofmann T.: Bitter off-taste in stored cold-pressed linseed oil obtained from different varieties. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, 2008, **110**, 625-631.
- [5] Choo W.-S., Birch J., Dufour J.-P.: Physicochemical and quality characteristics of cold-pressed flaxseed oils. *J. Food Compos. Anal.*, 2007, **20**, 202-211.
- [6] Codex Standard 19-1981 Codex Standard for edible fats and oils not covered by individual standards. Amendment 2013.
- [7] Frankel E.N.: In search of better methods to evaluate natural antioxidants and oxidative stability in food lipids. *Trends Food Sci. Technol.*, 1993, **4**, 220-225.
- [8] Frankel E.N.: *Lipid Oxidation*, Scotland, The Oily Press, 2005.
- [9] Hosseinian F.S., Rowland G.G., Bhirud P.R., Dyck J.H., Tyler R.T.: Chemical composition and physicochemical and hydrogenation characteristics of high-palmitic acid Solin (low-linolenic acid flaxseed) oil. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 2004, **81** (2), 185-188.
- [10] Juita, Długogorski B.Z., Kennedy E.M., Mackie J.C.: Low temperature oxidation of linseed oil: a review. *Fire Science Reviews*, 2012, **3** (1), 1-36.
- [11] Martín-Polvillo M., Márquez-Ruiz G., Dobarganes M.C.: Oxidative Stability of Sunflower Oils Differing in Unsaturation Degree During Long-Term Storage at Room Temperature. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 2004, **81** (6), 577-583.
- [12] Michotte D., Rogez H., Chirinos R., Mignolet E., Campos D., Larondelle Y.: Linseed oil stabilisation with pure natural phenolic compounds, *Food Chem.*, 2011, **129**, 1228-1231.
- [13] Mińkowski K.: Ocena skuteczności działania przeciwutleniaczy w oleju lnianym i ogórecznikowym na podstawie testu Rancimat i badań przechowalniczych. *Tłuszcze Jadalne*, 2005, **40** (1-2), 46-59.

- [14] Mińkowski, K., Grzeńkiewicz, S., Jerzewska, M., Ropelewska, M.: Charakterystyka składu chemicznego olejów roślinnych o wysokiej zawartości kwasów linolenowych. *Zywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2010, **73** (6), 146-157.
- [15] Omar K.A., Shan L., Wang Y.L., Wang X.: Stabilizing flaxseed oil with individual antioxidants and their mixtures. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, 2010, **112**, 1003-1011.
- [16] Petersen K.D., Kleeberg K.K., Jahreis G., Busch-Stockfisch M., Fritsche J.: Comparison of analytical and sensory lipid oxidation parameters in conventional and high-oleic rapeseed oil. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, 2012, **114**, 1193-1203.
- [17] PN-EN ISO 660:2010. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Oznaczanie liczby kwasowej i kwasowości.
- [18] PN-EN ISO 6885:2008. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Oznaczanie liczby anizydynowej.
- [19] PN-EN ISO 8586:2014-03. Analiza sensoryczna. Ogólne wytyczne wyboru, szkolenia i monitorowania wybranych oceniających i ekspertów oceny sensorycznej.
- [20] PN-EN ISO 3960:2012. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Oznaczanie liczby nadtlenujowej. Jodometryczne (wizualne) oznaczanie punktu końcowego.
- [21] PN-ISO 6564:1999. Analiza sensoryczna. Metodologia. Metody profilowania smakowości.
- [22] Samotyja U.: Consumer acceptability studies in shelf-life estimation of rapeseed and sunflower oils, *Acta Alimentaria*, 2015, **44** (1), 60-67.
- [23] Subramanian R., Nandini K.E., Sheila P.M., Gopalakrishna A.G., Raghavarao K.S.M.S., Nakajima M., Kimura T., Maekawa T.: Membrane processing of used frying oils. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 2000, **77**, 323-328.
- [24] Wąsowicz E., Kamiński E.: Fatty acid composition of „Bebiko” infant formula determined by support-coated open tubular gas chromatography. *Die Nahrung*, 1984, **25** (6), 599-603.
- [25] Wiesenborn D., Kangas N., Tostenson K., Hall III C., Chang K.: Sensory and oxidative quality of screw-pressed flaxseed oil. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 2005, **82** (12), 887-892.
- [26] Wroniak M., Kwiatkowska M., Krygier K.: Charakterystyka wybranych olejów tłoczonych na zimno. *Zywność. Nauka Technologia. Jakość*, 2006, **2** (47), 46-58.

ROLE OF SENSORY AND PHYSICOCHEMICAL PROPERTIES IN DETERMINING SHELF-LIFE OF COLD-PRESSED FLAXSEED OIL

S u m m a r y

The objective of the research study was to assess the changes in physicochemical and sensory properties in terms of their usefulness in determining the shelf-life of cold-pressed flaxseed oils. The research material consisted of oils produced from two flaxseed varieties: ‘Oliwin’ high-linolenic acid flaxseed var. and ‘Linola’ low-linolenic acid flaxseed var. The oil samples were analyzed for their physicochemical and sensory parameters during the storage under practical conditions at 5 and 25 °C for 112 days. The following was analyzed: intensity of bitter taste; nutty, oxidized, and grassy flavours; the overall quality was also determined with the use of quantitative descriptive analysis (QDA).

In the analyses performed during the storage of flaxseed oils, there were reported no intensive oxidative changes expressed as a content of oxidation products, i.e. of the primary oxidation products (the level of peroxides in the samples did not exceed 4.59 ± 0.08 meq O_2/kg) and of the secondary oxidation products (the maximum anisidine value was 2.64 ± 0.01). There were reported significant changes in the flavour profile and a decrease in the overall quality of the samples. The changes in the bitter taste of flaxseed oils were the most significant compared to other sensory attributes analyzed (in the case of the ‘Linola’ oil stored at 25 °C, the intensity of its bitter taste increased 8 times). The bitter taste was the most negatively correlated with the overall quality of oils ($r = -0.98$). The shelf-life of individual flaxseed oils, determined

on the basis of the acceptable level of bitterness, varied between 42 and 112 days and was dependent on the storage conditions and the flaxseed variety used to produce oils.

Based on the results obtained, it is concluded that for the purpose of determining the shelf-life of cold-pressed flaxseed oil, the sensory analysis is more useful than the analysis of physicochemical properties.

Key words: cold-pressed flaxseed oil, bitter taste, oxidative stability, shelf-life, quantitative descriptive analysis (QDA) ☒

**Zakład Higieny i Zarządzania Jakością Żywności
Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie**

oraz

Polskie Towarzystwo Technologów Żywności – Zarząd Główny

zapraszają na

**I Sympozjum Naukowe
Bezpieczeństwo Żywnościowe i Żywności**

Kiry (k. Zakopanego), 17 - 19. 04. 2016 r.

Adres Komitetu Organizacyjnego

**Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie
02-776 Warszawa, ul. Nowoursynowska 159C,
Tel. 22 59 37 075; e-mail: sympozjumkiry@wp.pl**

TOMASZ KRZYWIŃSKI, MAREK WIANECKI, GRZEGORZ TOKARCZYK,
KATARZYNA FELISIAK, MARIUSZ SZYMCZAK

WPLYW DODATKU MIĘSA Z PŁOCI NA JAKOŚĆ I TRWAŁOŚĆ PRZEKĄSEK MĄCZNO-RYBNYCH

Streszczenie

Celem pracy było określenie wpływu dodatku mięsa z płoci oddzielonego mechanicznie (MOM), surowego i przemywanego, do pszennego ciasta drożdżowego na trwałość i zmiany jakościowe zachodzące w czasie produkcji i przechowywania wyrobów. Przekąski o kształcie paluszków zawierały dodatek 10 i 20 % MOM z płoci w stosunku do masy mąki. Dodatek MOM w różnym stopniu wpłynął na ogólną jakość sensoryczną paluszków i ich barwę po wypieczeniu, mierzoną metodą odbiciową, przy czym płóć w postaci przemywanego MOM stanowiła lepszy surowiec do produkcji wyrobów przekąskowych na bazie mąki. Stwierdzono zmniejszenie kruchości paluszków i wzrost ich wilgotności oraz obniżenie ogólnej jakości sensorycznej w 9. dniu przechowywania, niezależnie od analizowanego wariantu. Pod względem ogólnej jakości sensorycznej najlepsze były paluszki z dodatkiem 10 % MOM przemywanego. Gotowe paluszki charakteryzowały się jednolitym kształtem oraz równomiernym stopniem wypieczenia. Najciemniejsze były produkty zawierające 20 % surowego MOM, a najjaśniejsze – z dodatkiem 20 % przemywanego MOM. Smak paluszków był również uzależniony od dodatku mięsa ryby, przy czym najbardziej wyczuwalnym smakiem rybnym charakteryzowały się próbki zawierające surowy MOM. Wykazano stały przyrost pierwotnych i wtórnych produktów utleniania lipidów w czasie składowania próbek, co potwierdzono wzrostem liczb nadtlenkowej oraz anizydynowej. Zmiany hydrolityczne tłuszczów wyrażono za pomocą liczby kwasowej. Najmniejszym stopniem hydrolizy charakteryzowała się frakcja tłuszczowa próby kontrolnej, a najwyższym – frakcja tłuszczowa próby z dodatkiem 20 % surowego MOM.

Słowa kluczowe: przekąski mączno-rybne, płóć, mięso oddzielone mechanicznie (MOM) z płoci, jakość sensoryczna, utlenianie tłuszczów

*Dr inż. T. Krzywiński, dr hab. inż. M. Wiancki, prof. nadzw., dr inż. G. Tokarczyk, dr inż. K. Felisiak, dr inż. M. Szymczak, Katedra Technologii Żywności, Wydz. Nauk o Żywności i Rybactwa, Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie, ul. Papieża Pawła VI 3, 71-459 Szczecin.
Kontakt: krzywy-t@o2.pl*

Wprowadzenie

Atrakcyjność przekąsek zależy od właściwego doboru surowców oraz parametrów procesu ich wytwarzania (pieczenie, smażenie, ekstruzja), które gwarantują pożądany smak, kruchość i trwałość w czasie przechowywania.

Producenci żywności starają się powiększać ofertę asortymentową przekąsek. Jest to związane z udoskonalaniem metod wytwarzania lub wdrażaniem nowych technologii. Dlatego od wielu lat prowadzone są badania nad wzbogacaniem wyrobów przekąskowych w pełnowartościowe białko, błonnik pokarmowy, witaminy, składniki mineralne czy w przeciwutleniacze [13, 23, 28]. Składniki te w różnym stopniu wpływają na konsystencję, smak oraz wygląd wytwarzanych przekąsek [8, 24].

Przekąski wypiekane, do których zalicza się m.in. paluszki, krakersy czy precle charakteryzują się chrupką i kruchą konsystencją. Składniki receptury można modyfikować. Na przykład dodatek mięsa ryb może wpłynąć na poprawę porowatości i kruchości przekąsek, a równocześnie na wzrost ich wartości odżywczej poprzez uzupełnienie składu aminokwasowego. Dodatkowo przekąski takie cechują się korzystnym profilem kwasów tłuszczowych z rodziny *n-3* i *n-6*, a w szczególności wzbogacone są w kwasy EPA (kwas eikozapentaenowy) i DHA (dokozaheksaenowy) [12]. Jednym z gatunków ryb, który można wykorzystać do wyrobu przekąsek jest płoć. Mięso płoci zawiera dużo białka (ok. 20 g/100 g mięsa), potasu (330 mg/100 g mięsa), fosforu (252 mg/100 g mięsa) oraz wapnia (96 mg/100 g mięsa) [5]. Mimo małej zawartości tłuszczu (ok. 1,0 ÷ 1,5 g/100 g mięsa) frakcja lipidowa mięsa płoci zawiera cenne kwasy tłuszczowe z rodziny *n-3* i *n-6*, wśród których najważniejsze są EPA i DHA. Zawartość kwasów EPA i DHA jest zmienna i np. w okresie przedtarłowym ich ilość może wynieść nawet 0,6 g/100 g mięsa [2].

Ze względu na budowę anatomiczną i dość znaczną zawartość ości płoć nie jest surowcem popularnym i należy do tzw. ryb małowartościowych gospodarczo. W związku z tym produkcja mięsa oddzielonego mechanicznie (MOM), pozbawionego kawałków skóry, kości i ości, jest dobrym kierunkiem przetwórstwa płoci. MOM można poddawać modyfikacji fizycznej, np. przemywaniu, które częściowo usuwa zapach i smak rybny [10]. Takie mięso może być wykorzystywane m.in. do produkcji przekąsek, które mogą uzyskać akceptację konsumentów. Dodatkowo zabieg ten w znacznym stopniu poprawia barwę MOM poprzez usunięcie hemoglobiny, mioglobiny oraz białek sarkoplazmatycznych.

Celem pracy było określenie wpływu dodatku 10 i 20 % surowego oraz przemywanego MOM z płoci do ciasta drożdżowego na trwałość i zmiany jakościowe zachodzące w czasie produkcji i przechowywania przekąsek (paluszków).

Material i metody badań

Płocie (*Rutilus rutilus* L.), odłowione w Zalewie Szczecińskim, po dostarczeniu do laboratorium i oddzieleniu lodu oprawiano ręcznie do postaci tusz, płukano w bieżącej wodzie wodociągowej i pozostawiano do ocieknięcia (ok. 20 min). Tusze przepuszczano przez separator bębnowy typu NF 13DX (Bibun, Japonia) o 4-milimetrowej średnicy otworów w bębnie, a otrzymane mechanicznie oddzielone mięso (MOM) doczyszczano w separatorze ślimakowym (streinerze) typu SUM 420 (Bibun, Japonia), o średnicy otworów w siatce 2,7 mm, w celu usunięcia resztek kości, ości i skóry. Przemycanie MOM wykonywano dwukrotnie wodą wodociągową (w stosunku 1 : 3 m/m) o temp. $5 \div 7$ °C w ciągu 10 min, a następnie wirowano w wirówce koszowej 16 × 10 KEW (Bibun, Japonia) w celu usunięcia nadmiaru wody.

W skład receptury paluszków wchodziło surowe lub przemycane mięso odkostnione mechanicznie (MOM) z płoci, które mieszano z mąką pszenną typu 500 (Młyn, Grodzisk Wielkopolski). W zależności od wariantu paluszków 10 lub 20 % mąki zastępowano dodatkiem MOM. Następnie dodawano drożdże (2 %) (Lesaffre Polska S.A., Wołczyn), proszek do pieczenia (2 %) (Dr. Oetker Polska Sp. z o.o.), sól (1,5 %) (Kopalnia soli, Kłodawa) oraz olej rzepakowy (13 %) (ADM Szamotuły Sp. z o.o.). W celu uzyskania ciasta konsystencji odpowiedniej do wytłaczania paluszków, do produktu dodawano wodę w ilości 8 lub 15 % w zależności od ilości dodawanego MOM do próby. Przy większym udziale MOM w składzie receptury ilość dodawanej wody była mniejsza. Wszystkie składniki mieszano i wytłaczano w wytłaczarce do makaronów typu P3 (La Monferrina, Włochy), ze zmodyfikowaną matrycą do wytłaczania. Po wytłoczeniu paluszki wypiekano w piecu elektrycznym Unox, typ XF (Unox S.p.A., Włochy) w temp. 220 °C przez 7 min. Wykonano 5 wariantów modelowych paluszków.

Wypieczone paluszki poddawano analizie sensorycznej metodą 5-punktową, zgodnie z zaleceniami Baryłko-Pikielnej i Matuszewskiej [1] oraz Lisińskiej i wsp. [14]. Nota 5 oznaczała najwyższe natężenie cechy a 1 – najniższe. Dopuszczono stosowanie not połówkowych. Zespół oceniający składał się z ośmiu przeszkolonych osób. Oceny wykonywano w pracowni analiz sensorycznych, spełniającej wymagania normy PN-EN ISO 8589:2010 [20]. Oceniano cechy: kształt i wygląd zewnętrzny (z uwzględnieniem barwy), teksturę, zapach oraz smak. Dodatkowo określono sensoryczną jakość ogólną paluszków, przyjmując następujące współczynniki ważkości: smak – 0,4, konsystencja – 0,3, zapach – 0,2, barwa – 0,1 [1]. Przyjęto, że wyrób pod względem sensorycznym nadaje się do spożycia, jeżeli ocena całkowita nie jest niższa niż 3,0 [16].

Pomiar barwy wykonywano w systemie LAB przy użyciu aparatu typu Hunter-Lab, model D25 (Hunter Associates Laboratory, Inc., Reston, USA), wyposażonego w lampę kwarcowo-halogenową. Stosowano obserwator spektrofotometryczny o kącie

widzenia 10°, przy geometrii układu 45°/0°. Pomiarów parametrów barwy: L (jasność), a (barwa czerwona) i b (barwa żółta) w świetle odbitym wykonywano na próbkach o średnicy 60 mm i grubości 1,2 mm. Miernik kalibrowano na wzorcu bieli C-6544. Łącznie wykonano po 6 pomiarów.

W tłuszczu wypieczonych paluszków, wyekstrahowanym metodą Bligha-Dyera [3], oznaczano: liczbę kwasową, [18], liczbę Lea (nadtlenkową) [17] oraz liczbę anizydynową [19]. Liczba kwasowa świadczy o zawartości wolnych kwasów tłuszczowych w produkcie. Liczba nadtlenkowa obrazuje zawartość pierwotnych produktów utleniania, tj. nadtlenków i hydronadtlenków i charakteryzuje pierwszy etap procesu utleniania. Liczba anizydynowa określa natomiast zawartość wtórnych produktów utleniania, tj. aldehydów i ketonów. W paluszkach oznaczano również zawartość wody metodą suszarkową w temp. 105 °C. Analizy wykonywano bezpośrednio po wypieczeniu paluszków oraz w 3., 6. i 9. dobie przechowywania. Paluszki przechowywano bez opakowań ze swobodnym dostępem powietrza atmosferycznego w pomieszczeniu o temp. 25 ± 1 °C. Analizie poddano również olej użyty do produkcji paluszków, w którym oznaczano liczby: kwasową (LK) [18], nadtlenkową (LOO) [17] i anizydynową (LA) [19].

Analizę statystyczną wyników przeprowadzono przy użyciu programów, Ms Office Excel® (średnia statystyczna, odchylenie standardowe) oraz Statistica 9.0. Analizowano istotność różnic za pomocą wieloczynnikowej analizy wariancji oraz testu Tukeya (HSD), przy poziomie istotności $p \leq 0,05$.

Wyniki i dyskusja

W ocenie wyglądu uwzględniono barwę, deformację oraz równomierność wypieczenia. Cechy te pozostały na niezmiennym poziomie w czasie przechowywania paluszków, dlatego wyniki oceny wyglądu zewnętrznego przedstawione w tab. 1. dotyczą przekąsek bezpośrednio po wypieczeniu. Wyniki pozostałych cech sensorycznych: zapachu, tekstury, smaku i jakości ogólnej obejmują także przechowywanie (tab. 1). Wypieczone paluszki (wszystkie warianty) charakteryzowały się jednolitym kształtem (brak deformacji) oraz równomiernym stopniem wypieczenia. Zespół oceniający nie odrzucił żadnego wariantu paluszków ze względu na te cechy, gdyż nie zostały one ocenione poniżej 3,0 pkt. Podczas oceny barwy za najciemniejsze uznano paluszki z 20-procentowym dodatkiem surowego MOM (wariant C). Najjaśniejsze były natomiast paluszki z dodatkiem 20 % przemywanego MOM (wariant E).

Największe różnice dotyczyły zapachu rybnego. Dużą intensywnością tego wyróżnika charakteryzowały się paluszki z dodatkiem 20 % surowego MOM (wariant C), co oceniający uznali za cechę negatywną. Zapach ten nasilał się w czasie przechowywania i w 9. dobie osiągnął najwyższą intensywność (3,9 pkt). Najmniejszą intensywnością zapachu rybnego (bezpośrednio po wypieku) charakteryzowały się paluszki

z dodatkiem 10 % przemywanego MOM (wariant D) – 1,0 pkt, który określono jako przyjemny i delikatny zapach rybny. W czasie przechowywania intensywność zapachu rybnego wzrosła nieznacznie w tym wariantcie, a w 9. dobie oceniono go na poziomie 3,2 pkt. Natężenie zapachu tłuszczowego i mącznego zwiększało się we wszystkich wariantach paluszków w całym okresie przechowywania, a próba kontrolna (wariant A) charakteryzowała się największym jego natężeniem w porównaniu z pozostałymi wariantami.

Tekstura, w tym twardość i kruchość, jest jedną z cech decydujących o akceptacji produktu przez konsumenta. Twardość produktów przekąskowych powinna być mała, ponieważ zapewnia odpowiednią kruchość wyrobów [7]. Najtwardsze okazały się paluszki bez dodatku MOM (próba kontrolna – wariant A) w całym okresie ich przechowywania. Z kolei paluszki z dodatkiem 20 % surowego MOM (wariant C) w całym okresie przechowywania zostały uznane przez zespół oceniający za najmniej twarde (tab. 1). Wzrastający dodatek surowego lub przemywanego MOM do ciasta powodował zmniejszanie twardości paluszków w porównaniu z próbą kontrolną (wariant A) w całym okresie ich przechowywania. Wyniki te są analogiczne do wartości twardości mierzonej instrumentalnie, a uzyskanej w poprzednich badaniach [1].

W przypadku wyrobów kruchych zastąpienie podstawowych składników receptury (mąka, tłuszcz, cukier) różnymi dodatkami ma znaczący wpływ na ich teksturę, w tym na kruchość [4]. Dodatek komponentu mięsnego, niezależnie od jego ilości, wpływał na wzrost kruchości przekąsek. Paluszki z 20-procentowym dodatkiem surowego MOM (wariant C) odznaczały się największą kruchością w całym okresie przechowywania w porównaniu z pozostałymi wariantami. Równocześnie zaobserwowano, że wraz z wydłużaniem czasu przechowywania paluszków nadmiernie wzrastała ich kruchość. W 9. dobie paluszki (wszystkie warianty) rozsypywały się podczas oceny sensorycznej, co było ich wadą. Paluszki należą do produktów bardzo higroskopijnych, a zabsorbowana woda z otoczenia wpływa na ich strukturę, w szczególności na kruchość, czego dowiedli także Rutkowska i wsp. w badaniach ciastek maślanych z dodatkiem poppingu z amarantusa [23].

Smak słodki był prawie niewyczuwalny w paluszkach w całym okresie przechowywania, a smak słony był najbardziej intensywny w próbie kontrolnej (wariant A) (tab. 1). W wypieczonych paluszkach zaobserwowano zmniejszenie wyczuwalności natężenia smaku słonego we wszystkich wariantach w czasie ich przechowywania. Najbardziej wyczuwalny był on w próbie kontrolnej, która po wypieczeniu charakteryzowała się najwyższym odczuciem słoności (4,0 pkt), natomiast w 9. dobie przechowywania odczucie to zmalało (3,4 pkt). Wyczuwalność smaku mącznego wzrosła w czasie przechowywania niezależnie od wariantu, a najbardziej intensywnym jego smakiem charakteryzował się wariant A (próba kontrolna).

Tabela 1. Wyniki analizy sensorycznej badanych paluszków mączno-rybnych po wypieczeniu
 Table 1. Results of sensory analysis of studied flour-and-fish fingers after baking

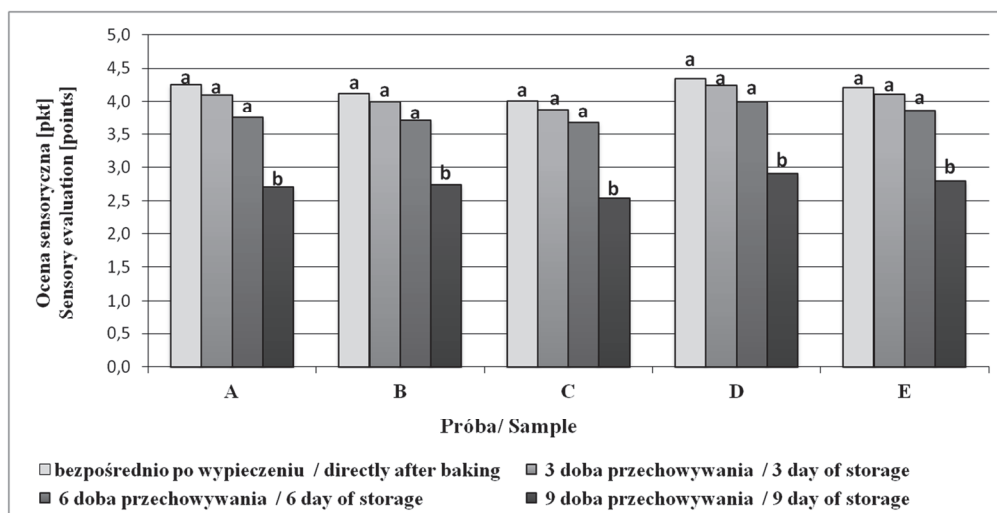
Doba przechowywania Day of storage	Cechy / Features	Próba / Sample					
		A	B	C	D	E	
		x ± s / SD	x ± s / SD	x ± s / SD	x ± s / SD	x ± s / SD	
1.	Wygląd zewnętrzny Appearance	barwa / colour	4,10 ^a ± 0,12	4,05 ^a ± 0,33	4,25 ^b ± 0,12	4,05 ^a ± 0,12	4,00 ^a ± 0,12
		równomierność wypieczenia even level of baking	4,50 ^a ± 0,12	4,55 ^a ± 0,12	4,50 ^a ± 0,76	4,55 ^a ± 0,12	4,55 ^a ± 0,12
	Zapach Smell	deformacja / deformation	1,00 ^a ± 0,12	1,00 ^a ± 0,12	1,00 ^a ± 0,12	1,00 ^a ± 0,12	1,00 ^a ± 0,12
		śluzczowy / fatty	1,30 ^a ± 0,33	1,20 ^{ab} ± 0,12	1,10 ^b ± 0,12	1,20 ^{ab} ± 0,35	1,20 ^{ab} ± 0,27
		mączny / floury	1,70 ± 0,58	1,30 ^{ab} ± 0,42	1,20 ^a ± 0,35	1,50 ^c ± 0,39	1,40 ^{bc} ± 0,33
	Tekstura Texture	rybny / fishy	0,00 ± 0,12	1,30 ± 0,27	1,60 ± 0,35	1,00 ^a ± 0,65	1,10 ^a ± 0,27
		twardość / hardness	4,25 ± 0,22	4,00 ^b ± 0,45	3,85 ^a ± 0,65	3,95 ^a ± 0,35	3,90 ^{ab} ± 0,42
		kruchość / crispness	3,05 ± 0,12	3,40 ^a ± 0,39	3,85 ± 0,76	3,20 ± 0,76	3,35 ^a ± 0,35
	Smak Taste	słodki / sweet	1,20 ^a ± 0,12	1,20 ^a ± 0,22	1,20 ^a ± 0,35	1,20 ^a ± 0,58	1,20 ^a ± 0,27
		słony / salty	4,00 ± 0,12	3,10 ^a ± 0,39	3,10 ^a ± 0,12	3,40 ^b ± 0,22	3,30 ^b ± 0,12
		śluzczowy / fatty	1,70 ^c ± 0,22	1,50 ^{ab} ± 0,27	1,40 ^a ± 0,11	1,60 ^{bc} ± 0,45	1,50 ^{ab} ± 0,11
		mączny / floury	1,90 ^a ± 0,57	1,70 ^{bc} ± 0,33	1,60 ^c ± 0,35	1,90 ^a ± 0,12	1,80 ^{ab} ± 0,42
Ocena ogólna* / Overall evaluation *	rybny / fishy	0,00 ± 0,10	3,10 ± 0,42	3,40 ± 0,33	2,50 ± 0,65	2,90 ± 0,12	
		4,25 ^a ± 0,11	4,11 ^b ± 0,39	4,00 ± 0,42	4,34 ^a ± 0,27	4,21 ^{ab} ± 0,11	
	śluzczowy / fatty	1,80 ^a ± 0,58	1,60 ^{bc} ± 0,60	1,70 ^{ab} ± 0,27	1,60 ^{bc} ± 0,45	1,50 ^c ± 0,27	
	mączny / floury	2,80 ± 0,12	1,40 ± 0,76	1,10 ^{ab} ± 0,27	1,00 ^a ± 0,56	1,20 ^b ± 0,35	
	rybny / fishy	0,00 ± 0,11	1,70 ± 0,22	2,30 ± 0,12	1,20 ^a ± 0,22	1,20 ^a ± 0,27	
Zapach Smell	twardość / hardness	4,00 ± 0,35	3,80 ± 0,65	3,60 ± 0,11	3,40 ^a ± 0,27	3,30 ^a ± 0,22	
	kruchość / crispness	3,90 ^a ± 0,33	4,00 ^{ab} ± 0,11	4,30 ± 0,42	4,00 ^{ab} ± 0,12	4,10 ^b ± 0,27	
	słodki / sweet	1,20 ^a ± 0,58	1,70 ^b ± 0,58	1,50 ± 0,27	1,80 ^b ± 0,27	1,30 ^a ± 0,22	
	słony / salty	3,80 ± 0,27	3,10 ^{ab} ± 0,39	3,30 ^c ± 0,12	3,10 ^{ab} ± 0,39	3,20 ^{bc} ± 0,39	
	śluzczowy / fatty	2,50 ± 0,12	2,30 ^a ± 0,33	2,20 ^{ab} ± 0,35	2,00 ^c ± 0,58	2,10 ^{bc} ± 0,35	
Smak Taste	mączny / floury	3,00 ± 0,35	2,50 ^a ± 0,22	2,20 ^b ± 0,60	2,50 ^a ± 0,22	2,10 ^b ± 0,58	
	rybny / fishy	0,00 ± 0,11	3,30 ± 0,12	3,60 ± 0,12	3,00 ^a ± 0,11	3,10 ^a ± 0,22	
3.	Wygląd zewnętrzny Appearance	barwa / colour	4,10 ^a ± 0,12	4,05 ^a ± 0,33	4,25 ^b ± 0,12	4,05 ^a ± 0,12	4,00 ^a ± 0,12
		równomierność wypieczenia even level of baking	4,50 ^a ± 0,12	4,55 ^a ± 0,12	4,50 ^a ± 0,76	4,55 ^a ± 0,12	4,55 ^a ± 0,12
	Zapach Smell	deformacja / deformation	1,00 ^a ± 0,12	1,00 ^a ± 0,12	1,00 ^a ± 0,12	1,00 ^a ± 0,12	1,00 ^a ± 0,12
		śluzczowy / fatty	1,30 ^a ± 0,33	1,20 ^{ab} ± 0,12	1,10 ^b ± 0,12	1,20 ^{ab} ± 0,35	1,20 ^{ab} ± 0,27
		mączny / floury	1,70 ± 0,58	1,30 ^{ab} ± 0,42	1,20 ^a ± 0,35	1,50 ^c ± 0,39	1,40 ^{bc} ± 0,33
Tekstura Texture	rybny / fishy	0,00 ± 0,12	1,30 ± 0,27	1,60 ± 0,35	1,00 ^a ± 0,65	1,10 ^a ± 0,27	
	twardość / hardness	4,25 ± 0,22	4,00 ^b ± 0,45	3,85 ^a ± 0,65	3,95 ^a ± 0,35	3,90 ^{ab} ± 0,42	
	kruchość / crispness	3,05 ± 0,12	3,40 ^a ± 0,39	3,85 ± 0,76	3,20 ± 0,76	3,35 ^a ± 0,35	
Smak Taste	słodki / sweet	1,20 ^a ± 0,12	1,20 ^a ± 0,22	1,20 ^a ± 0,35	1,20 ^a ± 0,58	1,20 ^a ± 0,27	
	słony / salty	4,00 ± 0,12	3,10 ^a ± 0,39	3,10 ^a ± 0,12	3,40 ^b ± 0,22	3,30 ^b ± 0,12	
	śluzczowy / fatty	1,70 ^c ± 0,22	1,50 ^{ab} ± 0,27	1,40 ^a ± 0,11	1,60 ^{bc} ± 0,45	1,50 ^{ab} ± 0,11	
	mączny / floury	1,90 ^a ± 0,57	1,70 ^{bc} ± 0,33	1,60 ^c ± 0,35	1,90 ^a ± 0,12	1,80 ^{ab} ± 0,42	
Ocena ogólna* / Overall evaluation *	rybny / fishy	0,00 ± 0,10	3,10 ± 0,42	3,40 ± 0,33	2,50 ± 0,65	2,90 ± 0,12	
		4,25 ^a ± 0,11	4,11 ^b ± 0,39	4,00 ± 0,42	4,34 ^a ± 0,27	4,21 ^{ab} ± 0,11	
	śluzczowy / fatty	1,80 ^a ± 0,58	1,60 ^{bc} ± 0,60	1,70 ^{ab} ± 0,27	1,60 ^{bc} ± 0,45	1,50 ^c ± 0,27	
	mączny / floury	2,80 ± 0,12	1,40 ± 0,76	1,10 ^{ab} ± 0,27	1,00 ^a ± 0,56	1,20 ^b ± 0,35	
	rybny / fishy	0,00 ± 0,11	1,70 ± 0,22	2,30 ± 0,12	1,20 ^a ± 0,22	1,20 ^a ± 0,27	
Zapach Smell	twardość / hardness	4,00 ± 0,35	3,80 ± 0,65	3,60 ± 0,11	3,40 ^a ± 0,27	3,30 ^a ± 0,22	
	kruchość / crispness	3,90 ^a ± 0,33	4,00 ^{ab} ± 0,11	4,30 ± 0,42	4,00 ^{ab} ± 0,12	4,10 ^b ± 0,27	
	słodki / sweet	1,20 ^a ± 0,58	1,70 ^b ± 0,58	1,50 ± 0,27	1,80 ^b ± 0,27	1,30 ^a ± 0,22	
	słony / salty	3,80 ± 0,27	3,10 ^{ab} ± 0,39	3,30 ^c ± 0,12	3,10 ^{ab} ± 0,39	3,20 ^{bc} ± 0,39	
	śluzczowy / fatty	2,50 ± 0,12	2,30 ^a ± 0,33	2,20 ^{ab} ± 0,35	2,00 ^c ± 0,58	2,10 ^{bc} ± 0,35	
Smak Taste	mączny / floury	3,00 ± 0,35	2,50 ^a ± 0,22	2,20 ^b ± 0,60	2,50 ^a ± 0,22	2,10 ^b ± 0,58	
	rybny / fishy	0,00 ± 0,11	3,30 ± 0,12	3,60 ± 0,12	3,00 ^a ± 0,11	3,10 ^a ± 0,22	

6.	Ocena ogólna* / Overall evaluation *		4,10 ^{ab} ± 0,12	4,00 ^a ± 0,33	3,87 ± 0,12	4,24 ± 0,50	4,11 ^b ± 0,12
	Zapach Smell	tluszczowy / fatty	2,60 ± 0,12	2,40 ^a ± 0,65	2,40 ^a ± 0,39	1,90 ± 0,22	2,10 ± 0,42
		mączny / floury	3,20 ± 0,27	1,80 ± 0,12	1,30 ^{ab} ± 0,22	1,30 ^{ab} ± 0,12	1,20 ^b ± 0,58
	Tekstura Texture	rybny / fishy	0,00 ± 0,11	3,50 ± 0,27	3,70 ± 0,58	3,20 ^a ± 0,45	3,30 ^a ± 0,60
		twardość / hardness	3,95 ± 0,42	3,40 ± 0,22	3,20 ^b ± 0,35	3,10 ^{ab} ± 0,12	3,10 ^{ab} ± 0,60
		kruchość / crispness	4,00 ± 0,35	4,30 ^{ab} ± 0,50	4,50 ± 0,50	4,30 ^{ab} ± 0,50	4,20 ^b ± 0,58
		tluszczowy / fatty	1,20 ^b ± 0,22	1,70 ^a ± 0,27	1,50 ± 0,42	1,80 ^a ± 0,39	1,30 ^b ± 0,45
	Smak Taste	mączny / floury	3,60 ± 0,42	3,20 ^a ± 0,50	3,20 ^a ± 0,27	3,10 ^a ± 0,60	3,20 ^a ± 0,33
		rybny / fishy	4,20 ^a ± 0,27	4,20 ^a ± 0,42	3,80 ^b ± 0,39	4,00 ^a ± 0,50	3,90 ^{bc} ± 0,27
		twardość / hardness	3,40 ± 0,12	1,70 ^a ± 0,35	1,60 ± 0,45	2,90 ^b ± 0,60	2,80 ^b ± 0,35
kruchość / crispness		0,00 ± 0,11	3,60 ± 0,45	3,90 ± 0,12	3,10 ± 0,12	3,30 ± 0,27	
9.	Ocena ogólna* / Overall evaluation *		3,75 ^a ± 0,11	3,71 ^a ± 0,12	3,67 ^a ± 0,23	4,00 ± 0,11	3,86 ± 0,12
	Zapach Smell	tluszczowy / fatty	4,00 ± 0,57	3,10 ^a ± 0,35	2,80 ± 0,57	2,60 ± 0,27	3,10 ^a ± 0,58
		mączny / floury	3,40 ^b ± 0,35	1,80 ^a ± 0,27	1,80 ^a ± 0,65	3,30 ^b ± 0,35	1,50 ± 0,42
	Tekstura Texture	rybny / fishy	0,00 ± 0,11	3,60 ± 0,33	3,90 ± 0,76	3,20 ± 0,45	3,40 ± 0,39
		twardość / hardness	3,00 ± 0,11	2,85 ^a ± 0,58	2,65 ^b ± 0,42	2,80 ^a ± 0,27	2,60 ^b ± 0,35
		kruchość / crispness	4,50 ^a ± 0,50	4,60 ^{ab} ± 0,57	4,70 ^b ± 0,27	4,30 ^a ± 0,57	4,40 ^{bc} ± 0,39
		słodki / sweet	1,50 ^a ± 0,58	1,70 ^b ± 0,60	1,50 ^a ± 0,35	1,80 ^b ± 0,58	1,30 ± 0,65
	Smak Taste	słony / salty	3,40 ^b ± 0,50	3,10 ^a ± 0,27	3,10 ^a ± 0,39	2,80 ± 0,33	3,30 ^b ± 0,33
		tluszczowy / fatty	4,50 ± 0,50	4,10 ^a ± 0,60	3,90 ^b ± 0,65	4,00 ^{ab} ± 0,50	4,10 ^a ± 0,50
		mączny / floury	4,30 ± 0,42	3,80 ± 0,27	3,60 ± 0,42	3,00 ± 0,11	3,40 ± 0,45
rybny / fishy		0,00 ± 0,11	3,70 ± 0,12	4,10 ± 0,65	3,20 ± 0,27	3,50 ± 0,12	
Ocena ogólna* / Overall evaluation *		2,71 ^{ab} ± 0,12	2,74 ^a ± 0,11	2,63 ^b ± 0,27	2,91 ± 0,12	2,80 ^a ± 0,11	

Objaśnienia: / Explanatory notes:

A – próba kontrolna (bez dodatku MOM) / Control sample (without MSF added); B – paluszki z dodatkiem 10 % surowego MOM / fingers with 10 % of MSF added; C – paluszki z dodatkiem 20 % surowego MOM / fingers with 20 % of MSF added; D – paluszki z dodatkiem 10 % przemycanego MOM / fingers with 10 % of washed MSF added; E – paluszki z dodatkiem 20 % przemycanego MOM / fingers with 20 % of washed MSF added; * – ocena ogólna – obliczona z wykorzystaniem współczynników ważkości / overall evaluation calculated using weighting; x ± s / SD – wartość średnia ± odchylenie standardowe / mean value ± standard deviation; n = 8; a, b, c – wartości średnie w rzędach oznaczone tymi samymi literami nie różnią się statystycznie istotnie przy p ≤ 0,05 / mean values in rows and denoted by the same letters do not differ statistically significantly at p ≤ 0,05.

Najbardziej wyczuwalnym smakiem rybnym bezpośrednio po wypieczeniu charakteryzowały się warianty C (3,4 pkt) oraz B (3,1 pkt) – tab. 1. Odczucie smaku rybnego w czasie przechowywania wzrastało we wszystkich wariantach paluszków z dodatkiem surowego i przemywanego MOM, a w 9. dobie najbardziej wyczuwalne było w wariantach C i B (odpowiednio: 4,1 i 3,7 pkt). King [6] wytwarzał krakersy rybne z dodatkiem mięsa otoperki (*Brachydeuterus auritus*) i sardynki (*Sardinella aurita*) w różnych proporcjach mięsa ryby do mąki (40 : 60, 50 : 50, 60 : 40), przy czym próbki z dodatkiem 60 % mięsa ryby zostały sensorycznie ocenione najniżej ze względu na zbyt silny smak i zapach rybny. Yu i wsp. [27] wyprodukowali kerepuki z dodatkiem mięsa doraba (*Chirocentrus dorab*) w ilości 20 ÷ 60 % i zauważyli, że wraz ze wrastającym dodatkiem mięsa ryby obniżeniu ulegała ogólna ocena wyrobów, głównie przez zmiany smaku i zapachu.



Objaśnienia: / Explanatory notes:

a, b, c – wartości średnie (przedstawione w postaci słupków) oznaczone tymi samymi literami nie różnią się statystycznie istotnie przy $p \leq 0,05$ / mean values (shown as bars) denoted by the same letters do not differ statistically significantly at $p \leq 0.05$.

Rys. 1. Ogólna ocena jakości paluszków mączno-rybnych po wypieczeniu

Fig. 1. Overall evaluation of quality of flour-and-fish fingers after baking

Ocena ogólna wypieczonych paluszków malała w czasie ich przechowywania, niezależnie od wariantu (rys. 1). Najwyższą jakością sensoryczną charakteryzowały się paluszki wariantu D w całym okresie przechowywania, natomiast najniższą – wariantu C. Wykazano, że niezależnie od wariantu doświadczenia maksymalny okres przydatności do spożycia paluszków pod względem cech sensorycznych wynosił 6 dni. W tym

czasie produkty charakteryzowały się odpowiednim zapachem, smakiem i teksturą. Wyniki te różniły się statystycznie istotnie ($p \leq 0,05$) od oceny ogólnej pozostałych paluszków. Przemycanie MOM wpłynęło korzystnie na ocenę jakości sensorycznej gotowych przekąsek. Wianecki [26] wytwarzał smaki za pomocą ekstruzji z dodatkiem hydrolizatów białkowych z przemycanym i surowym MOM z płoci. Pod względem ogólnej jakości sensorycznej najwyższą oceniono smaki z udziałem hydrolizatów z płukanego MOM (4,15 pkt), a produkty z dodatkiem hydrolizatu z surowego MOM oceniono niżej (3,94 pkt). Przemycanie mięsa przed hydrolizą okazało się korzystne, gdyż wpływało na poprawę barwy, kruchości, smakowitości i stopnia ekspandowania smaków.

Instrumentalna analiza barwy paluszków

Wyniki pomiarów parametrów barwy badanych paluszków przedstawiono w tab. 2. Stwierdzono, że dodatek komponentów mięsnych miał wpływ na wartość parametru L. Najwyższą wartością jasności charakteryzowała się próba kontrolna – wariant A ($L = 72,83$) a najniższą – próba z 20-procentowym dodatkiem surowego MOM – wariant C ($L = 68,03$). Wzrastający dodatek surowego MOM wpływał na obniżenie wartości jasności, natomiast w próbach z dodatkiem przemycanego MOM wartość parametru L wzrastała, jednak była niższa niż w próbie kontrolnej. Podobne wyniki uzyskał Wianecki [25] w ekstrudatach z dodatkiem surowego i przemycanego MOM z płoci. Paluszki z 20-procentowym dodatkiem przemycanego MOM były jaśniejsze ($L = 70,05$) w porównaniu z próbkami z dodatkiem 20 % surowego MOM ($L = 69,03$).

We wszystkich wariantach badane paluszki charakteryzowały się wartościami właściwymi dla barwy czerwonej. Najwyższą wartością parametru a cechowały się paluszki wariantu B z dodatkiem 10 % surowego MOM ($a = 6,00$), a najmniejszą – paluszki wariantu E z dodatkiem 20 % przemycanego MOM ($a = 4,23$). Z kolei największy udział barwy żółtej stwierdzono w próbie kontrolnej ($b = 23,53$), a najmniejszy – w próbie E z dodatkiem 20 % przemycanego MOM ($b = 21,17$).

Surowy MOM użyty do produkcji przekąsek charakteryzował się niską wartością parametru L ($L = 47,83$) oraz wysokim stopniem wysycenia barwą czerwoną ($a = 11,43$), co wynikało z obecności resztek krwi. Aby poprawić właściwości technologiczne rozdrobnionego mięsa, głównie barwy, surowy MOM poddano przemycaniu, dzięki czemu usunięto resztki krwi oraz naturalne pigmenty (głównie hemoglobinę i mioglobinę). Przemycanie wpłynęło na rozjaśnienie barwy MOM ($L = 59,33$) w stosunku do MOM surowego (tab. 2). Nie miało to jednak odzwierciedlenia w notach podczas oceny barwy paluszków po wypieku.

Tabela 2. Parametry barwy paluszków mączno-rybnych po wypieczeniu oraz surowego i przemywanego MOM

Table 2. Colour parameters of flour-and-fish fingers after baking and of raw and washed MSF

Próba Sample	Parametry / Parameters		
	L	a	b
	$x \pm s / SD$	$x \pm s / SD$	$x \pm s / SD$
A	72,83 ± 0,12	5,57 ^a ± 0,25	23,53 ^a ± 0,15
B	68,87 ^a ± 0,15	6,00 ^a ± 0,17	23,23 ^a ± 0,06
C	68,03 ^a ± 0,28	5,37 ^a ± 0,76	22,03 ^b ± 0,40
D	70,47 ± 0,06	4,80 ^b ± 0,10	22,17 ^b ± 0,06
E	71,93 ± 0,50	4,23 ^b ± 0,23	21,17 ± 0,65
MOM surowy / raw MSF	47,83 ± 0,06	11,43 ± 0,21	11,7 ± 0,06
MOM przemywany washed MSF	59,33 ± 0,26	4,53 ± 0,35	10,23 ± 0,12

Objaśnienia: / Explanatory notes:

$n = 6$; a, b, c – wartości średnie w kolumnie oznaczone tymi samymi literami nie różnią się statystycznie istotnie przy $p \leq 0,05$ / mean values in column and denoted by the same letters do not differ statistically significantly at $p \leq 0.05$.

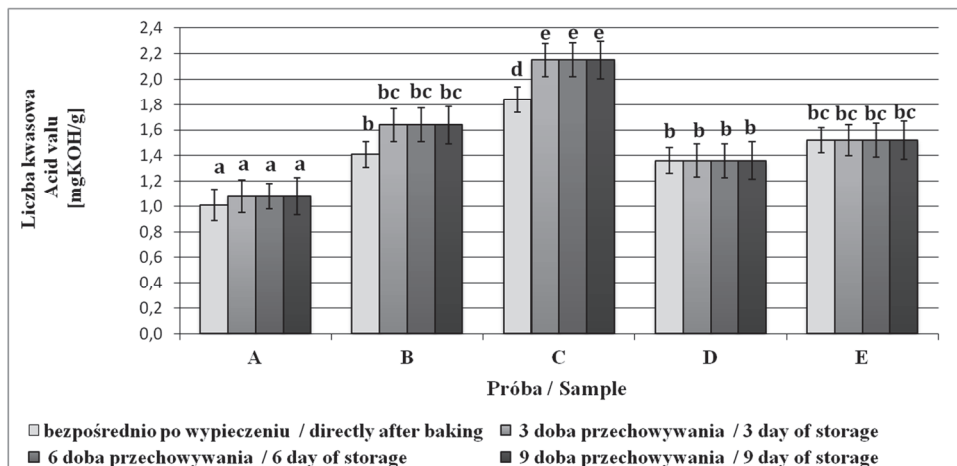
Pozostałe objaśnienia jak pod tab. 1. / Other explanatory notes as in Tab. 1.

Zmiany oksydacyjne frakcji lipidowej wyekstrahowanej z paluszków

Przemiany zachodzące we frakcji lipidowej podczas przechowywania paluszków przedstawiono jako zmiany liczby kwasowej, liczby Lea (nadtlenkowej) oraz liczby anizydynowej. Zastosowanie tych wskaźników pozwoliło na ocenę rzeczywistego stanu tłuszczu w produkcie (rys. 2, 3 i 4). Na jakość końcową produktu wpływ ma przede wszystkim jakość surowców. Zastosowany olej charakteryzował się dobrą jakością. Jego liczba kwasowa wynosiła 0,20 mg KOH/g, nadtlenkowa – 2,01 mEq O₂/kg, a anizydynowa – 0,4. Wartości te odpowiadały wymaganiom normatywnym dla olejów, które wynoszą odpowiednio: 0,3 mg KOH/g [18], 5 mEq O₂/kg [17] i 8 [19].

Zmiany liczby kwasowej przedstawiono na rys. 2. Próba kontrolna (wariant A) charakteryzowała się najniższą liczbą kwasową w porównaniu z pozostałymi próbkami i wynosiła od 1,01 (bezpośrednio po wypieczeniu) do 1,08 mg KOH/g tłuszczu (w 3., 6. i 9. dobie przechowywania). Najwyższą liczbą kwasową charakteryzowała się próba z dodatkiem 20 % surowego MOM (wariant C), która wynosiła od 1,84 (bezpośrednio po wypieczeniu) do 2,15 mg KOH/g tłuszczu (w 9. dobie przechowywania). W pozostałych wariantach wartości liczby kwasowej w całym okresie przechowywania były zbliżone. Wzrost liczby kwasowej w czasie przechowywania chipsów ziemniaczanych zaobserwowali również Kita i wsp. [9]. Chipsy bezpośrednio po wyprodukowaniu

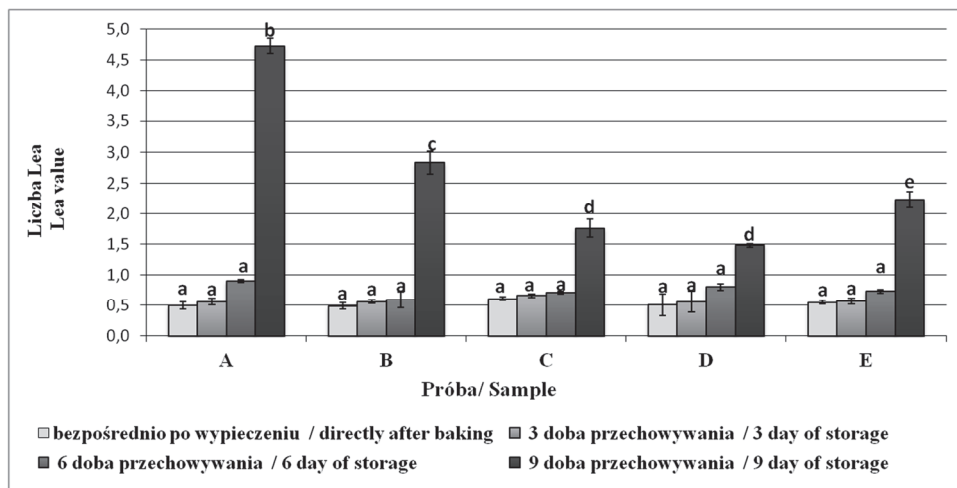
charakteryzowały się liczbą kwasową na poziomie 0,6 mg KOH/g, natomiast po 28 tygodniach przechowywania liczba ta wzrosła do 2,25 mg KOH/g tłuszczu.



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

Rys. 2. Zmiany liczby kwasowej frakcji lipidowej wypieczonych paluszków mączno-rybnych w czasie ich przechowywania

Fig. 2. Changes in acid value of lipid fraction of baked flour-and-fish fingers during storage



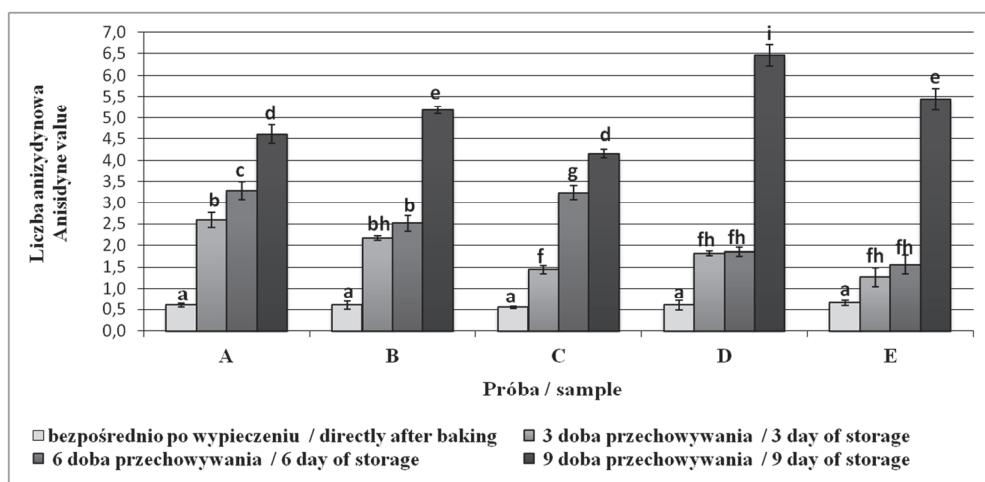
Objaśnienia jak pod rys. 1. / Explanatory notes as in Fig. 1.

Rys 3. Zmiany liczby nadtlenkowej (Lea) frakcji lipidowej wyekstrahowanej z paluszków mączno-rybnych po wypieczeniu, w czasie ich przechowywania

Fig. 3. Changes in peroxide value of lipid fraction extracted from baked flour-and-fish fingers during storage

Paluszki bezpośrednio po wypieczeniu charakteryzowały się niską wartością liczby Lea – od 0,49 (wariant B) do 0,61 (wariant C) (rys. 3). Zbliżone wartości stwierdzono w 3. dobie przechowywania, natomiast w 6. dobie przechowywania nastąpił nieznaczny wzrost liczby Lea z 0,59 (wariant B) do 0,9 w próbie kontrolnej (wariant A). Istotny wzrost liczby Lea zaobserwowano w 9. dobie przechowywania we wszystkich wariantach, przy czym najwyższy był w próbie kontrolnej (4,7). Wyniki te różniły się statystycznie istotnie ($p \leq 0,05$) od pozostałych prób.

Podczas przechowywania paluszków obserwowano stopniowy, ale ciągły przyrost wtórnych produktów utlenienia, czyli zmiany liczby anizydynowej frakcji lipidowej tych przekąsek (rys. 4). Paluszki bezpośrednio po wyprodukowaniu charakteryzowały się niską liczbą anizydynową, wynoszącą $0,55 \div 0,60$. W 3. dobie przechowywania nastąpił wzrost liczby anizydynowej, a największe jej wartości stwierdzono w próbie kontrolnej (wariant A) – 2,58. W 6. dobie przechowywania we wszystkich próbach odnotowano dalszy wzrost liczby anizydynowej, a w 9. dobie najwyższą wartość tego parametru oznaczono w wariantach D, E i B, odpowiednio: 6,46, 5,44 i 5,19. Kozłowska i Żbikowska [11] również wykazały wzrost liczby anizydynowej w krakersach w czasie ich przechowywania od wartości 2 (bezpośrednio po wypieczeniu) do ponad 60 (po 28 dniach przechowywania).



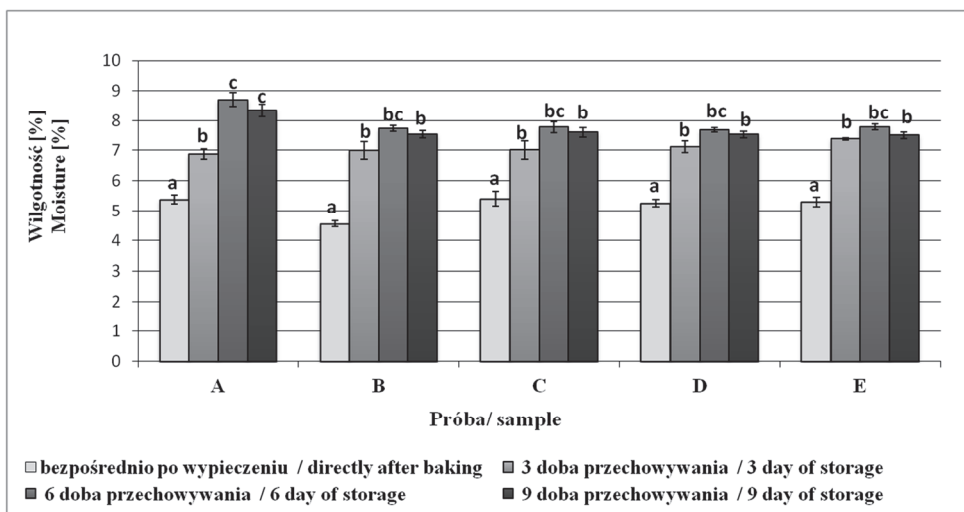
Objaśnienia jak pod rys. 1. / Explanatory notes as in Fig. 1.

Rys 4. Zmiany liczby anizydynowej frakcji lipidowej paluszków mączno-rybnych po wypieczeniu, w czasie przechowywania

Fig. 4. Changes in anisidine value of lipid fraction of baked flour-and-fish fingers during storage

Zmiany wilgotności paluszków w czasie przechowywania

Zmniejszenie chrupkości i kruchości produktów przekąskowych wiąże się z brakiem ich akceptacji przez konsumentów, co może nastąpić w wyniku wzrostu ich wilgotności. W wypieczonych paluszkach zaobserwowano wzrost wilgotności w czasie ich przechowywania (rys. 5). Bezpośrednio po wypieczeniu paluszki charakteryzowały się zbliżoną wilgotnością wynoszącą ok. 5 %, natomiast w 3. dobie przechowywania zaobserwowano wzrost wilgotności do 6,8 % (wariant A) i 7,3 % (wariant E). Kolejne dni przechowywania powodowały dalszy wzrost wilgotności paluszków – do 8,7 % w 6. dobie (wariant A), chociaż w 9. dobie stwierdzono jej zmniejszenie o ok. 0,5 % we wszystkich wariantach paluszków. Próby z dodatkiem surowego i przemywanego MOM charakteryzowały się mniejszą wilgotnością w 6. i 9. dobie przechowywania w porównaniu z próbą kontrolną. Lisińska i wsp. [15] badali jakość chipsów ziemniaczanych w trakcie przechowywania. Zaobserwowali wzrost ich wilgotności, co wpłynęło na zmniejszenie chrupkości. Autorzy stwierdzili, że zawilgocenie produktu wpływa na tworzenie się nieprzyjemnego zapachu oraz pogorszenie konsystencji produktu. Szpendowski i wsp. [24] stwierdzili, że tekstura produktów ekstrudowanych, głównie ich kruchość, uzależniona jest od wilgotności i po przekroczeniu granicznej wartości nie jest akceptowana. Wzrost zawartości wody w produkcie prowadzi do uplastycznienia i zmiękczenia skrobi oraz białek, co bezpośrednio zmienia wytrzymałość produktu.



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

Rys 5. Zmiany wilgotności paluszków mączno-rybnych po wypieczeniu, w czasie przechowywania
 Fig. 5. Changes in moisture of baked flour-and-fish fingers during during storage

Wnioski

1. Paluszki mączno-rybne zawierające 10-procentowy dodatek przemywanego MOM oceniono najwyżej pod względem ogólnej jakości sensorycznej.
2. Wzrost wilgotności paluszków w czasie ich przechowywania powodował obniżenie jakości sensorycznej, głównie kruchości.
3. Podczas przechowywania paluszków następowały zmiany jakości zawartego w nich tłuszczu – zwiększeniu uległa zawartość wolnych kwasów tłuszczowych (liczba kwasowa), nadtlenków (liczba Lea) oraz wtórnych produktów utleniania tłuszczu (liczba anizydynowa).
4. Mięso płoci w postaci przemywanego MOM stanowi dobry surowiec do produkcji wyrobów przekąskowych na bazie mąki pszennej.

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

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

Literatura

- [1] Barylko-Pikielna N., Matuszewska I.: Sensoryczne badania żywności. Podstawy. Metody. Zastosowania. Wyd. II. Wyd. Nauk. PTTŻ, Kraków 2014.
- [2] Bienkiewicz G., Domiszewski Z., Kuszyński T.: Ryby słodkowodne jako źródło niezbędnych nienasyconych kwasów tłuszczowych NNKT. *Magazyn Przem. Ryb.*, 2008, **63 (3)**, 58-59.
- [3] Bligh E.G., Dyer W.J.: A rapid method for total lipid extraction and purification. *Can. J. Biochem. Physiol.*, 1959, **37**, 911-917.
- [4] Campbell L., Ketelsen S.M., Antenucci R.N.: Formulating oatmeal cookies with calorie-sparing ingredients. *Food Technol.*, 1994, **48 (5)**, 98-105.
- [5] Czerwińska D.: Na ryby. *Przegl. Gastr.*, 2005, **6**, 6.
- [6] King M.A.: Development and sensory acceptability of crackers made from the big-eye fish (*Brachydeuterus auritus*). *Food Nutr. Bull.*, 2002, **23 (3)**, 317-320.
- [7] Kita A.: Wpływ rodzaju przyprawy na jakość chipsów ziemniaczanych podczas przechowywania. *Zesz. Nauk. AR Wrocław, Technol. Żywności*, 2001, **407 (14)**, 7-21.
- [8] Kita A., Popiela-Kukuś K.: Wpływ dodatku wytlóków lnianych na wybrane właściwości smażonych chrupek ziemniaczanych. *Acta Agrophysica*, 2010, **16 (1)**, 69-77.
- [9] Kita A., Tajner-Czopek A., Rytel E., Lisińska G.: Wpływ warunków przechowywania na jakość chipsów ziemniaczanych. *Zesz. Nauk. AR Wrocław, Technol. Żywności*, 2001, **407 (14)**, 127-135.
- [10] Kołakowski E.: *Technologia farszów rybnych*. PWN, Warszawa 1986.
- [11] Kozłowska M., Żbikowska A.: Wpływ dodatku ekstraktów z przypraw na jakość i trwałość krakersów. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2013, **91 (6)**, 79-90.

- [12] Krzywiński T., Domiszewski Z., Tokarczyk G., Bienkiewicz G.: Ocena przydatności mięsa ryb małowcennych do produkcji żywności przekąskowej. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2014, **96** (5), 111-123.
- [13] Kulczak M., Białas M., Jeżewska M., Błasińska I.: Właściwości przeciwutleniające chrupiek fasolowo-kukurydzianych z wybranymi dodatkami smakowymi. *Probl. Hig. Epidemiol.*, 2013, **94** (2), 313-316.
- [14] Lisińska G., Leszczyński W., Golachowski A., Regiec P., Pęksa A., Kita A.: Ćwiczenia z technologii przetwórstwa węglowodanów. Wyd. AR we Wrocławiu, Wrocław 2002, nr 477.
- [15] Lisińska G., Radziwoń M., Plizga I., Pęksa A., Jureczyk E.: Zmiany jakości chipsów ziemniaczanych podczas przechowywania. *Zesz. Nauk. AR Wrocław*, 1994, **244**, 141-150.
- [16] PN-A-86908:2000. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Rafinowane oleje roślinne.
- [17] PN-EN ISO 3960:2012. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Oznaczanie liczby nadtlenkowej. Jodometryczne (wizualne) oznaczanie punktu końcowego.
- [18] PN-EN ISO 660:2010. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Oznaczanie liczby kwasowej i kwasowości.
- [19] PN-EN ISO 6885:2001. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Oznaczanie liczby anizydynowej.
- [20] PN-EN ISO 8589:2010. Analiza sensoryczna. Ogólne wytyczne dotyczące projektowania pracowni analizy sensorycznej.
- [21] Rhee K.S., Kim E.S., Kim B.B., Jung B.M. Rhee K.C.: Extrusion of minced catfish with corn and defatted soy flours for snack foods. *J. Food Process. Preserv.*, 2004, **28** (4), 288-301.
- [22] Rhee K.S., Park J., Kwon K.S., Ziprin Y.A., Rhee K.C.: A research note characteristics of expanded extrudates containing non-meat ingredients and lamb, pork, or beef. *J. Muscle Foods*, 1997, **8** (3), 347-356.
- [23] Rutkowska J., Sadowska A.: Jakość ciastek maślanych z dodatkiem poppingu z amarantusa. *Bromat. Chemia Toksykol.*, 2009, **XLII** (3), 368-373.
- [24] Szpendowski J., Śmietana Z., Bohdziewicz K., Dutkiewicz S.: Otrzymywanie i charakterystyka ekstrudowanych z surowców roślinnych i białek mleka. *Przegl. Mlecz.*, 1993, **1**, 6-10.
- [25] Wianecki M.: Evaluation of fish and squid meat applicability for snack food manufacture by indirect extrusion cooking. *Acta Sci. Pol., Technol. Aliment.*, 2007, **6** (4), 29-44.
- [26] Wianecki M.: Technologia ekstrudowanych produktów zbożowych z dodatkiem białek zwierzęcych i roślinnych. *Wyd. Nauk. AR w Szczecinie, Szczecin 2007*, rozprawa nr 241.
- [27] Yu S.Y., Kaur R.: Development of fish biscuits from Round Scand (*Decapetus Russelli Rupp.*). Indo-Pacific Fishery Commission. Working Party on Fish Technology and Marketing. Yogyakarta, Indonesia, 24-27 Sep 1991. *FAO Raport no 470. 1992*, **Supl.**, pp. 305-313.

EFFECT OF ADDED ROACH FLESH ON QUALITY AND SHELF LIFE OF FLOUR-AND-FISH SNACKS

Summary

The objective of the research study was to determine the effect of raw, mechanically separated (MSF) and washed flesh of roach added to yeast-based wheat dough on the shelf life and changes in quality occurring during the production and storage of products. The finger-shaped products contained MSF of roach added in the amount of 10 and 20 % of the weight of flour. The MSF of roach added impacted the sensory quality of fingers and their colour after baking that was measured by a reflection method; the roach in the form of washed MSF was a better raw material for producing flour-based snack products. It was found that, on the 9th day of storage, the fragility of fingers decreased, their moisture content in-

creased, and their overall sensory quality decreased regardless of the variant analyzed. As regards the overall sensory quality, the best fingers were those with 10 % of washed MSF added. The final fingers were characterized by a uniform shape and an even level of baking. The darkest were the products containing 20 % of the raw MSF added and the brightest those with 20 % of the washed MSF. The taste of fingers also depended on the fish flesh added: the samples with the raw MSF added were characterized by the most discernible fish flavour. It was proved that while storing the samples the amount of the primary and secondary lipid oxidation products continually increased, which was confirmed by the increase in the peroxide and anisidine values. Hydrolytic changes in fats were expressed using an acid value (AV). The fat fraction of the control sample was characterized by the lowest degree of hydrolysis and that of the sample with 20% of raw MSF added by the highest.

Key words: flour-and-fish snacks, roach, mechanically separated flesh (MSF) of roach, sensory quality, oxidation of lipid fraction ☒

AGATA MARZEC, ARLETA MIESZKOWSKA, URSZULA STAŃCZYK

**WPLYW CZASU PRZECHOWYWANIA W WARUNKACH
ZAMRAŻALNICZYCH NA TEKSTURĘ CHLEBA
SŁONECZNIKOWEGO Z ODROZONEGO WYPIEKU**

Streszczenie

Celem pracy było określenie wpływu czasu przechowywania w warunkach zamrażalniczych chleba słonecznikowego z odroczonego wypieku na zmiany zachodzące w jego teksturze. Badaniom poddano półwypieczony chleb słonecznikowy: A – pochodzący bezpośrednio z produkcji oraz B – przetrzymywany przez 6 miesięcy w kontrolowanej temperaturze -30 °C. Półprodukty A i B przechowywano w temperaturze -18 °C. Po 1, 4, 7 i 16 tygodniach wypiekano pieczywo A i B oraz po 21 tygodniach – tylko pieczywo B. Następnie przeprowadzono badania aktywności wody, porowatości i tekstury miękiszu chleba. Wykonano testy podwójnego ściskania (TPA) w teksturometrze TA-XT2i. Pomiar emisji akustycznej metodą kontaktową przeprowadzono podczas testu ściskania miękiszu chleba, w maszynie wytrzymałościowej ZWICK. Tekstura chleba słonecznikowego A i B z odroczonego wypieku istotnie zmieniała się w trakcie przechowywania w temperaturze -18 °C. W czasie składowania stwierdzono tendencję do zmniejszania się twardości oraz zwiększenia kohezji miękiszu chleba słonecznikowego A i B. Istotne zmiany parametrów emisji akustycznej (amplitudy, energii akustycznej oraz liczby zdarzeń EA) w chlebie słonecznikowym A wystąpiły po 4 tygodniach przechowywania, a w chlebie B – po 16. W analizie PCA potwierdzono, że tekstura miękiszu chleba A ulegała ciągłym zmianom w ciągu 16 tygodni przechowywania, natomiast miękisz chleba B po 1 tygodniu i po 4 tygodniach wykazywał podobną teksturę, a istotne jej zmiany wystąpiły dopiero po 7 tygodniach przechowywania. Przechowywanie chleba słonecznikowego przez 6 miesięcy w kontrolowanych warunkach spowodowało, że po rozmrożeniu i dopieczeniu charakteryzował się on teksturą miękiszu podobną do chleba pochodzącego bezpośrednio z produkcji i przechowywanego przez 4 tygodnie w temperaturze -18 °C.

Słowa kluczowe: chleb słonecznikowy półwypieczony, przechowywanie, tekstura, właściwości mechaniczne, emisja akustyczna

Wprowadzenie

Chleb należy do produktów żywnościowych o krótkim terminie przydatności do spożycia. Zmiany fizykochemiczne zachodzące w nim podczas przechowywania nazywane czerstwieniem zaczynają się bezpośrednio po jego wyjęciu z pieca i prowadzą do pogorszenia cech sensorycznych: smaku i tekstury. Wykazano, że czerstwienie chleba powodowane jest przemianami skrobi, interakcjami skrobi i glutenu oraz redystrybucją wilgoci [8, 18]. Mimo że proces czerstwienia pieczywa badany jest od ponad pół wieku, nie udało się go wyeliminować i nadal jest odpowiedzialny za ogromne straty ekonomiczne zarówno w przemyśle piekarskim, jak i w gospodarstwach domowych [6]. Zapotrzebowanie konsumentów na świeże pieczywo o każdej porze dnia spowodowało wzrost wykorzystania technologii zamrażania przez przemysł piekarski [13].

Utrwalanie zamrażalnicze pieczywa jest szczególnie przydatne w systemie wypieku odroczonego, eliminuje problem rozwoju mikroflory, pozwala na ostateczne wypieczenie i otrzymanie świeżego produktu w dowolnym czasie oraz ułatwia organizację procesu produkcji [11]. Aby uzyskać produkt finalny o dobrej jakości, konieczne jest jednak monitorowanie parametrów przechowywania. Niska i stabilna temperatura przechowywania wpływa na zachowanie odpowiednich cech sensorycznych, w tym tekstury pieczywa.

Ważną cechą tekstury chleba jest twardość, jako atrybut najczęściej oceniany i rozpoznawany przez konsumenta [9]. Twardość może być oceniana instrumentalnie poprzez pomiar siły ściskania pieczywa. Do oceny jakości pieczywa stosuje się również metodę akustyczną, polegającą na pomiarze i analizie dźwięku generowanego w czasie odkształcania próbki produktu. W przypadku pieczywa świeżego za emisję akustyczną odpowiedzialna jest jedynie chrupiąca skórka, w miarę postępowania procesu czerstwienia twardnieje mięksisz, staje się bardziej kruchy i przyczynia się do emisji dźwięków [14].

Celem pracy było określenie wpływu czasu przechowywania w warunkach zamrażalniczych chleba słonecznikowego z odroczonego wypieku na zmiany zachodzące w jego teksturze, ocenianej instrumentalnie (mechanicznie i akustycznie).

Material i metody badań

Materiał do badań stanowił chleb słonecznikowy półwypieczony, tzw. HB (*half-baked bread*): A – pochodzący bezpośrednio z produkcji oraz B – przechowywany przez pół roku w temp. $-30 \pm 0,5$ °C, zakupiony w wiodącej firmie na rynku pieczywa mrożonego w Polsce. Zamrożone oraz zapakowane w torby foliowe i pudła kartonowe bochenki chleba o masie 500 g przechowywano następnie w zamrażarce, w temp. -18 ± 1 °C. Po przechowywaniu chleba A przez 1 tydzień oraz 4, 7 i 16 tygodni,

a chleba B przez 1 tydzień oraz 4, 7, 16 i 21 tygodni rozmrażano pojedyncze bochenki w kuchence mikrofalowej Samsung, typ MW87W (Samsung, Korea Południowa) z wykorzystaniem programu szybkiego rozmrażania Autodefrost, odpowiedniego dla masy bochenka 500 g, dopiekano w piekarniku (Amica Wronki S.A., Polska), w temp. 210 °C przez 20 min i studzono w temp. 25 ± 1 °C.

Po 24 h od wypieku mierzono: aktywność wody (a_w) w skórce i miększu chleba w aparacie Rotronic AG (Bassersdorf, Szwajcaria), porowatość oraz teksturę miększu (mechanicznie i akustycznie).

Przy ocenie porowatości chleba wycinano z jego miększu sześciiany o boku 30 mm i ważono je na wadze analitycznej Radwag (Polska) z dokładnością $\pm 0,001$ g. Następnie usuwano z nich powietrze poprzez wygniatanie przez 1 min. Utworzone kulki wrzucano do cylindra miarowego wypełnionego olejem rzepakowym do objętości 100 cm³, po czym odczytywano objętość oleju. Na podstawie objętości początkowej próbki i po usunięciu powietrza obliczano porowatość chleba [5].

Mechaniczne parametry tekstury chleba (twardość, adhezyjność, gumistość, kohezyjność) wyznaczano na podstawie testu podwójnego ściskania (TPA). Bochenki krojono na kromki o grubości 20 mm, ze środka wykrawano cylindryczne próbki o średnicy 15 mm i wykonywano test TPA w teksturometrze TA-XT2i (Stable Micro Systems, Wielka Brytania). Zastosowano końcówkę typu P20 o średnicy 20 mm, przeznaczoną do badania pieczywa. Pomiar prowadzono z prędkością 0,8 mm·s⁻¹, na głębokość 10 mm i 5 mm.

Pomiar emisji akustycznej (EA), metodą kontaktową w zakresie częstotliwości 0,1 ÷ 16 kHz, wykonywano podczas testu penetracji końcówką P20, z prędkością 0,8 mm·s⁻¹, w maszynie wytrzymałościowej ZWICK (Zwick GmbH & Co. KG, Ulm, Niemcy). Wyznaczano deskryptory emisji akustycznej: liczbę zdarzeń, amplitudę dźwięku i energię akustyczną [12]. Testy mechaniczne i akustyczne wykonano w 15 powtórzeniach.

Statystyczną ocenę uzyskanych wyników wykonano w programie StatSoft – Statistica v. 10. W celu sprawdzenia wpływu czasu przechowywania na aktywność wody, porowatość oraz parametry tekstury chleba przeprowadzono analizę wariancji (ANOVA). Podział na grupy jednorodne oraz istotność różnic między średnimi określano testem Duncana. Testowanie prowadzono przy poziomie istotności $p \leq 0,05$. Zastosowano również analizę głównych składowych z klasyfikacją (PCA, Principal Component Analysis), pozwalającą na ocenę podobieństw i różnic wszystkich badanych próbek chleba, poprzez usytuowanie ich na wykresie, którego współrzędnymi były składowe główne. Wyznaczono współczynnik korelacji liniowej Pearsona.

Wyniki i dyskusja

W czasie przechowywania aktywność wody (a_w) w skórce chlebów słonecznikowych A i B nie uległa istotnym zmianom. Zaobserwowano natomiast, że aktywność wody w miększu chleba A po 4 tygodniach przechowywania zmniejszyła się, zaś dłuższy czas nie wpłynął statystycznie istotnie na a_w , w porównaniu z aktywnością wody w miększu po 4 tygodniach. Po 4 tygodniach przechowywania miększ chleba A osiągnął a_w taką, jaką miał miększ chleba B (przechowywanego wstępnie przez pół roku w $-30\text{ }^\circ\text{C}$) po 1 tygodniu przechowywania (tab. 1). Może to wskazywać, że największe zmiany a_w w miększu występują w pierwszych dniach po wypieku, następnie a_w ulega stabilizacji i nie zmienia się podczas długotrwałego przechowywania w warunkach zamrażalniczych ($-30\text{ }^\circ\text{C}$). Aguirre i wsp. [1] wykazali brak zmian a_w w miększu pieczywa przechowywanego w temp. $-18\text{ }^\circ\text{C}$ przez 23 dni.

Tabela 1. Średnie wartości aktywności wody i porowatości chleba słonecznikowego A i B w czasie przechowywania

Table 1. Mean values of water activity and porosity of A and B sunflower breads during storage

Czas przechowywania Storage period [tygodnie / weeks]	Aktywność wody w skórce Water activity of crust a_w	Aktywność wody w miększu Water activity of crumb a_w	Porowatość Porosity [%]
Chleb słonecznikowy A A Sunflower bread			
1	$0,817^a \pm 0,004$	$0,971^a \pm 0,001$	$50,0^a \pm 3,5$
4	$0,810^a \pm 0,003$	$0,962^b \pm 0,001$	$53,7^a \pm 2,5$
7	$0,792^a \pm 0,004$	$0,963^b \pm 0,002$	$53,3^a \pm 1,9$
16	$0,808^a \pm 0,005$	$0,965^b \pm 0,003$	$53,7^a \pm 2,0$
Chleb słonecznikowy B B Sunflower bread			
1	$0,871^a \pm 0,001$	$0,969^a \pm 0,001$	$57,4^a \pm 5,5$
4	$0,873^a \pm 0,002$	$0,964^a \pm 0,002$	$50,0^b \pm 4,8$
7	$0,848^a \pm 0,012$	$0,965^a \pm 0,001$	$31,5^c \pm 1,6$
16	$0,806^a \pm 0,040$	$0,962^a \pm 0,002$	$35,2^c \pm 3,3$
21	$0,824^a \pm 0,020$	$0,961^a \pm 0,001$	$37,0^c \pm 4,0$

Objaśnienia: / Explanatory notes:

W tabeli przedstawiono wartości średnie \pm odchylenia standardowe / Table shows mean values and standard deviation. Wartości średnie oznaczone tymi samymi literami (w kolumnach) nie różnią się statystycznie istotnie przy $p \leq 0,05$ / Mean values denoted by the same letters (in columns) do not differ statistically significantly at $p \leq 0,05$; $n = 15$.

Ważną składową jakości pieczywa jest porowatość, która w chlebie pszennym powinna wynosić co najmniej 65 %, zaś w chlebie mieszanym – 56 % [20]. W ciągu

całego okresu przechowywania porowatość chleba słonecznikowego A utrzymywała się na poziomie 53,0 %, natomiast w chlebie słonecznikowym B istotne ($p = 0,05$) zmniejszenie porowatości do 50,0 % wystąpiło już po 4 tygodniach przechowywania, a dalsze przechowywanie spowodowało kolejne istotne zmiany porowatości (tab. 1). Największe zmiany w mikrostrukturze chleba przypuszczalnie występują po długim okresie przechowywania, a przede wszystkim zmiany te mogą wynikać ze zmiany temperatury przechowywania chleba, jak w przypadku chleba B (pół roku przechowywany w temp. $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$, a następnie w wyższej równej $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$). Eckardt i wsp. [7] wykazali, że przechowywanie chleba pszennego w temp.: -19 i $-8\text{ }^{\circ}\text{C}$ wpływało na jego mikrostrukturę. Przechowywanie chleba w temp. $-8\text{ }^{\circ}\text{C}$ spowodowało wystąpienie większych przestrzeni między ziarnami skrobi i glutenem, co autorzy tłumaczyli retrogradacją skrobi, odwodnieniem glutenu i migracją wody.

Przeprowadzony test podwójnego ściskania (TPA) pozwolił ocenić zmiany podstawowych parametrów tekstury chleba w czasie przechowywania. W obydwu badanych produktach wystąpiła zmiana twardości. Zarówno w chlebie słonecznikowym A, jak i B zaobserwowano największe i statystycznie istotne ($p = 0,05$) zmniejszenie twardości po 4 tygodniach przechowywania. Wydłużenie czasu przechowywania chleba A do 16 tygodni, a chleba B do 21 tygodni nie spowodowało istotnych zmian jego twardości w porównaniu z twardością chleba po 4 tygodniach (tab. 2). Barcenas i wsp. [2] dowiedli, że stopień twardości miękiszu pieczywa poddawanego dwustopniowemu wypiekowi determinowany był czasem przechowywania produktu w warunkach zamrażalniczych. W badaniach własnych po 4 tygodniach przechowywania chleba A zmniejszyła się również jego adhezyjność, a w chlebie B nie ulegała zmianom przez 21 tygodni (tab. 2). Po 7 tygodniach przechowywania stwierdzono także statystycznie istotny ($p = 0,05$) wzrost kohezji i gumistości chleba A i B. Należy sądzić, że największe zmiany tekstury ocenianej na podstawie analizy parametrów mechanicznych występują na początku procesu przechowywania chleba w warunkach zamrażalniczych, później twardość i adhezyjność stabilizują się. Prawdopodobnie zmiany te mogą być wywołane zmianą a_w miękiszu, która w chlebie A wystąpiła również po 4 tygodniach.

W analizie statystycznej wartości deskryptorów emisji akustycznej (EA) wykazano, że w chlebie A statystycznie istotne ($p < 0,05$) zmiany energii akustycznej i amplitudy dźwięku wystąpiły także po 4 tygodniach przechowywania, a liczba zdarzeń EA statystycznie istotnie ($p < 0,05$) wzrosła po 7 tygodniach przechowywania. W chlebie słonecznikowym B istotne ($p < 0,05$) zwiększenie wartości deskryptorów akustycznych (energii akustycznej, amplitudy i liczby zdarzeń EA) stwierdzono dopiero po 16 tygodniach przechowywania (tab. 2).

Tabela 2. Średnie wartości parametrów tekstury chleba słonecznikowego A i B w czasie przechowywania

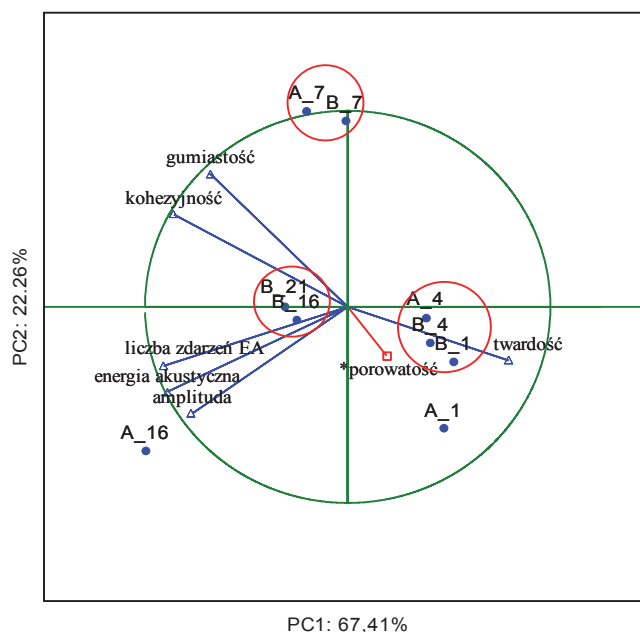
Table 2. Mean values of texture parameters of A and B sunflower breads during storage

Czas przechowywania Storage period [tygodnie / weeks]	Twardość Hardness [N]	Kohezyjność Cohesiveness	Gumiastość Gumminess [N]	Adhezyjność Adhesiveness [J]	Liczba zdarzeń EA Number of acoustic events	Energia akustyczna Acoustic energy [10 ³ J.u. / 10 ³ a.u.]	Amplituda Amplitude [mV]
Chleb słonecznikowy A A Sunflower bread							
1	23,2 ^a ± 3,1	0,010 ^a ± 0,003	0,140 ^a ± 0,090	0,153 ^a ± 0,045	7 ^a ± 1	1,6 ^a ± 0,2	67,6 ^a ± 1,2
4	14,7 ^b ± 4,1	0,013 ^a ± 0,004	0,183 ^a ± 0,070	0,112 ^a ± 0,009	9 ^a ± 3	0,5 ^b ± 0,2	25,3 ^b ± 1,9
7	11,6 ^b ± 3,9	0,075 ^b ± 0,010	0,858 ^b ± 0,213	0,073 ^{ab} ± 0,030	74 ^b ± 13	6,6 ^c ± 2,6	36,2 ^c ± 2,6
16	8,4 ^b ± 4,0	0,072 ^b ± 0,008	0,608 ^c ± 0,103	0,021 ^b ± 0,048	340 ^c ± 15	106,2 ^d ± 1,9	141,3 ^d ± 7,4
Chleb słonecznikowy B B Sunflower bread							
1	19,1 ^a ± 2,0	0,006 ^a ± 0,003	0,113 ^a ± 0,049	0,663 ^a ± 0,019	6 ^a ± 5	0,4 ^a ± 0,3	25,2 ^a ± 3,5
4	12,8 ^b ± 1,9	0,005 ^a ± 0,002	0,058 ^a ± 0,024	0,623 ^a ± 0,009	16 ^a ± 2	0,8 ^a ± 0,2	22,9 ^a ± 2,4
7	12,7 ^b ± 3,1	0,061 ^b ± 0,009	0,787 ^b ± 0,283	0,553 ^a ± 0,026	13,0 ^a ± 5	1,0 ^a ± 0,2	28,0 ^a ± 4,7
16	10,0 ^b ± 2,8	0,042 ^c ± 0,012	0,428 ^c ± 0,198	0,506 ^a ± 0,059	222 ^b ± 16	33,5 ^b ± 1,5	54,0 ^b ± 3,8
21	10,1 ^b ± 1,7	0,055 ^b ± 0,008	0,430 ^c ± 0,188	0,544 ^a ± 0,024	233 ^b ± 11	33,8 ^b ± 2,0	55,0 ^b ± 3,3

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

Utrata wilgoci i retrogradacja skrobi to dwa podstawowe mechanizmy odpowiedzialne za zmiany tekstury miększu chleba, ponieważ skrobia jest jego głównym składnikiem [19]. Długie przechowywanie pieczywa w warunkach zamrażalniczych przyczynia się do zwiększenia stopnia retrogradacji skrobi. Zmiany tekstury chleba podczas jego zamrażalniczego przechowywania tłumaczy się redystrybucją wody i rekrytalizacją lodu w cieście, wywołujących zmiany w strukturze cząsteczek skrobi spowodowane żelatynizacją i retrogradacją [15, 16]. Jak podaje Cauvain [4], mrożenie ciasta niekorzystnie wpływa na teksturę i szybkość czerstwienia pieczywa. Autor ten obserwował wzrost twardości oraz utratę smaku i zapachu. Dla zachowania odpowiedniej tekstury pieczywa bardzo istotna jest temperatura zamrażalniczego przechowywania [10]. Ciasto przechowywane w temp. -10 i -20 °C jest bardziej miękkie i ma większą tendencję do czerstwienia niż ciasto przetrzymywane w temp. -35 °C.

W analizie składowych głównych (PCA) parametrów mechanicznych i deskryptorów akustycznych wykazano, że teksturę badanego chleba można opisać za pomocą dwóch składowych. Składowa pierwsza (PC1), objaśniająca 67,4 % wariacji, była tworzona przez twardość, kohezyjność, liczbę zdarzeń EA i energię akustyczną, natomiast składowa druga (PC2), wyjaśniająca 22,3 % wariacji, była tworzona przez gumiaistość i amplitudę dźwięku (rys. 1). Strata informacji przy redukcji parametrów do dwóch składowych wynosiła 10,3 %. Analiza PCA z uwzględnieniem dwóch składowych pozwoliła potwierdzić, że na teksturę chleba istotnie wpływa czas przechowywania w warunkach zamrażalniczych, a największe zmiany tekstury występują w początkowym okresie.



Objaśnienia: / Explanatory notes:

gumiaistość / gumminess; kohezyjność / cohesiveness; twardość / hardness; amplituda / amplitude; energia akustyczna / acoustic energy; liczba zdarzeń EA / number of acoustic events; porowatość / porosity; 1, 4, 7, 16, 21 – tygodnie przechowywania / weeks of storage

Rys. 1. Diagram PCA: parametrów tekstury oraz podobieństw i różnic chleba słonecznikowego A i B.

Fig. 1. PCA diagram of texture parameters of and of differences and similarities between A and B sunflower breads.

Usytuowanie w diagramie PCA próbek chleba (B_1, B_4 i A_4) obok siebie świadczy o podobieństwie ich właściwości teksturalnych ocenianych na podstawie analizy parametrów mechanicznych i akustycznych (rys. 1). Drugą grupę o podobnych

właściwościach teksturalnych tworzyły próbki chleba A_7 i B_7, zaś trzecią B_16 i B_21. Dystans pomiędzy próbkami chleba: A_1, A_4, A_7 i A_16 świadczy o wielkości i charakterze różnic ich tekstury. Tekstura chleba słonecznikowego A po 1 tygodniu przechowywania, jak i po kolejnych tygodniach, była różna pod względem parametrów mechanicznych i akustycznych. Można stwierdzić, że tekstura chleba słonecznikowego A, pochodzącego bezpośrednio z produkcji, zmieniała się w ciągu całego okresu przechowywania (16 tygodni). Natomiast jeśli chleb słonecznikowy był przechowywany przez 6 miesięcy w stałej, kontrolowanej temperaturze (-30 °C), tak jak chleb B, miał on teksturę podobną do chleba A pochodzącego bezpośrednio z produkcji oraz przechowywanego przez 4 tygodnie w temp. -18 °C. Po 7 tygodniach chleb B charakteryzował się teksturą również podobną do chleba A (rys. 1). Jest to ważna informacja zarówno dla producentów, jak i konsumentów pieczywa z odroczonego wypieku. Wyniki te wskazują na ważność doboru temperatury przechowywania chleba półwypieczonego. Proces czerstwienia chleba występuje w ciągu kilku dni, dlatego większość zmian podczas przechowywania tłumaczy się krystalizacją skrobi, a przede wszystkim jej składnika – amylopektyny [19]. Ronda i wsp. [17] badali wpływ długotrwałego przechowywania chleba na zakwasie w pełni wypieczonego (świeżego) oraz półwypieczonego i zmrożonego na zawartość wody, twardość, retrogradację skrobi oraz temperaturę przejścia szklistego (T_g). Dowiedli, że długo przechowywany chleb rozmrożony i dopieczony zawierał mniej amylopektyny niż w pełni wypieczony (świeży). Autorzy stwierdzili, że drugi etap pieczenia może stopić amylopektynę, krystalizującą podczas przechowywania zamrażalniczego i to jest przyczyną podobieństwa chleba półwypieczonego do świeżego. Ponadto potwierdzili potrzebę wyboru odpowiedniej temperatury przechowywania chleba zamrożonego (niższej od T_g). Przechowywanie chleba z odroczonego wypieku (półwypieczonego) w niskiej temperaturze pozwala zachować odpowiednią teksturę. W badaniach własnych w przypadku chleba słonecznikowego B zaobserwowano podobieństwo między próbkami przechowywanymi przez 1 tydzień i 4 tygodnie oraz przez 16 i 21 tygodni. Próbki chleba B przechowywane przez 1 tydzień i 4 tygodnie charakteryzowały się większą twardością i słabszą emisją akustyczną (mniejszą liczbą zdarzeń i energią akustyczną) niż próbki przechowywane przez 16 i 21 tygodni (rys. 1).

Stwierdzono silne ($p < 0,05$) ujemne współczynniki korelacji pomiędzy twardością i kohezyjnością oraz twardością i liczbą zdarzeń EA. Nie zaobserwowano natomiast istotnych współzależności między parametrami tekstury a porowatością chleba (tab. 3).

Tabela 3. Współczynniki korelacji liniowej pomiędzy badanymi parametrami tekstury chleba słonecznikowego

Table 3. Coefficients of linear correlations among analyzed texture parameters of sunflower bread

Parametr Parameter	Twardość Hardness	Kohezyjność Cohesiveness	Gumiastość Gumminess	Liczba zdarzeń EA Number of acoustic events	Amplituda Amplitude
Kohezyjność Cohesiveness	-0,708*	1,000	-	-	-
Gumiastość Gumminess	-0,578	0,948*	1,000	-	-
Liczba zdarzeń Number of acoustic events	-0,708*	0,622	0,363	1,000	-
Amplituda Amplitude	-0,300	0,456	0,240	0,794*	1,000
Energia akustyczna Acoustic energy	-0,592	0,556	0,315	0,924*	0,926*
Porowatość Porosity	0,311	-0,241	-0,238	-0,214	0,075

Objaśnienia: / Explanatory notes:

* współczynniki korelacji liniowej statystycznie istotne pomiędzy parametrami ($p < 0,05$) / statistically significant coefficients of linear correlation among parameters ($p < 0.05$)

Błońska i wsp. [3] wykazali, że liczba zdarzeń EA silnie koreluje z twardością ciastek ocenianą w testach mechanicznych. Uważa się, że liczba zdarzeń jest parametrem akustycznym czułym na zmiany zawartości wody w suchych produktach zbożowych [12]. Również w przypadku oceny wpływu czasu przechowywania na teksturę chleba z odroczonego wypieku liczba zdarzeń EA może być parametrem akustycznym dobrze obrazującym zmiany tekstury.

Wnioski

1. Czas przechowywania półwypieczonego chleba słonecznikowego (wariantów A i B) w temperaturze $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$, poddawanego następnie procesowi odroczonego wypieku, wpływał na jego teksturę. W czasie składowania stwierdzono tendencję do zmniejszania się twardości oraz zwiększenia kohezyjności miększu tego chleba. Statystycznie istotne zmiany parametrów emisji akustycznej, tj. amplitudy, energii akustycznej oraz liczby zdarzeń EA w chlebie słonecznikowym A wystąpiły po 4, a w chlebie B – po 16 tygodniach przechowywania.
2. Wielowymiarową analizą składowych głównych PCA potwierdzono, że tekstura miększu chleba słonecznikowego A ulegała zmianom w ciągu 16 tygodni przechowywania, natomiast miększ chleba B po 1 tygodniu i po 4 tygodniach wyka-

zywał podobną teksturę, a istotne jej zmiany wystąpiły dopiero po 7 tygodniach przechowywania.

3. Przechowywanie półwypieczonego chleba słonecznikowego przez 6 miesięcy w stałej, kontrolowanej temperaturze (-30 °C) spowodowało, że po rozmrożeniu i dopieczeniu miękisz tego chleba wykazywał teksturę podobną do chleba pochodzącego bezpośrednio z produkcji i przechowywanego przez 4 tygodnie w temperaturze -18 °C.

Literatura


- [1] Aguirre J.F., Osella C.A., Carrara C.R., Sanchez H.D., Del Pilar Buera M.: Effect of storage temperature on starch retrogradation of bread staling. *Starch/Starke*, 2011, **63**, 587-593.
- [2] Barcenas M.E., Haros M., Benedito C., Rosell C.M.: Effect of freezing and frozen storage on the staling of part-baked bread. *Food Res. Int.*, 2003, **36 (8)**, 863-869.
- [3] Błońska A., Marzec A., Błaszczuk A.: Instrumental evaluation of acoustic and mechanical texture properties of short-dough biscuits with different content of fat and inulin. *J. Texture Stud.*, 2014, **45 (3)**, 226-234.
- [4] Cauvain S.P.: Improving the texture of bread. In: *Texture in Food. Vol. 2: Solid Foods*. Ed. D. Kilcast. Woodhead Publishing Ltd., Cambridge, UK, 2004, pp. 432-450.
- [5] Ceglińska A.: Ocena jakości pieczywa. W: *Wybrane zagadnienia z technologii żywności*. Red. M. Mitek, M. Słowiński. Wyd. SGGW, Warszawa 2006, ss. 255-268.
- [6] Collar C.: Significance of viscosity profile of pasted and gelled formulated wheat doughs on bread staling. *Eur. Food Res. Technol.*, 2003, **216**, 505-513.
- [7] Eckardt J., Öhgren C., Alp A., Ekman S., Åström A., Chen G., Swenson J., Johansson D., Langton M.: Long-term frozen storage of wheat bread and dough – Effect of time, temperature and fibre on sensory quality, microstructure and state of water. *J. Cereal Sci.*, 2013, **57 (1)**, 125-133.
- [8] Fik M.: Czerstwienie pieczywa i sposoby przedłużania jego świeżości. *Żywność, Nauka, Technologia, Jakość*, 2004, **39 (2)**, 5-19.
- [9] Gray J.A., Bemiller J.N.: Bread staling: Molecular basis and control. *Compreh. Rev. Food Sci. Food Safety*, 2003, **2 (1)**, 1-21.
- [10] Jinhee Y., Kerr W.L.: Combined effects of dough freezing and storage conditions on bread quality factors. *J. Food Eng.*, 2009, **93**, 495-501.
- [11] Kondratowicz J., Chwastowska I.: Wpływ różnych technologii chłodniczych na jakość wyrobów piekarniczych. *Chłodnictwo*, 2006, **XLI (8)**, 36-41.
- [12] Lewicki P.P., Marzec A., Ranachowski Z.: Acoustoic properties of foods. Chapter 24. In: *Food Properties Handbook. II ed.* Ed. M. Shafiur Rahman. CRC Press Taylor & Francis Group, Boca Raton 2009, pp. 811-841.
- [13] Matuda T.G., Parra D.F., Lugao A.B., Tadini C.C.: Influence of vegetable shortening and emulsifiers on the unfrozen water content and textural properties of frozen French bread dough. *Lebens. Wiss. Technol.*, 2005, **38**, 275-280.
- [14] Ranachowski Z., Lewicki P.P., Marzec A.: Investigation of staling of bread using mechanical and acoustic methods. In: *Proceedings of 51st Open Seminar of Acoustics*. Polish Acoustic Society. Gdańsk, Poland, 2004, pp. 429-433.
- [15] Ribotta P.D., Leon A.E., Anon M.C.: Effects of freezing and frozen storage of doughs on bread quality. *J. Agric. Food Chem.*, 2001, **49**, 913-918.

- [16] Ribotta P.D., Leon A.E., Anon M.C.: Effect of freezing and frozen storage on the gelatinization and retrogradation of amylopectin in dough baked in a differential scanning calorimeter. *Food Res. Int.*, 2003, **36**, 357-363.
- [17] Ronda F., Caballero P.A., Quilez J., Roos Y.H.: Staling of frozen partly and fully baked breads. Study of the combined effect of amylopectin recrystallization and water content on bread firmness. *J. Cereal Sci.*, 2011, **53**, 97-103.
- [18] Schiraldi A., Fessas D.: Mechanism of staling: An overview. In: *Bread Staling*. Eds. P. Chinachoti, Y. Vodovotz. CRC Press, Boca Raton 2011, pp. 1-17.
- [19] Zobel H., Kulp K.: The staling mechanism. In: *Baked Good Freshness*. Eds. E. Hebeda, H. Zobel. Marcel Dekker, New York 1996, pp. 1-64.
- [20] Waszkiewicz-Robak B.: Charakterystyka składników recepturowych pieczywa. W: *Towaroznawstwo żywności przetworzonej*. Red. F. Świderski. Wyd. SGGW, Warszawa 2003, ss. 361-385.

EFFECT OF STORAGE UNDER FREEZING CONDITIONS ON TEXTURE OF SUNFLOWER BREAD BAKED USING BAKE-OFF TECHNOLOGY

S u m m a r y

The objective of the research study was to determine the effect of storing sunflower bread, baked using a bake-off technology, under the freezing conditions on the changes occurring in its texture. The research study comprised partially baked sunflower bread: A that was obtained immediately after baking and B that was stored for 6 months at a controlled temperature of -30 °C. The A and B semi-finished products were stored at -18 °C. After a period of 1, 4, 7, and 16 weeks, the A and B breads were baked, and the B bread was baked also after a period of 21 weeks. Then, the following was analyzed: water activity, porosity, and texture of breads crumb. The texture profile analysis (TPA) was carried out in a TA-XT2i Texture Analyzer. The acoustic emission was measured using a contact method during the compression test of the bread crumb in a ZWICK testing machine. The texture of the A and B sunflower bread baked using a bake-off technology changed significantly during the storing at -18 °C. It was found that during storage the hardness of the A and B sunflower bread crumbs tended to decrease and their cohesiveness to increase. As for the A sunflower bread, significant changes occurred in the parameters of acoustic emission (amplitude, acoustic energy, and number of acoustic emission events) after 4 weeks of storing it; as for the B sunflower bread, those changes occurred after 16 weeks of storage. The PCA analysis showed that the texture of the A bread crumb was constantly changing over a storage period of 16 weeks, while the B bread crumb had a similar texture after the 1st and 4th week of storage; the significant changes in the B bread crumb occurred only after the 7th week of storage. Storing the sunflower bread for six months under the controlled conditions caused the texture of the bread crumb, after defrosting and baking, to become similar to the texture of the bread obtained directly from the production and stored for 4 weeks at -18 °C.

Key words: partially baked sunflower bread, storage, texture, mechanical properties, acoustic emission 

KATARZYNA MIKOŁAJCZYK-BATOR, DARIUSZ KIKUT-LIGAJ

TRITERPENE SAPONINS AS BITTER COMPONENTS OF BEETROOT

S u m m a r y

Many varieties of beetroots (*Beta vulgaris* L.) are valued for their productivity as well as their content of nutrients and pigments from a group of betalains that have strong antioxidant properties. On the other hand, the strong bitterness of roots of several beet varieties is a frequent reason for their being not accepted by consumers. The hitherto published studies describe too vaguely the diversity of beetroot varieties in terms of their bitter taste. Up to now, it is still not clear, which of the secondary metabolites that naturally occur in beetroots is responsible for their bitter taste and aftertaste. The objective of this study was to determine the group of compounds that caused that beetroots had a bitter taste and bitter aftertaste of a high intensity level. The first stage in the research study was to select the most bitter beetroot cultivars based on the sensory characteristics of fresh beet roots (of their flesh and skin) of six cultivars ('Nochowski', 'Chrobry', 'Noe 21', 'Rywal', 'Opolski', and 'Wodan'). The sensory profile of the analysed group of beets showed that the flesh and skin of the 'Nochowski', 'Chrobry', and 'Noe 21' cultivars were characterized by the most intense bitterness. The 'Rywal', 'Opolski', and 'Wodan' cultivars were marked by a relatively low intensity level of the bitterness notes. A mixture of triterpene saponins was isolated from a lyophilisate in the roots of the 'Nochowski' cultivar that, according to the sensory evaluation results, was classified into the group with the strongest bitterness traits. The results of sensory analyses of the saponin mixture of the 'Nochowski' cultivar, its concentration being $C = 1.3515 \text{ g/dm}^3$, confirmed that the group of those compounds had a strong bitter taste comparable to that of the quinine solution at a $C_2 = 6.6 \times 10^{-3} \text{ g/dm}^3$ concentration. It was also proved that the beetroot extracts tested were a mixture composed exclusively of saponin compounds, which varied in their chemical structure.

Key words: beetroot, triterpene saponins, bitter taste, bitter aftertaste

Introduction

Beetroot is a raw material considered as a specialty of the Polish agriculture. Bitter cultivars of red beet are characterised by high contents of betalain pigments; thus,

Dr inż. K. Mikołajczyk-Bator, dr D. Kikut-Ligaj, Katedra Przyrodniczych Podstaw Jakości, Wyzd. Towaroznawstwa, Uniwersytet Ekonomiczny w Poznaniu, al. Niepodległości 10, 61-875 Poznań. Kontakt: katarzyna.mikolajczyk-bator@ue.poznan.pl

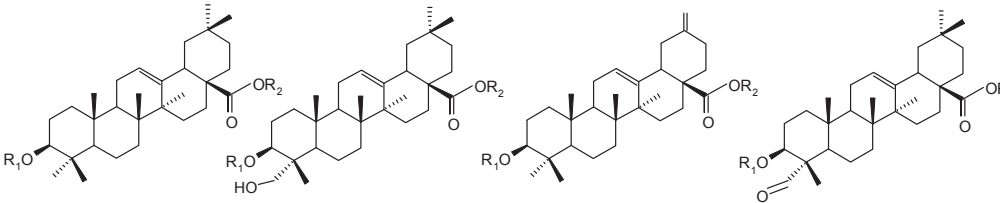
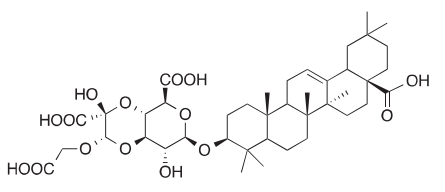
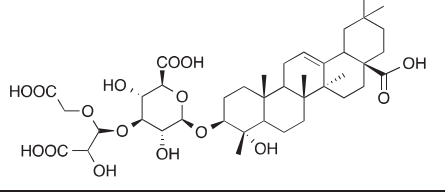
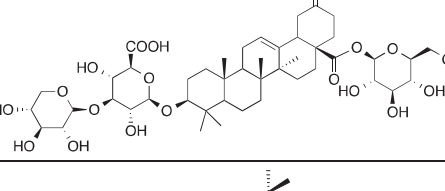
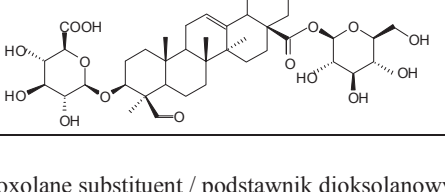
they are desirable cultivars in the food industry. Roots of red beet show a high antioxidant capacity associated with the content of betalain pigments therein. Betalains are effective free radical scavengers and pre-treatment with beetroot juice can counteract xenobiotic-induced oxidative stress in rats [13]. Red beets are typically consumed in a processed form; technological processes (i.e. blanching, drying and heating) enhance the antioxidant potential of that raw material [11]. However, the processing does not considerably enhance the bioavailability of betacyanins contained in red beet roots, which could be caused by partial degradation in the alimentary tract and hindered absorption in the small intestine. The low availability of betacyanins is confirmed by haematological analyses [12].

Roots of red beet cultivars, such as the 'Chrobry' or 'Nochowski' cultivars analysed in this study, with high contents of betalain pigments and, at the same time, characterised by a bitter taste, are used in the food industry to produce, for example, beet crisps (a unique product: crispy slices of beet that are fat-free and with no preservatives added) as well as concentrates and concentrated beet juices. Beetroot concentrate is used as an addition to soups, fruit and vegetable juices, ice-cream, desserts, pasta, and pickles.

Literature sources provide no accurate data to explain which components cause the bitter taste of red beetroots, and to show the variation in bitterness among the cultivars. Most typically, individual cultivars are characterised by their organoleptic attributes, such as flavour, colour, aroma, etc. The variation in terms of bitter taste attributes of different parts of beetroots was described by Biegańska-Marecik et al. [6]. Those authors showed that the skin, root head, and root base were the most bitter parts of the roots, with the centre being the least bitter. However, they did not explain which of the naturally occurring secondary metabolites in red beet roots were responsible for the bitter taste. Also, other studies presented to date did not discuss the occurrence of bitter aftertaste in beetroots [16, 17].

This taste attribute of red beet roots is particularly important for consumers since it eliminates those cultivars that produce a strong bitter aftertaste after consumption.

To the best of our knowledge, no literature sources give any information on saponins found to be bitter substances in beetroot. Many saponins are known to exhibit biological activity, such as antiviral, antidiabetic, cytotoxic, or allelopathic activity, etc., which makes those two substances, and the plants containing them, interesting objects for pharmacological investigations [1, 2, 3, 7, 15, 19].

				
No	R ₁	R ₂	Aglycone	Example of saponin structure
1	Diox -UrA	H	Oleanolic acid	
2	Act - UrA	H	Hederagenin	
3	Pen-UrA	Hex	Akebonoic acid	
4	UrA	Hex	Gypsogenin	

Explanatory notes / objaśnienia:

Act – acetal substituent / podstawnik acetalowy; Diox – dioxolane substituent / podstawnik dioksolanowy; Hex – hexose / heksoza; Pen – pentose / pentoza; UrA – uronic acid / kwas uronowy.

Fig. 1. Chemical structure of saponin aglycones found in roots of beetroot *Beta vulgaris* L. and examples of saponin structures [18]

Rys. 1. Struktury chemiczne aglikonów saponin zawartych w korzeniach buraka ćwikłowego *Beta vulgaris* L. oraz przykłady struktur saponin [18]

As part of our ongoing studies on the isolation and identification of triterpene saponins in the roots of red beet, we found that all the found compounds were glyco-

sides of four different aglycone structures with unique, dioxolane-type and acetal-type substituents (Fig. 1). Based on the high-resolution mass measurements, 44 saponins were detected and identified in the saponin fractions in the roots of beetroot [18]. Those saponins included betavulgarosides I-X identified in the sugar beet [23, 24] and the saponins previously identified in the beetroot [19]. Under the research study, there were analysed the bitter taste and the aftertaste of the identified mixture of saponins in the 'Nochowski' cultivar.

The objective of the research study was to select, on the basis of the results of sensory evaluation (of flesh and skin), the most bitter cultivars of red beet and to determine a group of compounds that cause the high intensity level of bitter taste and aftertaste in beetroot.

Material and methods

The study was performed using beetroots (*Beta vulgaris* L.) of the 'Nochowski', 'Chrobry', 'Noe 21', 'Rywal', 'Opolski', and 'Wodan' cultivars originating from the Seed Breeding and Horticultural Station at Nochowo (Poland). After harvesting, fresh red beet roots were washed under running water, manually peeled to remove their skins of approx. 0.4 ÷ 0.6 cm in thickness from the flesh of red beetroot and, then, divided into 2 groups: skin and flesh, i.e. the centre of the beets, which were lyophilized and ground. Lyophilisation conditions: freezing of the red beetroot to – 75 °C, drying at 15 °C for 27 h, the temperature of a heating plate in the lyophilisate 20 °C, Lyophilizer Freezezone 6L (Labconco, USA). The intensity of taste attributes of the raw beet root samples was measured using a short 5-point scale [5]. The following taste attributes were distinguished: bitter, bitter aftertaste, sweet, and sour.

In the sensory analysis on taste quality of fresh roots of red beet, there was applied a sensory panel consisting of 11 selected panellists [4, 9]. The sensory assessment of isolate saponins (extracts) was conducted by a panel of 11 experts (testers and super-testers [10]) whose levels of sensitivity to bitter taste were average and maximum. The experts of the panel [21] were selected and trained specifically with respect to their sensory ability with particular focus on the identification of, mainly, bitter taste and, also, sweet, salty, and sour tastes [14]. The panellists selected to sit on the panel of experts were all trained in testing taste attributes. All the sensory tests were performed in a sensory laboratory under the fully controllable testing conditions [22].

The samples to be sensory evaluated were prepared using the following procedure: from among the randomly selected red beetroots (6 roots of every cultivar), pieces weighing approx. 2 g were taken of their skin and their flesh. The roots of the 'Nochowski' cultivar, characterised by the highest intensity level of bitter taste, were used to isolate saponins. The roots of red beets were washed under running water, their skin was removed (because it was found to be the most bitter part of beetroots) and

lyophilised at 20 °C (in a Labconco Stoppering Freeze Dryer, USA) and, next, comminuted in a mill.

The mixture of saponins was isolated using the following procedure: the first step consisted in extracting the lyophilised plant material (skins of the red beet roots) with ether in a Soxhlet apparatus for 16 h in order to remove fats [8, 20]. The crude extract was re-extracted for 3 h in an ultrasonic bath in 80 % methanol. Three independent extractions were performed for every sample. After filtering the extract, a residue from the filter was extracted twice and evaporated under reduced pressure (Buchi Heating Bath B-480, USA). Subsequently, the methanol extract was suspended in water and loaded onto LiChroprep RP-18 (40-63 μm ; Merck, Germany), 60 mm \times 100 mm column equilibrated with 5 % methanol. The column was first washed with water to remove carbohydrates and betalain pigments and, next, with 40 % methanol to elute the rest of betalain pigments. Finally, the saponin fraction was eluted with 80 % methanol. The evaporation of the solvents yielded a crude saponin fraction (2.3 g). The fraction of saponins was monitored by TLC on silica gel 60 F₂₅₄ plates (Merck, Germany) with a chloroform/methanol/water solvent system (7:2:2 v/v/v). The spots were detected through spraying the plates with a Libermann-Burchard reagent and followed by heating at 130 °C.

Subsequently, a solid phase extraction (SPE) was applied to re-purify the isolated compounds and, then, the fraction of saponins (2.3 g) was dissolved in water and deposited on preconditioned 5 g PR-18 Lichrolut cartridges (Merck, Germany). The elutes were monitored on silica gel TLC plates (Merck, Germany) developed in the following system of solvents: chloroform: methanol: water (60:40:10 v/v) [20]. The triterpenoids were visualized by spraying the TLC plates with a Libermann-Burchard reagent. The first fraction (F1) was eluted with water and contained mainly saccharides; the second fraction (F2) was eluted with 40 % methanol and contained, additionally, betalains. The saponins were eluted in the third fraction using 80 % methanol. The methanolic extract (F3) was evaporated under reduced pressure (at a 30 °C vapour temperature in the flask). As a result, 15 mg of saponin mixture was obtained of 1 g of lyophilised plant material. The saponins from this fraction were identified and characterised in our previous study [18].

The fractions of saponins (F3) were dissolved in a distilled water to a concentration of $C = 5.406 \text{ g/dm}^3$ for a sample of the E₀ saponin mixture and $C = 1.3515 \text{ g/dm}^3$ for the samples of the E_I and E_{II} saponin mixtures and, subsequently, the sensory analyses were conducted. The type of the taste attribute (bitter, bitter sweet, or sour) yielded by the saponin extract was identified by the sensory panel in the so-called control test (E₀ sample). In the sensory evaluation of relative intensity of bitterness of the saponin extracts, the multiple paired comparison test was applied [5] (referring the samples of E_I and E_{II} extracts to the bitterness standard). In this method, quinine was used

as a reference standard at four (W_1 - W_4) different concentrations above the stimulus threshold ($[g/dm^3]$: $C_1 = 5.16 \times 10^{-3}$; $C_2 = 6.6 \times 10^{-3}$; $C_3 = 9.54 \times 10^{-3}$; $C_4 = 15.42 \times 10^{-3}$). All the analyses were performed in three independent replications; the data were described AS mean values, with standard deviation (\pm SD). Calculations were made using a Microsoft Excel spreadsheet and a Statistica software version 10. Results were statistically analysed using an analysis of variance (ANOVA of the main effects at $p = 0.05$) with a Statistica software.

Results and discussion

The main stage of all the analyses comprised a sensory evaluation of raw roots of 6 beetroot cultivars ('Nochowski', 'Chrobry', 'Noe 21', 'Rywal', 'Opolski', and 'Wodan'). The sensory evaluation was conducted on the samples of both the skin and the flesh of roots of the abovementioned beetroot cultivars. Tab. 1 shows the results of the sensory analyses of beetroot cultivars and beet root parts.

Table 1. Results of sensory evaluation of taste of various parts of beet roots

Tabela 1. Wyniki oceny sensorycznej smaku różnych części korzeni buraków ćwikłowych

Cultivar of beet-root Odmiana buraka ćwikłowego	Part of root Część korzenia	Taste characteristics / Wyróżniki smaku			
		bitter gorzki	bitter aftertaste posmak gorzki	sweet słodki	sour kwaśny
'Nochowski'	flesh	1.9 \pm 0.1	2.4 \pm 0.2	4.1 \pm 0.1	0.7 \pm 0.5
	skin	3.7 \pm 0.2	3.3 \pm 0.3	1.1 \pm 0.1	1.0 \pm 0.1
'Chrobry'	flesh	1.8 \pm 0.3	2.2 \pm 0.1	3.9 \pm 0.3	0.3 \pm 0.1
	skin	3.5 \pm 0.1	3.2 \pm 0.4	1.4 \pm 0.4	0.5 \pm 0.5
'Noe 21'	flesh	2.3 \pm 0.1	2.4 \pm 0.3	4.0 \pm 0.2	0.6 \pm 0.4
	skin	3.6 \pm 0.2	3.5 \pm 0.3	1.2 \pm 0.3	0.9 \pm 0.3
'Rywal'	flesh	0.5 \pm 0.3	0.2 \pm 0.4	3.5 \pm 0.5	0.4 \pm 0.5
	skin	0.6 \pm 0.2	0.4 \pm 0.2	3.9 \pm 0.5	0.5 \pm 0.1
'Opolski'	flesh	0.5 \pm 0.4	0.9 \pm 0.3	4.2 \pm 0.6	0.7 \pm 0.3
	skin	0.9 \pm 0.2	1.0 \pm 0.3	4.8 \pm 0.4	0.2 \pm 0.4
'Wodan'	flesh	0.7 \pm 0.5	0.4 \pm 0.5	4.6 \pm 0.5	0.4 \pm 0.5
	skin	1.1 \pm 0.2	1.4 \pm 0.3	4.2 \pm 0.1	0.8 \pm 0.1

Table 1 shows mean values \pm standard deviations. / W tabeli przedstawiono wartości średnie \pm odchylenia standardowe.

The score rating of the bitter taste intensity of the above mentioned red beet cultivars ranged from 0.5 to 3.7 points, while the intensity scores of the bitter aftertaste ranged from 0.4 to 3.5 on a 5-point scale. The bitter taste and aftertaste of the skin of red beet roots had a higher intensity level than that of the flesh. As for the skin, the

score rating of the intense bitter taste thereof ranged from 0.6 to 3.7, while that of the flesh ranged from 0.5 to 2.3 depending on the cultivar. The highest intensity level of bitter taste and aftertaste was recorded for the roots of the ‘Nochowski’, ‘Chrobry’, and ‘Noe 21’ cultivars. The score rating of the bitter aftertaste of the skin of the ‘Nochowski’, ‘Chrobry’, and ‘Noe 21’ cultivars was between 1.8 and 3.7.

It was also found that the cultivars with a high intensity level of bitter taste had, at the same time, a lower intensity level of the sweet taste (‘Nochowski’, ‘Chrobry’, and ‘Noe 21’ cultivars). As for the other cultivars, a high intensity level was recorded only for the sweet taste. As regards all the cultivars evaluated, the intensity of their sour taste was evaluated as low; its score rating ranged from 0.2 to 1.0.

Based on the statistical analysis, it was confirmed that the individual red beet cultivars significantly differed in the intensity levels of their bitter taste and bitter aftertaste; further, there were found noticeable differences in the bitter taste and bitter aftertaste depending on the part of beet roots (Tab. 2). Therefore, the null hypothesis (H_0), i.e. the lack of differences in the perception of bitter taste and bitter aftertaste ($F = 9.8995$) among the evaluated red beet cultivars ($F = 9.6776$), was rejected. The probability of committing an error by rejecting the null hypothesis is 1 % ($p = 0.013146$) for the rejection of H_0 because of the lack of differences in the perception of the bitter taste among the cultivars. In turn, the probability of committing an error when rejecting H_0 because of the lack of differences between the bitter taste and the bitter aftertaste of different cultivars is 2 % ($p = 0.025484$).

Table 2. Results of statistical analysis (ANOVA of main effects at $p = 0.05$) to confirm significant differences in the perception of bitter taste and bitter aftertaste of 6 red beet cultivars evaluated

Tabela 2. Wyniki analizy statystycznej (ANOVA efektów głównych, na poziomie istotności $p = 0,05$), potwierdzające istotne różnice w odczuwaniu smaku i posmaku gorzkiego w 6 ocenianych odmianach buraka ćwikłowego

Effect / Efekt	Univariate significance tests for results of sensory evaluation of bitter taste and bitter aftertaste / Jednowymiarowe testy istotności wyników oceny sensorycznej smaku i posmaku gorzkiego				
	SS	Df	MS	F ^b	p ^c
Free term	37.10083 ^a	1 ^a	37.10083 ^a	135.6520 ^a	0.000082 ^a
Red beet cultivars	13.23417 ^a	5 ^a	2.64683 ^a	9.6776 ^a	0.013146 ^a
Bitter taste and aftertaste	2.70750 ^a	1 ^a	2.70750 ^a	9.8995 ^a	0.025484 ^a
Error	1.36750	5	0.27350	-	-

Explanatory notes / Objaśnienia:

SS – sum of squares / suma kwadratów; Df – degrees of freedom / stopnie swobody; MS – mean square / średnia kwadratów; a – values highlighted in red / wartości podświetlone na czerwono; b – statystyka F służy do weryfikacji hipotezy istotności całego modelu / F statistic is used to verify the hypothesis on significance of the whole model; c – p-level of probability / p poziom prawdopodobieństwa

The results of sensory analyses of the individual cultivars and red beet parts confirmed that the roots of all the cultivars tested had a bitter taste, which was perceptible at varying intensity levels.

The bitter taste was defined as a predominant taste attribute of three out of six red beet cultivars, while in the case of all the cultivars tested, the intensity of the bitter taste (aftertaste) of the skin was stronger than that of the flesh of roots (Fig. 2, 3).

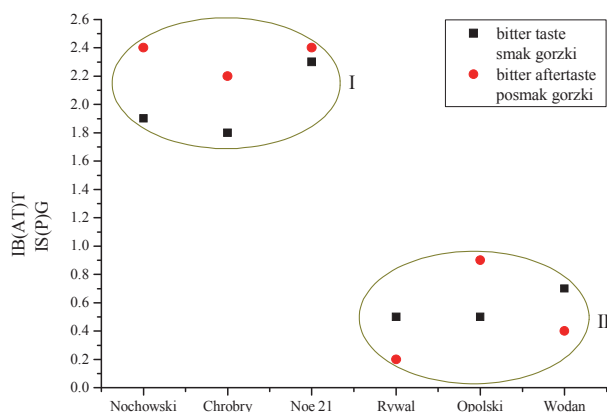


Fig. 2. Red beet cultivars (root flesh) grouped according to bitter taste and aftertaste intensity level BT(AT)IL

Rys. 2. Odmiany buraka ćwikłowego (miąższ) pogrupowane pod względem intensywności smaku i posmaku gorzkiego IS(P)G

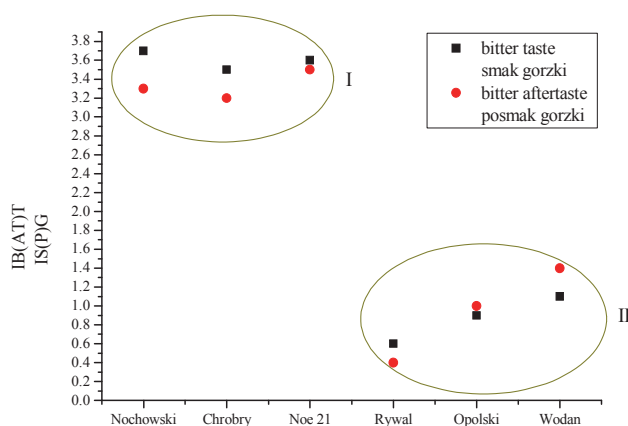


Fig. 3. Red beet cultivars (root skin) grouped according to bitter taste and aftertaste intensity level BT(AT)IL

Rys. 3. Odmiany buraka ćwikłowego (skórka) pogrupowane pod względem intensywności smaku i posmaku gorzkiego IS(P)G

The flesh and skins of the ‘Nochowski’, ‘Chrobry’, and ‘Noe 21’ cultivars (Group I) manifested the strongest bitterness notes, whereas the roots of red beet of the ‘Wodan’, ‘Opolski’, and ‘Rywal’ cultivars (Group II) had a strongly intense sweet taste and, at the same time, the intensity level of their bitter taste was rated very low.

The sensory evaluation of the flesh and skins of red beet roots made it possible to distinguish a group of the most bitter cultivars; this group consisted of the ‘Nochowski’, ‘Chrobry’, and ‘Noe 21’ cultivars. The cultivars in this group had the highest intensity level of their bitter taste and aftertaste. The red beet cultivars evaluated can be divided into two groups: in Group I, there are the beet root cultivars having a strong level of bitter taste (aftertaste) and in Group II, there are those showing a minimal intensity level of bitter taste (aftertaste). The mean score rating for the perception of the bitter taste of the ‘Nochowski’, ‘Chrobry’, and ‘Noe 21’ cultivars was 1.9 as for the flesh and 3.6 as for the skin.

The other red beet cultivars (Group II) had low scores for the intensity level of their bitter taste ranging from 0.5 to 0.7 as for the flesh and from 0.6 to 1.1 as for the skin. Based on the univariate analysis of variance ($p = 0.05$), statistically significant differences were found between the bitter taste and the bitter aftertaste of the ‘Nochowski’, ‘Chrobry’, and ‘Noe 21’ cultivars compared to the ‘Rywal’, ‘Opolski’, and ‘Wodan’ cultivars; the latter cultivars showed a minimal intensity level of their bitter taste (aftertaste).

Another interesting outcome is linked with mutual relationships between the sweet taste and the bitter taste (aftertaste) of red beet cultivars in Group I (strongly bitter) and Group II (slightly bitter) (Fig. 4, 5). Those Figures point to a predominance of the bitterness attributes over the sweet taste attributes of the skins of the cultivars in Group I, whereas the cultivars in Group II show a reverse relationship.

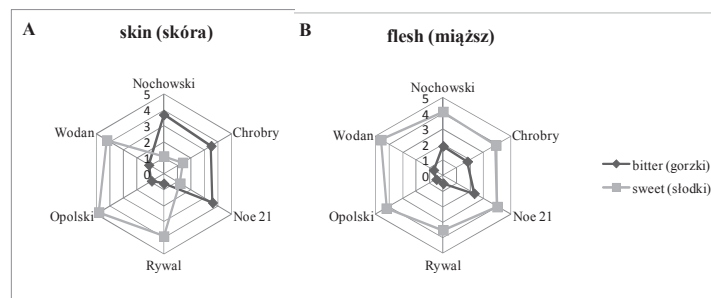


Fig. 4. Relationship between sweet and bitter taste of skins (A) and flesh (B) of evaluated red beet cultivars

Rys. 4. Relacja pomiędzy smakiem słodkim i gorzkim w skórkach (A) i mięszu (B) badanych odmian buraka ćwikłowego

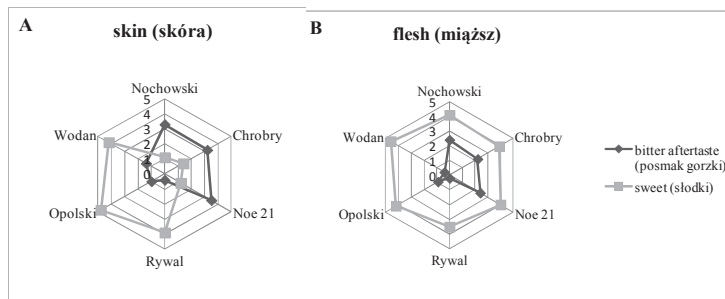


Fig. 5. Relationship between sweet and bitter aftertaste of skins (A) and flesh (B) of evaluated red beet cultivars

Rys. 5. Relacja pomiędzy smakiem słodkim i posmakiem gorzkim w skórkach (A) i mięszu (B) badanych odmian buraka ćwikłowego

In the flesh of all the cultivars evaluated, the sweet taste predominates over the bitterness taste (Fig. 4B, 5B). However, it is worth stressing that the flesh of the ‘Nochowski’, ‘Chrobry’, and ‘Noe 21’ cultivars has a moderately intense level of bitterness and the bitterness attributes of the ‘Wodan’, ‘Opolski’, and ‘Rywal’ cultivars are practically imperceptible.

A strong accumulation of bitterness in the ‘Nochowski’, ‘Chrobry’, and ‘Noe 21’ cultivars was the basis for selecting one of them for the purpose of identifying and separating potentially bitter taste components, i.e. triterpene saponins. The saponin extracts were separated from the lyophilisates in the whole roots (skin and flesh together) of the ‘Nochowski’ cv. 100 g of lyophilisate was got out of 1 kg of fresh red beet roots, which was equivalent to 10 % lyophilisation efficiency.

After removing fats, the bitter skins of beet roots were dried and extracted with methanol; next, they were evaporated and, subsequently, a fraction containing the saponin mixture was suspended in water, loaded onto LiChroprep RP 18 (40-63 μ m, Merck, Germany) and washed with 80 % methanol. A solid phase extraction (SPE) was applied to re-purify the compounds isolated. The lyophilised plant material (1 g) yielded 15 mg of fraction of the saponin mixture. The content of saponins in 1 kg of fresh material was 0.15 % in terms of fresh weight of the roots of red beet of the ‘Nochowski’ cv.

Structural analyses of saponins present in crude extracts from red beet roots (cv. ‘Nochowski’ cv.) were previously reported [6]. All the above described procedures accomplished resulted in detecting 41 saponins, which were pre-identified. The pre-identified saponins were glycosides of four different sapogenins, oleanolic acid, hederagenin, akebonoic acid, and gypsogenin (Fig. 1.). The aglycones in the triterpene saponins were substituted at C-3 or C-28 with one and two sugar chains; this resulted in a complex multi-component mixture derived from the roots of red beet (*Beta vulgaris*

L.). The compounds isolated had molecular ions with m/z ranging from 763 to 1117 [M-H]. The majority of the saponins detected in the mixture of triterpene saponins were derivatives of the oleanolic acid found in 27 pre-identified saponins, whereas the akebonoic acid was found in 10 compounds, the hederagenin in 6 saponins, and the gypsogenin only in one saponin [6].

After the group of bitter compounds mixture was isolated, a subsequent sensory evaluation was performed with the use of the same analyses already applied to identify the group of compounds responsible for a high intensity level of bitter taste and bitter aftertaste of beetroot. For this purpose, the members of the sensory panel tested three independent SPE-purified samples (E_0 , E_I , and E_{II}), which were evaporated to dryness and which contained the mixtures of triterpene saponins obtained from the roots of the 'Nochowski' cv.

The results of the analyses confirmed that all the tested samples of saponin extracts had a strong bitter taste. While analysing a relative intensity level of bitterness of the saponin extracts, the E_I extract was classified, in terms of the intensity of bitter taste (ISG), as being comparable to the quinine solutions at concentrations of $C_2 = 6.6 \times 10^{-3} \text{ g/dm}^3$ and $C_3 = 9.54 \times 10^{-3} \text{ g/dm}^3$. The ISG of the E_I extract was, as a rule, identical to the quinine solution at $C_2 = 6.6 \times 10^{-3} \text{ g/dm}^3$.

The analyses conducted proved that the factors responsible for the bitter taste of red beet might be highly complex and, among them, the triterpene saponins were the key components. Further studies on the bitter taste of red beets should be focused on the explanation which of the triterpene saponins, and to what extent, are responsible for the bitterness attributes of red beets. The performed spectral analysis of the saponin extracts confirmed that there were saponin compounds therein [18].

The character and contents of those compounds constitute an important criterion when assessing the quality of beetroot products.

Conclusions

1. The red beet cultivars: 'Nochowski', 'Chrobry', 'Noe 21', 'Rywal', 'Opolski', and 'Wodan' as well as their individual parts showed statistically significant differences in their bitter tastes, which was perceptible at various intensity levels depending on the cultivar and root parts.
2. Statistically significant differences were found among the bitter tastes and bitter aftertastes of the 'Nochowski', 'Chrobry', and 'Noe 21' cultivars compared to the 'Rywal', 'Opolski', and 'Wodan' cultivars. The first three cultivars showed a high intensity level of the bitter taste and aftertaste and the other three cultivars had a minimal intensity level of those attributes.

3. The bitter 'Nochowski', 'Chrobry', and 'Noe 21' red beet cultivars were characterised by a strong sensation of bitter aftertaste; the bitter aftertaste of the skin of their roots had a higher intensity level compared to that of their flesh.
4. The cultivars with a high strong intensity level of their bitter taste had, at the same time, a lower intensity level of the sweet taste. As for the other cultivars, a strong intensity level of the sweet taste was reported.
5. The strongest bitterness attributes were found in the case of the roots of the 'Nochowski' cv. and the saponin mixture isolated from this specific cultivar at a concentration of $C = 1.3515 \text{ g/dm}^3$ showed the intensity level of the bitter taste that was comparable to that of the quinine solutions at concentrations of $C_2 = 6.6 \times 10^{-3} \text{ g/dm}^3$ and $C_3 = 9.54 \times 10^{-3} \text{ g/dm}^3$.

Acknowledgments

"The project was financed by the National Science Centre granted by decision number DEC-2012/07/B/NZ9/00047"

References

- [1] Apers S., Baronikova S., Sindambiwe J.B., Witvrouw M., De Clercq E., Van Den Berghe D., Van Marck E., Vlietinck A.J., Pieters L.: Antiviral, haemolytic and molluscicidal activities of triterpenoid saponins from *Maesa lanceolata*: Establishment of structure-activity relationships. *Planta Med.*, 2001, **67**, 528-532.
- [2] Atamanova A.S., Brezhneva A.T., Slivkin I.A., Nikolaevskii A.V., Selemenev F.V., Mironenko V.N.: Isolation of saponins from table beetroot and primary evaluation of their pharmacological activity. *Pharm. Chem. J.*, 2005, **39**, 650-652.
- [3] Bader G.: Pharmacology and biopharmaceutics of triterpenoid saponins. *Pharmazie*, 1994, **49**, 391-400.
- [4] Bartoshuk L.M.: Comparing sensory experiences across individuals: Recent psychophysical advances illuminate genetic variation in taste perception. *Chem. Senses*, 2000, **25** (4), 447-460.
- [5] Barylko-Pikielna N., Matuszewska I.: Sensoryczne badanie żywności. Podstawy. Metody. Zastosowania. Wyd. Nauk. PTTŻ, Kraków 2009.
- [6] Biegańska-Marecik R., Czapski J., Błaszczuk P.: Określenie wpływu odmiany i procesu technologicznego na występowanie smaku gorzkiego w buraku ćwikłowym. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2007, **52** (3), 62-70.
- [7] Chołuj A., Janiszowska W.: Allelopathic activity of saponin fraction from *Beta vulgaris*. *Acta Biochim. Pol.*, 2006, **53**, 58.
- [8] Copaja S.V., Blackburn C., Carmona R.: Variation of saponin contents in *Quillaja saponica* Molina. *Wood Sci. Technol.*, 2003, **37**, 103-108.
- [9] Deterre S., Delarue J., Innocent C., Giampaoli P.: Evaluation of bitterness intensity of citrus products by an untrained panel using relative-to-reference rating. *Food Nutr. Sci.*, 2012, **3**, 80-88.
- [10] Dinehart M.E., Hayes J.E., Bartoshuk L.M., Lanier S.L., Duffy V.B.: Bitter taste markers explain variability in vegetable sweetness, bitterness, and intake. *Physiol. Behav.*, 2006, **87** (2), 304-313.

- [11] Kidoń M., Czapski J.: Wpływ obróbki termicznej na zawartość barwników betalainowych i zdolność przeciwutleniającą buraka ćwikłowego. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2007, **50** (1), 124-131.
- [12] Klewicka E.: Betacyjany – biodostępność i biologiczna aktywność. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2012, **81** (2), 5-21.
- [13] Kujawska M., Ignatowicz E., Murias M., Ewertowska M., Mikołajczyk K., Jodynis-Liebert J.: Protective effect of red beetroot against carbon tetrachloride- and N-nitrosodiethylamine-induced oxidative stress in rats. *J. Agric. Food Chem.*, 2009, **57** (6), 2570-2575.
- [14] Le Berrre E., Boucon C., Knoop M., Dijksterhuis G.: Reducing bitter taste through perceptual constancy created by an expectation. *Food Qual. Prefer.*, 2013, **28** (1), 370-374.
- [15] Li X.X., Davis B., Haridas V., Gutterman J.U., Colombini M.: Proapoptotic triterpene electrophiles (avicins) form channels in membranes: Cholesterol dependence. *Biophys. J.*, 2005, **88** (4), 2577-2584.
- [16] Lu G., Fellman J.K., Edwards C.G., Mattinson S.D., Narazio J.: Biosynthetic origin of geosmin in red beet. *J. Agric. Food Chem.*, 2003, **51**, 1026-1029.
- [17] Lu G., Fellman J.K., Edwards C.G., Mattinson S.D., Narazio J.: Quantitative determination of geosmin in red beets (*Beta vulgaris* L.) using headspace solid-phase microextraction. *J. Agric. Food Chem.*, 2003, **51**, 1020-1025.
- [18] Mikołajczyk-Bator K., Błaszczuk A., Czyżniejewski M., Kachlicki P.: Characterization and identification of triterpene saponins in the roots of red beet (*Beta vulgaris* L.) using two HPLC-MS systems. *Food Chem.*, 2016, **192**, 979-990.
- [19] Mroczek A., Kapusta I., Janda B., Janiszowska W.: Triterpene saponin content in the roots of red beet (*Beta vulgaris* L.) cultivars. *J. Agric. Food Chem.*, 2012, **60**, 12397-12402.
- [20] Oleszek W.A.: Chromatographic determination of plant saponins. *J. Chrom. A.*, 2002, **967**, 147-162.
- [21] PN-EN ISO 8586:2014-03. Analiza sensoryczna. Ogólne wytyczne wyboru, szkolenia i monitorowania wybranych oceniających i ekspertów oceny sensorycznej.
- [22] PN-EN ISO 8589:2010. Analiza sensoryczna. Ogólne wytyczne dotyczące projektowania pracowni analizy sensorycznej.
- [23] Sparg S.G., Light M.E., Van Staden J.: Biological activities and distribution of plant saponins. *J. Ethnopharmacol.*, 2004, **94**, 219-243.
- [24] Vongsangnak W., Gua J., Chauvatcharin S., Zhong J.: Towards efficient extraction of notoginseng saponins from cultured cells of *Panax notoginseng*. *Biochem. Eng. J.*, 2004, **18**, 115-120.
- [25] Yoshikawa M., Murakami T., Kadoya M., Yamahara J., Matsuda H.: Medical Foodstuffs. III. Sugar Beet. (1): Hypoglycemic oleanolic acid oligoglycosides, betavulgarosides I, II, III, and IV, from the root of *Beta vulgaris* L. (*Chenopodiaceae*). *Chem. Pharm. Bull.*, 1996, **44**, 1212-1217.
- [26] Yoshikawa M., Murakami T., Kadoya M., Yamahara J., Matsuda H.: Medical Foodstuffs. XV. Sugar Beet. (2): Structures of betavulgarosides V, VI, VII, VIII, IX and X from the roots and leaves of sugar beet (*Beta vulgaris* L., *Chenopodiaceae*). *Chem. Pharm. Bull.*, 1998, **46**, 1758-1763.

SAPONINY TRITERPENOWE JAKO GORZKIE SKŁADNIKI BURAKA ĆWIKŁOWEGO

Streszczenie

Wiele odmian buraka ćwikłowego (*Beta vulgaris* L.) jest cenionych ze względu na plenność, zawartość składników odżywczych oraz barwników z grupy betalain, wykazujących silne właściwości przeciwutleniające. Z drugiej strony silna goryczka korzeni szeregu odmian buraków ćwikłowych jest częstą

przyczyną ich nieakceptowania przez konsumentów. Dotychczas przedstawiane prace zbyt ogólnie charakteryzują zróżnicowanie odmian buraka ćwikłowego pod względem cech goryczkowych. Obecnie niewiadome jest również, które z naturalnie występujących metabolitów wtórnych korzeni buraka ćwikłowego odpowiadają za jego smak i posmak gorzki. Celem pracy było określenie grupy związków powodujących wysoką intensywność smaku i posmaku gorzkiego buraka ćwikłowego. Pierwszy etap badań dotyczył selekcji najbardziej gorzkich odmian buraków na podstawie ich cech smakowych (miąższu i skórek sześciu odmian ('Nochowski', 'Chrobry', 'Noe 21', 'Rywal', 'Opolski' i 'Wodan') świeżych korzeni buraka ćwikłowego. Charakterystyka sensoryczna badanej grupy buraków ćwikłowych wykazała, że najbardziej intensywną goryczką zarówno w miąższu, jak i w skórce odznaczają się odmiany 'Nochowski', 'Chrobry' i 'Noe 21'. Z kolei odmiany takie, jak: 'Rywal', 'Opolski' i 'Wodan' charakteryzowały się stosunkowo niską intensywnością cech goryczkowych. Mieszaninę triterpenowych saponin wyizolowano z liofilizatu korzeni odmiany 'Nochowski', zaklasyfikowanej wg ocen sensorycznych do grupy o najsilniejszych cechach goryczkowych. Wyniki badań sensorycznych wyizolowanej mieszaniny saponin o stężeniu $C = 1,3515 \text{ g/dm}^3$ z odmiany 'Nochowski' potwierdziły, że grupa tych związków wykazuje silny smak gorzki, porównywalny do roztworu chininy o stężeniach $C_2 = 6,6 \times 10^{-3} \text{ g/dm}^3$. Dowiedziono również, że badane ekstrakty buraka ćwikłowego stanowią mieszaninę złożoną wyłącznie ze związków saponinowych o zróżnicowanej strukturze chemicznej.

Słowa kluczowe: burak ćwikłowy, saponiny triterpenowe, smak gorzki, posmak gorzki ☒

KATARZYNA GAWEL-BĘBEN, KAMIŁA RYBCZYŃSKA, TOMASZ BUJAK,
MONIKA KARAŚ, ANNA JAKUBCZYK, ZOFIA NIZIOŁ-ŁUKASZEWSKA

**WPLYW RODZAJU ROZPUSZCZALNIKA NA WYBRANE
BIOLOGICZNE WŁAŚCIWOŚCI EKSTRAKTÓW Z LIŚCI
PIETRUSZKI ZWYCZAJNEJ *PETROSELINUM CRISPUM* (MILL)**

Streszczenie

Pietruszka zwyczajna (*Petroselinum crispum* Mill) jest wykorzystywana jako surowiec w przemyśle spożywczym m.in. ze względu na dużą zawartość związków fenolowych. W niniejszej pracy badano wpływ rozpuszczalników na skład oraz wybrane biologiczne właściwości ekstraktów z liści *P. crispum*. Porównano ekstrakty: wodny (W), etanolowy (ET), glikolowo-wodny (GLW) i glicerolowo-wodny (GCW). Największą zawartość związków fenolowych ogółem oznaczono w ekstraktach GLW ($2,63 \pm 0,03$ mg/g s.m.) i GCW ($2,12 \pm 0,08$ mg/g s.m.), natomiast najwięcej flawonoidów zawierał ekstrakt ET ($0,86 \pm 0,02$ mg/g s.m.). Głównymi związkami fenolowymi ekstraktu wodnego były: epikatechina, katechina i jej pochodne, ekstraktu etanolowego – kwasy fenolowe (np. rozmarynowy), ekstraktu GLW – apigenina, natomiast ekstraktu GCW – daidzeina, naryngenina i pochodne. Oprócz znacznych różnic w składzie ilościowym i jakościowym badanych ekstraktów wykazywały one także zróżnicowaną aktywność przeciwrodnikową. Ekstrakt GCW w największym stopniu neutralizował rodnik DPPH[•] ($IC_{50} = 6,89 \pm 0,56$ µg/ml), natomiast ekstrakt W – kationorodnik ABTS^{•+} ($IC_{50} = 31,44 \pm 4,11$ µg/ml). Wszystkie ekstrakty wykazywały porównywalną zdolność do chelatowania jonów Fe²⁺. W badaniu cytotoksyczności ekstraktów w warunkach *in vitro* w stosunku do ludzkiej linii komórkowej BJ (ATCC CRL-2522) wykazano najwyższą cytotoksyczność ekstraktów ET i W. Cytotoksyczność ekstraktów GLW i GCW była porównywalna z cytotoksycznością samych rozpuszczalników. Dowiedziono wpływu rozpuszczalników na skład, właściwości przeciwutleniające oraz cytotoksyczność ekstraktów z *P. crispum*, wskazując równocześnie na możliwość zastosowania tych ekstraktów w przemyśle spożywczym.

Słowa kluczowe: pietruszka zwyczajna (*Petroselinum crispum* Mill.), przeciwutleniacze, związki fenolowe, flawonoidy, cytotoksyczność

*Dr K. Gawel-Bęben, Katedra Zdrowia Publicznego, Dietetyki i Chorób Cywilizacyjnych, mgr T. Bujak, dr inż. Z. Nizioł-Lukaszewska, Katedra Kosmetologii, Wydz. Medyczny, Wyższa Szkoła Informatyki i Zarządzania, ul. Sucharskiego 2, 35-225 Rzeszów, dr inż. K. Rybczyńska, Katedra Mikrobiologii Środowiskowej, Wydz. Agrobiotechnologii, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, ul. Leszczyńskiego 7, 20-069 Lublin, dr M. Karaś, dr A. Jakubczyk, Katedra Biochemii i Chemii Żywności, Wydz. Nauk o Żywności i Biotechnologii, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, ul. Skromna 8, 20-704 Lublin.
Kontakt: kagawel@wsiz.rzeszow.pl*

Wprowadzenie

Pietruszka zwyczajna (*Petroselinum crispum* Mill.) jest dwuletnią rośliną pochodzącą z regionu śródziemnomorskiego. Powszechnie uprawiana jest w wielu regionach świata ze względu na swoje walory kulinarne. Ponadto związki bioaktywne zawarte w ekstraktach z *P. crispum* wykazują działanie przeciwutleniające, hepatoprotekcyjne, neuroprotekcjne, przeciwcukrzycowe, diuretyczne, przeciwzakrzepowe oraz przeciwdrobnoustrojowe. Prozdrowotne właściwości pietruszki wynikają z zawartości biologicznie czynnych substancji, takich jak: olejki eteryczne (mirystycyna i apiol), karotenoidy, witamina C oraz furanokumaryny [18]. Psoralen i oksypeucedanina zaliczane do tej ostatniej grupy mogą wywoływać reakcje fotouczulające u niektórych zwierząt [7]. Ważnym składnikiem liści *P. crispum* są związki fenolowe, wśród których dominują flawonoidy: apigenina, luteolina i kwercetyna [18]. Związki fenolowe wykazują silne właściwości przeciwutleniające wynikające z ich budowy chemicznej, w tym z występowania w cząsteczkach grup hydroksylowych [11]. Właściwości te przejawiają się w różnorodnych mechanizmach działania, do których zalicza się m.in. neutralizowanie wolnych rodników poprzez stabilizację lub delokalizację niesparowanego elektronu lub chelatowanie jonów metali przejściowych, takich jak Fe^{2+} i Cu^{2+} , katalizujących reakcje powstawania reaktywnych form tlenu [2]. Obecność związków fenolowych w diecie może chronić przed skutkami stresu oksydacyjnego i zapobiegać rozwojowi chorób, m.in. nowotworów czy miażdżycy tętnic [8, 12, 13, 21, 24]. Związki fenolowe i ich pochodne są wykorzystywane do produkcji żywności jako prekursorzy substancji smakowych i zapachowych, mogą również pełnić funkcję naturalnych zamienników syntetycznych przeciwutleniaczy, zapobiegając procesom utleniania i rozkładu zachodzącym w przetworzonej i przechowywanej żywności [11]. Związki fenolowe pozyskuje się zarówno ze świeżego materiału, jak i z suszonych lub liofilizowanych fragmentów roślin w procesie ekstrakcji, z użyciem różnych rozpuszczalników. Ilość wyekstrahowanych związków zależy od polarności użytego rozpuszczalnika, czasu i temperatury ekstrakcji, proporcji materiału roślinnego do ilości użytego rozpuszczalnika, jak również od składu jakościowego i ilościowego materiału roślinnego. W materiale roślinnym mogą być obecne zarówno proste związki fenolowe, takie jak kwasy fenolowe czy antocyjany, jak również związki o dużym stopniu złożoności, jak taniny. Wiele związków fenolowych występuje w roślinach w kompleksach z białkami lub węglowodanami, co znacznie zmienia ich właściwości chemiczne i biologiczne [6]. Dobór warunków procesu ekstrakcji zależy także od przeznaczenia przygotowywanego ekstraktu. Nie istnieje jedna uniwersalna metoda ekstrakcji związków fenolowych z materiału roślinnego.

Celem niniejszej pracy było określenie wpływu czterech rozpuszczalników: wody, 96-procentowego etanolu oraz mieszanin woda : glikol (1 : 4, v/v) i woda : glicerol (1 : 4, v/v), użytych do ekstrakcji suszonych liści pietruszki zwyczajnej (*Petroselinum*

crispum Mill), na jakościowy i ilościowy skład związków fenolowych otrzymanych ekstraktów. Porównano także właściwości przeciwutleniające oraz cytotoksyczność *in vitro* tych ekstraktów.

Material i metody badań

Przygotowanie ekstraktów z P. crispum Mill.

Suszone liście pietruszki zakupiono u dystrybutora (PPHU „PAK” Mirosław Nieczaja, Krępiec, Polska). Ekstrakty z pietruszki otrzymywano metodą turboekstrakcji rozpuszczalnikowej. Jako rozpuszczalniki stosowano: wodę destylowaną (W), 96-procentowy alkohol etylowy (Honeywell, USA) (ET), mieszaninę wody z glikolem propylenowym (Chempur, Polska) (1 : 4, v/v) (GLW) oraz mieszaninę wody z glicerolem (Chempur, Polska) (1 : 4, v/v) (GCW). Suszone liście w ilości 5 g umieszczano w moździerzu i ucierano z 20 ml ekstrahenta. Zawartość moździerza przenoszono do zlewki z 80 ml ekstrahenta i mieszano przy użyciu mieszadła mechanicznego przez 3 h, bez dostępu światła. Ekstrakty dekantowano i filtrowano pod zmniejszonym ciśnieniem przez filtr bibułowy. Ekstrakty przechowywano w butelkach z ciemnego szkła w temp. 4 °C.

Zawartość związków fenolowych ogółem i flawonoidów

Zawartość związków fenolowych ogółem w ekstraktach oznaczano spektrofotometrycznie w spektrofotometrze UV-Vis Aqua-Mate (ThermoScientific, USA), stosując odczynnik Folina-Ciocalteu'a (Sigma-Aldrich, Niemcy), zgodnie z metodą opisaną przez Singletona i Rossiego [22], w modyfikacji Bozina i wsp. [3]. Zawartość związków fenolowych wyrażano w mg kwasu galusowego (GA) na g s.m. liści *P. crispum*.

Zawartość flawonoidów oznaczano przy użyciu spektrofotometru UV-Vis Aqua-Mate (ThermoScientific, USA), metodą opracowaną przez Woiskiego i Salationo [27]. Zawartość flawonoidów wyrażano w mg kwercetyny na g s.m. liści.

Jakościowa i ilościowa analiza związków fenolowych

Zawartość poszczególnych związków fenolowych w ekstraktach z liści pietruszki oznaczano techniką wysokosprawną chromatografię cieczową (HPLC), przy użyciu chromatografu VarianProStar (Varian, USA) wyposażonego w kolumnę Varian-CromSpher C18 (250 mm × 4,6 mm) i detektor ProStar DAD. Fazę ruchomą stanowił 4,5-procentowy kwas octowy i 50-procentowy acetonitryl. Rozdział prowadzono z prędkością przepływu 0,8 ml/min. Elucję prowadzono w gradiencie kwasu octowego według następującego schematu: 0 min, 92 %; 30 min, 70 %; 45 min, 60 %; 80 min, 60 %; 82 min, 0 %; 85 min, 0 %; 86 min, 92 % i 90 min, 92 %, w temp. 40 °C. Analizę związków fenolowych prowadzono na podstawie pomiarów absorbancji przy $\lambda = 270$ nm oraz $\lambda = 370$ nm i porównania czasów retencji badanych związków z odpo-

wiednimi związkami standardowymi. Analizę ilościową wykonywano na podstawie krzywych standardowych [23]. Ilość związków fenolowych wyrażano w $\mu\text{g/g}$ s.m.

*Neutralizacja wolnego rodnika DPPH**

Zdolność ekstraktów pietruszki do neutralizacji wolnych rodników DPPH* (1,1-difenylo-2- pikrylohydrazyl) (Sigma-Aldrich, USA) mierzono zgodnie z metodą opisaną przez Branda-Williamsa i wsp. [4]. Etanolewy roztwór DPPH* (25 mM) mieszało w stosunku 1 : 1 z badanymi ekstraktami [mg/ml]: 0,40, 0,78, 1,56, 3,12, 6,25, 12,5, 25 i inkubowano w temp. 20 ± 2 °C przez 30 min, bez dostępu światła. Do próbki kontrolnej dodawano równą objętość odpowiedniego rozpuszczalnika. Po tym czasie wykonywano pomiar absorbancji przy $\lambda = 515$ nm za pomocą spektrofotometru UV-Vis Aqua-Mate (ThermoScientific, USA). Stopień neutralizacji DPPH* [%] obliczano z równania:

$$[\%] \text{ neutralizacji DPPH}^* = (1 - A_{\text{próby}} / A_{\text{kontroli}}) \times 100$$

Neutralizacja wolnego kationorodnika ABTS⁺

Analizę neutralizacji kationorodnika ABTS⁺ (2,2-azynobis-3-etylobenzotiazolino-6-sulfonian) wykonywano zgodnie z metodą Re i wsp. [18], w modyfikacji Bartosza [2]. ABTS⁺ (Sigma-Aldrich, USA) rozpuszczano w buforze fosforanowym o pH = 7,4 i inkubowano bez dostępu światła przez 16 h. Przed pomiarem roztwór ABTS⁺ rozcieńczano tak, aby wartość absorbancji przy $\lambda = 734$ nm wynosiła ok. 1. Następnie do 0,98 ml roztworu ABTS⁺ dodawano 0,02 ml rozcieńczonych ekstraktów [mg/ml]: 1,56, 3,12, 6,25, 12,5 i 25. Po 10 min inkubacji w temp. 20 ± 2 °C mierzono absorbancję przy $\lambda = 734$ nm. Stopień neutralizacji kationorodnika [%] obliczano z równania:

$$[\%] \text{ neutralizacji ABTS}^{+} = (1 - A_{\text{próby}} / A_{\text{kontroli}}) \times 100$$

Chelatowanie jonów żelaza(II)

Zdolność ekstraktów do chelatowania jonów żelaza(II) określano na podstawie absorbancji kompleksu Fe^{2+} – ferrozyny według metody opisanej przez Torres-Fuentes i wsp. [25]. Do 0,5 ml badanych ekstraktów [mg/ml]: 3,12, 6,25, 12,5 i 50 dodawano 3,7 ml H_2O oraz 0,1 ml 1 mM roztworu FeCl_2 (Sigma-Aldrich, USA). Reakcję inicjowano przez dodanie do mieszaniny 0,2 ml 5 mM ferrozyny (Sigma-Aldrich, USA). Po 10-minutowej inkubacji w temp. 20 ± 2 °C mierzono absorbancję przy $\lambda = 562$ nm. Stopień chelatowania jonów Fe^{2+} określano z równania:

$$[\%] \text{ chelatowania Fe}^{2+} = (1 - A_{\text{próby}} / A_{\text{kontroli}}) \times 100$$

Wyznaczanie wartości IC₅₀ (ang. half maximal inhibitory concentration)

Wartość IC₅₀ [μg/ml] każdego ekstraktu obliczano na podstawie równania regresji liniowej, odnosząc stopień neutralizacji rodników (DPPH[•], ABTS^{•+}) lub zdolność chelatowania jonów Fe²⁺ do zawartości związków fenolowych.

Cytotoksyczność ekstraktów in vitro

Cytotoksyczność ekstraktów badano na modelu ludzkich fibroblastów skórnych BJ (ATCC CRL-2522, LGC Standards, Wielka Brytania). Komórki hodowano w EMEM (ang. *Eagle's Minimum Essential Medium*, minimalna niezbędna pożywka Eagle'a) (ATCC, LGC Standards, Wielka Brytania) z dodatkiem 10 % FBS (ang. *Fetal Bovine Serum*, bydlęca surowica płodowa) (Invitrogen, USA) w temp. 37 °C, w atmosferze 5 % CO₂. W celu określenia cytotoksyczności ekstraktów stosowano metodę z czerwieni obojętną [21]. Komórki umieszczano w 96-dołkowych płytkach i hodowano przez 48 h. Po tym czasie medium hodowlane zastępowano pożywką EMEM + 1 % FBS, z dodatkiem ekstraktów z pietruszki lub rozpuszczalników (10 - 0,625 %). Komórki kontrolne hodowano w pożywce EMEM + 1 % FBS. Po 48 h hodowli fibroblasty inkubowano przez 2 h z 33 μg/ml roztworu czerwieni obojętnej (Sigma-Aldrich, USA) w pożywce EMEM + 1 % FBS. Komórki płukano jednokrotnie buforem DPBS (ang. *Dulbecco's Phosphate Buffered Saline*, izotoniczny bufor fosforanowy Dulbecco) (Sigma-Aldrich, USA) i inkubowano z roztworem odbarwiającym, zawierającym 50 % etanolu (Honeywell, USA) i 1 % kwasu octowego (Honeywell, USA). Absorbancję czerwieni obojętnej, uwolnionej z komórek, mierzono przy λ = 540 nm, wykorzystując czytnik mikropłytek FilterMax F5 (Molecular Devices, USA). Średnią wartość absorbancji komórek kontrolnych ustalano jako 100 % i obliczano procent żywych komórek w pozostałych warunkach eksperymentalnych.

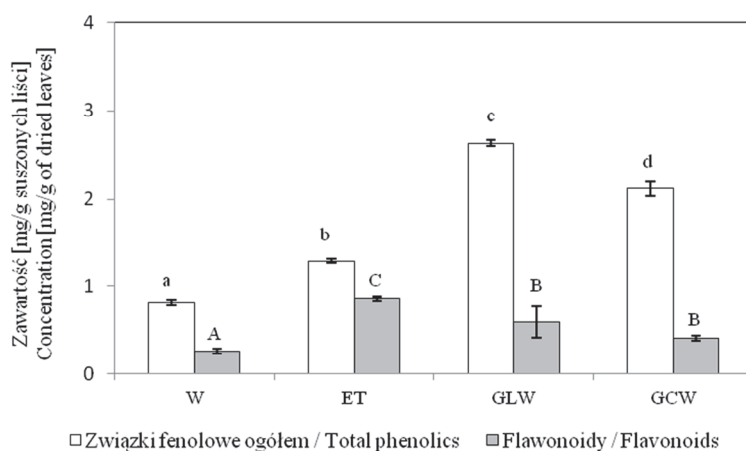
Analiza statystyczna

Wszystkie oznaczenia wykonano w trzech powtórzeniach. Analizę statystyczną wykonano w programie GraphPad Prism 5.0. Dla porównania wartości IC₅₀, charakteryzującej zdolność do neutralizowania rodników DPPH[•] i ABTS^{•+} oraz chelatowania jonów Fe²⁺ przez badane ekstrakty, a także cytotoksyczność względem ludzkich fibroblastów zastosowano jednoczynnikową analizę wariancji ANOVA oraz test Tukeya (testowanie prowadzono na poziomie istotności p < 0,05).

Wyniki i dyskusja

W ekstraktach z liści pietruszki (*P. crispum*), przygotowanych z zastosowaniem różnych rozpuszczalników, oznaczono zawartość związków fenolowych ogółem oraz flawonoidów (rys. 1). Największą ilość związków fenolowych wyekstrahowano przy użyciu mieszanin wody z glikolem (GLW) oraz wody z glicerolem (GCW). W tych

ekstraktach zawartość związków fenolowych wynosiła odpowiednio: $2,63 \pm 0,03$ i $2,12 \pm 0,08$ mg/g s.m. liści, czyli prawie dwukrotnie więcej niż oznaczono w ekstraktach wodnym (W) i etanolowym (ET). Zastosowanie mieszaniny woda : glikol (1 : 4, v/v) do ekstrakcji związków fenolowych okazało się skuteczne także w przypadku innych roślin zielnych, np. *Stevia rebaudiana*. W ekstrakcie GLW tej rośliny zawartość związków fenolowych była znacznie większa niż w ekstraktach W i ET [10]. W badaniach własnych najwięcej flawonoidów oznaczono w ekstrakcie *P. crispum* sporządzonym przy użyciu etanolu ($0,86 \pm 0,02$ mg/g s.m. liści).



Objaśnienia: / Explanatory notes:

Małe i duże litery oznaczają odpowiednio grupy homogenne pod względem zawartości związków fenolowych ogółem i flawonoidów ($p = 0,05$) / Small and capital letters denote homogenic groups as regards their contents of total phenolics and flavonoids ($p = 0.05$); $n = 3$.

Rys. 1. Zawartość związków fenolowych ogółem oraz flawonoidów w wodnym (W), etanolowym (ET), glikolowo-wodnym (GLW) oraz glicerolowo-wodnym (GCW) ekstrakcie z liści *P. crispum* (w przeliczeniu na s.m. liści)

Fig.1. Content of total phenolics and flavonoids in aqueous (W), ethanolic (ET), glycolic-aqueous (GLW), and glycerinic-aqueous (GCW) *P. crispum* leaf extracts

Wykazano, że pomiędzy badanymi ekstraktami *P. crispum* wystąpiły znaczące różnice pod względem składu i zawartości poszczególnych kwasów fenolowych i flawonoidów (tab. 1). Największa różnorodność związków fenolowych występowała w ekstraktach GLW oraz GCW. Ponadto ekstrakty GLW i GCW zawierały liczne związki z grupy flawonoidów (apigeninę, daidzeinę, a także luteolinę, narygeninę, rutynę i ich pochodne), których nie oznaczono w ekstraktach W i ET. Z kolei ekstrakty W i ET były bogate w kwasy fenolowe (rozmarynowy, salicylowy, syringowy), których nie wykryto w ekstraktach GLW i GCW.

Tabela 1. Zawartość związków fenolowych w wodnym (W), etanolowym (ET), glikolowo-wodnym (GLW) oraz glicerolowo-wodnym (GCW) ekstrakcie z liści *P. crispum* (w przeliczeniu na s.m. liści)

Table 1. Content of phenolics in aqueous (W), ethanolic (ET), glycolic-aqueous (GLW), and glycerinic-aqueous (GCW) *P. crispum* leaf extract (expressed as dry matter of leaves)

Związki fenolowe / Phenolics [$\mu\text{g/g}$ s.m. liści / of dry matter of leaves]				
Składnik / Component	W	ET	GLW	GCW
Kwasy fenolowe / Phenolic acids				
Kwas benzoesowy / Benzoic acid	nw	47,20 ^e \pm 6,13	110,90 ^f \pm 4,67	117,98 ^h \pm 3,21
Pochodne kwasu benzoesowego Benzoic acid derivates	28,31 ^g \pm 0,94	99,10 ^{c,d} \pm 7,65	nw	nw
Kwas galusowy / Gallic acid	36,00 ^f \pm 2,55	nw	24,20 ^h \pm 3,03	26,20 ^j \pm 1,10
Kwas homowanilinowy Homovanillic acid	84,00 ^e \pm 8,19	nw	244,56 ^d \pm 6,28	294,24 ^f \pm 6,65
Pochodne kwasu o-kumarowego O-coumaric acid derivates	nw	93,65 ^d \pm 1,29	nw	nw
Kwas rozmarynowy Rosmarinic acid	nw	213,25 ^a \pm 2,48	nw	nw
Kwas salicylowy / Salicylic acid	nw	15,77 \pm 0,98	nw	nw
Pochodne kwasu salicylowego Salicylic acid derivates	nw	43,28 ^e \pm 4,75	nw	nw
Kwas syringowy / Syringic acid	123,84 ^d \pm 3,07	nw	nw	nw
Pochodne kwasu syringowego Syringic acid derivates	283,4 ^b \pm 5,12	nw	nw	nw
Flawonoidy / Flavonoids				
Apigenina / Apigenin	nw	nw	842,41 ^a \pm 5,13	nw
Pochodne apigeniny Apigenin derivates	nw	139,62 ^b \pm 1,31	nw	nw
Epikatechina / Epicatechin	511,80 ^a \pm 5,11	nw	294,60 ^c \pm 5,67	nw
Daidzeina / Daidzein	nw	nw	Nw	1159,09 ^a \pm 8,43
Katechnia / Catechin	181,60 ^c \pm 4,55	102,57 ^c \pm 3,25	50,44 ^g \pm 6,59	nw
Pochodne katechiny Catechin derivates	92,48 ^e \pm 3,64	nw	nw	405,92 ^d \pm 3,30
Luteolina / Luteolin	nw	nw	44,60 ^g \pm 7,08	11,64 ^k \pm 1,37
Pochodne luteoliny Luteolin derivates	nw	nw	nw	640,88 ^b \pm 7,05
Naryngenina / Naringenin	nw	nw	324,33 ^b \pm 4,10	98,00 ⁱ \pm 4,95
Pochodne naryngeniny Naringenin derivates	nw	nw	nw	480,30 ^c \pm 5,87
Rutyna / Rutin	nw	nw	159,87 ^c \pm 3,53	163,72 ^g \pm 3,14
Pochodne rutyny Rutin derivates	nw	nw	nw	347,19 ^e \pm 5,10
Zawartość ogółem Total content	1341,46	754,46	2095,93	3745,19

Objaśnienia / Explanatory notes:

s.m. – sucha masa / dry matter; n = 3; nw – nie występowały / not present.

Wartości średnie w wierszach oznaczone różnymi literami różnią się statystycznie istotnie ($p \leq 0,05$) / Mean values in rows, and denoted by different letters, differ statistically significantly ($p \leq 0.05$).

Głównymi składnikami ekstraktu W były epikatechina ($511,8 \pm 5,11 \mu\text{g/g s.m.}$), katechina i jej pochodne (łącznie $274,00 \pm 8,19 \mu\text{g/g s.m.}$). W ekstrakcie ET oznaczono mało flawonoidów i stosunkowo dużo kwasów fenolowych, szczególnie kwasu rozmarynowego ($213,25 \pm 2,48 \mu\text{g/g s.m.}$). Dominującym składnikiem ekstraktu GLW była apigenina ($842,41 \pm 5,13 \mu\text{g/g s.m.}$), uważana za flawonoid *P. crispum* o najsilniejszym działaniu przeciwutleniającym [15]. Ekstrakt GCW charakteryzował się dużą zawartością daidzeiny ($1159,09 \pm 8,43 \mu\text{g/g sm}$) oraz pochodnych naryngeniny, której obecność oznaczono także w ekstrakcie GLW. Ze względu na podobieństwo chemiczne do cząsteczek żeńskich hormonów płciowych daidzenia, naryngenina i jej pochodne zaliczane są do tzw. fitoestrogenów [5, 13].

Polifenole roślinne są efektywnymi przeciwutleniaczami, silniejszymi niż witaminy C, E oraz karotenoidy [20]. Przeciwutleniające działanie związków zawartych w wodnych i etanolowych ekstraktach z liści pietruszki potwierdziły badania *in vitro*, w których oznaczano m.in. zdolność do neutralizowania stabilnego wolnego rodnika DPPH[•] oraz stopień peroksydacji lipidów [9, 17, 28]. W badaniach własnych porównano neutralizowanie stabilnych wolnych rodników DPPH[•] i ABTS^{•+}, aby określić przeciwutleniające właściwości ekstraktów z liści pietruszki. Zdolność do neutralizacji wolnych rodników przez poszczególne ekstrakty porównano następnie z zawartością związków fenolowych, wyznaczając wartości IC₅₀ (tab. 2). Najniższą wartością IC₅₀, wskazującą na wysoką zdolność do neutralizacji rodnika DPPH[•], charakteryzował się ekstrakt GLW (IC₅₀ = $6,89 \pm 0,56 \mu\text{g/ml}$). Najwyższą zdolność do neutralizacji ABTS^{•+} wykazywał ekstrakt W (IC₅₀ = $31,44 \pm 4,11 \mu\text{g/ml}$), natomiast najniższą – ekstrakt GCW (IC₅₀ = $57,54 \pm 4,53 \mu\text{g/ml}$). Potencjał przeciwutleniający ekstraktów z liści pietruszki porównano również w badaniu ich zdolności do chelatowania jonów żelaza Fe²⁺. Wartości współczynnika IC₅₀ wskazują, że wszystkie badane ekstrakty w porównywalnym stopniu chelatują jony Fe²⁺ (tab. 2).

Stosowanie ekstraktów roślinnych zamiast oczyszczonych substancji roślinnych w przemyśle spożywczym ma zarówno zalety, jak i wady. Wiele biologicznie aktywnych związków, także związków fenolowych, wykazuje działanie synergistyczne [29]. Jednocześnie w procesie ekstrakcji uwalniane są nie tylko substancje o pożądanym biologicznym właściwościach, ale także inne związki, których obecność nawet w niewielkich ilościach może działać toksycznie lub drażniąco. W takich przypadkach ekstrakty wymagają dodatkowego procesu oczyszczania, co jednak znacząco zwiększa koszt ich produkcji. Toksyczność ekstraktów z liści pietruszki była badana zarówno *in vitro*, jak i *in vivo*. W badaniach *in vitro* sprawdzano wpływ wodnego ekstraktu z liści *P. crispum* na przeżywalność ludzkiej linii komórek neuroblastoma SH-SY5Y. Hodowla 12-godzinna w obecności badanego ekstraktu w stężeniach $0,01 \div 2 \text{ mg/ml}$ nie wywołała efektu cytotoksycznego [14]. W badaniach toksykologicznych na szczurach karmionych przez 8 tygodni etanolowym ekstraktem z liści pietruszki wykazano, że

ekstrakt ten wykazuje niewielką hepatotoksyczność i neurotoksyczność dopiero w dawkach powyżej 1000 mg/kg masy ciała na dzień [1]. W niniejszej pracy badano wpływ ekstraktów z liści pietruszki na przeżywalność ludzkiej linii fibroblastów skórnych BJ (rys. 2). Cytotoksyczność ekstraktów porównywano z cytotoksycznością rozpuszczalników użytych do sporządzenia poszczególnych ekstraktów. Spośród badanych ekstraktów najwyższą cytotoksyczność wykazywał ekstrakt etanolowy (rys. 2 B), który powodował znaczące zmniejszenie liczby żywych komórek już w stężeniu 0,63 %, w porównaniu z komórkami traktowanymi tym samym stężeniem etanolu. Znaczącą cytotoksyczność zaobserwowano także w przypadku ekstraktu wodnego (rys. 2 A), który w stężeniu 2,5 % powodował zmniejszenie liczby żywych komórek o ok. 25 %. Hodowla fibroblastów w obecności 10-procentowego wodnego ekstraktu z liści pietruszki przyczyniła się do ograniczenia ich przeżywalności do zaledwie 16 %. Po analizie przeżywalności fibroblastów hodowanych w obecności ekstraktów glikolowo-wodnego (rys. 2 C) i glicerolowo-wodnego (rys. 2 D) stwierdzono, że mimo dużej zawartości związków fenolowych i znaczących właściwości przeciwutleniających ekstrakty te nie są bardziej cytotoksyczne niż same rozpuszczalniki. Mimo oczywistych ograniczeń wynikających z badania cytotoksyczności w warunkach *in vitro*, otrzymane wyniki wskazują, że glikolowo-wodny i glicerolowo-wodny ekstrakt z *P. crispum* mogą być cennym surowcem, ale np. w przemyśle kosmetycznym. Zastosowanie ich w przemyśle spożywczym wymagałoby usunięcia rozpuszczalników.

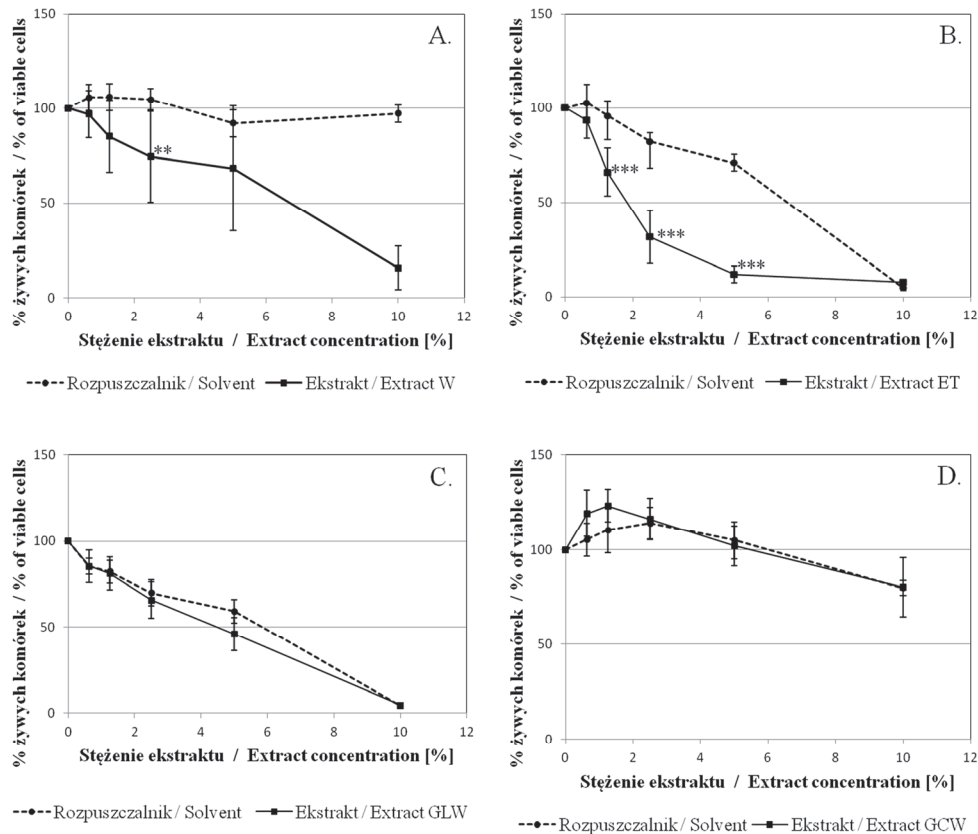
Tabela 2. Średnie wartości IC_{50} właściwości przeciwrodnikowych (DPPH[•] i ABTS^{•+}) i zdolności chelatowania jonów Fe^{2+} przez wodny (W), etanolowy (ET), glikolowo-wodny (GLW) oraz glicerolowo-wodny (GCW) ekstrakt z liści *P. crispum*

Table 2. Mean IC_{50} values of properties of aqueous (W), ethanolic (ET), glycolic-aqueous (GLW), and glycerinic-aqueous (GCW) *P. crispum* leaf extracts to scavenge radicals (DPPH[•] and ABTS^{•+}) and their ability to chelate Fe^{2+} ions

Ekstrakt / Extract <i>Petroselinum crispum</i>	DPPH [•]	ABTS ^{•+}	Fe^{2+}
	IC_{50} [μ g/ml]		
W	29,17 ^c ± 0,77	31,44 ^a ± 4,11	76,13 ^{a,b} ± 8,24
ET	25,65 ^b ± 0,99	42,08 ^b ± 5,20	88,95 ^b ± 15,32
GLW	31,41 ^d ± 1,43	53,46 ^c ± 4,45	77,84 ^{a,b} ± 6,88
GCW	6,89 ^a ± 0,56	57,54 ^c ± 4,53	76,13 ^{a,b} ± 8,24

Objaśnienia: / Explanatory notes:

W tabeli przedstawiono wartości średnie ± odchylenia standardowe / Table shows mean values and standard deviations; te same litery zamieszczone w kolumnie oznaczają grupy homogenne (p = 0,05) / the same letters in column denote homogenic groups (p = 0.05).



Rys. 2. Cytotoksyczność *in vitro* wodnego (A), etanolowego (B), glikolowo-wodnego (C) i glicerolowo-wodnego (D) ekstraktu z liści *P. crispum* względem ludzkich fibroblastów skórnych

Fig. 2. Cytotoxicity of aqueous (A), ethanolic (B), glycolic-aqueous (C) and glycerinic-aqueous (D) *P. crispum* leaf extracts against human skin fibroblasts *in vitro*

Wnioski

1. W ekstraktach glikolowo-wodnym (GLW) i glicerolowo-wodnym (GCW) z suszonych liści pietruszki oznaczono najwięcej związków fenolowych ogółem, a najwięcej flawonoidów było w ekstrakcie etanolowym (ET).
2. Każdy z ekstraktów charakteryzował się innym składem kwasów fenolowych i flawonoidów.
3. Najsilniejsze działanie przeciwutleniające wykazywały ekstrakty GCW (wobec rodnika DPPH[•]) i ET (wobec rodnika ABTS^{•+}). Wszystkie ekstrakty w podobnym stopniu chelatowały jony Fe²⁺.

4. Największą cytotoksycznością *in vitro* cechowały się ekstrakty ET i wodny (W). Ekstrakty GLW i GCW charakteryzowały się podobną cytotoksycznością jak użyte do ich przygotowania rozpuszczalniki.

Literatura

- [1] Awe E.O., Banjoko S.O.: Biochemical and haematological assessment of toxic effects of the leaf ethanol extract of *Petroselinum crispum* (Mill) Nyman ex A.W. Hill (Parsley) in rats. BMC Complem. Altern. M., 2013, **13**, 75.
- [2] Bartosz G.: The second face of oxygen. Free radicals in nature. Wyd. Nauk. PWN, Warszawa 2009.
- [3] Bozin B., Mimica-Dukic N., Samojlik I., Goran A., Igc R.: Phenolics as antioxidants in garlic (*Alium sativum* L., Alliaceae). Food Chem., 2008, **111**, 925-929.
- [4] Brand-Williams W., Cuvelier M., Berset C.: Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. LWT - Food Sci. Technol., 1995, **28** (1), 25-30.
- [5] Czerpak R., Pietryczuk A., Jabłońska-Trypuć A., Obrębska K.: Aktywność biologiczna izoflawonoidów i ich znaczenie terapeutyczne i kosmetyczne. Post. Fitoter., 2009, **2**, 113-121.
- [6] Dai J., Mumper R.J.: Plant phenolics: Extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. Molecules, 2010, **15** (10), 7313-7352.
- [7] Farzaei M.H., Abbasabadi Z., Ardekani M.R., Rahimi R., Farzaei F.: Parsley: A review of ethnopharmacology, phytochemistry and biological activities. J. Trad. Chin. Med., 2013, **33** (6), 815-826.
- [8] Fecka I., Mazur A., Cisowski W.: Kwas rozmarynowy, ważny składnik terapeutyczny niektórych surowców roślinnych. Post. Fitoter., 2002, **8** (1-2), 20-25.
- [9] Fejes S., Blázovics A., Lemberkovics E., Petri G., Sz"oke E., Kéry A.: Free radical scavenging and membrane protective effects of methanol extracts from *Anthriscus cerefolium* L. (Hoffm.) and *Petroselinum crispum* (Mill.) nym. ex A.W. Hill. Phytother. Res., 2000, **14** (5), 362-365.
- [10] Gawel-Bęben K., Bujak T., Nizioł-Lukaszewska Z., Antosiewicz B., Jakubczyk A., Karaś M., Rybczyńska K.: *Stevia rebaudiana* Bert. leaf extracts as a multifunctional source of natural antioxidants. Molecules, 2015, **20** (4), 5468-5486.
- [11] Gawlik-Dziki U.: Fenolokwasy jako bioaktywne składniki żywności. Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 2004, **41** (4) Supl., 29-40.
- [12] Kozłowska A., Szostak-Węgierek D.: Flavonoids – food sources and health benefits. Roczn. PZH, 2014, **65** (2), 79-85.
- [13] Kwiatkowska E.: Fitoestrogeny – rola prozdrowotna i zawartość w produktach. Post. Fitoter., 2009, **2**, 107-112.
- [14] Lantto T.A., Colucci M., Zavadová V., Hiltunen R., Raasmaja A.: Cytotoxicity of curcumin, resveratrol and plant extracts from basil, juniper, laurel and parsley in SH-SY5Y and CV1-P cells. Food Chem., 2009, **117** (3), 405-411.
- [15] Nielsen S.E., Young J.F., Daneshvar B., Lauridsen S.T., Knuthsen P., Sandström B., Dragsted L.O.: Effect of parsley (*Petroselinum crispum*) intake on urinary apigenin excretion, blood antioxidant enzymes and biomarkers for oxidative stress in human subjects. Brit. J. Nutr., 1999, **81** (6), 447-455.
- [16] Ozsoy-Sacan O., Yanardag R., Orak H., Ozgey Y., Yarat A., Tunali T.: Effects of parsley (*Petroselinum crispum*) extract versus glibornuride on the liver of streptozotocin-induced diabetic rats. J. Ethnopharmacol., 2006, **104** (1-2), 175-81.
- [17] Popović M., Kaurinović B., Jakovljević V., Mimica-Dukic N., Bursać M.: Effect of parsley (*Petroselinum crispum* (Mill.) Nym. ex A.W. Hill, Apiaceae) extracts on some biochemical parameters of oxidative stress in mice treated with CCl(4). Phytother. Res., 2007, **21** (8), 717-723.

- [18] Re R., Pellegrini A., Proteggente A., Pannala M., Yang M., Rice-Evans C.: Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biol. Med.*, 1999, **26** (9-10), 1231-1237.
- [19] Repetto G., Del Peso A., Zurita J.L.: Neutral red uptake assay for the estimation of cell viability/cytotoxicity. *Nat. Protoc.*, 2008, **3**, 1125-1131.
- [20] Rice-Evans C.A., Miller N.J., Paganga G.: Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Radical Biol. Med.*, 1996, **20** (7), 933-956.
- [21] Shukla S., Gupta S.: Apigenin: A promising molecule for cancer prevention. *Pharm. Res.*, 2010, **27** (6), 962-978.
- [22] Singleton V.L., Rossi J.A. Jr.: Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *Am. J. Enol. Vitic.*, 1965, **16** (3), 144-158.
- [23] Świeca M., Baraniak B.: Nutritional and antioxidant potential of lentil sprouts affected by elicitation with temperature stress. *J. Agric. Food Chem.*, 2014, **62**, 3306-3313.
- [24] Szymanowska U., Złotek U., Karaś M., Baraniak B.: Anti-inflammatory and anti-oxidative activity of anthocyanins from purple basil leaves induced by selected abiotic elicitors. *Food Chem.*, 2015, **172**, 71-77.
- [25] Torres-Fuentes C., Alaiz M., Vioque J.: Affinity purification and characterisation of chelating peptides from chickpea protein hydrolysates. *Food Chem.*, 2011, **129** (2), 485-490.
- [26] Vora S.R., Patil R.B., Pillai M.M.: Protective effects of *Petroselinum crispum* (Mill) Nyman ex A. W. Hill leaf extract on D-galactose-induced oxidative stress in mouse brain. *Indian J. Exp. Biol.*, 2009, **47** (5), 338-342.
- [27] Woisky R., Salatino A.: Analysis of propolis: Some parameters and procedure for chemical quality control. *J. Apic. Res.*, 2008, **37**, 99-105.
- [28] Wong P.Y.Y., Kitts D.D.: Studies on the dual antioxidant and antibacterial properties of parsley (*Petroselinum crispum*) and cilantro (*Coriandrum sativum*) extracts. *Food Chem.*, 2006, **97** (3), 505-515.
- [29] Yeh C.T., Shih P.H., Yen G.C.: Synergistic effect of antioxidant phenolic acids on human phenol-sulfotransferase activity. *J. Agric. Food Chem.*, 2004, **52** (13), 4139-4143.

IMPACT OF SOLVENT TYPE ON SOME SELECTED BIOLOGICAL PROPERTIES OF PARSLEY *PETROSELINUM CRISPUM* (MILL) LEAF EXTRACTS

S u m m a r y

Parsley (*Petroselinum crispum* Mill) is used as a raw material in the food industry because it has, among other things, a high content of phenolics. Under the research study presented, the impact of solvents on the content and some selected biological properties of *P. crispum* extracts was studied. The following extracts were compared: aqueous (W), ethanolic (ET), aqueous-glycolic (GLW), and aqueous-glycerinic (GCW). The highest concentration of total phenolics was determined in the GLW (2.63 ± 0.03 mg/g sm) and GCW (2.12 ± 0.08 mg/g sm) extracts, while the ET extract contained the highest amount of flavonoids (0.86 ± 0.02 mg/g sm). In the W extract, epicatechin, catechin and its derivatives were the main phenolic compounds, in the ET extract: phenolic acids (e.g. rosmarinic acid), in the GLW extract: apigenin, and in the GCW extract: daidzein, naringenin, and the derivatives. In addition to significant differences in the quantitative and qualitative composition of the extracts analysed, their antioxidant activity was highly differentiated. The GCW extract neutralized the DPPH' radical to the greatest extent ($IC_{50} = 6.89 \pm 0.56$ µg/ml) and the W extract: the ABTS⁺⁺ radical ($IC_{50} = 31.44 \pm 4.11$ µg/ml). All the extracts had

a comparable ability to chelate Fe²⁺ ions. The *in vitro* analysis of cytotoxicity of the extracts against the BJ human cell line (ATCC CRL-2522) demonstrated that the ET and W extracts were the most cytotoxic ones. The cytotoxicity of GLW and GCW extracts was comparable to the cytotoxicity of that of the solvents. The impact was proved of the solvents on the content, antioxidant properties, and cytotoxicity of *P. crispum* leaf extracts, and, at the same time, it was suggested that it would be possible to use those extracts in the food, pharmaceutical, and cosmetic industry.

Key words: *Petroselinum crispum*, antioxidants, phenolics, flavonoids, cytotoxicity ☒

IRENEUSZ OCHMIAN, ANTON YORDANOV, KAMIŁA MIJOWSKA, PIOTR CHEŁPIŃSKI

WPŁYW PRZECHOWYWANIA OWOCÓW PERSYMONY (*DIOSPYROS KAKI*) W WARUNKACH *SHELF LIFE* NA WYBRANE CECHY FIZYCZNE I SKŁAD CHEMICZNY

Streszczenie

W pracy określono zmiany jakości owoców persymony (*Diospyros kaki*) w trakcie przechowywania w warunkach *shelf life*. Oznaczono cechy fizyczne: barwę, jędrność, wskaźniki: wegetacji (NDVI) i antocyjanowy (NAI) oraz skład chemiczny. Określono zależności między wybranymi wskaźnikami w celu opracowania szybkich metod oceny jakości owoców. Badania przeprowadzono w Zachodniopomorskim Uniwersytecie Technologicznym w Szczecinie oraz w Stacji Badawczej Uniwersytetu Rolniczego w Plovdiv (Bułgaria), z której pochodziły owoce pięciu odmian persymony: ‘Sharon’, ‘Moro’, ‘Jiro C24276’, ‘Kaki Tipo’ oraz ‘Hyakume’. Owoce charakteryzowały się zróżnicowanym składem chemicznym i zmienną reakcją na przechowywanie. Podczas przechowywania owoce ciemniały (wartość parametru L^* zmniejszyła się z 58,2 do 39,8) i stawały się bardziej czerwone – wartość parametru a^* wzrosła z 16,8 do 35,0. Zmniejszała się jędrność owoców oraz ich odporność na uszkodzenia mechaniczne. Znaczne przyspieszenie zmian wskaźników charakteryzujących dojrzewanie owoców obserwowano po sześciu dniach przechowywania. Po pełnym okresie przechowywania najbardziej jędrne, a zarazem odporne na uszkodzenia, były owoce odmiany ‘Kaki Tipo’. Dobrymi cechami jakościowymi charakteryzowały się owoce persymony odmiany ‘Sharon’, które zawierały: polifenoli – 308 mg GAE kg^{-1} , kwasu L-askorbinowego – 105 mg kg^{-1} , kwasów ogółem – 7,84 g kg^{-1} , prowitaminy A – 0,86 mg kg^{-1} i witaminy E – 38,1 mg kg^{-1} . W trakcie przechowywania w owocach zmniejszyła się kwasowość i zawartość kwasu L-askorbinowego, natomiast zwiększyła się zawartość witaminy E. Jędrność ($r = -0,82$) i barwa owoców ($r = -0,82$) okazały się istotnie ($p = 0,05$) skorelowane z indeksem wegetacyjnym NDVI. Istotna ($p = 0,05$) korelacja wystąpiła także między indeksem antocyjanowym (NAI) i zawartością polifenoli, zarówno na początku okresu przechowywania ($r = 0,92$) jak i na końcu ($r = 0,93$). Wykazane zależności potwierdzają możliwość zastosowania metod niedestrukcyjnych do oceny jakości owoców persymony.

Słowa kluczowe: persymona (*Diospyros kaki*), owoce, jędrność, barwa, witaminy, polifenole, NDVI, NAI

Dr hab. inż. I. Ochmian, mgr inż. Kamila Mijowska, dr hab. inż. Piotr Chelpiński, Katedra Ogrodnictwa, Wydz. Kształtowania Środowiska i Rolnictwa, Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie, ul. Słowackiego 17, 71-434 Szczecin, dr Anton Yordanov, Katedra Sadownictwa, Uniwersytet Rolniczy w Plovdiv, Mendeleev 12, 4000 Bułgaria. Kontakt: ireneusz.ochmian@zut.edu.pl

Wprowadzenie

Persymona (*Diospyros kaki* L.) uznawana jest za najważniejszy gatunek wśród rodzaju *Diospyros* (*Ebenaceae*) [28]. Największe zbiory owoców tego gatunku na świecie uzyskuje się w Chinach, Korei Południowej, Japonii, Brazylii, Azerbejdżanie, Hiszpanii, Włoszech, Izraelu i Uzbekistanie. Jagody persymony (kaki) cenione są za zawarte w nich związki biologicznie aktywne [9], w tym: kwas askorbinowy, karotenoidy [18], polifenole, błonnik pokarmowy i składniki mineralne [12]. Produkty spożywcze bogate w polifenole są cenne dla zdrowia człowieka z uwagi na właściwości przeciwutleniające. Szczególnie dużo polifenoli i karotenoidów występuje w skórce persymony [8], co w dużym stopniu przyczynia się do intensywnej, pomarańczowej barwy dojrzałych jagód. Duża zawartość karotenoidów w owocach persymony może być też istotna w przetwórstwie żywności [26]. W zależności od zawartości tanin, które nadają wrażenie cierpkości, owoce persymony dzieli się na cierpkie – taninowe i pozbawione cierpkości [25]. Jagody persymony zawierają nawet 70 mg witaminy C, podczas gdy w jabłkach stwierdza się jej tylko 4 mg w 100 g miąższu [13]. Są one jednak wrażliwe na chłodzenie. Przechowywanie owoców kaki poniżej temperatury krytycznej ($8 \div 12$ °C, w zależności od odmiany) prowadzi do powstawania uszkodzeń, takich jak: żelowanie miąższu, utrata jędrności, brązowienie skórki i miąższu oraz zmiana rozpuszczalnych substancji stałych. Objawy uszkodzeń, a zwłaszcza gwałtowna utrata jędrności, uwidaczniają się po wyjęciu owoców z chłodni i przetrzymywaniu ich w wyższej temperaturze [21], co utrudnia transport i sprzedaż owoców tego gatunku [3].

Celem pracy była ocena zmian wybranych cech fizycznych oraz składu chemicznego owoców pięciu odmian persymony w trakcie 14-dniowego przechowywania w symulowanych warunkach sklepowych – *shelf life*. Ponadto celem było określenie zależności między wybranymi wskaźnikami.

Material i metody badań

Badania przeprowadzono w Pracowni Sadownictwa Zachodniopomorskiego Uniwersytetu Technologicznego w Szczecinie oraz w Stacji Badawczej Uniwersytetu Rolniczego w Plovdiv, gdzie wiosną 2006 roku posadzono drzewa w glebie cynamono-brunatnej o odczynie 7,1. Drzewa odmian uprawnych uszlachetnione zostały na siewce hurmy kaukaskiej (*Diospyros lotus*). Posadzono je w rozstawie 5×4 m, a korony drzew prowadzono w formie niemal naturalnej. Średnia roczna suma temperatur aktywnych (> 10 °C) wynosiła 3900 °C, a suma opadów – średnio 515 mm. Do badań przeznaczono owoce pięciu odmian persymony: ‘Sharon’, ‘Moro’, ‘Jiro C24276’, ‘Kaki Tipo’ i ‘Hyakume’. Owoce zbierano z sześcioletnich drzew, w fazie dojrzałości zbiorczej w połowie października. W doświadczeniu określano jędrność i barwę owo-

ców oraz ich skład chemiczny w trakcie 14-dniowego przechowywania w warunkach *shelf life*, symulujących warunki sprzedaży detalicznej owoców. Temperaturę utrzymywano na poziomie $18 \div 20$ °C, a wilgotność powietrza – $85 \div 90$ %. Owoce przechowywano w otwartych pojemnikach kartonowych, wyłożonych wytłoczkami PP. Przez 14 h były doświetlane lampami zawieszonymi nad owocami na wysokości 1,2 m, o temperaturze światła 6700 K i natężeniu – $40 \mu\text{mol}^{-1} \cdot \text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$.

Jędrność jagód mierzono niedestrukcyjnie aparatem FirmTech2 (BioWorks, USA) sprzężonym z komputerem. Jako element pomiarowy stosowano płaski stempel o średnicy 25 mm. Mierzono siłę jaka jest potrzebna do ugięcia owocu o 1 mm ($\text{G} \cdot \text{mm}^{-1}$). Urządzeniem tym mierzono również siłę potrzebną do przebicia skórki owoców trzpieniem o średnicy 3 mm [15]. Pomiary wykonywano bezpośrednio po zbiorze oraz po zakończeniu okresu przechowywania owoców. Pomiary wykonywano czterokrotnie na każdym owocu.

Barwę określano przy użyciu spektrofotometru CM-700d (Konica Minolta, Japonia), w systemie CIE $L^*a^*b^*$, stosując następujące ustawienia: geometria pomiarowa d/8, obserwator 10° oraz iluminant D65 [10]. Pomiary wskaźników NDVI i NAI wykonywano przy użyciu urządzenia Pigment Analyzer CPPA1101 (Control in Applied Physiology GbR., Niemcy), którego promieniowanie penetrowało owoc w zależności od tekstury i składu. Na podstawie danych spektralnych zmierzonych przez urządzenie, otrzymano dwa standardowe wskaźniki: znormalizowany wskaźnik wegetacji (ang. *Normalized Difference Vegetation Index*) $\text{NDVI} = (I_{780 \text{ nm}} - I_{660 \text{ nm}}) / (I_{780 \text{ nm}} + I_{660 \text{ nm}})$ oraz znormalizowany wskaźnik antocyjanowy $\text{NAI} = (I_{780 \text{ nm}} - I_{570 \text{ nm}}) / (I_{780 \text{ nm}} + I_{570 \text{ nm}})$, gdzie I oznacza natężenie światła odbitego przy podanej długości fali [29].

Skład chemiczny owoców oznaczano w soku. W tym celu z jagód wycinano paski miąższu z całego przekroju, łącznie ze skórą (trzy powtórzenia po 150 g). Następnie macerowano je przez 60 min w temp. 50 °C z dodatkiem enzymu PT 400 Pektopol (Biowin, Polska), w dawce 400 mg na kg owoców. Po zakończeniu obróbki enzymatycznej uzyskany miąższ prasowano z użyciem prasy hydraulicznej pod ciśnieniem 3 MPa [16]. Kwasowość ogólną owoców oznaczano metodą miareczkową w przeliczeniu na kwas cytrynowy [14], miareczkując wodny roztwór wyciągu z owoców 1 molowym roztworem NaOH do punktu końcowego przy $\text{pH} = 8,1$ (Pehametr Elmetron, Polska). Zawartość kwasu L-askorbinowego oraz azotanów(V) oznaczano requantometrem RQflex 10 (Merck, Niemcy) przy użyciu pasków testowych [15]. Ogólną zawartość polifenoli oznaczano metodą spektrofotometryczną Folina-Ciocalteu'a (spektrofotometr UV-Vis Helios Gamma, ThermoSpectronic, USA) [24], w przeliczeniu na kwas galusowy. Zawartość witaminy A i witaminy E oznaczano w owocach techniką wysokosprawnej chromatografii cieczowej z detekcją UV i fluoroscencyjną (pompa Knauer K-1001 i detektor UV Knauer K-2001; kolumna Beckman ODS ($5 \mu\text{m}$), o wymiarach $150 \times 4,6$ mm, temperatura kolumny 25°C) [19].

Do określenia siły zależności pomiędzy poszczególnymi cechami zastosowano liniową korelację Spearmana. W celu stwierdzenia istotności różnic przeprowadzono 2-czynnikową analizę wariancji. Obliczenia wykonano w programie Statistica 10.0. Istotność różnic między wartościami średnimi oceniano testem Tukeya na poziomie istotności $p = 0,05$.

Wyniki i dyskusja

Zmiana barwy, a zwłaszcza zmiana jędrności wskazują na zachodzący proces dojrzewania owoców, który można znacznie ograniczyć, przechowując owoce w chłodni. Po okresie przechowywania, w trakcie obrotu handlowego zmiany przebiegają gwałtownie [3]. Jagody persymony zbierano w fazie dojrzałości zbiorczej, gdy miały twarde miąższ i żółtą barwę – cechy typowe dla owoców przeznaczonych do sprzedaży [2], a odbiegające od parametrów owoców przeznaczonych do konsumpcji. Zbiór przeprowadzany we wcześniejszym stadium dojrzałości ma na celu wydłużenie okresu przechowywania owoców i zachowanie ich odporności na transport. Owoce badanych odmian bezpośrednio po zbiorze różniły się wybarwieniem (tab. 1). W trakcie przechowywania powierzchnia owoców i miąższ ciemniały. W pierwszym tygodniu zmiany były niewielkie – wartość parametru L^* zmniejszyła się z 58,2 do 55,5. W owocach większości odmian dynamiczne zmniejszenie wartości parametru L^* nastąpiło w drugim tygodniu przechowywania – osiągając po 14 dniach wartość średnią 39,8. Jeszcze większe zmiany wartości wspomnianego parametru nastąpiły w miąższu, który bezpośrednio po zbiorze był jasny ($L^* = 67,4$), a po okresie przechowywania znacznie ściemniał ($L^* = 28,3$). Również wartości parametru a^* i b^* owoców oraz miąższu ulegały zmianom podczas przechowywania. Wzrastała wartość parametru a^* z 16,8 – pierwszego dnia do 35,0 – po ostatnim dnia przechowywania. Owoce przybrały barwę pomarańczowo-czerwoną. W dniu zbioru wartość parametru b^* wynosiła 51,3, a w trakcie przechowywania stopniowo zmniejszała się do wartości 26,3. Według Plazy i wsp. [18], w trakcie dojrzewania owoców persymony następują zmiany barwy powierzchni. Jeszcze na drzewie przed zbiorem jagody mają barwę zielono-żółtą, która stopniowo zmienia się, a w fazie dojrzałości konsumpcyjnej przebarwiają się na pomarańczowo-czerwono. W badaniach własnych stwierdzono różnice pod względem barwy owoców i miąższu poszczególnych odmian oraz w stopniu zmian w trakcie ich przechowywania. Bezpośrednio po zbiorze owoce ‘Hyakume’ cechowały się najjaśniejszą skórką ($L^* = 62,2$) i były najbardziej żółte – b^* skórki = 61,5, b^* miąższu = 44,0. W pierwszym dniu owoce tej odmiany charakteryzowały się również najwyższą wartością parametru a^* , świadczącego o występowaniu barwników odpowiedzialnych za barwę czerwoną. Najwyższe wartości parametrów L^* i b^* owoców odmiany ‘Hyakume’ utrzymywały się przez cały okres przechowywania. Owoce pozostałych odmian w momencie zbioru miały zbliżone wartości parametrów określających ich barwę. Po

14 dniach przechowywania w warunkach *shelf life* zdecydowanie najbardziej ściemniały owoce persymony odmiany ‘Sharon’ ($L^* = 34,3$). Również Veberic i wsp. [26] zaobserwowali różnice w wybarwieniu skórki owoców poszczególnych odmian w fazie konsumpcyjnej, jednak wartość parametru L^* była na wyższym poziomie ($49,9 \div 56,1$), natomiast a^* – na zbliżonym ($33,6 \div 41,0$).

Tabela 1. Barwa skórki i miąższu owoców badanych odmian persymony w trakcie przechowywania
Table 1. Colour of skin and flesh of fruits of studied fruits of persimmon cultivars during storage

Czas przechowywania [dni] Storage period [days]		Odmiana / Cultivar						
		‘Sharon’	‘Moro’	‘Jiro C24276’	‘Kaki Tipo’	‘Hyakume’	\bar{x}	
Barwa skórki Skin colour	1	L^*	57,0	57,9	56,4	57,6	62,2	58,2
		a^*	15,2	11,4	17,8	14,9	24,6	16,8
		b^*	55,6	54,3	49,6	53,4	61,5	51,3
	3	L^*	56,1	55,4	55,6	55,3	59,4	56,4
		a^*	17,3	25,6	33,6	22,2	31,6	26,1
		b^*	54,7	50,0	49,2	51,9	59,3	53,0
	6	L^*	55,7	55,0	55,2	53,3	58,4	55,5
		a^*	16,1	31,8	36,1	30,5	29,5	28,8
		b^*	34,0	39,0	48,0	38,8	54,2	42,8
	9	L^*	47,4	46,2	43,9	50,8	55,4	48,7
		a^*	26,4	35,5	34,6	28,4	35,8	32,1
		b^*	26,3	37,2	44,8	31,4	57,4	39,4
	12	L^*	40,7	39,5	40,4	42,4	52,4	43,1
		a^*	32,2	38,8	30,3	32,1	35,6	33,8
		b^*	18,7	19,1	41,3	26,4	45,1	30,1
14	L^*	34,3	39,3	39,4	41,2	44,7	39,8	
	a^*	34,4	38,2	33,4	32,1	36,9	35,0	
	b^*	20,6	11,2	38,3	19,7	41,8	26,3	
Barwa miąższu Flesh colour	1	L^*	68,1	61,3	73,4	62,6	71,5	67,4
		a^*	16,5	10,4	13,8	13,2	19,2	14,6
		b^*	37,8	28,3	31,5	27,2	44,0	33,8
	14	L^*	28,0	23,6	31,7	31,2	27,0	28,3
		a^*	34,0	38,8	33,3	33,6	38,3	35,6
		b^*	18,3	6,8	27,6	21,6	34,1	21,7

Stosowanie barwy jako jedynego wskaźnika dojrzałości owoców jest mało precyzyjne, dlatego określono również jędrność jagód. Bezpośrednio po zbiorze zmierzono jedynie jędrność owoców persymony odmiany ‘JiroC24276’ ($744 \text{ G}\cdot\text{mm}^{-1}$), gdyż jędrność owoców pozostałych odmian była poza skalą pomiarową przyrządu (rys. 1).

Tabela 2. Wartości współczynników NDVI, NAI i przebicia owoców badanych odmian persymony w trakcie przechowywania oraz współczynniki korelacji między badanymi cechami
 Table 2. Values of NDVI, NAI indices, and puncture coefficient of fruits of studied persimmon cultivars during storage, and coefficients of correlation between parameters analyzed

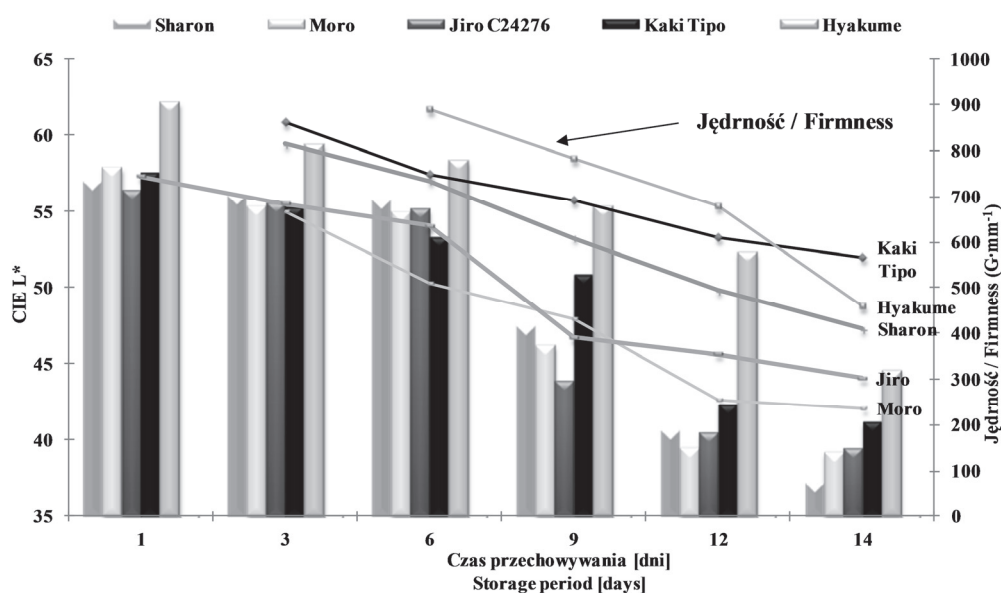
Czas przechowywania [dni] Storage period [days]	Odmiana / Cultivar						\bar{x}
	'Sharo'n	'Moro'	'Jiro C24276'	'Kaki Tipo'	'Hyakume'		
NDVI	1	-0,72 ^{cd} ± 0,06	-0,64 ^{bc} ± 0,03	-0,70 ^{cd} ± 0,05	-0,68 ^{cd} ± 0,04	-0,85 ^d ± 0,05	-0,72 ^A
	14	-0,47 ^{ab} ± 0,04	-0,42 ^a ± 0,03	-0,59 ^{abc} ± 0,02	-0,61 ^{abc} ± 0,06	-0,63 ^{bc} ± 0,08	-0,54 ^A
	\bar{x}	-0,60 ^{AB}	-0,53 ^A	-0,65 ^{BC}	-0,65 ^{BC}	-0,74 ^C	
Współczynnik korelacji / Correlation coefficient między / between							
NDVI – jędrność NDVI – firmness	1. dzień 1 st day	Jędrność poza zakresem pomiarowym Firmness beyond measuring range			14 dni 14 days	r = -0,82 ⁺	
NDVI – barwa NDVI – colour	1. dzień 1 st day	L* r = -0,82 ⁺ ; a* r = -0,92 ⁺⁺ ; b* r = -0,61			14 dni 14 days	L* r = -0,68; a* r = 0,49; b* r = -0,89 ⁺	
NAI	1	0,53 ^{bc} ± 0,04	0,68 ^{de} ± 0,06	0,61 ^{cd} ± 0,05	0,40 ^a ± 0,03	0,59 ^{bc} ± 0,06	0,56 ^A
	14	0,71 ^{de} ± 0,08	0,90 ^f ± 0,09	0,69 ^{de} ± 0,07	0,44 ^a ± 0,06	0,72 ^c ± 0,07	0,69 ^B
	\bar{x}	0,62 ^B	0,79 ^B	0,65 ^B	0,42 ^A	0,66 ^B	
Współczynnik korelacji / Correlation coefficient między / between							
NAI – polifenole NAI – polyphenols	1. dzień 1 st day	r = 0,92 ⁺			14 dni 14 days	r = 0,93 ⁺	
Przebicie Puncture [G·mm ⁻¹]	1	651 ^d ± 78	723 ^c ± 103	805 ^f ± 62	789 ^f ± 83	922 ^g ± 58	778 ^B
	14	240 ^b ± 35	141 ^a ± 29	121 ^a ± 24	326 ^c ± 40	289 ^{bc} ± 51	223 ^A
	\bar{x}	446 ^A	432 ^A	463 ^A	558 ^B	606 ^C	

Objaśnienia: / Explanatory notes:

Wyniki przedstawiono jako wartości średnie ± odchylenia standardowe / Results are presented as mean values ± standard deviations; wartości średnie oznaczone tą samą literą nie różnią się statystycznie istotnie na poziomie istotności p = 0,05 / mean values denoted by the same letter do not differ statistically significantly at p = 0.05; W obrębie badanej cechy dużymi literami oznaczono średnie czynników głównych (\bar{x}), małymi literami zależności między nimi / Within a given characteristic major factors mean are denoted by capital letters (\bar{x}) and correlations between them by small letters; NDVI, NAI, jędrność, barwa – n = 60 / NDVI, NAI, firmness, colour – n = 60; polifenole – n = 15 / polyphenols – n = 15; r⁺ – współczynnik korelacji istotny na poziomie p = 0,05 / significant correlation coefficient at p = 0.05; r⁺⁺ – współczynnik korelacji istotny na poziomie p = 0,01 / significant correlation coefficient at p = 0.01.

W trakcie przechowywania jędrność owoców zmniejszyła się o kilkadziesiąt procent, w największym stopniu w owocach 'Moro' oraz 'Jiro'. Obie odmiany charakteryzowały się również najniższym wskaźnikiem przebicia skórki (tab. 2). Proces zmiany jędrności przebiega szybciej w mniejszych owocach [4]. Owoce 'Kaki Tipo' po 14 dniach

przechowywania były najbardziej jędrne ($565 \text{ G}\cdot\text{mm}^{-1}$) i cechowały się najwyższą odpornością na uszkodzenia mechaniczne (przebicie – $326 \text{ G}\cdot\text{mm}^{-1}$). Wskazuje to na różne tempo dojrzewania owoców poszczególnych odmian i możliwość ich przechowywania w warunkach *shelf life*. Owoce persymony oraz podobnej wielkości śliwki, charakteryzujące się jędrnością większą od $500 \text{ G}\cdot\text{mm}^{-1}$, są twarde i nieatrakcyjne dla konsumenta, natomiast gdy wartość parametru zbliża się do $150 \text{ G}\cdot\text{mm}^{-1}$, są już za miękkie (wyniki własne, niepublikowane).



Rys. 1. Zmiany parametru L* oraz jędrności owoców pięciu odmian persymony w trakcie przechowywania

Fig. 1. Changes in L* parameter and firmness of fruits of five persimmon cultivars during storage

Jednym ze wskaźników dojrzałości owoców może być indeks wegetacyjny (NDVI). Szybki i niedestrukcyjny pomiar, umożliwiający ocenę stopnia dojrzałości, wykorzystywany jest m.in. do określania jakości bananów, jabłek i śliwek [7, 23, 30]. Indeks wegetacyjny skórki owoców poszczególnych odmian był zróżnicowany (tab. 2), a ponadto istotnie ($p = 0,05$) skorelowany z parametrami fizycznymi jagód – jędrnością i barwą. Obniżanie wartości bezwzględnej indeksu NDVI wskazywało na zmniejszanie się jędrności owoców. Bezpośrednio po zbiorze NDVI był istotnie ($p = 0,01$) skorelowany z wartością parametru barwy a^* , natomiast po 14 dniach przechowywania – z parametrem barwy b^* . Korelacja była istotna ($p = 0,05$) pomimo dużych różnic wartości wskaźnika pomiędzy odmianami w poszczególnych terminach pomiaru. Najniż-

szą wartością indeksu NDVI charakteryzowały się owoce persymony odmiany 'Moro' po 14 dniach przechowywania (-0,42).

Kolejnym wskaźnikiem oceny owoców jest indeks antocyjanowy (NAI). Owoce 'Kaki Tipo' cechowały się istotnie ($p = 0,05$) niższym wskaźnikiem NAI (0,42), a zarazem najmniejszą zawartością polifenoli (średnio 200 mg GAE kg⁻¹). Owoce odmiany 'Moro' charakteryzowały się natomiast najwyższym indeksem antocyjanowym (0,79) i największą zawartością polifenoli (średnio 317 mg GAE kg⁻¹). Powyższe obserwacje potwierdzono istotnym ($p = 0,05$) współczynnikiem korelacji pomiędzy indeksem antocyjanowym (NAI) a zawartością polifenoli w owocach. Korelacja była dodatnia i na podobnym poziomie bezpośrednio po zbiorze ($r = 0,92$) oraz po 14 dniach przechowywania owoców ($r = 0,93$). Ścibisz i wsp. [22], badając owoce borówki wysokiej, wykazali silną zależność pomiędzy barwą i zawartością polifenoli.

Owoce persymony charakteryzowały się zróżnicowanym składem chemicznym (tab. 3). W trakcie przechowywania w jagodach zachodziły zmiany o przebiegu zależnym od odmiany. Po 14 dniach przechowania istotnie ($p = 0,05$) zmniejszyła się kwasowość owoców wszystkich badanych odmian. Zmalała również zawartość kwasu L-askorbinowego i – nieznacznie – azotanów(V), wzrosła natomiast zawartość witaminy E. Zdecydowanie najmniej związków polifenolowych było w owocach odmiany 'Kaki Tipo' – średnio 200 mg GAE kg⁻¹. Najwięcej polifenoli zawierały owoce odmiany 'Moro' – średnio 317 mg GAE kg⁻¹. W badaniach innych autorów suma związków fenolowych w owocach persymony wyniosła od 14,8 mg [25] do 168 mg·100 g⁻¹ s.m. [5]. W badaniach własnych, w owocach odmiany 'Sharon', zawartość polifenoli po pełnym okresie przechowywania istotnie ($p = 0,05$) wzrosła. W jagodach pozostałych odmian była ona na poziomie porównywalnym z owocami nieprzechowywanymi. Park i wsp. [17] stwierdzili większą zawartość polifenoli w owocach świeżo zebranych. Pomimo istotnych ($p = 0,05$) różnic pod względem zawartości szkodliwych azotanów(V), ich ilość w owocach była niewielka. W zależności od odmiany i dnia pomiaru wynosiła od 10 do 47 mg·kg⁻¹. Obowiązujące przepisy nie określają zawartości azotanów w owocach. Zgodnie z Rozporządzeniem Komisji WE z 2006 roku [20] dzienne spożycie azotanów(V) nie powinno przekraczać 3,65 mg na kg masy ciała. Zgodnie z powyższym rozporządzeniem oznaczone ilości azotanów(V) w owocach persymony spełniają rygorystyczne wymogi określone dla produktów przeznaczonych dla niemowląt i małych dzieci – do 200 mg NO₃ kg⁻¹. Owoce 'Jiro C24276' zawierały najmniej prowitaminy A (0,49 mg·kg⁻¹ świeżej masy – ś.m.) oraz kilkakrotnie mniej, w porównaniu z pozostałymi odmianami, witaminy E (6,9 mg·kg⁻¹ ś.m.). Najwięcej prowitaminy A (0,86 mg·kg⁻¹ ś.m.) i kwasu L-askorbinowego (105 mg kg⁻¹ ś.m.) było w owocach odmiany 'Sharon'. Na początku okresu przechowywania zawartość prowitaminy A w owocach tej odmiany wynosiła 0,82 mg kg⁻¹ ś.m. Jest to poziom porównywalny z wynikiem, jaki uzyskali Ancos i wsp. [1]. Zawartość kwasu

Tabela 3. Skład chemiczny świeżych owoców pięciu odmian persymony w trakcie ich przechowywania
 Table 3. Chemical composition of fresh fruits of five persimmon cultivars during their storage

Parametr Parameter	Czas przecho- wywania [dni] Storage period [days]	Odmiana / Cultivar					
		Sharon	Moro	Jiro C24276	Kaki Tipo	Hyakume	\bar{x}
Polifenole Polyphenols [mg GAE kg ⁻¹]	1	252 ^{bcd*} ± 37	298 ^{def} ± 24	265 ^{bcd} ± 31	227 ^b ± 19	279 ^{bcd} ± 28	264 ^A
	14	363 ^f ± 41	336 ^{ef} ± 36	238 ^{bc} ± 26	172 ^a ± 23	285 ^{cd} ± 19	279 ^A
	\bar{x}	308 ^C	317 ^C	252 ^B	200 ^A	282 ^{BC}	
Kwas L-askorbinowy L-ascorbic acid [mg kg ⁻¹]	1	112 ^f ± 11	63 ^c ± 5	91 ^{de} ± 9	96 ^e ± 8	58 ^{bc} ± 11	84 ^A
	14	98 ^e ± 13	54 ^b ± 3	82 ^d ± 7	86 ^d ± 11	41 ^a ± 9	72 ^A
	\bar{x}	105 ^C	59 ^A	87 ^B	91 ^B	50 ^A	
Kwasowość [g kwasu cytry- nowego kg ⁻¹] Titratable acidity [g citric acid kg ⁻¹]	1	8,73 ^d ± 0,31	7,26 ^c ± 0,40	6,77 ^{bc} ± 0,22	6,84 ^{bc} ± 0,31	7,63 ^{cd} ± 0,43	7,45 ^B
	14	6,95 ^{bc} ± 0,33	5,50 ^{ab} ± 0,22	4,32 ^a ± 0,17	4,04 ^a ± 0,15	5,48 ^{ab} ± 0,21	5,26 ^A
	\bar{x}	7,84 ^C	6,38 ^B	5,55 ^A	5,44 ^A	6,56 ^B	
Prowitamina A Provitamin A [mg kg ⁻¹]	1	0,82 ^{de} ± 0,07	0,67 ^c ± 0,08	0,52 ^{ab} ± 0,05	0,68 ^{cd} ± 0,07	0,63 ^{bc} ± 0,03	0,66 ^A
	14	0,89 ^e ± 0,06	0,73 ^{cd} ± 0,06	0,46 ^a ± 0,05	0,59 ^{ab} ± 0,08	0,77 ^{cde} ± 0,05	0,69 ^A
	\bar{x}	0,86 ^C	0,70 ^B	0,49 ^A	0,64 ^B	0,70 ^B	
Witamina E Vitamin E [mg kg ⁻¹]	1	32,0 ^{bc} ± 0,5	30,4 ^{bc} ± 0,2	5,8 ^a ± 0,1	22,4 ^b ± 0,5	37,3 ^{cd} ± 1,1	25,6 ^A
	14	44,2 ^{de} ± 0,8	45,3 ^{de} ± 0,3	7,9 ^a ± 0,2	29,0 ^{bc} ± 0,7	50,7 ^e ± 1,3	35,4 ^B
	\bar{x}	38,1 ^{BC}	37,9 ^{BC}	6,9 ^A	25,7 ^B	44,0 ^C	
Azotany Nitrates [mg kg ⁻¹]	1	39 ^{de} ± 4	27 ^b ± 6	23 ^b ± 4	47 ^e ± 9	29 ^{bc} ± 5	33 ^A
	14	35 ^{cd} ± 5	22 ^b ± 3	10 ^a ± 3	45 ^{de} ± 4	25 ^b ± 3	27 ^A
	\bar{x}	37 ^{BC}	23 ^A	16 ^A	46 ^C	27 ^{AB}	

Objaśnienia / Explanatory notes:

Wyniki przedstawiono jako wartości średnie ± odchylenia standardowe / Results are presented as mean values ± standard deviations;

* Wartości średnie oznaczone tą samą literą nie różnią się statystycznie istotnie na poziomie istotności p = 0,05 / Mean values denoted by the same letter do not differ statistically significantly at p = 0.05. W obrębie badanej cechy dużymi literami oznaczono średnie czynników głównych (\bar{x}), małymi literami zależności między nimi / Within a given characteristic major factors mean are denoted by capital letters (\bar{x}) and correlations between them by small letters

L-askorbinowego w nieprzechowywanych owocach wahała się od 58 mg·kg⁻¹ w przypadku odmiany ‘Hyakume’ do 112 mg·kg⁻¹ – w odmianie ‘Sharon’. Inni autorzy oznaczyli w owocach persymony od 3,5 mg·100 g⁻¹ ś.m. [13] do 146,0 mg·100 g⁻¹ ś.m. [11] kwasu L-askorbinowego. Czternastodniowe przechowywanie owoców w warunkach *shelf life* wpłynęło na zmniejszenie zawartości tego kwasu do 41 mg 100 g⁻¹ ś.m.

w jagodach 'Hyakume'. Było to nieznacznie więcej niż oznaczyła Mangarova [13] – 39 mg kg ś.m. Natomiast w przypadku 'Kaki Tipo' zawartość omawianego związku (86 mg kg⁻¹) była znacznie mniejsza niż w owocach badanych przez Del Bubba i wsp. [6] – 490 mg kg ś.m.

Wnioski

1. Podczas przechowywania owoców persymony w warunkach *shelf life* zachodziły w nich zmiany: miąższ i skórka ciemniały i nabierały czerwonego wybarwienia, zmniejszała się jędrność owoców oraz ich odporność na uszkodzenia mechaniczne. Szybkość tych zmian zwiększyła się po 6 dniach przechowywania.
2. Najjaśniejsze, ale o intensywnym żółto-czerwonym wybarwieniu, były owoce odmiany 'Hyakume'. Największą jędrnością i odpornością na uszkodzenia mechaniczne po 14 dniach przechowywania cechowały się owoce odmiany 'Kaki Tipo'.
3. Wyższą kwasowością, większą zawartością prowitaminy A i kwasu L-askorbinowego charakteryzowały się owoce odmiany 'Sharon'. Zawierały one także dużo polifenoli, których ilość znacząco wzrosła po 14 dniach przechowywania.
4. W trakcie przechowywania zmieniał się skład chemiczny owoców, zmniejszyła się ich kwasowość i zawartość kwasu L-askorbinowego, natomiast zwiększyła się zawartość witaminy E.
5. Po pełnym okresie przechowywania najniższy indeks NDVI i najmniejszą jędrność miały owoce odmiany 'Moro', cechował je też najwyższy indeks NAI i największa zawartość polifenoli.
6. Jędrność i barwa owoców były istotnie ($p = 0,05$) skorelowane z indeksem wegetacyjnym NDVI. Istotną ($p = 0,05$) korelację stwierdzono także między indeksem antocyjanowym (NAI) i zawartością polifenoli.

Literatura

- [1] Ancos de B., Gonzalez E., Cano M.P.: Effect of high-pressure treatment on the carotenoid composition and the radical scavenging activity of persimmon fruit purees. *J. Agric. Food Chem.*, 2000, **48**, 3542-3548.
- [2] Arnal L., Del Río M.A.: Removing astringency by carbon dioxide and nitrogen-enriched atmospheres in persimmon fruit cv. 'Rojo Brillante'. *Food Sci.*, 2003, **68**, 1516-1518.
- [3] Arnal L., Del Río M.A.: Quality of persimmon fruit cv. Rojo brillante during storage at different temperatures. *Spanish J. Agric. Res.*, 2004, **2** (2), 243-247.
- [4] Chelpiński P., Yordanov A., Dobrowolska A., Rozwarski R., Ochmian I.: Jakość owoców pięciu odmian Persymony (*Diospyros kaki*). *Folia Pomer. Univ. Technol. Stetin., Agric., Aliment., Pisc., Zootech.*, 2013, **302** (25), 9-16.
- [5] Chen X.N., Fan J.F., Yue X., Wu X.R., Li L.T.: Radical scavenging activity and phenolic compounds in persimmon (*Diospyros kaki* L. cv. Mopan). *J. Food Sci.*, 2008, **73** (1), C24-C28.

- [6] Del Bubba M., Giordani E., Cincinelli A., Checchini L., Galvan P.: Nutraceutical properties and sugar contents in astringent persimmons during on-tree growth and ripening and in response to different postharvest treatments. *J. Food Comp. Anal.*, 2009, **22**, 668-677.
- [7] Eum H.L., Hwang D.K., Linke M., Lee S.K., Zude M.: Influence of edible coating on quality of plum (*Prunus salicina* Lindl. cv. 'Sapphire'). *Eur. Food Res. Technol.*, 2009, **229** (3), 427-434.
- [8] George A.P., Redpath S.: Health and medicinal benefits of persimmon fruit: A review. *Adv. Horticult. Sci.*, 2008, **22** (4), 255-260.
- [9] Giordani E., Doumet S., Nin S., Del Bubba M.: Selected primary and secondary metabolites in fresh persimmon (*Diospyros kaki* Thunb.): A review of analytical methods and current knowledge of fruit composition and health benefits. *Food Res. Int.*, 2011, **44**, 1752-1767.
- [10] Hunterlab: Measuring Color using Hunter L, a, b versus CIE 1976 L*a*b*. 2012, **AN 1005.00**, 1-4. (www.hunterlab.com/an-1005b.pdf).
- [11] Homnava A., Payne J., Koehler P., Eitenmiller R.: Provitamin A (α -carotene, β -carotene and β -cryptoxanthin) and ascorbic acid content of Japanese and American persimmons. *J. Food Qual.*, 1990, **13**, 85-95.
- [12] Jang I.C., Jo E.K., Bae M.S., Lee H.J., Jeon G.I., Park E., Yuk H.G., Ahn G.H., Lee S.C.: Antioxidant and antigenotoxic activities of different parts of persimmon (*Diospyros kaki* cv. Fuyu) fruit. *J. Med. Plants Res.*, 2010, **4** (2), 155-160.
- [13] Mangarova M.: Chemical contents of persimmon fruits (*Diospyros kaki*), grown in the conditions of the southern black sea region. *Plant Sci.*, 2005, **42**, 443-445.
- [14] Ochmian, I., Dobrowolska, A., Strzelecki, R., & Kozos, K.: Porównanie jakości owoców trzech odmian porzeczki czarnej (*Ribes nigrum* L.) w zależności od ich wielkości. *Folia Pomer. Univ. Technol. Stetin. Agric., Aliment., Pisc., Zootech.* 2013, **304** (26), 97-106.
- [15] Ochmian I.D., Grajkowski J., Smolik M.: Comparison of some morphological features, quality and chemical content of four cultivars of chokeberry fruits (*Aronia melanocarpa*). *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 2012, **40** (1), 253-260.
- [16] Oszmiański J., Wojdyło A.: *Aronia melanocarpa* phenolics and their antioxidant activity. *Eur. Food Res. Tech.*, 2005, **221**, 809-813.
- [17] Park Y.S., Jung S.T., Kang S.G., Delgado-Licon E., Martinez Ayala A.L., Tapia M.S., Martín-Belloso O., Trakhtenberg S., Gorinstein S.: Drying of persimmons (*Diospyros kaki* L.) and the following changes in the studied bioactive compounds and the total radical scavenging activities. *LWT – Food Sci. Technol.*, 2006, **39**, 748-755.
- [18] Plaza L., Colina C., De Ancos B., Sánchez-Moreno C., Cano M.P.: Influence of ripening and astringency on carotenoid content of high-pressure treated persimmon fruit (*Diospyros kaki* L.). *Food Chem.*, 2012, **130**, 591-597.
- [19] Rozporządzenie Komisji WE 2009, nr 152 z dnia 27 stycznia 2009 r. Metody pobierania próbek i dokonywania analiz do celów urzędowej kontroli pasz. Załącznik IV: A. Oznaczenie witaminy A; B. Oznaczenie witaminy E. *Dz. Urz. UE L 54 z 26.02.2009*
- [20] Rozporządzenie Komisji WE nr 1881 z dnia 19 grudnia 2006 r. ustalające najwyższe dopuszczalne poziomy niektórych zanieczyszczeń w środkach spożywczych, *Dz. Urz. UE L 364/5 z 20.12.2006*
- [21] Salvador A., Arnal L., Monterde A., Cuquerella J.: Reduction of chilling injury symptoms in persimmon fruit cv. 'Rojo Brillante' by 1-MCP. *Posthar. Biol. Technol.*, 2004, **33**, 285-291.
- [22] Ścibisz I., Kalisz S., Mitek M.: Termiczna degradacja antocyjanów owoców borówki wysokiej. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2010, **72** (5), 56-66.
- [23] Seifert B., Zude M., Spinelli L., Torricelli A.: Optical properties of developing pip and stone fruit reveal underlying structural changes. *Physiologia Plantarum*, 2015, **153** (2), 327-336.
- [24] Singleton V., Rossi J.: Colorimetry of total phenolics with phospho-molybdic-phosphotungstic acid reagent. *Am. J. Enol. Viticult.*, 1965, **16**, 144-158.

- [25] Suzuki T., Someya S., Hu F., Tanokura M.: Comparative study of catechin compositions in five Japanese persimmons (*Diospyros kaki*). Food Chem., 2005, **93**, 149-152.
- [26] Veberic R., Jurhar J., Mikulic-Petkovsek M., Stampar F., Schmitzer V.: Comparative study of primary and secondary metabolites in 11 cultivars of persimmon fruit (*Diospyros kaki* L.). Food Chem., 2010, **119**, 477-483.
- [27] Yokozawa T., Kim Y.A., Kim H.Y., Lee Y.A., Nonaka G.: Protective effect of persimmon peel polyphenol against high glucose-induced oxidative stress in LLC-PK₁ cells. Food Chem. Toxicol., 2007, **45**, 1979-1987.
- [28] Yonemori K., Yamada M., Sugiura A.: Persimmon genetics and breeding. Plant Breeding Rev., 2000, **19**, 191-225.
- [29] Zude M.: Comparison of indices and multivariate models to non-destructively predict the fruit chlorophyll by means of visible spectrometry in apple fruit. Anal. Chim. Acta, 2003, **481**, 119-126.
- [30] Zude M., Sasse J., Schallnus H.: Non-invasive sensing of fruit development in banana and papaya by means of a spectroscopic approach. International Symposium Postharvest Pacifica 2009-Pathways to Quality: V International Symposium on Managing Quality in 880, 2009, November, pp. 277-281.

EFFECT OF STORING PERSIMMON (*DIOSPYROS KAKI*) FRUITS UNDER SHELF LIFE CONDITIONS ON SELECTED PHYSICAL PARAMETERS AND CHEMICAL COMPOSITION

Summary

Under the research study, the changes were determined in the quality of persimmon (*Diospyros kaki*) fruits stored under the *shelf life* conditions. The following physical parameters were determined: colour, firmness, vegetation index (NDVI), anthocyanins index (NAI), and chemical composition. Also, there were determined the correlations between the selected indices so as to develop rapid methods for assessing the quality of fruits. The research was conducted at the West Pomeranian University of Technology in Szczecin and at the Research Station of the Agricultural University in Plovdiv, Bulgaria, where the fruits of five persimmon cultivars: 'Sharon', 'Moro', 'Jiro', 'Kaki Tipo', and 'Hyakume' came from.

The cultivars were characterized by a varied chemical composition and a variable response to storage. During storage, the fruits became darker (the value of L* parameter decreased from 58.2 to 39.8) and redder (the value of a* parameter increased from 16.8 to 35.0). The firmness of the fruits decreased as did their resistance to mechanical damage. After 6 days of storage, a considerable acceleration was reported of changes in the indices, which characterized the ripening of fruits. The fruits of the 'Kaki Tipo' cultivar were the firmest and, at the same time, the most resistant to mechanical damage after the whole storage period. The persimmon fruits of 'Sharon' cv. were characterized by good quality parameters and they contained: polyphenols: 308 mg GAE kg⁻¹; L-ascorbic acid: 105 mg kg⁻¹; total acids: 7.84 g kg⁻¹; provitamin A: 0.86 mg·kg⁻¹; and vitamin E: 38.1 mg·kg⁻¹. During storage the acidity level and the content of L-ascorbic acid decreased in the fruits, whereas the content of vitamin E increased. The firmness (r = -0.82) and the colour of fruits (r = -0.82) turned out to be significantly (p=0.05) correlated with the NDVI vegetation index. A significant (p=0.05) correlation was also reported between the anthocyanic index (NAI) and the content of polyphenols, both at the beginning (r = 0.92) and at the end (r = 0.93) of the storage period. The correlations found confirm the possibility to use non-destructive methods for the assessment of the quality of persimmon fruits.

Key words: persimmon (*Diospyros kaki*), fruits, firmness, colour, vitamins, polyphenols, NDVI, NAI 

IZABELA PORĘBSKA, BARBARA SOKOŁOWSKA,
ŁUCJA ŁANIEWSKA-TROKENHEIM

**WPLYW DITLENKU WĘGLA W STANIE NADKRYTYCZNYM
NA KIEŁKOWANIE I INAKTYWACJĘ PRZETRWAŁNIKÓW
*ALICYCLOBACILLUS ACIDOTERRESTRIS***

Streszczenie

Przetrwalniki termofilnych kwasolubnych bakterii *Alicyclobacillus acidoterrestris* są odporne na działanie czynników zewnętrznych i mogą się rozwijać w sokach w czasie przechowywania. Wytwarzają związki o dezynfekcyjnym zapachu, m.in. gwajakol i prowadzą do zepsucia soków. Zwiększenie stopnia kiełkowania przetrwalników w procesie utrwalania żywności może przyczynić się do ich skutecznej inaktywacji. Celem pracy była charakterystyka przebiegu procesu kiełkowania i stopnia inaktywacji przetrwalników *Alicyclobacillus acidoterrestris* zainicjowanego przez ditlenek węgla w stanie nadkrytycznym (SCCD).

Przetrwalniki zawieszono w soku jabłkowym oraz w buforach o pH 4,0 i pH 7,0 poddawano działaniu SCCD o ciśnieniu 10 ÷ 60 MPa, w temp. 50 ÷ 75 °C, w ciągu 20 ÷ 40 min. Po 40 min działania SCCD o ciśnieniu 60 MPa w temp. 75 °C liczba skiełkowanych przetrwalników w soku jabłkowym wynosiła 3,9 log, z czego 3,4 log było inaktywowanych. W tych samych warunkach procesu, ale w buforze o pH 4,0 uzyskano niższy stopień kiełkowania (3,2 log) i inaktywacji (2,7 log). W buforze o pH 7,0 stwierdzono stopień wykiełkowania rzędu 2,5 log i inaktywację przetrwalników o 1,1 log. Stwierdzono istotną korelację pomiędzy wynikami szacowania stopnia kiełkowania uzyskanymi metodą płytkową i metodą pomiaru zmniejszania gęstości optycznej. Temperatura stosowanego SCCD okazała się czynnikiem istotnie wpływającym na stopień kiełkowania i inaktywację przetrwalników *A. acidoterrestris*. Wraz z obniżaniem pH zaobserwowano niewielkie zwiększenie stopnia kiełkowania i znaczne zwiększenie inaktywacji przetrwalników *A. acidoterrestris* poddanych działaniu SCCD, a zawartość składników odżywczych w soku jabłkowym dodatkowo zwiększała stopień wykiełkowania.

Słowa kluczowe: *Alicyclobacillus acidoterrestris*, sok jabłkowy, przetrwalniki, kiełkowanie, inaktywacja, nadkrytyczny ditlenek węgla, gęstość optyczna

Mgr inż. I. Porębska, dr inż. B. Sokołowska, Zakład Technologii Przetworów Owocowych i Warzywnych, Instytut Biotechnologii Przemysłu Rolno-Spożywczego, ul. Rakowiecka 36, 02-532 Warszawa, Laboratorium Biomateriałów, Instytut Wysokich Ciśnień Polskiej Akademii Nauk, ul. Sokołowska 29, 01-142 Warszawa, prof. dr hab. Ł. Łaniewska-Trokenheim, Katedra Mikrobiologii Przemysłowej i Żywności, Wydz. Nauki o Żywności, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Pl. Cieszyński 1, 10-726 Olsztyn. Kontakt: porebska@ibprs.pl

Wprowadzenie

Bakterie z rodzaju *Alicyclobacillus* stanowią istotny problem związany z jakością produktów owocowo-warzywnych. W ostatnich latach obserwuje się rozwój wielu nowych i alternatywnych metod utrwalania żywności, w tym soków owocowo-warzywnych, m.in. stosowanie wysokich ciśnień hydrostatycznych [12, 21, 25, 28], pulsacyjnych pól elektrycznych [10], ogrzewania mikrofalowego w przepływie [9, 26] oraz nadkrytycznego ditlenku węgla [6, 17, 23, 24].

Nadkrytyczny ditlenek węgla (ang. *supercritical carbon dioxide* – SCCD) jest znany i stosowany w technologii żywności głównie do ekstrakcji wartościowych składników. W literaturze pojawiają się jednak prace związane z zastosowaniem tego czynnika zarówno w stanie nadkrytycznym, jak i w stanie gazowym pod wysokim ciśnieniem do inaktywacji mikroorganizmów: bakterii patogennych przenoszonych przez żywność, m.in. *Escherichia coli*, *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* oraz drożdży, pleśni i bakterii fermentacji mlekowej w przetworach owocowo-warzywnych [4, 6, 7, 17, 27, 28,], a także do inaktywacji przetrwalników [5, 8, 29], w tym *A. acidoterrestris* [1, 3].

W literaturze jest wiele danych na temat działania temperatury [19, 27] i wysokiego ciśnienia hydrostatycznego na procesy kiełkowania i inaktywacji przetrwalników [11, 13, 15, 16, 18, 21, 22, 28]. Opisano także zjawisko kiełkowania przetrwalników *Bacillus coagulans* i *Bacillus licheniformis* [5] pod wpływem ditlenku węgla w stanie gazowym i pod wysokim ciśnieniem oraz *Clostridium perfringens* [8] w medium nasyconym ditlenkiem węgla. Brak jest natomiast informacji o kiełkowaniu *A. acidoterrestris* pod wpływem ditlenku węgla.

Celem pracy była charakterystyka przebiegu procesu kiełkowania i stopnia inaktywacji przetrwalników *Alicyclobacillus acidoterrestris*, zainicjowanego przez ditlenek węgla w stanie nadkrytycznym oraz określenie korelacji między wynikami pomiaru gęstości optycznej i klasycznej metody płytkowej, zastosowanymi w doświadczeniu.

Materiał i metody badań

Materiał do badań stanowiły wybrane szczepy *A. acidoterrestris* wyizolowane z próbek zagęszczonych soków owocowych, oznaczone jako: TO-169/06 oraz TO-117/02. Szczepy te są przechowywane w postaci zamrożonej w Cytobankach w temp. -27 ± 3 °C. Szczepy ożywiano poprzez przesiewanie ich do pożywki BAT-bulion (Merck, Niemcy) i inkubowano w temp. 45 °C przez 3 dni. Tak przygotowane szczepy używano do sporządzania zawiesin przetrwalników stosowanych w doświadczeniu.

Przetrwalniki szczepu *A. acidoterrestris* TO-169/06 są wrażliwe na działanie temperatury [19], nizyny i lizozymu [20] oraz wysokiego ciśnienia hydrostatycznego

[18], natomiast przetrwalniki szczepu TO-117/02 są odporne na działanie tych czynników [18, 21, 22].

Przetrwalniki szczepów TO-169/06 oraz TO-117/02, uzyskane metodą opisaną przez Skąpską i wsp. [18], wprowadzono do odtworzonego soku jabłkowego (zakupionego w handlu detalicznym) o zawartości ekstraktu – 11,2 °Brix i pH = 3,4 oraz do buforów o pH 4,0 oraz pH 7,0, w ilości 10⁶ jtk/ml. Próbki zawiesin (ok. 7 ml) poddawano działaniu ditlenku węgla w stanie nadkrytycznym. Zastosowano SCCD o ciśnieniu: 9, 30, 60 MPa i temp.: 50 i 75 °C. Procesy przeprowadzono w ciągu: 20, 30 i 40 min, przy użyciu aparatu Applied Separations Spe-ed SFE (Applied Separations, Inc., USA).

Wszystkie doświadczenia wykonano w dwóch powtórzeniach. Uzyskane wyniki opracowano statystycznie testem Duncana, na poziomie istotności ($p < 0,05$) przy użyciu programu StatSoft[®] Statistica 7.1.

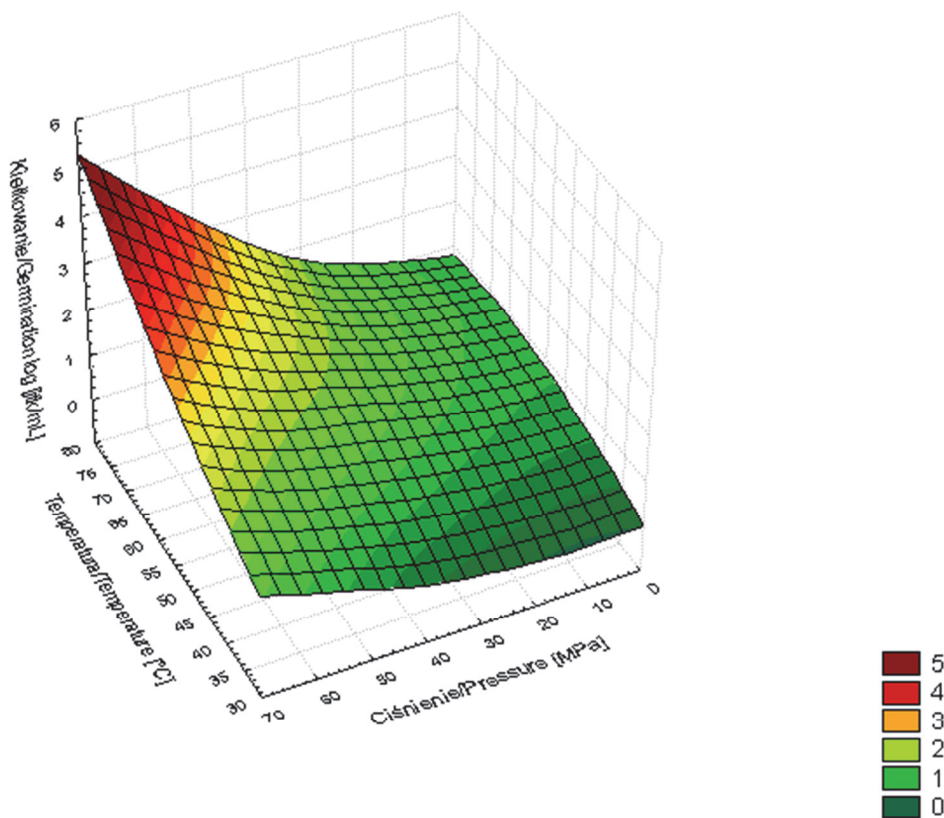
Liczbę przetrwalników, które wykiełkowały i zostały inaktywowane, oznaczano metodą hodowlaną (metoda płytek powierzchniowych) na pożywce BAT-agar (Merck, Niemcy). Inkubację prowadzono przez 5 dni w temp. 45 °C. Stopień inaktywacji przetrwalników stanowiła różnica pomiędzy wyjściową liczbą przetrwalników i liczbą przeżywającą proces działania wysokiego ciśnienia hydrostatycznego. Stopień kiełkowania przetrwalników obliczano jako różnicę pomiędzy wyjściową liczbą przetrwalników a ich liczbą po zastosowanym procesie ciśnieniowania i dodatkowym ogrzewaniu próbek w temp. 80 °C przez 10 min. Założono, że przetrwalniki, które wykiełkowały, stały się wrażliwe na zastosowaną temperaturę i uległy inaktywacji w czasie ogrzewania [11, 22, 28]. Wartości stopnia inaktywacji i kiełkowania wyrażano w log [jtk/ml].

Przebieg procesu kiełkowania przetrwalników wykonywano metodą pomiaru gęstości optycznej przy $\lambda = 660$ nm (OD_{660}) w spektrofotometrze UV/Visible Spectrophotometer Ultrospec 2000 (Pharmacia Biotech Ltd., Wielka Brytania). Pomiar wykonywano bezpośrednio po działaniu ditlenku węgla o ciśnieniu: 10, 30, 60 MPa i w temp.: 50 i 75 °C w ciągu: 20, 30 i 40 min, następnie podczas inkubacji w temp. 45 °C przez 4 h oraz po 18 h inkubacji tych samych próbek. W przeprowadzonym doświadczeniu wykorzystywano zjawisko początkowego zmniejszania gęstości optycznej OD_{660} , związanego z początkiem kiełkowania przetrwalników, a po pewnym czasie ze wzrostem tej gęstości [14, 16, 27]. Współczynnik zmniejszenia gęstości optycznej wyrażony został jako: (OD_{660} w trakcie kiełkowania / OD_{660} początkowego) $\times 100$ [8, 15, 16, 27].

Do wyznaczenia równań regresji liniowej i obliczenia współczynnika determinacji (R^2) oraz współczynnika korelacji (r) zastosowano pakiet Microsoft Office Excel 2010.

Wyniki i dyskusja

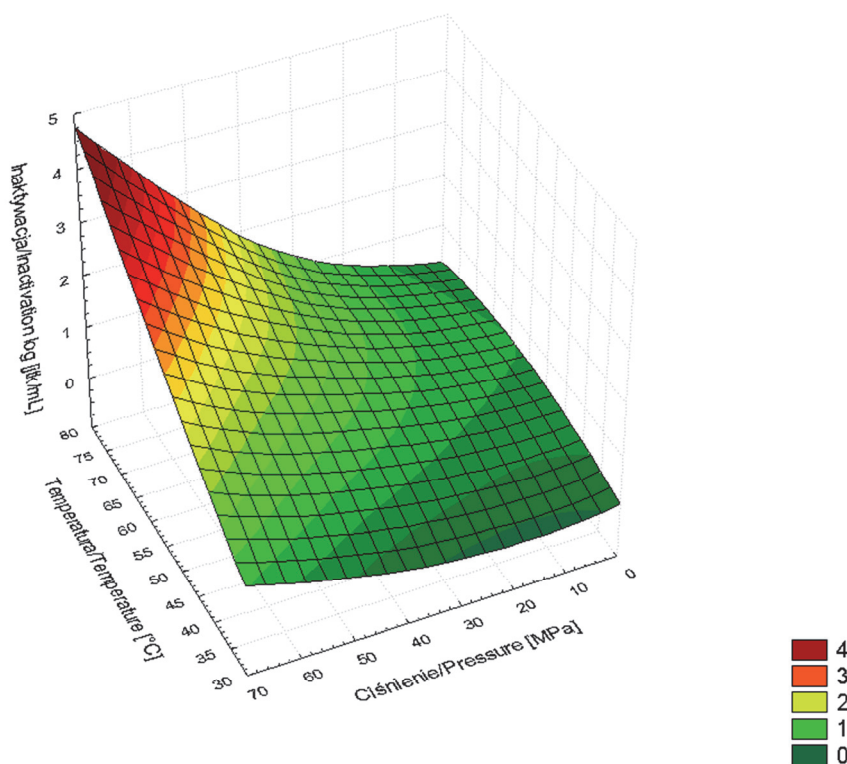
Do pobudzenia kiełkowania przetrwalników laseczek z rodzaju *Bacillus* oraz do ich inaktywacji niezbędne jest stosowanie ditlenku węgla o stosunkowo wysokiej temperaturze. W pracy zbadano wpływ SCCD o temp.: 30, 50 i 75 °C i ciśnieniu: 10, 30 i 60 MPa na stopień kiełkowania (rys. 1) oraz inaktywację (rys. 2) przetrwalników *A. acidoterrestris* w soku jabłkowym. Liczba wykiełkowanych przetrwalników po zastosowaniu SCCD o temp. 30 °C była nieznaczna, natomiast przy podwyższeniu temperatury do 50 °C przez 40 min była równa 2 log, a inaktywacja – 1,7 log, natomiast w temp. 75 °C wykiełkowało 3,9 log przetrwalników (rys. 1), z czego 3,4 log było inaktywowanych ($p < 0,05$) (rys. 2).



Rys. 1. Kiełkowanie przetrwalników *A. acidoterrestris* TO-169/06 w soku jabłkowym po 40 min działania SCCD w zróżnicowanych wartościach temperatury i ciśnienia

Fig. 1. Germination of *A. acidoterrestris* TO-169/06 spores in apple juice treated with 40 min SCCD at diversified temperature and pressure levels

Zaobserwowano znaczne różnice w kiełkowaniu i inaktywacji przetrwalników w soku jabłkowym w zależności od stosowanego ciśnienia. Uzyskano niewielkie kiełkowanie na poziomie 1,03 log po 40 min działania ciśnienia 10 MPa w temp. 75 °C i inaktywację na poziomie 0,55 log. Niewielką poprawę efektywności procesu kiełkowania do 1,5 log (rys. 1) ($p < 0,05$) zaobserwowano po przedłużeniu procesu do 40 min i zwiększeniu ciśnienia do 30 MPa. W tym procesie nastąpił także wzrost inaktywacji przetrwalników do 1,2 log (rys. 2).

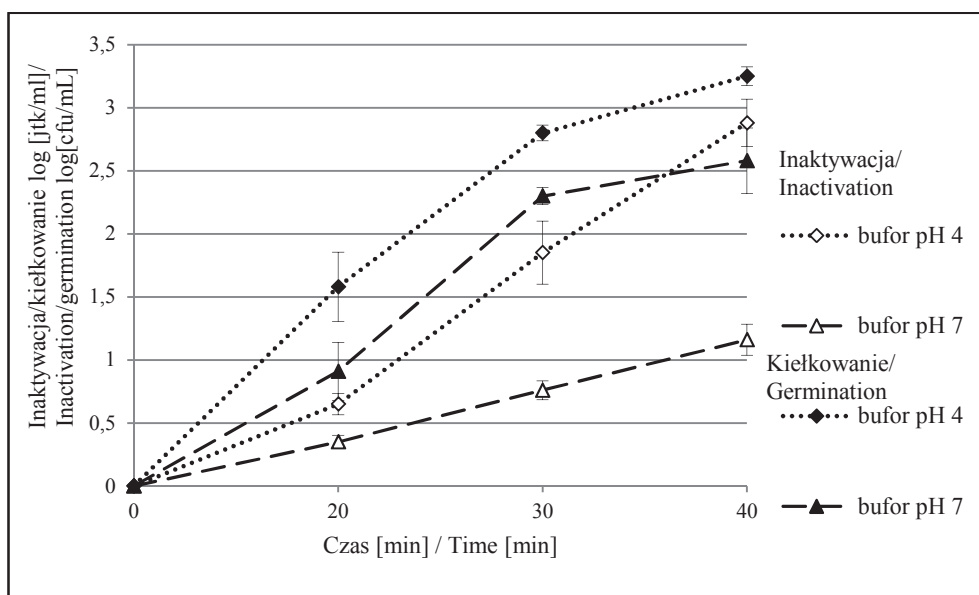


Rys. 2. Inaktywacja przetrwalników *A. acidoterrestis* TO-169/06 w soku jabłkowym po 40 min działania SCCD w zróżnicowanych wartościach temperatury i ciśnienia

Fig. 2. Inactivation of *A. acidoterrestis* TO-169/06 spores in apple juice treated with 40 min SCCD at diversified pressure and temperature levels

Na podstawie przeprowadzonych badań stwierdzono, że stopień kiełkowania i inaktywacji przetrwalników badanego szczepu *A. acidoterrestis* w soku jabłkowym, po zastosowaniu SCCD, był zależny od parametrów ciśnienia, temperatury oraz czasu tego procesu. Bae i wsp. [1] wykazali, że do inaktywacji przetrwalników *A. acidoterrestis* o 6 log niezbędne było podwyższenie temperatury SCCD do 70 °C, oddziałującej

w ciągu 40 min przy ciśnieniu 10 MPa. Natomiast Casas i wsp. [3] po 30-minutowym działaniu ditlenku węgla o ciśnieniu 10 MPa i temp. 30 °C uzyskali stopień inaktywacji przetrwalników *A. acidoterrestris* w przecierze jabłkowym o 4 log. Wyniki te różnią się od uzyskanych w badaniach własnych. Może to wskazywać na dużą zmienność szczepów w obrębie gatunku *A. acidoterrestris*, co wykazano również w pracy Skąpskiej i wsp. [18] oraz Sokolowskiej i wsp. [21, 22], ale także może być spowodowane różnicami w typie aparatury stosowanej w badaniach.



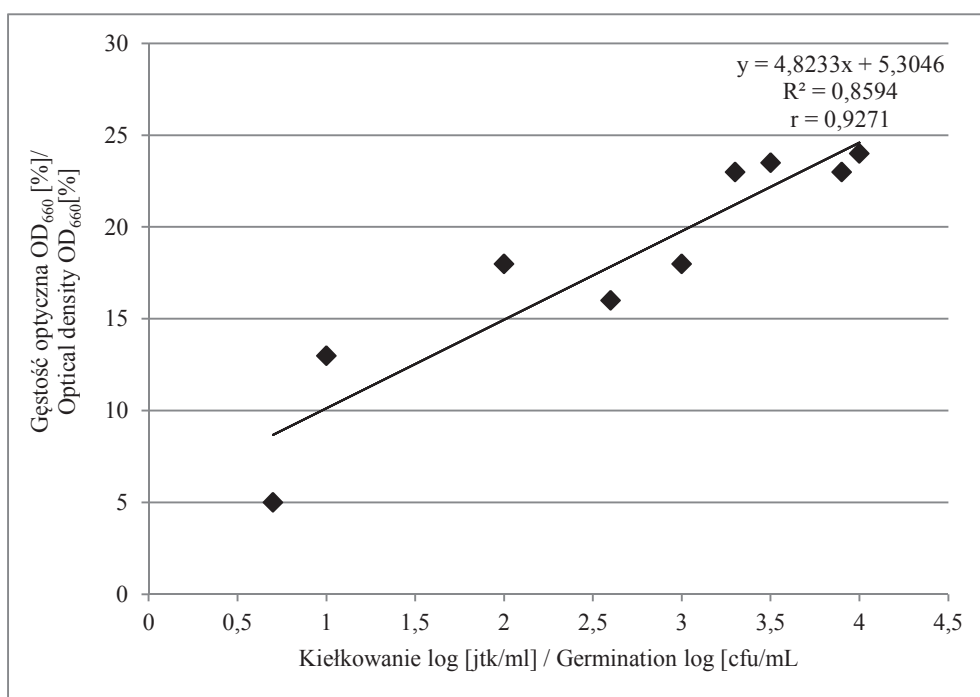
Rys. 3. Kielkowanie i inaktywacja przetrwalników *A. acidoterrestris* TO-169/06 poddanych działaniu SCCD o ciśnieniu 60 MPa i temp. 75 °C w roztworach buforowych

Fig. 3. Germination and inactivation of *A. acidoterrestris* TO-169/06 spores treated with 60 MPa SCCD at a pressure of 60 MPa and a temperature of 75 °C in buffer solutions

Sokolowska i wsp. [21, 22], Vercammen i wsp. [28] oraz Porębska i wsp. [15, 16] stwierdzili, że zarówno stopień kiełkowania, jak i inaktywacji przetrwalników *A. acidoterrestris* po działaniu wysokiego ciśnienia hydrostatycznego są zależne od rodzaju zastosowanego medium. Podobną zależność zaobserwowano w niniejszych badaniach. W odtworzonym soku jabłkowym stopień wykiełkowania i stopień inaktywacji przetrwalników *A. acidoterrestris* po 40 min działania nadkrytycznego ditlenku węgla przy ciśnieniu 60 MPa i w temp. 75 °C były najwyższe (rys. 1 i 2). W tych samych warunkach w buforze o pH 4,0 kiełkowanie przetrwalników było o 1 log mniejsze, a inaktywacja była na poziomie 2,7 log. W buforze o pH 7,0 liczba wykiełkowanych przetrwalników wynosiła 2,5 log, a redukcja przetrwalników była równa 1,1 log

(rys. 3). Wraz ze wzrostem wartości pH zaobserwowano niewielkie zmniejszenie kiełkowania przetrwalników i znaczne zmniejszenie stopnia ich inaktywacji. Podobne zależności stwierdzono w procesie kiełkowania przetrwalników *A. acidoterrestis* wywołanego wysokim ciśnieniem hydrostatycznym [28].

Zgodnie z informacjami dostępnymi w literaturze [27], metoda pomiaru gęstości optycznej pozwala na szybką wizualizację procesu kiełkowania przetrwalników. Wyniki uzyskane metodą pomiaru gęstości optycznej i klasyczną metodą płytkową przedstawiono na rys. 4. Zaobserwowano pozytywną korelację pomiędzy wynikami uzyskiwanymi tymi dwoma metodami ($r = 0,93$). W dalszych badaniach dynamiki kiełkowania przetrwalników *A. acidoterrestis* po działaniu SCCD zastosowano metodę pomiaru gęstości optycznej.



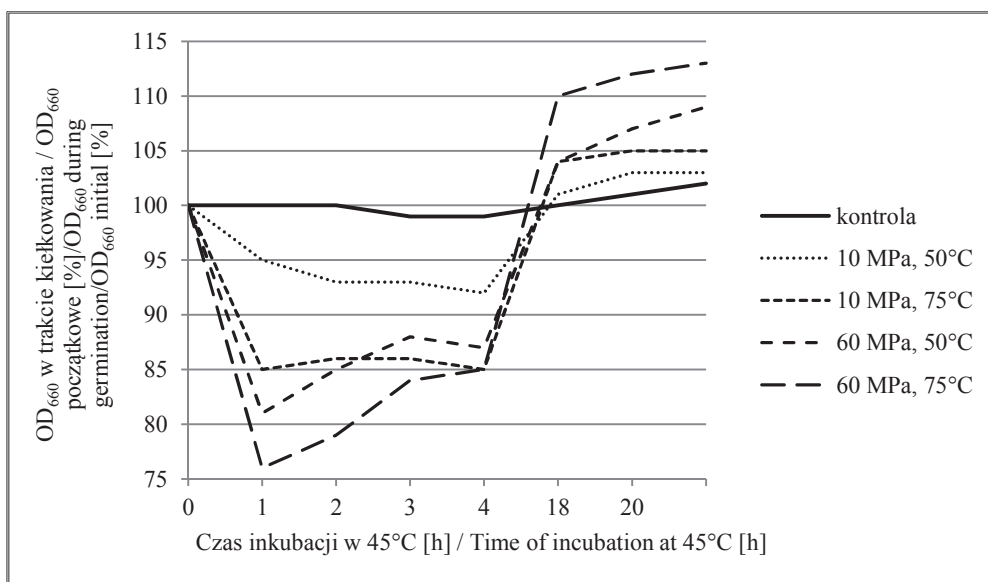
Rys. 4. Zmiany gęstości optycznej OD₆₀₀ zawiesiny przetrwalników *A. acidoterrestis* TO-169/06 w wyniku kiełkowania pod wpływem SCCD

Fig. 4. Changes in OD₆₀₀ optical density of *A. acidoterrestis* TO-169/06 spore suspension resulting from SCCD-induced germination

Na rys. 5. przedstawiono dynamikę kiełkowania przetrwalników *A. acidoterrestis* TO-169/06 po zastosowaniu SCCD o ciśnieniu 10 i 60 MPa w temp. 50 i 75 °C. Zaobserwowano zmniejszenie gęstości optycznej o 18 % w ciągu 1 h po 40 min dzia-

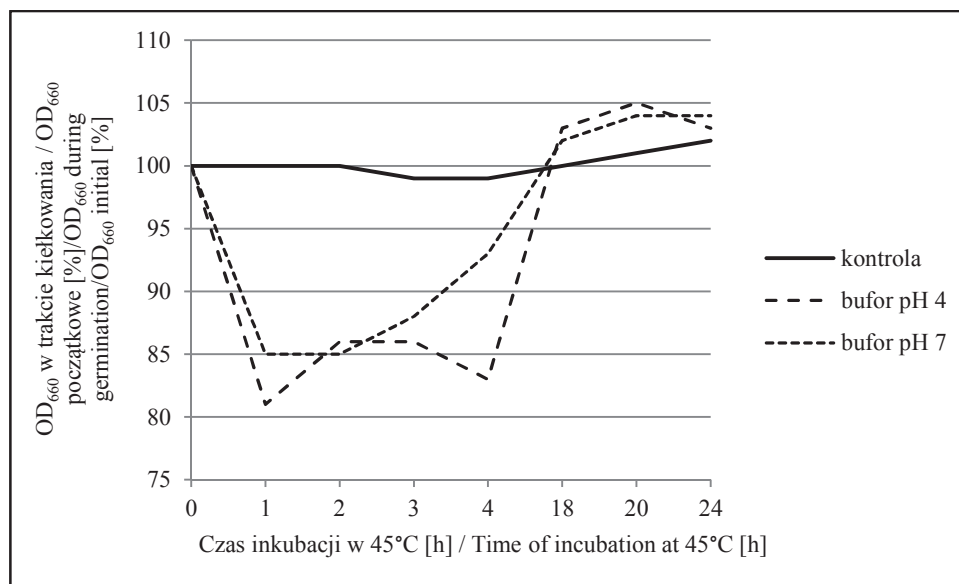
łania ciśnienia 60 MPa w temp. 50 °C. Natomiast podwyższenie temperatury do 75 °C spowodowało obniżenie wartości parametru OD₆₆₀ o 23 % ($p < 0,05$) po 1 h inkubacji, a następnie jego wzrost w czasie kolejnych 3 h inkubacji. Po dalszej inkubacji przez 18 h tych samych próbek soków w temp. 45 °C stwierdzono wzrost gęstości optycznej o ok. 10 % w temp. 50 °C i o 13 % w temp. 75 °C w porównaniu z próbką kontrolną. Przy zastosowaniu niższego ciśnienia – 10 MPa uzyskano mniej znaczące zmiany gęstości optycznej (rys. 5), jednak i w tym przypadku podwyższenie temperatury spowodowało zmniejszenie gęstości optycznej o ok. 15 %.

Zarówno wyniki uzyskane metodą płytkową (rys. 1), jak i metodą pomiaru gęstości optycznej (rys. 5), świadczą o tym, że kiełkowanie przetrwalników zależy od temperatury zastosowanego SCCD. Wyższa temperatura sprzyjała ich kiełkowaniu.



Rys. 5. Zmiany gęstości optycznej zawiesiny przetrwalników *A. acidoterrestis* TO-169/06 w czasie inkubacji w temp. 45 °C w soku jabłkowym, po 40 min działania SCCD (w temp. 50 i 75 °C i o ciśnieniu 10 i 60 MPa)

Fig. 5. Changes in optical density of *A. acidoterrestis* TO-169/06 spore suspension during incubation at a temperature of 45 °C in apple juice, after 40 min SCCD treatment (at temperatures of 50 and 75 °C and at pressure of 60 MPa)

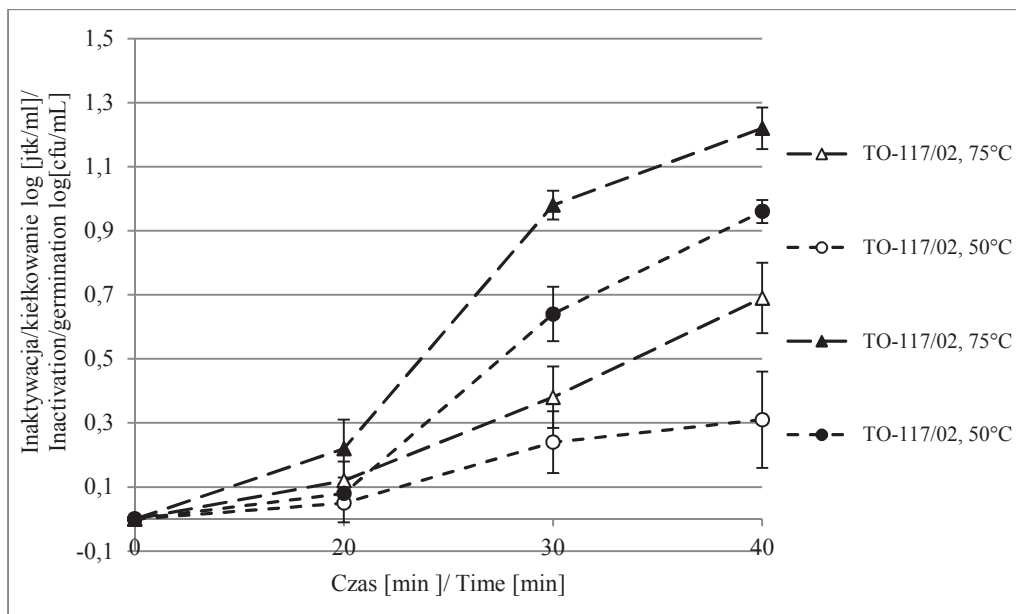


Rys. 6. Zmiany gęstości optycznej zawiesiny przetrwalników *A. acidoterrestis* TO-169/06 w czasie inkubacji w temp. 45 °C po 40 min działania SCCD (w temp. 75 °C o ciśnieniu 60 MPa) w soku jabłkowym (próba kontrolna) i w roztworach buforowych

Fig. 6. Changes in optical density of *A. acidoterrestis* TO-169/06 spore suspension during incubation at a temperature of 45 °C after 40 min SCCD treatment (at temperatures of 75 °C and at pressure of 60 MPa) in apple juice (control sample) and in buffer solutions

Na rys. 6. przedstawiono zmiany gęstości optycznej zawiesiny przetrwalników *A. acidoterrestis* zawieszonych w soku jabłkowym oraz w buforach o pH 4,0 i 7,0, w czasie ich inkubacji po działaniu SCCD o ciśnieniu 60 MPa, w temp. 75 °C po 40 min procesu. Po 1 h inkubacji w buforze o pH 4,0 zaobserwowano zmniejszenie wartości OD₆₆₀ o ok. 18 % ($p < 0,05$), natomiast w buforze o pH 7,0 – o 15 %. W soku jabłkowym obniżenie wartości parametru OD₆₆₀ było największe i wynosiło 23 % (rys. 5). Po 18 h inkubacji w temp. 45 °C stwierdzono wzrost wartości OD₆₆₀, w soku – o 13 %, w buforze o pH 4,0 – o 5 %, natomiast w buforze o pH 7,0 – o 3 % w porównaniu z próbką kontrolną, którą stanowiła zawiesina przetrwalników nietraktowana SCCD (rys. 6). Zarówno wyniki uzyskane metodą płytkową (rys. 3), jak i metodą pomiaru gęstości optycznej (rys. 6) świadczą o tym, że kiełkowanie przetrwalników *A. acidoterrestis* zależało od zastosowanego medium. Niższe wartości pH sprzyjały kiełkowaniu przetrwalników tej kwasolubnej bakterii, a zawartość składników odżywczych w soku jabłkowym prawdopodobnie dodatkowo pobudzała przetrwalniki do kiełkowania.

Podobne zależności stwierdzono w przypadku procesów kiełkowania i inaktywacji przetrwalników *A. acidoterrestis*, zachodzących pod wpływem wysokiego ciśnienia hydrostatycznego [22, 28].



Rys. 7. Kiełkowanie i inaktywacja przetrwalników *A. acidoterrestis* TO-117/02 po działaniu SCCD o ciśnieniu 60 MPa w soku jabłkowym

Fig. 7. Germination and inactivation of *A. acidoterrestis* TO-117/02 spores treated with SCCD at 60 MPa pressure in apple juice

Na rys. 7. przedstawiono dynamikę procesu kiełkowania i inaktywacji przetrwalników drugiego badanego szczepu *A. acidoterrestis* TO-117/02. Stwierdzono, że rodzaj badanego szczepu *A. acidoterrestis* miał bardzo istotne znaczenie. Przetrwalniki szczepu TO-117/02 były bardziej odporne na działanie SCCD i pomimo zastosowanej wysokiej temperatury, zarówno 50 °C, jak i wyższej – 75 °C oraz ciśnienia 60 MPa, nie uzyskano istotnego kiełkowania i inaktywacji. Natomiast przetrwalniki szczepu TO-169/06 były podatne na działanie SCCD w tych samych warunkach ciśnienia, w temp. 75 °C. Osiągnięto kiełkowanie na poziomie 3,9 log i inaktywację na poziomie 3,4 log (rys. 1 i 2). Wyniki te wskazują na duże różnicowanie szczepów w obrębie gatunku *A. acidoterrestis* pod wpływem działania czynników zewnętrznych. Podobne rezultaty uzyskali Skąpska i wsp. [18] oraz Sokolowska i wsp. [19, 20, 22] w badaniu oporności szczepów *A. acidoterrestis*. Zjawisko różnicowania szczepów w obrębie gatunku *A. acidoterrestis* wykazali także Bevilacqua i wsp. [2]. Procesy te mogą być związane

z istnieniem szeregu regulacji ekspresji genów w procesie kiełkowania i sporulacji, których poziom aktywności może być odmienny w zależności od szczepu.

W zastosowanych w niniejszej pracy warunkach wykazano istotny wpływ alternatywnej metody utrwalania żywności SCCD na inaktywację przetrwalników *A. acidoterrestris*. Zaobserwowano również proces kiełkowania przetrwalników i przechodzenia w stan wegetatywny po zastosowaniu odpowiednich parametrów procesu.

Wnioski

1. Zastosowanie nadkrytycznego ditlenku węgla o odpowiednich parametrach inicjuje proces kiełkowania przetrwalników *A. acidoterrestris* oraz prowadzi do ich inaktywacji, co wskazuje na konieczność dalszego badania mechanizmów kiełkowania i uwzględnienia tej wiedzy w projektowaniu procesów technologicznych.
2. Zdolność przetrwalników do kiełkowania i inaktywacji pod wpływem SCCD była zróżnicowana w zależności od szczepu.
3. Wyniki uzyskane w pracy potwierdzają wcześniejsze dane na temat zróżnicowania oporności zastosowanych szczepów na działanie temperatury.
4. Pomiar gęstości optycznej umożliwia oszacowanie stopnia wykiełkowania przetrwalników i pozwala na zobrazowanie dynamiki tego procesu.
5. Wyższa temperatura sprzyja kiełkowaniu i inaktywacji przetrwalników *A. acidoterrestris*.
6. Wraz ze wzrostem wartości pH zaobserwowano niewielkie zmniejszenie intensywności kiełkowania przetrwalników i znaczne zmniejszenie stopnia ich inaktywacji, natomiast niższe pH sprzyjało kiełkowaniu, a zawartość składników odżywczych w soku jabłkowym dodatkowo pobudzała przetrwalniki *A. acidoterrestris* do kiełkowania.

Literatura

- [1] Bae Y.Y., Lee H.J., Kim S.A., Rhee M.S.: Inactivation of *Alicyclobacillus acidoterrestris* spores in apple juice by supercritical carbon dioxide. *Int. J. Food Microbiol.*, 2009, **136**, 95-100.
- [2] Bevilacqua A., Cibelli F., Corbo M.R., Sinigaglia M.: Effects of high pressure homogenization on the survival of *Alicyclobacillus acidoterrestris* spores in a laboratory medium. *Lett. Appl. Microbiol.*, 2007, **45** (4), 382-386.
- [3] Casas J., Valverde M.T., Marin-Iniesta F., Calvo L.: Inactivation of *Alicyclobacillus acidoterrestris* spores by high pressure CO₂ in apple cream. *Int. J. Food Microbiol.*, 2012, **156** (1), 18-24.
- [4] Ferrentino G., Bruno M., Ferrari G., Poletto M., Balaban M.O.: Microbial inactivation and shelf life of apple juice treated with high pressure carbon dioxide. *J. Biol. Engineer.*, 2009, DOI: 10.1186/1754-1611-3-3.
- [5] Furukawa S., Watanabe T., Tai T., Hirata J., Narisawa N., Kawarai T., Ogihara H., Yamasaki M.: Effect of high pressure gaseous carbon dioxide on the germination of bacterial spores. *Int. J. Food Microbiol.*, 2004, **91**, 209-213.

- [6] Garcia-Gonzalez L., Geeraerd A.H., Spilimbergo S., Elst K., van Ginneken L., Debevere J., van Impe J.F., Devlieghere F.: High pressure carbon dioxide inactivation of microorganisms in foods: The past, the present and the future. *Int. J. Food Microbiol.*, 2007, **117**, 1-28.
- [7] Jung W.Y., Choi Y.M., Rhee M.S.: Potential use of supercritical carbon dioxide to decontaminate *Escherichia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes*, and *Salmonella typhimurium* in alfalfa sprouted seeds. *Int. J. Food Microbiol.*, 2009, **136**, 66-70.
- [8] Kato S., Masayama A., Yoshimura T., Hemmi H., Tsunoda H., Kihara T., Moriyama R.: Physiological role of carbon dioxide in spore germination of *Clostridium perfringens* S40. *J. Biosci. Bioeng.*, 2009, **108** (6), 477-483.
- [9] Marszałek K., Mitek M.: Wpływ utrwalania mikrofalowego w przepływie na zmiany antocyjanów, witaminy C i barwy puree truskawkowego. *Zesz. Prob. Post. Nauk Rol.*, 2011, **566**, 135-142.
- [10] Nasiłowska J., Sokołowska B.: Zastosowanie pulsacyjnego pola elektrycznego do utrwalania soków owocowych i warzywnych. *Przem. Ferm. Owoc. Warz.*, 2014, **4**, 21-23.
- [11] Nguyen Thi Minh H., Dantigny P., Perrier-Cornet J.M., Gervais P.: Germination and inactivation of *Bacillus subtilis* spores induced by moderate hydrostatic pressure. *Biotechnol. Bioeng.*, 2010, **107**, 876-883.
- [12] Oey I., Lille M., Van Loey A., Hendrickx M.: Effect of high-pressure processing on colour, texture and flavour of fruit and vegetable-based food products: A review. *Trends Food Sci. Technol.*, 2008, **19**, 320-328.
- [13] Paidhungat M., Setlow B., Daniels W.B., Hoover D., Papafragkou E., Setlow P.: Mechanisms of induction of germination of *Bacillus subtilis* spores by high pressure. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2002, **68**, 3172-3175.
- [14] Pandey R., Beek A.T., Vischer N.O., Smelt J.P., Brul S., Manders E.M.: Live cell imaging of germination and outgrowth of individual *Bacillus subtilis* spores; the effect of heat stress quantitatively analyzed with SporeTracker. *PLoS One*, 2013, **8** (3), 1-10.
- [15] Porębska I., Niezgoda J., Rutkowska M., Sokołowska B.: Wpływ wysokiego ciśnienia hydrostatycznego na dynamikę kiełkowania przetrwalników *Alicyclobacillus acidoterrestris* w soku jabłkowym. *Post. Nauki Technol. Przem. Rolno-Spoż.*, 2013, **63** (3), 5-18.
- [16] Porębska I., Rutkowska M., Sokołowska B.: Decrease in optical density as a results of germination of *Alicyclobacillus acidoterrestris* spores under high hydrostatic pressure. *High Pressure Res.*, 2015, **35** (1), 89-97.
- [17] Sirsee U., Hsieh F., Huff H.E.: Microbial safety of supercritical carbon dioxide processes. *J. Food Process Pres.*, 1998, **22** (5), 387-403.
- [18] Skąpska S., Sokołowska B., Fonberg-Broczek M., Niezgoda J., Chotkiewicz M., Dekowska A.: Zastosowanie pasteryzacji wysokociśnieniowej do inaktywacji *Alicyclobacillus acidoterrestris* w soku jabłkowym. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2012, **82** (3), 187-196.
- [19] Sokołowska B., Niezgoda J., Bytońska M., Łaniewska-Trokenheim Ł.: Ciepłoporność przetrwalników *Alicyclobacillus acidoterrestris*. *Przem. Ferm. Owoc. Warz.*, 2008, **12**, 22-27.
- [20] Sokołowska B., Niezgoda J., Chotkiewicz M.: Wpływ nizyny i lizozymu na wzrost szczepów *Alicyclobacillus acidoterrestris* oraz możliwość zastosowania tych związków jako biokonserwantów w soku jabłkowym. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2012, **83** (4), 44-54.
- [21] Sokołowska B., Skąpska S., Fonberg-Broczek M., Niezgoda J., Chotkiewicz M., Dekowska A., Rzoska S.J.: Factors influencing the inactivation of *Alicyclobacillus acidoterrestris* spores exposed to high hydrostatic pressure in apple juice. *High Pressure Res.*, 2013, **33** (1), 73-82.
- [22] Sokołowska B., Skąpska S., Fonberg-Broczek M., Niezgoda J., Porębska I., Dekowska A., Rzoska S.J.: Germination and inactivation of *Alicyclobacillus acidoterrestris* spores induced by moderate hydrostatic pressure. *Pol. J. Microbiol.*, 2015, **64** (4), 351-359.

- [23] Spilimbergo S., Komes D., Vojvodic A., Levaj B., Ferrentino G.: High pressure carbon dioxide pasteurization of fresh-cut carrot. *J. Supercrit. Fluid.*, 2013, **79**, 92-100.
- [24] Rawson A., Tiwari B.K., Brunton N., Brennan C., Cullen P.J., O'Donnell C.P.: Application of supercritical carbon dioxide to fruit and vegetables: Extraction, processing, and preservation. *Food Rev. J.*, 2012, **28** (3), 253-276.
- [25] Rendueles E., Omer M.K., Alvseike O., Alonso-Calleja C., Capita R., Pietro M.: Microbiological food safety assessment of high hydrostatic pressure processing: A review. *LWT-Food Sci. Technol.*, 2011, **44**, 1251-1260.
- [26] Tajchakavit S., Ramaswamy H.S., Fustier P.: Enhanced destruction of spoilage microorganisms in apple juice during continuous flow microwave heating. *Food Res. Int.*, 1998, **31** (10), 713-722.
- [27] Terano H., Takahashi K., Sakakibara Y.: Characterization of spore germination of a thermoacidophilic spore-forming bacterium, *Alicyclobacillus acidoterrestris*. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 2005, **69**, 1217-1220.
- [28] Vercammen A., Vivijis B., Lurquin I., Michiels C.W.: Germination and inactivation of *Bacillus coagulans* and *Alicyclobacillus acidoterrestris* spores by high hydrostatic pressure treatment in buffer and tomato sauce. *Int. J. Food Microbiol.*, 2009, **136**, 95-100.
- [29] Watanabe T., Furukawa S., Hirata J., Koyama T., Ogihara H., Yamasaki M.: Inactivation of *Geobacillus stearothermophilus* spores by high-pressure carbon dioxide treatment. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2003, **69**, 7124-7129.

EFFECT OF SUPERCRITICAL CARBON DIOXIDE ON INACTIVATION AND GERMINATION OF *ALICYCLOBACILLUS ACIDOTERRESTRIS* SPORES

Summary

The spores of thermophilic, acidophilic bacterium *Alicyclobacillus acidoterrestris* are resistant to external factors and can develop in juices during storage. They produce compounds that smell like disinfectants, i.a., guaiacol, and lead to the spoilage of juices. The increasing of the degree of spore germination during the process of food preservation can contribute to their effective inactivation.

The objective of the research study was to characterise the course of the germination process and the inactivation degree of *Alicyclobacillus acidoterrestris* spores initiated by supercritical carbon dioxide (SCCD).

The spores suspended in apple juice and in buffers of pH 4.0 and pH 7.0 were treated with SCCD at a pressure of 10-60 MPa, at temperatures of 50 ÷ 75 °C, for 20 ÷ 40 min. After 40 min SCCD treatment at 60 MPa and at 75 °C, the count of spore germination in apple juice was 3.9 log, of which 3.4 log were inactivated. In the pH 4.0 buffer and under the same process conditions, a lower degree of germination (3.2 log) and inactivation (2.7log) was achieved. In the pH 7.0 buffer, the germination of 2.5 log was reported and the spore inactivation of 1.1 log. A significant correlation was found between the results of germination degree estimation that were obtained using a plate method and a method of measuring the decrease in optical density. The temperature of the SCCD applied turned out to be a factor to significantly impact the degree of germination and the inactivation of *A. acidoterrestris* spores. Along with the decrease in pH, a slight increase in the degree of spore germination was observed and a significant increase in the inactivation of the *A. acidoterrestris* spores treated with SCCD; the content of nutrients in apple juice further increased the degree of germination.

Key words: *Alicyclobacillus acidoterrestris*, apple juice, spores, germination, inactivation, supercritical carbon dioxide, optical density ☒

HENRYK KOSTYRA, ELŻBIETA KOSTYRA, DAGMARA ŻŁOTKOWSKA

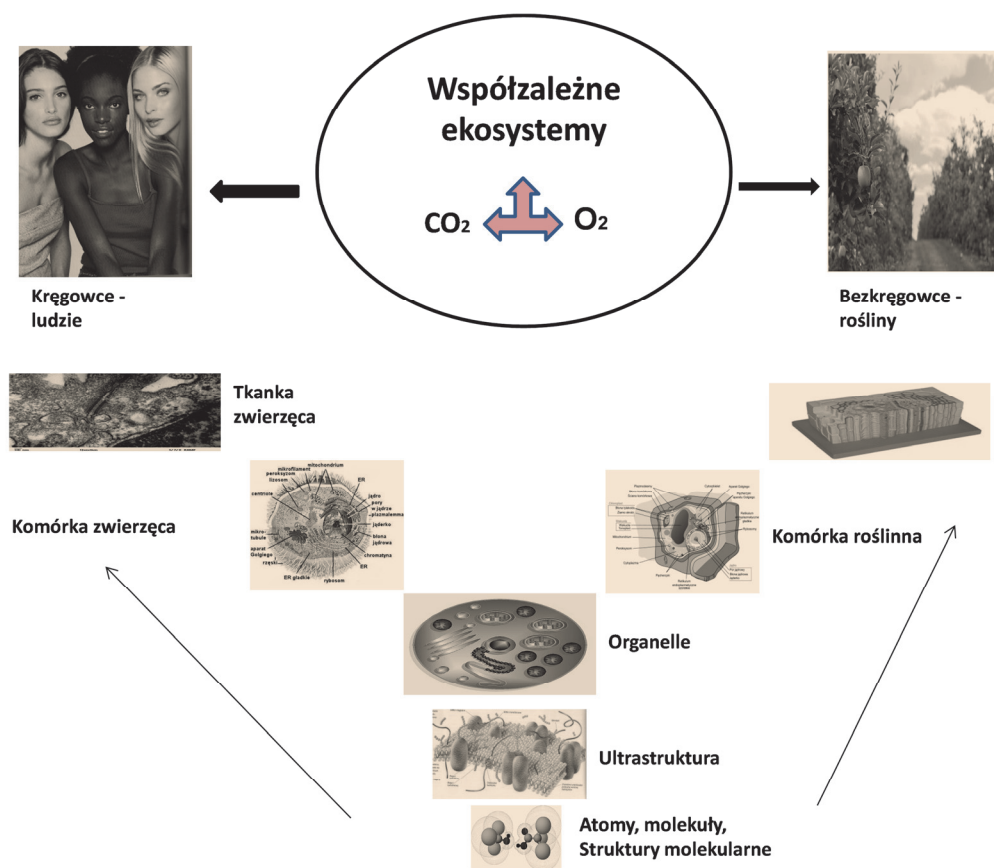
CHEMIA BIONIEORGANICZNA I BIOORGANICZNA ŻYWNOSCI

Od bieżącego numeru, 104(1)/2016, rozpoczynamy publikowanie nowego cyklu nt. „Chemia bionieorganiczna i bioorganiczna żywności”. Wyrażamy nadzieję, że te syntetyczne opracowania będą dla naszych Czytelników interesujące.

Nie sposób rozpocząć nowego cyklu artykułów od zadania pytania o przyczynę wprowadzenia do chemii żywności zagadnień z chemii bionieorganicznej i bioorganicznej. Współczesne zagadnienia chemii żywności są szeroko przedstawione w najnowszej książce pt. „Chemia żywności”, będącej pracą zbiorową pod redakcją Zdzisława E. Sikorskiego i Hanny Staroszczyk. Z lektury tej książki wynika, że chemia żywności jest nauką interdyscyplinarną i ewolucyjną. Może to oznaczać, że jej definicja ma charakter dynamiczny i zależy od koncepcji autorów. Już to jest wystarczającym powodem do wzbogacania chemii żywności w zagadnienia z chemii bionieorganicznej i bioorganicznej. Czym jest więc chemia bionieorganiczna i bioorganiczna chemii żywności. Według autorów tego artykułu jest ona syntezą problemów dotyczących żywności w aspekcie osiągnięć naukowych z biochemii, chemii nieorganicznej i organicznej w ewolucyjnym wymiarze. Tak więc będą one wzbogacać wiedzę o żywności, a pośrednio i żywienia człowieka o ogólne zasady łączące ze sobą pozornie odległe zagadnienia. Ewolucyjny charakter chemii żywności będzie akcentowany poprzez symbiozę rozwoju organizmów żywych z materią nieożywioną, dowodząc tym samym współzależności istnienia człowieka od środowiska naturalnego. Człowiek jest wytworem przyrody i niezmiennie pozostaje częścią jej bioróżnorodności i zmienności, co schematycznie przedstawiono na rys. 1. Analiza tego schematu dowodzi, że chemia

Prof. dr hab. H. Kostyra, Pracownia Nutrikosmetyki, Wydz. Zdrowia Publicznego, Olsztyńska Szkoła Wyższa im. J. Rusieckiego, ul. Bydgoska 33, 10-243 Olsztyn, prof. dr hab. E. Kostyra, Katedra Biochemii, Wydz. Biologii i Biotechnologii, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, ul. Oczapowskiego 1 a, 10-719 Olsztyn, dr hab. D. Żłotkowska, Zakład Immunologii i Mikrobiologii Żywności, Instytut Rozrodu Zwierząt i Badań Żywności PAN w Olsztynie, ul. Tuwima 10, 10-748 Olsztyn.

żywności towarzyszyła i nadal będzie towarzyszyć człowiekowi przez cały okres ewolucji życia na Ziemi, które jest kształtowane metodą nawarstwiania się molekuł chemicznych i wzajemną ich interakcją. Nie znamy celu ewolucji, a jedynie doświadczamy i rejestrujemy jej skutki. Analiza przedstawionego schematu uzasadnia również dążenie badaczy do poznania molekularnych podstaw życia na Ziemi. Warto zasymulizować, że żywność stanowi pewną wypadkową pomiędzy jej naturą chemiczną i funkcją biologiczną. Żywność należy uznać za egzo- i endogenny układ związków chemicznych, które po spożyciu zapewniają człowiekowi prawidłowe fizjologiczne i psychiczne funkcjonowanie. Poza tym należy pamiętać, że żywność i żywienie są układem wzajemnie interaktywnym, którego poznanie może ograniczać ryzyko życiowe człowieka.



Rys. 1. Schemat ewolucji fauny i flory na Ziemi

Omawiane w kolejnych artykułach zagadnienia z zakresu chemii bionieorganicznej i bioorganicznej żywności będą dotyczyły głównie roli konformacji związków chemicznych obecnych w żywności i środowisku naturalnym w kształtowaniu ich właściwości biologicznych. Dodatkowym zamierzeniem autorów jest sprowokowanie dyskusji interdyscyplinarnej wśród badaczy. dzięki której powstanie podstawa do merytorycznej argumentacji dla technologów żywności. Z przyczyn ekonomicznych technolog traktuje bowiem często żywność jako matematyczną sumę biologicznie aktywnych składników bez uwzględnienia ich wzajemnych międzyskładnikowych interakcji. ☒

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 stycznia 2016 r.

Polskie akty prawne

1. Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dn. 9 października 2007 r. w sprawie składu oraz oznakowania suplementów diety (tekst jednolity) (Dz. U. 2015 r., poz. 2032). Został ogłoszony jednolity tekst rozporządzenia Ministra Zdrowia z dn. 9 października 2007 r. w sprawie składu oraz oznakowania suplementów diety
Niniejsze rozporządzenie określa:
 - wykaz witamin i składników mineralnych oraz ich formy chemiczne, które mogą być stosowane w produkcji suplementów diety,
 - szczególne wymagania w zakresie oznakowania suplementów diety,
 - dodatkowe wymagania dotyczące zawartości w suplementach diety witamin i składników mineralnych, w tym kryteria czystości oraz poziom witamin i składników mineralnych w suplemencie diety.
2. Ustawa z dn. 22 maja 2009 r. o funduszach promocji produktów rolno-spożywczych (tekst jednolity) (Dz. U. 2015 r., poz. 2122).
Ogłoszono jednolity tekst ustawy z dn. 22 maja 2009 r. o funduszach promocji produktów rolno-spożywczych. Ustawa reguluje tworzenie, zadania, zasady finansowania, organizację i funkcjonowanie funduszy promocji produktów rolno-spożywczych.
W celu wspierania marketingu rolnego, wzrostu spożycia i promocji produktów rolno-spożywczych zostały stworzone następujące fundusze promocji: Fundusz

Promocji Mleka, Fundusz Promocji Mięsa Wieprzowego, Fundusz Promocji Mięsa Wołowego, Fundusz Promocji Mięsa Końskiego, Fundusz Promocji Mięsa Owczego, Fundusz Promocji Ziarna Zbóż i Przetworów Zbożowych, Fundusz Promocji Owoców i Warzyw, Fundusz Promocji Mięsa Drobiowego oraz Fundusz Promocji Ryb.

3. Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dn. 10 grudnia 2015 r. w sprawie zmian do zatwierdzonych planów dochodzenia do uznania wstępnie uznanej grupy producentów owoców i warzyw za organizację producentów owoców i warzyw, które nie wymagają wydania decyzji w sprawie zmian do zatwierdzonych planów (Dz. U. 2015 r., poz. 2151).

W rozporządzeniu określono zmiany do zatwierdzonych planów dochodzenia do uznania wstępnie uznanej grupy producentów owoców i warzyw za organizację producentów owoców i warzyw, wprowadzane w trakcie okresu rocznego lub półrocznego, które nie wymagają wydania przez dyrektora oddziału terenowego Agencji Rynku Rolnego właściwego ze względu na siedzibę wstępnie uznanej grupy producentów owoców i warzyw decyzji w sprawie zmian do zatwierdzonych planów dochodzenia do uznania oraz tryb przekazywania informacji o zmianach.

Unijne akty prawne

1. Dyrektywa (UE) 2015/2203 Parlamentu Europejskiego i Rady z dn. 25 listopada 2015 w sprawie zbliżenia ustawodawstw państw członkowskich odnoszących się do kazeiny i kazeinianów przeznaczonych do spożycia przez ludzi i uchylająca dyrektywę Rady 83/417 / EWG (Dz. Urz. UE L 2015 r., Nr 314, s.1).

Dyrektywę stosuje się do kazeiny i kazeinianów oraz ich mieszanin, które są przeznaczone do spożycia przez ludzi.

Na użytek niniejszej dyrektywy zastosowanie mają następujące definicje:

- „spożywcza kazeina kwasowa” oznacza produkt mleczny otrzymany w drodze oddzielenia, czyszczenia i suszenia wytrącanego kwasem koagulatu odtłuszczonego mleka lub innych produktów otrzymanych z mleka,
- „spożywcza kazeina podpuszczkowa” oznacza produkt mleczny otrzymany w drodze oddzielenia, czyszczenia i suszenia koagulatu odtłuszczonego mleka lub innych produktów otrzymanych z mleka; koagulat otrzymuje się w drodze reakcji podpuszczki lub innych enzymów koagulujących,
- „kazeinian spożywczy” oznacza produkt mleczny otrzymany w drodze poddania kazeiny spożywczej lub ziaren koagulatu kazeiny spożywczej działaniu czynników neutralizujących, po którym następuje suszenie.

Dane szczegółowe muszą być umieszczone na opakowaniach, pojemnikach lub etykietach produktów mlecznych w łatwy sposób, widoczny, czytelny i nieusuwalny.

2. Rozporządzenie Wykonawcze Komisji (UE) 2015/230 z dn. 10 grudnia 2015 r. dotyczące zezwolenia na stosowanie wodorosiarczynu sodowego menadionu i wodorosiarczynu nikotynoamidomenadionu jako dodatków paszowych dla wszystkich gatunków zwierząt (Tekst mający znaczenie dla EOG) (Dz. Urz. UE L 2015 r., Nr 326, s. 49).

Wodorosiarczyn sodowy menadionu lub witamina K₃ oraz wodorosiarczyn nikotynoamidomenadionu lub witamina K₃ zostają dopuszczone jako dodatki paszowe stosowane w żywieniu zwierząt zgodnie z warunkami określonymi w załączniku do rozporządzenia.

3. Rozporządzenie Komisji (UE) 2016/56 z dn. 19 stycznia 2016 r. zmieniające załącznik II do rozporządzenia (WE) nr 1333/2008 Parlamentu Europejskiego i Rady w odniesieniu do korzystania z wyciągów z rozmarynu (E 392) w tłuszczach do smarowania (Tekst mający znaczenie dla EOG) (Dz. Urz. UE L 2015 r., Nr 13 s. 46).

Ekstrakt z rozmarynu (E 392) zostaje dopuszczony jako dodatek do żywności, ale tylko w tłuszczach do smarowania o zawartości tłuszczu poniżej 80 %.

Załącznik II do rozporządzenia (WE) nr 1333/2008 zostaje zmieniony zgodnie z załącznikiem do niniejszego rozporządzenia. ☒

NOWE KSIĄŻKI

Flow Injection Analysis of Food Additives

[Analiza przepływowo-wstrzykowa substancji dodatkowych do żywności]

Claudia Ruiz-Capillas, Leo M. L. Nollet (Eds.)

Wydawnictwo: CRC Press, 2015, ISBN 9781482218190, stron 736, cena 121,00 £

Zamówienia: www.crcpress.com

Publikacja obejmuje prace osiemdziesięciu autorów z czternastu krajów związane z wykorzystaniem FIA w analizie dodatków do żywności oraz wybranych składników żywności. W książce omówiono analizę przepływowo-wstrzykową (FIA) jako użyteczne narzędzie w analizie substancji dodatkowych stosowanych w przetwórstwie żywności. W pierwszej części scharakteryzowano metodę FIA oraz opisano jej rozwój i zastosowanie. W drugiej części przedyskutowano zastosowanie tej metody w wykrywaniu i oznaczaniu zawartości substancji dodatkowych do żywności. Omówiono również sposoby przygotowania próbek. W ostatniej części opisano możliwość wykorzystania metody FIA w ocenie właściwości przeciwutleniających, przeciwdrobnoustrojowych oraz w analizie kwasowości omawianych substancji. Książka będzie przydatna przede wszystkim dla analityków i kontrolerów żywności, a także dla naukowców zajmujących się badaniami produktów żywnościowych.

Enzymes in Food and Beverage Processing

[Enzymy w przetwórstwie żywności i napojów]

Muthusamy Chandrasekaran

Wydawnictwo: CRC Press, 2015, ISBN 9781482221282, stron 104, cena 121,00 £

Zamówienia: www.crcpress.com

W książce przedstawiono nowe technologie stosowane w procesie otrzymywania enzymów spożywczych. Przeanalizowano ich zastosowanie w przetwórstwie żywności i napojów oraz w opracowywaniu nowych produktów. Ponadto omówiono zakres projektowania nowej gamy produktów spożywczych z wykorzystaniem technologii enzymatycznych, takich jak: żywność funkcjonalna, środki odżywcze i probiotyki. Przedstawiono także możliwości stosowania enzymów jako inhibitorów oraz jako czynników pośredniczących w biotransformacji w celu wydajniejszego przetwarzania

żywności i napojów. Książka polecana jest dla technologów i biotechnologów żywności oraz dla osób zajmujących się modyfikowaniem i projektowaniem nowych produktów żywnościowych.

Nutraceuticals and Functional Foods in Human Health and Disease Prevention
[Nutraceutyki i żywność funkcjonalna w zachowaniu zdrowia człowieka i prewencji chorób]

Debasis Bagchi, Harry G. Preuss, Anand Swaroop

Wydawnictwo: CRC Press, 2015, ISBN 9781482237214, stron 700, cena 95,00 £

Zamówienia: www.crcpress.com

Autorzy omówili korzyści wynikające ze stosowania właściwie zaprojektowanych nutraceutyków i żywności funkcjonalnej. Wskazali na skuteczność tych produktów w ochronie zdrowia ludzkiego i ich ewentualne zastosowanie w zapobieganiu chorobom. W książce przeanalizowano bezpieczeństwo i toksyczność suplementów oraz naturalnych przeciwutleniaczy, a następnie przedstawiono zalecenia dotyczące ich dawkowania. Scharakteryzowano rolę żywności funkcjonalnej w różnych chorobach, m.in. w zapaleniu stawów, nowotworach, otyłości, chorobach sercowo-naczyniowych, zaburzeniach żołądkowo-jelitowych oraz w chorobach wątroby. Ponadto przedstawiono informacje dotyczące prozdrowotnego wpływu naturalnych suplementów na stan skóry, paznokci i gojenie się ran oraz na zwalczanie łysienia.

Książka polecana jest dla osób interesujących się bezpieczeństwem żywności i prozdrowotnymi właściwościami żywności oraz dla studentów kierunków technologii żywności i żywienia.

Opakowania i pakowanie żywności. Wybrane zagadnienia

Leszczyński Krzysztof (Red.), Żbikowska Anna (Red.)

Wydawnictwo: Wyd. SGGW, 2016, ISBN 978-83-7583-659-2, stron 212, cena 28,00zł

Zamówienia: www.wydawnictwosggw.pl

W podręczniku podjęto próbę usystematyzowania podstawowych wiadomości na temat zagadnień związanych z opakowaniami i pakowaniem żywności. Przedstawiono złożoność procesu doboru i oceny opakowań przeznaczonych do kontaktu z żywnością. Poszczególne rozdziały obejmują ogólne definicje opakowań oraz zagadnienia dotyczące ich roli w procesie dostarczania produktów od producenta do konsumenta. Wymaga to znajomości właściwości materiałów opakowaniowych i pakowanych produktów, rozwiązań w zakresie konstrukcji opakowań jednostkowych, zbiorczych i transportowych. Omówiono również cechy podstawowych materiałów opakowaniowych i opakowań z nich wytworzonych, sposoby projektowania, znakowania oraz

pakowania opakowań. Omówiono także zagadnienia związane z towaroznawczą oceną różnych opakowań rynkowych. Poszczególne rozdziały kończą się opisem ćwiczeń, które pozwalają studiującym na uzyskanie umiejętności w omawianym zakresie. Książka polecana jest dla studentów kierunków związanych z żywnością oraz dla osób zawodowo zajmujących się opakowalnictwem żywności.

Traditional Foods. General and Consumer Aspects

[Żywność tradycyjna. Aspekty ogólne i konsumenckie]

Kristbergsson Kristberg, Oliveira Jorge (Eds.)

Wydawnictwo: Springer, 2016, ISBN 978-1-4899-7646-8, stron 416, cena: 139,00 €

Zamówienia: www.springer.com

Pierwszy tom trylogii „Żywność tradycyjna” zawiera charakterystykę ogólnych i konsumenckich aspektów żywności tradycyjnej. W książce przedstawiono wiele receptur żywności tradycyjnej z całego świata, a niektóre rozdziały zawierają szczegółowy opis, w jaki sposób przygotowywać, gotować, piec lub przechowywać określone rodzaje żywności w celu uzyskania pożądanego efektu. Publikacja ma charakter aplikacyjny, polecana jest dla osób zajmujących się żywieniem człowieka, poszukujących tradycyjnych surowców i przepisów oraz dla studentów kierunków związanych z żywnością.

Opracowała: Lesław Juszcak

TWÓRCY POLSKIEJ NAUKI O ŻYWNOSCI

PROF. DR HAB. INŻ. ZBIGNIEW ŚMIETANA (1942 - 2012)



Prof. dr hab. Zbigniew Śmietana urodził się 23 września 1942 r. w Kiełpinach. Ukończył studia na Wydziale Technologii Mleczarskiej i Żywności Wyższej Szkoły Rolniczej w Olsztynie w 1966 r. Bezpośrednio po ukończeniu studiów podjął pracę w macierzystej Uczelni (nazwy w kolejności zmian: Wyższa Szkoła Rolnicza – WSR, Akademia Rolniczo-Techniczna – ART, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski – UWM), z którą był związany przez 43 lata życia zawodowego. Kolejno uzyskiwał tutaj stopnie naukowe doktora i doktora habilitowanego nauk technicznych w zakresie technologii i chemii żywności oraz tytuł naukowy profesora nadzwyczajnego i stanowisko profesora zwyczajnego.

Zainteresowania badawcze Profesora dotyczyły głównie: chemii i technologii białek mleka, inżynierii i technologii tradycyjnych i nowych produktów mleczarskich oraz biotechnologicznego zagospodarowania produktów ubocznych przemysłu mleczarskiego. Dorobek naukowy Profesora obejmuje ponad 600 prac naukowych, rozwojowych i wdrożeniowych, w tym 167 oryginalnych prac naukowych opublikowanych w renomowanych czasopiśmie, 3 podręczniki oraz 58 patentów, zarówno krajowych, jak i zagranicznych.

Ukoronowaniem wieloletniej aktywności naukowej i wdrożeniowej Profesora Zbigniewa Śmietany oraz całego olsztyńskiego ośrodka naukowego i dydaktycznego jest powołanie na Wydziale Nauki o Żywności UWM Warmińsko-Mazurskiego Centrum Doskonałości Mleczarstwa o akronimie „WAMADAIREC”. Centrum przystosowywało krajowe mleczarstwo do integracji z Unią Europejską poprzez realizację takich

celów, jak: edukacja, badania naukowe, współpraca i promocja. Będzie to dobrze służyło rozwojowi regionu i kraju oraz naszej pozycji w integrującej się Europie. Wszechstronna działalność Warmińsko-Mazurskiego Centrum Doskonałości Mleczarstwa WAMADAIREC przysłużyła się dobrze rozwojowi regionu warmińsko-mazurskiego i ogólnokrajowego mleczarstwa.

Profesor był członkiem wielu instytucji opiniotwórczych i pełnił wiele funkcji zarówno w gremiach naukowych (Przewodniczący Rady Naukowej Instytutu Rozrodu Zwierząt i Badań Żywności PAN w Olsztynie), jak i gospodarczych. Przez wiele lat był członkiem Rady Gospodarki Żywnościowej przy Ministrze Rolnictwa, był także doradcą Ministra Rolnictwa, a następnie członkiem Zespołu Konsultantów Prezydenta Rzeczypospolitej Polskiej oraz innych prestiżowych organizacji naukowych i gospodarczych.

Jako doradca Ministra Rolnictwa aktywnie uczestniczył w opracowaniu i realizacji ogólnopolskiego programu dotyczącego restrukturyzacji mleczarstwa w ramach dostosowywania go do standardów Unii Europejskiej. Wówczas to zrodził się zasadniczy plan restrukturyzacji i rozwoju polskiego mleczarstwa, a następnie zalecenia przygotowania planów restrukturyzacji branży mleczarskiej w każdym województwie.

Profesor Zbigniew Śmietana wraz z innymi polskimi mleczarzami wykonał pionierską pracę, dzięki której polska branża mleczarska stosunkowo dobrze radzi sobie w realiach unijnej gospodarki rynkowej. Mleczarstwo w Polsce dokonało ogromnego technologicznego skoku, a jego wyroby pod względem jakości uchodzą za jedne z najlepszych na kontynencie europejskim.

Profesor swoją wiedzą naukową i doświadczeniem przyczynił się do wprowadzenia nowych technik i technologii wytwarzania produktów mleczarskich o najwyższej jakości. Wśród nich na szczególną uwagę zasługują: sery twarogowe oraz napoje fermentowane. Opracował wiele urządzeń i systemów technologicznych, które są wytwarzane przez firmy regionalne, krajowe a nawet zagraniczne. Przyczynił się do rozwoju wielu firm regionalnych, produkujących urządzenia i linie technologiczne dla branży mleczarskiej, takich jak: Tewes-Bis, Ogram, Bujalski, Argo, Bilolakta-Food. Włączył także do współpracy na rzecz regionu firmy o zasięgu międzynarodowym, m.in. Alpha, Ecolab, Chr. Hansen, GEA, Tetra Pak, Elopak, Zenits, CSK, Cryovac, Kolith. W ten sposób region olsztyński stał się największym centrum, nie tylko nauki i myśli techniczno-technologicznej, ale również krajowym ośrodkiem wytwarzania specjalistycznych maszyn i urządzeń dla przemysłu spożywczego, szczególnie mleczarstwa. Dowodzą tego uzyskane medale, nagrody i wyróżnienia. (Polagra, Polfood, Atut, Polexport).

Z inicjatywy Profesora organizowane jest od kilku lat Międzynarodowe Sympozjum „Postęp w technice, technologii i organizacji mleczarstwa” oraz konferencje: „Problemy gospodarki energią i środowiskiem w mleczarstwie”, a także „Technika i technologia w przemyśle mleczarskim”.

Profesor Zbigniew Śmietana dążył do integracji nauki i gospodarki. Za działania na rzecz współpracy nauki z przemysłem rolno-spożywczym, a w szczególności za działania dotyczące restrukturyzacji mleczarstwa polskiego w okresie przemian społeczno-ekonomicznych w Polsce, Warmińsko-Mazurski Klub Biznesu przyznał profesorowi Zbigniewowi Śmietanie honorowy tytuł „Osobowość Warmii i Mazur Roku 2003”. Natomiast w 2007 r., w XVI edycji Konkursu „Agrobiznesmen roku”, profesor Zbigniew Śmietana otrzymał oficerską honorową szablę, będącą symbolicznym wyrazem uznania wkładu wniesionego w rozwój gospodarki rolno-żywnościowej.

Profesor Śmietana był cenionym nauczycielem i wychowawcą wielu pokoleń młodzieży akademickiej oraz kadry naukowej i dydaktycznej. Był promotorem i recenzentem licznych prac doktorskich, habilitacyjnych i wniosków o nadanie tytułu profesora.

W macierzystej uczelni Profesor Zbigniew Śmietana pełnił wiele funkcji: zastępcy dyrektora i dyrektora Instytutu Technologii Mleczarskiej, prodziekana Wydziału Technologii Żywności (1984 - 1987 ART), prorektora ART ds. nauki, rozwoju i współpracy z gospodarką (1987 - 1990), dziekana Wydziału Technologii Żywności (1996 - 1999 ART) oraz dwie kadencje dziekana Wydziału Nauki o Żywności (1999 - 2005 UWM). Był Profesorem wizytującym w jednostkach naukowych i innowacyjnych Niemiec, Austrii, Danii, Holandii, Szwecji, Algierii, Francji, Irlandii i USA.

Za działalność naukową Pan Profesor został odznaczony m.in. Krzyżem Oficerskim Orderu Odrodzenia Polski, Krzyżem Kawalerskim Orderu Odrodzenia Polski, Medalem Komisji Edukacji Narodowej oraz licznymi medalami uczelnianymi i branżowymi oraz Złotą Odznaką Zasłużony dla Stowarzyszenia Absolwentów Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie.

Dr inż. Janusz F. Pomianowski

Z ŻAŁOBNEJ KARTY

PROF. DR HAB. BARBARA SZTEKE 1936-2015



Dnia 30 października 2015 roku po ciężkiej chorobie odeszła prof. dr hab. Barbara Szteke, wieloletni pracownik i Kierownik Zakładu Analizy Żywności Instytutu Biotechnologii Przemysłu Rolno-Spożywczego im. prof. Wacława Dąbrowskiego w Warszawie.

Prof. dr hab. Barbara Szteke urodziła się 10 lutego w 1936 roku w Warszawie. Studia na Wydziale Matematyki, Fizyki i Chemii, w Sekcji Chemii Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu ukończyła w 1956 roku. Pracę rozpoczęła w Instytucie Chemii Stosowanej w Warszawie. W latach 1958 - 1959 pracowała w jednym z zakładów produkcyjnych ZZ "Inco". W 1959 roku podjęła pracę w Instytucie Przemysłu Organicznego (IPO), w Zakładzie Paliw, na stanowisku starszego asystenta. Prowadzone wówczas przez nią badania dotyczyły wpływu składu paliw na proces ich spalania oraz kinetyki rozkładu termicznego składników paliwa. W 1968 roku awansowała na stanowisko adiunkta i objęła pracownię w Zakładzie Stosowania Środków Pomocniczych IPO. Prowadzone w tym czasie prace badawcze związane były z zastosowaniem rozjaśniaczy optycznych do papieru i wdrożeniem ich w przemyśle papierniczym. W 1973 otrzymała stypendium rządu francuskiego i odbyła 7-miesięczny staż naukowy w Paryżu, którego tematem były badania zmian właściwości różnych materiałów pod wpływem światła i temperatury. W 1980 roku obroniła w IPO pracę doktorską, uzyskując stopień doktora nauk chemicznych. Pracę pt. „Zależność pomiędzy rozkładem spektralnym promieniowania fluorescencji rozjaśniaczy optycznych, pochodnych 4,4'-bis-(sym-triazynyloamino)-stylbenu a oceną skuteczno-

ści ich stosowania do włókien celulozowych” Barbara Szteke wykonała pod kierunkiem doc. dr hab. inż. Lecha Skulskiego.

W styczniu 1983 roku rozpoczęła pracę w Instytucie Przemysłu Fermentacyjnego (obecnie Instytut Biotechnologii Przemysłu Rolno-Spożywczego im. prof. Waclawa Dąbrowskiego), w Zakładzie Analizy Żywności, na stanowisku adiunkta. W 1984 roku została powołana na stanowisko Kierownika Pracowni Spektrofotometrii, a w 1987 roku na stanowisko Kierownika Zakładu Analizy Żywności, na którym pozostała do zakończenia kariery zawodowej, tj. do 2006 roku. W tym czasie zainteresowania naukowo-badawcze prof. Szteke skupiały się na badaniach chemicznych i biologicznych zanieczyszczeń żywności, w szczególności pochodzenia roślinnego. W 1991 roku uzyskała stopień doktora habilitowanego nauk medycznych w zakresie biologii medycznej – analizy żywności, nadany przez Państwowy Zakład Higieny – Instytut Naukowo-Badawczy na podstawie rozprawy pt. „Studia nad wpływem środowiska na jakość zdrowotną żywności pochodzenia roślinnego”. W 1994 roku zatrudniona została na stanowisku profesora, a w 1997 roku uzyskała tytuł profesora nauk rolniczych.

Prof. dr hab. Barbara Szteke była członkiem Zespołu Ekspertów MAB-9 Komitetu Naukowego „Człowiek i Środowisko” przy Prezydium PAN (1985 - 2006), Komisji Higieny Żywności i Żywienia Komitetu Żywienia Człowieka PAN (1999 - 2001), Komitetu Chemii Analitycznej Polskiej Akademii Nauk (1999 - 2006). W latach 1991 - 2001 była także przedstawicielem narodowym w Komisji Chemii Żywności Międzynarodowej Unii Chemii Czystej i Stosowanej (IUPAC), kierując grupą roboczą “Elements”, wiceprzewodniczącą International Commission for Food Industries (Paryż, Francja). Aktywnie uczestniczyła w działalności Instytutu, będąc wieloletnim członkiem Rady Naukowej i współpracujących z nią Komisji Polityki Naukowej i Finansowej oraz Komisji Kwalifikacyjnej.

W kierowanym przez prof. dr hab. Barbarę Szteke Zakładzie Analizy Żywności przez niemal 20 lat, dzięki Jej dużemu zaangażowaniu i dociekliwości naukowej, rozwijane były badania ściśle powiązane z potrzebami gospodarki narodowej i bezpieczeństwem żywności. Dotyczyły one w szczególności: opracowania i adaptacji nowoczesnych metod analitycznych do oceny jakości i bezpieczeństwa żywności, identyfikacji i oznaczania składników naturalnych oraz zanieczyszczeń chemicznych i biologicznych w artykułach żywnościowych, badania autentyczności (zafałszowań) żywności oraz badania związane z oceną jej jakości. Prowadzone w Zakładzie wieloletnie badania surowców owocowych i warzywnych z kilkuset upraw towarowych w zakresie zawartości metali ciężkich pozwoliły na wykrycie przyczyn obecności nadmiernej zawartości kadmu w tych surowcach, co w konsekwencji pozwoliło na obniżenie zawartości kadmu w przetworach dla niemowląt i małych dzieci. Za rozpoznanie problemu zanieczyszczenia kadmem przetworów dla dzieci i wskazanie kierunków obniżenia poziomu tego zanieczyszczenia uzyskała w 1988 roku zespołowe wyróżnienie

Ministra Rolnictwa, Leśnictwa i Gospodarki Żywnościowej. W latach 1995 - 2003 (9 lat) była jednym z członków Rady Programowej „Badań monitoringowych jakości gleb, roślin, produktów rolniczych i spożywczych”, prowadzonych na zlecenie MRiRW. Celem ich było systematyczne coroczne dostarczenie rządowi polskiemu i społeczeństwu oraz importerom polskich surowców rolnych i artykułów żywnościowych informacji dotyczących ich bezpieczeństwa pod względem obecności zanieczyszczeń chemicznych i biologicznych, takich jak: mikotoksyny, pozostałości pestycydów, azotany i metale ciężkie. W 2005 roku podpisana została umowa z Agencją Rynku Rolnego, obowiązująca do dziś, na przeprowadzenie analizy ryzyka wystąpienia substancji zanieczyszczających w ziarnie zbóż objętych interwencyjnym zakupem w ramach Wspólnej Polityki Rolnej (WPR), na podstawie opracowanych kryteriów. W latach 2004 - 2006 prof. dr hab. Barbara Szteke realizowała projekt inwestycyjny związany z modernizacją Zakładu Analizy Żywności. Przesłanką było rozszerzenie i udoskonalenie oferty IBPRS w zakresie wykrywania i analizy zawartości zanieczyszczeń, substancji obcych oraz składników surowców i produktów przemysłu rolno-spożywczego. W ramach realizacji tego projektu dokonano zakupu nowoczesnej aparatury analitycznej do badań śladowych zawartości zanieczyszczeń żywności, a także przeprowadzono modernizację pomieszczeń.

Dorobek naukowy prof. dr hab. Barbary Szteke obejmuje około 200 pozycji, w tym kilkadziesiąt oryginalnych prac naukowych odnoszących się do prowadzonej działalności naukowej, publikowanych w czasopismach krajowych i zagranicznych. Jest również współautorką wydań książkowych, takich jak: „Problemy jakości analizy śladowej w badaniach środowiska przyrodniczego” (PIOŚ 1996, Wyd. Eduk. Z. Dobkowskiej 1998 – wydanie poprawione i uzupełnione), “Trace elements in abiotic and biotic environments” (CRC Press Taylor & Francis Group 2015).

Prof. dr hab. Barbara Szteke brała czynny udział w działalności organizacyjnej i upowszechnieniowej na rzecz Zakładu Analizy Żywności i Instytutu. Z jej inicjatywy rozpoczęto organizację Sesji Przeglądowych Analityki Żywności (1996 - 2006), szkoły w zakresie przygotowania próbek do badań, sympozjów poświęconych problemom ekologicznym i metodycznym występowania różnych pierwiastków, w szczególności śladowych i azotanów(III) w żywności (1993 - 2004), we współpracy z Sekcją Analizy Żywności PTTŻ, a także Państwowym Instytutem Geologicznym, Komitetami Naukowymi PAN. Była również współorganizatorem międzynarodowych wydarzeń naukowych: International Symposium „Development in chemical analysis of environmental samples at the Edge of 21st century” (1996), International IUPAC Symposium “Trace elements in food” (2000 - 2014).

Należy również podkreślić, że to z Jej inicjatywy powołana została Sekcja Analizy i Oceny Żywności przy Polskim Towarzystwie Technologów Żywności w 1995 roku, której do zakończenia pracy zawodowej przewodniczyła. Celem tej inicjatywy

było stworzenie dla analityków pracujących na potrzeby przemysłu rolno-spożywczego i oceny jakości żywności forum niezbędnego do wymiany doświadczeń, nawiązywania współpracy, organizowania konferencji, seminariów, kursów mających na celu włączanie się w struktury europejskie, przy uwzględnieniu nie tylko aspektów od strony warsztatu analitycznego, ale i prawnych.

Prof. dr hab. Barbara Szteke w trakcie swojego całego życia zawodowego wyróżniała się aktywnością i pomysłowością zawodową, uzdolnieniami badawczymi, dużą wiedzą teoretyczną oraz doświadczeniem organizacyjnym. Za swoją działalność została odznaczona „Złotym krzyżem zasługi” (1989) i medalem „Zasłużony dla rolnictwa” (2000).

*Dr hab. inż. Renata Jędrzejczak, prof. nadzw.
Dyrektor Instytutu Biotechnologii Przemysłu Rolno-Spożywczego w Warszawie*

Powyższe wspomnienie opublikowane zostało również w Postęпах Nauki i Technologii Przemysłu Rolno-Spożywczego

PROF. DR HAB. ZDZISŁAW TARGOŃSKI DOKTOREM *HONORIS CAUSA* UNIWERSYTETU PRZYRODNICZEGO W POZNANIU



W dniu 19 listopada 2015 roku Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu nadał najwyższą godność akademicką – tytuł doktora *honoris causa* – Profesorowi Zdzisławowi Targońskiemu z Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie.

Prof. dr hab. Zdzisław Targoński urodził się 27 października 1947 r. w Lublinie. Studia na Wydziale Matematyki, Fizyki i Chemii Uniwersytetu Marii Curie Skłodowskiej w Lublinie ukończył z wynikiem bardzo dobrym i w roku 1971 uzyskał dyplom magistra. W 1978 roku uzyskał stopień doktora nauk technicznych z zakresu technologii i chemii żywności, a w 1986 roku – stopień naukowy doktora habilitowanego nauk technicznych, nadane uchwałami Rady Wydziału Technologii Żywności Akademii Rolniczej w Poznaniu. Tytuł profesora nauk rolniczych nadał Mu w 1995 r. Prezydent Rzeczypospolitej. W czasie swej pracy naukowej pełnił i pełni nadal wiele ważnych funkcji w kraju, w swoim środowisku akademickim i w Uniwersytecie Przyrodniczym w Lublinie. Od 1992 roku kieruje Katedrą Technologii Przemysłu Rolno-Spożywczego i Przechowalnictwa – obecnie Katedrą Biotechnologii, Żywnienia Człowieka i Towaroznawstwa Żywności. Jednostka ta należy do jednych z najaktywniejszych w kraju w dziedzinie biotechnologii, tak w wymiarze naukowym, jak i dydaktycznym. W latach 1990 - 96 był prodziekanem Wydziału Rolniczego, a następnie prorektorem ds. studenckich i dydaktyki. W latach 2002 - 2008 Profesor Targoński pełnił funkcję Rektora Akademii Rolniczej w Lublinie, a po zmianie nazwy Uczelni – Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie. Był to

bardzo pomyślny okres dla Uczelni, obfitujący w ważne inwestycje prorozwojowe i umacniający naukową pozycję Uniwersytetu. Profesor wniósł również wybitny wkład w rozwój polskiej nauki. Wyrazem tego jest Jego aktywność w Komitetach Naukowych PAN, dwie kadencje pracy w Centralnej Komisji ds. Stopni i Tytułów, a także praca organizacyjna na rzecz wielu redakcji czasopism naukowych i towarzystw naukowych.

Profesor Zdzisław Targoński w latach 2005 - 2008 był przewodniczącym Konferencji Rektorów Uczelni Rolniczych w ramach KRASP. Aktualnie jest członkiem Komitetu Nauk o Żywności PAN i Komitetu Biotechnologii przy Prezydium Polskiej Akademii Nauk, członkiem Lubelskiego Towarzystwa Naukowego. Od wielu lat jest członkiem Rady Naukowej Instytutu Biotechnologii Przemysłu Rolno-Spożywczego w Warszawie, a od 2012 roku przewodniczy tej Radzie. Był członkiem Rady Naukowej Instytutu Agrofizyki PAN w Lublinie oraz ekspertem Polskiej Komisji Akredytacyjnej w dyscyplinie Biotechnologia. Od roku 2011 jest członkiem Zespołu ds. rozwoju Bazy Ekspertów Narodowego Centrum Badań i Rozwoju. Był lub jest członkiem wielu rad programowych czasopism naukowych.

W uznaniu swoich zasług został odznaczony m.in. Krzyżem Kawalerskim Orderu Odrodzenia Polski, Krzyżem Papieskim Pro Ecclesia et Pontifice, Medalem Komisji Edukacji Narodowej, Medalem Lumen Mundi, nagrodami Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego, wysokimi odznaczeniami Akademickiego Związku Sportowego i innymi. W 2007 roku otrzymał godność doktora *honoris causa* Narodowego Uniwersytetu Rolniczego w Kijowie.

Dorobek naukowy Profesora Zdzisława Targońskiego jest obszerny, ukierunkowany i wartościowy zarówno poznawczo, jak i aplikacyjnie. Jest autorem lub współautorem 263 publikacji, w tym m.in. około 120 oryginalnych prac naukowych, w większości publikowanych w renomowanych światowych, jak i krajowych czasopismach naukowych. Jest również autorem 18 patentów, 2 zgłoszeń patentowych i kilku rozdziałów w książkach.

Profesor Targoński jest twórcą szkoły naukowej dotyczącej biokonwersji biomasy roślinnej do nośników energii i składników żywności. Jego najważniejsze osiągnięcia naukowe dotyczą biotransformacji biomasy ligninocelulozowej do prostych związków chemicznych, w tym do bioetanolu oraz rozwiązań wielu innych problemów przetwórstwa żywności.

Od ponad 30 lat Profesor Targoński współpracuje z Wydziałem Nauk o Żywności i Żywieniu Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu. Współpraca ta obejmuje wiele form. Bez wątpienia do najważniejszych należy zaliczyć realizację wspólnych projektów naukowych prowadzonych razem z pracownikami Wydziału oraz Jego osobisty wkład w rozwój kadr naukowych.

Na uznanie zasługuje także wsparcie Pana Profesora w wielu ważnych inicjatywach dla Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu, z pozycji przewodniczącego Konferencji Rektorów Uczelni Rolniczych. Bardzo wysoko oceniony został również wkład Pana Profesora w rozwój naukowy Wydziału Nauk o Żywności i Żywieniu. Brał On aktywny udział w formułowaniu tematyki badawczej wielu wspólnie realizowanych projektów. Wielokrotnie służył radą przy wyborze strategii badawczej jednostek badawczych na Wydziale. Dzięki takiej postawie możliwe było budowanie konsorcjów badawczych do wykonania wspólnych projektów.

Pan Profesor Zdzisław Targoński jest osobą niezwykle. Dzięki talentowi i pracy osiągnął sukces naukowy i zawodowy, lokujący Go w czołówce uczonych w dziedzinie biotechnologii żywności i biotechnologii przemysłowej. Sprawilo to, że społeczność akademicka Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu, na czele z Senatem i Radą Wydziału Nauk o Żywności i Żywieniu, nadała Profesorowi Zdzisławowi Targońskiemu tytuł doktora honorowego poznańskiej Uczelni.

*Prof. dr hab. Jan Michniewicz
Dziekan Wydziału Nauk o Żywności i Żywieniu
Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu*

TECHNOLOG ŻYWNOŚCI

INFORMATOR POLSKIEGO TOWARZYSTWA TECHNOLOGÓW ŻYWNOŚCI

Rok 26 Nr 1

luty 2016

DZIAŁALNOŚĆ TOWARZYSTWA

Zarząd Główny

W dniu 9 grudnia 2015 r. w Warszawie odbyło się Walne Zebranie Delegatów PTTŻ, na którym wybrano nowe Władze Towarzystwa na kolejną 3-letnią kadencję (2016 - 2018). Po ukonstytuowaniu się skład Zarządu Głównego PTTŻ jest następujący:

- prezes – prof. dr hab. Agnieszka Kita (UP Wrocław),
- wiceprezes – prof. dr hab. Danuta Kołożyn-Krajewska (SGGW Warszawa),
- wiceprezes – dr hab. Dorota Piasecka-Kwiatkowska (UP Poznań),
- sekretarz – prof. nadzw. dr hab. Joanna Kawa-Rygielska (UP Wrocław),
- zastępca sekretarza – dr hab. Barbara Stachowiak (UP Poznań),
- skarbnik – dr Magdalena Montowska (UP Poznań),
- zastępca skarbnika – dr hab. inż. Małgorzata Wroniak (SGGW Warszawa),
- członkowie Zarządu: prof. dr hab. Maria Śmiechowska (AM Gdynia), prof. nadzw. dr hab. Lesław Juszcak (UR Kraków), prof. nadzw. dr hab. Małgorzata Dżugan (UR Rzeszów), dr hab. inż. Joanna Leszczyńska (PŁ Łódź), dr hab. inż. Małgorzata Karwowska (UP Lublin), dr hab. inż. Ewa Jakubczyk (SGGW Warszawa), dr inż. Janusz Pomianowski (UWM Olsztyn) i dr inż. Arkadiusz Żych (ZUT Szczecin).

WAŻNIEJSZE MIĘDZYKRAJOWE I KRAJOWE KONFERENCJE NAUKOWE W 2016 r.

Marzec

11 - 12 WROCLAW = 1st International Scientific Conference „Man – health – food“

Organizatorzy: Katedra Technologii Surowców Zwierzęcych i Zarządzania Jakością Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu, Katedra Anatomii Prawidłowej Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu

Informacje: [www:up.wroc.pl/konferencje](http://www.up.wroc.pl/konferencje)

Kwiecień

- 7 - 8 **PIEŠŤANY**, Słowacja = XIII Scientific Conference with International Participation "Food Safety and Control"
Informacje: www.bezpecnostpotravin.sk
Kontakt: Jozef.Golian@uniag.sk
- 17 - 19 **KIRY k. Zakopanego = I Sympozjum Naukowe nt. „Bezpieczeństwo żywnościowe i żywności“**
Organizatorzy: Zakład Higieny i Zarządzania Jakością Żywności SGGW, Zarząd Główny PTTŻ
Kontakt: sympozjumkiry@wp.pl
- 20 - 22 **KIRY k. Zakopanego = Krokusowe VII Sympozjum Naukowe nt. „Probiotyki w żywności“**
Organizatorzy: Zakład Higieny i Zarządzania Jakością Żywności SGGW, Katedra Technologii Mięsa i Zarządzania Jakością UP w Lublinie, Zarząd Główny PTTŻ
Kontakt: dr inż. Barbara Sionek: e-mail: barbara_sionek@sggw.pl; Tel. 22 593-70-71

Maj

- 9 - 11 **PAWŁOWICE k. WROCŁAWIA = IX Konferencja Naukowa z cyklu „Ziemniak spożywczy i przemysłowy oraz jego przetwarzanie nt. „Ziemniak prozdrowotnym produktem roślinnym”**
Organizatorzy: Wydział Nauk o Żywności UP we Wrocławiu, Sekcja Technologii Węglowodanów PTTŻ
Informacje: <http://wnoz.up.wroc.pl/ziemniak>
Kontakt: dr inż. Wioletta Drożdż; e-mail: ziemniak@wnoz.up.wroc.pl
- 12 - 13 **ŁÓDŹ = V International Session of Young Scientific Staff „Food from A to Z” oraz XXI Sesja Naukowa Sekcji Młodej Kadry Naukowej PTTŻ nt. „Żywność od A do Z**
Organizatorzy: Sekcja MKN PTTŻ, Wydział Biotechnologii i Nauk o Żywności Politechniki Łódzkiej, Oddział Łódzki PTTŻ, Sekcja Chemii Żywności Polskiego Towarzystwa Chemicznego
Informacje: <http://smkn2016.p.lodz.pl>
Kontakt: dr inż. Elżbieta Karlińska; e-mail: smkn2016@info.p.lodz.pl; Tel.: 42 631-27-74

Wrzesień

- 12 - 16 **WARNA**, Bułgaria = 20th IGWT Symposium "Commodity science in a changing world".
Informacje: <http://igwt2016.ue-varna.bg/>

14 - 16 POZNAŃ = 2nd International Forum on Agri-Food Logistics oraz III Ogólnopolska Konferencja Naukowa AGROLOGISTYKA nt. „Logistyka wobec wyzwań bezpieczeństwa żywnościowego i ochrony środowiska”

Organizator: Wydział Ekonomiczno-Społeczny Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu

Informacje: www.agrifoodlogistics.eu

18 - 20 WARSZAWA = XXVI Zjazd Katedr Marketingu, Handlu i Konsumpcji nt. „Współczesne paradygmaty w marketingu, handlu i konsumpcji”

Organizatorzy: Wydział Nauk o Żywieniu Człowieka i Konsumpcji i Wydział Nauk Ekonomicznych, SGGW w Warszawie

Informacje: <http://zjazd2016.sggw.pl>

Kontakt: zjazd2016@sggw.pl

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

Październik / Listopad

30 - 1 AMSTERDAM, Holandia = The 1st Food Chemistry Conference “Shaping the Future of Food Quality, Health and Safety”

Informacje: <http://www.foodchemistryconference.com/>

CZŁONKOWIE WSPIERAJĄCY POLSKIEGO TOWARZYSTWA
TECHNOLOGÓW ŻYWNOCI

Przy Zarządzie Głównym: **TCHIBO – WARSZAWA Sp. z o.o. Marki, BUNGE POLSKA Sp. z o.o. Karczew, HORTIMEX Plus Spółka komandytowa Konin.**

Przy Oddziale Małopolskim: **ZAKŁADY PRZEMYSŁU TŁUSZCZOWEGO BIELMAR Sp. z o.o., Bielsko-Biała.**

Materiał zawarty w Nr 104(1)/2016 Biuletynu podano według stanu informacji do 15 lutego 2016 r. Materiały do Nr 105(2)/2016 prosimy nadsyłać do 1 kwietnia 2016 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> oraz na nowej stronie wydawnictwo.pttz.org

**Adresy Zarządu Głównego, Oddziałów i Sekcji
Polskiego Towarzystwa Technologów Żywności**

PREZES / ODDZIAŁ	ADRES
Prof. dr hab. Agnieszka Kita Prezes PTTŻ	UP, ul. Chełmońskiego 37/41, 51-630 WROCŁAW Tel.: 71 320 77 62; e-mail: agnieszka.kita@up.wroc.pl
Dr hab. inż., prof. nadzw. Joanna Kawa-Rygielska Sekretarz PTTŻ	UP, ul. Chełmońskiego 37/41, 51-630 WROCŁAW Tel.: 71 320 77 64; 71 320 52 04 e-mail: joanna.kawa-rygielska@wnoz.up.wroc.pl
Dr hab. inż., prof. nadzw. Aleksandra Wilczyńska, Oddział Gdański	AM, ul. Morska 81-87, 81-225 GDYNIA Tel.: 58 690 15 62; e-mail: a.wilczynska@wpit.am.gdynia.pl
Dr hab. inż. Małgorzata Karwowska Oddział Lubelski	UP, ul. Skromna 8, 20-704 LUBLIN; Tel.: 81 462 33 41; e-mail: malgorzata.karwowska@up.lublin.pl
Dr hab. inż. Joanna Leszczyńska Oddział Łódzki	PE, ul. Stefanowskiego 4/10, 90-924 ŁÓDŹ e-mail: joanna.leszczynska@p.lodz.pl
Dr hab. inż., prof. nadzw. 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. inż., prof. nadzw. Małgorzata Dżugan Oddział Podkarpacki	UR w Rzeszowie, ul. M. Ćwiklińskiej 2, 35-601 RZESZÓW Tel. 17 872 16 19; e-mail: mdzugan@univ.rzeszow.pl
Dr hab. Izabela Dmytrow Oddział Szczeciński	ZUT, ul. Kazimierza Królewicza 4, 71-550 SZCZECIN Tel.: 507 104 101; e-mail: izabela.dmytrow@gmail.com
Dr hab. inż. Ewa Jakubczyk Oddział Warszawski	SGGW, ul. Nowoursynowska 159 C, 02-776 WARSZAWA Tel.: 22 593 75 62; e-mail: ewa_jakubczyk@sggw.pl
Dr hab. Dorota Piasecka-Kwiatkowska Oddział Wielkopolski	UP, ul. Wojska Polskiego 31, 60-624 POZNAŃ Tel.: 61 848 73 47; e-mail: dorotapk@up.poznan.pl
Dr hab. inż., prof. nadzw. Joanna Kawa-Rygielska Oddział Wrocławski	UP, ul. Chełmońskiego 37/41, 51-630 WROCŁAW Tel.: 71 320 54 77; e-mail: pttz_ow@wnoz.up.wroc.pl
SEKCJE	
Dr Karol Krajewski Ekonomiczna	Politechnika Koszalińska, ul. Kwiatkowskiego 6e, 75-343 KOSZALIN Tel.: 609 807 618; e-mail: janjasienczyk@poczta.onet.pl
Dr inż. Arkadiusz Żych Technologii Mięsa	ZUT, ul. Kazimierza Królewicza 4, 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
Prof. dr hab. Piotr Gębczyński Chemii i 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