



ŻYWNOŚĆ

Nauka Technologia Jakość

FOOD

Science Technology Quality

Nr 2 (105)

Kraków 2016

Rok 23

ŻYWNOŚĆ. Nauka. Technologia. Jakość

Organ naukowy PTTŻ – dwumiesięcznik

Nr 2 (105)

Kraków 2016

Rok 23

SPIS TREŚCI

Od Redakcji.....	3
ANNA M. STACHNIUK, EMILIA FORNAL: Techniki ekstrakcyjne stosowane w oznaczaniu pozostałości pestycydów w żywności metodą LC-MS	5
EDYTA M. KUTYŁA-KUPIDURA, MAREK SIKORA, ANNA DOBOSZ, MAGDALENA KRYSZYJAN: Wpływ zastąpienia sacharozy alternatywnymi substancjami słodzącymi na właściwości produktów ciastkarskich ..	19
MARIUSZ FLOREK, PIOTR DOMARADZKI, ZYGMUNT LITWIŃCZUK: Teorie dotyczące naturalnych procesów kruszenia mięsa po uboju.....	34
ZOFIA SOKOŁOWICZ, JÓZEFA KRAWCZYK, MAGDALENA DYKIEL: Wpływ czasu przechowywania na jakość i właściwości funkcjonalne jaj od kur objętych w Polsce programem ochrony	49
KAROL MIŃKOWSKI, ARTUR KALINOWSKI, ANNA KRUPSKA: Wpływ wstępnej obróbki enzymatycznej nasion na parametry procesu tłoczenia i cechy jakościowe oleju lnianego	58
BEATA PASZCZYK, WALDEMAR BRANDT: Wpływ czasu przechowywania na zawartość CLA oraz izomerów trans C18:1 i C18:2 w jogurtach z mleka krowiego o znormalizowanej zawartości tłuszczu.....	71
GENOWEFA BONCZAR, HENRYK PUSTKOWIAK, JACEK DOMAGAŁA, DOROTA NAJGEBAUER-LEJKO, MAREK SADY, MARIA WALCZYCKA, MONIKA WSZOŁEK: Zawartość cholesterolu i profil kwasów tłuszczowych w śmietance i śmietanie z mleka trzech ras krów	81
BARBARA SIOŃEK, DANUTA KOŁOŻYŃ-KRAJEWSKA, HALINA GAWARSKA, JACEK POSTUPOLSKI: Przydatność technologiczna szczepu <i>Lactobacillus rhamnosus</i> K4 do produkcji probiotycznego soku warzywnego	95
GRZEGORZ FIUTAK, EWA HAJDUK, MAGDA FILIPCZAK-FIUTAK, RYSZARD MACURA, BOŻENA FIREK: Wpływ wybranych procesów termicznych na zachowanie właściwości przeciwutleniających homogenatów z owoców jagodowych	106
KLAUDIA KULIK, BOŻENA WASZKIEWICZ-ROBAK: Ocena możliwości stosowania dozwolonych oświadczeń żywieniowych i zdrowotnych dotyczących kwasów tłuszczowych w odniesieniu do orzechów jadalnych	118
TOMASZ TARKO, DOROTA SEMIK, ALEKSANDRA DUDA-CHODAK, PAWEŁ SATORA, PAWEŁ SROKA: Przemiany związków polifenolowych w symulowanym przewodzie pokarmowym człowieka	132
HENRYK KOSTYRA, ELŻBIETA KOSTYRA, DAGMARA ZŁOTKOWSKA: Chemia bionieorganiczna i bioorganiczna żywności.....	145
GRAŻYNA MORKIS: Problematyka żywnościowa w ustawodawstwie polskim i unijnym	149
LESŁAW JUSZCZAK: Nowe książki	153
Z żałobnej karty Prof. dr hab. Marek Gogolewski 1933-2015	156
Z żałobnej karty Prof. dr hab. Mieczysław Jankiewicz 1933-2016	160
Z żałobnej karty Prof. dr hab. Roman Urban 1937-2016	163
I Sympozjum Naukowe z cyklu „Bezpieczeństwo żywnościowe i żywności”	166
VII Sympozjum Naukowe z cyklu „Probiotyki w żywności”	167
1 ST Meeting of Young Researchers from V4 Countries “Scientific Researches in Food Production”	168
6 th International Young Scientists Conference „Human – Nutrition – Environment”	169
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 2 (105)

Kraków 2016

Vol. 23

CONTENTS

From the Editor.....	3
ANNA M. STACHNIUK, EMILIA FORNAL: Extraction techniques applied to LC-MS determination of pesticide residues in food.....	5
EDYTA M. KUTYŁA-KUPIDURA, MAREK SIKORA, ANNA DOBOSZ, MAGDALENA KRYSZYJAN: Effect of substituting sucrose with alternative sweeteners on properties of cake and confectionery products.....	19
MARIUSZ FLOREK, PIOTR DOMARADZKI, ZYGMUNT LITWIŃCZUK: Theories concerning natural tenderization processes in <i>post mortem</i> meat.....	34
ZOFIA SOKOŁOWICZ, JÓZEFA KRAWCZYK, MAGDALENA DYKIEL: Effect of storage time on quality and functional properties of eggs from hens included in conservation programme in Poland.....	49
KAROL MIŃKOWSKI, ARTUR KALINOWSKI, ANNA KRUPSKA: Effect of enzymatic pre-treatment of seeds on pressing process parameters and quality of linseed oil.....	58
BEATA PASZCZYK, WALDEMAR BRANDT: Effect of storage time on content of CLA and trans C18:1 and C18:2 isomers in yoghurts from cow's milk with normalized fat content.....	71
GENOWEFA BONCZAR, HENRYK PUSTKOWIAK, JACEK DOMAGAŁA, DOROTA NAJGEBAUER-LEJKO, MAREK SADY, MARIA WALCZYCKA, MONIKA WSZOŁEK: Content of cholesterol and fatty acid profile in sweet cream and cream made from milk produced by cows of three different breeds.....	81
BARBARA SIOŃEK, DANUTA KOŁOŻYŃ-KRAJEWSKA, HALINA GAWARSKA, JACEK POSTUPOLSKI: Technological suitability of <i>Lactobacillus rhamnosus</i> K4 strain for producing probiotic vegetable juice.....	95
GRZEGORZ FIUTAK, EWA HAJDUK, MAGDA FILIPCZAK-FIUTAK, RYSZARD MACURA, BOŻENA FIREK: Effect of selected thermal processes on antioxidant properties of berry fruit homogenates.....	106
KLAUDIA KULIK, BOŻENA WASZKIEWICZ-ROBAK: Assessing the possibility of applying permitted nutrition and health claims about fatty acids in relation to edible nuts.....	118
TOMASZ TARKO, DOROTA SEMIK, ALEKSANDRA DUDA-CHODAK, PAWEŁ SATORA, PAWEŁ SROKA: Transformations of polyphenolic compounds in simulated human gastrointestinal tract.....	132
HENRYK KOSTYRA, ELŻBIETA KOSTYRA, DAGMARA ZŁOTKOWSKA: Bioinorganic and bioorganic chemistry of food.....	145
GRAŻYNA MORKIS: Food problems in Polish and EU legislation.....	149
LESŁAW JUSZCZAK: Book reviews.....	153
Contemporary Terms: Prof. Marek Gogolewski 1933-2015.....	156
Contemporary Terms: Prof. Mieczysław Jankiewicz 1933-2016.....	160
Contemporary Terms: Prof. Roman Urban 1937-2016.....	163
The 1 st Scientific Symposium in the series of 'Food Security and Food Safety'.....	166
The 8 th Scientific Symposium in the series of 'Probiotics in Food'.....	167
1 st Meeting of Young Researchers from V4 Countries 'Scientific Researches in Food Production'.....	168
6 th International Young Scientists Conference 'Human – Nutrition – Environment'.....	169
The Food Technologist.....	199

Only reviewed papers are published

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

Redaktor naczelny: prof. nadzw. dr hab. Lesław Juszczyk; e-mail: rrjuszcz@cyf-kr.edu.pl; tel. 12 662-47-78

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 2451-0769 e-ISSN 2451-0777

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

OD REDAKCJI

Szanowni Czytelnicy,

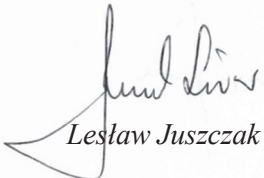
przekazujemy Państwu nr **2 (105)** dwumiesięcznika *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*. Zamieściliśmy w nim zróżnicowane tematycznie artykuły naukowe z kilku krajowych ośrodków zajmujących się szeroko pojętą nauką o żywności. Ponadto zapraszamy do lektury tzw. stałych działów, w których m.in. znajdują się informacje o konferencjach współorganizowanych przez PTTŻ.

Zapraszamy również do odwiedzenia nowej strony internetowej czasopisma pod adresem: <http://wydawnictwo.ptz.org>. Czytelnicy znajdą tam podstawowe informacje o czasopiśmie oraz archiwum wydań od 2004 roku, zawierające zarówno pełne zeszyty czasopisma, jak i poszczególne artykuły w formacie pdf.

W związku z uruchomieniem elektronicznej wersji czasopisma *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość* od bieżącego numeru zmianie ulega numer ISSN. Wersja drukowana ma przyznany numer ISSN 2451-0769, a wersja elektroniczna – e-ISSN 2451-0777.

Kraków, kwiecień 2016 r.

Redaktor Naczelny



Lesław Juszcak

ANNA M. STACHNIUK, EMILIA FORNAL

TECHNIKI EKSTRAKCYJNE STOSOWANE W OZNACZANIU POZOSTAŁOŚCI PESTYCYDÓW W ŻYWNOSCI METODĄ LC-MS

Streszczenie

Przedstawiono przegląd technik ekstrakcyjnych stosowanych do izolacji pozostałości pestycydów z żywności, oznaczanych następnie metodą chromatografii cieczowej sprzężonej ze spektrometrią mas (LC-MS). Skoncentrowano się wyłącznie na metodach umożliwiających jednoczesną analizę pozostałości wielu pestycydów w pojedynczym oznaczeniu. Omówiono techniki ekstrakcyjne z udziałem: rozpuszczalnika, sorbentu i membrany oraz techniki łączone, takie jak: QuEChERS, CHEMAC i STEMIT.

W analizie pestycydów jednym z głównych problemów jest optymalizacja zastosowanej techniki ekstrakcyjnej połączonej z oczyszczaniem ekstraktu. W przypadku jednoczesnego oznaczania pozostałości wielu pestycydów o zróżnicowanych właściwościach fizykochemicznych stosuje się rozwiązania kompromisowe, umożliwiające izolację jak największej liczby związków. Najczęściej używa się rozpuszczalników o średniej polarności, głównie acetonitrylu, metanolu oraz octanu etylu. Wśród sorbentów powszechnie stosowane są kolumnienki Oasis HLB oraz mieszaniny PSA (*Primary-Secondary Amine*) i GCB (*Graphitized Carbon Black*). Jako membrany najczęściej stosuje się porowate membrany polipropylenowe w postaci włókna kapilarnego (*hollowfiber*). Szczególną uwagę poświęcono w pracy zastosowaniu metody QuEChERS do izolacji pestycydów z próbek żywności.

Słowa kluczowe: żywność, pestycydy, ekstrakcja, QuEChERS, LC-MS

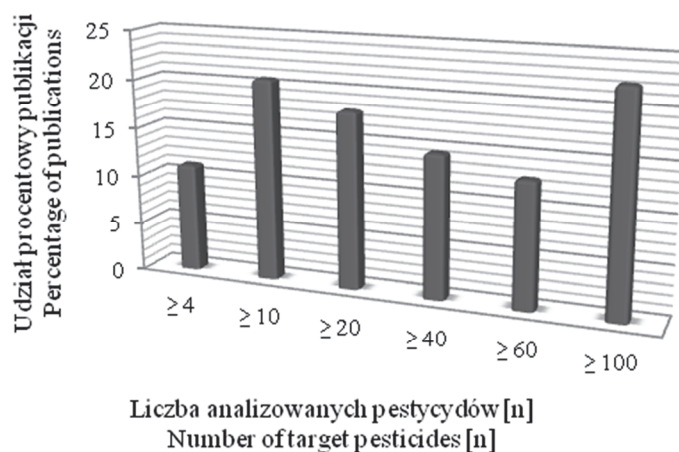
Wprowadzenie

Oznaczanie pestycydów w żywności jest wieloetapową procedurą analityczną obejmującą pobieranie i przygotowanie próbek, w tym ekstrakcję analitów z matrycy i oczyszczanie ekstraktów oraz oznaczenie pestycydów. Pobranie próbek oraz ich prawidłowe przygotowanie mają istotne znaczenie, gdyż determinują jakość i wiarygodność wyniku oznaczenia.

Dr A. M. Stachniuk, dr hab. E. Fornal, Interdyscyplinarne Centrum Badań Naukowych, Wydz. Biotechnologii i Nauk o Środowisku, Katolicki Uniwersytet Lubelski Jana Pawła II, ul. Konstantynów 1J, 20-708 Lublin. Kontakt: lianna@kul.pl

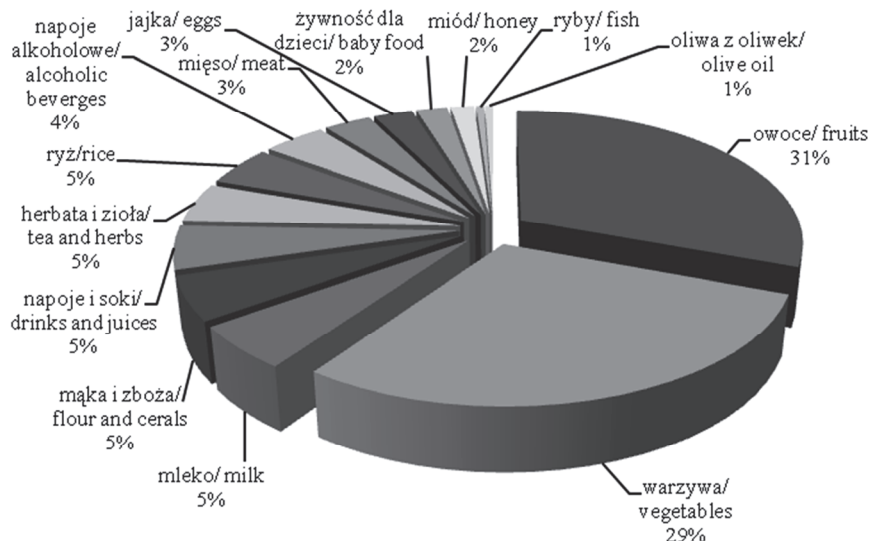
Wybór procedury przygotowania próbek uwarunkowany jest rodzajem produktu spożywczego oraz strukturą chemiczną oznaczanego zanieczyszczenia. W analizie pozostałości pestycydów, podobnie jak w analizie innych substancji zanieczyszczających żywność, występuje tendencja do opracowywania szybkich metod jednoczesnego oznaczania pozostałości wielu składników (ang. *multiresidue methods*), często pochodzących z różnych klas chemicznych. Konieczność ta wynika m.in. ze stosowania różnorodnych substancji aktywnych w środkach ochrony roślin, co może prowadzić do współwystępowania w produkcie spożywczym szerokiej gamy pestycydów różniących się właściwościami chemicznymi.

W pracy przedstawiono przegląd technik ekstrakcyjnych stosowanych do izolacji z żywności pozostałości pestycydów oznaczanych metodą chromatografii cieczowej sprzężonej ze spektrometrią mas – LC-MS (ang. *Liquid Chromatography coupled with Mass Spectrometer*). Skoncentrowano się na metodach umożliwiających jednoczesną analizę pozostałości przynajmniej kilku pestycydów w pojedynczym oznaczeniu (rys. 1). Rodzaje żywności, których dotyczy przegląd literatury, przedstawiono na rys. 2. Najliczniejszą grupę stanowiły owoce i warzywa [19].



Rys. 1. Udział publikacji wchodzących w zakres przeglądu literaturowego, obejmujący metody umożliwiające jednoczesną analizę pozostałości wielu pestycydów w pojedynczym oznaczeniu. Na podstawie bazy Scopus, hasło wyszukiwania: pesticide, food, multiresidue methods, LC-MS

Fig. 1. Percentage of reviewed publications that cover methods to simultaneously analyze residues of many pesticides during a single determination run. Based on Scopus database, search term: pesticide, food, multi-residue methods, LC-MS



Rys. 2. Rodzaje matryc (żywności) objętych przeglądem literatury. Na podstawie bazy Scopus, hasło wyszukiwania: pesticide, food, multiresidue methods, LC-MS

Fig. 2. Types of matrices (of food) covered by reviewed publications. Based on Scopus database, search term: pesticide, food, multi-residue methods, LC-MS

Ze względu na różnorodność produktów spożywczych oraz duże zróżnicowanie środków ochrony roślin dopuszczonych do obrotu, w praktyce analitycznej stosuje się wiele różnych technik ekstrakcyjnych do izolacji pestycydów z żywności.

Techniki ekstrakcyjne z udziałem rozpuszczalnika

Techniki ekstrakcyjne z udziałem rozpuszczalnika wykorzystują zjawisko podziału substancji ekstrahowanej pomiędzy dwie niemieszające się fazy i polegają na przejściu analitów z ciekłej lub stałej próbki do rozpuszczalnika. Prawidłowo dobrany rozpuszczalnik zapewnia optymalne warunki procesu ekstrakcji i umożliwia otrzymanie maksymalnych odzysków analitów przy minimalnej współekstrakcji interferentów. Przy wyborze rozpuszczalnika należy uwzględnić: właściwości i stężenia analitów, rodzaj próbki oraz właściwości współobecnych substancji przeszkadzających. Pestycydy oznaczane metodami LC-MS najczęściej izoluje się z próbek żywności następującymi technikami z udziałem rozpuszczalnika: klasyczną ekstrakcją za pomocą rozpuszczalnika SE (ang. *solvent extraction*), ekstrakcją za pomocą rozpuszczalnika wspomaganą ultradźwiękami USE (ang. *ultrasonic solvent extraction*), przyspieszoną ekstrakcją za pomocą rozpuszczalnika PLE (ang. *pressurized liquid extraction*) oraz szczególnym rodzajem ekstrakcji cieczą, jakim jest ekstrakcja płynem w stanie nadkrytycznym SFE (ang. *supercritical fluid extraction*).

Klasyczna ekstrakcja za pomocą rozpuszczalnika (SE)

Metoda ta polega na wydzieleniu analitów z matrycy pierwotnej do rozpuszczalnika. Jest to jedna z pierwszych powszechnie stosowanych procedur wyodrębniania pestycydów, polegająca na intensywnym mieszaniu rozpuszczalnika z ekstrahowaną cieczą (ekstrakcja ciecz-ciecz, LLE – ang. *liquid-liquid extraction*) lub ciałem stałym, a następnie rozdzielaniu faz przez sedymentację, filtrowanie lub odwirowanie. Najważniejszym etapem procesu jest wybór rozpuszczalnika. W przypadku oznaczania jednocześnie wielu związków o zróżnicowanych właściwościach fizykochemicznych najczęściej stosuje się rozpuszczalniki organiczne o średniej polarności, w tym: acetonitryl [23], octan etylu w obecności bezwodnego siarczanu(VI) sodu [4], metanol [25] i aceton [1]. Ponadto stosuje się mieszaniny: cykloheksanu z octanem etylu [22], acetonitrylu z toluenem [21] oraz acetonu i dichlorometanu z eterem naftowym (metoda Luke'a) [2]. Do izolacji pestycydów z próbek o dużej zawartości wody używa się dodatków soli. Obecność soli zwiększa wydajność ekstrakcji, a ciepło wydzielane podczas egzotermicznego procesu hydratacji danej soli sprzyja ekstrakcji analitów z fazy wodnej do fazy organicznej. W tym przypadku stosuje się NaCl, MgSO₄ i Na₂SO₄ [4, 23]. Właściwy odczyn (pH) matrycy wzmacnia efektywność ekstrakcji, a zapewnić go mogą dodatki obniżające lub zwiększające alkaliczność badanej próbki, takie jak: kwas mrówkowy, kwas octowy, wodorowęglan sodu oraz bufor czy mrówczan amonu [1, 4].

Ekstrakcja za pomocą rozpuszczalnika wspomagana ultradźwiękami (USE)

Wymieniona technika stosowana jest głównie do próbek stałych. Próbkę miesza się z rozpuszczalnikiem ekstrahującym i poddaje działaniu ultradźwięków. Rozchodzenie się fal dźwiękowych w cieczy związane jest z zmianami ciśnienia akustycznego wywołującego zjawisko kawitacji, które zwiększa penetrację rozpuszczalnika w głąb struktury ekstrahowanej próbki. Sprzyja to uwalnianiu zalegających tam substancji. W zależności od właściwości chemicznych analitu oraz rodzaju matrycy, w ekstrakcji wspomaganiej ultradźwiękami stosuje się różne rozpuszczalniki organiczne. Do izolacji pestycydów z próbek żywności najczęściej stosuje się acetonitryl [30] i octan etylu [29].

Metoda przyspieszonej ekstrakcji za pomocą rozpuszczalnika (PLE)

W metodzie tej ekstrakcję analitów z próbek stałych wykonuje się przy użyciu niewielkiej ilości rozpuszczalnika w podwyższonej temperaturze i pod zwiększonym ciśnieniem. Do przeprowadzenia przyspieszonej ekstrakcji niezbędna jest aparatura ekstrakcyjna umożliwiająca automatyzację całego procesu [12]. W procesie PLE pestycydy z próbek żywności wydzielają się najczęściej acetonitrylem, octanem etylu oraz mieszaniną octanu etylu z acetonem (do izolacji pestycydów z warzyw) [9].

Ekstrakcja płynem w stanie nadkrytycznym (SFE)

Płyn w stanie nadkrytycznym wykazuje cechy zarówno cieczy, jak i gazu. Duża gęstość płynu w stanie nadkrytycznym powoduje, że substancje rozpuszczają się w nim jak w cieczy, a mała lepkość płynu i niskie napięcie powierzchniowe sprzyjają penetracji matrycy podobnej do tej, jaką wykazuje gaz. Do ekstrakcji płynem w stanie nadkrytycznym najczęściej stosowany jest ditlenek węgla (CO₂), charakteryzujący się niską temperaturę krytyczną (31,1 °C) oraz niskim ciśnieniem krytycznym (73,8 bar) [28]. W celu poprawienia wydajności procesu do ekstrakcji związków polarnych i silnie związanych z matrycą używa się niewielkich ilości substancji polarnych, zwanych modyfikatorami. Najczęściej stosowanymi modyfikatorami: są metanol, etanol, aceton, acetonitryl oraz dichlorometan. W analizie metodą LC-MS ekstrakcja płynem w stanie nadkrytycznym modyfikowanym acetonem ma zastosowanie do izolacji pestycydów z owoców, warzyw i ryżu [13].

Techniki ekstrakcyjne z udziałem sorbentu

W technikach ekstrakcyjnych z udziałem sorbentu wykorzystuje się zjawisko sorpcji analitów z ekstrahowanej próbki na powierzchni ciała stałego, w których fazą ekstrahującą jest złożo sorbentu. Dobór rodzaju sorbentu i charakterystyki jego uziarnienia zależą od właściwości i stężenia analitów, charakteru matrycy próbki, współobecnych substancji utrudniających ekstrakcję i sposobu uwalniania analitów. Wśród technik ekstrakcji pestycydów z żywności, oznaczanych metodami LC-MS, z udziałem sorbentu do powszechnych należą: klasyczna ekstrakcja do fazy stałej (SPE, ang. *solid phase extraction*) wraz z jej modyfikacją, ekstrakcja do zdyspergowanej fazy stałej (dSPE, ang. *dispersive solid phase extraction*) oraz ekstrakcja analitu z próbki zmieszanej z fazą stałą (MSPD, ang. *matrix solid phase dispersion*).

Ekstrakcja do fazy stałej (SPE)

Jest to technika izolowania analitu w układzie ciecz - ciało stałe, polegająca na przepuszczeniu ciekłej analizowanej próbki przez uprzednio kondycjonowane złożo sorbentu i selektywnej adsorpcji analitów i/lub substancji przeszkadzających na powierzchni fazy stałej. Zatrzymywane związki są następnie wymywane niewielką ilością odpowiedniego rozpuszczalnika. Skuteczność procesu ekstrakcji zależy od właściwego doboru sorbentu, do którego obecne w próbce anality będą wykazywały większe powinowactwo niż do składników matrycy oraz od właściwego doboru rozpuszczalnika wymywającego.

Do izolacji pestycydów stosuje się głównie modyfikowane żele krzemionkowe oraz sorbenty polimerowe. Powszechnie stosowane są chemicznie modyfikowane materiały krzemionkowe z powierzchniową warstwą oktylową C₈ [27] i oktadecylową C₁₈ [23, 27], Florisil – produkt współstrącenia żelu krzemionkowego i wodorotlenku ma-

gnezu [14] oraz sorbenty niepolarne, takie jak węgiel aktywny [23] czy polarny żel krzemionkowy z chemicznie związanymi ugrupowaniami aminopropylowymi NH_2 [6]. Ich podstawowym ograniczeniem jest zatrzymywanie analitów o ściśle określonych właściwościach fizykochemicznych. Chcąc więc równocześnie oznaczyć wiele analitów, zastępuje się tradycyjne adsorbenty nowymi sorbentami o bardzo szerokim spektrum adsorpcyjnym, umożliwiającym izolowanie substancji o zróżnicowanych właściwościach fizykochemicznych. Jednym z takich sorbentów jest kopolimer lipofilowego diwinylobenzenu i hydrofilowego N-winylopirolidonu, znany pod nazwą handlową Oasis HLB [1, 25, 27].

Ekstrakcja do zdyspergowanej fazy stałej (dSPE)

W metodzie tej, będącej modyfikacją klasycznej SPE, tradycyjne złożo sorbentu zastąpiono sorbentem sypkim dodawanym bezpośrednio do roztworu próbki. Największe znaczenie mają sorbenty: na bazie modyfikowanego żelu krzemionkowego z grupami oktadecylowymi C_{18} [8], amina pierwszo- i drugorzędowa PSA (ang. *primary secondary amine*,) [4, 8, 12, 30] oraz sadza grafitowana GCB (ang. *graphitized carbon black*) [12, 30].

Ekstrakcja z próbki zmieszanej z fazą stałą (MSPD)

Jest to technika równoczesnego izolowania analitu oraz oczyszczania ekstraktu w układzie ciecz – ciało stałe. W przypadku tej techniki zhomogenizowaną próbkę miesza się ze stałym sorbentem i umieszcza w kolumnie najczęściej na warstwie bezwodnego siarczanu(VI) sodu, a następnie wymywa anality odpowiednio dobranym rozpuszczalnikiem. Charakter sorbentu dobierany jest stosownie do natury matrycy i właściwości substancji izolowanej oraz interferentów i może służyć do zatrzymywania jednych lub drugich. Do izolacji pestycydów z próbek najczęściej stosowane są: modyfikowane żele krzemionkowe z powierzchniową warstwą oktadecylową C_{18} [17], modyfikowane żele krzemionkowe z chemicznie związanymi grupami aminopropylowymi NH_2 [10], Florisil [17], a także ziemia okrzemkowa [26]. W zależności od właściwości oznaczanych substancji oraz sorbentu wybranego do ekstrakcji, do wymywania analitów stosuje się różne rozpuszczalniki organiczne. Na ogół używa się: acetonitrylu, octanu etylu, dichlorometanu oraz ich mieszanin [10, 17, 26].

Techniki ekstrakcyjne z udziałem membrany

W technikach ekstrakcyjnych z udziałem membrany, służących do przygotowania próbek do analizy LC-MS, wykorzystuje się właściwości membrany jako przegrody cienkoarstwowej, zdolnej do selektywnego transportu cząsteczek pomiędzy fazą zasilającą (donorową) a fazą odbierającą (akceptorową). Do izolowania pestycydów z żywności stosuje się m.in. membranę nieporowatą (półprzepuszczalną), głównie po-

limer impregnowany cieczą, którą umieszcza się pomiędzy dwiema innymi, najczęściej ciekłymi fazami. Zwykle stosuje się ekstrakcję membranową połączoną z absorpcją w rozpuszczalniku MASE (ang. *membran assisted solvent extraction*) oraz mikroekstrakcję z wykorzystaniem włókna z osadzoną fazą ciekłą HF-LPME (ang. *hollow fiber liquid phase microextraction*).

Ekstrakcja membranowa połączona z absorpcją w rozpuszczalniku (MASE)

Opisywana ekstrakcja stanowi zminiaturyzowany proces klasycznej ekstrakcji rozpuszczalnikiem typu ciecz – ciecz polegający na wykorzystaniu półprzepuszczalnej membrany polimerowej. Proces ekstrakcji realizowany jest w układzie faza wodna/polimer/faza organiczna, w którym anality ekstrahuje się z fazy wodnej przez poli-propylenową membranę do małej objętości rozpuszczalnika organicznego. W zależności od właściwości chemicznych analitu w ekstrakcji MASE stosuje się różne rozpuszczalniki organiczne. W analizie wina metodą LC-MS do izolacji pestycydów zastosowano technikę ekstrakcji MASE z toluenem, który jest najwydajniejszym rozpuszczalnikiem organicznym używanym do izolowania pestycydów z próbek wodnych [20].

Mikroekstrakcja z wykorzystaniem włókna z osadzoną fazą ciekłą (HF-LPME)

Technika ekstrakcyjna w układzie ciecz – ciecz, w której ciecz ekstrahująca znajduje się w przestrzeniach polimerowej membrany mającej postać włókna kapilarnego. Proces izolacji polega na ekstrakcji analitu z roztworu fazy donorowej do rozpuszczalnika organicznego unieruchomionego na porowatej hydrofobowej membranie, a następnie na reekstrakcji związku do fazy akceptorowej. Przeważnie stosuje się porowate membrany polipropylenowe w postaci włókna kapilarnego (ang. *hollowfiber*) niemieckiej firmy Membrana GmbH, znane pod nazwą handlową Accurel PP hollowfiber [5]. Technika ekstrakcji membranowej z wykorzystaniem włókna kapilarnego jest stosowana do izolacji pestycydów z wina i piwa [5].

Techniki ekstrakcyjne łączone

Techniki ekstrakcyjne łączone są nową, rozwijającą się grupą metod umożliwiających przygotowanie próbek do analiz. Dzięki połączeniu w jeden proces różnych technik ekstrakcyjnych ułatwiają one równoczesną izolację szerokiej gamy związków wywodzących się z różnych grup chemicznych. Pozwalają zintegrować różne etapy procesu przygotowania próbek do badań, takie jak ekstrakcja analitów z próbki, wzbogacanie czy oczyszczanie ekstraktów, eliminując tym samym szereg etapów pośrednich. Charakteryzują się wysokim potencjałem do modyfikacji, przez co są nieustannie rozwijane. W analizie pozostałości pestycydów w żywności metodami LC-MS wśród technik łączonych powszechna jest metoda QuEChERS, opracowana przez Anastas-

siadesa w 2003 r. [3], chociaż znane są i inne metody, jak opracowane przez Guo w 2010 r. techniki ekstrakcji łącznej CHEMAC czy STEMIT [11].

Metoda QuEChERS, (ang. Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged, Safe)

Technika ekstrakcji rozpuszczalnikiem połączona z oczyszczaniem ekstraktu łączy metodę ekstrakcji analitu za pomocą rozpuszczalnika z metodą oczyszczania ekstraktu za pomocą dyspersyjnej wersji ekstrakcji do fazy stałej. Została ona opracowana w latach 2000 - 2002, a po raz pierwszy opublikowana w 2003 r. i wykorzystana do oznaczania pozostałości pestycydów w owocach i warzywach metodą GC-MS [3]. Jej pierwsze zastosowanie w połączeniu z metodami LC-MS zostało odnotowane w roku 2005 jako kontynuacja badań przeprowadzonych przez Anastassiadesa z roku 2003 [16]. Podstawowa koncepcja QuEChERS [3], opracowana do oznaczania pozostałości pestycydów w owocach i warzywach o dużej zawartości wody, polega na ekstrakcji analitów za pomocą acetonitrylu w obecności bezwodnego siarczanu(VI) magnezu i chlorku sodu, z fazy wodnej do fazy organicznej. Następnie interferenty są ekstrahowane do zdyspergowanej fazy stałej, mieszaniny bezwodnego siarczanu(VI) sodu i aminy pierwszo- i drugorzędowej (PSA). Drugi etap procedury ma na celu oczyszczenie otrzymanego ekstraktu. W zależności od celu analizy, rodzaju analitów, składu i rodzaju matrycy, procedura może być poddawana różnorodnym modyfikacjom [3]. Modyfikacje dotyczą: zmiany składu i/lub proporcji stosowanych w ekstrakcji soli [1, 16], zmiany składu i/lub proporcji stosowanych sorbentów [10, 16], stosowania buforów: cytrynianowego lub octowego [1, 11, 24] oraz stosowania odpowiednich kwasów lub zasad – w celu utrzymania optymalnego pH próbki w zakresie od 5 do 5,5. Inne modyfikacje tej metody polegają na całkowitym pominięciu etapu oczyszczania [24], zastosowaniu złoża sorbentu w postaci kolumny [7], zamianie rozpuszczalnika organicznego z acetonitrylu na hexan [15] czy wprowadzeniu dodatkowego etapu zateżnienia analitów w oczyszczonym ekstrakcie poprzez odparowanie i/lub wymianę rozpuszczalnika [4]. Porównania różnych procedur QuEChERS dokonano na przykładzie izolacji pestycydów z ryżu [24] oraz z owoców i warzyw [18].

Metoda ekstrakcji CHEMAC (ang. conservative homogenizing extraction and multi-function adsorption cleanup)

Metoda ta łączy ekstrakcję rozpuszczalnikiem z wielofunkcyjnym oczyszczaniem ekstraktu w procesie adsorpcji na powierzchni ciała stałego. Opracowana została na bazie procedury QuEChERS i stanowi połączenie metody ekstrakcji analitu za pomocą rozpuszczalnika z metodą oczyszczania ekstraktu za pomocą dSPE. W przypadku CHEMAC ekstrakcję analitów prowadzi się jednak w niskiej temperaturze, a do oczyszczania ekstraktów wykorzystuje się mieszaninę kilku sorbentów. Ekstrakcję przeprowadza się za pomocą 1-procentowego roztworu kwasu octowego w acetonitry-

lu w obecności bezwodnego siarczanu(VI) magnezu i octanu sodu. Otrzymany ekstrakt oczyszcza się metodą dSPE, stosując mieszaninę sorbentów: PSA, C₁₈, GCB oraz bezwodnego Na₂SO₄. Dodatkową zmianą w stosunku do procedury QuEChERS jest dodanie do oczyszczonego ekstraktu schłodzonego 2-procentowego kwasu octowego [11]. Aby zapobiec stratom pestycydów wykazujących silne powinowactwo do GCB, do ekstraktu dodawany jest toluen [11]. Dzięki zastosowaniu niskiej temperatury technika CHEMAC umożliwia izolowanie termolabilnych związków. W analizie żywności znalazła ona zastosowanie w izolowaniu fungicydów zawierających związki benzimidazolowe z owoców, warzyw, herbaty i zboża [11].

Technika ekstrakcji STEMIT (ang. single-tube extraction with multisorbent impurity trapping)

Technika łącząca ekstrakcję rozpuszczalnikiem z oczyszczaniem ekstraktu w procesie adsorpcji na powierzchni ciała stałego stanowi modyfikację metody CHEMAC, opisanej wyżej. Istotą wprowadzonej zmiany jest przeprowadzenie obu etapów: izolacji analitów i oczyszczania ekstraktu, czyli zarówno ekstrakcji rozpuszczalnikiem, jak i ekstrakcji do zdyspergowanej fazy stałej w jednej próbce. Procedura STEMIT polega na równoczesnej ekstrakcji i oczyszczaniu analitów za pomocą 1-procentowego roztworu kwasu octowego w acetonitrylu z dodatkiem mieszaniny soli (6 g bezwodnego Na₂SO₄ i 1 g CH₃COONa) w obecności mieszaniny sorbentów (400 mg PSA, 300 mg C₁₈ oraz 60 mg GCB). Otrzymany ekstrakt, podobnie jak w metodzie CHEMAC, przed analizą LC-MS rozcieńcza się schłodzonym 2-procentowym kwasem octowym [11].

Inne techniki stosowane do oczyszczania ekstraktów

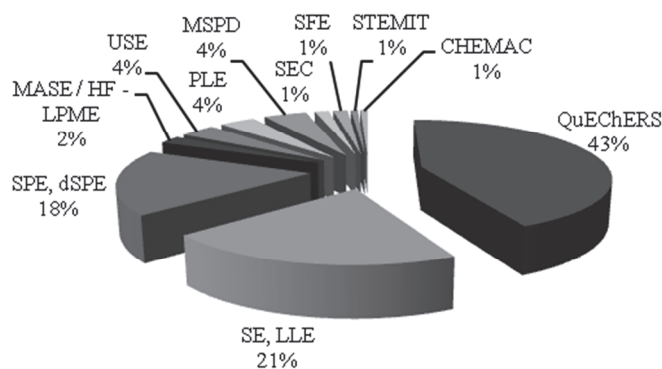
Spośród technik stosowanych do oczyszczania ekstraktów na szczególną uwagę zasługuje chromatografia wykluczania SEC (ang. *size exclusion chromatography*), znana również pod nazwą chromatografii żelowej GPC (ang. *gel permeation chromatography*). Jest to metoda polegająca na efektywnym rozdzieleniu składników mieszanin różniących się wielkością cząsteczek. Cząsteczki składników próbki, o wymiarach mniejszych niż wymiary porów fazy stacjonarnej (sita molekularnego) znajdującej się w kolumnie, mogą w nie wnikać, dzięki czemu zostają dłużej zatrzymane w kolumnie niż związki chemiczne o większych cząsteczkach. Chromatografia wykluczania jako technika oczyszczania ekstraktu jest stosowana do usuwania związków wielkocząsteczkowych, takich jak tłuszcze, białka i pigmenty. Technika SEC w analizie żywności metodami LC-MS stanowi niszową grupę procedur oczyszczania ekstraktów. Zastosowana została m.in. do oczyszczania ekstraktów z ziół [12] oraz mięsa [22]. Jako wypełnienia kolumn użyto kopolimerów styrenu i diwinylobenzenu o nazwie handlo-

wej Bio-Beads SX-2 i SX-3 [12, 22], a jako eluentu – mieszaniny octanu etylu z cykloheksanem [12, 22].

Podsumowanie

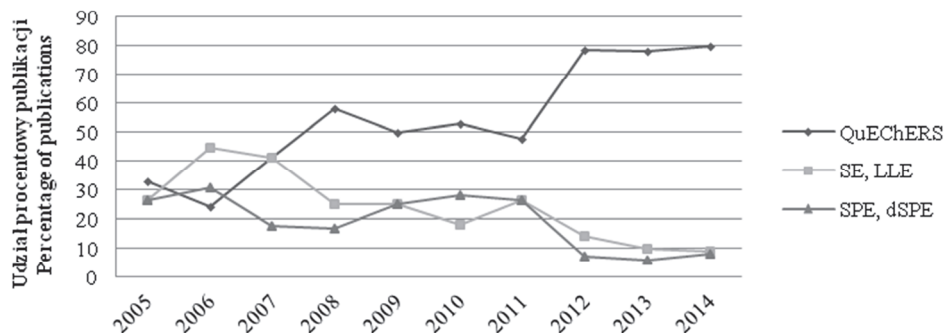
Obserwuje się znaczny rozwój metod ekstrakcyjnych stosowanych do izolacji pestycydów z żywności. Metody te umożliwiają równoczesną ekstrakcję pozostałości wielu substancji o zróżnicowanych właściwościach fizykochemicznych. Spośród omówionych technik do ekstrakcji pestycydów z próbek żywności lub ich wstępnego oczyszczania najczęściej stosuje się: metodę QuEChERS, techniki SE, w tym również LLE oraz SPE wraz z dSPE. Pozostałe techniki ekstrakcyjne wykorzystywane są relatywnie rzadko (rys. 3). Wynika to przede wszystkim z ograniczonej kompatybilności tych metod z oznaczeniami LC-MS, braku dostępności odpowiedniej aparatury (do SFE i PLE), niedostatecznych umiejętności i niewystarczającego doświadczenia analitycznego oraz rutynowego używania jednej metody ekstrakcyjnej w laboratorium.

Od wprowadzenia (w 2005 r.) metody QuEChERS do analiz LC-MS nastąpiła zmiana preferencji w stosowaniu technik ekstrakcyjnych używanych do izolacji pozostałości pestycydów z próbek żywności. W literaturze opublikowano wiele przykładów zastosowań metody QuEChERS do oznaczeń pozostałości pestycydów w produktach spożywczych, jak również prac poświęconych porównaniu QuEChERS z innymi technikami ekstrakcyjnymi [5]. Wzrost znaczenia metody QuEChERS przedstawiono na rys. 4.



Rys. 3. Zestawienie częstotliwości stosowania technik ekstrakcyjnych stosowanych do oznaczania pozostałości pestycydów w żywności metodą LC-MS. Na podstawie bazy Scopus, hasło wyszukiwania: pesticide, food, multiresidue methods, LC-MS

Fig. 3. Overview of how often (frequency rates) extraction techniques were applied when determining, by LC-MS method, pesticide residues in food. Based on Scopus database, search term: pesticide, food, multi-residue methods, LC-MS



Rys. 4. Zmiana preferencji w stosowaniu technik ekstrakcyjnych używanych do izolacji pestycydów z próbek żywności, oznaczanych metodą LC-MS w latach 2005-2014. Na podstawie bazy Scopus, hasło wyszukiwania: pesticide, food, multiresidue methods, LC-MS

Fig. 4. Preference change in using extraction techniques applied to isolate pesticide residues that are, nex, determined using LC-MS, in a period from 2005 to 2014. Based on Scopus database, search term: pesticide, food, multi-residue methods, LC-MS

Pomimo opracowania szeregu procedur analitycznych umożliwiających jednoczesną izolację pestycydów o zróżnicowanej budowie chemicznej i termolabilności z produktów spożywczych, nadal występują problemy dotyczące zarówno przygotowania próbek, jak i ich analizy. Niejednokrotnie są one związane z obecnością w próbkach zróżnicowanej matrycy, zawierającej związki, które mogą interferować z analitami, wpływając na jakość wyniku końcowego. Ponadto mała zawartość pestycydów w żywności wymaga wzbogacenia wyizolowanych związków z matrycy, co wydłuża procedurę przygotowania próbek. Niezbędne jest więc udoskonalanie stosowanych technik i opracowywanie nowych, które w sposób szybki, prosty, skuteczny i bezpieczny dla środowiska umożliwiłyby oznaczanie pestycydów z różnych grup chemicznych przy zróżnicowanej matrycy.

Literatura

- [1] Aguilera-Luiz M., Plaza Bolanos P., Romero-Gonzalez R., Martinez Vidal J., Frenich A.: Comparison of the efficiency of different extraction methods for the simultaneous determination of mycotoxins and pesticides in milk samples by Ultra High-Performance Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry. *Anal. Bioanal. Chem.*, 2011, **399**, 2863-2875.
- [2] Anagnostopoulos C.J., Miliadis G.E., Liapis K.S., Aplada-Sarlis P.: A multiresidue method for analysis of 56 pesticides in peaches using liquid chromatography with Tandem Mass Spectrometry detection. *Hellenic Plant Prot. J.*, 2009, **2**, 75-90.
- [3] Anastassiades M., Lehotay S.J., Stajnbaher D., Schenck F.J.: Fast and easy multiresidue method employing acetonitrile extraction/partitioning and "dispersive solid-phase extraction" for the determination of pesticide residues in produce. *J. AOAC Int.*, 2003, **86**, 412-431.

- [4] Banerjee K., Oulkar D.P., Dasgupta S., Patil S.B., Patil S.H., Savant R., Adsule P.G.: Validation and uncertainty analysis of a multi-residue method for pesticides in grapes using ethyl acetate extraction and Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry. *J. Chrom. A.*, 2007, **1173**, 98-109.
- [5] Bolanos P.P., Romero-Gonzalez R., Frenich A.G., Vidal J.L.M.: Application of hollow fibre liquid phase microextraction for the multi-residue determination of pesticides in alcoholic beverages by Ultra-High Pressure Liquid Chromatography coupled to Tandem Mass Spectrometry. *J. Chrom. A.*, 2008, **1208**, 16-24.
- [6] Chen G.Q., Cao P.Y., Liu R.J.: A multi-residue method for fast determination of pesticides in tea by Ultra Performance Liquid Chromatography-Electrospray Tandem Mass Spectrometry combined with modified QuEChERS sample preparation procedure. *Food Chem.*, 2011, **125**, 1406-1411.
- [7] Chen L.N., Song F.R., Liu Z.Q., Zheng Z., Xing J.P., Liu S.Y.: Multi-residue method for fast determination of pesticide residues in plants used in traditional chinese medicine by Ultra-High-Performance Liquid Chromatography coupled to Tandem Mass Spectrometry. *J. Chrom. A.*, 2012, **1225**, 132-140.
- [8] Dagnac T., Garcia-Chao M., Pulleiro P., Garcia-Jares C., Llompart M.: Dispersive solid-phase extraction followed by Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry for the multi-residue analysis of pesticides in raw bovine milk. *J. Chrom. A.*, 2009, **1216**, 3702-3709.
- [9] Frenich A.G., Salvador I.M., Martinez Vidal J., Lopez-Lopez T.: Determination of multiclass pesticides in food commodities by pressurized liquid extraction using GC-MS/MS and LC-MS/MS. *Anal. Bioanal. Chem.*, 2005, **383**, 1106-1118.
- [10] Gilbert-Lopez B., Garcia-Reyes J.F., Lozano A., Fernandez-Alba A.R., Molina-Diaz A.: Large-scale pesticide testing in olives by Liquid Chromatography-Electrospray Tandem Mass Spectrometry using two sample preparation methods based on matrix solid-phase dispersion and QuEChERS. *J. Chrom. A.*, 2010, **1217**, 6022-6035.
- [11] Guo B., Huang Z.Q., Wang M.L., Wang X.Y., Zhang Y., Chen B., Li Y.J., Yan H.F., Yao S.Z.: Simultaneous direct analysis of benzimidazole fungicides and relevant metabolites in agricultural products based on multifunction dispersive solid-phase extraction and Liquid Chromatography-Mass Spectrometry. *J. Chrom. A.*, 2010, **1217**, 4796-4807.
- [12] Jia Z.W., Mao X.H., Chen K., Wang K., Ji S.: Comprehensive multi-residue method for the simultaneous determination of 74 pesticides and metabolites in traditional Chinese herbal medicines by accelerated solvent extraction with High-Performance Liquid Chromatography/Tandem Mass Spectrometry. *J. AOAC Int.*, 2010, **93**, 1570-1588.
- [13] Kaihara A., Yoshii K., Tsumura Y., Ishimitsu S., Tonogai Y.: Multi-residue analysis of 18 pesticides in fresh fruits, vegetables and rice by supercritical fluid extraction and liquid chromatography-electrospray ionization mass spectrometry. *J. Health Sci.*, 2002, **48**, 173-178.
- [14] Kamel A., Qian Y.R., Kolbe E., Stafford C.: Development and validation of a multiresidue method for the determination of neonicotinoid and macrocyclic lactone pesticide residues in milk, fruits, and vegetables by Ultra-Performance Liquid Chromatography/MS/MS. *J. AOAC Int.*, 2010, **93**, 389-399.
- [15] Lazartigues A., Wiest L., Baudot R., Thomas M., Feidt C., Cren-Olive C.: Multiresidue method to quantify pesticides in fish muscle by QuEChERS-based extraction and LC-MS/MS. *Anal. Bioanal. Chem.*, 2011, **400**, 2185-2193.
- [16] Lehotay S.J., de Kok A., Hiemstra M., Van Bodegraven P.: Validation of a fast and easy method for the determination of residues from 229 pesticides in fruits and vegetables using gas and liquid chromatography and mass spectrometric detection. *J. AOAC Int.*, 2005, **88**, 595-614.
- [17] Lehotay S.J., Mastovska K., Yun S.J.: Evaluation of two fast and easy methods for pesticide residue analysis in fatty food matrixes. *J. AOAC Int.*, 2005, **88**, 630-638.
- [18] Lehotay S.J., Son K.A., Kwon H., Koesukwiwat U., Fu W.S., Mastovska K., Hoh E., Leepipatiboon N.: Comparison of QuEChERS sample preparation methods for the analysis of pesticide residues in fruits and vegetables. *J. Chrom. A.*, 2010, **1217**, 2548-2560.
- [19] Materska M.: Wpływ warunków ekstrakcji na zawartość *O*-glikozydów kwercetyny w preparatach z owoców papryki. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2013, **91** (6), 139-150.

- [20] Moeder M., Bauer C., Popp P., Van Pinxteren M., Reemtsma T.: Determination of pesticide residues in wine by membrane-assisted solvent extraction and High-Performance Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry. *Anal. Bioanal. Chem.*, 2012, **403**, 1731-1741.
- [21] Omate M., Harayama K., Sasaki T., Mochizuki N., Yamashita H.: Analysis of simultaneous screening for 277 pesticides in malt and beer by Liquid Chromatography with Tandem Mass Spectrometry. *J. Am. Soc. Brewing Chem.*, 2006, **64**, 139-150.
- [22] Pang G.F., Cao Y.Z., Zhang J.J., Fan C.L., Liu Y.M., Li X.M., Jia G.Q., Li Z.Y., Shi Y.Q., Wu Y.P., Guo T.T.: Validation study on 660 pesticide residues in animal tissues by gel permeation chromatography cleanup/gas Chromatography-Mass Spectrometry and Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry. *J. Chrom. A.*, 2006, **1125**, 1-30.
- [23] Pang G.F., Fan C.L., Liu Y.M., Cao Y.Z., Zhang J.J., Li X.M., Li Z.Y., Wu Y.P., Guo T.T.: Determination of residues of 446 pesticides in fruits and vegetables by three-cartridge solid-phase extraction-gas Chromatography-Mass Spectrometry and Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry. *J. AOAC Int.*, 2006, **89**, 740-771.
- [24] Pareja L., Cesio V., Heinzen H., Fernandez-Alba A.R.: Evaluation of various QuEChERS based methods for the analysis of herbicides and other commonly used pesticides in polished rice by LC-MS/MS. *Talanta*, 2011, **83**, 1613-1622.
- [25] Pozo O.J., Barreda M., Sancho J.V., Hernandez F., Lliberia J.L., Cortes M.A., Bago B.: Multiresidue pesticide analysis of fruits by Ultra-Performance Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometry. *Anal. Bioanal. Chem.*, 2007, **389**, 1765-1771.
- [26] Radisic M., Grujic S., Vasiljevic T., Lausevic M.: Determination of selected pesticides in fruit juices by matrix solid-phase dispersion and Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry. *Food Chem.*, 2009, **113**, 712-719.
- [27] Rodrigues A.M., Ferreira V., Cardoso V.V., Ferreira E., Benoliel M.J.: Determination of several pesticides in water by solid-phase extraction, Liquid Chromatography and electrospray Tandem Mass Spectrometry. *J. Chrom. A.*, 2007, **1150**, 267-278.
- [28] Stepnowski P., Synak E., Szafranek B., Kaczyński Z.: *Techniki separacyjne*. Wyd. UG, Gdańsk 2010.
- [29] Tokman N., Soler C., La Farre M., Pico Y., Barcelo D.: Determination of amitraz and its transformation products in pears by ethyl acetate extraction and Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry. *J. Chrom. A.*, 2009, **1216**, 3138-3146.
- [30] Zhang X.A., Mobley N., Zang J.G., Zheng X.M., Lu L., Ragin O., Smith C.J.: Analysis of agricultural residues on tea using d-SPE sample preparation with GC-NCI-MS and UHPLC-MS/MS. *J. Agric. Food Chem.*, 2010, **58**, 11553-11560.

EXTRACTION TECHNIQUES APPLIED TO LC-MS DETERMINATION OF PESTICIDE RESIDUES IN FOOD

S u m m a r y

A review is given of the most significant extraction techniques used to isolate pesticide residues in food that are, next, determined by a liquid chromatography-mass spectrometry (LC-MS) method. The focus is exclusively on the methods, which make it possible to simultaneously analyse residue of multiple pesticides during one single determination run. The extraction techniques are discussed, which involve solvent extraction, solid-phase extraction, and membrane extraction as are the combined techniques such as QuEChERS, CHEMAC, and STEMIT.

In the analysis of pesticides, one of the major issues is the optimization of the applied extraction technique combined with the process of cleaning up the extract. In the case the residues of many pesticides are simultaneously determined that have different physical-chemical characteristics, compromise solutions are applied, which enable to isolate as many compounds as possible. Medium polarity solvents are most fre-

quently used; in the first place acetonitrile, methanol, and ethyl acetate. Of all the sorbent materials, the Oasis HLB and mixtures of PSA (*Primary-Secondary Amine*) and GCB (*graphitized Carbon Black*) are commonly applied. The porous (hollow) polypropylene membranes in the form of hollow fibres are most frequently used as membranes. In the paper, specifically highlighted was the application of a QuEChERS method to isolate pesticides from food samples.

Key words: food, pesticides, extraction, QuEChERS, LC-MS ☒

EDYTA M. KUTYŁA-KUPIDURA, MAREK SIKORA, ANNA DOBOSZ,
MAGDALENA KRYSZYJAN

WPLYW ZASTĄPIENIA SACHAROZY ALTERNATYWNYMI SUBSTANCJAMI SŁODZĄCYMI NA WŁAŚCIWOŚCI PRODUKTÓW CIASTKARSKICH

Streszczenie

Przedstawiono wyniki badań dotyczących wpływu alternatywnych substancji słodzących na właściwości ciasta i wyrobów ciastkarskich, takich jak herbatniki, wafle, a także ciasta o strukturze gąbczastej. Podsumowano dotychczas prowadzone badania w celu wykazania, które alternatywne substancje słodzące pozwalają uzyskać produkty o cechach zbliżonych do ich odpowiedników z sacharozą. Podano grupy zamienników wpływających pozytywnie i negatywnie na tekstualne, reologiczne i sensoryczne właściwości ciast surowych oraz gotowych wyrobów. Stwierdzono, że odpowiedni dobór substancji słodzących lub ich mieszanin pozwalał uzyskać produkty, których cechy nie różniły się w znacznym stopniu od cech ich odpowiedników z sacharozą. Najlepszymi właściwościami charakteryzowały się wyroby, do produkcji których zastosowano poliole lub też mieszaniny dwóch różnych substancji słodzących.

Całkowite zastąpienie sacharozy fruktozą oraz maltitolem, a także częściowe zastąpienie sacharozy fruktożą, sorbitolem, inuliną lub syropem daktylowym nie powodowało istotnych zmian twardości herbatników. Herbatniki, w których sacharozę wymieniono maltitolem, laktitolem, sorbitolem, a także mieszaniną acesulfamu K z fruktozą, maltitolem, laktitolem, sorbitolem oraz ksylitolem, nie różniły się istotnie pod względem sensorycznym. Z kolei zastosowanie maltitolu lub mieszaniny sukralozy i maltodekstryny pozwalało uzyskać produkty o lepszych cechach sensorycznych. Herbatniki, w których sacharozę zastąpiono częściowo syropem daktylowym, fruktooligosacharydami, aspartamem lub acesulfamem, charakteryzowały się cechami sensorycznymi zbliżonymi do produktów kontrolnych. Zastosowanie jako zamiennika sacharozy oligofruktozy, polidekstrozy lub mieszaniny erytrytolu i sukralozy umożliwiło uzyskanie ciasta o strukturze gąbczastej i właściwościach teksturalnych zbliżonych do wyrobów z sacharozą. Całkowite zastąpienie sacharozy ksylitolem, maltitolem oraz laktitolem w tych ciastach okazało się korzystne pod względem sensorycznym.

Słowa kluczowe: zamienniki sacharozy, herbatniki bezcukrowe, ciasta o strukturze gąbczastej, wafle, tekstura

Mgr inż. E. M. Kutyla-Kupidura, prof. dr hab. M. Sikora, mgr inż. A. Dobosz, dr inż. M. Krystyjan, Katedra Technologii Węglowodanów, Wydz. Technologii Żywności, Uniwersytet Rolniczy w Krakowie, ul. Balicka 122, 30-149 Kraków. Kontakt: kutyla.majka@gmail.com

Wprowadzenie

W celu uzyskania produktów specjalnego przeznaczenia żywieniowego konieczne są m.in. modyfikacje receptury. Na przykład produkty przeznaczone dla osób chorych na cukrzycę powinny zawierać substancje słodzące, które nie powodują wzrostu stężenia glukozy we krwi [4, 8]. Modyfikacje receptur należy jednak przeprowadzić w taki sposób, aby dany produkt był jak najbardziej zbliżony swoimi właściwościami do jego tradycyjnego odpowiednika [17]. W tym celu można stosować alternatywne substancje słodzące lub ich mieszaniny. Zamienniki sacharozy można scharakteryzować m.in. ze względu na ich funkcje. W przypadku tej cechy wyróżnia się substancje słodzące wypełniające (ang. *bulk sweeteners*), do których należą np. cukry proste czy poliole oraz intensywnie słodzące (np. aspartam, acesulfam K, sukraloza, glikozydy stewiolowe). W Polsce dopuszczone do stosowania w żywności są wszystkie poliole (zgodnie z zasadą *quantum satis*) oraz 12 substancji intensywnie słodzących [22, 23].

Grupą produktów, w których stosuje się zamienniki sacharozy, są wyroby ciastkarskie trwale wytwarzane przemysłowo. Zalicza się do niej herbatniki, wafle, biszkopty (ciasta o strukturze gąbczastej), suchary, wyroby z ciasta parzonego (precle, paluszki), pierniki i inne. Jednak nie wszystkie substancje słodzące można stosować do wytwarzania wyrobów ciastkarskich (np. aspartam ulega rozkładowi podczas długotrwałego działania wysokiej temperatury, stosowanej podczas wypieku herbatników czy wafli) [6, 19].

Celem pracy było przedstawienie aktualnego stanu wiedzy na temat zastosowania alternatywnych substancji słodzących, ich wpływu na właściwości teksturalne i reologiczne ciast oraz właściwości teksturalne i sensoryczne wytworzonych z nich wyrobów ciastkarskich.

Wpływ udziału alternatywnych substancji słodzących na właściwości ciast surowych oraz herbatników

Właściwości teksturalne i reologiczne ciast surowych [5, 24, 29] oraz właściwości teksturalne i sensoryczne kruchych herbatników [5-7, 9, 12, 14, 24, 27-29], w których sacharozę zastąpiono (całkowicie lub częściowo) innymi substancjami słodzącymi, a także ich mieszaninami, badało wielu autorów. Ciasta surowe zawierające ksylitol lub sacharozę charakteryzowały się najmniejszą twardością, a z mannitolem – największą [29]. Z kolei herbatniki z sacharozą, fruktozą oraz maltitolem odznaczały się zblizoną wielkością siły penetracji. W porównaniu z nimi twardość herbatników, w których sacharozę całkowicie zastąpiono laktitolem i mannitolem była mniejsza. Zoulias i wsp. [29] badali wpływ dodatku acesulfamu K na zmianę twardości herbatników zawierających zamiast sacharozy alternatywne substancje słodzące (fruktozę, maltitol, laktitol, sorbitol, ksylitol, mannitol). Stwierdzili, że dodatek acesulfamu K spowodował

zwiększenie twardości wszystkich wyrobów, za wyjątkiem herbatników zawierających maltitol, w przypadku których zaobserwowano zmniejszenie twardości. Autorzy wykazali, że herbatniki z udziałem maltitolu, laktitolu oraz sorbitolu nie różniły się znacząco pod względem ogólnej jakości sensorycznej od produktów z sacharozą. Najniżej oceniono produkty z fruktozą, ksylitolem oraz mannitolem. Zastosowanie acesulfamu K wpłynęło na poprawę cech sensorycznych wyrobów ciastkarskich. Przy zastosowaniu kombinacji substancji słodzących niżej niż herbatniki z sacharozą oceniono jedynie produkty zawierające mieszaninę mannitolu i acesulfamu K. Najwyższym przyrostem średnicy charakteryzowały się herbatniki, w których jako substancję słodzącą zastosowano laktitol (19,4 %), maltitol (18,0 %) oraz sacharozę (17,24 %). W przypadku herbatników, w których sacharozę zastąpiono całkowicie mannitolem przyrost ten był najmniejszy (1,3 %). Dodatek acesulfamu K spowodował zmniejszenie przyrostu średnicy podczas pieczenia. Wyjątek stanowił produkt zawierający mieszaninę acesulfamu K i maltitolu. W tym przypadku średnica wyrobów nieznacznie się zwiększyła w stosunku do herbatników z udziałem wyłącznie maltitolu [29].

Według innych badań [28] herbatniki, w których sacharozę zastąpiono całkowicie laktitolem lub sorbitolem charakteryzowały się znacznie mniejszą twardością niż te, w których jako substancji słodzącej użyto sacharozy. Natomiast twardość herbatników z udziałem maltitolu była zawsze porównywalna z twardością herbatników kontrolnych (z sacharozą). Herbatniki, w których użyto sorbitolu, charakteryzowały się najgorszymi cechami sensorycznymi. Zastąpienie sacharozy laktitolem nieznacznie zmniejszało ogólną pożądalność wyrobu w stosunku do próbki kontrolnej, natomiast herbatniki z udziałem maltitolu odznaczały się właściwościami sensorycznymi lepszymi niż produkt z sacharozą [28].

Analiza tekstury ciasta oraz wypieczonych z niego herbatników z sacharozą oraz takich, w których sacharozę w 20, 25 i 30 % zastąpiono oligofruktozą pozwoliła stwierdzić, że obecność oligofruktozy spowodowała zmniejszenie twardości ciasta surowego w porównaniu z ciastem z sacharozą [5]. Twardość ciasta zmniejszała się wraz ze wzrostem ilości zamiennika sacharozy. Spośród gotowych wyrobów najtwardsze były herbatniki zawierające wyłącznie sacharozę, a wraz ze wzrostem zawartości oligofruktozy twardość ich zmniejszała się. Po upływie jednego dnia od wypieku, herbatniki z udziałem oligofruktozy miały ciemniejszą barwę powierzchni niż herbatniki z sacharozą. Jednak istotne różnice pomiędzy barwą powierzchni wyrobów kontrolnych (z sacharozą) i herbatników z udziałem oligofruktozy zaobserwowano tylko w przypadku wyrobów z największym udziałem oligofruktozy. Po 8 tygodniach przechowywania barwa powierzchni herbatników z udziałem oligofruktozy była jaśniejsza w porównaniu z barwą herbatników kontrolnych [5].

Całkowite zastąpienie sacharozy mieszaninami sukralozy (0,05 g/100 g mąki) i maltodekstryny (w ilości 10 lub 20 g/100 g mąki) przyczyniło się do zwiększenia

absorpcji wody i skrócenia czasu tworzenia się ciasta w porównaniu z ciastem z sacharozą, natomiast zastosowanie większej ilości maltodekstryny (30 lub 40 g/100 g mąki) spowodowało efekt odwrotny [24]. Po przeprowadzeniu analizy ekstensograficznej stwierdzono, że zastąpienie sacharozy sukralozą z dodatkiem różnych ilości maltodekstryny spowodowało zmniejszenie odporności ciasta na rozciąganie, a tym samym zmniejszenie jego elastyczności, a także zmianę przebiegu charakterystyki kleikowania. Wraz ze wzrostem zawartości maltodekstryny temperatura początku kleikowania i lepkość maksymalna próbek zwiększała się, a lepkość po ochłodzeniu i różnica między lepkością maksymalną i minimalną zmniejszała się. Ponadto, herbatniki z udziałem sukralozy i 30 g maltodekstryny odznaczały się twardością zbliżoną do tych z sacharozą. Udział sukralozy i dodatek maltodekstryny w ilości 10 i 20 g powodował zwiększenie twardości, a dodatek 40 g – zmniejszenie tego parametru. Pod względem sensorycznym produkt z dodatkiem sukralozy i 30 g maltodekstryny oceniono wyżej niż z sacharozą. Natomiast dodatek 10, 20 i 40 g maltodekstryny wpłynął na obniżenie jakości sensorycznej herbatników. Ponadto, wraz ze wzrostem ilości maltodekstryny zwiększały się wartości współczynnika rozprzestrzeniania, czyli proporcji średnicy badanych herbatników do ich grubości [24].

Zastąpienie sacharozy tagatozą, w przedziale odpowiadającym $25 \div 100$ % sacharozy, spowodowało zwiększenie twardości herbatników. Było ono tym większe, im większy był jej udział. Natomiast zastąpienie sacharozy taką samą ilością fruktozy spowodowało zmniejszenie twardości herbatników [27]. Wyjątek stanowiły herbatniki, w których sacharozę zastąpiono fruktozą w 25 %. Odznaczały się one nieznacznie większą twardością niż te z sacharozą. Zastosowanie jako zamiennika sacharozy, zarówno fruktozy, jak i tagatozy, spowodowało również zmniejszenie średnicy wypieczonych herbatników w porównaniu z próbą kontrolną. Zastąpienie sacharozy tagatozą spowodowało zwiększenie wysokości herbatników (tym większe, im większy był udział tagatozy), a fruktozą – zmniejszenie grubości ciastek. Wyjątek stanowiły herbatniki, w których fruktozą zastąpiono 75 % sacharozy. Miały one większą wysokość niż herbatniki kontrolne. Udział alternatywnych substancji słodzących wpływał także na jaśniejszą barwę powierzchni herbatników [27].

Wraz ze wzrostem udziału inuliny oraz syropu daktylowego zmniejszała się zawartość suchej masy wypieczonych herbatników, a udział sorbitolu powodował jej zwiększenie [9]. Zastąpienie sacharozy tymi substancjami miało także wpływ na twardość (siłę łamania) herbatników. Największą siłą łamania cechowały się herbatniki z udziałem syropu daktylowego. Ponadto stwierdzono, że wraz ze wzrostem udziału substancji słodzących siła łamania produktów nieznacznie się zmniejszała. Zastosowanie syropu daktylowego pozwoliło uzyskać produkt o pożądanych cechach sensorycznych. Najwyżej oceniono produkty z 80- i 100-procentowym udziałem syropu dakty-

lowego (równie wysoko, jak produkt kontrolny). Zastosowanie inuliny i sorbitolu wpłynęło na znaczne obniżenie jakości sensorycznej herbatników [9].

Z analizy porównawczej siły łamania (twardości) herbatników, zawierających inulinę, sorbitol lub syrop daktylowy, wypieczonych zarówno z ciasta świeżego, jak i mrożonego wynika, że produkty zawierające inulinę oraz syrop daktylowy, wypieczone z ciasta mrożonego, charakteryzowały się większą twardością niż te, które wypieczono z ciasta świeżego. Z kolei proces mrożenia nie miał wpływu na twardość herbatników z udziałem sorbitolu [10].

Zastąpienie sacharozy erytrytolem w ilości 25, 50, 75 i 100 % nie wpłynęło znacząco na zmianę twardości kruchych herbatników [14]. Wraz ze wzrostem stężenia erytrytolu niekorzystnym zmianom ulegała barwa oraz odczucie słodkiego smaku, choć dodatek substancji słodzącej nie wpływał na wilgotność oraz twardość produktu. W przypadku 50, 75 oraz 100 % substytucji sacharozy erytrytolem wyczuwalny był efekt chłodzący po spożyciu produktu, którego intensywność wzrastała wraz ze wzrostem udziału polioliu. W ocenie pożądalności konsumenckiej stwierdzono, że udział erytrytolu na poziomie 75 oraz 100 % sacharozy niekorzystnie wpłynął na wszystkie cechy produktu poza twardością. Wraz ze wzrostem udziału erytrytolu w herbatnikach zwiększała się jasność powierzchni produktu [14].

Według Laguna i wsp. [12], udział erytrytolu powodował zwiększenie twardości kruchych herbatników. Z kolei zastąpienie sacharozy inuliną spowodowało efekt odwrotny. Zastąpienie 50 % sacharozy erytrytolem wpłynęło na zwiększenie wilgotności herbatników w porównaniu z produktem z sacharozą czy inuliną [12].

Jako częściowy zamiennik sacharozy stosowano również fruktooligosacharydy (FOS) na poziomie 40, 60 oraz 80 % [7]. Największą twardością charakteryzowały się herbatniki z sacharozą oraz 40-procentowym udziałem FOS. Herbatniki, w których udział substancji słodzącej był większy, wyróżniały się istotnie mniejszą twardością. Przeprowadzono także badania przechowalnicze trwające 8 miesięcy. Stwierdzono, że twardość herbatników z udziałem FOS malała wraz z wydłużaniem czasu przechowywania w porównaniu z wyrobami z sacharozą. Pod względem sensorycznym jedynie udział 80 % alternatywnej substancji słodzącej w istotnym stopniu wpływał na smak oraz pożądalność konsumencką. Z kolei w badaniach geometrycznych herbatników wykazano, że zwiększenie udziału FOS w produkcie wpłynęło na zwiększenie jego średnicy i obniżenie wysokości. Wskaźnik rozprzestrzenienia był największy w odniesieniu do herbatników z 80-procentowym udziałem FOS, a najmniejszy w przypadku produktu z sacharozą [7].

Przeprowadzono również konsumencką ocenę pożądalności kruchych herbatników, w których sacharozę częściowo lub całkowicie zastąpiono aspartamem (50 i 100 %) i acesulfamem K (50 i 100 %), a także mieszaniną acesulfamu K (50 %) – aspartamu (50 %) [6]. Próbę kontrolną stanowiły produkty z sacharozą. Ciastka kruche

z udziałem 50 % aspartamu, 50 % acesulfamu K, jak również wyroby, w których sacharozę zastąpiono mieszaniną acesulfamu K i aspartamu oceniono wysoko. Najniższe noty uzyskały wyroby, w których zastosowano jako zamiennik sacharozy jedynie acesulfam K albo aspartam [6].

W tab. 1. zestawiono wyniki przedstawiające efekty wpływu dodatków zamienników sacharozy na właściwości herbatników.

Tabela 1. Wpływ zamienników sacharozy na właściwości herbatników

Table 1. Effect of sucrose substitutes on properties of biscuits

Rodzaj zamienników sacharozy Type of sucrose substitutes	Wpływ substytucji sacharozy alternatywnymi substancjami słodzącymi Effect of substituting sucrose with alternative sweeteners	
	Ciasto surowe Raw dough	Wyrób wypieczony Baked product
Ksylitol Xylitol	Twardość zbliżona do ciasta z sacharozą [29]	Zmniejszenie twardości, obniżenie jakości sensorycznej [29]
Mannitol Mannitol	Zwiększenie twardości [29]	Zmniejszenie twardości, zmniejszenie średnicy, obniżenie jakości sensorycznej [29]
Laktitol Lactitol	Zmniejszenie twardości [29]	Zmniejszenie twardości [28, 29], zwiększenie średnicy, obniżenie jakości sensorycznej [29]
Maltitol Maltitol	Nieznaczne zwiększenie twardości [29]	Nieznaczne zwiększenie twardości [29], zwiększenie średnicy [28, 29], podwyższenie jakości sensorycznej [28]
Sorbitol Sorbitol	Zmniejszenie twardości [29]	Zmniejszenie twardości [28, 29], obniżenie jakości sensorycznej [9, 28, 29]
Fruktoza Fructose	Nieznaczne zwiększenie twardości [29]	Twardość zbliżona do produktu z sacharozą [29], zmniejszenie twardości [27], zmniejszenie średnicy, jaśniejsza barwa [24]
Acesulfam K Acesulfame K	-	Obniżenie ocen konsumenckich, zmniejszenie wartości energetycznej o około 20 % [6]
Aspartam Aspartame	-	Obniżenie ocen konsumenckich [6]
Acesulfam K jako składnik mieszaniny (z fruktozą, maltitolem, mannitolem, laktitolem, ksylitolem lub sorbitolem) Acesulfame-K as a blend ingredient (with fructose, maltitol, mannitol, lactitol, xylitol or sorbitol)	-	Poprawa jakości sensorycznej produktów (w odniesieniu do tych zawierających wyłącznie fruktozę, maltitol, mannitol, laktitol, ksylitol lub sorbitol) [29]
Oligofruktoza Oligofructose	Zmniejszenie twardości [5]	Zmniejszenie twardości, ciemniejsze zabarwienie (jaśniejące w trakcie przechowywania) [5].

Mieszanina sukralozy i maltodekstryny Blend of sucralose and maltodextrin	Zmniejszenie elastyczności [24]	Zmniejszenie twardości oraz zwiększenie średnicy wraz ze wzrostem dodatku maltodekstryny, jaśniejsza barwa, obniżenie jakości sensorycznej [24]
Tagatoza Tagatose	-	Zwiększenie twardości wraz ze wzrostem dodatku tagatozy, zmniejszenie średnicy, jaśniejsza barwa [27]
Syrop daktylowy Date syrup	-	Zwiększenie twardości, podwyższenie jakości sensorycznej [9]
Inulina Inulin	-	Zmniejszenie twardości [12], obniżenie jakości sensorycznej [9]
Erytrytol Erythritol	-	Zwiększenie twardości [12, 14], jaśniejsza barwa oraz obniżenie jakości sensorycznej wraz ze wzrostem zawartości erytrytolu [14]
Fruktooligosacharydy (FOS) Fructooligosaccharides (FOS)	-	Zmniejszenie twardości oraz zwiększenie średnicy wraz ze wzrostem zawartości, zmniejszenie pożądanłości konsumenckiej przy zawartości powyżej 60 % [7]

Wpływ substytucji sacharozy substancjami słodzącymi na właściwości ciast o strukturze gąbczastej

Prowadzono badania właściwości ciast o strukturze gąbczastej, w których sacharozę całkowicie lub częściowo zastępowano innymi substancjami słodzącymi.

Substytucja sacharozy w recepturze ciast typu gąbczastego takimi substancjami, jak: maltitol, mannitol, sorbitol, ksylitol, izomalt, oligofruktoza oraz polidekstroza, pozwoliła stwierdzić, że zastosowanie ksylitolu oraz sorbitolu powoduje obniżenie twardości ciasta biszkoptowego. Największą twardością odznaczały się ciasta biszkoptowe z udziałem mannitolu, natomiast twardość najbardziej zbliżoną do próby kontrolnej (z sacharozą) miały produkty z oligofruktozą i polidekstrozą [21]. Zastąpienie sacharozy oligofruktozą oraz polidekstrozą bardzo niekorzystnie wpłynęło na smak wyrobów. Zastąpienie sacharozy maltitolem znacznie zmniejszyło pożądanłość pod względem tekstury i wyglądu zewnętrznego produktu. Wszystkie wyróżniki jakościowe ciast biszkoptowych, zawierających maltitol oraz ksylitol, oceniono wyżej w stosunku do pozostałych próbek. W ocenie ogólnej najwyższą notę, zbliżoną do ciasta z sacharozą, przyznano próbkom z udziałem ksylitolu. Wysoko oceniono także ciasto, w którym sacharozę zastąpiono maltitolem. Z kolei noty wyrobów z udziałem mannitolu oraz oligofruktozy były znacznie niższe w odniesieniu do próby kontrolnej. Przeprowadzono także analizę spektrofotometryczną barwy skórki oraz miękkiszu ciasta biszkoptowego. Skupiono się na zmianach jasności produktu (parametr L). Wykazano, że najciemniejszą skórka charakteryzowało się ciasto z udziałem oligofruktozy, natomiast najjaśniejszą – produkt z maltitolem. Barwą skórki najbardziej zbliżoną do próby kontrolnej (z sacharozą) odznaczało się ciasto z polidekstrozą. Stwierdzono ponadto,

że zmiany barwy miękiszu nie były zróżnicowane. Znacząco jaśniejszą barwę miał jedynie miękisz ciasta z polidekstrozą [21].

Wyniki badań reologicznych ciast, w których sacharozę zastąpiono częściowo lub całkowicie syropem izomaltooligosacharydowym (IMO) pozwoliły stwierdzić, że dodatek syropu IMO powodował wzrost lepkości pozornej surowego ciasta, tym większy, im większy był jego udział [13]. Zaobserwowano również, że ciasta wypieczone z syropem IMO charakteryzowały się mniejszą twardością w porównaniu z ciastem kontrolnym (z sacharozą). Ponadto twardość ciast, w których 50, 75 i 100 % sacharozy zastąpiono IMO była zbliżona. Obecność syropu IMO wpłynęła korzystnie na barwę skórki i kruchość ciast, natomiast spowodowała niekorzystne zmiany barwy miękiszu i zmniejszenie odczucia słodkiego smaku. Ogólna ocena ciast była jednak tym wyższa, im większy był udział syropu. Wyjątek stanowiło ciasto zawierające wyłącznie syrop IMO, które oceniono niżej niż ciasto z 75-procentowym udziałem tego syropu. Udział syropu IMO przyczynił się do powstania ciemniejszego zabarwienia zarówno skórki, jak i miękiszu. Nie stwierdzono istotnych różnic pod względem wilgotności, aktywności wody i masy poszczególnych próbek [13].

Całkowite zastąpienie sacharozy wodnym ekstraktem z liści stewii spowodowało zwiększenie jędmności i twardości ciasta jogurtowego w porównaniu z ciastem zawierającym sacharozę [1].

Ciasta biszkoptowe, w których sacharozę zastąpiono mieszaniną stewiozydów i różnej ilości roztworu sorbitolu charakteryzowały się mniejszą twardością niż ciasto kontrolne (z sacharozą), przy czym im większy był udział sorbitolu, tym mniejsza była twardość ciasta. Wraz ze wzrostem udziału sorbitolu zmniejszała się kohezynność ciast, co uznano za cechę niepożądaną [16].

Otrzymywano także ciasta szyfonowe (ang. *chiffon cake*) o zmniejszonej zawartości tłuszczu, w których 25, 50, 75 i 100 % sacharozy zastąpiono mieszaniną erytrytoli i sukralozy (preparat D-et[®], wyprodukowany przez U-Sing Co. Ltd., Tajlandia) [2]. Ciasto zawierające 50 % D-et[®] charakteryzowało się właściwościami teksturalnymi najbardziej zbliżonymi do ciasta kontrolnego (z sacharozą). Natomiast w pozostałych wyrobach zaobserwowano zwiększenie kohezynności oraz zmniejszenie adhezywności i sprężystości ciasta. Na podstawie spektrofotometrycznych pomiarów stwierdzono, że obecność D-et[®] przyczyniła się do powstania ciemniejszej barwy miękiszu ciasta. Barwa ta była tym ciemniejsza, im większy był udział preparatu D-et[®]. Zastąpienie sacharozy mieszaniną D-et[®] wpłynęło na zmniejszenie twardości ciasta i zwiększenie jego wilgotności. Stwierdzono także, że wraz ze wzrostem udziału zamiennika sacharozy zmniejszał się stopień odczucia słodkiego smaku ciasta. Największą wilgotnością i najmniejszą zawartością węglowodanów charakteryzowało się ciasto, w którym sacharozę zastąpiono mieszaniną erytrytoli i sukralozy na poziomie 50 %. Ponadto wszystkie wyroby zawierały o ponad 50 % więcej białka i co najmniej o ok. 35 %

mniej tłuszczu w porównaniu z ciastem szyfonowym wypieczonym według tradycyjnej receptury (z dodatkiem sacharozy i normalnej zawartości tłuszczu) [2].

Badania właściwości reologicznych ciasta surowego przeprowadzone przez Psimouli i Oreopoulou [20] wykazały, że miały one charakter cieczy nienewtonowskich, rozrzedzanych ścinaniem. Jako zamienniki sacharozy autorzy zastosowali takie substancje słodzące jak: fruktoza, maltitol, mannitol, sorbitol, oligofruktoza, laktitol lub polidekstroza. Ciasta z udziałem sorbitolu lub oligofruktozy charakteryzowały się niższymi wartościami współczynnika konsystencji k w porównaniu z ciastem kontrolnym, a zastosowanie pozostałych substancji słodzących – zwiększenie wartości k . Zaobserwowano także, że ciasto z udziałem polidekstrozy charakteryzowało się zbliżoną wartością wskaźnika płynięcia do ciasta kontrolnego. Wyższą, w porównaniu z ciastem zawierającym sacharozę, wartością n odznaczało się ciasto z oligofruktozą. Natomiast obecność innych zamienników sacharozy przyczyniła się do zmniejszenia wartości wskaźnika płynięcia. Ciasto z udziałem mannitolu wyróżniało się większą jędrnością i mniejszą sprężystością, w porównaniu z ciastem zawierającym sacharozę. Poszczególne ciasta różniły się kohezynnością. Zastąpienie sacharozy różnymi zamiennikami nie wpłynęło na wartości pozostałych mierzonych parametrów tekstury. Pod względem cech sensorycznych najwyżej oceniono ciasta z maltitolem oraz laktitolem, przy wymianie cukru na poziomie 100 %. Noty były zbliżone do ocen ciasta z sacharozą. Najniżej natomiast oceniono ciasta z udziałem mannitolu i fruktozy. Ciasto z maltitolem miało zbliżoną objętość do ciasta kontrolnego, natomiast objętość ciasta z mannitolem była większa. Zastosowanie jako substancji słodzącej sorbitolu, oligofruktozy, polidekstrozy lub fruktozy powodowało zmniejszenie objętości ciasta. Na podstawie wyników analizy barwy wykazano, że zastosowanie jako zamiennika sacharozy mannitolu i polidekstrozy powodowało powstanie jaśniejszej skórki ciasta, a fruktozy i oligofruktozy – ciemniejszej. Obecność mannitolu przyczyniła się do wytworzenia ciasta o jaśniejszej barwie miękiszu, natomiast fruktozy, oligofruktozy i polidekstrozy – o ciemniejszej [20].

Jak dowiedli Martinez-Cervera i wsp. [18], ciasto surowe przeznaczone do wypieku babeczek (ang. *muffin*) ma charakter cieczy nienewtonowskich, rozrzedzanych ścinaniem. W celu zastąpienia sacharozy autorzy zastosowali mieszaniny polidekstrozy (substancji teksturotwórczej) i sukralozy (substancji słodzącej) w stosunku 1012 : 1 w ilości odpowiadającej 25, 50, 75 i 100 % sacharozy do produkcji babeczek (ang. *muffins*). Zastąpienie sacharozy w ilości większej niż 50 % spowodowało zmniejszenie współczynnika konsystencji k , czyli zmniejszenie lepkości ciasta. Wraz ze wzrostem udziału mieszaniny polidekstrozy i sukralozy zwiększała się wartość wskaźnika płynięcia n (do wartości 1). Zaobserwowano także różnice we właściwościach lepko-sprężystych poszczególnych rodzajów ciast – zmniejszenie wartości modułów G' i G'' na początku ogrzewania (tym większe, im większy był udział mieszaniny sukraloza –

polidekstroza), stabilizację, a potem ich wzrost w miarę ogrzewania. Wzrost wartości modułów G' i G'' w ciastach z udziałem mieszaniny zastępującej sacharozę następował w niższej temperaturze niż w cieście zawierającym wyłącznie sacharozę. Obecność mieszanin sukralozy i polidekstrozy wpłynęła na zmniejszenie twardości wyrobów w porównaniu z próbką kontrolną. Wraz ze wzrostem udziału mieszaniny zmniejszała się sprężystość, kohezynność, żujność i elastyczność babeczek. Wysokość babeczek była tym mniejsza, im większy był udział zamienników sacharozy. Zmiany wysokości babeczek były jednak nieznaczne. Zwiększający się udział mieszaniny sukraloza – polidekstroza na ciemnienie barwy skórki i miękiszu nie był statystycznie istotny [18].

Ciasta szyfonowe, w których 25, 50, 75 i 100 % sacharozy zastąpiono erytrytolem charakteryzowały się z kolei niekorzystną barwą skórki, większą twardością i mniejszym stopniem odczucia smaku słodkiego [15]. Obecność erytrytolu nie miała znaczącego wpływu na barwę miękiszu, wilgotność oraz kruchość ciasta. Zastąpienie sacharozy w 50 % przez erytrytol spowodowało wystąpienie efektu chłodzącego po spożyciu produktu. Stwierdzono również, że wraz ze wzrostem udziału erytrytolu barwa skórki i miękiszu była jaśniejsza [15].

Przeprowadzono analizę sensoryczną oraz określono barwę ciast biszkoptowych, w których sacharozę zastąpiono mieszaniną sproszkowanego ekstraktu stewii (o 80-procentowej zawartości stewiozydów) i roztworu sorbitolu o stężeniu 70 % [16]. W każdym z ciast (poza ciastem kontrolnym) udział stewiozydów w mieszaninie słodzącej był stały – odpowiadający 0,75 % sacharozy, a zawartość sorbitolu wynosiła 21, 42, 63 i 84 % w odniesieniu do ilości mąki. Zaobserwowano, że udział sorbitolu w ilości większej niż 50 % w stosunku do zawartości sacharozy wpływał na poprawę właściwości miękiszu i skórki ciasta, a także jego smakowitość. Stwierdzono także, że wraz ze wzrostem udziału sorbitolu w mieszaninie barwa ciasta była jaśniejsza [16].

Całkowite zastąpienie sacharozy substancjami intensywnie słodzącymi, takimi jak aspartam i acesulfam K (lub ich mieszaniną) znacznie obniżało jakość sensoryczną ciast gąbczastych. Na podstawie konsumenckiej oceny pożądalności stwierdzono, że ciasto biszkoptowe, w którym 50 % sacharozy zastąpiono acesulfamem K albo aspartamem było oceniane wysoko, a najniżej oceniono produkty ze 100-procentowym udziałem aspartamu oraz z mieszaniną aspartamu i acesulfamu K [6].

Zastosowanie mieszaniny sorbitolu i kapsułkowanego aspartamu pozwoliło z kolei uzyskać ciasto biszkoptowe o mniejszej porowatości i objętości, lecz o większej wilgotności niż ciasto z sacharozą [3].

W tab. 2. zestawiono wyniki przedstawiające efekty wpływu zamienników sacharozy na właściwości ciast o strukturze gąbczastej.

Tabela 2. Wpływ zamienników sacharozy na właściwości ciast o strukturze gąbczastej

Table 2. Effect of sucrose substitutes on properties of cakes with spongy texture

Rodzaj zamienników sacharozy Type of sucrose substitutes	Wpływ substitucji sacharozy alternatywnymi substancjami słodzącymi Effect of substituting sucrose with alternative sweeteners	
	Ciasto surowe Raw dough	Produkt wypieczony Baked product
Ksylitol Xylitol	-	Zmniejszenie twardości, jakość sensoryczna zbliżona do produktu z sacharozą [21]
Sorbitol Sorbitol	-	Zmniejszenie twardości [21], zmniejszenie objętości [20]
Mannitol Mannitol	-	Zwiększenie twardości oraz objętości [21], obniżenie jakości sensorycznej [20, 21], zwiększenie jędrności, zmniejszenie sprężystości, jaśniejsza barwa skórki i miękiszu [20]
Maltitol Maltitol	-	Jakość sensoryczna zbliżona do produktu z sacharozą [19, 20], jaśniejsza barwa skórki [21]
Laktitol Lactitol	-	Jakość sensoryczna zbliżona do produktu z sacharozą [20]
Erytrytol Erythritol	-	Obniżenie jakości sensorycznej oraz jaśniejsza barwa skórki i miękiszu wraz ze wzrostem dodatku [15]
Fruktoza Fructose	-	Obniżenie jakości sensorycznej, zmniejszenie objętości, ciemniejsza barwa skórki i miękiszu [20]
Oligofruktoza Oligofructose	-	Twardość zbliżona do produktu z sacharozą, obniżenie jakości sensorycznej, zmniejszenie objętości [20], zmniejszenie jasności skórki [20, 21] i miękiszu [20]
Polidekstroza Polydextrose	-	Twardość oraz barwa skórki zbliżona do produktu z sacharozą [21], zmniejszenie objętości, jaśniejsza barwa skórki i zmniejszenie jasności miękiszu [20]
Syrop izomaltooligosacharydowy Isomaltooligosaccharide syrup	Wzrost lepkości ze wzrostem udziału [13]	Zmniejszenie twardości, podwyższenie jakości sensorycznej wraz ze wzrostem udziału [13]
Wodny ekstrakt z liści stevia Aqueous extract from the leaves of stevia	-	Zwiększenie twardości i jędrności [1]
Aspartam Aspartame	-	Obniżenie jakości sensorycznej [6]
Acesulfam K Acesulfame K	-	Obniżenie jakości sensorycznej [6]
Mieszanina erytrytolu i sukralozy (preparat D-et [®]) The mixture of erythritol and sucralose (Formulation D et [®])	-	Zwiększenie kohezji, zmniejszenie adhezji i sprężystości (z wyjątkiem 50-procentowego dodatku D-et [®]), ciemniejsza barwa, zmniejszenie twardości, zawartości tłuszczu, zwiększenie wilgotności oraz zawartości białka [2]

Mieszanina sukralozy i polidekstrozy Blend of sucralose and polydextrose	Wzrost wartości modułów G' i G'' przy niższej temperaturze [18]	Zmniejszenie twardości, sprężystości, kohezji, żujności i elastyczności, zmniejszenie wysokości wraz ze wzrostem udziału, nieznacznie ciemniejsza barwa skórki i miększu [18]
Mieszanina sorbitolu i stewiozydów Blend of sorbitol and steviosides	-	Udział powyżej 50 % – poprawa właściwości miększu oraz smakowitości [16]
Mieszanina aspartamu I acesulfamu K Blend of aspartame and acesulfame K	-	Obniżenie jakości sensorycznej [6]
Mieszanina sorbitolu i kapsułkowanego aspartamu Blend of sorbitol and encapsulated aspartame	-	Zmniejszenie porowatości i objętości, zwiększenie wilgotności [3]

Wpływ udziału alternatywnych substancji słodzących na właściwości fizykochemiczne wafli

Porównywano właściwości fizykochemiczne wafli truskawkowych light, w których sacharozę całkowicie zastąpiono aspartamem, z wafkami truskawkowymi słodzonymi sacharozą [25]. Produkty z aspartamem charakteryzowały się nieznacznie większą twardością w stosunku do wafli z sacharozą. Wafle poddano także ocenie sensorycznej metodą 5-punktową oraz metodą konsumencką. Stwierdzono, że zastąpienie sacharozy aspartamem nie miało znaczącego wpływu na ich ogólną jakość sensoryczną. Smak wafli zawierających aspartam oceniono jednak istotnie niżej. W odniesieniu do pozostałych wyróżników jakościowych noty były prawie identyczne w porównaniu z próbą kontrolną. Wyniki badań przeprowadzonych metodą konsumencką pozwoliły natomiast stwierdzić, że wafle słodzone sacharozą miały cechy bardziej pożądane niż ich niskokaloryczny odpowiednik [25].

Podsumowanie

Na podstawie przeglądu literatury stwierdzono, że zamiana sacharozy substancjami słodzącymi nie zawsze wpływała niekorzystnie na cechy teksturalne i sensoryczne wyrobów ciastkarskich. Stwierdzono, że odpowiedni dobór substancji słodzącej lub mieszaniny takich substancji do konkretnego produktu pozwalał na uzyskanie wyrobów ciastkarskich, których cechy sensoryczne i teksturalne były zbliżone do ich odpowiedników z sacharozą.

Całkowite zastąpienie sacharozy takimi substancjami słodzącymi, jak fruktoza oraz maltitol nie powodowało istotnych zmian twardości herbatników. Produkty

o zbliżonej twardości uzyskiwano poprzez częściowe zastąpienie sacharozy takimi substancjami słodzącymi, jak: fruktoza (na poziomie 25 %), sorbitol (40 i 60 %), inulina (60 %) lub syrop daktylowy (60 i 80 %). Herbatniki, w których sacharozę wymieniono maltitolem, laktitolem, sorbitolem, a także mieszaniną acesulfamu K z fruktozą, maltitolem, laktitolem, sorbitolem oraz ksylitolem nie różniły się istotnie pod względem sensorycznym. Stwierdzono także, że zastosowanie maltitolu lub też mieszaniny 0,05 g sukralozy i 30 g maltodekstryny (na 100 g mąki) umożliwiło uzyskanie produktu o lepszych cechach sensorycznych. Herbatniki, w których sacharozę zastąpiono częściowo syropem daktylowym (na poziomie 80 i 100 %), fruktooligosacharydami (40 i 60 %), aspartamem (50 %) lub też acesulfamem K (50 %), oceniono wysoko, podobnie jak produkty kontrolne.

Z kolei zastosowanie takich substancji słodzących, jak oligofruktoza i polidekstroza, a także mieszaniny erytrytolu i sukralozy (preparat D-et[®]) pozwoliło uzyskać ciasta o strukturze gąbczastej, charakteryzujące się właściwościami teksturalnymi bardzo zbliżonymi do wyrobów z sacharozą. Pod względem sensorycznym korzystne okazało się całkowite zastąpienie sacharozy ksylitolem, maltitolem oraz laktitolem. Ciasta o strukturze gąbczastej z udziałem tych substancji słodzących oceniono również wysoko, jak kontrolne. Przedstawione wyniki badań pozwalają również stwierdzić, że dodatek polidekstrozy powodował uzyskanie ciasta gąbczastego, o barwie najbardziej zbliżonej do produktu z sacharozą, natomiast zastąpienie sacharozy maltitolem pozwoliło na uzyskanie ciasta gąbczastego, o objętości najbardziej zbliżonej do próby z sacharozą.

Praca zrealizowana w ramach tematu nr DS 3700/WTŻ/2014, została sfinansowana z dotacji przyznanej przez MNiSW.

Literatura

- [1] Abdel-Salam A.M., Ammar A.S., Galal W.K.: Evaluation and properties of formulated low calories functional yoghurt cake. *J. Food Agric. Environ.*, 2009, **7** (2), 218-221.
- [2] Akesowan A.: Quality of reduced – fat chiffon cakes prepared with erythritol – sucralose as replacement for sugar. *Pakistan J. Nutr.*, 2009, **9** (8), 1383-1386.
- [3] Baeva M.R., Terzieva V.V., Panchev I.N.: Structural development of sucrose – sweetened and sucrose – free sponge cakes during baking. *Die Nahrung*, 2003, **47** (3), 154-160.
- [4] Chattopadhyay S., Raychaudhuri U., Chakraborty R.: Artificial sweeteners – A review. *J. Food Sci. Technol.*, 2014, **51** (4), 611-621.
- [5] Gallagher E., O'Brien C.M., Scannell A.G.M., Arendt E.K.: Evaluation of sugar replacers in short dough biscuit production. *J. Food Eng.*, 2003, **56** (2-3), 261-263.
- [6] Górecka D., Korczak J., Borowska-Parus A.: Zastosowanie substancji słodzących w wyrobach ciastkarskich. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość.*, 2007, **55** (6), 210-218.
- [7] Handa C., Goomer S., Siddhu A.: Physicochemical properties and sensory evaluation of fructooligosaccharide enriched cookies. *J. Food Sci. Technol.*, 2012, **49** (2), 192-199.
- [8] Kolożyn-Krajewska D., Sikora T.: *Towaroznawstwo żywności*. WSiP, Warszawa 2004, ss. 214-220.

- [9] Kozłowicz K., Kluza F.: Wpływ wybranych dodatków prozdrowotnych na właściwości herbatników z mrożonego ciasta. *Acta Agrophys.*, 2009, **13** (1), 155-163.
- [10] Kozłowicz K.: Skrócona ocena tekstury herbatników z mrożonego ciasta kruchego wzbogaconego prozdrowotnymi dodatkami. *Acta Sci. Pol., Technica Agraria*, 2010, **9** (1-2), 11-17.
- [11] Kroger M., Meister K., Kava R.: Low-calorie sweeteners and other sugar substitutes: A review of the safety issues. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.*, 2006, **5**, 35-47.
- [12] Laguna L., Primo-Martin C., Salvador A., Sanz T.: Inulin and erythritol as sucrose replacers in short-dough cookies: sensory, fracture, and acoustic properties. *J. Food Sci.*, 2013, **78** (5), 777-784.
- [13] Lee C., Wang H., Lin S.: Effect of isomaltooligosaccharide syrup on quality characteristic of sponge cake. *Cereal Chem.*, 2008, **85** (4), 515-521.
- [14] Lin S.-D., Lee C.-C. Mau J.-L., Lin L.-Y., Chiou S.-Y.: Effect of erythritol on quality characteristic of reduced – calorie Danish cookies. *J. Food Qual.*, 2010, **33**, 14-26.
- [15] Lin S.-D., Hwang C.-F., Yeh C.-H.: Physical and sensory characteristics of chiffon cake prepared with erythritol as replacement for sucrose. *J. Food Sci.*, 2003, **68** (6), 2107-2110.
- [16] Manisha G., Soumya C., Indrani D.: Studies on interaction between stevioside, liquid sorbitol, hydrocolloids and emulsifiers for replacement of sugar in cakes. *Food Hydrocoll.*, 2012, **29** (2), 363-373.
- [17] Mariotti M., Alamprese C.: About the use of different sweeteners in baked goods. Influence on the mechanical and rheological properties of the doughs. *LWT Food Sci. Technol.*, 2012, **48** (1), 9-15.
- [18] Martinez-Cerveza S., Sanz T., Salvador A., Fiszman S.M.: Rheological, textural and sensorial properties of low-sucrose muffins reformulated with sucralose/polydextrose *LWT Food Sci. Technol.*, 2012, **45** (2), 213-220.
- [19] PN-A-89000:1998/Ap1:2001P. Wyroby i półprodukty ciastkarskie – Terminologia.
- [20] Psimouli V., Oreopoulou V.: The effect of alternative sweeteners on batter rheology and cake properties. *J. Sci. Food Agric.*, 2012, **92** (1), 99-105.
- [21] Ronda F., Gómez M., Blanco C.A., Caballero P.A.: Effects of polyols and nondigestible oligosaccharides on the quality of sugar-free sponge cakes. *Food Chem.*, 2005, **90** (4), 549-555.
- [22] Rozporządzenie komisji (UE) NR 1129/2011 z dnia 11 listopada 2011 r. zmieniające załącznik II do rozporządzenia Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 1333/2008 poprzez ustanowienie unijnego wykazu dodatków do żywności
- [23] Rozporządzenie komisji (UE) NR 1130/2011 z dnia 11 listopada 2011 r. zmieniające załącznik III do rozporządzenia Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 1333/2008 w sprawie dodatków do żywności poprzez ustanowienie unijnego wykazu dodatków do żywności dopuszczonych do stosowania w dodatkach do żywności, enzymach spożywczych, środkach aromatyzujących i składnikach odżywczych
- [24] Savitha Y.S., Indrani D., Prakash J.: Effect of replacement of sugar with sucralose and maltodextrin on rheological characteristics of wheat flour dough and quality of soft dough biscuits. *J. Texture Stud.*, 2008, **39** (6), 605-616.
- [25] Stachura M.: Wpływ aspartamu na jakość wybranych produktów specjalnego przeznaczenia. Rozprawa doktorska, Wydział Technologii Żywności, Akademia Rolnicza w Krakowie, Kraków 2005, ss. 79-119.
- [26] Stoś K.: Żywność specjalnego przeznaczenia – propozycja zmiany przepisów w UE. *Przem. Spoż.*, 2012, **66**, 8-12.
- [27] Taylor T.P., Fasina O., Bell L.N.: Physical properties and consumer liking of cookies prepared by replacing sucrose with tagatose. *J. Food Sci.*, 2008, **73** (3), 145-151.
- [28] Zoulias E., Oreopoulou V., Kounalaki E.: Effect of sugar and fat replacement on cookie properties. *J. Sci. Food Agric.*, 2002, **82**, 1637-1644.
- [29] Zoulias E., Piknis S., Oreopoulou V.: Effect of sugar replacement by polyols and acesulfame-K on properties of low-fat cookies. *J. Sci. Food Agric.*, 2000, **80**, 2049-2056.

EFFECT OF SUBSTITUTING SUCROSE WITH ALTERNATIVE SWEETENERS ON PROPERTIES OF CAKE AND CONFECTIONERY PRODUCTS**S u m m a r y**

The results were presented of research studies referring the effect of alternative sweeteners on the properties of cakes and confectionery products such as biscuits, wafers, and cakes having a spongy texture. The hitherto conducted research studies were summarized in order to prove, which alternative sweeteners might produce products with characteristics similar to those of their analogues with sucrose. Those groups of substitutes were specified that impacted, either positively or negatively, the textural, rheological, and sensory properties of doughs and finished products. It was found that, provided the sweeteners or mixtures thereof were properly selected, it was possible to produce products having features that did not differ much from those of their analogues with sucrose. The best characteristics had those products where either polyols or the blends of two different sweeteners were used to produce them.

No significant changes were found in the hardness of biscuits, in which the total sucrose was substituted with fructose and maltitol, and, also, in which a portion of sucrose was substituted with fructose, sorbitol, inulin, and date syrup. There were no significant differences in sensory properties of the biscuits where sucrose was replaced with maltitol, lactitol, sorbitol, and the blend of K acesulfame with fructose, maltitol, lactitol, sorbitol, and xylitol. On the other hand, where maltitol or a blend of sucralose and maltodextrin were applied, the products produced had better sensory properties. The biscuits with sucrose partially substituted with date syrup, fructooligosaccharides, aspartame, or K acesulfame, were characterized by the sensory properties similar to those of the control products. Where applying oligofructose, polidextrose or a blend of erythritol and sucralose as a substitute for sucrose, it was possible to produce a cake with a spongy texture and the textural properties similar to those of the products with sucrose. Substituting the total sucrose with xylitol, maltitol, and lactitol in the above mentioned cakes confirmed to be advantageous from the sensory point of view.

Key words: sucrose substitutes, sugar-free biscuits, cakes with spongy texture, wafers, texture 

MARIUSZ FLOREK, PIOTR DOMARADZKI, ZYGMUNT LITWIŃCZUK

TEORIE DOTYCZĄCE NATURALNYCH PROCESÓW KRUSZENIA MIĘSA PO UBOJU

Streszczenie

Spośród różnych właściwości mięsa wpływających na jego jakość, dla konsumenta najważniejsza jest kruchość. W czasie pośmiertnej konwersji mięśni do mięsa zachodzi złożony proces tenderyzacji. Od dawna mechanizm tenderyzacji mięsa był przedmiotem szczególnego zainteresowania badaczy z tego obszaru wiedzy. Pomimo intensywnych badań istota tych procesów nie została dokładnie poznana. W pracy przedstawiono główne teorie dotyczące mechanizmów tenderyzacji mięsa, zarówno nieenzymatyczne (wapniowa teoria kruszenia mięsa, wpływ ciśnienia osmotycznego), jak i enzymatyczne (procesy z udziałem proteolitycznych enzymów endogennych: kalpain i kalpastatyny, kaspaz, katepsyn, proteasomów, macierzy metaloproteaz). Wymienione enzymy prawdopodobnie uczestniczą w pośmiertnej proteolizie białek mięśniowych. Dokonano ponadto omówienia potencjalnych markerów z różnych szlaków metabolicznych, biorących udział w kształtowaniu kruchości mięsa *post mortem*.

Słowa kluczowe: mięso, tenderyzacja, teorie, kruchość, markery kruchości

Wprowadzenie

Bezpośrednio po uboju zwierząt tkanka mięśniowa stanowi niepełnowartościowy surowiec zarówno do spożycia, jak i przetwórstwa. Jest twarda, gumowata, niesoczysta i ciężkostrawna, a składniki odżywcze są słabo przyswajalne. Podczas dojrzewania, tj. gdy tusze po ustąpieniu fazy *rigor mortis* przechowuje się w temperaturze wyższej od punktu zamarzania, zachodzą złożone procesy biochemiczne prowadzące do wykształcenia cech typowych dla mięsa kulinarnego. Do tych zmian należą [30]:

1) stopniowe wyczerpywanie się dostępnej energii,

Dr hab. inż. M. Florek, dr inż. P. Domaradzki, Katedra Towaroznawstwa i Przetwórstwa Surowców Zwierzęcych, prof. dr hab. Z. Litwińczuk, Katedra Hodowli i Ochrony Zasobów Genetycznych Bydła, Wydz. Biologii i Hodowli Zwierząt, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, ul. Akademicka 13, 20-950 Lublin. Kontakt: mariusz.florek@up.lublin.pl

- 2) zmiana kierunku metabolizmu z tlenowego na beztlenowy oraz nagromadzenie kwasu mlekowego, wpływające na obniżanie pH tkanki z ok. 7,0 do 5,4 ÷ 5,8,
- 3) zwiększanie siły jonowej, spowodowane w części ograniczeniem funkcji pompy sodowo-potasowej i wapniowej (zależnej od ATP),
- 4) niezdolności komórek do utrzymania warunków redukujących.

Zmianie ulega mikro- i ultrastruktura włókien mięśniowych, przede wszystkim struktura linii Z i prążka I. Miofibryle ulegają fragmentacji na mniejsze jednostki strukturalne złożone z różnej liczby sarkomerów. Właściwe białka kurczliwe (miozyna i aktyna) nie ulegają rozkładowi w trakcie procesu dojrzewania w temperaturze chłodniczej [25, 30], chociaż Morzel i wsp. [53] wskazują, że proteoliza tych białek zachodzi, a w przypadku miozyny jest ona również skorelowana z kruchością mięsa [71].

Zjawisko fragmentacji miofibryli (na krótkie segmenty w kontrolowanych warunkach homogenizacji) nie występuje w tkance mięśniowej tuż po uboju. Pojawia się ono dopiero podczas dojrzewania, a łatwość fragmentacji miofibryli wykorzystuje się do określania tzw. Indeksu Fragmentacji Miofibryli (MFI), który jest miarą ich przeciętnej długości. MFI związany jest z zaawansowaniem procesu tenderyzacji, tzn. im krótsze są miofibryle tym wyższa jest wartość MFI, co świadczy o większej kruchości tkanki mięśniowej [43, 78]. Wartość MFI zależy m.in. od rodzaju mięsa, lokalizacji mięśnia w tuszy, a także od warunków homogenizacji (prędkości, typu i rodzaju urządzenia) [28, 37].

Proces dojrzewania powoduje istotne zmiany w strukturze i właściwościach mechanicznych śródmięśniowej tkanki łącznej, przy czym zmiany te obserwowane są dopiero po ok. 10 dniach od uboju. Stwierdzono zdeformowanie struktury *endomysium* (przypominającej plaster miodu) i warstwy *perimysium* po upływie 14 dni od uboju [54], co należy wiązać z degradacją macierzy proteoglikanów, łączących włókna kolagenowe i stabilizujących tkankę łączną. W efekcie następuje osłabienie struktury wewnątrzmięśniowej tkanki łącznej, tj. rozdzielenie się fibryli i włókien kolagenowych [55].

W procesie dojrzewania najbardziej odczuwalną sensorycznie i wymierną instrumentalnie zmianą jest poprawa jednego z najbardziej niestałych wyróżników jakościowych mięsa – kruchości [16, 45, 56]. W procesie kruszenia mięsa można wyróżnić dwie fazy: szybką i wolną. W pierwszej – wskutek osłabienia struktury miofibryli następuje szybka tenderyzacja mięsa. W kolejnej fazie (wolnej) osłabieniu ulegają struktury łącznotkankowe (omięśna wewnętrzna i śródmięśna) [77]. Tenderyzacja mięsa jest zatem procesem złożonym i długotrwałym, a ponadto przebiegającym z niejednakową szybkością w różnych mięśniach tej samej tuszy. Od dawna badacze próbowali wyjaśnić złożone mechanizmy odpowiedzialne za pośmiertną tenderyzację mięsa.

Pierwszą, naukowo potwierdzoną informację nt. korzystnego wpływu przechowywania mięsa *post mortem* przez 8 dni na zwiększenie jego kruchości o ok. 30 %

przedstawił Lehmann (cyt. za[42]) w 1907 r. Badania przeprowadzone w latach 70. i 80. XX w. potwierdziły, że wszystkie zmiany obserwowane w mięśniach szkieletowych po uboju, związane z poprawą kruchości mięsa, są wynikiem proteolizy. Niektórzy badacze wskazywali jednak na nieproteolityczny mechanizm kruszenia mięsa wołowego [79]. Głównymi proteazami analizowanymi w tamtym okresie były lizosomalne katepsyny i enzymy zależne od jonów Ca [42, 52].

Teorie nieenzymatyczne

W latach 90. XX w. sformułowano jedną z najbardziej kontrowersyjnych teorii tenderyzacji mięsa, określaną jako wapniowa teoria kruszenia [77]. Podstawowym założeniem tej teorii, o charakterze nieenzymatycznym, było przypuszczenie, że degradacja białek cytoszkieletowych i tenderyzacja mięsa zachodzą tylko w wyniku działania jonów wapnia, tzn. bez udziału proteaz. Efektem działania jonów wapnia było osłabienie struktury miofibryli i filamentów pośrednich (poprzez uwolnienie fosfolipidów z matrycy linii Z), zmiana w filamentach konektyny, nebuliny i desminy oraz prawdopodobnie (w wyniku degradacji proteoglikanów) osłabienie struktury *endomysium* i *perimysium* [77].

Innym, przedstawionym w latach 90., mechanizmem charakteryzującym zmiany w mięśniach po śmierci zwierząt była teoria łącząca wzrost wewnątrzkomórkowego ciśnienia osmotycznego (*osmotic pressure*) z enzymatycznym kruszeniem mięsa. W czasie *rigor mortis* wewnątrzkomórkowe ciśnienie osmotyczne (tj. siła jonowa) zwiększa się prawie dwukrotnie, wykazując ścisły związek z wartością pH ($r = 0,97$) [60]. Sugerowano, że przyczyną dużego wzrostu ciśnienia osmotycznego w komórkach są głównie jony Na^+ , K^+ , Ca^{2+} i Mg^{2+} (uwolnione w środowisku o niskim pH) związane zwykle z białkami [64]. Duża siła jonowa (0,3 M) determinuje rozpuszczalność białek strukturalnych (m.in. białka C i M, troponiny T, aktyny, tropomiozyny i α -aktyniny) [80, 81] i zmianę aktywności ATPazy miofibrylarniej w trakcie poubojowego dojrzewania [60]. Przypuszcza się, że występująca po ustąpieniu *rigor mortis* siła jonowa (0,24 ÷ 0,30 M) jest wystarczająca do uzyskania częściowej dysocjacji struktur miofibrylarnych i zwiększenia ich podatności na zmiany proteolityczne. Hipoteza ta wymaga jednak dalszych badań [10].

Teorie enzymatyczne

Obecnie większość autorów jest zgodna, że mechanizm tenderyzacji mięsa jest enzymatyczny w swojej naturze i uczestniczy w nim kilka wewnątrzkomórkowych systemów proteolitycznych (proteaz), a pierwszym etapem konwersji (przekształcania) mięśni w mięso jest apoptoza, tj. dokładnie regulowany i złożony energetycznie proces śmierci komórki [19, 62]. W tym kontekście pierwszym systemem proteolitycznym uczestniczącym w konwersji mięśni w mięso jest grupa kaspaz (peptydaz cysteino-

wych) inicjujących (*initiator caspases*) i wykonawczych (*executor caspases*), które odpowiadają za degradację białkowych składników komórkowych. Do innych systemów proteolitycznych należą kalpainy (endopeptydazy cysteinowe), proteasomy (proteiny multikatalityczne lub multikatalityczny kompleks proteolityczny – MPC), kathepsyny (enzymy lizosomalne), metaloproteiny macierzy zewnątrzkomórkowej (*matrix metalloproteinases*), trombina, plazmina itd., które uczestniczą w procesie rozpadu komórki, chociaż wciąż nie jest wiadomo, w jakim porządku i zakresie przebiega ten proces [44, 61]. W procesie tenderyzacji mięsa uczestniczą wszystkie proteazy wewnątrzkomórkowe oraz prawdopodobnie proteazy zewnątrzkomórkowe, takie jak plazmina czy trombina, które mają jednak znaczenie drugorzędne. Przyjmuje się, że głównymi substratami systemów proteolitycznych są przede wszystkim białka cytoszkieletowe, tworzące strukturę włókna mięśniowego. W mięśniach szkieletowych zidentyfikowano łącznie 15 proteaz [62].

Rola kalpain

Proteolityczny system kalpainowy składa się z kalpainy 1 (μ), kalpainy 2 (m), kalpainy 3 (p94) i kalpastatyny (specyficznego, endogennego inhibitora kalpain). Dwa pierwsze enzymy, należące do proteaz aktywowanych wapniem, nazwano μ -kalpainą i m-kalpainą, odpowiednio do poziomu stężenia jonów Ca^{2+} (μM lub mM) koniecznego do ich uaktywnienia (tab. 1) [22, 23]. Przyjmuje się, że aktywność i poziom kalpain decydują o tempie i zakresie tenderyzacji, tzn. im wyższa jest ich aktywność oraz większa wartość proporcji kalpaina : kalpastatyna, tym częściej uzyskuje się kruche mięso. Wykazano ponadto, że substratem kalpainy jest również kalpastatyna, jednak peptydy powstające w wyniku hydrolizy nadal wykazują zdolność hamowania aktywności kalpain [45].

Enzymy należące do tego systemu, tzn. kalpaina 1 i kalpaina 2 są kodowane przez geny CAPN1 i CAPN2, a inhibitor kalpastatyna przez gen CAST [44]. Wskazuje się również na to, że geny kodujące ww. enzymy (jako geny kandydujące) mogą być również zmiennymi kruchości mięsa [11, 31, 35].

Kalpainy uzyskują optimum aktywności w środowisku o pH ok. 7,0 i w temp. 25 °C. Stopień inaktywacji proteolitycznej μ -kalpainy zwiększa się wraz z obniżaniem wartości pH (pH < 6,0) i wzrostem temperatury [3, 42]. Wykazano jednak, że oczyszczone miofibryle są degradowane przez μ -kalpainę w temp. 4 °C i przy pH = 5,6 w obecności CaCl_2 [29].

Aktywność μ -kalpainy *post mortem* zmniejsza się szybko i ustaje po 72 h, w przeciwieństwie do stabilnej aktywności m-kalpainy [42]. Uważa się, że μ -kalpaina odpowiada za tenderyzację w pierwszej fazie, a m-kalpainy i inne proteazy warunkują proteolizę w późniejszym okresie dojrzewania [22]. Nie ma natomiast zgodności odnośnie do roli kalpainy p94 w procesie tenderyzacji [39].

Tabela 1. Oszacowana ilość wapnia [μM] niezbędna do aktywacji, autolizy i interakcji z kalpastatyną
 Table 1. Estimated calcium concentration [μM] needed for activation, autolysis and interaction with calpastatin

Właściwość kalpain Property of Calpain	Zautolizowana μ -kalpaina Autolysed μ -calpain	μ -kalpaina μ -calpain	Zautolizowana m-kalpaina Autolysed m- calpain	m-kalpaina m-calpain
Aktywność proteolityczna Proteolytic activity	0,5-2	3-50	50-150	400-800
Wiązanie kalpastatyny Calpastatin binding	0,042	40	25	250-500
Autoliza – fosfolipidy Autolysis–phospholipids	-	50-150	-	550-800
Autoliza + fosfolipidy Autolysis+phospholipids	-	0,8-50	-	90-400

Objaśnienia: / Explanatory notes:

Podane wartości wyznaczają ilość niezbędną do połowy maksymalnej aktywności, wiązania lub tempa autolizy / Above values represent the amount required for half maximal activity, bindings, or rate of autolysis.

Źródło: / Source: [39] cyt. za [23] / [39] according to [23]

Należy podkreślić, że aktywność kalpain uzależniona jest również od procesów utleniania, które hamując tempo poubojowej proteolizy białek, ograniczają poprawę kruchości mięsa. Zarówno μ -, jak i m-kalpaina są szczególnie podatne na inaktywację ze względu na obecność w centrum aktywnym grupy SH, pochodzącej od reszt cysteiny [47, 51]. Ponadto tworzenie wiązań sieciujących pomiędzy białkami miofibrilarnymi (np. łańcuchem ciężkim miozyny a titiną), jak również oksydacja enzymów proteolitycznych, mogą przyczyniać się do zmniejszenia rozpuszczalności białek poprzez obniżenie zdolności do dysocjacji, co wpływa na zmniejszenie wodochłonności, soczystości oraz kruchości mięsa [30, 51].

Rola katepsyn

Obecnie uważa się, że kruszenie mięsa przy udziale katepsyn jest raczej mało prawdopodobne, mimo że wykazują one aktywność enzymatyczną względem miozyny, aktyny i α -aktyniny [44]. Do katepsyn zalicza się ok. 20 różnych enzymów, w tym egzo- i endopeptydazy. Zwykle są one klasyfikowane do trzech rodzin proteinaz: aspartylowych (katepsyna D i E), cysteinowych (katepsyna B, H, L i X) oraz serynowych (katepsyna G) [72]. Przed śmiercią komórek większość katepsyn zlokalizowana jest w lizosomach mięśni. Wcześniej sugerowano, że katepsyny nie są uwalniane do cytoplazmy, nawet po zastosowaniu stymulacji elektrycznej tusz, a zatem nie mogą wpływać na proces tenderyzacji mięsa [43, 44]. Potwierdzono, że niskie pH i wysoka temperatura tusz ułatwiają niszczenie błon lizosomalnych, a katepsyny są stopniowo

uwalniane do cytozolu, biorąc istotny udział w dojrzewaniu *post mortem* [41]. Wskazuje na to również dodatnia korelacja pomiędzy aktywnością katepsyn (B i L) i kruchością mięsa wołowego [57]. Ponadto katepsyna L hydrolizuje znaczącą ilość białek miofibrylarnych (w tym miozynę i aktynę oraz troponinę T, I, C, nebulinę, titinę i tropomiozynę), które są degradowane w czasie poubojowego kondycjonowania [52]. Z kolei katepsyny K, L, N i S wykazują zdolność rozkładu włókien kolagenowych [41]. Określona aktywność katepsyny D może być konsekwencją ekspresji genu CATD, a jego warianty, w tym *locus*, mogą być skorelowane z parametrami jakości mięsa wołowego. Stąd też w przypadku kruchości mięsa *locus* CATD można traktować jako gen kandydujący [69].

Rola proteosomów

Innym czynnikiem odpowiedzialnym za tenderyzację mięsa po uboju są proteasomy – bardzo duże kompleksy białkowe zlokalizowane zarówno w mięśniach, jak i w cytoplazmie, zależne od ATP i ubikwityny (będącej markerem białek przeznaczonych do eliminacji) [18, 39]. Rola proteosomów w procesie kruszenia mięsa była początkowo pomijana [44]. Wykazano jednak, że aktywność proteolityczna proteasomu 20S, określanego mianem MPC (multikatalitycznego kompleksu proteolitycznego) [13], jest niezależna od ATP i ubikwityny, może on zatem uczestniczyć w pośmiertnej proteolizie [39], nawet do 7 dni od uboju i $\text{pH} < 6,0$ [46].

Rola metaloproteinaz

Kolejną grupą enzymów, które mogą brać udział w tenderyzacji mięsa są metaloproteinazy macierzy zewnątrzkomórkowej (MMP). Są to endopeptydazy aktywne w środowisku o obojętnym lub lekko zasadowym pH , zależne od obecności cynku i jonów wapnia. Ilość MMP w komórkach wzrasta gwałtownie po kontuzji mięśni, odnerwieniu, niedotlenieniu tkanek i w wielu stanach chorobowych. Sugeruje się, że MMP i ich inhibitory uczestniczą w programowanej śmierci komórki (apoptozie). W zależności od budowy oraz swoistości substratowej, wśród metaloproteinaz wyróżnia się: kolagenazy, żelatynazy, stromielizyny (rozkładające białka stromy) oraz matrylizyny (rozkładające białka matrycowe). Przypuszcza się, że w trakcie zmian poubojowych mięsa działanie MMP związane jest przede wszystkim z degradacją struktur śródmięśniowej tkanki łącznej [65, 67, 72], która w przypadku kolagenu jest ograniczona [1]. Obserwowano jednak zwiększenie aktywności metaloproteinaz w trakcie chłodniczego przechowywania mięsa strusi [65] i jagnięciny [75]. Niektóre metaloproteinazy wykazują zdolność do proteolizy typowo substratowej, tzn. ograniczonej tylko do tkanki łącznej, a nie białek miofibryli. Endogenne MMP mogą być też użyte *in vivo* do tworzenia mniej dojrzałych struktur kolagenu w mięśniach zwierząt. Pozwala to

uzyskać mięso o mniejszej twardości, a tym samym o pożądanej kruchości, które łatwiej ulega termohydrolyzie [67].

Programowana śmierć komórki

Inna hipoteza wyjaśniająca przemiany zachodzące w mięśniach po uboju wskazuje na proces apoptozy, tzn. programowanej śmierci komórek (*apo* – odległość, *ptosis* – wypadnięcie). Jest to mechanizm fizjologiczny, naturalnie występujący w żywych organizmach, zapewniający selektywną eliminację komórek zbytecznych, zużytych, uszkodzonych lub potencjalnie niebezpiecznych dla organizmu (bez uszkodzenia sąsiednich struktur) [62]. Po wykrwawieniu zwierząt tkanki przechodzą w niedokrwieniny stan beztlenowy, który wpływa na wszystkie szlaki metaboliczne i prowadzi do adaptacji większości (lub nawet wszystkich) procesów metabolicznych [62]. Drugim etapem jest ochrona funkcji komórki poprzez zwiększenie koncentracji białek szoku cieplnego (*Heat Shock Proteins* – HSPs), w tym HSP 70, 40, 27, 20, $\alpha\beta$ -krystaliny i prawdopodobnie innych [61].

W procesie śmierci komórki zachodzą dobrze poznane zmiany, np. skurczenie komórki, eksternalizacja (uzewnętrznienie) fosfatydyloseryny wraz ze zmianą mitochondriów [4, 14]. Uwalniany jest układ pro- i antyapoptotycznych białek z mitochondriów, a ich proporcja określa tempo i zakres apoptozy. Opisane zjawisko występuje m.in. po uboju i wykrwawieniu zwierząt rzeźnych, bowiem wszystkie komórki i tkanki są nieodwracalnie pozbawiane substancji odżywczych i tlenu [62]. W tych warunkach środowiska komórki mięśniowe zmuszone są do zainicjowania procesu apoptozy (czyli zaprogramowanego „samobójstwa”). Wymienione peptydazy specjalizują się bowiem w niszczeniu komórek i prawdopodobnie jako pierwsze degradują kluczowe białka utrzymujące złożoną strukturę przestrzenną miofibryli w komórkach mięśniowych oraz ułatwiają działanie innych wewnątrzkomórkowych systemów proteolitycznych (odpowiedzialnych za hydrolizę składników komórkowych i organelli), takich jak: katepsyny, kalpajny, proteasomy i inne [61].

Wszystkie peptydazy biorące udział w apoptozie określa się mianem kaspaz (*caspases*). Kaspazy (aktualnie zidentyfikowano ich 14) są obojętnymi peptydazami cysteinowymi, których aktywność jest uzależniona od pH mięśni i obecności jonów wapnia [59, 62, 76]. Kaspazy wykazują ponadto zdolność degradowania i inaktywacji kalpastatyny [39]. Apoptoza i jej związek z innymi teoriami dotyczącymi tenderyzacji tkanki mięśniowej jest nadal nowością w wyjaśnianiu procesu konwersji mięśni w mięso, wymagane są zatem dalsze badania weryfikujące ten mechanizm.

Należy nadmienić, że odnotowuje się coraz więcej dowodów na interakcje pomiędzy systemami proteaz kalpajnowych i kaspazowych, które rozszczepiają te same docelowe substraty białkowe, jak: aktyna, aktynina, miozyna, spektryna, vimentyna oraz troponina I [74]. Nie są to jedyne podobieństwa. Wzajemne powiązania pomiędzy

tymi dwoma rodzinami są bardziej złożone. Kaspaza 12 może być aktywowana przez kalpainy. Kalpastatyna znana jest jako substrat kaspaz. Kaspazy mogą kontrolować proteolizę *post mortem* i kruchość mięsa poprzez wpływ na kalpastatynę. Konieczne są dalsze badania w celu zrozumienia mechanizmu tego procesu, jak również interakcji pomiędzy różnymi systemami proteolitycznymi [38].

Coraz większą rolę w kształtowaniu końcowej jakości mięsa przypisuje się licznej grupie białek opiekuńczych, tzw. białkom szoku cieplnego (HSP/Hsp), m.in. Hsp70, Hsp40 i Hsp27, Hsp20 i $\alpha\beta$ -krystalinie, ze względu na ich antyapoptotyczne funkcje. Ekspresja HSP w komórce zwiększa się na skutek oddziaływania różnych czynników stresogennych, np. podwyższonej temperatury („białka stresu”). Po uboju zwierząt poziom HSP jest stymulowany w odpowiedzi na stres i śmierć komórek mięśniowych. W konsekwencji białka te spowalniają proces apoptozy komórek, hamując właściwe dojrzewanie mięsa [50, 62]. Wykazano przy tym, że aktywność HSP20, HSP27 czy $\alpha\beta$ -krystaliny jest zależna od pH tkanki mięśniowej [49].

Inhibitory najważniejszych enzymów

W latach 80. XX w. poszukiwania biologicznych predyktorów końcowej kruchości mięsa skoncentrowane były na udoskonalaniu pomiarów aktywności enzymatycznej, zwłaszcza z wykorzystaniem pomiarów fluorescencji, które są bardziej czułe niż pomiary spektrofotometryczne. Nadzieje wiązano z oznaczaniem aktywności enzymów proteolitycznych. Okazały się one jednak nieprzydatne w przewidywaniu kruchości mięsa. W tym kontekście, jak wykazano w przypadku kalpain [63], proteaz cysteinowych [73] i kaspaz [21, 82], bardziej odpowiednimi predyktorami kruchości (wspólnie lub pojedynczo) były parametry określone w chwili śmierci: proporcja enzym/inhibitor lub stężenie inhibitora aniżeli poziom docelowych enzymów (tab. 2). Wyniki badań z kalpastatyną (wspólnym specyficznym inhibitorem kalpainy 1 i 2), były nieprzekonujące i nieweryfikowalne. Jako potencjalne markery cystatyny (grupa inhibitorów proteaz cysteinowych) zostały zidentyfikowane tylko w jednym badaniu [73]. Najlepszymi predyktorami kruchości mięsa (spośród analizowanych trzydziestu zmiennych ilościowych) okazały się inhibitory proteazy serynowej [82, 83]. Ta nieoczekiwana właściwość była wyjątkowym zaskoczeniem, ponieważ nie stwierdzono, aby jakakolwiek proteaza serynowa brała udział w „rozluźnianiu” miofibrilli [21, 60].

Późniejsze badania mięśni bydła mające na celu identyfikację inhibitorów wewnątrzkomórkowych proteaz serynowych wykazały, że większość z nich należy do nadrodziny serpin (akronim SERine Proteases INhibitors) [58]. Potwierdzono związek serpin (z grupy SERPINA3) hamujących aktywność kaspaz z kruchością mięsa [21, 82]. Zidentyfikowanym inhibitorem trombiny jest enzym zlokalizowany na poziomie synaps mięśniowych, określony jako antytrombina III [26]. Chociaż zidentyfikowano

już w zasadzie inhibitory proteaz z rodziny papain, kalpain i kaspaz, to wciąż niewiele wiadomo na temat inhibitorów proteasomów, które bezsprzecznie są obecne w komórce mięśniowej [61].

Tabela 2. Najważniejsze peptydazy biorące udział w konwersji mięśni do mięsa i ich inhibitory
Table 2. Main peptidases involved in muscle-meat conversion and their inhibitors

Enzym Enzyme	Inhibitor Inhibitor	Źródło Reference
Kalpains 1 i 2 [μ i m] Calpains 1 and 2 [μ and m]	kalpastatyna (izoformy) calpastatin (isoforms)	[63, 68]
Katepsyny: B, H, L, S Cathepsins: B, H, L, S Proteazy cysteinowe Cysteine proteases	cystatyny cystatins (stefins, nystatins, kininogens, glycated cystatins)	[17, 72]]
Kaspazy: inicjacyjne i efektorowe Caspases: initiator and effector	HSP (heat stress protein) IAP (inhibitors of apoptosis protein) serpiny (SERine Protease Inhibitors) $\alpha\beta$ -crystallin	[2, 5, 20, 21, 36, 70]
Proteazy serynowe Serine proteases	serpiny (SERPINA 3) serpins (SERPIN3)	[21, 72, 82, 83]
Trombina Thrombin	antytrombina III antithrombin III	[26]

Potencjalne markery kruchości mięsa

Od około 20 lat poszukuje się wiarygodnych biologicznych markerów kruchości mięsa, które umożliwiłyby: 1) klasyfikację elementów uzyskanych tuż po uboju na podstawie ich końcowej kruchości, 2) genetyczną selekcję zwierząt na podstawie jakości mięsa. Dotychczas nie zidentyfikowano takich markerów, prawdopodobnie z uwagi na niewystarczające poznanie mechanizmów biologicznych odpowiedzialnych za poprawę tekstury mięsa *post mortem* [61]. Jakościowe markery mogą bowiem odzwierciedlać różne szlaki metaboliczne biorące udział w poprawie kruchości mięsa *post mortem*. Dotychczas zidentyfikowane potencjalne markery kruchości mięsa (ok. 20) zostały sklasyfikowane na podstawie metabolicznych lub biologicznych procesów, w których biorą udział. Najczęściej wyróżnia się markery energetycznego szlaku glikolitycznego i oksydacyjnego oraz białka szoku cieplnego (HSP) [61].

Glikoliza jest procesem dwufazowym, a wszystkie markery glikolitycznego szlaku energetycznego to enzymy glikolityczne. Spośród 5 enzymów uczestniczących w pierwszej fazie, dwa zidentyfikowano jako potencjalne markery kruchości, tzn. fosfoglukomutazę [7, 9] i izomerazę triozofosforanową [40]. W przeciwieństwie do

pierwszej fazy, enzymy uczestniczące w drugiej fazie glikolizy (5 z 6) zostały w większości zidentyfikowane jako wiarygodne markery kruchości. Należą do nich: dehydrogenaza aldehydu 3-fosfoglicerolowego, kinaza fosfoglicerynianowa [33], enolaza (hydrataza fosfo(enolo)pirogronianowa), kinaza pirogronianowa i dehydrogenaza mleczanowa [12, 48, 66]. Innym potencjalnym markerem jest dehydrogenaza aldehydowa [33]. Z oksydacyjnego szlaku metabolicznego wytypowano 7 markerów kruchości: dehydrogenazę 3-hydroksyzomaślanu [32, 33], dehydrogenazę β -hydroksyacylu CoA [24, 66], cytochrom c [15] i trzy markery biorące udział w cyklu Krebsa (dehydrogenazę bursztynianową, syntazę bursztynylo Co-A i dehydrogenazę izocytrynianową) [24, 27, 33, 40, 84]. Białka szoku cieplnego (HSP 27, 40, 60, 70) to potencjalne biomarkery cech jakościowych mięsa, m.in. kruchości [53]. Stwierdzono ujemną korelację Hsp27 i $\alpha\beta$ -kryształiny z kruchością, soczystością i smakowitością mięsa wołowego [6] oraz z udziałem barwy czerwonej (a^*) i jasnością (L^*) [40]. Do innych potencjalnych markerów kruchości mięsa zaliczane są także białka regulujące proces apoptozy komórek mięśniowych *post mortem*. Niektórzy autorzy wykazali związek zaawansowania tenderyzacji mięsa z różną koncentracją aneksyny A1 (lipokortyna-1) i aneksyny A6 [8, 85]. Dwa inne potencjalne markery kruchości, to galektyna 1 (Galectin 1) [8, 84] i peroksyredoksyna-6 (Peroxiredoxin-6) [34].

Podsumowanie

Z wyjątkiem opublikowanej w 1996 r. wapniowej teorii kruszenia mięsa, przyjmuje się powszechnie, że konwersja mięśni do mięsa jest regulowana przez złożone interakcje procesów biochemicznych mających miejsce w czasie przechowywania tusz po uboju. Potwierdzono, że apoptoza (nie nekroza) jest najważniejszym kierunkiem przemian po śmierci komórki w mięśniach szkieletowych *post mortem*, poprzedzając pośmiertną proteolizę i tenderyzację mięsa. Proteoliza enzymatyczna zmienia twardą tkankę mięśniową w bardziej delikatne mięso. Jednak tempo i zakres tenderyzacji mięsa są zmienne, uwarunkowane licznymi i niezależnymi od siebie czynnikami. Jednym z ważnych czynników jest stężenie i aktywność obecnych w mięśniach szkieletowych endogennych proteaz.

Główną rolę w pośmiertnej proteolizie odgrywa system kalpainowy, a zwłaszcza μ -kalpaina. Jej specyficzny inhibitor – kalpastatyna znacząco wpływa natomiast na kruchość mięsa. Przyjmuje się ponadto, że zarówno proteoliza, jak i tenderyzacja są procesami wieloenzymatycznymi, w których uczestniczą kalpaina, katepsyny, proteasomy oraz system kaspaz. Inhibitory są lepszymi predyktorami kruchości mięsa niż docelowe enzymy, stąd wielu autorów sądzi, że badania zmierzające do pełnego poznania i scharakteryzowania inhibitorów proteaz w tkance mięśniowej przyczynią się do wyjaśnienia funkcji różnych endogennych systemów proteolitycznych w pośmiertnej tenderyzacji mięsa.

Podkreślić jednak należy, że końcowa kruchość mięsa nie jest uwarunkowana wyłącznie proteolizą, ale również temperaturą, wartością pH, długością sarkomerów i zawartością kolagenu w mięśniach. Wszystkie te czynniki mogą wpływać na jakość mięsa i w sposób bezpośredni lub pośredni kształtować potencjał proteolityczny mięśni.

Literatura

- [1] Alderton A.L., Means W.J., Kalchayanand N., McCormick R.J., Miller K.W.: Bovine metalloprotease characterization and in vitro connective tissue degradation. *J. Anim. Sci.*, 2004, **82**, 1475-1481.
- [2] Arrigo A.P.: In search of the molecular mechanism by which small stress proteins counteract apoptosis during cellular differentiation. *J. Cell. Biochem.*, 2005, **94**, 241-246.
- [3] Barbut S., Sosnicki A.A., Lonergan S.M., Knapp T., Ciobanu D.C., Gatcliffe L.J.: Progress in reducing the pale, soft and exudative (PSE) problem in pork and poultry meat. *Meat Sci.*, 2008, **79**, 46-63.
- [4] Becila S., Herrera-Mendez C.H., Coulis G., Labas R., Astruc T., Picard B., Boudjellal A., Pelissier P., Bremaud L., Ouali A.: *Post mortem* muscle cells die through apoptosis. *Eur. Food Res. Technol.*, 2010, **231**, 485-493.
- [5] Beere H.M.: Death versus survival: Functional interaction between the apoptotic and stress-inducible heat shock protein pathways. *J. Clin. Invest.*, 2005, **115**, 2633-2639.
- [6] Bernard C., Cassar-Malek I., Le Cunff M., Dubroeuq H., Renand G., Hocquette J.F.: New indicators of beef sensory quality revealed by expression of specific genes. *J. Agric. Food Chem.*, 2007, **55**, 5229-5237.
- [7] Bjarnadottir S.G., Hollung K., Faergestad E.M., Veiseth-Kent E.: Proteome changes in bovine longissimus thoracis muscle during the first 48 h postmortem: Shifts in energy status and myofibrillar stability. *J. Agric. Food Chem.*, 2010, **58**, 7408-7414.
- [8] Bjarnadottir S.G., Hollung K., Hoy M., Bendixen E., Codrea M.C., Veiseth-Kent E.: Changes in protein abundance between tender and tough meat from bovine longissimus thoracis muscle assessed by isobaric Tag for Relative and Absolute Quantitation (iTRAQ) and 2-dimensional gel electrophoresis analysis. *J. Anim. Sci.*, 2012, **90**, 2035-2043.
- [9] Bouley J., Chambon C., Picard B.: Mapping of bovine skeletal muscle proteins using two-dimensional gel electrophoresis and mass spectrometry. *Proteomics*, 2004, **4**, 1811-1824.
- [10] Bowker B.C., Eastridge J.S., Paroczay E.W., Callahan J.A., Solomon M.B.: Aging/tenderization mechanisms. In: *Handbook of Meat Processing*. Ed. F. Toldrá. Blackwell Publishing, Ames, Iowa, 2010, pp. 87-104.
- [11] Casas E., White S.N., Wheeler T.L., Shackelford S.D., Koohmaraie M., Riley D.G.: Effects of calpastatin and I-calpain markers in beef cattle on tenderness traits. *J. Anim. Sci.*, 2006, **84**, 520-525.
- [12] Choi Y.M., Lee S.H., Choe J.H., Rhee M.S., Lee S.K., Joo S.T., Kim B.C.: Protein solubility is related to myosin isoforms, muscle fiber types, meat quality traits, and postmortem protein changes in porcine *longissimus dorsi* muscle. *Livestock Sci.*, 2010, **127**, 183-191.
- [13] Dahlmann B., Ruppert T., Kloetzel P.M., Kuehn L.: Subtypes of 20S proteasomes from skeletal muscle. *Biochimie*, 2001, **83**, 295-299.
- [14] D'alessandro A., Zolla L.: Meat science: From proteomics to integrated omics towards system biology. *J. Proteom.*, 2013, **78**, 558-577.
- [15] Ding W.X., Shen H.M., Ong C.N.: Calpain activation after mitochondrial permeability transition in microcystin-induced cell death in rat hepatocytes. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2002, **291**, 321-331.
- [16] Domaradzki P., Skąlecki P., Florek M., Litwińczuk Z.: Związek kolagenu z wybranymi parametrami technologicznymi mięsa cielęcego. *Zywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2010, **4**, 50-62.
- [17] Dubin G.: Proteinaceous cysteine protease inhibitors. *Cell. Mol. Life Sci.*, 2005, **62**, 653-669.

- [18] Dutaud D., Aubry L., Sentandreu M.A., Ouali A.: Bovine muscle 20S proteasome: I. Simple purification procedure and enzymatic characterization in relation with *post mortem* conditions. *Meat Sci.*, 2006, **74**, 327-336.
- [19] Florek M., Litwińczuk Z.: Konwersja mięsni do mięsa – znaczenie apoptozy. *Med. Weter.*, 2011, **67** (8), 531-535.
- [20] Fuentes-Prior P., Salvesen G.S.: The protein structures that shape caspase-activity, specificity, activation, and inhibition. *Biochem. J.*, 2004, **384**, 201-232.
- [21] Gagaoua M., Boudida Y., Becila S., Picard B., Boudjellal A., Sentandreu M.A., Ouali A.: New caspases' inhibitors belonging to the serpin superfamily: A novel key control point of apoptosis in mammalian tissues. *Adv. Biosci. Biotech.*, 2012, **3**, 740-750.
- [22] Geesink G.H., Kuchay S., Chishti A.H., Koohmaraie M.: l-Calpain is essential for *post mortem* proteolysis of muscle proteins. *J. Anim. Sci.*, 2006, **84**, 2834-2840.
- [23] Goll D.E., Thompson V.F., Li H.Q., Wei W., Cong J.Y.: The calpain system. *Physiol. Rev.*, 2003, **83**, 731-801.
- [24] Hamill R.M., McBryan J., Mcgee C., Mullen A.M., Sweeney T., Talbot A., Cairns M.T., Davey G.C.: Functional analysis of muscle gene expression profiles associated with tenderness and intramuscular fat content in pork. *Meat Sci.*, 2012, **92**, 440-450.
- [25] Harper G.S.: Trends in skeletal muscle biology and the understanding of toughness in beef. *Aust. J. Agric. Res.*, 1999, **50**, 1105-1129.
- [26] Herrera-Mendez C.H., Becila S., Coulis G., Sentandreu M.A., Aubry L., Ouali A.: Purification and partial characterization of antithrombin III from bovine skeletal muscle and possible role of thrombin in *post mortem* apoptosis development and in efficiency of low voltage electrical stimulation. *Food Res. Int.*, 2010, **43**, 356-363.
- [27] Hollung K., Veiseth E., Jia X., Faergestad E.M., Hildrum K.I.: Application of proteomics to understand the molecular mechanisms behind meat quality. *Meat Sci.*, 2007, **77**, 97-104.
- [28] Hopkins D.L., Martin L., Gilmour A.R.: The impact of homogenizer type and speed on the determination of myofibrillar fragmentation. *Meat Sci.*, 2004, **67**, 705-710.
- [29] Huff-Lonergan E., Mitsuhashi T., Beekman D.D., Parrish F.C. Jr., Olson D.G., Robson R.M.: Proteolysis of specific muscle structural proteins by μ -calpain at low pH and temperature is similar to degradation in *post mortem* bovine muscle. *J. Anim. Sci.*, 1996, **74**, 993-1008.
- [30] Huff-Lonergan E., Zhang W., Lonergan S.M.: Biochemistry of *post mortem* muscle – Lessons on mechanisms of meat tenderization. *Meat Sci.*, 2010, **86**, 184-195.
- [31] Iwanowska A., Grześ B., Mikołajczak B., Iwańska E., Juszczyk-Kubiak E., Rosochacki S.J., Pospiech E.: Impact of polymorphism of the regulatory subunit of the μ -calpain (CAPN1S) on the proteolysis process and meat tenderness of young cattle. *Mol. Biol. Rep.*, 2011, **38**, 1295-1300.
- [32] Jia X., Ekman M., Grove H., Faergestad E.M., Aass L., Hildrum K.I., Hollung K.: Proteome changes in bovine *longissimus thoracis* muscle during the early postmortem storage period. *J. Prot. Res.*, 2007, **6**, 2720-2731.
- [33] Jia X., Hildrum K.I., Westad F., Kummen E., Aass L., Hollung K.: Changes in enzymes associated with energy metabolism during the early *post mortem* period in *longissimus thoracis* bovine muscle analyzed by proteomics. *J. Prot. Res.*, 2006, **5**, 1763-1769.
- [34] Jia X., Veiseth-Kent E., Grove H., Kuziora P., Aass L., Hildrum K.I., Hollung K.: Peroxiredoxin-6 – A potential protein marker for meat tenderness in bovine *longissimus thoracis* muscle. *J. Anim. Sci.*, 2009, **87**, 2391-2399.
- [35] Juszczyk-Kubiak E., Słoniewski K., Oprządek J., Wicińska K., Połozynowicz J., Rosochacki S.: The effect of polymorphisms in the intron 12 of CAST gene on meat quality of young bulls. *Anim. Sci. Pap. Rep.*, 2009, **27**, 4, 281-292.
- [36] Kamradt M.C., Chen F., Sam S., Cryns V.L.: The small heat shock protein alpha B-crystallin negatively regulates apoptosis during myogenic differentiation by inhibiting caspase-3 activation. *J. Biol. Chem.*, 2002, **277**, 38731-38736.
- [37] Karumendu L.U., Van De Ven R., Kerr M.J., Lanza M., Hopkins D.L.: Particle size analysis of lamb meat: Effect of homogenization speed, comparison with myofibrillar fragmentation index and its relationship with shear force. *Meat Sci.*, 2009, **82**, 425-431.

- [38] Kemp C.M., Parr T.: Advances in apoptotic mediated proteolysis in meat tenderization. *Meat Sci.*, 2012, **92**, 252-259.
- [39] Kemp C.M., Sensky P.L., Bardsley R.G., Buttery P.J., Parr T.: Tenderness - An enzymatic view. *Meat Sci.*, 2010, **84**, 248-256.
- [40] Kim G.D., Jeong J.Y., Moon S.H., Hwang Y.H., Joo S.T.: Influences of carcass weight on histochemical characteristics and meat quality of crossbred (Korean native black pig × Landrace) pigs. Proc. 55th Inter. Congress Meat Sci. Techn., Copenhagen, Denmark, 2009, vol. PS1.05a.
- [41] Kitamura S., Kudo K., Chikuni K., Watanabe I., Nishimura T.: Actions of cathepsins on troponin T during postmortem aging of porcine muscle. *Anim. Sci. J.*, 2010, **81**, 501-505.
- [42] Koohmaraie M.: The Role of Endogenous Proteases in Meat Tenderness. *Reciprocal Meat Conf. Proc.*, 1988, vol. 41, pp. 89-100.
- [43] Koohmaraie M.: Muscle proteinases and meat aging. *Meat Sci.*, 1994, **36**, 93-104.
- [44] Koohmaraie M.: Biochemical factors regulating the toughening and tenderization processes of meat. *Meat Sci.*, 1996, **43** (S), 193-201.
- [45] Koohmaraie M., Geesink G.H.: Contribution of postmortem muscle biochemistry to the delivery of consistent meat quality with particular focus on the calpain system. *Meat Sci.*, 2006, **74**, 34-43.
- [46] Lamare M., Taylor R.G., Farout L., Briand Y., Briand M.: Changes in proteasome activity during *post mortem* aging of bovine muscle. *Meat Sci.*, 2002, **61**, 199-204.
- [47] Lametsch R., Lonergan S., Huff-Lonergan E.: Disulfide bond within μ -calpain active site inhibits activity and autolysis. *Biochim. Biophys. Acta*, 2008, **1784**, 1215-1221.
- [48] Laville E., Sayd T., Morzel M., Blinet S., Chambon C., Lepetit J., Renand G., Hocquette J.F.: Proteome changes during meat aging in tough and tender beef suggest the importance of apoptosis and protein solubility for beef aging and tenderization. *J. Agric. Food Chem.*, 2009, **57**, 10755-10764.
- [49] Lomiwes D., Farouk M.M., Frost D.A., Dobbie P.M., Young O.A.: Small heat shock proteins and toughness in intermediate pHu beef. *Meat Sci.*, 2013, **95**, 472-479.
- [50] Lomiwes D., Farouk M.M., Wiklund E., Young O.A.: Small heat shock proteins and their role in meat tenderness: A review. *Meat Sci.*, 2014, **96**, 26-40.
- [51] Lund M.N., Heinonen M., Baron C.P., Estévez M.: Protein oxidation in muscle foods: A review. *Mol. Nutr. Food Res.*, 2011, **55**, 83-95.
- [52] Mikami M., Whiting A.H., Taylor M.A.J., Maciewicz R.A., Etherington D.J.: Degradation of myofibrils from rabbit, chicken and beef by cathepsin I and lysosomal lysates. *Meat Sci.*, 1987, **21**, 81-97.
- [53] Morzel M., Terlouw C., Chambon C., Micol D., Picard B.: Muscle proteome and meat eating qualities of *Longissimus thoracis* of "Blonde d'Aquitaine" young bulls: A central role of HSP27 isoforms. *Meat Sci.*, 2008, **78**, 297-304.
- [54] Nishimura T., Hattori A., Takahashi K.: Structural weakening of intramuscular connective tissue during conditioning of beef. *Meat Sci.*, 1995, **39**, 127-133.
- [55] Nishimura T., Hattori A., Takahashi K.: Relationship between degradation of proteoglycans and weakening of the intramuscular connective tissue during *post-mortem* ageing of beef. *Meat Sci.*, 1996, **42**, 251-260.
- [56] Novakofski J., Brewer M.S.: The paradox of toughening during the aging of tender steaks. *J. Food Sci.*, 2006, **71**, 473-479.
- [57] O'Halloran G.R., Troy D.J., Buckley D.J., Reville W.J.: The role of endogenous proteases in the tenderisation of fast glycolysing muscle. *Meat Sci.*, 1997, **47**, 187-210.
- [58] Olson S.T., Gettins P.G.: Regulation of proteases by protein inhibitors of the serpin superfamily. *Prog. Mol. Biol. Transl. Sci.*, 2011, **99**, 185-240.
- [59] Orrenius S., Zhivotovsky B., Nicotera P.: Regulation of cell death: The calcium-apoptosis link. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, 2003, **4**, 552-565.
- [60] Ouali A.: Meat tenderization: Possible causes and mechanisms. *J. Muscle Foods*, 1990, **1**, 129-165.
- [61] Ouali A., Gagaoua M., Boudida Y., Becila S., Boudjellal A., Herrera-Mendez C.H., Sentandreu M.A.: Biomarkers of meat tenderness: Present knowledge and perspectives in regards to our current understanding of the mechanism involved. *Meat Sci.*, 2013, **95**, 854-870.

- [62] Ouali A., Herrera-Mendez C.H., Coulisa G., Becilab S., Boudjellal A., Aubry L., Sentandreu M.A.: Revisiting the conversion of muscle into meat and the underlying mechanisms. *Meat Sci.*, 2006, **74**, 44-58.
- [63] Ouali A., Talmant A.: Calpains and calpastatin distribution in bovine, porcine and ovine skeletal muscles. *Meat Sci.*, 1990, **28**, 331-348.
- [64] Ouali A., Vignon X., Bonnet M.: Osmotic pressure changes in postmortem muscles: Factors of variation and possible causative agents. *Proc. 37th Int. Cong. Meat Sci. Techn.*, 1991, 452-456.
- [65] Pambuka S.E., Adebisi A.P., Muramoto K., Naudé R.J.: Purification and partial characterisation of a matrix metalloproteinase from ostrich skeletal muscle, and its activity during meat maturation. *Meat Sci.*, 2007, **76**, 481-488.
- [66] Polati R., Menini M., Robotti E., Millions R., Marengo E., Novelli E., Balzan S., Cecconi D.: Proteomic changes involved in tenderization of bovine *Longissimus dorsi* muscle during prolonged ageing. *Food Chem.*, 2012, **135**, 2052-2069.
- [67] Purslow P.P., Archile-Contreras A.C., Cha M.C.: Meat Science and Muscle Biology Symposium: Manipulating meat tenderness by increasing the turnover of intramuscular connective tissue. *J. Anim. Sci.*, 2012, **90**, 950-959.
- [68] Raynaud P., Gillard M., Parr T., Bardsley R., Amarger V., Leveziel H.: Correlation between bovine calpastatin mRNA transcripts and protein isoforms. *Arch. Bioch. Bioph.*, 2005, **440**, 46-53.
- [69] Rosochacki S.J., Juszczyk-Kubiak E., Bartoń L., Sakowski T., Połozynowicz J., Baranowski A., Matejczyk M.: Preliminary observations upon relation between the G77A polymorphism in CATD gene and lysosomal proteinases activity and sensory traits of meat from bulls of three breeds. *Anim. Sci. Pap. Rep.*, 2008, **26**, 1, 25-35.
- [70] Sandri M., Carraro U.: Apoptosis of skeletal muscles during development and disease. *Int. J. Biochem. Cell Biol.*, 1999, **31**, 1373-1390.
- [71] Sawdy J.C., Kaiser S.A., St-Pierre N.R., Wick M.P.: Myofibrillar 1-D fingerprints and myosin heavy chain MS analyses of beef loin at 36h *post mortem* correlate with tenderness at 7 days. *Meat Sci.*, 2004, **67**, 421-426.
- [72] Sentandreu M.A., Coulis G., Ouali A.: Role of muscle endopeptidases and their inhibitors in meat tenderness. *Trends Food Sci. Tech.*, 2002, **13**, 400-421.
- [73] Shackelford S.D., Koohmaraie M., Whipple G., Wheeler T.L., Miller M.F., Crouse J.D.: Predictors of beef tenderness: Development and verification. *J. Food Sci.*, 1991, **56**, 1130-1135.
- [74] Smuder A.J., Kavazis A.N., Hudson M.B., Nelson W.B., Powers S.K.: Oxidation enhances myofibrillar protein degradation via calpain and caspase-3. *Free Rad. Biol. Med.*, 2010, **49**, 1152-1160.
- [75] Sylvestre M., Balcerzak N.D., Feidt C., Baracos V.E., Bellut J.B.: Elevated rate of collagen solubilization and *post mortem* degradation in muscles of lambs with high growth rates: Possible relationship with activity of matrix metalloproteinases. *J. Anim. Sci.*, 2002, **80**, 1871-1878.
- [76] Szabadkai G., Rizzuto R.: Participation of endoplasmic reticulum and mitochondrial calcium handling in apoptosis: More than just neighborhood. *FEBS Letters*, 2004, **567**, 111-115.
- [77] Takahashi K.: Structural weakening of skeletal muscle tissue during *post-mortem* ageing of meat: The non-enzymatic mechanism of meat tenderization. *Meat Sci.*, 1996, **43 (S)**, 67-80.
- [78] Taylor R.G., Geesing G.H., Thompson V.F., Koohmaraie M., Goll D.E.: Is Z-disk degradation responsible for *post mortem* tenderization? *J. Anim. Sci.*, 1995, **73**, 1351-1367.
- [79] Tyszkiewicz I.: Mechanizm nieproteolitycznego kruszenia mięsa wołowego. *Rocz. Inst. Przem. Mięś. Tł.*, 1969, **6**, 75-93.
- [80] Wu F.Y., Smith S.B.: The role of ionic strength in the *post mortem* tenderization of meat. *Proc. 38th Ann. Recip. Meat Conf.*, 1985, 209.
- [81] Wu F.Y., Smith S.B.: Ionic strength and myofibrillar protein solubilization. *J. Anim. Sci.*, 1987, **65**, 597-608.
- [82] Zamora F., Aubry L., Sayd T., Lepetit J., Lebert A., Sentandreu M.A., Ouali A.: Serine peptidase inhibitors, the best predictor of beef ageing amongst a large set of quantitative variables. *Meat Sci.*, 2005, **71**, 730-742.
- [83] Zamora F., Debiton E., Lepetit J., Lebert A., Dransfield E., Ouali A.: Predicting variability of ageing and toughness in beef M. *Longissimus lumborum et thoracis*. *Meat Sci.*, 1996, **43**, 321-333.

- [84] Zapata I., Zerby H.N., Wick M.: Functional proteomic analysis predicts beef tenderness and the tenderness differential. *J. Agric. Food Chem.*, 2009, **57**, 4956-4963.
- [85] Zhao Y.M., Basu U., Dodson M.V., Basarb J.A., Guan Le L.: Proteome differences associated with fat accumulation in bovine subcutaneous adipose tissues. *Proteome Sci.*, 2010, **8**, 14.

THEORIES CONCERNING NATURAL TENDERIZATION PROCESSES IN POST MORTEM MEAT

S u m m a r y

Of the various meat properties, which impact its quality, tenderness is the most important for the consumer. During the post mortem conversion of muscle to meat, a complex process of meat tenderization occurs. For a long time now, researchers in this field of science have been particularly interested in the mechanism of meat tenderization. Despite intensive studies, the crux of those processes is not thoroughly recognized. In the review paper, main theories are presented, which refer to the mechanisms of meat tenderization, both the non-enzymatic (calcium theory of meat tenderization, effect of osmotic pressure) and the enzymatic theories (processes including proteolytic endogenous enzymes: calpains and calpastatin, caspases, cathepsins, proteasomes, and matrix metalloproteases). The enzymes in question are likely to be engaged in the post mortem proteolysis of muscle proteins. Moreover, potential markers are discussed of different metabolic pathways that participate in developing the post mortem meat tenderness.

Key words: meat, tenderization, theories, tenderness, markers for tenderness 

ZOFIA SOKOŁOWICZ, JÓZEFA KRAWCZYK, MAGDALENA DYKIEL

WPLYW CZASU PRZECHOWYWANIA NA JAKOŚĆ I WŁAŚCIWOŚCI FUNKCJONALNE JAJ OD KUR OBJĘTYCH W POLSCE PROGRAMEM OCHRONY

Streszczenie

Celem pracy była ocena wpływu czasu przechowywania na wybrane parametry jakości skorupy oraz cechy fizyczne i właściwości funkcjonalne treści jaj od kur rodzimych ras Zielononóżka kuropatwiana (Z11), Żółtonóżka kuropatwiana (Ż33), objętych w Polsce programem ochrony zasobów genetycznych, oraz od amerykańskiej rasy Rhode Island Red – karmazyn (R11). W 33. tygodniu życia od kur każdej z badanych ras pobrano 90 jaj, które poddano ocenie jakościowej w 1., 14. i 28. dniu przechowywania.

Bezpośrednio po zniesieniu badane jaja charakteryzowały się dobrą jakością i korzystnymi cechami funkcjonalnymi, tj. intensywnym wybarwieniem żółtka ($6,96 \div 7,48$), wysokim białkiem ($7,47 \div 8,37$ mm) oraz wysokimi wartościami jednostek Hougha ($87,95 \div 91,97$), niezależnie od rasy kur. Wraz z wydłużaniem czasu przechowywania następowały zmiany związane z procesami starzenia jaj, tj. ubytek masy jaj, zwiększenie masy żółtka, zmniejszenie wysokości białka oraz zmniejszenie wartości jednostek Hougha a także alkalizacja białka i żółtka jaj. Czas przechowywania nie spowodował zmniejszenia pienistości białka jaj. Nie stwierdzono wpływu czasu przechowywania na gęstość i masę ani na wytrzymałość skorupy. Natomiast grubość skorupy jaj od kur Z11 i Ż33 wraz z wydłużaniem czasu ich przechowywania uległa niewielkiemu zmniejszeniu. Niewielka dynamika zmian związanych z procesami starzenia sprawiła, że również w 28. dniu przechowywania jaja od kur wszystkich badanych ras charakteryzowały się dobrymi parametrami jakości (barwa żółtka: $7,44 \div 7,96$, wysokość białka: $6,06 \div 7,41$; jednostki Hougha: $80,21 \div 87,26$) i korzystnymi cechami funkcjonalnymi, co wskazuje na możliwość gromadzenia i okresowego przechowywania jaj od kur ras rodzimych.

Słowa kluczowe: rodzime rasy kur, jakość jaj, właściwości funkcjonalne jaj, czas przechowywania jaj

Dr hab. Z. Sokołowicz, prof. UR, Katedra Produkcji Zwierzęcej i Oceny Produktów Drobiarskich, Wydz. Biologiczno-Rolniczy, Uniwersytet Rzeszowski, ul. Zelwerowicza 4, 35-304 Rzeszów, prof. dr hab. J. Krawczyk, Instytut Zootechniki Państwowy Instytut Badawczy, ul. Krakowska 1, 32-083 Balice, mgr inż. M. Dykiel, Zakład Rolnictwa i Rozwoju Obszarów Wiejskich, Instytut Gospodarki i Polityki Społecznej, Państwowa Wyższa Szkoła Zawodowa w Krośnie, Rynek 1, 38-400 Krosno. Kontakt: zosoko@wp.pl

Wprowadzenie

Zgodnie z rozporządzeniem Parlamentu Europejskiego (UE) nr 1308/2013 [21] oraz rozporządzeniem Komisji (WE) nr 589/2008 [20] do obrotu handlowego mogą być przeznaczone wyłącznie jaja kurze oznakowane. Literowo-liczbowy kod znajdujący się na skorupie jaja składa się m.in. z kodu systemu chowu, w którym: 0 – oznacza jaja z produkcji ekologicznej, 1 – jaja z chowu z dostępem do wybiegu, 2 – jaja z chowu ściółkowego, 3 – jaja z chowu klatkowego. Konsument może więc kupić jaja z preferowanego przez siebie systemu chowu.

W Polsce, podobnie jak w innych rejonach Europy, podstawą zaopatrzenia konsumentów w jaja spożywcze jest produkcja w systemie klatkowym. W ostatnich latach obserwuje się jednak wzrost zainteresowania konsumentów jajami z chowu ściółkowego i wybiegowego. Do chowu wybiegowego zaleca się kury ras rodzimych, które są przystosowane do lokalnych, zmiennych i często ekstremalnych warunków charakterystycznych dla tego systemu chowu. Użytkowanie kur ras rodzimych w chowie wybiegowym może więc być skutecznym sposobem ich ochrony przed wyginięciem, a jednocześnie sposobem na pozyskiwanie jaj z preferowanych przez część konsumentów warunków chowu, uważanych za „bardziej przyjazne dla niosek”.

Jaja od kur z chowu wybiegowego, pozyskiwane najczęściej w małych gospodarstwach rodzinnych i agroturystycznych, są okresowo gromadzone i przechowywane. Jakość jaj, w tym ich cechy funkcjonalne, ma więc istotne znaczenie przy ich wykorzystaniu bezpośrednio po zniesieniu, jak i po okresie przechowywania. Jakość jaj jest kształtowana przez czynniki genetyczne [5, 12, 17, 27], warunki chowu [5, 9, 26], żywienie i wiek niosek [9, 13, 18] oraz czas i warunki przechowywania jaj [4, 5, 17, 26]. Szczególnie istotnymi cechami funkcjonalnymi są właściwości barwotwórcze żółtka oraz pianistość białka. Intensywność barwy żółtka wpływa bowiem na intensywność barwy wypieków. Z białka jaja można uzyskać pianę, która koagulując podczas ogrzewania, działa spulchniająco np. w wyrobach cukierniczych (biszkoptach czy bezach).

Celem pracy była ocena wpływu czasu przechowywania na parametry jakości skorupy i treści jaj oraz na właściwości funkcjonalne jaj od kur rodzimych ras Zielononóżka kuropatwiana (Z-11) i Żółtonóżka kuropatwiana (Ż33), objętych w Polsce programem ochrony zasobów genetycznych, oraz od kur amerykańskiej rasy Rhode Island Red – znanej w Polsce jako karmazyn (R-11).

Material i metody badań

Badano jaja pochodzące od kur dwóch ras rodzimych tj. Zielononóżki kuropatwianej (Z11) i Żółtonóżki kuropatwianej (Ż33), objętych w Polsce programem ochrony zasobów genetycznych, oraz od kur amerykańskiej rasy Rhode Island Red – znanej

w Polsce jako karmazyn (R11). Kury utrzymywano w warunkach chowu wybiegowego. W 33. tygodniu życia od kur każdej rasy pobrano po 90 jaj, które podzielono na trzy grupy po 30 sztuk. Pierwszą grupę stanowiły jaja poddane ocenie w pierwszym dniu po zniesieniu, grupę drugą i trzecią – jaja badane w 14. i 28. dniu przechowywania. Wszystkie jaja od chwili zniesienia do czasu oceny przechowywano w chłodni o temp. 8 °C i wilgotności 60 %.

Oceniano jakość skorupy oraz cechy fizyczne i właściwości funkcjonalne treści jaj. Podstawowe cechy fizyczne jaj (masa jaja, masa skorupy, masa żółtka, barwa żółtka, wysokość białka, jednostki Hougha) w każdym terminie oceny określano przy użyciu elektronicznej aparatury EQM (Egg Quality Measurements – Technical Services and Supplies, Wielka Brytania). Wytrzymałość skorupy na zgniecenie mierzono przy użyciu maszyny wytrzymałościowej do prób statycznych Zwich/Roell (Niemcy), a grubość skorupy za pomocą śruby mikrometrycznej. W każdym terminie oceny oznaczano właściwości funkcjonalne jaj, które obejmowały właściwości barwotwórcze, pH białka i pH żółtka (pH-metr HI-99163, Hanna Instruments, USA) oraz pienistość i stabilność piany [2].

Uzyskane wyniki opracowano statystycznie przy użyciu programu Statistica 6.0 PL [15]. Wyniki poddano dwuczynnikowej analizie wariancji (rasa kur, czas przechowywania jaj) i określono efekty główne (A – wpływ rasy, B – wpływ czasu przechowywania) oraz efekt interakcji czynników (A×B). Istotność różnic między wartościami średnimi szacowano testem Duncana na poziomie istotności $p \leq 0,05$.

Wyniki i dyskusja

Istotną cechą jakości jaj dla konsumenta jest ich wielkość. W badaniach wykazano, że jaja pozyskane od kur rasy karmazyn (R11) cechowały się większą masą niż jaja od pozostałych ras kur (tab. 1). Masa wszystkich badanych jaj zmniejszała się w czasie przechowywania. Stwierdzone ubytki masy w czasie przechowywania są zbieżne z wynikami badań innych autorów, którzy w podobny sposób badali jaja z chowu intensywnego bądź wybiegowego [4, 9, 23, 25, 28]. Utrata masy jaja w wyniku przechowywania jest spowodowana ubytkiem wody i dwutlenku węgla przez pory w skorupie [7]. Yilmaz i Bozkurt [28] wykazali związek między ubytkami masy powstającymi w czasie przechowywania a wielkością jaj, co może tłumaczyć największy ubytek masy jaj od kur R11.

W badaniach stwierdzono wpływ rasy kur na masę, grubość, gęstość i wytrzymałość skorupy jaj, ale nie wykazano wpływu czasu przechowywania na te cechy z wyjątkiem grubości, która wraz z przedłużaniem czasu przechowywania jaj ulegała zmniejszeniu. Zmniejszenie grubości skorupy w czasie przechowywania jest trudne do zinterpretowania, być może wiąże się z wysychaniem błon podskorupowych. Uzyskane wyniki badań w tym zakresie są zbieżne z wynikami Biesiady-Drzazgi i Janochy

[5]. Zdaniem Roberts [19] istotny wpływ na wytrzymałość, gęstość i grubość skorupy ma mikrostruktura skorupy, a Bain i wsp. [3] wskazują, że zmiany wytrzymałości mogą być spowodowane przez mikrouszkodzenia. Z kolei Calik [6] dowiodła, że gęstość skorupy jest dodatnio skorelowana z jej grubością i wytrzymałością.

Tabela 1. Masa i cechy skorupy jaj determinowane rasą kur i czasem przechowywania jaj
Table 1. Weight and traits of eggshell as determined by breed of hens and storage period

Wyszczególnienie Itemization	Dzień Day	Ż33	R11	Z11	Istotność różnic Significance of differences		
		$\bar{x} \pm s / SD$	$\bar{x} \pm s / SD$	$\bar{x} \pm s / SD$	czas time	rasa breed	czas \times rasa time \times breed
Masa jaja Egg weight [g]	1.	53,53 \pm 1,97	55,68 \pm 2,36	51,54 \pm 1,88	*	*	NS
	14.	53,18 \pm 1,88	54,28 \pm 2,69	49,08 \pm 1,89			
	28.	51,48 \pm 1,91	51,26 \pm 2,48	48,86 \pm 1,74			
Grubość skorupy Eggshell thickness [mm]	1.	0,35 \pm 0,08	0,33 \pm 0,04	0,33 \pm 0,03	*	*	*
	14.	0,33 \pm 0,02	0,36 \pm 0,03	0,31 \pm 0,03			
	28.	0,31 \pm 0,03	0,31 \pm 0,03	0,31 \pm 0,03			
Masa skorupy Eggshell weight [g]	1.	6,62 \pm 0,61	6,86 \pm 0,59	6,37 \pm 0,65	NS	*	*
	14.	6,92 \pm 0,44	7,05 \pm 0,50	6,07 \pm 0,51			
	28.	6,58 \pm 0,36	6,80 \pm 0,48	6,22 \pm 0,54			
Gęstość skorupy Eggshell density [mg/cm ²]	1.	95,97 \pm 8,23	95,60 \pm 8,92	90,86 \pm 8,96	NS	*	*
	14.	97,58 \pm 6,74	99,27 \pm 8,09	88,72 \pm 8,56			
	28.	93,86 \pm 4,85	93,28 \pm 7,56	92,77 \pm 8,83			
Wytrzymałość sko- rupy / Eggshell strength [N]	1.	36,55 \pm 6,23	36,86 \pm 7,91	32,20 \pm 6,21	NS	*	NS
	14.	34,77 \pm 5,39	39,19 \pm 9,12	33,16 \pm 5,42			
	28.	36,34 \pm 6,35	36,70 \pm 9,24	34,38 \pm 6,94			

Objaśnienia: / Explanatory notes:

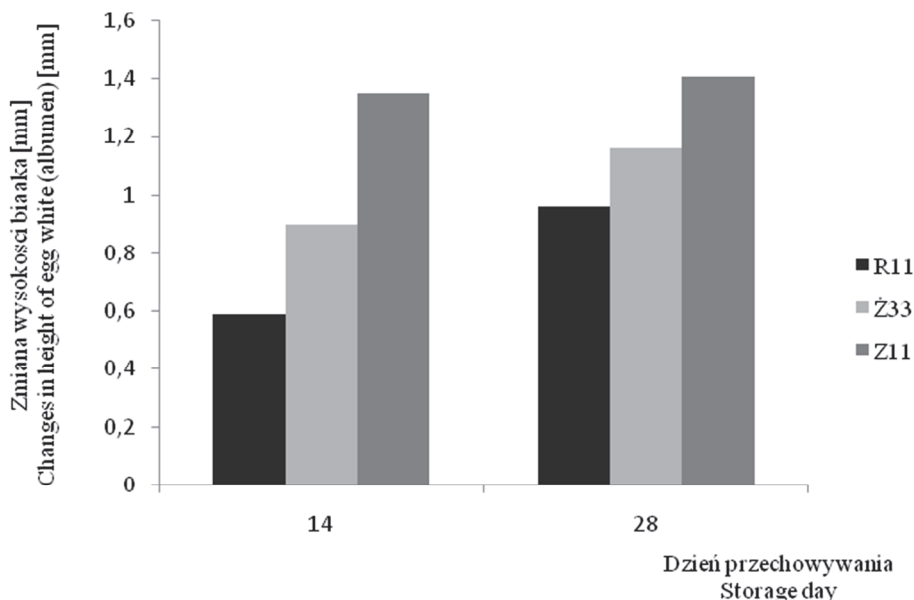
\bar{x} – wartość średnia / mean value; s – odchylenie standardowe / SD – standard deviation; n = 30

* różnice statystycznie istotne przy $p \leq 0,05$ / differences statistically significant at $p \leq 0,05$; NS – różnice statystycznie nieistotne przy $p > 0,05$ / differences statistically insignificant at $p > 0,05$.

Czas przechowywania miał istotny wpływ na wzrost wartości pH białka i żółtka, nie wykazano natomiast wpływu rasy na te cechy (tab. 2). W czasie przechowywania z białka jaja uwalnia się dwutlenek węgla pochodzący z dysocjacji kwasu węglowego, tworzącego układ buforowy z białkami. Następstwem tego procesu jest alkalizacja środowiska białka jaja, objawiająca się wzrostem pH [27]. Alkalizacja środowiska wewnątrz jaja powoduje z kolei zmiany struktury białka. Wielu autorów potwierdza związek między czasem przechowywania jaj a wzrostem pH białka [6, 21, 25, 27] zaobserwowany w badaniach własnych. Mikova i Bovskova [16] wykazały, że pH białka w znacznym stopniu wpływa na cechy funkcjonalne, w tym na objętość oraz stabilność piany.

Jakość białka jaj jest tym wyższa im większa jest jego wysokość. W badaniach własnych wykazano istotny wpływ rasy i czasu przechowywania na wysokość białka

gęstego. Podobne wyniki uzyskali Scott i Silversidest [23] oraz Silversidest i Budgell [25].



Rys. 1. Zmiany wysokości białka w jajach kur ras R11, Ż33 oraz Z11 w 14. i 28. dniu przechowywania
 Fig. 1. Changes in heights of egg white (albumen) in eggs from hens of R11, Z33, and Z11 breeds on 14th and 28th day of storage

Wraz z wydłużaniem czasu przechowywania w jajach od kur wszystkich badanych ras zmniejszała się wysokość białka gęstego (rys. 1). Największe różnice w tym zakresie stwierdzono w jajach od kur Z11, a najmniejsze w jajach od kur R11. Równocześnie obserwowano zwiększanie się masy żółtka. Roberts [19] twierdzi, że wraz z wiekiem błony otaczające żółtko ulegają osłabieniu, co prowadzi do przenikania wody i zwiększania masy żółtka.

W doświadczeniu wykazano, że w miarę wydłużania okresu przechowywania zmniejszeniu ulegała liczba jednostek Hougha. Podobne wyniki uzyskali Yilmaz i Bozkurt [28]. W badaniach własnych różnice w zakresie wartości jednostek JH między 1. a 28. dniem przechowywania były największe w jajach od kur Z11, a najmniejsze – w jajach od kur R11. Na podstawie wartości JH można jednak stwierdzić, że wszystkie jaja charakteryzowały się wysoką jakością białka nawet po 28 dniach przechowywania.

Konsumenci preferują jaja o intensywnej barwie żółtka. Jaja od kur wszystkich badanych ras w 28. dniu przechowywania charakteryzowały się bardziej intensywną barwą żółtka niż w 1. dniu po zniesieniu.

Tabela 2. Cechy treści jaj determinowane rasą kur i czasem przechowywania jaj

Table 2. Traits of egg contents as determined by breed of hens and storage period

Wyszczególnienie Itemization	Dzień Day	Z33	R11	Z11	Istotność różnic Significance of differences		
		$\bar{x} \pm s / SD$	$\bar{x} \pm s / SD$	$\bar{x} \pm s / SD$	czas time	rasa breed	czas \times rasa time \times breed
pH białka pH of egg white (albumen)	1.	8,16 \pm 0,31	8,08 \pm 0,44	8,19 \pm 0,30	*	NS	NS
	14.	9,05 \pm 0,04	9,05 \pm 0,04	9,00 \pm 0,07			
	28.	9,07 \pm 0,04	9,05 \pm 0,06	9,02 \pm 0,21			
pH żółtka pH of egg yolk	1.	6,18 \pm 0,15	6,30 \pm 0,34	6,02 \pm 0,20	*	*	*
	14.	6,36 \pm 0,12	6,34 \pm 0,12	6,36 \pm 0,10			
	28.	6,42 \pm 0,06	6,43 \pm 0,06	6,37 \pm 0,08			
Wysokość białka Height of egg white (albumen) [mm]	1.	7,53 \pm 1,22	8,37 \pm 1,28	7,47 \pm 1,23	*	*	NS
	14.	6,63 \pm 1,13	7,78 \pm 1,01	6,12 \pm 1,04			
	28.	6,37 \pm 1,22	7,41 \pm 1,02	6,06 \pm 1,28			
Masa żółtka Yolk weight [g]	1.	15,58 \pm 1,37	15,21 \pm 0,84	14,46 \pm 0,99	*	*	NS
	14.	15,92 \pm 1,72	15,73 \pm 1,29	15,02 \pm 1,45			
	28.	16,98 \pm 1,17	16,43 \pm 1,27	15,79 \pm 1,34			
Jednostki Hough'a Hough units [JH / HU]	1.	87,95 \pm 7,40	91,97 \pm 7,11	88,27 \pm 6,72	*	*	NS
	14.	82,66 \pm 7,41	91,73 \pm 4,80	80,80 \pm 7,27			
	28.	81,12 \pm 7,60	87,26 \pm 5,74	80,21 \pm 8,34			
Barwa żółtka Colour of egg yolk	1.	7,08 \pm 0,86	7,48 \pm 0,96	6,96 \pm 0,93	*	*	NS
	14.	6,80 \pm 0,91	7,38 \pm 0,71	7,24 \pm 0,93			
	28.	7,52 \pm 0,96	7,96 \pm 1,02	7,44 \pm 0,92			

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

Nie wykazano istotnego wpływu rasy kur na żadną badaną cechę piany z białka jaj (tab. 3). Stwierdzono natomiast, że stabilność piany zmniejszała się wraz z wydłużaniem czasu przechowywania. Niszczenie struktury piany można tłumaczyć dysproporcjonowaniem pęcherzyków w czasie, gdyż ulegają one zmniejszaniu z powodu ruchów powietrza z wnętrza, gdzie panuje wyższe ciśnienie [1, 8, 14]. Kolejnym zjawiskiem osłabiającym strukturę piany jest drenaż. Spływając z pęcherzyków powietrza, woda usuwa proteiny z granic międzyfazowych, a film staje się zbyt cienki by utrzymać pęcherzyk. Oprócz wieku niosek stabilność piany zależy od czasu i warunków przechowywania jaj, pH treści jaja oraz obecności w białku lipidów żółtka [11]. Foegeding i wsp. [10] twierdzą, że stabilność piany determinuje szybkość wysychania filmu, jego pęknięcie oraz nasilenie się zjawisk drenażu i dysproporcji w układzie międzyfazowym. Hammershøj i Qvist [11] wykazali, że białko rzadkie w zasadniczym stopniu wpływa na stabilność otrzymanej piany przez ograniczanie szybkości drenażu.

Tabela 3. Cechy funkcjonalne jaj determinowane rasą kur i czasem przechowywania jaj
 Table 3. Functional properties of eggs as determined by breed of hens and storage period

Wyszczególnienie Itemization	Dzień Day	Ż33	R11	Z11	Istotność różnic Significance of differences		
		$\bar{x} \pm s / SD$	$\bar{x} \pm s / SD$	$\bar{x} \pm s / SD$	czas time	rasa breed	czas \times rasa time \times breed
Pienistość Foaminess [%]	1.	516,00 \pm 93,43	467,50 \pm 15,61	478,57 \pm 30,56	NS	NS	*
	14.	445,83 \pm 10,96	438,33 \pm 20,55	472,50 \pm 22,31			
	28.	445,83 \pm 20,90	437,86 \pm 18,68	455,00 \pm 18,54			
Wyciek Drainage [mm]	1.	4,91 \pm 2,87	5,12 \pm 3,07	5,28 \pm 3,16	*	NS	*
	14.	14,00 \pm 2,44	7,55 \pm 3,59	13,22 \pm 2,01			
	28.	10,75 \pm 5,19	11,60 \pm 3,66	11,90 \pm 2,49			
Stabilność piany Foam stability [%]	1.	99,05 \pm 0,54	98,81 \pm 3,07	98,84 \pm 0,62	*	NS	*
	14.	98,86 \pm 0,52	98,28 \pm 3,59	98,35 \pm 0,47			
	28.	97,59 \pm 1,10	97,35 \pm 3,66	97,20 \pm 0,34			
Indeks piany Foaming index	1.	4,18 \pm 0,89	3,69 \pm 0,14	3,57 \pm 0,17	*	NS	*
	14.	3,40 \pm 0,11	3,39 \pm 0,18	3,68 \pm 0,20			
	28.	3,42 \pm 0,02	3,34 \pm 0,19	3,78 \pm 0,30			
Gęstość piany Specific density	1.	186,85 \pm 27,31	207,60 \pm 6,65	209,53 \pm 9,91	NS	NS	*
	14.	211,80 \pm 5,30	219,03 \pm 12,03	203,16 \pm 9,37			
	28.	214,87 \pm 8,99	219,00 \pm 7,72	197,79 \pm 6,75			

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

Wnioski

1. Użytkowanie kur rodzimych ras: Zielononózki kuropatwianej (Z11) i Żółtonózki kuropatwianej (Ż33) oraz rasy karmazyn (R11) w chowie wybiegowym może sprzyjać uzyskiwaniu jaj spożywczych o dobrej jakości. Ten sposób użytkowania może być skuteczną formą ochrony ras kur zagrożonych wyginięciem.
2. Wydłużanie czasu przechowywania jaj od kur Z11, Ż33 oraz R11 z chowu wybiegowego wpłynęło na zmiany parametrów ich jakości, tj. zmniejszenie masy jaj, zwiększenie masy żółtka, zmniejszenie wysokości białka oraz wartości jednostek Hougha a także alkalizację białka i żółtka jaj.
3. W 28. dniu przechowywania w chłodni o temp. 8 °C jaja od kur badanych ras charakteryzowały się dobrymi parametrami jakości i korzystnymi cechami funkcjonalnymi, co wskazuje na możliwość ich gromadzenia i okresowego przechowywania.

Literatura

- [1] Alleoni A., Antunes A.: Albumen foam stability and s-ovoalbumin contents in eggs coated with whey protein concentrate. *Rev. Bras. Cienc. Avic.*, 2004, **6**, 105-110.
- [2] Augustyńska-Prejsnar A., Ormian M., Sokołowicz Z.: *Technologia drobiu i jaj. Przewodnik do ćwiczeń.* Wyd. Uniwersytetu Rzeszowskiego, Rzeszów 2014.
- [3] Bain M., MacLeod N., Thomson R., Hancock J.: Microcras in eggs. *Poultry Sci.*, 2006, **85**, 2001-2008.
- [4] Batkowska J., Brodacki A., Knaga S.: Quality of laying hen eggs during storage depending on egg weight and type of cage system (conventional vs. furnished cages). *Ann. Anim. Sci.*, 2014, **3**, 707-719.
- [5] Biesiada-Drzazga B., Janocha A.: Wpływ pochodzenia i systemu utrzymania kur na jakość jaj spożywczych. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2009, **64 (3)**, 67-74.
- [6] Calik J.: Zmiany cech jakościowych jaj pochodzących od kur nieśnych Żółtonózka kuropatwana (Z33) w zależności od warunków ich przechowywania. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2013, **87 (2)**, 73-79
- [7] Caner C.: The effect of edible eggshell coatings on egg quality and consumer perception. *J. Sci. Food Agric.*, 2005, **85**, 1897-1902.
- [8] Davis J., Foegeding E.: Foaming and interfacial properties of polymerized whey protein isolate. *J. Food Sci.*, 2004, **69**, 404-410.
- [9] Dudek M., Rabsztyn A.: Egg quality of dual-purpose hens intended for small-scale farming. *Acta Sci. Pol. Zootech.*, 2011, **10 (1)**, 3-12.
- [10] Foegeding E., Luck P., Davis J.: Factors determining the physical properties of protein foams. *Food Hydrocoll.*, 2006, **20**, 284-292.
- [11] Hammershøj M., Qvist K.: Importance of hen age and egg storage time for egg albumen foaming. *Lebensm. Wiss. Technol.*, 2001, **34**, 118-120.
- [12] Krawczyk J.: Effect of layer age and egg production level on changes in quality traits of eggs from hens of conservation breeds and commercial hybrids. *Ann. Anim. Sci.*, 2009, **9 (2)**, 185-193.
- [13] Ledvinka Z., Zita L., Klesalova L.: Egg quality and some factors influencing it: A review. *Sci. Agric. Bohem.*, 2012, **43 (1)**, 46-52.
- [14] Lomakina K., Mikova K.: A study of the factors affecting the foaming properties of egg white – a review. *Czech J. Food Sci.*, 2006, **24 (3)**, 110-118.
- [15] Luszniewicz A. Słaby T.: *Statystyka z pakietem komputerowym STATISTIKA pl.* Wyd. C. H. Beck, Warszawa 2008.
- [16] Mikova K., Bovskova H.: Optimization of egg white foam forming. *World Poultry Science Association, Proc. of the 13th Eur. Symp. on the Quality of Eggs and Egg Products*, Turku, Finland, 2009, **21-25**, pp. 1-10.
- [17] Monira K., Salahuddin M., Miah G.: Effect of breed and holding period on egg quality characteristics of chicken. *Int. J. Poult. Sci.*, 2003, **4 (2)**, 261-263.
- [18] Odabasi A., Miles R., Balaban M., Portier K.: Changes in brown eggshell color as the hen ages. *Poultry Sci.*, 2007, **86**, 356-363.
- [19] Roberts J.: Factors affecting egg international quality and egg shell quality in laying hens. *J. Poultry Sci.*, 2004, **41**, 161-177
- [20] Rozporządzenie Komisji (WE) nr 589/2008 z dnia 23 czerwca 2008 r. ustanawiające szczegółowe zasady wykonywania rozporządzenia Rady (WE) nr 1234/2007 w sprawie norm handlowych w odniesieniu do jaj.
- [21] Rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady (UE) nr 1308/2013 z dnia 17 grudnia 2013 r. w sprawie norm handlowych w odniesieniu do jaj.
- [22] Samli H., Agha A., Senkoğlu N.: Effects of storage time and temperature on egg quality in old laying hens. *J. Appl. Poult. Res.*, 2005, **14**, 548-553.
- [23] Scott T., Silversides F.: Effect of storage and layer age on quality of eggs from two lines of hens. *Poultry Sci.*, 2001, **80**, 1240-1245.


- [24] Sheikh H., Pasha I., Katiya A.: Factors affecting whipping ability of fresh and stale egg. *Pak. J. Food Sci.*, 2009, **19**, 1-6.
- [25] Silversides F., Budgell K.: The relationships among measures of egg albumen height, pH and whipping volume. *Poultry Sci.*, 2004, **83**, 1619-1623.
- [26] Silversides F., Scott T.: Effect of storage and layer age on quality of eggs from two lines of hens. *Poultry Sci.*, 2001, **80**, 1240-1245.
- [27] Śmiechowska M., Podgórnjak P.: Badanie i ocena wybranych parametrów jakościowych ekologicznych jaj kurzych dostępnych na rynku Trójmiasta. *J. Res. Appl. Agric. Eng.*, 2013, **58** (4), 186-189.
- [28] Yilmaz A., Bozkurt Z.: Effects of hen age, storage period and stretch film packaging on international and external quality traits of table eggs. *Lucrări științifice Zootehnie și Biotehnologii*, 2009, **42** (2), 462-469.

EFFECT OF STORAGE TIME ON QUALITY AND FUNCTIONAL PROPERTIES OF EGGS FROM HENS INCLUDED IN CONSERVATION PROGRAMME IN POLAND

S u m m a r y

The objective of the research study was to assess the effect of storage time on selected quality parameters of eggshell as well as on physical characteristics and functional properties of content of eggs from the following native breeds of hens: Greenleg Partridge (Z11) and Yellowleg Partridge (Ż33), both included in the conservation programme of genetic resources in Poland, and from the American Rhode Island Red hen breed (R11). In the 33rd week of life of the hens studied, 90 eggs were taken from them with the purpose to assess them qualitatively on the 1st, 14th, and 28th day of egg storage.

Immediately after the eggs were laid, they were characterized, regardless of the chicken breed, by a good quality and beneficial functional properties, i.e. by vivid colour of egg yolk (6.96 – 7.48), high value of egg white height (7.47 ÷ 8.37 mm), and high values of Hough units (87.95 ÷ 91.97). As the storage time was extended, changes occurred in the eggs that were connected with the egg aging processes, i.e.: weight loss of eggs, increase in egg yolk weight, decrease in the height of egg white along with the decrease in the Hough unit values, and alkalization of egg whites and yolks. The storage time did not cause the foaminess of egg white to decrease. No effect was found of the storage time on the density, weight, and strength of the eggshell. However, the shell thickness of eggs from Z11 and Ż33 hens slightly decreased as the storage time lengthened. Owing to the low dynamics of aging-processes related processes, the eggs from hens of all the breeds analyzed were characterized by good quality parameters (colour of egg yolk: 7.44 – 7.96; height of egg white: 6.06 – 7.41; Hough units: 80.21 – 87.26) and beneficial functional properties; this fact proves that it is possible to collect eggs from hens of the Polish native breeds and to store them for certain periods of time.

Key words: native breeds of hens, quality of eggs, functional properties of eggs, egg storage period 

KAROL MIŃKOWSKI, ARTUR KALINOWSKI, ANNA KRUPSKA

WPLYW WSTĘPNEJ OBRÓBKI ENZYMATYCZNEJ NASION NA PARAMETRY PROCESU TŁOCZENIA I CECHY JAKOŚCIOWE OLEJU LNIANEGO

Streszczenie

Celem pracy było określenie wpływu wstępnej obróbki nasion za pomocą dodanych enzymów na parametry procesu tłoczenia w prasie ślimakowej i cechy jakościowe oleju lnianego. Materiałem wyjściowym do badań były nasiona wysokolinolenowej odmiany lnu 'Bukoz' (IWNiRZ Poznań). Obróbce enzymatycznej poddano rozdrobnione nasiona w postaci płatków. Płatki o wilgotności 20 % poddawano obróbce enzymatycznej w temp. 50 °C przez 3 h, następnie suszono je w suszarce owiewowej. Olej tłoczono za pomocą prasy ślimakowej UNO-SE Farnet. Do badań stosowano enzymy: celulazę i proteazę w postaci preparatów handlowych Celluclast 1.5 L oraz Alcalase 2.4 L, a także ich mieszaniny w proporcji 50 : 50 i 10 : 90, w dawkach [% smb]: 0,125, 0,25 i 0,50.

Obróbka enzymatyczna nasion lnu przed tłoczeniem na zimno przyczyniła się do wzrostu przelotowości prasy ślimakowej i wydajności tłoczenia oraz do obniżenia temperatury wytłoku. Największą wydajność tłoczenia (79,8 %) uzyskano po zastosowaniu mieszaniny enzymów celulazy i proteazy w proporcji 10 : 90 i w dawce 0,25 % smb. Obróbka enzymatyczna powodowała nieznaczny wzrost zawartości pierwotnych i wtórnych produktów oksydacji a także liczby kwasowej oleju. Proces przyczynił się również do niewielkiego wzrostu zawartości naturalnych przeciwutleniaczy w oleju - związków fenolowych i tokoferoli.

Słowa kluczowe: nasiona lnu, obróbka enzymatyczna, celulaza, proteaza, tłoczenie na zimno, olej lniany

Wprowadzenie

Olej lniany bogaty w PUFA *n-3* stanowi ważne uzupełnienie diety człowieka ze względu na swe cenne walory żywieniowe i zdrowotne. Pozyskuje się go zazwyczaj metodą tłoczenia na zimno z całych nasion. Jest to metoda mało efektywna, charakteryzującą się niską wydajnością. Zastosowanie podwójnego tłoczenia zwiększa uzysk

Dr hab. K. Mińkowski, prof. IBPRS, mgr inż. A. Kalinowski, mgr inż. A. Krupska, Instytut Biotechnologii Przemysłu Rolno-Spożywczego, Oddział Technologii Mięsa i Tłuszczu, ul. Jubilerska 4, 04-190 Warszawa. Kontakt: karol.minkowski@ibprs.pl

oleju, ale jest on niższej jakości [6]. Mechaniczne zniszczenie struktury tkankowej nasion i częściowe otwarcie komórek nasiennych przed tłoczeniem w sposób istotny ułatwia wydobycie oleju z surowca [12, 14]. Dalsze otwarcie komórek można uzyskać poprzez enzymatyczną hydrolizę składników miazgi nasiennej, możliwą do przeprowadzenia przed każdym ze sposobów wydobywania oleju [23, 25]. Wprowadzenie enzymów degradujących ściany komórkowe przez konwersję celulozy do glukozy, celobiozy i wyższych polimerów oraz rozszczepiających kompleks cząsteczek lipoproteinowych do prostych lipidów i cząsteczek białek ułatwia wydobywanie oleju [23]. Wyniki badań prowadzonych na różnych surowcach (soja, bawełna, len, ogórecznik, rzepak, oliwka) wskazują, że obróbka enzymatyczna nasion przed wydobyciem oleju podwyższa jego wydajność [2, 8, 9, 28, 31, 32]. Jakość pozyskiwanego oleju w największym stopniu zależy od jakości nasion, sposobu i parametrów ich obróbki wstępnej oraz metody wydobywania [14]. Olej pozyskany z surowca poddanego obróbce enzymatycznej i hydrotermicznej, a następnie ekstrakcji wodnej charakteryzuje się z reguły mniejszą zawartością wolnych kwasów tłuszczowych, nadtlenków, liczbą zmydlenia oraz większą zawartością tokoferoli i związków fenolowych w porównaniu z próbą kontrolną oraz z olejem pozyskanym w wyniku ekstrakcji rozpuszczalnikami organicznymi [36]. Tłoczony na zimno olej z nasion rzepaku poddanych obróbce enzymatycznej i hydrotermicznej zawiera więcej związków fenolowych i ma wyższą pojemność antyoksydacyjną [30], z nasion ogórecznika lekarskiego zawiera więcej γ -tokoferolu [29], a z nasion bawełny – α -tokoferolu [8]. Procesy enzymatyczne są naturalnymi, przyjaznymi dla środowiska mechanizmami, przebiegającymi w łagodnych warunkach, charakteryzującymi się dużą specyficnością, natomiast ich wadą jest wrażliwość enzymów na ogrzewanie, pH środowiska i zanieczyszczenia. Stosowanie procesów enzymatycznych wiąże się z wyższymi kosztami w porównaniu z procesami konwencjonalnymi [23, 36]. Dodatek obcych enzymów do materiału nasiennego poprzedzony jest zwykle termiczną inaktywacją rodzimych enzymów [2] lub obróbką termiczną prowadzoną bezpośrednio przed tłoczeniem w temperaturze ok. 100 °C [30]. Pozyskany w ten sposób olej nie może być jednak określany jako tłoczony na zimno. Jest to możliwe, kiedy obróbka enzymatyczna i hydrotermiczna nasion i tłoczenie oleju prowadzone są w łagodnych warunkach termicznych, gdy temperatura nie przekracza 50 °C [4]. Wykazano, że płatkowanie nasion lnu i ich łagodna obróbka hydrotermiczna, bez dodatku enzymów wpływają na znaczną poprawę parametrów tłoczenia oraz cechy sensoryczne oleju i tylko w niewielkim stopniu przyczyniają się do zmniejszenia jego stabilności [13]. Dało to podstawę do podjęcia badań nad wykorzystaniem enzymów do dalszego zwiększenia wydajności oleju lnianego tłoczonego na zimno.

Celem pracy było określenie wpływu wstępnej obróbki enzymatycznej nasion na parametry procesu tłoczenia w prasie ślimakowej i cechy jakościowe oleju lnianego.

Material i metody badań

Materiałem wyjściowym były nasiona lnu polskiej odmiany „Bukoz” (Instytut Włókien Naturalnych i Roślin Zielarskich, Poznań), pochodzące z upraw ekologicznych, ze zbiorów w roku 2012. Nasiona charakteryzowały się typową wilgotnością (6,0 %) i zawartością tłuszczu (41,9 %) i były praktycznie pozbawione zanieczyszczeń. Bezpośrednim materiałem do badań były płatki otrzymane z nasion poddanych wstępnemu nawilżeniu za pomocą wody destylowanej do wilgotności 8,5 %, starannemu ręcznemu wymieszaniu i przetrzymaniu w szczelnie zamkniętych torbach polietylenowych w temp. 8 °C (w chłodziarce) przez 5 dni, w celu wyrównania wilgotności w całej masie materiału. Do płatkowania wykorzystano młyn laboratoryjny typu Gosmet według Sadkiewicza (RSZZBM Gosmet, Bydgoszcz) o wymiennych walcach, wyposażony według zamówienia w parę gładkich walców, z ustawioną fabrycznie stałą szczeliną pomiędzy nimi o wielkości 0,2 mm, poruszających się z prędkością obrotową 450 obr./min. W badaniach stosowano enzymy: celulazę i proteazę w postaci preparatów handlowych odpowiednio: Celluclast 1.5 L, o aktywności celulolitycznej 1500 NCU/g, z *Trichoderma reesei* ATTC 26921 oraz Alcalase 2.4 L z *Bacillus licheniformis* o aktywności proteolitycznej $\geq 2,4$ U/g, a także ich mieszaniny w proporcji 50 : 50 oraz 10 : 90. Oba preparaty, dopuszczone do stosowania w żywności, pochodziły z firmy Novozymes A/S (Dania). Próbkę płatków o wilgotności 20 % uzyskiwano w wyniku ich nawilżenia za pomocą wody destylowanej, starannego ręcznego wymieszania i przechowania w szczelnie zamkniętych torbach polietylenowych przez 2 dni w temp. 8 °C (w chłodziarce), w celu wyrównania wilgotności w całej masie materiału. Enzymy dodawano poprzez ich rozpylenie na powierzchni płatków za pomocą atomizera i staranne ostrożne mieszanie. Inkubację płatków prowadzono w cieplarni laboratoryjnej Incubat 801 (J P Selecta S.A., Hiszpania) przez 3 h w temp. 50 °C. Płatki po inkubacji podsuszano w 4-półkowej suszarce owiewowej, typ DA 750 (Rommelsbacher, Niemcy). Temperatura powietrza suszącego wynosiła 60 °C, temperatura wewnętrzna złoża płatków na półce, mierzona za pomocą bezkontaktowego termometru laserowego Ray Temp 3 (ETI Ltd., Wielka Brytania), wynosiła 44,5 °C, a przybliżony czas podsuszania do wilgotności 8,5 % to ok. 50 min. Wilgotność końcową określano metodą wagową. Przy ustalaniu powyższych parametrów brano pod uwagę dobrą efektywność tłoczenia oleju i możliwie najkrótszy czas podsuszania. Płatki poddawano następnie tłoczeniu. Próbkę kontrolną wykonywano w identycznych warunkach jak obróbkę enzymatyczną, a zamiast preparatu enzymatycznego dodawano odpowiednią ilość wody.

Oleje tłoczono w prasie ślimakowej o nominalnej przelotowości 9 ÷ 12 kg/h, typ UNO-SE (Farmet a.s, Czechy). Prasa była wyposażona w dyszę wylotową o średnicy 8 mm. Temperaturę płatków, oleju oraz wytloku mierzono za pomocą bezkontaktowego termometru laserowego Ray Temp 3. Oleje oczyszczano przez naturalną sedyment-

tację w ciągu 3 dni, a po ich dekantacji analizowano próbki w ciągu 4 dni. Zawartość zanieczyszczeń nierozpuszczalnych oznaczano w oleju otrzymanym bezpośrednio po tłoczeniu. Doświadczenie przeprowadzono w dwóch seriach, a oznaczenia wykonano w trzech powtórzeniach ($n = 2 \times 3$). W poszczególnych wariantach doświadczeń określano przelotowość prasy oraz wydajność tłoczenia. Przelotowość prasy określano na podstawie pomiaru czasu tłoczenia surowca o masie 1 kg. Wydajność tłoczenia (W) obliczano na podstawie masy uzyskanego oleju, masy próbki nasion/płatków i procentowej zawartości oleju w nasionach (1).

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

W olejach oznaczano: barwę ogółem metodą spektrofotometryczną przy długości fali 442 nm i 668 nm [20], zawartość zanieczyszczeń nierozpuszczalnych w heksanie [17], zawartość wody i substancji lotnych [16], liczbę kwasową [15], liczbę nadtlenkową [18], liczbę anizydynową [19], zawartość związków fenolowych ogółem [27] oraz zawartość tokoferoli [21]. Wskaźnik oksydacji Totox wyliczano z równania (2):

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

gdzie: LOO – liczba nadtlenkowa wyrażona w milirównoważnikach tlenu aktywnego/kg; LA – liczba anizydynowa.

Oznaczanie zawartości związków fenolowych ogółem w olejach wykonywano metodą z wykorzystaniem odczynnika Folina-Ciocalteu'a [27]. Olej (3 g) rozpuszczano w 15 ml heksanu i ekstrahowano związki fenolowe za pomocą metanolu (3×5 ml), przez wytrząsanie w ciągu 2 min przy każdej ekstrakcji. Połączone ekstrakty zostawiano na 16 h. Po rozdzieleniu frakcję metanolową przemywano 25 ml heksanu w celu usunięcia resztek oleju. Próbki metanolowych ekstraktów (0,2 ml) przenoszono do kolb o pojemności 10 ml, do których dodawano 0,5 ml odczynnika Folina-Ciocalteu'a. Całość wytrząsano i zostawiano na 3 min. Następnie dodawano 1 ml nasyconego roztworu węgla sodu i uzupełniano wodą destylowaną do 10 ml. Po 1 h mierzono absorbancję roztworu przy długości fali $\lambda = 725$ nm w odniesieniu do próby kontrolnej, z zastosowaniem spektrofotometru U-2900 (Hitachi High-Tech, Japonia). Całkowitą zawartość związków fenolowych określano na podstawie krzywej kalibracyjnej, jako ekwiwalent kwasu ferulowego (FAE), dominującego wśród kwasów fenolowych nasion lnu [5].

Oznaczanie zawartości tokoferoli ($-\alpha$ T, $-\gamma$ T i $-\delta$ T) wykonywano metodą HPLC (HP 1100 z detektorem UV) według PN-EN 12822:2002 [21]. Do rozdzielania stosowano kolumnę Supelcosil LC-18 (25 cm \times 4,6 mm, 5 μ m). Rozdział prowadzono w temp. 30 °C, przy przepływie fazy ruchomej (metanol : woda, 97 : 3) 1 ml/min. Oznaczano homologię $-\alpha$, $-\gamma$ i $-\delta$ przy długości fali $\lambda = 292$ nm.

Oleje poddawano także analizie sensorycznej. Oceniano ich smakowitość ogółem w skali 5-punktowej oraz w sposób opisowy dominującą nutę smakową [10].

Uzyskane wyniki poddano analizie statystycznej za pomocą programu Statgraphic Plus 5.1. Do oceny istotności różnic pomiędzy wartościami średnimi zastosowano jednoczynnikową analizę wariancji (ANOVA) oraz test Duncana (przy $p \leq 0,05$).

Wyniki i dyskusja

W tab. 1. i 2. przedstawiono parametry tłoczenia płatków poddanych obróbce enzymatycznej za pomocą celulazy oraz proteazy. W próbie kontrolnej płatki poddawano tylko obróbce hydrotermicznej, w warunkach identycznych jak przy zastosowaniu enzymów. Obróbka enzymatyczna płatków przyczyniła się do korzystnych zmian w procesie tłoczenia oleju. Nastąpił wzrost przelotowości prasy i wydajności tłoczenia, a także obniżenie temperatury wytloku. Znikomy był jej wpływ na temperaturę oleju. Przelotowość prasy była istotnie ($p \leq 0,05$) zależna od zastosowanej dawki preparatu.

Tabela 1. Wyniki parametrów procesu tłoczenia oleju lnianego, determinowane wpływem działania celulazy

Table 1. Parameter results of linseed oil pressing process as determined by the effect of cellulase activity

Wyszczególnienie Specification	Dawka / Dose [% smb / % of ddm]			
	Próba kontrolna Control sample	0,125	0,25	0,50
	$\bar{x} \pm s / SD$	$\bar{x} \pm s / SD$	$\bar{x} \pm s / SD$	$\bar{x} \pm s / SD$
Przelotowość prasy Capacity of press [kg/h]	13,5 ^a ± 0,1	14,8 ^b ± 0,1	14,1 ^c ± 0,1	14,7 ^b ± 0,1
Wydajność tłoczenia Yield of pressing [%]	74,8 ^a ± 1,1	75,6 ^b ± 1,2	77,5 ^c ± 1,2	77,0 ^d ± 1,3
Temperatura oleju Temperature of oil [°C]	47 ^a ± 1	46 ^a ± 1	48 ^b ± 1	48 ^b ± 1
Temperatura wytloku Temperature of cake [°C]	68 ^a ± 1	65 ^b ± 1	66 ^b ± 1	64 ^c ± 1

Objaśnienia / Explanatory notes:

smb – sucha masa beztłuszczowa / fat-free dry matter;

\bar{x} – wartość średnia / mean value; s / SD – odchylenie standardowe / standard deviation; n = 6

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

Tabela 2. Wyniki parametrów procesu tłoczenia oleju lnianego, determinowane wpływem działania proteazy

Table 2. Parameter results of linseed oil pressing process as determined by the effect of protease activity

Wyszczególnienie Specification	Dawka / Dose [% smb / % of ddm]			
	Próba kontrolna Control sample	0,125	0,25	0,50
	$\bar{x} \pm s / SD$	$\bar{x} \pm s / SD$	$\bar{x} \pm s / SD$	$\bar{x} \pm s / SD$
Przelotowość prasy Capacity of press [kg/h]	13,5 ^a ± 0,1	14,7 ^b ± 0,2	13,9 ^c ± 0,2	14,1 ^c ± 0,1
Wydajność tłoczenia Yield of pressing [%]	74,8 ^a ± 1,1	76,9 ^b ± 1,7	79,4 ^c ± 1,8	78,5 ^d ± 2,0
Temperatura oleju Temperature of oil [°C]	47 ^a ± 1	48 ^a ± 1	47 ^a ± 1	47 ^a ± 1
Temperatura wytloku Temperature of cake [°C]	68 ^a ± 1	67 ^a ± 1	66 ^b ± 1	66 ^b ± 1

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

W przypadku obu enzymów największą przelotowość prasy uzyskano po zastosowaniu dawki 0,125 % smb (odpowiednio: 14,8 i 14,1 kg/h). Równocześnie jednak wydajność tłoczenia była najmniejsza. Podwajając dawkę enzymu w obu przypadkach uzyskano najwyższą wydajność tłoczenia (77,5 i 79,4 %), ale przy nieznacznie mniejszej przelotowości prasy. Z kolei 4-krotny wzrost dawki enzymów nie przyczynił się do dalszej poprawy parametrów tłoczenia. Przy identycznych dawkach zastosowanie proteazy pozwala uzyskać wyższą wydajność tłoczenia niż przy użyciu celulazy. Korzystniejsze działanie proteazy w porównaniu z celulazą obserwowali także Lamsal i wsp. [2] oraz Bargal i wsp. [7]. Jak podają Rosenthal i wsp. [23], w wyniku działania enzymów proteolitycznych następuje zniszczenie białkowej błony oleozynowej i uwolnienie oleju z oleosomów. Skuteczność działania celulazy mogła być częściowo ograniczona z powodu wcześniejszego dokładnego mechanicznego zniszczenia struktur celulozowych i otwarcia komórek liścieni w procesie płatkowania. Maksymalny wzrost wydajności tłoczenia w przypadku celulazy wyniósł 3,6 %, a proteazy – 6,1 %, przy równocześnie niewielkim wzroście przelotowości prasy. Sumaryczny efekt osiągnięty w wyniku płatkowania nasion i ich obróbki enzymatycznej i hydrotermicznej to wzrost wydajności tłoczenia: w przypadku celulazy o 7,6 %, a proteazy – o 10,3 % oraz wzrost przelotowości prasy o 65 % w odniesieniu do parametrów uzyskanych podczas tłoczenia oleju z całych nasion [13]. Działanie celulazy oraz proteazy wywierało znikomy wpływ na temperaturę oleju, która w każdym przypadku była niższa niż 50 °C (tab. 1 i 2). Oznacza to, że pozyskiwany olej można uznać za tłoczony na zimno [35]. Temperatura wytloku przy zastosowaniu enzymów była istotnie ($p \leq 0,05$) niższa,

o $1 \div 3$ °C, od temperatury próby kontrolnej. Wynika to prawdopodobnie z degradacyjnego działania enzymów na masę nasienną i z jej mniejszych oporów tarcia w prasie ślimakowej [23]. Niższa temperatura wytloku pozwala na lepsze zachowanie wartości biologicznej zawartych w nim białek [14]. Temperatura płatków po obróbce enzymatycznej, bezpośrednio przed tłoczeniem, w każdym z wariantów wynosiła średnio 32 ± 1 °C i nie odbiegała od temperatury próby kontrolnej. Oprócz pojedynczych enzymów stosowano także mieszaninę celulazy i proteazy w proporcjach 10 : 90 i 50 : 50 w dawce 0,25 % smb. Uzyskane wyniki przedstawiono w tab. 3.

Tabela 3. Wyniki parametrów procesu tłoczenia oleju lnianego, determinowane wpływem działania mieszaniny celulazy i proteazy

Table 3. Parameter results of linseed oil pressing process as determined by the effect of cellulose-protease mixture activity

Wyszczególnienie Specification	Celulaza / Proteaza Cellulase / Protease		
	Próba kontrolna Control sample	Mix. 10 : 90	Mix. 50 : 50
	$\bar{x} \pm s / SD$	$\bar{x} \pm s / SD$	$\bar{x} \pm s / SD$
Przelotowość prasy Capacity of press [kg/h]	$13,5^a \pm 0,1$	$14,3^c \pm 0,1$	$13,9^b \pm 0,1$
Wydajność tłoczenia Yield of pressing [%]	$74,8^a \pm 1,1$	$79,8^c \pm 1,1$	$78,6^b \pm 1,1$
Temperatura oleju Temperature of oil [°C]	$47^a \pm 1$	$47^a \pm 1$	$47^a \pm 1$
Temperatura wytloku Temperature of cake [°C]	$68^a \pm 1$	$66^b \pm 1$	$66^b \pm 1$

Objaśnienia / Explanatory notes:

\bar{x} – wartość średnia / mean value; s / SD – odchylenie standardowe / standard deviation; n = 6

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

Istotnie ($p \leq 0,05$) większą przelotowość prasy oraz wydajność tłoczenia uzyskano po zastosowaniu mieszaniny celulazy i proteazy w proporcji 10 : 90. Wydajność tłoczenia (79,8 %) w tym wariantcie była największa w prowadzonych badaniach. Zastosowanie mieszaniny enzymów w proporcji 50 : 50 spowodowało niewielkie obniżenie wyników przelotowości prasy i wydajności tłoczenia. Na korzystny synergizm enzymów celulolitycznych i proteolitycznych zwracają uwagę Rosenthal i wsp. [23], a także Yusoff i wsp. [36]. Temperatura pozyskiwanych olejów, jak i wytloków (tab. 3) nie odbiegały od tych, jakie występowały przy stosowaniu pojedynczych enzymów (tab. 1 i 2). W tab. 4. przedstawiono wyniki badań wybranych cech jakościowych olejów pozyskiwanych w poszczególnych wariantach doświadczeń.

Barwa ogólna, a także poszczególne jej składowe, to jest absorbancja przy $\lambda = 442$ nm, pochodząca od barwników karotenoidowych oraz absorbancja przy $\lambda = 670$ nm, pochodząca od barwników chlorofilowych, olejów po hydrolizie enzymatycznej nie różniły się istotnie ($p \leq 0,05$) od analogicznych wskaźników próby kontrolnej. Barwniki karotenoidowe są uznawane za związki najbardziej skuteczne w hamowaniu utleniania fotosensybilizowanego i ich ubytek jest niekorzystny, natomiast barwniki chlorofilowe są w olejach niepożądane. Barwniki chlorofilowe pełnią funkcję fotosensybilizatorów, które reagując bezpośrednio z tlenem tripletowym, generują wysoce reaktywny tlen singletowy. Inicjują w ten sposób proces autooksydacji lipidów oraz, rzadziej, będąc w stanie wzbudzonym, biorą udział w utlenianiu lipidów tlenem tripletowym [24]. Olej lniany tłoczony na zimno charakteryzuje się ciemną barwą [1], która ulega rozjaśnieniu w wyniku niskotemperaturowej hydrotermicznej obróbki płatków [12]. Dodatek enzymów nie spowodował istotnych zmian barwy ogółem i ich składowych. Zawartość zanieczyszczeń nierozpuszczalnych w wyniku działania celulazy wzrosła w sposób istotny ($p \leq 0,05$) z 4,2 do 4,4 %. Działanie celulazy, enzymu degradującego ściany komórkowe, sprzyja powstawaniu frakcji drobnej [23], która przechodzi do oleju. Zastosowanie proteazy, z racji jej odmiennego działania polegającego na rozszczepieniu połączeń lipoproteinowych oraz hydrolizie białkowej błony oleozynowej oleosomów [23], nie spowodowało żadnych zmian tego parametru. Wzrost zawartości zanieczyszczeń o 0,1 % nastąpił w przypadku mieszaniny celulazy i proteazy w proporcji 50 : 50. Zastosowanie enzymów nie miało istotnego ($p \leq 0,05$) wpływu na zawartość wody i substancji lotnych. Duża zawartość wody w oleju jest niepożądana, a jej obecność przyczynia się przede wszystkim do hydrolizy triacylogliceroli [14]. W badanych olejach nie przekraczała ona 0,5 % i była mniejsza od podanej przez Choo i wsp. [3]. Hydroliza enzymatyczna spowodowała niewielkie, zależne od rodzaju zastosowanego enzymu, zmiany jakościowe oleju pod względem liczby kwasowej (LK), liczby nadtlenkowej (LOO) i anizydynowej (LA). Oleje charakteryzowały się średnim stopniem hydrolizy lipidów. LK wzrosła istotnie ($p \leq 0,05$) w przypadku celulazy z 2,11 do 2,20 mg KOH/g, a proteazy – do 2,18 mg KOH/g, przy dopuszczalnym dla olejów tłoczonych na zimno poziomie LK = 4 mg KOH/g [4]. Podobnie stwierdzono w przypadku hydrolizy enzymatycznej nasion rzepaku [30] i ogórecznika lekarskiego [28].

Zawartość pierwotnych produktów utlenienia określona za pomocą liczby nadtlenkowej wzrosła w przypadku stosowania celulazy o 6,8 %, z 1,48 do 1,58 meq O_2 /kg, a proteazy – o 5,4 %, do 1,56 meq O_2 /kg. Poziom LOO dopuszczalny dla olejów tłoczonych na zimno wynosi 15 meq O_2 /kg [4]. Zastosowanie enzymów nie miało istotnego ($p \leq 0,05$) wpływu na zawartość wtórnych produktów utlenienia, mierzonych za pomocą liczby anizydynowej. Przy stosowaniu mieszaniny enzymów wartości LK, LOO i LA lokowały się pomiędzy granicami wyznaczonymi przez działanie pojedyn-

czych enzymów. Oznaczenie LOO i LA umożliwiło wyliczenie wskaźnika Totox, który w sposób umowny wyraża ogólny stopień utlenienia olejów. Przy stosowaniu celulazy wynosił on 3,52, a proteazy – 3,47 jednostek. Były to wartości znacznie poniżej

Tabela 4. Jakość tłoczonego oleju lnianego, determinowana obróbką enzymatyczną nasion
Table 4. Quality of pressed linseed oil pressing as determined by the effect of seeds enzymatic treatment

Wyszczególnienie Specification	Rodzaj próby / Type of sample				
	Próba kontrolna Control sample	Celulaza Cellulase	Proteaza Protease	Celulaza / Proteaza Cellulase / Protease Mix 10 : 90	Celulaza / Proteaza Cellulase / Protease Mix 50 : 50
	$\bar{x} \pm s / SD$	$\bar{x} \pm s / SD$	$\bar{x} \pm s / SD$	$\bar{x} \pm s / SD$	$\bar{x} \pm s / SD$
Smakowitość ogólna General palatability [pkt / score]	4,6	4,6	4,7	4,6	4,6
Barwa ogólna / General colour [1000 × (A ₄₄₂ +A ₆₆₈) A ₄₄₂ A ₆₆₈	549 ^a 0,529 ^a 0,020 ^a	546 ^a 0,527 ^a 0,019 ^a	547 ^a 0,527 ^a 0,020 ^a	545 ^a 0,525 ^a 0,020 ^a	546 ^a 0,526 ^a 0,020 ^a
Zawartość zanieczyszczeń nierozpuszczalnych Content of insoluble impurities [%]	4,2 ^a ± 0,1	4,4 ^b ± 0,1	4,2 ^a ± 0,1	4,2 ^a ± 0,1	4,3 ^{ab} ± 0,1
Zawartość wody i substancji lotnych Content of water and volatile substances [%]	0,41 ^a ± 0,02	0,40 ^a ± 0,02	0,41 ^a ± 0,02	0,40 ^a ± 0,02	0,41 ^a ± 0,02
Liczba kwasowa / Acid value [mg KOH/1g]	2,11 ^a ± 0,05	2,20 ^b ± 0,04	2,18 ^c ± 0,05	2,17 ^c ± 0,05	2,18 ^c ± 0,05
Liczba nadtlenkowa / Peroxide value [meq. O ₂ /kg]	1,48 ^a ± 0,06	1,58 ^b ± 0,06	1,56 ^b ± 0,07	1,56 ^b ± 0,07	1,57 ^b ± 0,06
Liczba anizydynowa / Anisidine value [-]	0,35 ^a ± 0,05	0,36 ^a ± 0,05	0,35 ^a ± 0,05	0,36 ^a ± 0,05	0,36 ^a ± 0,04
Wskaźnik Totox / Totox index [-]	3,31 ^a ± 0,08	3,52 ^b ± 0,08	3,47 ^b ± 0,08	3,48 ^b ± 0,08	3,50 ^b ± 0,07
Zawartość związków fenolowych ogółem Total Content of phenolic compounds [mg/kg]	14,8 ^a ± 0,7	15,9 ^b ± 0,5	15,4 ^c ± 0,6	15,6 ^c ± 0,5	15,8 ^b ± 0,5
Zawartość tokoferoli ogółem Total content of tocopherols [mg/kg] w tym γ-tokoferol including γ-tocopherol [mg/kg]	495,2 ^a ± 18,6 478,2 ^a ± 18,9	512,1 ^b ± 17,9 493,2 ^b ± 18,4	522,4 ^c ± 18,8 509,6 ^c ± 20,4	518,1 ^d ± 18,4 505,7 ^d ± 19,9	517,4 ^d ± 16,5 506,1 ^d ± 17,3

Objaśnienia / Explanatory notes:

\bar{x} – wartość średnia / mean value; s / SD – odchylenie standardowe / standard deviation; n = 6 (3 × 2);
a - d – wartości średnie oznaczone różnymi literami w wierszach różnią się statystycznie istotnie (p ≤ 0,05) / mean values in rows and denoted by different letters differ statistically significantly (p ≤ 0.05).

granicznego poziomu 10 jednostek wyznaczającego dobrą jakość olejów jadalnych [35]. Obróbka enzymatyczna płatków przyczyniła się do wzrostu zawartości związków fenolowych ogółem w oleju o 7,4 %, z 14,8 do 15,9 mg/kg w przypadku celulazy i o 4,1 %, do 15,4 mg/kg, kiedy stosowano proteazę. Nasiona lnu zawierają szereg związków fenolowych, ale ich hydrofilowa natura sprawia, że zostają przede wszystkim w wytloku, natomiast w oleju są obecne tylko w nieznaczących ilościach [5]. Duży wzrost zawartości związków fenolowych obserwowano w oleju oliwkowym, po hydrolizie enzymatycznej pasty z owoców oliwki w procesie malaksacji [22, 32], a także w oleju rzepakowym po obróbce enzymatycznej nasion za pomocą enzymów celulolitycznych i pektolitycznych, a następnie ogrzewaniu w temp. 120 °C [30]. Przy porównywaniu wyników należy mieć na uwadze niespecyficzną powszechnie stosowaną metody oznaczania zawartości związków fenolowych ogółem z użyciem odczynnika Folina-Ciocolteu'a, gdyż może on reagować także z innymi składnikami wykazującymi właściwości redukujące, takimi jak: niektóre cukry, aminokwasy, białka czy produkty reakcji Maillarda [27]. Związki fenolowe pełnią funkcje naturalnych przeciwutleniaczy i wywierają znaczący wpływ na stabilność oksydacyjną i wartość żywieniową oleju [11]. Ich ilość w olejach tłoczonych na zimno może się znacznie wahać od 1 do 307 mg/100 g [3, 26]. Dodatek enzymów miał istotny ($p \leq 0,05$) wpływ na zawartość tokoferoli ogółem, a także α -tokoferolu w olejach. Zawartość tokoferoli ogółem wzrosła w wyniku działania celulazy o 3,4 %, a proteazy – o 5,6 %. O wzroście zawartości tokoferoli ogółem decydował przyrost zawartości α -tokoferolu, dominującego w oleju lnianym [5]. Dodatek mieszanin enzymów spowodował niewielki wzrost zawartości tokoferoli, a wartości mieściły się w przedziale wyznaczonym przez działanie pojedynczych enzymów. Niewielki wzrost zawartości tokoferoli obserwowano także w przypadku oleju ogórecznikowego [29] oraz rzepakowego [30]. Należy zaznaczyć, że zawartość tokoferoli w oleju lnianym może się znacznie wahać [1, 3].

Zastosowanie enzymów nie miało wpływu na smakowość oleju, a jej oceny punktowe były niemal identyczne. W olejach, podobnie jak w próbie kontrolnej, dominowała nuta smakowa „skórki od chleba”, bez nut orzechowej oraz gorzkiej, charakterystycznych dla olejów otrzymywanych z całych nasion, niepoddanych obróbce hydrotermicznej i enzymatycznej [10, 33]. Nuta „skórki od chleba” pojawia się w oleju w wyniku hydrotermicznej obróbki płatków, bez stosowania enzymów [13]. Można przypuszczać, że jest to skutek reakcji Maillarda, zachodzących także w niskiej temperaturze. Są one inicjowane przez bezpośrednią reakcję grupy karbonylowej bądź hemiacetalowej cukrów redukujących z grupą aminową aminokwasów, peptydów lub innych związków, a ich skutkiem jest między innymi powstawanie lotnych związków o małych cząsteczkach, nadających produktom charakterystyczny aromat [34]. Substraty tych reakcji występują w masie beztłuszczowej nasion lnu [5].

Wnioski

1. Hydroliza enzymatyczna nasion lnu przed tłoczeniem na zimno przyczynia się do wzrostu przelotowości prasy ślimakowej i wydajności tłoczenia oraz do obniżenia temperatury wylotku. Największą wydajność tłoczenia (79,8 %) uzyskano po zastosowaniu mieszaniny enzymów celulazy i proteazy, w proporcji 10 : 90 i dawce 0,25 % smb. Zastosowanie samej celulazy jest mniej efektywne niż proteazy.
2. Hydroliza enzymatyczna nasion lnu przed tłoczeniem na zimno powoduje nieznaczny wzrost zawartości pierwotnych i wtórnych produktów utlenienia a także liczby kwasowej oleju. Proces przyczynia się do niewielkiego wzrostu zawartości naturalnych przeciwutleniaczy w oleju – związków fenolowych i tokoferoli.

Literatura

- [1] Abyzaytoun R., Shahidi F.: Oxidative stability of flax and hemp oils. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 2006, **83**, 855-861.
- [2] Bargale P.C., Sosulski K., Sosulski F.W.: Enzymatic hydrolysis of soybean for solvent and mechanical oil extraction. *J. Food Proc. Eng.*, 2000, **23**, 321-327.
- [3] Choo W.S., Birch J., Dufour J.P.: Physicochemical and characteristics of cold-pressed flaxseed oils. *J. Food Comp. Anal.*, 2007, **20**, 202-211.
- [4] Codex Alimentarius: Standard for named vegetable oil. Codex-Stan 210-1999. Amendment: 2005, 2011, 2013, 2015.
- [5] Daun J.K., Barthet V.J., Chomick T.L., Duguid S.: Structure, composition, and variety development of flaxseed. In: *Flaxseed in human nutrition*. 2nd ed. Eds. L.U. Thompson and S.C. Cunnae. AOCS Press, Champaign, Illinois, USA, 2003, pp. 1-40.
- [6] Kasote D.M., Badhe Y.S., Hegde M.V.: Effect of mechanical press oil extraction processing on quality of linseed oil. *Ind. Crops Prod.*, 2013, **42**, 10-13.
- [7] Lamsal B.P., Murphy A., Johnson L.A.: Flaking and extrusion as mechanical treatments for enzyme-assisted aqueous extraction of oil from soybeans. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 2006, **83** (11), 973-979.
- [8] Latif S., Anwar F., Ashraf M.: Characterization of enzyme-assisted cold-pressed cottonseed oil. *J. Food Lipids*, 2007, **14**, 424-436.
- [9] Long J.J., Fu Y.J., Zu Y.G., Li J., Wang W., Gu C.B., Luo M.: Ultrasound-assisted extraction of flaxseed oil using immobilized enzymes. *Biores. Technol.*, 2011, **102**, 9991-9996.
- [10] Mińkowski K.: Studia nad stabilnością oksydacyjną olejów roślinnych bogatych w polienowe kwasy tłuszczowe o budowie trienowej. Rozprawa habilitacyjna. *Rocz. Inst. Przem. Mięś.*, 2008, **46** (4).
- [11] Mińkowski K., Zawada K., Ptasznik S., Kalinowski A.: Wpływ związków fenolowych nasion na stabilność oksydacyjną i aktywność antyrodnikową wyloczonych z nich olejów bogatych w PUFA n-3. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2013, **89** (4), 118-132.
- [12] Mińkowski K., Kalinowski A., Krupska A.: Wpływ sposobu przygotowania nasion oraz dławienia masy nasiennej w prasie ślimakowej na parametry procesu tłoczenia i cechy jakościowe oleju lnianego. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2014, **95** (4), 75-87.
- [13] Mińkowski K., Kalinowski A., Krupska A.: Wpływ płatkowania i niskotemperaturowej hydrotermicznej obróbki płatków na parametry procesu tłoczenia i cechy jakościowe oleju lnianego. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2015, **99** (2), 79-90.
- [14] Niewiadomski H.: *Technologia tłuszczów jadalnych*. WNT, Warszawa 1993.
- [15] PN-EN ISO 660:2010. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Oznaczenie liczby kwasowej i kwasowości.

- [16] PN EN ISO 662:2001. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Oznaczanie zawartości wody i substancji lotnych.
- [17] PN-EN ISO 663:2009. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Oznaczanie zawartości zanieczyszczeń nierozpuszczalnych.
- [18] PN-EN ISO 3960:2012. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Oznaczanie liczby nadtlenkowej. Jodometryczne (wizualne) oznaczanie punktu końcowego.
- [19] PN-EN ISO 6885:2016-04. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Oznaczanie liczby anizydynowej.
- [20] PN-A-86934:1995. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Spektrofotometryczne oznaczanie barwy ogólnej.
- [21] PN-EN 12822:2014-08. Artykuły żywnościowe. Oznaczanie zawartości witaminy E metodą wysokosprawnej chromatografii cieczowej. Pomiar α -, β -, γ - i δ -tokoferolu.
- [22] Ranalli A., Gomez T., Delcuratolo D., Contento S.K.: Improving virgine olive oil quality by means of innovative extracting biotechnologies. *J. Agric. Food Chem.*, 2003, **51**, 2597-2602.
- [23] Rosenthal A., Pyle D.L., Niranjana K.: Aqueous and enzymatic processes for edible oil extraction. *Enzyme Microb. Technol.*, 1996, **19**, 402-420.
- [24] Rotkiewicz D., Konopka I., Tańska M.: Barwniki karotenoidowe i chlorofilowe olejów roślinnych oraz ich funkcje. *Rośliny Oleiste*, 2002, **23**, 561-579.
- [25] Russin T.A., Boye J.J., Arcand Y., Rajamohamed S.H.: Alternative techniques for defatting soy: A practical review. *Food Bioproc. Technol.*, 2011, **4** (2), 200-223.
- [26] Siger A., Nogala-Kałucka M., Lampart-Szczapa E.: The content and antioxidant activity of phenolic compounds in cold-pressed plant oils. *J. Food Lipids*, 2008, **15**, 137-149.
- [27] Singleton V.L., Orthofer R., Lamuela-Raventos R.M.: Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Meth. Enzymol.*, 1999, **299**, 152-178.
- [28] Soto C., Chamy R., Zuniga M.E.: Enzymatic hydrolysis and pressing conditions effect on borage oil extraction by cold pressing. *Food Chem.*, 2007, **102**, 834-840.
- [29] Soto C., Concha J., Zuniga M.E.: Antioxidant content of oil and defatted meal obtained from borage seeds by an enzymatic-aided cold pressing process. *Process Biochem.*, 2008, **43**, 696-699.
- [30] Szydłowska-Czeriak A., Karlovits G., Hellner G., Dianoczki H., Szlyk E.: Effect of enzymatic and hydrothermal treatments of rapeseeds on quality of the pressed oils: Part I. Antioxidant capacity and antioxidant content. *Process Biochem.*, 2010, **45**, 7-17.
- [31] Szydłowska-Czeriak A., Karlovits G., Hellner G., Szlyk E.: Effect of enzymatic and hydrothermal treatments of rapeseeds on quality of the pressed oils: Part II. Oil yield and oxidative stability. *Process Biochem.*, 2010, **45**, 247-258.
- [32] Vierhuis E., Servili M., Baldioli M., Schols H.A., Voragen A.G.J., Montedoro G.F.: Effect of enzyme treatment during mechanical extraction of olive oil on phenolic compounds and polysaccharides. *J. Agric. Food Chem.*, 2001, **49**, 1218-1223.
- [33] 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**, 887-892.
- [34] Wilska-Jeszka J.: Monosacharydy i oligosacharydy. W: *Chemiczne i funkcjonalne właściwości składników żywności*. Red. Z.E. Sikorski. WNT, Warszawa 1994, ss. 93-130.
- [35] Wroniak M., Kwiatkowska M., Krygier K.: Charakterystyka wybranych olejów tłoczonych na zimno. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2006, **47** (2), 46-58.
- [36] Yusoff M.M., Gordon M.H., Niranjana K.: Aqueous enzyme assisted oil extraction from oilseeds and emulsion de-emulsifying methods: A review. *Food Sci. Technol.*, 2015, **41**, 60-82.

EFFECT OF ENZYMATIC PRE-TREATMENT OF SEEDS ON PRESSING PROCESS PARAMETERS AND QUALITY OF LINSEED OIL

S u m m a r y

The objective of the study was to determine the effect of enzymatic pre-treatment of seeds with the use of enzymes added on some selected parameters of the pressing process in an expeller press as well as on the quality characteristics of linseed oil.

The initial research material consisted of flaxseeds of the high linolenic 'Bukoz' flax variety (IWNiRZ, Poznań, PL). The seeds, crumbled to form flakes, were enzymatically processed. The flakes with a 20 % of moisture content underwent enzymatic treatment at a temperature of 50 °C for 3 hours and, next, were dried in an air-flow dryer. The oil was pressed using a UNO-SE expeller press manufactured by Farnet (CZ). In the experiment, the cellulase and protease enzymes were used, i.e. Celluclast 1.5 L and Alcalase 2.4 L commercial preparations including their 10:90 and 50:50 mixtures in the doses (% of ddm): 0.125, 0.25, and 0.50.

The enzymatic treatment of flaxseeds prior to cold pressing contributed to the increase in the press capacity as well as in the oil yield and, further, to the decrease in the cake temperature. The highest yield of pressing (79.8 %) was achieved when the 10:90 mixture of cellulase and protease enzymes was applied in the dose of 0.25 % ddm. The enzymatic treatment caused the content of primary and secondary oxidation products and the acid value of oil to slightly increase. Moreover, the process contributed to a slight increase in the content of natural antioxidants in oil: phenolic compounds and tocopherols.

Key words: flax seeds, enzymatic treatment, cellulase, protease, cold pressing, flax oil ☒

BEATA PASZCZYK, WALDEMAR BRANDT

WPLYW CZASU PRZECHOWYWANIA NA ZAWARTOŚĆ CLA ORAZ IZOMERÓW TRANS C18:1 I C18:2 W JOGURTACH Z MLEKA KROWIEGO O ZNORMALIZOWANEJ ZAWARTOŚCI TŁUSZCZU

Streszczenie

Przedmiotem badań była ocena zawartości sprzężonego kwasu linolowego *cis9trans11* C18:2 (CLA) oraz izomerów *trans* kwasu C18:1 i kwasu C18:2 w mleku znormalizowanym oraz w jogurtach z niego wyprodukowanych: świeżych i przechowywanych w temp. 8 ± 1 °C do 21 dni. Jogurty wyprodukowano metodą termostatową w skali półtechnicznej. Do ich produkcji zastosowano mrożone kultury jogurtowe YoFlex®Premium 2.0.

W badaniach wykazano, że czas przechowywania jogurtów wpłynął istotnie ($p < 0,05$) na zmniejszenie zawartości sprzężonego kwasu linolowego (CLA) oraz izomerów *trans* kwasu C18:1 i C18:2 w jogurtach. Największą zawartością kwasu *cis9trans11* C18:2 oraz izomerów *trans* kwasu C18:1 i C18:2 charakteryzowały się jogurty świeże w 1. dniu przechowywania. Średnia zawartość CLA w tych jogurtach wynosiła 3,16 mg/g tłuszczu. Zawartość izomerów *trans* kwasu C18:1 wynosiła 15,28 mg/g tłuszczu, a izomerów *trans* kwasu C18:2 – 4,48 mg/g tłuszczu. Najmniejszą zawartość CLA oraz izomerów *trans* kwasu C18:1 i C18:2 stwierdzono w jogurtach w 21. dniu przechowywania. Średnie zawartości kwasów wynosiły: sprzężonego kwasu linolowego – 1,95 mg/g tłuszczu, izomerów *trans* kwasu C18:1 – 9,96 mg/g tłuszczu, a izomerów *trans* kwasu C18:2 – 2,79 mg/g tłuszczu. Zawartość CLA oraz sumy izomerów *trans* C18:1 i C18:2 w tłuszczu badanych jogurtów były ze sobą silnie skorelowane.

Słowa kluczowe: CLA, izomery *trans*, jogurt, przechowywanie

Wprowadzenie

Sprzężone dieny kwasu linolowego (ang. *conjugated linoleic acid*, CLA) obejmują grupę pozycyjnych i geometrycznych izomerów kwasu linolowego (C18:2, *n-6*). W cząsteczkach tych kwasów podwójne wiązania w konfiguracji *cis* lub *trans* oddzie-

Dr inż. B. Paszczyk, Katedra Towaroznawstwa i Badań Żywności, Pl. Cieszyński 1, 10-726 Olsztyn, mgr inż. W. Brandt, Katedra Mleczarstwa i Zarządzania Jakością, Wydz. Nauki o Żywności, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, ul. Oczapowskiego 7, 10-719 Olsztyn.
Kontakt: paszczyk@uwm.edu.pl

lone są tylko jednym wiązaniem pojedynczym [31]. Związkiem najbardziej aktywnym biologicznie w tej grupie jest kwas *cis9trans11* C18:2, który stanowi dominujący składnik sprzężonych dienów tłuszczu mlekowego o udziale 80 ÷ 90 % wszystkich izomerów CLA [5, 15, 27, 21]. Charakteryzuje się on właściwościami prozdrowotnymi: przeciwnowotworowymi, przeciwmiażdżycowymi, przeciwutleniającymi i immunomodulacyjnymi [1, 7, 8, 25, 27, 28, 29, 31].

Głównym, naturalnym źródłem CLA w diecie człowieka jest mleko i jego przetwory. W organizmach przeżuwaczy kwas CLA powstaje jako pierwszy związek pośredni w procesie biouwodorniania kwasu linolowego przez izomerazę wytwarzaną przez bakterie żwacza [17]. CLA produkowany jest również endogennie z kwasu wakcenenowego (*trans* 11 C18:1) przy udziale delta-9 desaturazy [13]. Oszacowano, że aż 64 % CLA w tłuszczu mlekowym pochodzi z endogennej syntezy.

Zawartość CLA w tłuszczu mlekowym kształtuje się w zakresie 2,3 ÷ 6,0 mg/g tłuszczu [15, 17]. Na zróżnicowanie to wpływa wiele czynników, m.in. sposób żywienia krów związany z porą roku i składem paszy, indywidualne właściwości flory bakteryjnej w żołądkach przeżuwaczy oraz cechy genetyczne zwierząt. Zawartość CLA w produktach mleczarskich może różnić się od zawartości tego kwasu w mleku stanowiącym surowiec do ich produkcji. Na zawartość CLA w produktach mleczarskich, serach czy fermentowanych napojach mleczarskich mogą wpływać warunki procesów technologicznych: temperatura, czas dojrzewania, sposób pakowania oraz stosowane dodatki [22, 23, 32], a także zdolność niektórych kultur bakterii propionowych i mlekowych do syntezy CLA przy doborze odpowiednich warunków procesu fermentacji [2, 3, 4, 16, 18, 24, 26, 36].

Celem pracy była ocena wpływu czasu przechowywania na zawartość sprzężonego kwasu linolowego *cis9trans11* C18:2 (CLA) oraz izomerów *trans* kwasu C18:1 i kwasu C18:2 w jogurtach z mleka krowiego o znormalizowanej zawartości tłuszczu.

Material i metody badań

Materiałem doświadczalnym były: mleko znormalizowane przygotowane do produkcji jogurtów oraz jogurty. Mleko zbiorcze pochodziło z rejonu Olsztyna, a dostarczono je cysterną do hali technologicznej. Jogurty zostały wyprodukowane w skali półtechnicznej w Centrum Edukacyjno-Badawczym Wydziału Nauki o Żywności UWM w Olsztynie metodą termostatową, w kwietniu 2014 roku. Do produkcji zastosowano mrożone kultury jogurtowe YoFlex®Premium 2.0 (firmy Chr. Hansen, Dania) zawierające bakterie *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* i *Streptococcus thermophilus*. Proces produkcyjny obejmował: wirowanie mleka w temp. 45 ± 1 °C w wirowce typu U/G 20 (Spomasz, Bełżyce, Polska), normalizację zawartości tłuszczu do $2 \pm 0,1$ % oraz normalizację suchej masy do 14 % przez dodatek odtłuszczonego mleka w proszku (Spółdzielnia Mleczarska, Gostyń, Polska). Po znormalizowaniu mleko

poddawano dwustopniowej homogenizacji przy ciśnieniu 18 i 5 MPa, w temp. 65 °C, przy użyciu homogenizatora CN003 (Spomasz, Bełżyce, Polska). Następnie poddawano je długotrwałej pasteryzacji VHT w temp. 95 °C przez 5 min, w pasteryzatorze Alfa-Laval, typ P20-HB (Alfa-Laval, Szwecja). Po ochłodzeniu do temp. 45 ± 1 °C mleko zaszczipiano preinkubowaną przez 2 h kulturą jogurtową. Zgodnie z zaleceniami producenta wprowadzano szczepionkę w ilości 1 ml/l mleka. Zaszczepione mleko rozlewano do opakowań jednostkowych z PS o pojemności 250 ml. Następnie opakowania zamykano wieczkiem aluminiowym za pomocą zamykarko-zgrzewarki MAX L-1 (firmy P.P.H. Kram, Dzierżgoń, Polska) i próbki poddawano dojrzewaniu w termostacie Binder BF 115 (Tuttingen, Niemcy), w temp. 43,5 °C przez ok. 5 h, do osiągnięcia przez produkt wartości pH równej 4,6. Przeprowadzono dwie serie produkcyjne, do których użyto mleka pochodzącego z dwóch różnych dostaw.

Wyprodukowane jogurty przechowywano w temp. 8 ± 1 °C do 21 dni. Jogurty pobierano do analizy w 1., 8., 16. i 21. dniu przechowywania. Za każdym razem, do badań analitycznych pobierano po cztery próbki jogurtów, po dwa z każdej partii produkcyjnej. Wszystkie analizy wykonywano w dwóch równoległych powtórzeniach.

Do oznaczania składu kwasów tłuszczowych tłuszcz z mleka i badanych jogurtów wydzielano metodą Folcha [6]. Estry metylowe kwasów tłuszczowych przygotowywano zgodnie z metodą IDF, stosując metanolowy roztwór KOH [14].

Estry metylowe kwasów tłuszczowych rozdzielano metodą chromatografii gazowej (GC) przy użyciu chromatografu HP 6890 (Hewlett-Packard Co., USA) z detektorem płomieniowo jonizacyjnym (FID), kolumną kapilarną (Chrompack, Holandia) o długości 100 m, średnicy – 0,25 mm, grubości filmu – 0,20 μm oraz z fazą stacjonarną CP Sil 88. Oznaczenia przeprowadzono w następujących warunkach: temperatura początkowa kolumny 60 °C (przez 1 min) wzrost temperatury do 180 °C, $\Delta t = 5$ °C/min, temperatura detektora 250 °C, dozownika – 225 °C, gaz nośny hel, przepływ 1,5 ml/min, dozownik z podziałem: 50 : 1. Kwas *cis*⁹*trans*¹¹ C18:2 (CLA) identyfikowano na podstawie chromatogramów mieszaniny estrów metylowych *cis* i *trans* 9,11 oraz 10,12 o numerze katalogowym O5632 (Sigma-Aldrich, USA). Do identyfikacji pików oznaczanych izomerów *trans* kwasu C18:1 użyto wzorców: *trans* 6-oktadecenowego o numerze katalogowym 47199 (Supelco, Sigma-Aldrich Group, USA), *trans* 9-oktadecenowego o numerze katalogowym E4762 oraz *trans* 11-oktadecenowy, nr katalogowy V1381 (Sigma-Aldrich, USA). Identyfikacja izomerów *trans* kwasu C18:2 została przeprowadzona przez porównanie z czasami retencji mieszaniny wzorców izomerów kwasu C18:2 *cis/trans* (*trans*⁹*trans*¹², *cis*⁹*trans*¹², *trans*⁹*cis*¹², *cis*⁹*cis*¹² w stosunku 50 : 20 : 20 : 10) o numerze katalogowym 4-7791 (Supelco, Sigma-Aldrich Group, USA).

Obliczeń zawartości kwasu *cis*⁹*trans*¹¹ C18:2 (CLA) oraz oznaczonych izomerów *trans* kwasu C18:1 i C18:2 dokonywano w stosunku do wprowadzonego standardu

wewnętrznego i wyrażano w [mg/g tłuszczu]. Jako standard zastosowano krystaliczny ester metyloowy kwasu C21:0 o czystości ~99 % (numer katalogowy H3265, Sigma-Aldrich, USA). Heksanowy roztwór estru metyloowego kwasu C21:0 o stężeniu 0,1 % wprowadzano do próbki w ilości 0,3 ml.

Obliczenia statystyczne, w tym weryfikację istotności różnic między wartościami średnimi oraz analizę korelacji wykonano w programie Statistica 10. Zastosowano jednoczynnikową analizę wariancji (ANOVA). Do oceny istotności różnic pomiędzy średnimi zastosowano test Duncana. Testowanie prowadzono na poziomie istotności $p < 0,05$.

Wyniki i dyskusja

Wyniki zawartości kwasu *cis9trans11* C18:2 (CLA) oraz izomerów *trans* kwasu C18:1 i kwasu C18:2 w tłuszczu mleka znormalizowanego przygotowanego do produkcji jogurtów oraz w tłuszczu wydzielonym ze świeżych i chłodniczo przechowywanych jogurtów przedstawiono w tab. 1.

Średnia zawartość sprzężonego kwasu linolowego *cis9trans11* C18:2 w tłuszczu wydzielonym z mleka znormalizowanego przygotowanego do produkcji jogurtów wynosiła 2,86 mg/g tłuszczu. Zawartość tego kwasu w tłuszczu wydzielonym z jogurtów świeżych była na zbliżonym poziomie i wynosiła średnio 3,16 mg/g tłuszczu. Zdaniem wielu autorów [9, 16, 23, 24, 36] w fermentowanych produktach mleczarskich zawartość CLA może być inna niż w mleku stanowiącym surowiec do ich produkcji. Santos Junior i wsp. [33] podają, że w mleku pasteryzowanym zawartość kwasu *cis9trans11* C18:2 wynosiła 6,22 mg/g tłuszczu, a w jogurtach wyprodukowanych z tego mleka – 5,41 mg/g tłuszczu. Według Lina i wsp. [21] zawartość CLA w napojach fermentowanych wahała się od 3,82 mg/g tłuszczu w jogurtach do 4,66 mg/g tłuszczu w maślanec. W napojach niefermentowanych CLA stanowił od 3,38 mg/g tłuszczu w mleku zgęszczonym do 4,49 mg/g tłuszczu w mleku pełnym. Prandini i wsp. [30] podają, że we włoskich mlecznych napojach fermentowanych, produkowanych z udziałem różnych bakterii, średnia zawartość CLA kształtowała się od 4,42 mg/g tłuszczu w jogurtach probiotycznych do 6,15 mg/g tłuszczu w mleku fermentowanym, wytworzonym z mleka krów wypasanych na górskich pastwiskach. W jogurtach z mleka owczego, analizowanych przez ww. autorów, średnia zawartość tego kwasu wynosiła 6,92 mg/g tłuszczu.

Łączna zawartość izomerów *trans* kwasu C18:1 w tłuszczu mleka znormalizowanego, przygotowanego do produkcji jogurtów, wynosiła 14,78 mg/g. Średnia zawartość sumy wymienionych izomerów w tłuszczu wydzielonym z jogurtów świeżych wyprodukowanych z tego mleka była podobna (tab. 1). Izomery *trans* kwasu C18:2 w tłuszczu mleka występowały w ilości 3,86 mg/g, a w tłuszczu wydzielonym z jogurtów

badanych w 1. dniu przechowywania średnia zawartość sumy tych izomerów była istotnie ($p < 0,05$) większa niż w mleku – wynosiła 4,48 mg/g tłuszczu.

Tabela 1. Zawartość CLA, izomerów *trans* kwasu C18:1 i C18:2 w mleku oraz jogurtach świeżych i przechowywanych [mg/g tłuszczu]

Table 1. Content of CLA, *trans* C18:1 and C18:2 isomers in milk and fresh and stored yoghurts [mg/g of fat]

Izomery <i>trans</i> <i>Trans</i> isomers	Mleko normalizowane Normalized milk $\bar{x} \pm s / SD$	Dzień przechowywania Day of storage			
		1. $\bar{x} \pm s / SD$	8. $\bar{x} \pm s / SD$	16. $\bar{x} \pm s / SD$	21. $\bar{x} \pm s / SD$
<i>cis9trans11</i> C18:2(CLA)	2,86^{ab} ± 0,18	3,16^a ± 0,24	2,54^b ± 0,11	2,42^b ± 0,35	1,95^c ± 0,17
<i>t6 - t9</i>	2,90 ^a ± 0,11	2,97 ^a ± 0,22	2,57 ^b ± 0,12	2,23 ^c ± 0,13	1,96 ^d ± 0,13
<i>t10+t11</i>	7,94 ^{ab} ± 0,48	8,26 ^a ± 0,65	7,19 ^{b,c} ± 0,25	6,63 ^c ± 0,73	5,53 ^d ± 0,36
<i>t12</i> C18:1	1,66 ^a ± 0,10	1,63 ^a ± 0,15	1,47 ^{ab} ± 0,09	1,37 ^b ± 0,13	1,08 ^c ± 0,08
<i>t16</i> C18:1	2,28 ^{ab} ± 0,24	2,41 ^a ± 0,20	2,19 ^{ab} ± 0,08	1,82 ^{b,c} ± 0,46	1,57 ^c ± 0,07
Σ <i>trans</i> C18:1	14,78^{ab} ± 0,90	15,28^a ± 1,21	13,43^{b,c} ± 0,53	12,05^c ± 1,16	9,96^d ± 0,64
<i>c9 t13</i>	1,03 ^{ab} ± 0,03	1,28 ^a ± 0,23	1,02 ^{ab} ± 0,04	0,94 ^b ± 0,11	0,80 ^b ± 0,24
<i>c9 t12</i>	2,39 ^a ± 0,16	2,55 ^a ± 0,19	2,08 ^b ± 0,19	2,02 ^b ± 0,15	1,69 ^c ± 0,21
<i>t11 c15</i>	0,44 ^{b,c} ± 0,15	0,65 ^a ± 0,02	0,50 ^{ab} ± 0,10	0,45 ^{b,c} ± 0,10	0,30 ^c ± 0,01
Σ <i>trans</i> C18:2	3,86^b ± 0,28	4,48^a ± 0,33	3,61^b ± 0,32	3,40^b ± 0,27	2,79^c ± 0,43

Objaśnienia / Explanatory notes:

\bar{x} – wartość średnia / mean value; s – odchylenie standardowe / SD – standard deviation; n = 4; a - c – wartości średnie oznaczone różnymi literami w wierszach różnią się statystycznie istotnie ($p < 0,05$) / mean values in the rows and denoted by different letters differ statistically significantly ($p < 0,05$).

Zawartość CLA w jogurtach chłodniczo przechowywanych ulegała znacznym zmianom (tab. 1). Największą zawartość kwasu *cis9trans11* C18:2 (3,16 mg/g tłuszczu) stwierdzono w tłuszczu wydzielonym z jogurtów świeżych w 1. dniu po wyprodukowaniu. Istotnie ($p < 0,05$) mniejszą zawartością tego izomeru charakteryzowały się jogurty w 8. dniu przechowywania. Średnia zawartość CLA w tłuszczu wydzielonym z jogurtów wynosiła 2,54 mg/g i była mniejsza o ponad 19 % w stosunku do zawartości stwierdzonej w jogurtach świeżych. Dalsze przechowywanie jogurtów powodowało zmniejszanie zawartości tego kwasu. W tłuszczu jogurtów analizowanych w 16. dniu przechowywania zawartość CLA zmniejszyła się średnio o ponad 23 % w stosunku do zawartości stwierdzonej w jogurtach świeżych i wynosiła średnio 2,42 mg/g tłuszczu. Najmniejszą zawartość kwasu *cis9trans11* C18:2 stwierdzono w tłuszczu jogurtów w 21. dniu przechowywania. Zawartość tego kwasu wynosiła średnio 1,95 mg/g tłuszczu i była istotnie ($p < 0,05$) mniejsza od ilości oznaczonych w tłuszczu wydzielonym z jogurtów świeżych oraz z jogurtów w 8. i 16. dniu przechowywania. Przechowywanie jogurtów do 21 dni spowodowało zmniejszenie zawar-

tości kwasu *cis9trans11* C18:2 (CLA) średnio o ponad 38 % w porównaniu z zawartością stwierdzoną w tłuszczu jogurtów w 1. dniu przechowywania. Według wielu badaczy zawartość sprzężonego kwasu linolowego w przechowywanych produktach mleczarskich kształtuje się na różnych poziomach. Shantha i wsp. [35] wykazali, że przechowywanie jogurtów w temp. 4 °C przez 6 tygodni powodowało zmniejszanie się w nich zawartości kwasu *cis9trans11* C18:2.

Również Serafeimidou i wsp. [34] zaobserwowali zmniejszanie zawartości CLA w jogurtach wyprodukowanych z mleka krowiego, badanych po 7 i 14 dniach przechowywania. Jogurty analizowane przez tych autorów w 1. dniu przechowywania zawierały 0,41 g CLA w 100 g tłuszczu, a w 7. dniu przechowywania – 0,45 g/100 g tłuszczu. Istotnie mniej (0,24 g/100 g tłuszczu) CLA wymienił autorzy oznaczyli w jogurtach w 14. dniu przechowywania. Odwrotne tendencje zaobserwowali natomiast w przypadku przechowywanych jogurtów z mleka owczego. W 1. dniu przechowywania jogurty te zawierały CLA w ilości 0,53 g/100 g tłuszczu. W jogurtach owczych w 7. dniu przechowywania wykazano 0,47 g CLA w 100 g tłuszczu. Większą zawartością tego kwasu (0,76 g/100 g tłuszczu) charakteryzowały się jogurty owcze w 14. dniu przechowywania. Zróżnicowanie zawartości CLA w przechowywanej fermentowanej śmietanie, wyprodukowanej przy udziale siedmiu różnych kultur starterowych, stwierdzili Domagała i wsp. [9]. Zawartość CLA w świeżej śmietanie badanej przez tych autorów wynosiła 3,81 mg/g tłuszczu. Większą zawartość CLA, wynoszącą 4,03 mg/g tłuszczu wymienił autorzy stwierdzili tylko w śmietanie fermentowanej przy udziale kultury ABY-2, analizowanej w 2. dniu przechowywania. W śmietanie fermentowanej, wyprodukowanej przy użyciu sześciu innych kultur starterowych, badanej w 2. dniu przechowywania, udział tego izomeru był mniejszy niż w świeżej śmietanie i wynosił odpowiednio: 3,62 mg/g tłuszczu w śmietanie wyprodukowanej przy użyciu szczepionki CHN-19, 3,69 mg/g tłuszczu w śmietanie wyprodukowanej przy użyciu szczepionki Flora Danica, 3,60 mg/g tłuszczu w śmietanie fermentowanej przy użyciu szczepionki YC-180, 3,33 mg/g tłuszczu w śmietanie wyprodukowanej przy zastosowaniu YC-180 + *Propionibacterium* oraz 3,66 mg/g tłuszczu w śmietanie wyprodukowanej przy użyciu Danisco Cheese. Po 7 i 14 dniach przechowywania w śmietanie fermentowanej przy udziale wszystkich zastosowanych kultur starterowych cytowani autorzy stwierdzili zróżnicowanie zawartości sprzężonego kwasu linolowego. Zmiany zawartości CLA w ekologicznym i konwencjonalnym mleku fermentowanym, przechowywanym przez 7 dni w temp. 4 °C, stwierdzili Florence i wsp. [11]. Zarówno w mleku ekologicznym, jak i konwencjonalnym, wyprodukowanych przy udziale *Streptococcus thermophilus* TA040 i *Lactobacillus bulgaricus* LB340, zawartość CLA w 7. dniu przechowywania była istotnie mniejsza niż w produktach badanych w 1. dniu przechowywania. Istotnie mniejszą zawartością CLA charakteryzowały się też produkty fermentowane z mleka ekologicznego wyprodukowane przy udziale

Streptococcus thermophilus TA040 i *Lactobacillus bulgaricus* LB340 oraz *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* HN019 w 7. dniu przechowywania w porównaniu z produktami analizowanymi w 1. dniu. W przechowywanych produktach konwencjonalnych, do produkcji których zastosowano takie same szczepy bakterii, nie stwierdzono istotnych zmian zawartości CLA w czasie chłodniczego przechowywania.

Zdaniem wielu autorów [2, 16, 18, 23, 24, 26, 36], niektóre kultury starterowe mogą powodować zmiany zawartości CLA w fermentowanych produktach mleczarskich, co determinowane jest warunkami procesu fermentacji: odpowiednim szczepem i liczbą komórek bakterii, odpowiednią koncentracją substratu, a także czasem inkubacji i odpowiednim pH środowiska. Stwierdzone w badaniach własnych zmniejszenie zawartości CLA oraz izomerów *trans* w przechowywanych jogurtach może być wynikiem przemian oksydacyjnych zachodzących w tych produktach podczas przechowywania [10, 19]. Jak podają Shantha i wsp. [35], zmniejszenie ilości CLA w niektórych przetworach mlecznych może być wynikiem reakcji utleniania, które powodują niszczenie sprzężonego układu wiązań podwójnych. Ze względu na obecność sprzężonych wiązań nienasyconych obserwuje się większą podatność CLA na procesy oksydacji oraz izomeryzacji aniżeli ich prekursora – kwasu linolowego [20, 37].

W badaniach własnych sumaryczna zawartość izomerów *trans* kwasu C18:1 w tłuszczu jogurtów analizowanych w 1. dniu po wyprodukowaniu wynosiła 15,28 mg/g. Istotnie ($p < 0,05$) mniejszą zawartością sumy tych izomerów charakteryzowały się jogurty w 8. dniu przechowywania. Średnia zawartość izomerów *trans* C18:1 w jogurtach wynosiła 13,43 mg/g tłuszczu. Dalsze przechowywanie jogurtów powodowało zmniejszanie w nich zawartości izomerów *trans* do 12,05 mg/g tłuszczu w 16. dniu przechowywania. Istotnie ($p < 0,05$) mniejszą zawartość tych izomerów, wynoszącą 9,96 mg/g tłuszczu, stwierdzono w jogurtach w 21. dniu przechowywania.

Według Florence i wsp. [11], zarówno w ekologicznym, jak i w konwencjonalnym mleku fermentowanym przy udziale *Streptococcus thermophilus* TA040 i *Lactobacillus bulgaricus* LB340, a także w mleku ekologicznym i konwencjonalnym fermentowanym przy udziale *Streptococcus thermophilus* TA040 i *Lactobacillus bulgaricus* LB340 oraz *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* HN019 zawartość izomerów *trans* C18:1 w produktach analizowanych w 7. dniu przechowywania (w temp. 4 °C) była nieznacznie mniejsza od ilości tych izomerów w mleku w 1. dniu przechowywania.

Łączna zawartość izomerów *trans* kwasu C18:2 w tłuszczu jogurtów w 1. dniu po wyprodukowaniu wynosiła 4,48 mg/g tłuszczu (tab. 1). Istotnie ($p < 0,05$) mniejszą zawartość tych izomerów (3,61 mg/g tłuszczu) stwierdzono w tłuszczu jogurtów w 8. dniu przechowywania. Jogurty analizowane w 16. i 21. dniu przechowywania również charakteryzowały się istotnie ($p < 0,05$) mniejszą zawartością tych izomerów w porównaniu z zawartością stwierdzoną w świeżych jogurtach.

Obliczone współczynniki korelacji liniowej Pearsona wskazują na występowanie silnej zależności między zawartością CLA i sumaryczną zawartością oznaczonych izomerów *trans* kwasów tłuszczowych w czasie przechowywania. Zmniejszenie się zawartości CLA korelowało ($r = 0,96$) ze zmniejszeniem sumarycznej zawartości izomerów *trans* kwasu C18:1 oraz zmniejszeniem sumarycznej zawartości izomerów *trans* kwasu C18:2 ($r = 0,92$) w jogurtach. Również zmniejszenie ilości izomerów *trans* kwasu C18:1 było silnie dodatnio skorelowane ze zmniejszeniem sumarycznej zawartości izomerów *trans* kwasu C18:2 ($r = 0,90$). Wyniki te są zgodne z rezultatami, jakie uzyskali Fritche i Steinhart [12], którzy wykazali dodatnią korelację ($r = 0,81$) między zawartością CLA i zawartością izomerów *trans* w tłuszczu mleka i produktów mleczarskich. Również Żegarska i wsp. [38] dowiedli, że zawartość CLA w tłuszczu mlecznych napojów fermentowanych, jogurtów, kefirów oraz mleka acidofilnego była silnie dodatnio skorelowana z zawartością izomerów *trans* kwasu C18:1 oraz izomerów *trans* kwasu C18:2 (współczynniki korelacji powyżej 0,95).

Wnioski

1. Przechowywanie jogurtów z mleka krowiego o znormalizowanej zawartości tłuszczu spowodowało niekorzystne zmiany zawartości w nich sprzężonego kwasu linolowego *cis9trans11* C18:2 (CLA) oraz izomerów *trans* kwasu C18:1 i C18:2.
2. Przechowywanie jogurtów w temp. 8 ± 1 °C do 21. dnia spowodowało zmniejszenie zawartości kwasu CLA średnio o ponad 38 % w porównaniu z zawartością stwierdzoną w tłuszczu jogurtów analizowanych w 1. dniu przechowywania.
3. Chłodnicze przechowywanie jogurtów spowodowało istotne ($p < 0,05$) zmniejszenie w nich zawartości izomerów *trans* kwasu C18:1 i kwasu C18:2.
4. Zmiany zawartości CLA oraz sumy izomerów *trans* kwasu C18:1 i kwasu C18:2 w tłuszczu przechowywanych jogurtów były ze sobą silnie skorelowane.

Literatura

- [1] Aydin R.: Conjugated linoleic acid: Structure, sources and biological properties. Turk. J. Vet. Anim. Sci., 2005, **29**, 189-195.
- [2] Bisig W., Eberhard P., Collomb M., Rehberger B.: Influence of processing on the fatty acid composition and the content of conjugated linoleic acid in organic and conventional dairy products - a review. Lait, 2007, **87**, 1-19.
- [3] Bzducha A., Obiedziński M.: Influence of probiotic *Lactobacillus* strain on CLA content in model ripening cheeses. Pol. J. Food Nutr. Sci., 2007, **57** (4), 65-69.
- [4] Bzducha-Wróbel A., Obiedziński M.: Zmiany zawartości CLA w układzie serów modelowych z dodatkiem *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* i *Lactobacillus acidophilus*. Bromat. Chem. Toksykol., 2009, **XLII** (3), 241-246.

- [5] Chillard Y., Ferlay A., Loor J., Rouel J., Martin B.: *Trans* and conjugated fatty acids in milk from cows and goats consuming pasture or receiving vegetable oils or seeds. *Ital. J. Anim. Sci.*, 2002, **1**, 243-254.
- [6] Christie W.W.: *Lipid analysis. Isolation, separation, identification and structural analysis of lipids.* Pergamon Press, Oxford 1973, pp. 39-40.
- [7] Cichosz G.: Prozdrowotne właściwości tłuszczu mlekowego. *Przegl. Mlecz.*, 2007, **5**, 4-8.
- [8] Cook M.E., Pariza M.: The role of conjugated linoleic acid (CLA) in health. *Int. Dairy J.*, 1998, **8**, 459-462.
- [9] Domagała J., Sady M., Najgebauer-Lejko D., Czernicka M., Witeska I.: The content of conjugated linoleic acid (CLA) in cream fermented using different starter cultures. *Biotechnol. Anim. Husb.*, 2009, **25 (5-6)**, 745-751.
- [10] Drozdowski B.: *Lipidy. W: Chemia żywności. Sacharydy, lipidy i białka.* Red. Z. Sikorski. WNT, Warszawa 2007.
- [11] Florence A.C., Beal C., Silva R.C., Bogsan C.S.B., Pilleggi A.L.O.S., Gioielli L.A., Oliveira M.N.: Fatty acid profile, *trans*-octadecenoic, α -linolenic and conjugated linoleic acid contents differing in certified organic and conventional probiotic fermented milks. *Food Chem.*, 2012, **135**, 2207-2214.
- [12] Fritsche J., Steinhart H.: Amounts of conjugated linoleic acid (CLA) in German foods and evaluation of daily intake. *Z. Lebensm. Unters. Forsch. A.*, 1998, **206**, 77-82.
- [13] Griinari J.M., Corl B.A., Lacy S.H., Chouinard P.Y., Nurmela K.V.V., Bauman D.E.: Conjugated linoleic acid is synthesized endogenously in lactating dairy cows by $\Delta 9$ desaturase. *J. Nutr.*, 2000, **130**, 2285-2291.
- [14] IDF standard 182:1999. Milkfat: Preparation of fatty acid methyl esters.
- [15] Jiang J., Björck L., Fondán R.: Conjugated linoleic acid in Swedish dairy products with special reference to the manufacture of hard cheeses. *Int. Dairy J.*, 1997, **7**, 863-867.
- [16] Jiang J., Björck L., Fondán R.: Production of conjugated linoleic acid by dairy starter cultures. *J. Appl. Microbiol.*, 1998, **85**, 95-102.
- [17] Kelly M.L., Berry J.R., Dwyer D.A., Griinari J.M., Chouinard P.Y., Van Amburgh M.E., Bauman D.E.: Dietary fatty acid sources affect conjugated linoleic acid concentrations in milk from lactating dairy cows. *J. Nutr. Sci.*, 1998, **128**, 881-885.
- [18] Kim Y.J., Liu R.H.: Increase of conjugated linoleic acid content in milk by fermentation with lactic acid bacteria. *J. Food Sci.*, 2002, **67 (5)**, 1731-1737.
- [19] Korczak J.: Procesy zachodzące podczas przechowywania tłuszczów. W: *Prawda o tłuszczach.* Red. J. Gawęcki. Wydawnictwo Instytut Danone – Fundacja Promocji Zdrowego Żywienia, Warszawa 1997, ss. 43-48.
- [20] Kowalska M., Cichosz G.: Produkty mleczarskie - najlepsze źródło CLA. *Bromat. Chem. Toksykol.*, 2013, **XLVI (1)**, 1-12.
- [21] Lin H., Boylston T.D., Chang M.J., Luedecke L.D., Shultz T.D.: Survey of the CLA contents of dairy products. *J. Dairy Sci.*, 1995, **78**, 2358-2365.
- [22] Lin H., Boylston T.D., Luedecke L.D., Shultz T.D.: Factors affecting the conjugated linoleic acid content of Cheddar cheese. *J. Agric. Food Chem.*, 1998, **46 (3)**, 801-807.
- [23] Lin T.Y.: Conjugated linoleic acid concentration as affected by lactic cultures and additives. *Food Chem.*, 2000, **69**, 27-31.
- [24] Lin T.Y.: Influence of lactic cultures, linoleic acid and fructo-oligosaccharides on conjugated linoleic acid concentration in non-fat set yoghurt. *Aust. J. Dairy Technol.*, 2003, **58 (1)**, 11-14.
- [25] Molzentin J.: Bioactive lipids naturally occurring in bovine milk. *Nahrung*, 1999, **43 (3)**, 185- 189.
- [26] Ogawa J., Kishino S., Ando A., Sugimoto S., Mihara K., Shimizu S.: Production of conjugated fatty acids by lactic acid bacteria. *J. Biosci. Bioeng.*, 2005, **100 (4)**, 355-364.

- [27] Park Y.: Conjugated linoleic acid (CLA): Good or bad *trans* fat? J. Food Comp. Anal., 2009, **22S**, S4-S12.
- [28] Parodi P.W.: Anti-cancer agents in milkfat. Aust. J. Dairy. Technol., 2003, **58** (2), 114-118.
- [29] Parodi P.W.: Cow's milk fat components as potential anticarcinogenic agents. J. Nutr., 1997, **127** (6), 1055-1060.
- [30] Prandini A., Sigolo S., Tansini G., Brogna N., Piva G.: Different level of conjugated linoleic acid (CLA) in dairy products from Italy. J. Food Comp. Anal., 2007, **20**, 472-479.
- [31] Przybojewska B., Rafalski H.: Kwasy tłuszczowe występujące w mleku a zdrowie człowieka. Sprzężony kwas linolowy CLA. Cz. 2. Przegl. Mlecz., 2003, **5**, 173-175.
- [32] Salamon R.V., Loki K., Varga-Visi E., Mandoki Z., Csapo J.: Increase of conjugated linoleic acid content of dairy products by adding sunflower oil. Acta Univ. Sapientiae, Alimentaria, 2009, **2** (2), 287-293.
- [33] Santos Junior O.O., Pedrao M.R., Dias L.F., Paula L.N., Coro F.A.G., De Souza N.E.: Fatty acid content of bovine milkfat from raw milk to yoghurt. Am. J. Applied Sci., 2012, **9** (8), 1300-1306.
- [34] Serafeimidou A., Zlatanov S., Kritikos G., Tourianis A.: Change of fatty acid profile, including conjugated linoleic acid (CLA) content, during refrigerated storage of yogurt made of cow and sheep milk. J. Food Comp. Anal., 2013, **31**, 24-30.
- [35] Shantha N.C., Ram L.N., O'Leary J., Hicks C.L., Decker E.A.: Conjugated linoleic acid concentrations in dairy products as affected by processing and storage. J. Food Sci., 1995, **60**, 695-697.
- [36] Sieber R., Collomb M., Aeschlimann A., Jelen P., Eyer H.: Impact of microbial cultures on conjugated linoleic acid in dairy products – a review. Int. Dairy J., 2004, **14**, 1-15.
- [37] Yang L., Leung L.K., Huang Y., Chen Z.Y.: Oxidative stability of conjugated linoleic acid isomers. J. Agric. Food Chem., 2000, **48**, 3072-3076.
- [38] Żegarska Z., Paszczyk B., Borejszo Z.: Conjugated linoleic acid (CLA) and *trans* C18:1 and C18:2 isomers in fat of some commercial dairy products. Pol. J. Natur. Sc., 2008, **23** (1), 248-256.

EFFECT OF STORAGE TIME ON CONTENT OF CLA AND *TRANS* C18:1 AND C18:2 ISOMERS IN YOGHURTS FROM COW'S MILK WITH NORMALIZED FAT CONTENT

S u m m a r y

The objective of the research study was to assess the contents of conjugated linoleic acid (*cis9trans11* C18:2) and *trans* C18:1 and C18:2 acids in normalized milk and in yoghurts made thereof; the yoghurts analyzed were both fresh and stored at 8 ± 1 °C for 21 days. The yoghurts were produced on a semi-industrial scale using a thermostatic method. Flex@Premium 2.0 frozen yoghurt cultures were applied to produce them.

The research study showed that the storage time of yogurts significantly ($p < 0.05$) impacted the reduction in the contents of conjugated linoleic acid (CLA) and *trans* isomers of C18:1 and C18:2 in the yoghurts. On the first day of storage, the fresh yoghurts were characterized by the highest content of *cis9trans11* C18:2 and *trans* isomers of C18:1 and C18:2. The average content of CLA in those yoghurts was 3.16 mg/g of fat. The content of *trans* C18:1 was 15.28 mg/g of fat and the content of *trans* C18:2 was 4.48 mg/g of fat. The lowest content of those isomers was found in the yoghurts on the 21st day of storage. The average contents of acids were as follows: conjugated linoleic acid: 1.95 mg/g of fat; *trans* isomers of C18:1 acid: 9.96 mg/g of fat; and *trans* isomers of C18:2 acid: 2.79 mg/g of fat. The content of CLA and the totals of *trans* C18:1 and C18:2 isomers in fat of the yoghurts analyzed were highly correlated.

Key words: CLA, *trans* isomers, yoghurt, storage ☒

GENOWEFA BONCZAR, HENRYK PUSTKOWIAK, JACEK DOMAGAŁA,
DOROTA NAJGEBAUER-LEJKO, MAREK SADY, MARIA WALCZYCKA,
MONIKA WSZOŁEK

ZAWARTOŚĆ CHOLESTEROLU I PROFIL KWASÓW TŁUSZCZOWYCH W ŚMIETANCE I ŚMIETANIE Z MLEKA TRZECH RAS KRÓW

Streszczenie

Z mleka pobranego od krów trzech ras: polskiej holsztyńsko-fryzyjskiej odmiany czarno-białej, polskiej holsztyńsko-fryzyjskiej odmiany czerwono-białej i polskiej czerwonej odwirowano tłuszcz, uzyskując śmietankę, a po jej zaszczerpieniu zakwasem maślarskim i inkubacji – śmietanę. W uzyskanych produktach oznaczono zawartość tłuszczu metodą butyrometryczną, cholesterolu – metodą enzymatyczną z oksydazą cholesterolową, profil kwasów tłuszczowych – metodą chromatografii gazowej oraz średnicę kuleczek tłuszczowych – metodą mikroskopową. Stwierdzono, że mleko krów analizowanych ras różniło się statystycznie istotnie ($p \leq 0,01$) pod względem udziału kwasów tłuszczowych: C15:0, C16:0, C18:0, C18:1n7, CLA, C20:0, C4:0, C14:0, C14:1, C17:0, C18:3n6. Rasa krów nie wpływała na udział kwasów: C6:0, C8:0, C10:0, C12:0, C18:2n6, C18:3n3, C20:1. Tłuszcz mleka krów rasy polskiej holsztyńsko-fryzyjskiej odmiany czarno-białej charakteryzował się największym udziałem kwasów: C16:0, C18:1n9, C14:0, C18:0, C12:0. W tłuszczu mleka krów rasy polskiej holsztyńsko-fryzyjskiej odmiany czerwono-białej przeważały kwasy: C14:1, C15:0, C18:0, C18:3n6, CLA, C20:0, natomiast tłuszcz mleka krów rasy polskiej czerwonej zawierał najwięcej kwasów: C4:0, C18:1n9, C18:1n7. W profilu kwasów tłuszczowych mleka wszystkich trzech ras krów dominowały kwasy: C16:0, C18:1n9 i C14:0. Nie stwierdzono różnic w profilu kwasów tłuszczowych tłuszczu mleka, śmietanki i śmietany, co świadczy o ich stabilności w trakcie wirowania i pasteryzacji mleka oraz ukwaszania kulturami starterowymi. Stwierdzono, że tłuszcz mleka zawierał nieznacznie więcej cholesterolu w porównaniu z tłuszczem śmietanki. W wyniku ukwaszenia śmietanki prawie dwukrotnie zmniejszyła się zawartość cholesterolu w tłuszczu śmietany, co spowodowane było działaniem bakterii kwaszających.

Słowa kluczowe: mleko, śmietanka, śmietana, rasa krów, profil kwasów tłuszczowych, cholesterol, średnica kuleczek tłuszczowych

Prof. dr hab. G. Bonczar, prof. dr hab. J. Domagała, dr inż. D. Najgebauer-Lejko, dr inż. M. Sady, dr inż. M. Walczycka, dr hab. M. Wszolek, prof. UR, Katedra Przetwórstwa Produktów Zwierzęcych, Wydz. Technologii Żywności, Uniwersytet Rolniczy w Krakowie, ul. Balicka 122, 30-149 Kraków, mgr inż. H. Pustkowiak, Katedra Hodowli Bydła, Wydz. Hodowli i Biologii Zwierząt, Uniwersytet Rolniczy w Krakowie, al. Mickiewicza 24/28, 30-059 Kraków. Kontakt: g.bonczar@ur.krakow.pl

Wprowadzenie

Tłuszcz mlekowy jest składnikiem wpływającym na wartość energetyczną, odżywczą, dietetyczną oraz przydatność technologiczną mleka. Ze względu na stopień rozproszenia jest najlepiej strawnym tłuszczem pochodzenia zwierzęcego. O dużej dyspersji tłuszczu świadczy liczba $2 \div 6$ mld kuleczek tłuszczowych w 1 ml mleka, których 80 % ma średnicę $3 \div 4 \mu\text{m}$ [9, 14, 22, 35]. Tłuszcz mlekowy to mieszanina tłuszczów prostych (triacylgliceroli – 98,3 %, diacylgliceroli – 0,3 %, monoacylgliceroli – 0,03 %), złożonych (fosfolipidów – $0,5 \div 1$ %) oraz substancji towarzyszących: steroli – $0,2 \div 0,5$ % (w tym cholesterolu $0,2 \div 0,4$ %), karotenoidów, witamin A, D, E i K, wolnych kwasów tłuszczowych (0,1 %) i związków zapachowych (śladowe ilości) [14, 35, 36].

Oprócz glicerolu tłuszcze proste zawierają kwasy tłuszczowe karboksylowe, głównie monokarboksylowe [36]. W tłuszczu mlekowym znajduje się $400 \div 500$ kwasów tłuszczowych. Spośród nich ok. 15 występuje w ilości ponad 1 %, co stanowi ok. 95 % masy kwasów tłuszczowych tłuszczu mleka. Pozostałe kwasy występują w mniejszych, a nawet w śladowych ilościach [35, 36].

Rozróżnia się kwasy tłuszczowe (KT) nasycone (SFA, ang. *Saturated Fatty Acids*) i nienasycone (UFA, ang. *Unsaturated Fatty Acids*) [35, 36]. W grupie nasyconych kwasów tłuszczowych ($60 \div 70$ % KT) krótko- i średniołańcuchowe (SFAsmc – C4:0 \div C10:0) stanowią $17 \div 25$ %, a długołańcuchowe (SFAlc – od C12:0) – $45 \div 53$ % [33, 34, 36]. SFAsmc są dobrymi składnikami energetycznymi dla organizmu człowieka, pozytywnie oddziałują na ścianę żołądka i jelit oraz procesy trawienne, regulują tworzenie triacylgliceroli i cholesterolu, dzięki czemu wykazują działanie przeciwmiażdżycowe. Przeciwdziałają też chorobom układu krążenia [28]. Z kolei SFAlc są podstawą budowy lipidów, fosfolipidów, glikoprotein i lipoprotein w organizmie człowieka [28, 29]. Przypisuje im się właściwości hiperlipidemiczne i hipercholesterolemiczne, co jest podważane przez niektórych autorów [6, 7, 28].

Nienasycone kwasy tłuszczowe, stanowiące $30 \div 35$ % KT w mleku, składają się z kwasów: jednonienasyconych (MUFA, ang. *Monounsaturated Fatty Acids*) z jednym wiązaniem podwójnym oraz z wielonienasyconych (PUFA, ang. *Polyunsaturated Fatty Acids*) o dwóch wiązaniach podwójnych lub większej ich liczbie [34, 35, 36]. Głównym przedstawicielem MUFA jest kwas oleinowy (C18:1 n-9), natomiast PUFA są reprezentowane przez kwasy: linolowy (n-6) i α -linolenowy (n-3), należące do niezbędnych nienasyconych kwasów tłuszczowych (NNKT) [29]. Kwas oleinowy obniża poziom frakcji LDL cholesterolu we krwi, działa hipolipidemicznie, przeciwnowotworowo, przeciwmiażdżycowo i obniża ciśnienie krwi [28]. Funkcja PUFA, a zwłaszcza CLA, polega na działaniu przeciwnowotworowym, cytotoksycznym (w stosunku do patogenów), chroniącym przed wolnymi rodnikami, hamującym enzymy powodujące

gromadzenie tłuszczu w tkance, bakteriostatycznym i antyoksydacyjnym [17, 267, 28, 29, 33, 36].

O wartości żywieniowej i dietetycznej tłuszczu mlekowego decyduje nie tylko występowanie w nim poszczególnych kwasów tłuszczowych, ale również zawartość cholesterolu [7, 26, 32, 34]. W produktach mlecznych waha się ona od 3 mg/100 g (w mleku odtłuszczonym) do 239 mg/100 g (w maśle) [4, 8, 15, 16, 18, 24, 26, 31, 33, 34, 37, 38]. Cholesterol postrzegany jest jako niekorzystny składnik żywności, choć jedynie 25 % jego ilości zostaje wchłonięte przez organizm człowieka [7]. W niewielkim więc stopniu wpływa na poziom cholesterolu we krwi, który wynika głównie z syntezy w wątrobie. Cholesterol jest prekursorem ważnych związków, takich jak: hormony kory nadnerczy i gruczołów płciowych, kwasy żółciowe oraz witamina D₃. Decyduje o właściwościach reologicznych tkanek podczas zjawiska zwanego „flip-flop” (umożliwiającego szybkie zmiany kształtu narządów), wpływając na pracę serca, płuc, jelit i strun głosowych. Minimalna ilość cholesterolu (3 %) jest warunkiem prawidłowego funkcjonowania tkanki nerwowej [5, 7, 27]. Część cholesterolu może być jednak odkładana w ściankach naczyń krwionośnych, tworząc blaszkę miażdżycową, która prowadzi do miażdżycy, choroby wieńcowej, udaru, zatorów, nadciśnienia, kamicy żółciowej i in. [14].

W celu ograniczenia spożycia cholesterolu z produktami mlecznymi prowadzone są badania dotyczące czynników wpływających na jego zawartość w tych produktach oraz metod obniżania jego poziomu.

Jednym z czynników wpływających na zawartość i skład tłuszczu w mleku jest rasa krów [1, 2, 3, 4, 8, 11, 18, 19, 25, 30, 37, 38]. W Polsce najliczniej reprezentowaną rasą krów użytkowanych mlecznie jest polska holsztyńsko-fryzyjska odmiana czarno-białej, która stanowi prawie 87 % pogłowia. Odmiana czerwono-biała tej rasy jest na drugim miejscu pod względem liczebności i stanowi ok. 4 % pogłowia krów [30]. Rasa polska czerwona jest jedną z najstarszych w Europie Środkowej, a w Polsce powszechnie spotyka się ją na terenie Małopolski [1].

Jednym ze sposobów przerobu mleka jest odwirowanie jego tłuszczu w celu uzyskania śmietanki, a po jej ukwaszeniu – śmietany. Odwirowanie tłuszczu powoduje zmianę proporcji w składnikach mleka, zarówno w mleku odtłuszczonym, jak i w śmietance. Wynikiem ukwaszania jest natomiast zmiana właściwości fizykochemicznych śmietany w porównaniu ze śmietanką, na skutek działania bakterii fermentacji mlekowej. Bakterie te wykorzystują do swoich przemian metabolicznych niektóre składniki śmietanki. Ponadto wykazują one zdolność zmniejszania zawartości cholesterolu w produktach mlecznych ukwaszonych w porównaniu z produktami niepoddanyymi fermentacji mlekowej [15, 16]. W literaturze przedmiotu brak jest informacji na temat wpływu fermentacji mlekowej na profil kwasów tłuszczowych tłuszczów zawartych w śmietanie.

Celem pracy była ocena profilu kwasów tłuszczowych i zawartości cholesterolu w śmietance i śmietanie wyprodukowanej z mleka krów 3 głównych ras użytkowanych w gospodarstwach prywatnych na terenie Podhala.

Material i metody badań

Materiałem doświadczalnym było mleko zbiorcze pochodzące z 3 gospodarstw położonych na Podhalu, utrzymujących krowy rasy polskiej holsztyńsko-fryzyjskiej odmiany czarno-białej, polskiej holsztyńsko-fryzyjskiej odmiany czerwono-białej i polskiej czerwonej. Stada krów były pod stałą kontrolą wartości użytkowej prowadzonej przez Polską Federację Hodowców Bydła i Producentów Mleka (PFHBiPM) – przedstawicielstwo w Krakowie. Mleko pobierano w okresie letnim (czerwiec - lipiec), w odstępach tygodniowych, z rannego udoju, trzykrotnie ze zbiorników chłodniczych. W tym czasie we wszystkich trzech stadach liczących 45 ÷ 50 sztuk krów, podstawą żywienia była zielonka pastwiskowa. Analizy mleka wykonywano w czasie nie dłuższym niż 2 h od udoju. Mleko poddawano wirowaniu w wirówce laboratoryjnej od-tłuszczającej Spomasz LWG24E (Spomasz, Polska). Uzyskiwano śmietankę, którą pasteryzowano w temp. 95 °C przez 10 min, a po schłodzeniu do temp. 22 °C zaszczepiano ją 2-procentowym dodatkiem zakwasu dvs CH-N11 (Christian Hansen, Dania) o składzie: *Lactococcus lactis* ssp. *lactis*, *Lactococcus lactis* ssp. *diacetylactis*, *Leuconostoc mesenteroides* ssp. *cremoris*. Śmietankę inkubowano w temp. 22 °C przez 12 h, po czym uzyskiwano śmietanę.

W mleku oznaczano zawartość: tłuszczu – metodą butyrometryczną w tłuszczomierzach Gerbera [21], suchej masy na podstawie wzoru Fleischmanna [21] oraz cholesterolu – metodą enzymatyczną z cholesterolazą (oksydaza cholesterolowa) (Enzymatic BioAnalysis), opracowaną przez firmę Boehringer Mannheim/R-Biopharm (Niemcy) [12]. Metoda ta polega na pomiarze absorbancji (przy $\lambda = 405$ nm) roztworu kontrolnego i roztworu badanego po dodaniu odczynnika (enzymu oksydazy cholesterolowej). Absorbancję mierzono przy użyciu spektrofotometru Helios Gamma i Delta (Spectro-Lab, Polska). Ponadto oznaczano średnicę kuleczek tłuszczowych – metodą mikroskopową [21] przy użyciu mikroskopu Biological Microscope Meiji Techno CO. Ltd. model MT 5310 L z kamerą Moti Cam 2500 5,0 MPixel, (MEIJI, Japonia), przy 40-krotnym powiększeniu. Określano też profil kwasów tłuszczowych metodą chromatografii gazowej, opisaną przez Manna [23]. Rozdział kwasów tłuszczowych prowadzono w chromatografii gazowej Trace GC Ultra (Thermo Electron Corporation, Włochy) z detektorem płomieniowo-jonizacyjnym (detektor FID, temp. 250 °C), z kolumną Supelcowax (30 m × 0,25 mm × 0,25 μ m). Gazem nośnym był hel o prędkości przepływu 2 ml/min. Temperatura rozdziału: dozownik – 220 °C, kolumna – 60 °C (3 min) do 200 °C, przyrost temp. – 7 °C/ min, w 200 °C – 20 min, split flow 10 ml/min.

W śmietance i śmietanie oznaczano: zawartość tłuszczu – metodą butyrometryczną w tłuszczomierzach Köhlera [21], zawartość cholesterolu – metodą enzymatyczną z cholesterolazą (oksydaza cholesterolowa) – jak w mleku, średnicę kuleczek tłuszczowych – metodą mikroskopową – jak w mleku oraz profil kwasów tłuszczowych – metodą chromatografii gazowej – jak w mleku.

Wyniki badań opracowano statystycznie za pomocą programu komputerowego „Statistica v. 8,0”. Obliczono wartości średnie analizowanych parametrów i odchylenia standardowe. Przeprowadzono jedno- i dwuczynnikową analizę wariancji. Istotność różnic między wartościami średnimi weryfikowano wielokrotnym testem rozstępu Duncana przy $p \leq 0,05$ i $p \leq 0,01$.

Wyniki i dyskusja

Mleko krów rasy polskiej holsztyńsko-fryzyjskiej (phf) odmiany czerwono-białej zawierało najwięcej suchej masy i tłuszczu, natomiast w mleku krów tej rasy odmiany czarno-białej stwierdzono najmniej tych składników (tab. 1). Różnice między wartościami średnimi okazały się jednak statystycznie nieistotne. Jak podają Reklewska i wsp. [30], średnia zawartość tłuszczu w mleku krów rasy phf odmiany czerwono-białej, objętych kontrolą użytkowości mlecznej w 2014 r., wynosiła 4,14 % i była większa o 0,08 p.p. w porównaniu z mlekiem krów rasy phf odmiany czarno-białej. Uzyskana w badaniach własnych znacząco większa zawartość tłuszczu w mleku krów rasy phf odmiany czerwono-białej, w porównaniu z populacją objętą kontrolą użytkowości mlecznej, może wynikać z wielu przyczyn, których jednak nie analizowano. Matwijnuk i Król [25] wykazały, że zawartość tłuszczu w mleku krów phf odmiany czerwono-białej wynosiła 4,38 % i była o 0,04 p.p. większa w porównaniu z mlekiem tej rasy o umaszczeniu czarno-białym. Barłowska [1] oraz Barłowska i wsp. [3, 4] wykazali największą zawartość tłuszczu w mleku pochodzącym od krów rasy polskiej czerwonej i istotnie mniejszą zawartość tego składnika w mleku krów rasy phf odmiany czarno-białej i czerwono-białej. Również Litwińczuk i wsp. [20] nie stwierdzili różnic zawartości tłuszczu pomiędzy mlekiem ras phf odmiany czarno- i czerwono-białej.

Najwięcej cholesterolu oznaczono w mleku (jak i w tłuszczu) pochodzącym od krów rasy polskiej czerwonej, a najmniej w mleku krów rasy phf odmiany czarno-białej (tab. 1). Barłowska i wsp. [4] oraz Litwińczuk i wsp. [19] wykazali większą zawartość cholesterolu w mleku krów rasy phf odmiany czerwono-białej w porównaniu z odmianą czarno-białą, chociaż średnie wartości cholesterolu uzyskane przez wymienionych autorów są ok. dwukrotnie wyższe od wyników własnych. Zdaniem wielu autorów przeciętna zawartość cholesterolu w mleku krowim mieści się w przedziale $10 \div 18$ mg/100 g [8, 10, 11, 15, 24, 34].

Najmniejszą średnicą kuleczek tłuszczowych charakteryzowało się mleko krów rasy polskiej czerwonej, a największą – phf odmiany czarno-białej, choć analiza wariancji nie potwierdziła występowania istotności różnic między średnimi. Barłowska i wsp. [4] wykazali, że udział kuleczek tłuszczowych małych ($< 6 \mu\text{m}$), średnich ($7 \div 10 \mu\text{m}$) i dużych ($> 10 \mu\text{m}$) w mleku krów ras: a) phf odmiany czarno-białej, b) phf odmiany czerwono-białej i c) polskiej czerwonej żywionych tradycyjnie wynosił odpowiednio [%]: a) 48,15, 40,57 i 10,04, b) 58,62, 36,67 i 8,71 c) 46,46, 35,27 i 18,46. Lopez [22] uważa, że średnica kuleczek tłuszczowych w mleku zależy od gatunku zwierząt, rasy, sposobu żywienia, zawartości tłuszczu i in. Według autora średnica kuleczek tłuszczowych w mleku krowim wynosi $3,5 \div 4,0 \mu\text{m}$. Fox [9] podaje, że 75 % kuleczek tłuszczowych w mleku krowim ma średnicę $< 1 \mu\text{m}$, ale obserwuje się wahania od 0,1 do $20 \mu\text{m}$ w zależności od rasy i od okresu laktacji krów. Według tego autora największą średnicą charakteryzują się kuleczki mleka pochodzącego od krów ras Jersey i Guernsey, o wysokim poziomie tłuszczu, przy czym wraz z upływem laktacji średnica kuleczek ulega zmniejszeniu o 25 %.

Tabela 1. Właściwości mleka trzech ras krów

Table 1. Characteristics of milk from cows of three cow breeds

Parametry Parameters	Rasa krów / Cow breed		
	phf odmiany czarno-białej PHF black-white variety	phf odmiany czerwono-białej PHF red-white variety	polska czerwona Polish Red
	$\bar{x} \pm s / SD$	$\bar{x} \pm s / SD$	$\bar{x} \pm s / SD$
Zawartość suchej masy Dry matter content [%]	12,83 \pm 0,83	13,50 \pm 0,60	13,19 \pm 0,29
Zawartość tłuszczu Fat content [%]	4,27 \pm 0,17	4,98 \pm 0,61	4,70 \pm 0,25
Zawartość cholesterolu Cholesterol content [mg/g tłuszczu / fat]	2,39 \pm 0,07	2,44 \pm 0,38	3,21 \pm 0,71
Zawartość cholesterolu Cholesterol content [mg/100 g produktu / of product]	10,23 \pm 0,70	11,75 \pm 0,75	14,31 \pm 2,82
Przeciętna średnica kuleczek tłuszczowych Average diameters of fat globules [μm]	6,99 \pm 0,25	5,81 \pm 1,12	4,95 \pm 0,55

Objaśnienia: / Explanatory notes:

phf – polska holsztyńsko-fryzyjska rasa krów / Polish Holstein-Friesian cow breed

\bar{x} – wartość średnia / mean value; s – odchylenie standardowe / SD- standard deviation; n = 3

Przy poziomie $p \leq 0,01$ wykazano statystycznie istotny wpływ rasy krów na udział kwasów: C15:0, C16:0, C18:0, C18:1n7, CLA, C20:0 w tłuszczu mleka, a przy $p \leq 0,05$ wpływ ten dotyczył kwasów: C4:0, C10:1, C14:0, C14:1, C17:0 i C18:3n6. Rasa krów nie wpływała na udział kwasów: C6:0, C8:0, C10:0, C12:0, C18:2n6, C18:3n3 i C20:1 (tab. 2).

Tłuszcz mlekowy krów rasy phf odmiany czarno-białej zawierał najwięcej kwasów: C16:0, C18:1n9, C14:0, C18:0, C12:0 w porównaniu z tłuszczem pozostałych analizowanych ras krów, natomiast najmniejszy udział obejmował kwasy: C18:3n6, C20:1, C20:0 i C18:3n3. Tłuszcz mleka krów rasy phf odmiany czerwono-białej w porównaniu z tłuszczem mleka pozostałych ras krów zawierał najwięcej kwasów: C14:1, C15:0, C18:0, C18:3n6, CLA i C20:0. Z kolei tłuszcz mlekowy krów rasy polskiej czerwonej w porównaniu z pozostałymi rasami charakteryzował się największą zawartością kwasów: C4:0, C18:1n9 i C18:1n7.

Z przeprowadzonej analizy wynika, że największym udziałem nasyconych kwasów tłuszczowych (SFA) charakteryzował się tłuszcz mleka krów rasy phf odmiany czarno-białej, a najmniejszym – polskiej czerwonej. Litwińczuk i wsp. [19, 20] stwierdzili, że mleko krów rasy phf odmiany czarno-białej zawierało więcej SFA niż mleko krów rasy phf odmiany czerwono-białej [20] i polskiej czerwonej [19]. W tłuszczu mleka wszystkich trzech ras krów ilościowo przeważały kwasy długołańcuchowe. Różnice zawartości długołańcuchowych kwasów tłuszczowych w tłuszczu mleka różnych ras krów wykazywali również inni autorzy [1, 2, 3, 18, 19, 20, 25]. Z niektórych badań wynika, że mleko krów rasy phf odmiany czarno-białej zawiera najwięcej SFA [25], podczas gdy inni autorzy podają, że najbardziej zasobne w te kwasy jest mleko krów rasy polskiej czerwonej [1, 2].

Tabela 2. Profil kwasów tłuszczowych w mleku trzech ras krów

Table 2. Profile of fatty acids in milk produced by cows of three cow breeds

Kwasy tłuszczowe Fatty acids [g/100 g tłuszczu / of fat]	Rasa krów / Cow breed		
	phf odmiany czarno-białej PHF black-white variety	phf odmiany czerwono-białej PHF red-white variety	polska czerwona Polish Red
	$\bar{x} \pm s / SD$	$\bar{x} \pm s / SD$	$\bar{x} \pm s / SD$
C4:0	3,47 ^a ± 0,10	3,81 ± 0,07	3,92 ^b ± 0,08
C6:0	2,61 ± 0,09	2,68 ± 0,03	2,79 ± 0,05
C8:0	1,68 ± 0,06	1,66 ± 0,02	1,77 ± 0,03
C10:0	3,95 ± 0,16	3,56 ± 0,07	3,82 ± 0,04
C10:1	0,38 ^a ± 0,01	0,42 ^b ± 0,01	0,42 ± 0,01
C12:0	4,38 ± 0,18	3,91 ± 0,07	4,15 ± 0,05
C14:0	13,55 ^a ± 0,28	13,37 ± 0,10	12,62 ^b ± 0,13
C14:1	1,09 ^b ± 0,01	1,27 ^a ± 0,04	1,16 ^b ± 0,02

Kwasy tłuszczowe Fatty acids [g/100 g tłuszczu / of fat]	Rasa krów / Cow breed		
	phf odmiany czarno-białej PHF black-white variety	phf odmiany czerwono-białej PHF red-white variety	polska czerwona Polish Red
	$\bar{x} \pm s / SD$	$\bar{x} \pm s / SD$	$\bar{x} \pm s / SD$
C15:0	1,28 ^{Ba} ± 0,01	1,37 ^{Bb} ± 0,02	1,01 ^A ± 0,00
C16:0	34,47 ^A ± 0,02	29,94 ^B ± 0,53	29,24 ^B ± 0,29
C16:1	0,30 ± 0,01	0,34 ± 0,01	0,34 ± 0,02
C16:1a	1,69 ± 0,08	1,67 ± 0,00	1,76 ± 0,01
C17:0	0,44 ^a ± 0,02	0,54 ^b ± 0,03	0,45 ± 0,01
C17:1	0,24 ± 0,03	0,31 ± 0,03	0,27 ± 0,03
C18:0	8,71 ^A ± 0,10	9,78 ^B ± 0,15	9,72 ^B ± 0,01
C18:1n9	17,29 ^{Aa} ± 0,59	20,41 ^b ± 0,44	21,22 ^B ± 0,05
C18:1n7	1,86 ^A ± 0,04	2,30 ^{Ba} ± 0,03	2,46 ^{Bb} ± 0,03
C18:2n6	1,30 ± 0,09	1,22 ± 0,04	1,43 ± 0,01
C18:3n6	0,07 ^a ± 0,01	0,09 ^b ± 0,01	0,08 ± 0,00
C18:3n3	0,50 ± 0,08	0,40 ± 0,04	0,53 ± 0,01
CLA	0,52 ^{Aa} ± 0,03	0,69 ^B ± 0,01	0,65 ^b ± 0,01
C20:0	0,13 ^a ± 0,00	0,15 ^{Ab} ± 0,01	0,11 ^{Bc} ± 0,01
C20:1	0,11 ± 0,01	0,13 ^a ± 0,01	0,10 ^b ± 0,01
SFA	74,65 ^a ± 0,94	70,75 ^b ± 0,54	69,58 ^b ± 0,07
SFA smc	11,71 ± 0,41	11,70 ± 0,05	12,29 ± 0,19
SFA lc	62,94 ^A ± 0,53	59,05 ^B ± 0,49	57,29 ^B ± 0,12
UFA	26,18 ^A ± 0,04	29,21 ^B ± 0,54	30,38 ^B ± 0,07
MUFA	23,82 ^A ± 0,14	26,82 ^B ± 0,45	27,71 ^B ± 0,06
PUFA	2,36 ± 0,18	2,39 ± 0,09	2,68 ± 0,01
UFA/SFA	0,36 ^A ± 0,01	0,41 ^{Ba} ± 0,01	0,44 ^{Bb} ± 0,00
MUFA/SFA	0,32 ^A ± 0,00	0,38 ^B ± 0,01	0,40 ^B ± 0,00
PUFA/SFA	0,03 ± 0,00	0,04 ± 0,01	0,04 ± 0,00

Objaśnienia: / Explanatory notes:

\bar{x} – wartość średnia /mean value; s – odchylenie standardowe / SD – standard deviation; n = 3

a, b – 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 at $p \leq 0,05$;

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

W profilu kwasów tłuszczowych mleka wszystkich ras krów zaobserwowano największy udział kwasu palmitynowego C16:0, a w dalszej kolejności: oleinowego C18:1n9, mirystynowego C14:0, stearynowego C18:0, laurynowego C12:0, kaprynowego C10:0, masłowego C4:0, kapronowego C6:0 i kaprylowego C8:0. Podobne wyniki uzyskali inni autorzy [8, 22, 25, 35, 36].

Największym udziałem nienasyconych (UFA), w tym jednonienasyconych (MUFA) i wielonienasyconych (PUFA), kwasów tłuszczowych charakteryzował się tłuszcz mleka pozyskanego od krów rasy polskiej czerwonej, natomiast najmniejszym udziałem UFA cechował się tłuszcz mleka krów rasy phf odmiany czarno-białej (tab. 2). Mniejszy udział kwasów nienasyconych w mleku krów rasy phf odmiany czarno-białej w porównaniu z mlekiem innych ras krów stwierdzili również inni autorzy [1, 2, 3, 11, 18, 19, 25, 37, 38]. Mleko krów rasy polskiej czerwonej zawierało najwięcej kwasu wakceniowego C18:1n7 (tab. 2), który może być syntetyzowany tylko przez zwierzęta przeżuwające [5].

W prawidłowej diecie człowieka istotne znaczenie ma stosunek spożywanych kwasów jedno- i wielonienasyconych do nasyconych. W badaniach własnych dowiedziono, że najkorzystniejszym stosunkiem MUFA/SFA oraz PUFA/SFA charakteryzował się tłuszcz mleka krów rasy polskiej czerwonej (odpowiednio: 0,35, 0,03) i phf odmiany czerwono-białej (odpowiednio: 0,33, 0,02), a najmniej korzystnym – tłuszcz mleka krów phf odmiany czarno-białej (tab. 2). Wyniki Barłowskiej [1] są również potwierdzeniem, że mleko krów rasy phf odmiany czarno-białej charakteryzuje się niekorzystną proporcją kwasów MUFA/SFA i PUFA/SFA.

Zawartość tłuszczu w śmietance i śmietanie nie różniła się statystycznie istotnie (tab. 3). Przeciętna średnica kuleczek tłuszczowych w śmietance i śmietanie w porównaniu z mlekiem uległa zmniejszeniu, ale nie zostało to potwierdzone statystycznie. Wykazano natomiast, że w porównaniu z mlekiem 8-krotnemu zwiększeniu zawartości tłuszczu w śmietance towarzyszył przeszło 7-krotny wzrost poziomu cholesterolu ($p \leq 0,01$). Zależność zawartości cholesterolu od ilości tłuszczu w produktach mlecznych potwierdzają dane literaturowe [8, 10, 24, 34, 35, 36, 38].

Zawartość cholesterolu w śmietanie zmniejszyła się do 52,5 % początkowej jego ilości w śmietance (tab. 3). W przeliczeniu na 1 g tłuszczu zawartość cholesterolu w śmietance uległa statystycznie nieistotnemu zmniejszeniu w porównaniu z mlekiem, ale po jej ukwaszeniu poziom cholesterolu w 1 g tłuszczu zmniejszył się o 55 % w porównaniu z mlekiem i o 52 % w porównaniu ze śmietanką. Seckin i wsp. [32] podają, że tłuszcz 35-procentowej śmietanki produkowanej w Turcji zawierał $1,74 \div 2,15$ mg cholesterolu w 1 g. Juśkiewicz i wsp. [15] zastosowali do ukwaszenia śmietanki dodatek mezofilnych bakterii fermentacji mlekowej. W śmietanie wykazali zawartość cholesterolu mniejszą o $3,7 \div 10$ % w porównaniu ze śmietanką.

W niniejszych badaniach stwierdzono brak statystycznie istotnych różnic między mlekiem, śmietanką i śmietaną pod względem udziału wszystkich kwasów tłuszczowych, z wyjątkiem C6:0 (tab. 4). Seckin i wsp. [32] dowiedli, że niezależnie od rodzaju produktu mlecznego ich tłuszcz charakteryzuje się zbliżonym profilem kwasów tłuszczowych, przy czym zawierają one najwięcej kwasów C16:0 i C18:1n9.

Tabela 3. Zawartość tłuszczu, cholesterolu i średnica kuleczek tłuszczowych w mleku, śmietance i śmietanie, determinowane wpływem rasy krów (od których pochodziło mleko) i rodzajem produktu
 Table 3. Content of fat and cholesterol, and diameter of fat globules in milk, sweet cream and cream as impacted by breed of cows (that produced milk analyzed) and by type of product

Parametry Parameters	Czynniki/Factors					
	Rasa krów / Cow breed			Rodzaj produktu / Type of product		
	phf odmiany czarno-białej PHF black-white variety	phf odmiany czerwono-białej PHF red-white variety	polka czerwona Polish Red	mleko milk	śmietanka sweet cream	śmietana cream
	$\bar{x} \pm s / SD$	$\bar{x} \pm s / SD$	$\bar{x} \pm s / SD$	$\bar{x} \pm s / SD$	$\bar{x} \pm s / SD$	$\bar{x} \pm s / SD$
Zawartość tłuszczu Fat content [%]	26,98 ± 5,85	24,77 ± 5,17	28,01 ± 5,86	4,65 ^A ± 0,22	37,78 ^B ± 1,63	37,33 ^B ± 1,72
Zawartość cholesterolu Cholesterol content [mg/g tłuszczu / fat]	1,93 ± 0,27	2,05 ± 0,23	1,93 ± 0,23	2,55 ^B ± 0,15	2,20 ^B ± 0,13	1,15 ^A ± 0,09
Zawartość cholesterolu Cholesterol content [mg/100 g produktu / of product]	44,69 ± 0,91	46,29 ± 10,29	45,38 ± 9,17	11,65 ^A ± 0,40	81,75 ^B ± 2,86	42,95 ^C ± 3,92
Średnica kuleczek tłuszczowych Diameter of fat globules [μ]	4,43 ± 1,27	3,93 ± 0,77	4,36 ± 0,89	5,92 ± 0,86	5,02 ± 0,52	5,02 ± 0,54

Objaśnienia: / Explanatory notes

\bar{x} – wartość średnia /mean value; s – odchylenie standardowe / SD – standard deviation; n = 9

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

Udział kwasów tłuszczowych w tłuszczu badanych produktów był zbliżony do podawanego przez wymienionych autorów. Również z badań Seckina i wsp. [32] wynika, że udział kwasów SFA, MUFA i PUFA w śmietance jest podobny do stwierdzonego w badaniach własnych. Wykazano, że rasa krów miała statystycznie istotny wpływ na udział wszystkich kwasów tłuszczowych w badanych produktach, z wyjątkiem C6:0, C8:0 i C16:1 (tab. 4).

Tabela 4. Udział kwasów tłuszczowych w tłuszczu mleka, śmietanki i śmietany, determinowany wpływem rasy krów (od których pochodziło mleko) i rodzajem produktu

Table 4. Content of fatty acids in milk, sweet cream, and cream as impacted by breed of cows (that produced milk analyzed) and type of product.

Kwasy tłuszczowe Fatty acids [g/100 g tłuszczu / of fat]	Czynniki/Factors					
	Rasa krów / Cow breed			Rodzaj produktu / Type of product		
	phf odmiany czarno-białej PHf black- white variety	phf odmiany czerwo- białej PHf red-white variety	polska czerwona Polish Red	mleko milk	śmietanka sweet cream	śmietana cream
	$\bar{x} \pm s / SD$	$\bar{x} \pm s / SD$	$\bar{x} \pm s / SD$	$\bar{x} \pm s / SD$	$\bar{x} \pm s / SD$	$\bar{x} \pm s / SD$
C4:0	3,65 ^a ± 0,08	3,94 ^b ± 0,06	3,94 ^b ± 0,06	3,73 ± 0,09	3,86 ± 0,06	3,94 ± 0,09
C6:0	2,76 ± 0,07	2,78 ± 0,04	2,82 ± 0,02	2,69 ^a ± 0,04	2,83 ^b ± 0,02	2,86 ^b ± 0,04
C8:0	1,77 ± 0,04	1,70 ± 0,03	1,78 ± 0,01	1,70 ± 0,03	1,76 ± 0,03	1,79 ± 0,03
C10:0	4,11 ^{Aa} ± 0,08	3,65 ^{Bb} ± 0,07	3,82 ^b ± 0,01	3,78 ± 0,09	3,88 ± 0,11	3,93 ± 0,11
C10:1	0,40 ± 0,01	0,43 ± 0,01	0,44 ± 0,02	0,41 ± 0,01	0,44 ± 0,02	0,42 ± 0,01
C12:0	4,53 ^A ± 0,08	3,95 ^B ± 0,07	4,13 ^B ± 0,03	4,15 ± 0,10	4,20 ± 0,14	4,25 ± 0,13
C14:0	13,69 ^{Ba} ± 0,10	13,29 ^{Bb} ± 0,11	12,54 ^A ± 0,09	13,18 ± 0,20	13,13 ± 0,26	13,22 ± 0,24
C14:1	1,10 ^B ± 0,01	1,25 ^A ± 0,02	1,15 ^B ± 0,01	1,17 ± 0,03	1,17 ± 0,03	1,17 ± 0,03
C15:0	1,28 ^A ± 0,01	1,35 ^B ± 0,01	1,00 ^C ± 0,01	1,22 ± 0,07	1,21 ± 0,07	1,20 ± 0,06
C16:0	34,10 ^A ± 0,13	29,78 ^B ± 0,28	29,10 ^B ± 0,19	31,21 ± 1,05	30,96 ± 0,97	30,81 ± 1,01
C16:1	0,28 ^a ± 0,01	0,30 ± 0,02	0,33 ^b ± 0,01	0,32 ± 0,01	0,30 ± 0,01	0,30 ± 0,02
C16:1a	1,66 ± 0,04	1,65 ± 0,01	1,75 ± 0,04	1,71 ± 0,03	1,69 ± 0,02	1,67 ± 0,03
C17:0	0,44 ^B ± 0,01	0,55 ^A ± 0,02	0,46 ^B ± 0,01	0,48 ± 0,02	0,48 ± 0,03	0,49 ± 0,03
C17:1	0,24 ^A ± 0,01	0,32 ^B ± 0,01	0,27 ± 0,01	0,27 ± 0,02	0,29 ± 0,02	0,27 ± 0,01
C18:0	8,66 ^A ± 0,13	9,74 ^B ± 0,10	9,83 ^B ± 0,07	9,40 ± 0,23	9,38 ± 0,29	9,45 ± 0,26
C18:1n9	16,85 ^A ± 0,28	20,26 ^{Ba} ± 0,29	21,28 ^{Bb} ± 0,12	19,64 ± 0,68	19,48 ± 0,92	19,27 ± 0,23
C18:1n7	1,85 ^A ± 0,01	2,33 ^{Ba} ± 0,03	2,47 ^{Ba} ± 0,03	2,20 ± 0,11	2,22 ± 0,13	2,23 ± 0,12
C18:2n6	1,28 ^b ± 0,04	1,23 ^a ± 0,01	1,41 ^b ± 0,03	1,31 ± 0,05	1,31 ± 0,04	1,31 ± 0,05
C18:3n6	0,07 ^{Aa} ± 0,00	0,08 ^B ± 0,00	0,08 ^b ± 0,00	0,08 ± 0,00	0,08 ± 0,00	0,08 ± 0,00
C18:3n3	0,52 ^A ± 0,01	0,69 ^{Ba} ± 0,01	0,65 ^{Bb} ± 0,01	0,62 ± 0,03	0,62 ± 0,03	0,61 ± 0,03
CLA	0,52 ^A ± 0,01	0,69 ^{Ba} ± 0,01	0,65 ^{Bb} ± 0,01	0,62 ± 0,03	0,62 ± 0,03	0,61 ± 0,03
C20:0	0,13 ^{Ba} ± 0,00	0,15 ^A ± 0,00	0,11 ^{Bb} ± 0,00	0,13 ± 0,01	0,13 ± 0,01	0,13 ± 0,01
C20:1	0,10 ^B ± 0,00	0,13 ^A ± 0,00	0,10 ^B ± 0,00	0,11 ± 0,01	0,11 ± 0,01	0,11 ± 0,01
SFA	72,83 ± 2,43	70,71 ± 0,48	70,31 ± 0,83	71,66 ± 1,01	69,43 ± 2,01	72,76 ± 1,16
SFA smc	12,31 ± 0,28	12,07 ± 0,17	12,44 ± 0,09	11,90 ± 0,17	12,41 ± 0,15	12,51 ± 0,18
SFA lc	60,52 ± 2,40	58,81 ± 0,31	57,87 ± 0,87	59,76 ± 1,07	57,19 ± 1,56	60,25 ± 1,12
TUFA	24,84 ^A ± 0,40	28,14 ^{Ba} ± 0,38	30,46 ^{Bb} ± 0,18	28,37 ± 1,03	28,17 ± 1,15	27,90 ± 1,17
MUFA	22,48 ^A ± 0,33	26,73 ^B ± 0,36	27,79 ^B ± 0,14	25,89 ± 0,98	25,69 ± 1,10	25,42 ± 1,11
PUFA	2,36 ^b ± 0,07	2,41 ^b ± 0,03	2,67 ^a ± 0,05	2,48 ± 0,08	2,48 ± 0,08	2,47 ± 0,08
UFA/SFA	0,35 ^A ± 0,02	0,41 ^B ± 0,01	0,44 ^B ± 0,01	0,40 ± 0,02	0,41 ± 0,02	0,39 ± 0,02
MUFA/SFA	0,31 ^A ± 0,01	0,38 ^B ± 0,01	0,40 ^B ± 0,01	0,36 ± 0,02	0,37 ± 0,02	0,35 ± 0,02
PUFA/SFA	0,03 ^a ± 0,00	0,03 ± 0,00	0,04 ^b ± 0,00	0,04 ± 0,00	0,04 ± 0,00	0,03 ± 0,00

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

Wnioski

1. Mleko krów trzech ras: polskiej holsztyńsko-fryzyjskiej odmiany czarno-białej, polskiej holsztyńsko-fryzyjskiej odmiany czerwono-białej i polskiej czerwonej różniło się statystycznie istotnie pod względem profilu kwasów tłuszczowych.
2. Tłuszcz mleka zawierał więcej cholesterolu w porównaniu z tłuszczem śmietanki, a ukwaszenie śmietanki wpłynęło na prawie dwukrotne zmniejszenie jego zawartości w tłuszczu śmietany, co spowodowane było działaniem bakterii kwaszących.
3. Nie stwierdzono różnic w mleku, śmietance i śmietanie pod względem profilu kwasów tłuszczowych, co świadczy o ich stabilności w trakcie wirowania tłuszczu, pasteryzacji mleka i ukwaszania kulturami starterowymi.

Pracę zrealizowano w ramach działalności statutowej WTŻ Uniwersytetu Rolniczego w Krakowie, nr tematu DS. 3700/WTŻ.

Literatura

- [1] Barłowska J.: Wartość odżywcza i przydatność technologiczna mleka krów 7 ras użytkowanych w Polsce. Rozprawy naukowe. Wyd. AR, Lublin 2007, ss. 54-64.
- [2] Barłowska J., Litwińczuk Z.: Genetyczne i środowiskowe uwarunkowania profilu kwasów tłuszczowych mleka. *Med. Weter.*, 2009, **65** (5), 310-314.
- [3] Barłowska J., Litwińczuk Z., Król J., Kędzierska-Matyssek M.: Fatty acid profile and minerals content in milk from cows of various breeds over spring-summer feeding period. *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, 2006, **56** (15), 13-16.
- [4] Barłowska J., Szwałkowska M., Litwińczuk Z., Matwijczuk A.: The influence of cow breed and feeding system on the dispersion state of milk fat and content of cholesterol. *Rocz. Nauk. Pol. Tow. Zootech.*, 2011, **7** (3), 57-65.
- [5] Cichosz G., Cieczot H.: Kwasy tłuszczowe izomerii trans w diecie człowieka. *Bromat. Chem. Toksykol.*, 2012, **XLV** (2), 181-190.
- [6] Cichosz G.: Prozdrowotne właściwości tłuszczu mlekowego. *Przeł. Mlecz.*, 2007, **5**, 4-8.
- [7] Cichosz G., Cieczot H.: Kontrowersje wokół cholesterolu pokarmowego. *Pol. Merk. Lek.*, 2012, **193** (33), 38-42.
- [8] Talpur F.N., Bhanger M.I., Khuhawar M.Y.: Comparison of fatty acids and cholesterol content in the milk of Pakistani cow breeds. *J. Food Comp. Anal.*, 2006, **19**, 698-703.
- [9] Fox P.F.: Lipids. Fat globules in milk. In: *Encyclopedia of Dairy Science*. Ed. H. Roginsky, J.W. Fuquay, P.F. Fox. Academic Press, London 2004, pp. 1564-1568.
- [10] Grega T., Sady M., Pustkowiak H.: Poziom cholesterolu i kwasów tłuszczowych w różnych rodzajach mleka spożywczego. *Zesz. Nauk. AR w Krakowie, Technol. Żywności*, 2000, **367** (12), 85-90.
- [11] Grega T., Sady M., Kraszewski J.: Przydatność technologiczna mleka krów rasy Simental. *Rocz. Nauk. Zootech. – Ann. Anim. Sci.*, 2000, **27** (1), 331-339.
- [12] Grossmann A., Timmen H., Klostermeyer H.: Die enzymatische Bestimmung von Cholesterin in Milchlipp – eine Alternative zu den bisher gebräuchlichen Methoden. *Milchwissenschaft*, 1976, **31**, 721-724.
- [13] Grundy S.M.: Cholesterol, factors determining levels in blood. In: *Encyclopedia of Dairy Science*. Ed. H. Roginsky, J.W. Fuquay, P.F. Fox. Academic Press, London 2004, pp. 1604-1611.
- [14] Jensen R.G., Ferris A.M., Lammikeefe C.J.: Symposium – milk – fat composition, function, and potential for change – the composition of milk-fat. *J. Dairy Sci.*, 1991, **74** (9), 3228-3243.

- [15] Juśkiewicz M., Panfil-Kunczewicz H., Juśkiewicz J.: Reduction of cholesterol content in cream with the use of mesophilic dairy cultures. *Milchwissenschaft*, 2007, **62** (1), 36-39.
- [16] Kiszka J., Staniewski B., Juśkiewicz M., Rosiński P.: Reduction of cholesterol in butter depending cream acidity. *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, 1996, **46** (5), 19-28.
- [17] Kolanowski W., Świdorski F.: Wielonienasycone kwasy tłuszczowe z grupy n-3 (n-3 PUFA). Korzystne działanie zdrowotne, zalecenia spożycia, wzbogacanie żywności. *Zyw. Człow. Met.*, 1997, **2**, 49-61.
- [18] Kowal M.: Wpływ sezonu produkcji na przydatność technologiczną, profil kwasów tłuszczowych i zawartość cholesterolu w mleku pozyskiwanym od krów utrzymywanych w oborze wolnostanowskowej i żywionych systemem TMR. *Rocz. Nauk. Pol. Tow. Zootech.*, 2013, **9** (3), 47-57.
- [19] Litwińczuk Z., Barłowska J., Chabuz W., Brodziak A.: Nutritional value and technological suitability of milk from cows of three polish breeds included in the genetic resources conservation programme. *Ann. Anim. Sci.*, 2012, **12** (3), 423-432.
- [20] Litwińczuk Z., Kowal M., Barłowska J.: Podstawowy skład chemiczny oraz udział kwasów tłuszczowych i zawartość cholesterolu w mleku krów czterech ras użytkowanych w intensywnych technologiach chowu. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2014, **95** (4), 108-121.
- [21] Litwińczuk A., Litwińczuk Z., Barłowska J., Florek M., Król J., Grodzicki T., Kędzińska-Matysek M., Skalecki P.: Metody oceny towaroznawczej surowców i produktów zwierzęcych. *Wyd. Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie, Lublin* 2011.
- [22] Lopez Ch.: Milk fat globules enveloped by their biological membrane: Unique colloidal assemblies with a specific composition and structure. *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.*, 2011, **16**, 391-404.
- [23] Mann J.: Determination of fatty acid composition of milk fat by dual column temperature gas liquid chromatography. *J. Dairy Sci.*, 1964, **47**, 560-564.
- [24] Manzi P., Pizzoferrato L.: Cholesterol and antioxidant vitamins in fat fraction of whole and skimmed dairy products. *Food Bioproc. Technol.*, 2010, **3**, 234-238.
- [25] Matwijczuk A., Król J.: Profil kwasów tłuszczowych w mleku krów różnych ras w okresie wiosenno-letnim. *Przegl. Hod.*, 2009, **7**, 3-6.
- [26] Molkeintin J.: Cholesterol content and lipid composition of low fat dairy products. *Eur. Food Res. Technol.*, 2006, **223**, 253-260.
- [27] Nałęcz-Tarwacka T.: Prozdrowotne składniki frakcji tłuszczowej mleka i czynniki warunkujące ich zawartość. *Przegl. Hod.*, 2008, **11**, 4-8.
- [28] O'Brien N.M., O'Connor T.P.: Lipids. Nutritional significance. In: *Encyclopedia of Dairy Science*. Ed. H. Roginsky, J.W. Fuquay, P.F. Fox. Academic Press, London 2004, pp. 1622-1626.
- [29] Parodi P.W.: Lipids. Conjugated linoleic acid. In: *Encyclopedia of Dairy Science*. Ed. H. Roginsky, J.W. Fuquay, P.F. Fox. Academic Press, London 2004, pp. 1587-1594.
- [30] Reklewska B., Bernatowicz E., Reklewski Z., Kuczyńska B., Zdziarski K., Sakowski T., Słoniewski K.: Functional components of milk produced by Polish Black-and-White, Polish Red and Simmental cows. *EJPAU*, 2005, **8** (3), #25.
- [31] Russel C.E., Gray I.K.: The cholesterol content of dairy products. *New Zealand J. Dairy Sci. Technol.*, 1979, **14** (3), 281-289.
- [32] Seckin A.K., Gursoy O., Kinik O., Akbulut N.: Conjugated linoleic acid (CLA) concentration, fatty acid composition and cholesterol content of some Turkish dairy products. *LWT*, 2005, **38**, 909-915.
- [33] Sieber R., Eyer H.: Cholesterol removal from dairy products. In: *Encyclopedia of Dairy Science*. Ed. H. Roginsky, J.W. Fuquay, P.F. Fox. Academic Press, London 2004, pp. 1611-1617.
- [34] Taylor M.W., MacGibbon A.K.H.: Lipids, general characteristics. In: *Encyclopedia of Dairy Science*. Ed. H. Roginsky, J.W. Fuquay, P.F. Fox. Academic Press, London 2004, pp. 1544-1550.
- [35] Taylor M.W., MacGibbon A.K.H.: Lipids, fatty acids. In: *Encyclopedia of Dairy Science*. Ed. H. Roginsky, J.W. Fuquay, P.F. Fox. Academic Press, London 2004, pp. 1550-1559.
- [36] Talpur F.N., Bhanger M.I., Memon N.N.: Fatty acid composition with emphasis on conjugated linoleic acid (CLA) and cholesterol content of Pakistan dairy products. *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, 2008, **58** (3), 313-320.
- [37] Tomaszewski A.: Kształtowanie się zawartości cholesterolu w mleku krów rasy czarno-białej. *Zesz. Nauk. AR we Wrocławiu, seria Rozprawy*, 2005, 235.

- [38] Tomaszewski A., Zachwieja A., Chudoba K., Hibner A.: The relationship between cholesterol content in milk and blood of cows of domestic black and white breed graded with hf cattle. Zesz. Nauk. UP we Wrocławiu, 2010, **579**, 267-274.

CONTENT OF CHOLESTEROL AND FATTY ACID PROFILE IN SWEET CREAM AND CREAM MADE FROM MILK PRODUCED BY COWS OF THREE DIFFERENT BREEDS

S u m m a r y

Cows of three cow breeds: Polish Holstein-Friesian black-white variety; Polish Holstein-Friesian, red-white variety and Polish Red were milked and the milk was centrifuged to separate the fat in the form of sweet cream. Next, the sweet cream was inoculated with butter milk starter and, after the incubation, a cream was produced. In the products produced, the following was determined: the content of fat using a buthyrometric method; the content of cholesterol using an enzymatic method with cholesterol oxydase; the fatty acid profile using a gas chromatography method; and the diameter of fatty globules using a microscopic method. It was found that the milk from cows of three cow breeds differed statistically significantly ($p \leq 0.01$) in the content of fatty acids: C15:0, C16:0, C18:0, C18:1n7, CLA, C20:0, C4:0, C14:0, C14:1, C17:0, and C18:3n6. The cow breed had no effect on the content of the following acids: C6:0, C8:0, C10:0, C12:0, C18:2n6, C18:3n3, and C20:1. The fat in milk produced by the cows of the Polish Holstein-Friesian breed, black-white variety, was characterized by the highest contents of the following fatty acids: C 16:0, C 18:1n9, C 14:0, C 18:0, and C 12:0. In the fat in milk produced by the cows of the Polish Holstein-Friesian breed, red-white variety, the following acids prevailed: C14:1, C15:0, C18:0, C18:3n6, CLA, C20:0. In the fat in milk produced by the cows of the Polish Red breed, the amounts of the following acids were the highest: C4:0, C 18:1n9, and C 18:1n7. In the fatty acid profiles of milk produced by the cows of the three breeds, the following acids predominated: C16:0, C 18:1n9, and C14:0. No differences were found in the profiles of fatty acids in the fats of milk, sweet cream, and cream; this fact confirms their stability during the centrifugation and pasteurisation of milk as well as during the acidification with starter cultures. It was proved that the milk fat contained lightly more cholesterol compared to sweet cream fat and cream fat. The acidification of sweet cream caused the content of cholesterol therein to decrease almost twice, and this reduction resulted from the activity of starter culture bacteria.

Key words: milk, sweet cream, cream, cow breed, fatty acid profile, cholesterol, fat globules diameter ☒

BARBARA SIONEK, DANUTA KOŁOŻYŃ-KRAJEWSKA,
HALINA GAWARSKA, JACEK POSTUPOLSKI

PRZYDATNOŚĆ TECHNOLOGICZNA SZCZEPU *LACTOBACILLUS* *RHAMNOSUS* K4 DO PRODUKCJI PROBIOTYCZNEGO SOKU WARZYWNEGO

Streszczenie

Celem pracy była ocena możliwości zastosowania szczepu *Lactobacillus rhamnosus* K4 do wytworzenia produktu probiotycznego na bazie soku z kapusty białej oraz określenie bezpieczeństwa zdrowotnego proponowanego produktu w zakresie zawartości amin biogennych: putrescyny, kadaweryny, tyraminy i histydyny. Materiałem doświadczalnym był fermentowany sok z kapusty białej (*Brassica oleracea* var. *capitata*, odmiany kamienna głowa) z 2-procentowym dodatkiem sacharozy, do którego dodano 30 % soku marchwiowego oraz potencjalnie probiotyczny szczep bakterii kwasu mlekowego – *Lb. rhamnosus* K4. Ustalono warunki fermentacji: czas 6 h i temp. 37 °C, zapewniające uzyskanie produktu o najwyższej ogólnej jakości sensorycznej. Po fermentacji liczba komórek *Lb. rhamnosus* K4 wzrosła z 8,20 do 9,09 log jtk/cm³, a wartość pH obniżyła się z 6,02 do 4,84. Do 12. dnia przechowywania soku w temp. 4 i 8 °C liczba komórek utrzymywała się na stałym poziomie, a sensoryczna jakość ogólna wynosiła powyżej 5 j.u. W soku przechowywanym w temp. 23 °C nastąpiło obniżenie jakości ogólnej do 4,7 j.u. 4. dnia oraz do 2,3 j.u. – 12. dnia. Zawartość kadaweryny w świeżym soku wynosiła 0,27 mg/kg, a podczas przechowywania wzrosła do 11,01 mg/kg. Stwierdzono, że istnieje możliwość zastosowania szczepu *Lb. rhamnosus* K4 do produkcji akceptowanego sensorycznie fermentowanego soku z kapusty z dodatkiem surowego soku marchwiowego, o liczbie komórek warunkującej właściwości probiotyczne i bezpieczeństwo zdrowotne produktu.

Słowa kluczowe: sok z kapusty białej, fermentacja, bakterie kwasu mlekowego, aminy biogenne

Dr inż. B. Sionek, prof. dr hab. D. Kołożyn-Krajewska, Katedra Technologii Gastronomicznej, i Higieny Żywności, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, ul. Nowoursynowska 159 C, 02-776 Warszawa, mgr H. Gawarska, dr n. med. Jacek Postupolski, Zakład Bezpieczeństwa Żywności, Narodowy Instytut Zdrowia Publicznego – Państwowy Zakład Higieny, ul. Chocimska 24, 00-791 Warszawa. Kontakt: barbara_sionek@sggw.pl

Wprowadzenie

Kapusta biała (*Brassica oleracea* var. *capitata*) jest tradycyjnym produktem w diecie europejskiej. Charakteryzuje się dużą zawartością błonnika i białka, zawiera wapń i żelazo oraz jest bogatym źródłem witaminy A, C i witamin z grupy B [5, 12]. Kusznierewicz i wsp. [10] wykazali, że zawiera związki antyoksydacyjne, zapobiegające chorobom nowotworowym. W Polsce powszechnie spożywana jest kapusta kiszona, która powstaje w wyniku fermentacji przy udziale naturalnej mikroflory liści kapusty. Fermentacji sprzyja szatkowanie liści oraz zasolenie. Dodatek do kapusty $2 \div 3\%$ soli ogranicza rozwój bakterii Gram-ujemnych, co sprzyja dominacji bakterii kwasu mlekowego [1].

Obecnie popularność zyskały fermentowane napoje mleczne z dodatkiem bakterii probiotycznych. Niektórzy konsumenci rezygnują jednak z ich spożywania z powodu alergii, nietolerancji laktozy czy zawartości cholesterolu. Uzupełnieniem oferty mogą stać się fermentowane soki roślinne wytwarzane na bazie warzyw, owoców, zbóż i roślin strączkowych [2, 11]. Rozszerzeniem asortymentu tych produktów może być fermentowany sok z kapusty. Bakterie kultur starterowych, w tym probiotycznych, użyte do produkcji takiego soku, powinny charakteryzować się dobrym wzrostem w środowisku kwaśnym i przeżywalnością do końca terminu jego przydatności do spożycia. Szczep powinien nadać produktowi dodatkowe cechy żywności funkcjonalnej. Bakterie kwasu mlekowego izolowane z żywności są dobrym materiałem na bakterie probiotyczne z uwagi na bezpieczeństwo mikrobiologiczne i łatwą adaptację do warunków fermentowanego soku. Zastosowanie kultury starterowej wyselekcjonowanego szczepu bakterii zapewnia odpowiedni przebieg fermentacji.

Aminy biogenne mogą występować w produktach spożywczych pochodzenia roślinnego, szczególnie tych poddanych fermentacji. Tworzą się w wyniku zanieczyszczenia żywności mikroorganizmami zdolnymi do wytwarzania karboksylaz odpowiedzialnych za dekarboksylację aminokwasów. Aminy biogenne spożyte z żywnością swobodnie przedostają się z przewodu pokarmowego do krwi i mogą być przyczyną zatruc pokarmowych, alergii, obniżenia ciśnienia krwi, zaburzeń oddychania, a nawet wstrząsu anafilaktycznego [17].

Celem pracy była ocena możliwości zastosowania szczepu *Lactobacillus rhamnosus* K4 do wytworzenia produktu probiotycznego na bazie soku z kapusty białej oraz określenie bezpieczeństwa zdrowotnego produktu w zakresie zawartości amin biogennych: putrescyny, kadaweryny, tyraminy i histydyny.

Material i metody badań

W doświadczeniu użyto szczepu *Lactobacillus rhamnosus* K4 z kolekcji Zakładu Higieny Żywności i Zarządzania Jakością SGGW w Warszawie, wyizolowanego

z kiszzonej kapusty metodą spontanicznej fermentacji. Szczep charakteryzował się wybranymi właściwościami probiotycznymi, m.in. przeżywalnością w środowisku o pH = 2,5 i w 4-procentowym roztworze soli żółci [22]. Szczep przechowywano w temp. -80 °C z 20-procentowym dodatkiem glicerolu. Ożywienie polegało na zaszczepieniu badanym szczepem 5 cm³ bulionu MRS i inkubacji w temp. 37 °C przez 24 h. Następnie pobierano 1 cm³ hodowli i po przeniesieniu do 9 cm³ bulionu MRS całość poddawano ponownej inkubacji w ww. warunkach. Otrzymaną hodowlę wirowano (5 min, 10 tys. obr./min), zlewano bulion MRS i zastępowano go jałowym sokiem z kapusty. Tak przygotowaną kulturę bakterii używano do fermentacji soku. Liczba komórek w hodowli wyjściowej używanej do zaszczepienia soku wynosiła ok. 9 log jtk/cm³.

Surowcem do badań była kapusta biała (*Brassica oleracea* var. *capitata*, odmiana kamienna głowa) pochodząca z upraw z okolic Warszawy. Wybrano surowiec świeży, bez uszkodzeń mechanicznych i przechowywano w temp. 4 °C do momentu użycia. Po usunięciu zewnętrznych liści i głąba, z kapusty uzyskiwano sok przy użyciu sokowirówki Kenwood JE 500 (Kenwood, Wielka Brytania). W celu usunięcia natywnej mikroflory sok z 2-procentowym dodatkiem sacharozy poddawano pasteryzacji w temp. 90 °C przez 15 min. Po ochłodzeniu do temp. 40 °C sok zaszczepiano hodowlą bakterii *Lactobacillus rhamnosus* K4 w ilości 1 cm³ hodowli na 99 cm³ soku. Fermentację prowadzono w temp. 30 i 37 °C, w ciągu 6, 24 i 48 h, co pozwoliło na ustalenie najkorzystniejszych parametrów procesu. Na podstawie wyników wcześniejszych badań do fermentowanego soku dodawano 30 % soku z marchwi odmiany 'Laguna' (Neoprofit, Wawrzeńczyce, Polska), uzyskanego w warunkach laboratoryjnych. Następnie sok przechowywano w temp. 4, 8 i 23 °C przez 20 dni i okresowo pobierano próbki do badań. Dobór warunków fermentacji soku z kapusty z dodatkiem soku marchwiowego prowadzono z uwzględnieniem wyników analizy sensorycznej metodą szeregowania (1 – najlepszy, 6 – najgorszy) [7]. W celu określenia zmian jakości sensorycznej soku podczas przechowywania stosowano metodę Ilościowej Analizy Opisowej (QDA) [6, 16]. W ocenie sensorycznej każdorazowo brało udział 12 - 15 przeszkolonych osób.

Liczbę bakterii fermentacji mlekowej oznaczano metodą płytkową przez posiew wgłębny na podłożu wybiórczym MRS (Biokar Diagnostic, Francja). Inkubację prowadzono w temp. 37 °C przez 48 h. Wyniki podano w jednostkach tworzących kolonie na 1 cm³ soku (jtk/cm³).

Zawartość amin biogennych oznaczano metodą HPLC. Próbkę bezpośrednio przed ekstrakcją kwaśną homogenizowano do uzyskania jednorodnej masy. Do 5 g homogenatu dodawano 10 cm³ roztworu wodnego HClO₄ o stężeniu 0,2 mol/dm³, homogenizowano z odpowiednią ilością standardu wewnętrznego (1,7-diaminoheptanu) i przenoszono do kolb o pojemności 50 cm³. Do reakcji derywatywacji używano nasyconego roztworu Na₂CO₃ i chlorku dansylu (7,5 mg/dm³). Całość ogrzewano 15 min

w łaźni wodnej. Pochodne amin biogennych z roztworu wodnego ekstrahowano do warstwy organicznej toluenem. Zawartość amin biogennych oznaczano przy użyciu wysokosprawnej chromatografii cieczowej (Alliance Separation Module 2695, Waters Alliance, Milford, USA) w odwróconym układzie faz (RP-HPLC), w kolumnie typu Kromasil C18 (5 μm , 250 mm \times 4,6 mm ID, z odpowiednią prekolumną) termostатовanej w temp. 25 $^{\circ}\text{C}$, przy $\lambda = 254$ nm. Temperatura podajnika próbek wynosiła 4 $^{\circ}\text{C}$, przepływ fazy ruchomej – 1 cm^3/min . Fazę ruchomą stanowiła mieszanina acetonitryl : woda, stosowano tryb elucji gradientowej według schematu [%]: 1 min – 35 : 65, 10 min – 20 : 80, 12 min – 10 : 90, 16 min – 0 : 100, 23 min – 0 : 100. Czas retencji (RT) oznaczania jednej próbki amin biogennych wynosił 23 min. Wyniki zawartości poszczególnych amin obliczano z równania: $y = cAB$ (Tyr, Pu, Hi, Ka)/ $cI \times b$ i podano w mg/kg .

Wartość pH mierzono aparatem Lab 860 (Schott Instruments, Niemcy) z uwzględnieniem temperatury soku. Wykonano dwie serie doświadczeń.

Wyniki opracowano w programie Statistica 10.0. Zastosowano jednoczynnikową analizę wariancji (ANOVA). Różnice między wartościami średnimi weryfikowano testem Tukeya HSD na poziomie istotności $p = 0,05$.

Wyniki i dyskusja

Atrakcyjność produktu, jego jakość sensoryczna, a przede wszystkim smak i zapach odgrywają główną rolę w akceptacji produktu przez konsumenta. Jakość sensoryczna była kryterium wyboru warunków fermentacji soku z kapusty. Wyniki oceny sensorycznej metodą szeregowania umożliwiły wykazanie zależności pożądalności soków od warunków fermentacji (tab. 1). Soki fermentowane w dłuższym czasie składowania charakteryzowały się mniejszą pożądalnością. Największą pożądalnością (najniższą wartością średniej rangowej) wyróżniał się sok fermentowany w temp. 37 $^{\circ}\text{C}$ przez 6 h. Sok ten różnił się statystycznie istotnie ($p < 0,05$) pod względem tej cechy od próbek fermentowanych w dłuższym czasie. Zielińska [21] w badaniach dotyczących fermentowanego napoju sojowego także wykazała, że do wytworzenia produktu roślinnego o korzystnych cechach sensorycznych nie jest wymagany długi czas fermentacji.

Czas i temperatura fermentacji wpływały na przeżywalność komórek *Lb. rhamnosus* K4 i kwasowość (tab. 1). Nie stwierdzono różnic statystycznie istotnych ($p < 0,05$) pod względem liczby komórek w soku po 24 h fermentacji w temp. 30 i 37 $^{\circ}\text{C}$. Wydłużenie fermentacji do 48 h w 30 $^{\circ}\text{C}$ skutkowało statystycznie istotnym ($p < 0,05$) zmniejszeniem liczby komórek. Zmiany kwasowości po 48 h fermentacji były nieistotne statystycznie, a kwasowość w temp. 30 $^{\circ}\text{C}$ i 37 $^{\circ}\text{C}$ wynosiła odpowiednio: 3,75 i 3,80. Z uwagi na zadowalającą liczbę komórek bakterii i najwyższą ogólną jakość sensoryczną, do dalszych badań wybrano sok po 6 h fermentacji w temp. 37 $^{\circ}\text{C}$.

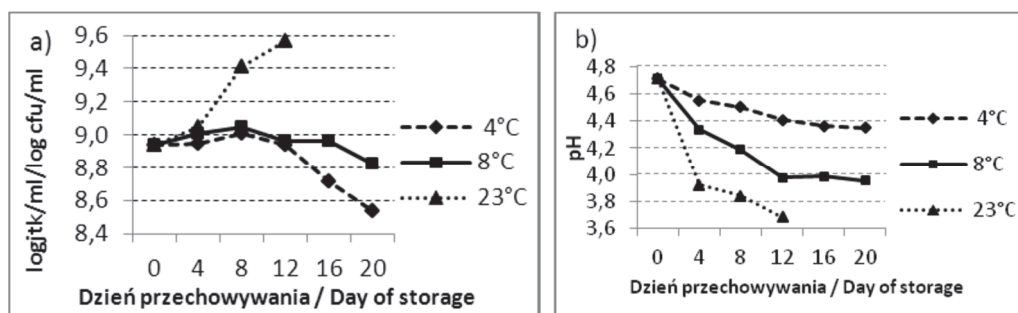
Tabela 1. Średnie wyniki oceny sensorycznej, liczby komórek *Lb. rhamosus* K4 i pH fermentowanego soku z kapusty białej z dodatkiem soku z marchwi i sacharozy, determinowane czasem i temperaturą fermentacji

Table 1. Mean values of sensory evaluation, count of *L.b rhamosus* K4 bacteria, and pH value of fermented cabbage juice with carrot juice and sucrose added

Czas i temperatura fermentacji Time and temperature of fermentation [h]/[°C]	Średnia rangowa oceny sensorycznej Sensory evaluation mean rank [1-6]	Liczba komórek <i>Lb. rhamosus</i> K4 Count of <i>Lb. rhamosus</i> K4 bacteria [log/jtk/cm ³]	pH
0	-	8,20 ^l ± 0,03	6,02 ^k ± 0,01
6 / 37	1,7 ^b ± 0,9	9,09 ^{eg} ± 0,18	4,84 ^l ± 0,01
6 / 30	2,6 ^{ab} ± 1,2	8,41 ^{dij} ± 0,29	4,95 ^l ± 0,07
24 / 37	3,4 ^a ± 0,6	8,71 ^{ighi} ± 0,08	3,80 ^m ± 0,14
24 / 30	2,4 ^{ab} ± 1,4	9,14 ^{eg} ± 0,17	3,95 ^m ± 0,07
48 / 37	5,5 ^c ± 0,5	8,38 ^{dij} ± 0,03 ^l	3,80 ^m ± 0,14
48 / 30	5,4 ^c ± 0,6	8,68 ^{deh} ± 0,06	3,75 ^m ± 0,07

Objaśnienia / Explanatory notes:

a - m – wartości średnie oznaczone różnymi indeksami różnią się statystycznie istotnie ($p < 0,05$) / Mean values denoted by different superscripts differ statistically significantly ($p < 0.05$); $n = 6 - 8$



Rys. 1. Zmiana: (a) liczby komórek *Lb. rhamosus* K4 i (b) pH fermentowanego soku z kapusty białej z dodatkiem soku z marchwi i sacharozy podczas przechowywania w temp. 4 °C, 8 °C i 23 °C

Fig. 1. Change in: *Lb. rhamosus* K4 lactic acid bacteria counts (a) and (b) pH of fermented cabbage juice with carrot juice and sucrose added during storage at temp. of 4 °C, 8 °C, and 23 °C

Sok przechowywany w temp. 23 °C cechował się stałym (istotnym od 4. dnia) wzrostem liczby bakterii świadczącym o niezakończeniu fazy logarytmicznego wzrostu (rys. 1a). W zakresie przeżywalności bakterii w temp. 4 i 8 °C nie stwierdzono istotnych różnic pod względem liczby komórek do 12. dnia doświadczenia. Ostatniego dnia przechowywania, w temp. 4 °C liczba komórek bakterii kwasu mlekowego zmniejszyła się istotnie, podczas gdy w temp. 8 °C była ona na tym samym poziomie.

Liczba komórek *Lb. rhamnosus* K4 do końca przechowywania soku w temp. 4, 8 i 23 °C była wysoka, powyżej $8,5 \log \text{jtk/cm}^3$, co spełniało minimum terapeutyczne produktów probiotycznych [3].

Wzrost komórek i ich aktywność metaboliczna wpłynęły na zmiany pH soku w każdej temperaturze przechowywania (rys. 1b). W temp. 8 °C obserwowano stałe, stopniowe obniżanie pH, statystycznie istotne ($p < 0,05$) do 12. dnia. Obniżenie pH z 4,71 po fermentacji do 3,69; 3,95 i 4,35 ostatniego dnia, odpowiednio w temp. [°C]: 23, 8 i 4 nie zahamowało wzrostu bakterii. Obniżenie pH poniżej 4,0 może hamować wzrost komórek [18], jednak w niniejszych badaniach nie wykazano tej tendencji. Można stwierdzić, że szczep *Lb. rhamnosus* K4 jest odporny na niskie pH soku z kapusty.

Mousavi i wsp. [14] zaobserwowali zróżnicowaną przeżywalność szczepów *Lactobacillus* w fermentowanym soku z granata (w temp. 30 °C przez 72 h). Szczepy *Lb. plantarum* i *Lb. delbrueckii* w pierwszych dwóch tygodniach przechowywania (w temp. 4 °C) wykazały zdolność przeżycia. Natomiast w przypadku *Lb. paracasei* i *Lb. acidophilus* już po pierwszym tygodniu nie stwierdzono obecności żywych komórek, co było spowodowane niskim pH soku i temperaturą przechowywania. Yoon i wsp. [20] po przechowywaniu fermentowanego soku z kapusty w temp. 4 °C przez cztery tygodnie stwierdzili obecność żywych komórek *L. plantarum* i *L. delbrueckii* na poziomie odpowiednio: $4,1 \times 10^7 \text{jtk/cm}^3$ i $4,5 \times 10^5 \text{jtk/cm}^3$, podczas gdy *L. casei* nie był zdolny do przeżycia. Z badań własnych wynika, że szczep *Lb. rhamnosus* K4 wykazywał żywotność w założonym okresie przechowywania, a sok z kapusty stanowił dobre środowisko rozwoju i przeżywalności bakterii.

Podczas projektowania nowych produktów żywnościowych ich bezpieczeństwo zdrowotne należy uznać za nadrzędne, dlatego w czasie procesu wytwarzania soków ważne jest minimalizowanie zawartości składników toksycznych, do których zalicza się aminy biogenne. Mogą one występować w fermentowanym soku z kapusty i w kapuście kiszzonej [4, 8, 13, 15, 17]. W badaniach własnych wykazano, że zawartość amin biogennych oznaczonych w soku po fermentacji była na podobnym poziomie jak w soku świeżym, z wyjątkiem kadaweryny, której poziom wzrastał w soku po fermentacji i w trakcie przechowywania (tab. 2). Karovičová i wsp. [9] także zaobserwowali wzrost zawartości kadaweryny w wyniku 7-dniowej fermentacji z użyciem kultury startowej *Lactobacillus* w soku z kapusty i marchwi. Stwierdzona w badaniach własnych zawartość histaminy, tyraminy, putrescyny nie zmieniała się w czasie przechowywania. Kadaweryna w soku świeżym występowała w ilości śladowej (0,27 mg/kg), natomiast podczas przechowywania jej zawartość w soku fermentowanym znacznie wzrosła – od 5,25 mg/kg (w 16. dniu przechowywania w temp. 8 °C) do 11,01 mg/kg (w 20. dniu składowania w temp. 8 °C), co mogło mieć wpływ na właściwości sensoryczne soku. Nie zaobserwowano jednak bezpośredniego związku za-

wartości amin z jakością sensoryczną soku. Rabie i wsp. [17] stwierdzili wzrost całkowitej zawartości amin biogennych w wyniku chłodniczego przechowywania fermentowanego soku z kapusty – ich zawartość była największa w 45. dniu przechowywania. Profil amin zależał od szczepu bakterii (w fermentacji kontrolowanej stwierdzono obecność trzech amin biogennych, w fermentacji spontanicznej – sześciu).

Tabela 2. Zawartość amin biogennych w soku z kapusty białej z dodatkiem soku z marchwi i sacharozy, determinowana procesem fermentacji oraz temperaturą i czasem przechowywania [mg/kg]

Table 2. Content of biogenic amines in cabbage juice with added carrot juice and sucrose [mg/kg] as determined by fermentation process, temperature, and storage time

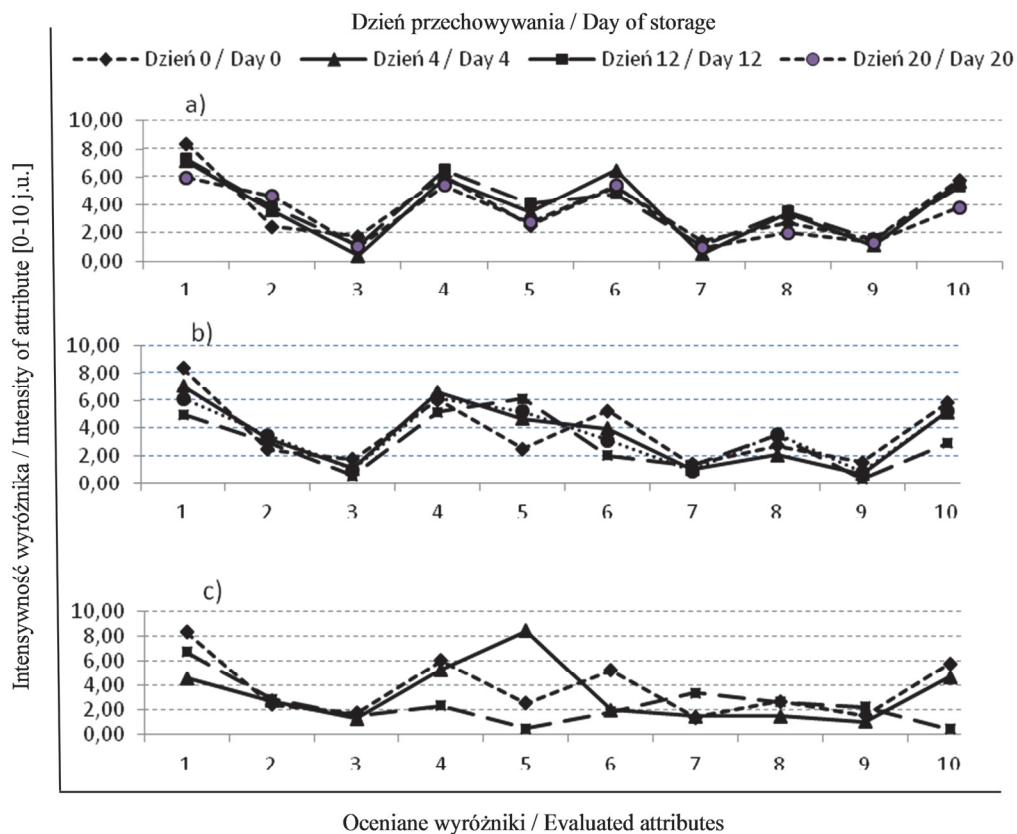
Sok z kapusty / Cabbage juice		Histamina Histamine	Tyramina Tyramine	Putrescyna Putrescine	Kadaweryna Cadaverine
Świeży / Fresh		4,55 ± 0,55	0,40 ± 0,05	5,27 ± 0,64	0,27 ± 0,03
Pasteryzowany / Pasteurised		6,28 ± 0,76	3,68 ± 0,45	8,63 ± 1,05	1,95 ± 0,24
Po fermentacji / Fermented		2,47 ± 0,30	0,52 ± 0,06	4,97 ± 0,61	7,61 ± 0,93
Temperatura Temperature [°C]	Dzień / Day	Zawartość amin w soku fermentowanym w czasie przechowywania Content of amines in fermented juice during storage			
4	4.	2,31 ± 0,28	1,90 ± 0,23	5,79 ± 0,71	7,11 ± 0,87
	8.	1,93 ± 0,24	0,8 ± 0,10	4,92 ± 0,60	8,17 ± 1,00
	12.	2,72 ± 0,33	1,14 ± 0,14	6,03 ± 0,74	9,55 ± 1,17
	16.	2,00 ± 0,257	0,78 ± 0,10	5,54 ± 0,68	7,84 ± 0,96
	20.	2,70 ± 0,32	0,81 ± 0,14	6,37 ± 0,78	9,28 ± 1,12
8	4.	3,11 ± 0,38	1,91 ± 0,10	3,72 ± 0,45	6,87 ± 0,84
	8.	Nie uzyskano wyniku No result obtained	5,12 ± 0,62	4,25 ± 0,52	5,59 ± 0,68
	12.	3,46 ± 0,42	2,57 ± 0,23	6,16 ± 0,75	6,94 ± 0,85
	16.	2,78 ± 0,34	5,90 ± 0,72	4,61 ± 0,56	5,25 ± 0,64
	20.	2,82 ± 0,34	5,49 ± 0,67	4,50 ± 0,55	11,01 ± 1,34
23	8.	4,11 ± 0,50	2,28 ± 0,28	6,63 ± 0,81	8,39 ± 1,02
	12.	3,76 ± 0,46	2,09 ± 0,25	6,22 ± 0,76	8,77 ± 1,07

Objaśnienia: / Explanatory notes:

W tabeli przedstawiono wartości średnie ± odchylenia standardowe / Table shows mean values ± standard deviations, n = 3

Na jakość sensoryczną fermentowanego soku z kapusty z dodatkiem soku z marchwi istotny wpływ miał czas i temperatura przechowywania. Ogólna jakość sensoryczna soku przechowywanego w temp. 4 °C była na akceptowanym poziomie do 12. dnia (rys. 2). Intensywność smaku kwaśnego zarówno po fermentacji, jak i 20. dnia przechowywania, była na tym samym poziomie, odpowiednio: 2,52 i 2,72 j.u. W 20. dniu przechowywania jakość ogólna produktu obniżyła się statystycznie istotnie

($p < 0,05$) do 3,81 j.u., co może wynikać ze zmniejszenia intensywności zapachu kapusty i smaku orzeźwiającego. Smak i zapach oceniono bowiem jako obojętny, a sok jako nieakceptowany.



Objaśnienia / Explanatory notes:

Wyróżniki / Attributes: 1 – zapach kapusty / smell of cabbage; 2 – z. słodki / sweet s.; 3 – z. obcy / strange s.; 4 – smak kapusty / flavour of cabbage; 5 – s. kwaśny / sour f.; 6 – s. słodki / sweet f.; 7 – s. gorzki / bitter f.; 8 – s. orzeźwiający / refreshing f.; 9 – s. obcy / strange f.; 10 – jakość ogólna / overall quality.

Rys. 2. Wyniki oceny intensywności wyróżników sensorycznych fermentowanego soku z kapusty z dodatkiem soku marchwiowego i sacharozy podczas przechowywania w temperaturze: a) 4 °C, b) 8 °C, c) 23 °C (metoda QDA, n = 16)

Fig. 2. Evaluation results of intensity of sensory attributes of fermented cabbage juice with added carrot juice and 2 % sucrose during storage at temperature: a) 4 °C; b) 8 °C; c) 23 °C (QDA method, n = 16)

Sok przechowywany w temp. 8 °C, podobnie jak w 4 °C, zachowywał dobrą ogólną jakość sensoryczną (powyżej 5 j.u.) do 12. dnia. Ostatniego dnia składowania nastąpiło statystycznie istotne ($p < 0,05$) obniżenie średniej jakości ogólnej o ponad 2

jednostki – do wartości 2,91 j.u. Mogło ono wynikać z obniżenia intensywności smaku słodkiego do 2,01 j.u. oraz wzrostu wrażenia kwaśności do 6,12 j.u., co ma odzwierciedlenie w obniżeniu pH do 3,95. Intensywne zakwaszenie produktu może mieć wpływ na obniżenie jakości ogólnej produktu [2].

Jakość ogólną soku przechowywanego w temp. 23 °C oceniono wysoko jedynie po fermentacji. Już 4. dnia przechowywania jakość ogólna obniżyła się do poziomu poniżej 5 j.u. Na brak akceptacji sensorycznej 12. dnia (średnia jakość ogólna na poziomie 2,3 j.u.) mógł wpłynąć wzrost intensywności smaku kwaśnego do 9,1 j.u., ale przede wszystkim statystycznie istotny ($p < 0,05$) wzrost odczuwania smaku gorzkiego (wzrost z 1,50 j.u. do wartości 4,71). Intensywność smaku kwaśnego i słodkiego była na zbliżonym poziomie 4. i 12. dnia przechowywania. Można więc stwierdzić, że wyróżnik negatywny, jakim jest smak gorzki, w największym stopniu wpływa na obniżenie jakości przechowywanego produktu w tej temperaturze.

Trzaskowska i Kołożyn-Krajewska [19] zastosowały szczep *Lb. acidophilus* do fermentacji soku marchwiowego i wykazały, że produkt przechowywany w temp. 15 °C był niżej oceniany pod względem jakości ogólnej niż soki przechowywane w temp. 5 °C i 10 °C. Prawdopodobnie wiązało się to z większą aktywnością metaboliczną bakterii w 15 °C, której wynikiem było znaczne obniżenie pH. Zmiany zachodzące w produkcie przechowywanym w wyższej temperaturze powodują wzrost odczuwania wyróżników negatywnych, co prowadzi do niestabilności cech sensorycznych.

Wnioski

1. Na podstawie przeprowadzonej oceny sensorycznej ustalono najkorzystniejsze warunki fermentacji soku z kapusty białej z dodatkiem surowego soku marchwiowego, tj. czas – 6 h, temp. – 37 °C i fermentacja szczepem potencjalnie probiotycznym *Lactobacillus rhamnosus* K4.
2. Stwierdzono, że czas i temperatura przechowywania miały wpływ na jakość mikrobiologiczną i sensoryczną fermentowanego soku z kapusty białej z dodatkiem soku z marchwi. Na podstawie wyników ogólnej jakości sensorycznej określono, że optymalny czas przechowywania badanego soku wynosi nie więcej niż 12 dni, a temperatura przechowywania nie może być wyższa niż 8 °C.
3. Zawartość kadaweryny w soku zwiększała się po fermentacji i przechowywaniu, jednak nie miało to istotnego wpływu na jakość sensoryczną. Celowe jest jednak kontrolowanie zawartości amin biogennych, jako wskaźnika zdrowotnego bezpieczeństwa produktu, w fermentowanych produktach roślinnych.
4. Szczep *Lactobacillus rhamnosus* K4 może być stosowany do produkowania fermentowanego soku z kapusty białej – akceptowanego sensorycznie, o odpowied-

niej liczbie komórek warunkującej właściwości probiotyczne, przy zachowaniu bezpieczeństwa zdrowotnego produktu.

Literatura


- [1] Beganović J., Pavunc A.L., Gjuračić K., Šušković J., Kos B.: Improved sauerkraut production with probiotic strain *Lactobacillus plantarum* L4 and *Leuconostoc mesenteroides* LMG 7954. *J. Food Sci.*, 2011, **76** (2) 124-129.
- [2] Buruleanu L.C., Nicolescu C.L., Avram D., Braru M.G., Manea J.: Survival of probiotic bacteria during lactic acid fermentation of vegetable juices. *J. Agroalim. Proc. Technol.*, 2009, **15** (1) 132-139.
- [3] FAO/WHO: Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food. Report of a Joint FAO/WHO Working Group on Drafting Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food. London, Ontario, Canada, 2002.
- [4] Gawarska H., Sawilska-Rautenstrauch D., Ścieżyńska H., Minorczyk M., Postupolski J.: Występowanie wolnych amin biogennych: histaminy, tyraminy, putrescyny i kadaweryny w owocach i warzywach oraz ich produktach. *Bromat. Chem. Toksykol.*, 2012, **XLV** (2) 105-110.
- [5] Hasan M.R., Solaiman, H.M.A.: Efficacy of organic and organic fertilizer on the growth of *Brassica oleracea* L. (Cabbage). *Intl. J. Agric. Crop. Sci.*, 2012, **4** (3) 128-138.
- [6] ISO 6658:2005. Sensory analysis. Methodology. General guidance.
- [7] PN-EN ISO 13299:2010. Analiza sensoryczna. Metodologia. Ogólne wytyczne ustalania profilu sensorycznego.
- [8] Kalač P., Spička J., Křížek M., Pelikánová T.: The effect of lactic acid bacteria inoculants on biogenic amines formation in sauerkraut. *Food Chem.*, 2000, **70**, 355-359.
- [9] Karovičová J., Drdák M., Greif G., Hybenová E.: The choice of strains of *Lactobacillus* species for the lactic acid fermentation of vegetable juices. *Eur. Food Res. Technol.*, 1999, **210**, 53-56.
- [10] Kusznierevicz B., Piasek A., Lewandowska J., Śmiechowska A., Baroszek A.: Właściwości przeciwnowotworowe kapusty białej. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2007, **55** (6) 20-22.
- [11] Martins E.M.F., Ramos A.M., Vansela E.S.L., Stringheta C.P., de Oliveira Pinto C.L., Martins J.M.: Products of vegetable origin: A new alternative for the consumption of the probiotic bacteria. *Food Res. Int.*, 2013, **51**, 764-770.
- [12] Meena M.L., Ram R.B., Lata R., Sharma S.R.: Determining yield components in cabbage (*Brassica oleracea* var. *capitata* L.) through correlation and path analysis. *Inter. J. Sci. Nat.*, 2010, **1** (1) 27-30.
- [13] Moret S., Smel D., Populin T., Conte L.S.A.: Survey on free biogenic amine content of fresh and preserved vegetables. *Food Chem.*, 2005, **89**, 355-361.
- [14] Mousavi Z.E., Mousavi S.M., Razavi S.H., Emam-Djomeh Z., Kiani H.: Fermentation of pomegranate juice by probiotic lactic acid bacteria. *World J. Microbiol. Biot.*, 2011, **27** (1) 123-128.
- [15] Peñas E., Frias J., Sidro B., Vidal-Valverde C.: Impact of fermentation condition and refrigerated storage on microbial quality and biogenic amine content of sauerkraut. *Food Chem.*, 2010, **123**, 143-150.
- [16] PN-ISO 11035:1999. Analiza sensoryczna. Identyfikacja i wybór deskryptorów do ustalania profilu sensorycznego z użyciem metod wielowymiarowych.
- [17] Rabie M.A., Siliha H., el-Saidy S., el-Badawy A., Malcata F.X.: Reduced biogenic amine contents in sauerkraut via addition of selected lactic acid bacteria. *Food Chem.*, 2011, **129** (4) 1778-1782.
- [18] Shah N.P.: Funcional foods from probiotics and prebiotics. *Food Technol.*, 2001, **55** (11) 46-53.

- [19] Trzaskowska M., Kołożyn-Krajewska D.: Fermentowany sok marchwiowy z dodatkiem bakterii potencjalnie probiotycznych. W: Probiotyki w żywności. Red. D. Kołożyn-Krajewska i Z.J. Dolatowski. Wyd. Nauk. PTTŻ, Kraków 2010, ss. 161-180.
- [20] Yoon K.Y., Woodams E.E., Hang Y.D.: Production of probiotic cabbage juice by lactic acid bacteria. *Biores. Technol.*, 2006, **97** (12), 1427-1430.
- [21] Zielińska D.: Dobór szczepów bakterii *Lactobacillus* i ustalenie warunków fermentacji napoju sojowego. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2005, **43** (2) Supl., 289-297.
- [22] Zielińska D., Rzepkowska A., Radawska A., Zieliński K.: *In vitro* screening of selected probiotic properties of *Lactobacillus* strains isolated from traditional fermented cabbage and cucumber. *Curr. Microbiol.*, 2015, **70**, 183-194.

TECHNOLOGICAL SUITABILITY OF *LACTOBACILLUS RHAMNOSUS* K4 STRAIN FOR PRODUCING PROBIOTIC VEGETABLE JUICE

S u m m a r y

The objective of the research study was to assess the applicability of *Lactobacillus rhamnosus* K4 strain for the production of cabbage juice-based probiotic product and to determine the health safety of the product suggested as regards the content of the following biogenic amine therein: putrescine, cadaverine, tyramine, and histidine. The experimental material consisted of a fermented cabbage juice (*Brassica oleracea* var. *capitata*, kamienna głowa variety) combined with 2% sucrose and 30% carrot juice added to it, and with potentially probiotic lactic acid bacterial strain of *Lb. rhamnosus* K4. The fermentation conditions were set, i.e. fermentation time: 6h and temp.: 37 °C; they ensured that the product to be obtained would have the highest overall sensory quality. After fermentation the count of *Lb. rhamnosus* K4 bacteria increased from 8.20 to 9.09 cfu/cm³ and the pH value decreased from 6.02 to 4.84. The count of the cells remained at a constant level and the overall sensory quality was above 5 arb.u. until the 12th day of storing the juice at a temp. of 4 and 8 °C. In the juice stored at 23 °C, the overall sensory quality decreased to 4.7 arb.u. on the 4th day and to 2.3 arb.u. on the 12th day. The content of cadaverine in fresh juice amounted to 0.27 mg/kg and it increased throughout the storage from 5.25 to 11.01 mg/kg. It was concluded that that it was possible to apply the *Lb. rhamnosus* K4 strain for the production of sensory acceptable fermented cabbage juice with a raw carrot juice added and where the count of those bacteria would determine the probiotic properties and health safety of the product.

Key words: cabbage juice, fermentation, lactic acid bacteria, biogenic amines 

GRZEGORZ FIUTAK, EWA HAJDUK, MAGDA FILIPCZAK-FIUTAK,
RYSZARD MACURA, BOŻENA FIREK

WPLYW WYBRANYCH PROCESÓW TERMICZNYCH NA ZACHOWANIE WŁAŚCIWOŚCI PRZECIWUTLENIAJĄCYCH HOMOGENATÓW Z OWOCÓW JAGODOWYCH

Streszczenie

Celem pracy było określenie wpływu różnych technik ogrzewania oraz zamrażania, rozmrażania i zamrażalniczego przechowywania na właściwości przeciwutleniające homogenatów z owoców jagodowych. Materiał do badań stanowiły homogenaty owocowe: truskawkowy, z czarnej porzeczki, aroniowy i żurawinowy. Surowce poddano obróbce termicznej: ogrzewaniu (z zastosowaniem kuchenki gazowej, mikrofalowej i urządzenia wielofunkcyjnego Thermomix) i zamrażaniu. Zamrożone próbki przechowywano w temp. -24 °C: 1) przez 3 dni – w celu określenia wpływu procesu zamrażania na właściwości przeciwutleniające homogenatów, 2) przez 90 dni – w celu określenia wpływu zamrażalniczego przechowywania na te właściwości. Przed badaniem próbki rozmrażano w powietrzu (temp. ok. 21 °C) i w kuchence mikrofalowej. W surowcach oznaczono zawartość witaminy C, siłę redukującą i zdolność neutralizowania wolnych rodników. Najwięcej witaminy C zawierał homogenat z czarnej porzeczki (6,4 mg/g s.m.), a najwyższą zdolnością redukującą charakteryzował się homogenat truskawkowy (670,2 mg kwasu askorbinowego/g s.m.). Homogenaty aroniowe poddane obróbce termicznej były najefektywniejszym neutralizatorem wolnych rodników ($EC_{50} = 1,52$ g s.m./g DPPH^{*}). Temperatura powyżej 95 °C spowodowała największe straty witaminy C w homogenacie z czarnej porzeczki, przy czym były one mniejsze w wyniku ogrzewania mikrofalowego niż tradycyjnego. Ogrzewanie wpłynęło na wzrost właściwości redukujących i zdolności neutralizowania wolnych rodników, przy czym był on większy podczas podgrzewania metodą tradycyjną. W wyniku zamrażalniczego składowania nastąpiło zmniejszenie zawartości witaminy C i zdolności neutralizowania wolnych rodników (DPPH^{*}). W przypadku siły redukującej wynik przechowywania zależał od surowca. W homogenatach z czarnej porzeczki i truskawki zaobserwowano zmniejszenie siły redukującej, a w żurawinowych i aroniowych – jej wzrost.

Słowa kluczowe: owoce jagodowe, ogrzewanie, zamrażanie, witamina C, DPPH^{*}, siła redukująca

*Dr inż. G. Fiutak, dr E. Hajduk, dr hab. inż. R. Macura, mgr inż. B. Firek, Katedra Chłodziwa i Koncentratów Spożywczych, mgr inż. M. Filipczak-Fiutak, Katedra Przetwórstwa Produktów Zwierzęcych, Wydz. Technologii Żywności, Uniwersytet Rolniczy w Krakowie, ul. Balicka 122, 30-149 Kraków.
Kontakt: g.fiutak@ur.krakow.pl*

Wprowadzenie

Owoce, warzywa i ich przetwory są źródłem wielu związków korzystnie wpływających na zdrowie i mających znaczenie w profilaktyce niezakaźnych chorób przewlekłych, takich jak: nowotwory, choroby serca, cukrzyca i otyłość, które określa się jako największe zagrożenie dla zdrowia człowieka w XXI w. Najcenniejsze pod względem zawartości związków biologicznie aktywnych są owoce jagodowe [9, 13]. Są one surowcem sezonowym, dostępnym przez cały rok tylko w postaci przetworzonej. Ze względu na skład owoce jagodowe zapewniają równowagę oksydacyjną [20] oraz chronią przed niektórymi chorobami [15]. Utrzymanie równowagi pomiędzy ilością wolnych rodników a układem przeciwutleniającym ma kluczowe znaczenie dla zdrowia, stąd też coraz szybciej rozwija się rynek żywności funkcjonalnej (bogatej w przeciwutleniacze) i wzrasta zainteresowanie konsumentów takimi produktami [8].

Celem pracy było określenie wpływu ogrzewania różnymi technikami oraz zamrażania, rozmrażania i zamrażalniczego przechowywania na właściwości przeciwutleniające homogenatów z owoców: truskawki, czarnej porzeczki, aronii i żurawiny.

Material i metody badań

Materiałem do badań były owoce truskawki, czarnej porzeczki, aronii i żurawiny zakupione na rynku w sprzedaży bezpośredniej. Owoce użyte do analiz charakteryzowały się pełną dojrzałością konsumpcyjną. Myto je i osuszano papierowymi ręcznikami. Truskawki i porzeczki odszypułkowano. Każdy gatunek owoców (ok. 2 kg) homogenizowano za pomocą homogenizatora ręcznego, model MR 4000 Plus (Braun, USA). Tak przygotowany materiał dzielono na dwie części. Pierwszą zamrażano w pojemnikach o poj. 100 ml zamykanych nakrętką, w temp. -24 °C, w zamrażarce bez owiewu powietrza. W celu określenia wpływu procesu zamrażania badany homogenat rozmrażano po 3 dniach, natomiast straty podczas zamrażalniczego przechowywania określano po 90 dniach. Podjęto także próbę określenia wpływu sposobu rozmrażania na aktywność przeciwutleniającą. Próbkę rozmrażano w kuchence mikrofalowej Whirlpool MT46 o mocy 90 W w ciągu ok. 7 min i w powietrzu, w temp. 21 °C, przez ok. 90 min. Rozmrażanie uznawano za zakończone, gdy temperatura homogenatu osiągnęła 15 °C. Drugą część surowca (próbki o masie 100 g) poddawano działaniu wysokiej temperatury poprzez gotowanie go w naczyniach otwartych w różnych warunkach. Jako źródła ciepła stosowano: kuchenkę gazową, typ 3400 (Mastercook, Wrozamet, Polska) i urządzenie wielofunkcyjne Thermomix TM3 (Francja). Próbkę utrzymywano w stanie wrzenia przez 5 i 10 minut (dłuższe gotowanie powodowało zbyt duże ubytki wody). Ze względu na brak możliwości pomiaru temperatury w kuchence mikrofalowej oraz w urządzeniu Thermomix, wrzenie próby określano wizualnie (tab. 1).

Tabela 1. Warianty obróbki termicznej homogenatów z owoców jagodowych

Table 1. Variants of thermal treatment of berry fruit homogenates

Rodzaj homogenatu Type of homogenate	Źródło ogrzewania / Heating source		
	Kuchenska mikrofalowa Microwave oven [W / min]	Kuchenska gazowa Gas cooker [min]	Thermomix [min]
Truskawkowy Strawberry	90 / 5 90 / 10	5 10	– –
Z czarnej porzeczki Blackcurrant	90 / 5 90 / 10	5 10	– –
Aroniowy Chokeberry	90 / 5 90 / 10	– –	5 10
Żurawinowy Cranberry	90 / 5 90 / 10	– –	5 10

Wszystkie analizy homogenatów wykonano w trzech niezależnych powtórzeniach.

Zawartość witaminy C oznaczano według PN-A-04019:1998 [17].

Zdolność neutralizowania wolnych rodników oznaczano metodą spektrofotometryczną przy użyciu 2,2-difenylo-1-pikrylohydrozylu (DPPH[•]). Do kolby ze szlifem o pojemności 100 ml odważano 10 g produktu, dodawano 50 ml etanolu o stężeniu 95 % i przeprowadzano ekstrakcję przez 30 min w łaźni wodnej z wytrząsaniem w temp. 20 ± 2 °C. Po tym czasie zawartość kolby filtrowano przez sącdek bibułowy do kolby stożkowej. Ekstrakt rozcieńczano 95-procentowym alkoholem etylowym w zależności od potrzeb: 2, 4, 6, 8, 10, 15, 20, 30, 50, 70, 100 lub 150 razy. Rozcieńczoną próbkę o objętości 0,4 ml dodawano do 3,6 ml roztworu DPPH[•]. Procent pozostałych rodników obliczano z równania:

$$[\%] \text{ DPPH}^{\bullet} = 100 \cdot (A_{515} / A_{515T})$$

gdzie: A_{515} – absorbancja próbki badanej po 30 lub 60 min od dodania DPPH[•], A_{515T} – absorbancja próbki kontrolnej.

Na podstawie otrzymanych wyników sporządzano wykresy zależności pomiędzy ilością DPPH[•] pozostałego w próbce a stężeniem ekstraktu badanego produktu na gram DPPH[•] i odczytywano EC_{50} (*efficient concentration*). Absorbancję mierzono po 30 min od dodania DPPH[•] (przy $\lambda = 515 \text{ nm}$) [1].

Siłę redukującą oznaczano spektrofotometryczną metodą FRAP według Yena i Chena [21]. Do zlewki ze szlifem o pojemności 100 ml odważano 2 g produktu, dodawano 50 ml wody destylowanej i prowadzono ekstrakcję przez 1 h w łaźni wodnej z wytrząsaniem, w temp. 20 ± 2 °C. Po tym czasie zawartość kolby filtrowano przez sącdek. Następnie pobierano 1 ml przesącza, dodawano 2,5 ml 0,2 M buforu fosforanowego o pH 6,6 i 2,5 ml 1-procentowego $K_3Fe(CN)_6$. Próbkę inkubowano w temp.

50 °C przez 30 min. Po zakończeniu inkubacji dodawano 2,5 ml 10-procentowego TCA, próbki mieszano, a następnie pobierano 2,5 ml otrzymanej mieszaniny, dodawano 2,5 ml wody destylowanej i 0,5 ml 0,1-procentowego FeCl₃. Po 20 min mierzono absorbancję przy $\lambda = 700$ nm.

Suchą masę oznaczano na podstawie ubytku masy próbek metodą suszenia [16].

Do statystycznej analizy wyników zastosowano wieloczynnikową analizę wariancji. Istotność różnic między wartościami średnimi weryfikowano testem Duncana na poziomie istotności $p \leq 0,05$. Analizę statystyczną wykonano w programie Statistica 10.0 StatSoft.

Wyniki i dyskusja

Zawartość witaminy C wahała się od 3,0 mg/100 g świeżej masy (św.m.) w homogenacie aroniowym do 124,8 mg/100 g św.m. w produkcie z czarnej porzeczki, który miał jej 3 razy więcej niż homogenat truskawkowy i ponad 5 razy więcej niż żurawinowy (tab. 2). Drozdowski [6] stwierdził prawie dwukrotnie większą zawartość witaminy C w owocach czarnej porzeczki w porównaniu z wynikami uzyskanymi w badaniach własnych. Zawartość witaminy C zależy od wielu czynników, m.in. od warunków klimatycznych (nasłonecznienia, wielkości opadów) czy dojrzałości owoców. Należy podkreślić, że właściwości przeciwutleniające nie zależą tylko od zawartości witaminy C, ale również od ilości innych witamin, polifenoli, karotenoidów, chlorofilin, wapnia czy selenu [12].

Tabela 2. Zawartość witaminy C i siły redukującej w badanych homogenatach z owoców jagodowych
Table 2. Content of vitamin C in and reducing power of berry fruit homogenates analysed

Rodzaj homogenatu Type of homogenate	Witamina C / Vitamin C		Siła redukująca / Reducing power	
	w świeżej masie in fresh matter [mg/100 g]	w suchej masie in dry matter [mg/g]	w świeżej masie in fresh matter [mg AA/g]	w suchej masie in dry matter [mg AA/g]
Truskawkowy Strawberry	40,1 ^a ± 0,8	4,7 ^a ± 0,1	57,2 ^a ± 3,1	670,2 ^a ± 36,2
Z czarnej porzeczki Blackcurrant	124,8 ^b ± 3,3	6,4 ^b ± 0,2	90,9 ^b ± 5,3	467,6 ^b ± 27,1
Aroniowy / Chokeberry	3,0 ^c ± 0,5	0,13 ^c ± 0,02	118,5 ^c ± 0,8	499,8 ^b ± 3,4
Żurawinowy Cranberry	24,3 ^d ± 1,3	1,9 ^d ± 0,1	40,0 ^d ± 1,6	315,2 ^c ± 12,7

Objaśnienia / Explanatory notes:

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

a, b, c – wartości średnie oznaczone różnymi literami w kolumnie różnią się statystycznie istotnie ($p \leq 0,05$) / mean values in columns and denoted by different letters differ statistically significantly ($p \leq 0.05$). AA – kwas askorbinowy / ascorbic acid.

Najbardziej niekorzystny wpływ ogrzewania na zawartość witaminy C zaobserwowano w przypadku homogenatu z czarnej porzeczki (tab. 3). Po 10 min gotowania tego homogenatu na kuchence gazowej stracie uległo 29,7 % zawartości witaminy C (w przeliczeniu na suchą masę). Dużo łagodniejsze w skutkach od ogrzewania tradycyjnego okazało się ogrzewanie w kuchence mikrofalowej, które wpłynęło na zmniejszenie zawartości tej witaminy tylko o 3,1 %. Mniejsze straty stwierdzono w czasie ogrzewania homogenatu truskawkowego – tj. od 5,5 % (ogrzewanie mikrofalowe) do 8,9 % (ogrzewanie na kuchence gazowej). Wydłużający się czas ogrzewania nie spowodował zmniejszenia zawartości witaminy C w owocach żurawiny i aronii, obserwowano jednak niewielki, lecz statystycznie nieistotny jej wzrost. Prawdopodobnie kwaśne środowisko podczas ogrzewania sprzyjało lepszej ekstrakcji i dostępności tego związku, co mogło mieć wpływ na zwiększenie zawartości witaminy C mimo jej dużej wrażliwości na wysoką temperaturę [11, 19]. W pozostałych wariantach zawartość witaminy C uległa zmniejszeniu pod wpływem ogrzewania. Jest to związane z procesami utleniania intensyfikowanymi wysoką temperaturą [3, 4]. Straty składników odżywczych powodowane ogrzewaniem zwiększają się wraz ze wzrostem temperatury i czasem jej oddziaływania [10]. Ich wielkość uzależniona jest także od kwasowości produktu oraz dostępu tlenu i światła [2].

Wykazano, że im dłużej surowiec owocowy był ogrzewany, tym więcej wody tracił. Zawartość suchej masy homogenatów podgrzewanych w różnych warunkach przedstawiono w tab. 4.

Podczas zamrażalniczego przechowywania straty witaminy C zależały przede wszystkim od gatunku owoców jagodowych (tab. 5). Największe ubytki wystąpiły w homogenacie truskawkowym, w którym po 90 dniach zawartość tej witaminy zmniejszyła się o 76,5 % (w przeliczeniu na suchą masę), natomiast w przypadku czarnej porzeczki – o 14 %. W porównaniu z danymi literaturowymi są to wyniki bardzo niekorzystne, gdyż straty były znaczące. Według Czerwińskiej [4] witamina C w truskawkach zamrażalniczo przechowywanych została zachowana w 90 % (autorka nie podaje czasu zamrażalniczego przechowywania). Należy jednak podkreślić, że Czerwińska analizowała całe owoce. W badaniach własnych owoce homogenizowano, co może świadczyć o negatywnym wpływie rozdrobnienia surowca, powodującego np. uwolnienie enzymów i substratów oddziałujących na zawartość witaminy C.

Tabela 3. Zawartość witaminy C, siła redukująca oraz EC₅₀ w homogenatach z owoców jagodowych, determinowane wpływem techniki i czasu ogrzewania

Table 3. Content of vitamin C in, reducing power and EC₅₀ of berry fruit homogenates depending on effects by effects of heating technique and heating time

Czas ogrzewania Heating time [min]	Homogenat truskawkowy Strawberry homogenate			Homogenat z czarnej porzeczki Blackcurrant homogenate			Homogenat z aronii Chokeberry homogenate			Homogenat żurawinowy Cranberry homogenate		
	Źródło ogrzewania / Heating source											
	kuchenka gazowa gas cooker	kuchenka mikrofalowa microwave oven	kuchenka gazowa gas cooker	kuchenka mikrofalowa microwave oven	kuchenka mikrofalowa microwave oven	Thermomix	kuchenka mikrofalowa microwave oven	Thermomix	kuchenka mikrofalowa microwave oven	Thermomix	kuchenka mikrofalowa microwave oven	
0	4,7 ^{aA} ± 0,09	6,4 ^{aB} ± 0,2	6,4 ^{aB} ± 0,2	0,1 ^{aC} ± 0,02	0,1 ^{aC} ± 0,02	1,9 ^{aD} ± 0,10						
5	4,6 ^{aA} ± 0,05	4,7 ^{aA} ± 0,02	5,9 ^{bB} ± 0,2	6,6 ^{aC} ± 0,08	0,5 ^{bD} ± 0,1	0,3 ^{aBE} ± 0,05	2,1 ^{bF} ± 0,06	1,8 ^{aG} ± 0,06				
10	4,3 ^{bA} ± 0,02	4,4 ^{bAB} ± 0,09	4,5 ^{bB} ± 0,07	6,2 ^{bC} ± 0,08	0,6 ^{bD} ± 0,1	0,3 ^{bFE} ± 0,03	2,2 ^{bF} ± 0,05	1,9 ^{aG} ± 0,06				
	Siła redukująca / Reducing power [mg AA/g s.m. / d.m.]											
0	670,2 ^{aA} ± 36,2	467,6 ^{aB} ± 27,1	499,8 ^{aB} ± 3,4	315,2 ^{aC} ± 12,7								
5	866,3 ^{bA} ± 21,2	769,5 ^{bB} ± 29,6	563,7 ^{bC} ± 28,3	603,28 ^{bCE} ± 6,0	688,5 ^{bD} ± 45,8	644,9 ^{bDE} ± 19,0	378,9 ^{bF} ± 11,9	314,4 ^{aG} ± 6,3				
10	824,2 ^{bA} ± 32,0	729,1 ^{bB} ± 35,9	557,5 ^{bC} ± 19,0	625,7 ^{bD} ± 28,1	811,38 ^{aA} ± 22,2	639,3 ^{aD} ± 51,2	426,0 ^{aE} ± 15,8	343,9 ^{aF} ± 18,1				
	EC ₅₀ [g s.m./g DPPH] / [g d.m./g DPPH]											
0	7,73 ^{aA} ± 0,08	6,16 ^{aB} ± 0,06	6,16 ^{aB} ± 0,06	2,16 ^{aC} ± 0,02	2,16 ^{aC} ± 0,02	16,7 ^{aD} ± 0,17						
5	6,88 ^{bA} ± 0,07	6,98 ^{bA} ± 0,08	4,93 ^{bB} ± 0,05	5,34 ^{bC} ± 0,05	1,91 ^{bD} ± 0,02	2,09 ^{aE} ± 0,02	20,35 ^{bF} ± 0,20	16,58 ^{aG} ± 0,17				
10	6,38 ^{cA} ± 0,06	6,99 ^{bB} ± 0,07	4,09 ^{cC} ± 0,04	4,91 ^{cD} ± 0,05	1,52 ^{aE} ± 0,02	2,12 ^{aE} ± 0,02	19,81 ^{cG} ± 0,17	19,37 ^{bH} ± 0,19				

Objaśnienia / Explanatory notes:

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

a, b, c – wartości średnie oznaczone różnymi literami w kolumnie (w obrębie jednego parametru) różnią się statystycznie istotnie (p ≤ 0,05) / mean values in columns and denoted by different letters (within one parameter) differ statistically significantly (p ≤ 0,05).

A, B, C – wartości średnie oznaczone różnymi literami w wierszach różnią się statystycznie istotnie (p ≤ 0,05) / mean values in rows and denoted by different letters differ statistically significantly (p ≤ 0,05).

Tabela 4. Zawartość suchej masy w homogenatach z owoców jagodowych poddanych różnym technikom ogrzewania.
 Table 4. Content of dry matter in berry fruit homogenates treated using various heating techniques

Źródło ogrzewania Heating source	Homogenat truskawkowy Strawberry homogenate [%]	Homogenat z czarnej porzeczki Blackcurrant homogenate [%]	Homogenat aroniowy Chokeberry homogenate [%]	Homogenat żurawinow Cranberry homogenate [%]
Świeży surowiec (bez ogrzewania) Fresh material (without heating)	8,54 ± 0,13	19,45 ± 0,20	23,71 ± 0,19	12,92 ± 0,13
Kuchenka gazowa Gas cooker 5 min	10,31 ± 0,18	24,38 ± 0,22	-	-
Thermomix 5 min	-	-	26,09 ± 0,21	13,16 ± 0,18
Kuchenka mikrofalowa Microwave oven 5 min	9,33 ± 0,12	21,55 ± 0,18	25,17 ± 0,20	13,52 ± 0,20
Kuchenka gazowa Gas cooker 10 min	12,24 ± 0,15	29,52 ± 0,19	-	-
Thermomix 5 min	-	-	28,40 ± 0,14	13,86 ± 0,11
Kuchenka mikrofalowa Microwave oven 10 min	10,83 ± 0,15	23,97 ± 0,20	25,38 ± 0,19	13,57 ± 0,19

Objaśnienia / Explanatory notes:

W tabeli przedstawiono wartości średnie ± odchylenia standardowe / Table shows mean values ± standard deviations; n = 3 (-) – nie oznaczano / not assayed

Tabela 5. Zawartość witaminy C, siła redukująca i EC₅₀ w homogenatach z owoców jagodowych, determinowane wpływem czasu zamrażalniczego przechowywania oraz techniką rozmrażania
 Table 5. Content of vitamin C in, reducing power and EC₅₀ of berry fruit homogenate depending on effects of freezing time effect and defrosting technique

Czas zamrażalniczego przechowywania Time of frozen storage [dni / days]	Homogenat truskawkowy Strawberry homogenate			Homogenat z czarnej porzeczki Blackcurrant homogenate			Homogenat z aronii Chokeberry homogenate			Homogenat żurawinowy Cranberry homogenate		
	Metoda rozmrażania / The method of defrost											
	w atmosferze otoczenia In air	w kuchenke mikrofalowej In microwave oven	w atmosferze otoczenia In air	w kuchenke mikrofalowej In microwave oven	w atmosferze otoczenia In air	w kuchenke mikrofalowej In microwave oven	w atmosferze otoczenia In air	w kuchenke mikrofalowej In microwave oven	w atmosferze otoczenia In air	w kuchenke mikrofalowej In microwave oven		
Witamina C / Vitamin C												
0	4,7 ^{aA} ± 0,09	6,4 ^{aB} ± 0,2	6,4 ^{aB} ± 0,2	0,1 ^{aC} ± 0,02	1,9 ^{aD} ± 0,10	0,1 ^{aC} ± 0,02	1,9 ^{aD} ± 0,10	0,1 ^{aC} ± 0,02	1,9 ^{aD} ± 0,10	0,1 ^{aC} ± 0,02	1,9 ^{aD} ± 0,10	0,1 ^{aC} ± 0,02
3	3,0 ^{bA} ± 0,04	3,3 ^{bB} ± 0,07	6,89 ^{bC} ± 0,01	6,92 ^{bC} ± 0,09	0,16 ^{aD} ± 0,03	0,18 ^{aD} ± 0,01	1,90 ^{aE} ± 0,11	0,16 ^{aD} ± 0,03	0,18 ^{aD} ± 0,01	0,18 ^{aD} ± 0,01	1,85 ^{aE} ± 0,11	0,16 ^{aD} ± 0,03
90	1,14 ^{cA} ± 0,10	1,07 ^{cA} ± 0,10	5,51 ^{cB} ± 0,07	5,41 ^{cB} ± 0,11	0,06 ^{aC} ± 0,005	0,05 ^{aC} ± 0,01	1,67 ^{bD} ± 0,09	0,06 ^{aC} ± 0,005	0,05 ^{aC} ± 0,01	0,05 ^{aC} ± 0,01	1,60 ^{bD} ± 0,12	0,06 ^{aC} ± 0,005
Siła redukująca / Reducing power												
0	670,2 ^{aA} ± 36,2	467,6 ^{aB} ± 27,1	467,6 ^{aB} ± 27,1	499,8 ^{aB} ± 3,4	315,2 ^{aC} ± 12,7	499,8 ^{aB} ± 3,4	315,2 ^{aC} ± 12,7	499,8 ^{aB} ± 3,4	315,2 ^{aC} ± 12,7	499,8 ^{aB} ± 3,4	315,2 ^{aC} ± 12,7	499,8 ^{aB} ± 3,4
3	633,1 ^{bA} ± 36,7	673,4 ^{aB} ± 32,8	450,5 ^{aC} ± 4,3	442,0 ^{aB} ± 6,7	537,6 ^{bF} ± 25,3	539,6 ^{bF} ± 22,9	350,2 ^{aG} ± 8,2	537,6 ^{bF} ± 25,3	539,6 ^{bF} ± 22,9	539,6 ^{bF} ± 22,9	345,6 ^{aB} ± 6,6	537,6 ^{bF} ± 25,3
90	519,3 ^{cA} ± 14,0	549,8 ^{bA} ± 14,1	418,5 ^{bB} ± 6,4	409,7 ^{bB} ± 11,3	602,3 ^{cC} ± 9,2	604,6 ^{cC} ± 30,8	358,8 ^{bD} ± 5,7	602,3 ^{cC} ± 9,2	604,6 ^{cC} ± 30,8	604,6 ^{cC} ± 30,8	361,6 ^{bD} ± 10,3	602,3 ^{cC} ± 9,2
EC ₅₀												
0	7,73 ^{aA} ± 0,08	6,16 ^{aB} ± 0,06	6,16 ^{aB} ± 0,06	2,16 ^{aC} ± 0,02	16,7 ^{aD} ± 0,17	2,16 ^{aC} ± 0,02	16,7 ^{aD} ± 0,17	2,16 ^{aC} ± 0,02	16,7 ^{aD} ± 0,17	2,16 ^{aC} ± 0,02	16,7 ^{aD} ± 0,17	2,16 ^{aC} ± 0,02
3	8,89 ^{bA} ± 0,09	9,92 ^{bB} ± 0,10	5,75 ^{bC} ± 0,06	6,01 ^{aD} ± 0,06	2,93 ^{bE} ± 0,03	2,95 ^{bE} ± 0,03	19,69 ^{bF} ± 0,20	5,75 ^{bC} ± 0,06	6,01 ^{aD} ± 0,06	2,95 ^{bE} ± 0,03	18,67 ^{bG} ± 0,19	2,93 ^{bE} ± 0,03
90	10,97 ^{cA} ± 0,11	11,19 ^{cB} ± 0,13	8,19 ^{cC} ± 0,08	7,96 ^{bD} ± 0,07	2,25 ^{aE} ± 0,02	2,41 ^{cE} ± 0,02	18,46 ^{cF} ± 0,19	8,19 ^{cC} ± 0,08	7,96 ^{bD} ± 0,07	2,41 ^{cE} ± 0,02	18,39 ^{cP} ± 0,18	2,25 ^{aE} ± 0,02

Objaśnienia / Explanatory notes:

W tabeli przedstawiono wartości średnie ± odchylenia standardowe / Table shows mean values ± standard deviations; n = 3
 a, b, c – wartości średnie oznaczone różnymi literami w kolumnie (w obrębie jednego parametru) różnią się statystycznie istotnie (p ≤ 0,05) / mean values in columns and denoted by different letters (within one parameter) differ statistically significantly (p ≤ 0,05).

A, B, C – wartości średnie oznaczone różnymi literami w wierszach różnią się statystycznie istotnie (p ≤ 0,05) / mean values in rows and denoted by different letters differ statistically significantly (p ≤ 0,05).

Jedną z metod określenia właściwości przeciwutleniających homogenatów owocowych jest pomiar siły redukującej z wykorzystaniem soli Fe^{3+} . W tab. 2. przedstawiono jej wartości w świeżych homogenatach. Homogenat aroniowy charakteryzował się statystycznie istotną ($p \leq 0,05$), największą zdolnością do redukcji jonów żelaza Fe^{3+} , w porównaniu z pozostałymi homogenatami. Drugi w kolejności był homogenat z czarnej porzeczki, a następnie homogenat z truskawki i żurawiny. Z uwagi na to, że surowiec znacząco różnił się pod względem zawartości wody, wyniki przeliczono na suchą masę. Homogenat truskawkowy charakteryzował się o 22,4 % większą siłą redukującą od aroniowego i o 30,2 % – od homogenatu z czarnej porzeczki. Różnica między homogenatami z czarnej porzeczki i aronii była statystycznie nieistotna ($p \leq 0,05$). Ogrzewanie homogenatów sprzyjało narastaniu właściwości redukujących, szczególnie gdy zastosowano gotowanie na kuchence gazowej (tab. 3). W stosunku do surowca wyjściowego największy wzrost siły redukującej stwierdzono w homogenacie z aronii. Już po 5 min gotowania tradycyjnego siła redukująca tego homogenatu zwiększyła się o 37,9 %, a po ogrzewaniu mikrofalowym w tym samym czasie – o 29 %. Świadczy to o pozytywnym wpływie ogrzewania na właściwości przeciwutleniające homogenatu aroniowego, co przypuszczalnie sprzyja większej ekstrakcji związków kształtujących tę cechę.

Wpływ zamrażania i zamrażalniczego przechowywania oraz sposobu rozmrażania na właściwości redukujące badanych homogenatów przedstawiono w tab. 5. Sposób rozmrażania nie wpłynął istotnie ($p \leq 0,05$) na uzyskane wyniki. Wyjątek stanowił homogenat truskawkowy przechowywany przez 3 dni, którego wariant rozmrożony w kuchence mikrofalowej charakteryzował się większą siłą redukującą od próby rozmrażanej w atmosferze otoczenia (tab. 5). Stwierdzono natomiast wpływ zamrażania i zamrażalniczego przechowywania, przy czym różnił się on w zależności od rodzaju surowca. W przypadku homogenatów: truskawkowego i z czarnej porzeczki nastąpiło zmniejszenie właściwości redukujących, a w odniesieniu do żurawinowego i aroniowego – ich wzrost.

Zdolność neutralizowania wolnych rodników przedstawiono jako wartość EC_{50} (tab. 3 i 5). Najmniejszą początkową wartością EC_{50} , świadczącą jednocześnie o największych zdolnościach neutralizowania wolnych rodników, charakteryzował się homogenat z aronii. W zakresie wygaszania wolnych rodników był on silniejszy 2,9 razy w porównaniu z homogenatem z czarnej porzeczki i 3,6 razy – w porównaniu z truskawkowym. Najmniejszymi zdolnościami neutralizowania wolnych rodników charakteryzował się homogenat z żurawiny. Podobne wyniki uzyskali Nawirska i wsp. [14], którzy badali wytloki m.in. z aronii, czarnych porzeczek i truskawek i pod względem aktywności przeciwutleniającej uszeregowali je następująco: aronia > czarna porzeczka > truskawka. Również według Szajdek i wsp. [18] mus z aronii okazał się bardzo dobrym źródłem przeciwutleniaczy. W badaniach własnych po obróbce termicznej nastą-

piło niewielkie (statystycznie nieistotne w przypadku ogrzewania mikrofalowego) zmniejszenie wartości EC_{50} w homogenacie z żurawiny. Było ono mniejsze po zastosowaniu ogrzewania tradycyjnego w porównaniu z mikrofalowym. Po 5 min gotowania tradycyjnego zdolność neutralizowania wolnych rodników przez homogenat żurawinowy była o ok. 20 % mniejsza niż w podobnym homogenacie gotowanym w kuchence mikrofalowej.

Zmiany zdolności wygaszania wolnych rodników w czasie zamrażalniczego przechowywania przedstawiono w tab. 5. W przypadku homogenatów z aronii i żurawiny tylko proces zamrażania wpłynął nieznacznie na poprawę zdolności neutralizowania wolnych rodników, natomiast trzymiesięczne zamrażalnicze przechowywanie nie wpłynęło statystycznie istotnie ($p \leq 0,05$) na ten parametr. W homogenacie truskawkowym i z czarnej porzeczki zarówno zamrażanie, jak i zamrażalnicze przechowywanie wpłynęły na obniżenie zdolności neutralizowania wolnych rodników. Nie stwierdzano istotnego ($p \leq 0,05$) wpływu sposobu rozmrażania na te właściwości.

Biorąc pod uwagę wszystkie otrzymane w pracy wyniki można próbować ocenić efekty ogrzewania mikrofalowego i tradycyjnego na zachowanie właściwości przeciwutleniających w badanym surowcu. Zaobserwowano negatywny wpływ gotowania na kuchence gazowej na zawartość witaminy C, w porównaniu z gotowaniem w kuchence mikrofalowej. Gotowanie tradycyjne wpływa jednocześnie na wzrost właściwości przeciwutleniających, najprawdopodobniej na skutek większego wyekstrahowania składników. Wzrost właściwości przeciwutleniających w podwyższonej temperaturze stwierdzili także Duda-Chodak i wsp. [7] podczas analizy wpływu temperatury suszenia sliwek na ich właściwości przeciwutleniające. W badaniach Czerwińskiej [5] zachowanie właściwości przeciwutleniających brokułów zależało przede wszystkim od czasu działania wysokiej temperatury. Autorka zwraca uwagę na kwestię, którą zauważono także w badaniach własnych: ogrzewanie z użyciem kuchenki mikrofalowej jest łagodniejsze w porównaniu z ogrzewaniem tradycyjnym, podczas którego dochodzi do miejscowego przegrzewania produktu i, co może być z tym związane, zwiększonej inaktywacji enzymów.

Wnioski

1. Spośród badanych homogenatów z owoców jagodowych najsilniejszymi właściwościami przeciwutleniającymi charakteryzował się homogenat aroniowy. Jednocześnie zawierał on najmniej witaminy C.
2. Ogrzewanie tradycyjne wpłynęło protekcyjnie na zachowanie właściwości przeciwutleniających homogenatów w porównaniu z ogrzewaniem mikrofalowym.
3. Ogrzewanie mikrofalowe wpłynęło z kolei ochronnie na zachowania witaminy C w homogenatach z owoców jagodowych w porównaniu z ogrzewaniem tradycyjnym.

4. Zamrażalnictwo przechowywanie w większości przypadków wpłynęło na obniżenie właściwości przeciwutleniających homogenatów, wyjątkiem był wzrost siły redukującej homogenatu aroniowego i żurawinowego przechowywanego w warunkach zamrażalniczych przez 90 dni.
5. Metoda rozmrażania nie miała wpływu na zachowanie właściwości przeciwutleniających homogenatów z owoców jagodowych.

Badania współfinansowano z dotacji celowej na prowadzenie badań naukowych lub prac rozwojowych oraz zadań z nimi związanych służących rozwojowi młodych naukowców w ramach projektu nr rej. BM-4784/KChiKS/2015

Literatura

- [1] Brand-Wilims W., Cuvelier M.E., Berset C.: Use of free radical to evaluate antioxidant activity. *Lebensm. Wiss. Technol.*, 1995, **28** (1), 25-30.
- [2] Cichon R., Wądołowska L.: Zmiany wartości odżywczej podczas przechowywania i przetwarzania żywności. W: *Żywnienie człowieka. Podstawy nauki o żywieniu*. Wyd. III. Red. J. Gawęcki, L. Hryniewiecki. Wyd. Nauk. PWN, Warszawa 2010, ss. 389-402.
- [3] Cieślik E., Kostogryś R.B., Pisulewski P.: Biomarkery pobrania przeciwutleniaczy. *Przeciwutleniacze w żywności*. WNT, Warszawa 2007, ss. 416-421.
- [4] Czerwińska D.: Owoce słońca. *Przegl. Gastr.*, 2004, **58** (6), 41-42.
- [5] Czerwińska D.: Mikrofała na fali. *Przegl. Gastr.*, 2006, **60** (4), 12-13.
- [6] Drozdowski B.: Witaminy. W: *Chemia żywności*. Red. Z.E. Sikorski. WNT, Warszawa 2000, ss. 349-454.
- [7] Duda-Chodak A., Tarko T., Suwara M.: Wpływ temperatury i obróbki mikrofalowej na aktywność antyoksydacyjną suszonych śliwek. *Przem. Ferm. Owoc. Warz.*, 2009, **7-8**, 38-41.
- [8] Girard K.: Przeciwutleniacze na rynku żywności funkcjonalnej. *Przem. Spoż.*, 2008, **1**, 32-33.
- [9] Górecka A.: Amerykańska żurawina – unikalne zbiory i właściwości zdrowotne. *Przem. Spoż.*, 2006, **12**, 35-37.
- [10] Klimczak J., Irzyniec Z.: Szybkość degradacji witaminy C w kapuście brukselskiej mrożonej różnymi metodami. *Chłodnictwo*, 2001, **36** (6), 40-42.
- [11] Lee S.K., Kander A.A.: Preharvest and postharvest factors influencing vitamin C content in horticultural crops. *Postharvest Biol. Technol.*, 2000, **20** (3), 207-220.
- [12] Łata B.: Owoce jagodowe źródłem antyoksydantów. *Ogrodnictwo*, 2002, **6**, 11-13.
- [13] Makosz E.: Przyszłość uprawy truskawki, maliny, czarnej porzeczki i wiśni w Polsce. *Przem. Ferm. Owoc. Warz.*, 2006, **2**, 24-26.
- [14] Nawirska A., Sokół-Łętowska A., Kucharska A.: Właściwości przeciwutleniające wyłoków z wybranych owoców kolorowych. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*. 2007, **53** (4), 120-125.
- [15] Aruoma O.I.: Assessment of potential prooxidant and antioxidant actions. *JAOCS*, 1996, **73** (12), 1617-1625.
- [16] PN-EN 12145:2001. Soki owocowe i warzywne. Oznaczanie całkowitej suchej substancji. Metoda grawimetryczna oznaczania ubytku masy w wyniku suszenia.
- [17] PN-A-04019:1998. Produkty spożywcze. Oznaczanie zawartości witaminy C.
- [18] Szajdek A., Borowska E., Borowski J., Saczuk B.: Musy owocowe jako źródło naturalnych przeciwutleniaczy. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2007, **55** (6), 100-108.

- [19] Wawer I.: Aronia – wartościowy dodatek do wypieków. *Przegl. Piek. Cuk.*, 2006, **3**, 8-10.
- [20] Wilska-Jeszka J.: Inne naturalne składniki żywności. W: *Chemia żywności*. Red. Z.E. Sikorski. WNT, Warszawa 2000, ss. 457-472.
- [21] Yen G.H., Chen H.Y.: Antioxidant activity of various tea extracts in relation to their antimutagenicity. *J. Agric. Food Chem.*, 1995, **43**, 27-32.

EFFECT OF SELECTED THERMAL PROCESSES ON ANTIOXIDANT PROPERTIES OF BERRY FRUIT HOMOGENATES

Summary

The objective of the research study was to determine the effect of various heating and freezing techniques, as well as of the defrosting and frozen storage on the antioxidant properties of berry fruit homogenates.

The experimental material consisted of strawberry, blackcurrant, cranberry, and chokeberry homogenates. The raw material was thermally treated, i.e. it was heated (using a gas stove, a microwave oven, and a Thermomix multifunction device) and frozen. The frozen samples were stored at a temperature of $-24\text{ }^{\circ}\text{C}$: 1) for 3 days, to determine the effect of freezing process on the antioxidant properties of homogenates; 2) for 90 days to determine the effect of frozen storage on those properties. Prior to the analysis, the samples were defrosted in air (at a temperature of approx. $21\text{ }^{\circ}\text{C}$) and in a microwave oven. In the raw material, there were assayed: content of vitamin C, reducing power, and ability to scavenge free radicals. The blackcurrant homogenate contained the highest amount of vitamin C (6.4 mg/g of dry matter), whereas the strawberry homogenate was characterized by the highest reducing capability (670.2 mg of ascorbic acid/g of dry matter). The thermally treated chokeberry homogenates were the most effective scavengers of free radicals ($EC_{50} = 1.52\text{ g}$ of dry matter/g of DPPH). A temperature above 95°C caused the highest losses in vitamin C in the blackcurrant homogenates; those losses were lower in the microwave-heated homogenates than in the conventionally heated ones. The heating caused the reducing properties and free radical-scavenging activity to increase; the increase was higher when heating by a traditional method. The frozen storage caused the content of vitamin C and the scavenging capability of free radicals to decrease. As for the reducing power, the effect of storage depended on the raw material. A decrease was reported in the reducing power of the blackcurrant and strawberry homogenates, while the reducing power of cranberry and chokeberry homogenates increased.

Key words: berry fruits, heating, freezing, vitamin C, DPPH, reducing power ☒

KLAUDIA KULIK, BOŻENA WASZKIEWICZ-ROBAK

OCENA MOŻLIWOŚCI STOSOWANIA DOZWOLONYCH OŚWIADCZEŃ ŻYWIENIOWYCH I ZDROWOTNYCH DOTYCZĄCYCH KWASÓW TŁUSZCZOWYCH W ODNIESIENIU DO ORZECHÓW JADALNYCH

Streszczenie

W pracy oznaczono i porównano zawartość oraz profil kwasów tłuszczowych lipidów różnych orzechów jadalnych, jak również oceniono ich przydatność żywieniową w kontekście stosowania dozwolonych oświadczeń żywieniowych i zdrowotnych dotyczących kwasów tłuszczowych. Stwierdzono, że lipidy różnych orzechów zawierają $68,2 \div 86,9$ % kwasów tłuszczowych nienasyconych (UFA), w tym kwasy tłuszczowe jednonienasycone (MUFA) stanowią od 20,5 % (włoskie) do 77,3 % (makadamia), a wielonienasycone kwasy tłuszczowe (PUFA) – od 2,4 % (makadamia) do 66,3 % (włoskie). Zbliżonym, dość wysokim udziałem kwasów tłuszczowych PUFA ($43 \div 44$ %) charakteryzował się tłuszcz orzechów brazylijskich oraz piniowych. Zawierał on równocześnie najwięcej kwasów nasyconych, odpowiednio: 23,5 i 24,9 %. Najmniejszym udziałem kwasów nasyconych (SFA) charakteryzował się tłuszcz orzechów włoskich (8,8 %) i laskowych (9,5 %). Uzyskane wyniki umożliwiły stwierdzenie, że spośród porównywanych orzechów włoskie, brazylijskie, piniowe i pistacjowe charakteryzują się korzystnym składem kwasów tłuszczowych. Orzechy te mogą być cenne dla konsumenta pod względem żywieniowym i oddziaływać na organizm zgodnie z oświadczeniami zdrowotnymi po ich dziennym spożyciu wynoszącym odpowiednio: 31,8 g, 35,2 g, 41,5 g i 73,5 g. Pozostałe orzechy (nerkowce, makadamia i laskowe) nie mają większego znaczenia żywieniowego pod względem zawartości i profilu kwasów tłuszczowych, w odniesieniu do których sformułowano obowiązujące oświadczenia zdrowotne.

Słowa kluczowe: orzechy jadalne, tłuszcz, żywienie człowieka, oświadczenia żywieniowe, oświadczenia zdrowotne

Mgr inż. K. Kulik, Katedra Żywności Funkcjonalnej, Ekologicznej i Towaroznawstwa, Wydz. Nauk o Żywieniu Człowieka i Konsumpcji, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, ul. Nowoursynowska 159 C, 02-776 Warszawa, prof. dr hab. B. Waszkiewicz-Robak, Instytut Technologii Żywności i Gastronomii, Państwowa Wyższa Szkoła Informatyki i Przedsiębiorczości w Łomży, ul. Akademicka 14, 18-400 Łomża. Kontakt: b_robak@wp.pl

Wprowadzenie

Wielonienasycone kwasy tłuszczowe z grupy *n-6* powinny stanowić w diecie człowieka od 2 do 8 % jej wartości energetycznej, a prawidłowa ilość kwasów z grupy *n-3* w dziennej diecie to 2 g kwasu α -linolenowego (ALA) i 200 mg długołańcuchowych kwasów tłuszczowych (EPA – eikozapentaenowego i DHA – dokozaheksaenowego) [18]. Kwasy te wykazują prozdrowotny wpływ na organizm człowieka. Stanowią czynnik prewencyjny wobec wielu schorzeń, takich jak: zmiany miażdżycowe, podwyższony poziom cholesterolu, zapalenia, zakrzepy naczyniowe, upośledzony rozwój układu nerwowego – szczególnie centralnego, nadciśnienie tętnicze czy nowotwory [11, 27]. Z opinii Europejskiego Urzędu ds. Bezpieczeństwa Żywności (EFSA) [8] wynika, że zawartość kwasów EPA i DHA w diecie na poziomie 250 ÷ 500 mg obniża ryzyko zgonu z powodu chorób układu krążenia. Uważa się także, że spożycie kwasów tłuszczowych *n-3* PUFA powyżej 500 mg jest bezpieczne i nie wiąże się z działaniami niepożądanymi.

W celach marketingowych producenci mogą posługiwać się oświadczeniami żywieniowymi i zdrowotnymi dotyczącymi składników żywności na podstawie przepisów zawartych w rozporządzeniach Komisji (UE). W odniesieniu do kwasów tłuszczowych dozwolone są oświadczenia zdrowotne:

- przeznaczone dla kobiet ciężarnych i matek karmiących, odnoszące się do zmniejszenia ryzyka choroby oraz rozwoju i zdrowia dzieci [25]:
 - *Spożywanie kwasu dokozaheksaenowego (DHA) przez matkę wspomaga prawidłowy rozwój oczu u płodu i niemowląt karmionych piersią* – zgodnie z oświadczeniem korzystne działanie występuje w przypadku spożywania 200 mg DHA dziennie ponad zalecane dzienne spożycie kwasów tłuszczowych omega-3 dla dorosłych, tj. 250 mg DHA i kwasu eikozapentaenowego (EPA).
 - *Spożywanie kwasu dokozaheksaenowego (DHA) przez matkę wspomaga prawidłowy rozwój mózgu u płodu i niemowląt karmionych piersią* – zgodnie z oświadczeniem korzystne działanie występuje w przypadku spożywania 200 mg DHA dziennie ponad zalecane dzienne spożycie kwasów tłuszczowych omega-3 dla dorosłych, tj. 250 mg DHA i EPA.
- oświadczenia inne niż odnoszące się do zmniejszenia ryzyka choroby oraz rozwoju i zdrowia dzieci [24]:
 - *Kwas alfa-linolenowy (ALA) pomaga w utrzymaniu prawidłowego poziomu cholesterolu we krwi* – oświadczenie może być stosowane wyłącznie w odniesieniu do żywności będącej przynajmniej źródłem ALA [26]. Według informacji dla konsumenta korzystne działanie występuje w przypadku spożywania 2 g ALA dziennie.

- *Kwas dokozaheksaenowy (DHA) przyczynia się do utrzymania prawidłowego funkcjonowania mózgu* – oświadczenie może być stosowane wyłącznie w odniesieniu do żywności, która zawiera przynajmniej 40 mg DHA na 100 g i na 100 kcal. Oświadczenie może być stosowane, jeżeli konsument zostanie poinformowany, że korzystne działanie występuje w przypadku spożywania 250 mg DHA dziennie.
- *Kwas dokozaheksaenowy (DHA) przyczynia się do utrzymania prawidłowego widzenia* – oświadczenie może być stosowane wyłącznie w odniesieniu do żywności, która zawiera przynajmniej 40 mg DHA na 100 g i na 100 kcal. Oświadczenie może być stosowane, jeżeli konsument zostanie poinformowany, że korzystne działanie występuje w przypadku spożywania 250 mg DHA dziennie.
- *Kwas eikozapentaenowy (EPA) i kwas dokozaheksaenowy (DHA) przyczyniają się do prawidłowego funkcjonowania serca* – oświadczenie może być stosowane wyłącznie w odniesieniu do żywności będącej przynajmniej źródłem EPA i DHA, zgodnie z zapisem *źródło kwasów tłuszczowych omega-3*, wymienionym w załączniku do rozporządzenia (WE) nr 1924/2006 [26]. Oświadczenie może być stosowane, jeżeli konsument zostanie poinformowany, że korzystne działanie występuje w przypadku spożywania 250 mg EPA i DHA dziennie.
- *Kwas linolowy (LA) pomaga w utrzymaniu prawidłowego poziomu cholesterolu we krwi* – oświadczenie może być stosowane wyłącznie w odniesieniu do żywności zawierającej przynajmniej 1,5 g kwasu linolowego (LA) na 100 g i na 100 kcal. Podaje się informację dla konsumenta, że korzystne działanie występuje w przypadku spożywania 10 g LA dziennie.
- *Żywność o niskiej lub obniżonej zawartości nasyconych kwasów tłuszczowych – ograniczenie spożywania nasyconych kwasów tłuszczowych pomaga w utrzymaniu prawidłowego poziomu cholesterolu we krwi* – oświadczenie może być stosowane wyłącznie w odniesieniu do żywności spełniającej przynajmniej wymagania odnoszące się do żywności o małej zawartości nasyconych kwasów tłuszczowych, zgodnie z zapisem *niska zawartość tłuszczów nasyconych* lub w odniesieniu do żywności spełniającej przynajmniej wymagania dla żywności o obniżonej zawartości nasyconych kwasów tłuszczowych zgodnie z oświadczeniem *o obniżonej zawartości (nazwa składnika odżywczego)*, wymienionym w załączniku do rozporządzenia (WE) nr 1924/2006 [26].

Modyfikacja diety wymaga doboru odpowiednich produktów spożywczych, m.in. orzechów, których tłuszcz powinien być źródłem niezbędnych kwasów tłuszczowych, szczególnie *n-3* PUFA, aby powyższe zalecenia mogły być zrealizowane. Przeprowadzono badania obserwacyjne, epidemiologiczne oraz kliniczne wśród różnych grup

ludności, w których potwierdzono istotną zależność pomiędzy wielkością spożycia orzechów a śmiertelnością z powodu wymienionych wyżej chorób [13]. Kendall i wsp. [14] oraz Toledo i wsp. [29] wskazują, że spożywanie orzechów ma korzystny wpływ na poziom cholesterolu całkowitego i triacylogliceroli, co związane jest z odpowiednim profilem kwasów tłuszczowych tłuszczu zawartego w orzechach (mała zawartość nasyconych kwasów tłuszczowych i równocześnie duża – nienasyconych).

Z opinii EFSA opublikowanych w 2011 roku wynika, że [9, 10]:

- 30 g orzechów włoskich (surowych lub prażonych) przyczynia się do poprawy elastyczności naczyń krwionośnych, zależnych od śródbłonka (ang. *endothelium dependent vasodilatation*, EDV),
- 20 g różnych orzechów (spożywanych zawsze po posiłku) pomaga w utrzymaniu zdrowego układu sercowo-naczyniowego, a 30 g różnych orzechów (z wyjątkiem brazylijskich, makadamia i orzechów nerkowca) pomaga utrzymać serce w zdrowiu, ze względu na znaczącą ilość kwasu alfa-linolenowego,
- 30 g orzechów pomaga utrzymać prawidłową masę ciała ze względu na uzyskiwanie efektu sytości związanego z zawartym w orzechach białkiem i błonnikiem pokarmowym.

Dane literaturowe wskazują, że tłuszcz zawarty w różnych orzechach nie został dotychczas wystarczająco przebadany pod względem zawartości i profilu kwasów tłuszczowych w odniesieniu do omawianych efektów prozdrowotnych. W przytoczonych publikacjach opisane są bowiem korzystne efekty uzyskiwane po włączeniu do diety orzechów. Podano tylko ich dawkę oraz okres spożywania. Brak jest natomiast szczegółowej charakterystyki tłuszczu zawartego w tych orzechach.

Celem niniejszej pracy było określenie zawartości oraz profilu kwasów tłuszczowych w siedmiu rodzajach orzechów jadalnych, a następnie ocena ich przydatności żywieniowej w diecie człowieka w kontekście stosowania dozwolonych oświadczeń żywieniowych i zdrowotnych dotyczących kwasów tłuszczowych.

Material i metody badań

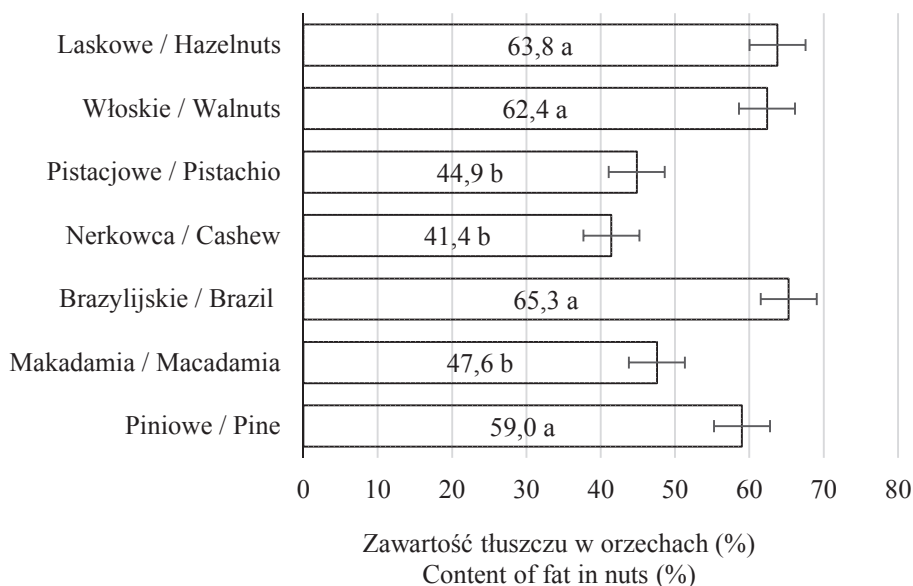
Materiałem doświadczalnym było siedem rodzajów orzechów: pistacjowe, włoskie, makadamia, laskowe, pinii, brazylijskie i nerkowca, zakupionych w opakowaniach jednostkowych. Wszystkie orzechy pochodziły z jednego kraju. Badania prowadziło na 2 - 3 różnych partiach poszczególnych produktów. Zawartość tłuszczu oznaczano metodą Soxhleta wg PN-EN ISO 659:2010 [22], natomiast profil kwasów tłuszczowych – metodą chromatografii gazowej przy użyciu chromatografu GC Thermo (Thermo Scientific, USA), wyposażonego w detektor płomieniowo-jonizacyjny (FID) o temp. 250 °C. W celu oznaczenia czasów retencji używano wzorca Supelco 37 Component FAME Mix (Sigma-Aldrich, USA). Całkowity czas jednej analizy wynosił 60 min. Wyniki w postaci chromatogramów poddawano analizie, w tym integracji za po-

mocą programu GC Solution. Wszystkie oznaczenia wykonano co najmniej w 3 partiach wyrobów i w 3 powtórzeniach.

Analizę statystyczną wyników wykonano w programie Statistica v. 12 oraz Statghrafic v. 5.1. Zastosowano jednoczynnikową analizę wariancji. Istotność różnic pomiędzy wartościami średnimi oceniano testem Duncana ($p < 0,05$). Wykonano także analizę składowych głównych – PCA.

Wyniki i dyskusja

Badane orzechy charakteryzowały się zróżnicowaną zawartością tłuszczu wynoszącą od ok. 40 do ponad 65 % (rys. 1). Najwięcej tego składnika zawierały orzechy brazylijskie (65,3 %), laskowe (63,8 %) oraz włoskie (62,4 %), natomiast najmniej – orzechy pistacjowe (44,9 %) oraz nerkowca (41,4 %).



Objaśnienia: / Explanatory notes:

Na rysunku przedstawiono wartości średnie (w postaci słupków) i odchylenia standardowe (w postaci odcinków) / Figure shows mean values (bars) and standard deviations (line segments); $n = 21$; a, b – wartości średnie oznaczone różnymi literami różną się statystycznie istotnie ($p = 0,05$) / mean values denoted by different letters differ statistically significantly ($p = 0.05$).

Rys. 1. Porównanie zawartości tłuszczu w wybranych orzechach jadalnych

Fig. 1. Comparing contents of fat in selected edible nuts

Tłuszcz jest głównym makroskładnikiem orzechów [2, 12]. Orzechy włoskie zawierają przeciętnie 60 % tłuszczu [7], ale zawartość ta może kształtować się na poziomie 52 ÷ 70 % [5, 14]. Muradoglu i wsp. [19] oznaczyli w różnych orzechach przeciętnie 49,8 % tłuszczu, natomiast Pereira i wsp. [21] – 72,14 %. Zawartość tłuszczu oraz profil kwasów tłuszczowych w orzechach są zmienne i zależą od wielu czynników, m.in. od: odmiany i pochodzenia geograficznego, warunków wzrostu, dojrzałości, nawożenia, czasu zbioru, rodzaju gleby, klimatu, szerokości geograficznej, a także warunków przechowywania czy transportu [3].

Orzechy włoskie i laskowe charakteryzowały się małą zawartością kwasów tłuszczowych nasyconych SFA (5,5 oraz 6,1 g/100 g) oraz dużą zawartością kwasów nienasyconych UFA (54,2 oraz 53,5 g/100 g orzechów), przy czym w przypadku orzechów laskowych większość z nich stanowiły kwasy jednonienasycone MUFA (48,5 g/100 g), a w przypadku orzechów włoskich – wielonienasycone PUFA (41,4 g/100 g). Orzechy laskowe zawierały bardzo mało kwasów tłuszczowych z grupy *n-3* PUFA (0,09 g/100 g) oraz stosunkowo dużo kwasów z grupy *n-9* PUFA (47,3 g/100 g) (tab. 1). Orzechy laskowe oraz włoskie analizowane w niniejszej pracy zawierały najwięcej kwasów tłuszczowych nienasyconych, co jest zbliżone z wynikami innych autorów [1, 3, 17]. Według danych literaturowych orzechy brazylijskie oraz makadamia zawierają 18 ÷ 28 % nasyconych kwasów tłuszczowych. Orzechy brazylijskie są głównym źródłem nienasyconych kwasów tłuszczowych, których udział wynosi 71,3 % [20, 30].

Tabela 1. Zawartość różnych grup kwasów tłuszczowych w wybranych orzechach
Table 1. Content of different groups of fatty acids in selected nuts

Rodzaj orzechów Kind of nuts	Grupy kwasów tłuszczowych [g/100 g orzechów] Groups of fatty acids [g/100 g of edible nuts]			
	UFA - nienasycone unsaturated	SFA - nasycone saturated	MUFA - jednonienasycone monounsaturated	PUFA - wielonienasycone polyunsaturated
Pistacjowe / Pistachio	36,2 ^b ± 0,7	5,8 ^b ± 0,1	22,3 ^d ± 0,7	13,9 ^d ± 0,1
Włoskie / Walnuts	54,2 ^e ± 0,6	5,5 ^c ± 0,2	12,8 ^a ± 0,6	41,4 ^e ± 1,0
Brazylijskie / Brazil	47,4 ^d ± 0,7	15,3 ^a ± 0,6	18,7 ^c ± 1,8	28,8 ^f ± 2,4
Nerkowca / Cashew	31,5 ^a ± 0,3	8,1 ^e ± 0,4	24,1 ^d ± 0,7	7,3 ^c ± 0,4
Makadamia / Macadamia	37,9 ^b ± 0,9	7,7 ^d ± 1,5	36,7 ^e ± 0,7	1,1 ^a ± 0,2
Laskowe / Hazelnuts	53,5 ^e ± 2,7	6,1 ^c ± 0,4	48,5 ^f ± 2,3	4,9 ^b ± 0,6
Piniowe / Pine	40,2 ^c ± 0,8	14,7 ^a ± 0,2	14,8 ^b ± 0,4	25,5 ^e ± 0,6

Objaśnienia: / Explanatory notes:

w tabeli przedstawiono wartości średnie ± odchylenia standardowe / Table shows mean values ± standard deviations; n = 21;

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

W tłuszczu orzechów brazylijskich, analizowanych w niniejszej pracy, stwierdzono 28 ÷ 32 % kwasów tłuszczowych jednonienasyconych, tj. prawie dwa razy mniej w porównaniu z wartościami podanymi przez Neta i wsp. [20].

Zawartość wielonienasyconych kwasów tłuszczowych z grupy *n-3*, *n-6* oraz *n-9* PUFA w 100 g badanych orzechów przedstawiono w tab. 2., natomiast w tab. 3. zamieszczono zawartość tych kwasów w 100 g orzechów przeznaczonych do bezpośredniego spożycia. Orzechy włoskie wyróżniały się dużą zawartością kwasów *n-3* PUFA (6,23 g/100 g), podczas gdy w orzechach nerkowca i laskowych było ich 0,08 ÷ 0,09 g/100 g, w orzechach piniowych, makadamia i brazylijskich – 0,16 ÷ 0,17 g/100 g oraz w orzechach pistacjowych – 0,27 g/100 g. Wskaźnik zawartości kwasów tłuszczowych z grupy *n-6* do zawartości kwasów tłuszczowych z grupy *n-3* był korzystny dla orzechów włoskich i makadamia (odpowiednio: 5,6 : 1 i 5,9 : 1), duży w przypadku orzechów laskowych, nerkowca i pistacjowych – ok. (50 ÷ 80) : 1 oraz bardzo duży dla orzechów piniowych i brazylijskich – ok. (150 ÷ 160) : 1. Pod względem żywieniowym i prozdrowotnym tłuszcz bez względu na pochodzenie oceniany był w zależności od zawartości takich kwasów tłuszczowych, jak: α -linolenowy (ALA), eikozapentaenowy (EPA), dokozaheksaenowy (DHA) oraz arachidonowy (AA).

Tabela 2. Zawartość różnych grup kwasów tłuszczowych w wybranych orzechach
Table 2. Content of different groups of fatty acids in selected nuts

Rodzaj orzechów Kind of nuts	Grupy kwasów tłuszczowych [g/100 g orzechów] Groups of fatty acids [g/100 g of nuts]			<i>n-6</i> : <i>n-3</i>
	<i>n-3</i> PUFA	<i>n-6</i> PUFA	<i>n-9</i> PUFA	
Pistacjowe / Pistachio	0,27 ^b ± 0,02	13,62 ^d ± 0,12	20,34 ^c ± 0,80	50,5 : 1
Włoskie / Walnuts	6,23 ^a ± 0,13	35,13 ^a ± 0,95	11,97 ^f ± 0,60	5,6 : 1
Brazylijskie / Brazil	0,17 ^c ± 0,08	28,60 ^b ± 2,39	17,71 ^d ± 1,75	167,5 : 1
Nerkowca / Cashew	0,08 ^d ± 0,01	7,21 ^e ± 0,39	23,73 ^b ± 0,68	84,9 : 1
Makadamia / Macadamia	0,16 ^c ± 0,02	0,97 ^g ± 0,16	24,06 ^b ± 2,01	5,9 : 1
Laskowe / Hazelnuts	0,09 ^d ± 0,02	4,83 ^f ± 0,57	47,63 ^a ± 2,30	54,3 : 1
Piniowe / Pine	0,17 ^c ± 0,02	24,94 ^c ± 0,56	13,80 ^e ± 0,42	142,7 : 1

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

Zaletą orzechów włoskich jest znacząca zawartość kwasów tłuszczowych wielonienasyconych, których udział stanowi ponad połowę ogólnej puli kwasów tłuszczowych. Jest to niezwykle ważne w kontekście zachowania prawidłowego stosunku niezbędnych nienasyconych kwasów tłuszczowych należących do rodziny *n-6* (kwasu linolowego – LA) i *n-3* (kwasu α -linolenowego – ALA). Stosunek LA do ALA powinien wynosić 5 : 1. Z tego względu orzechy włoskie powinny być zalecane w codziennej diecie [5].

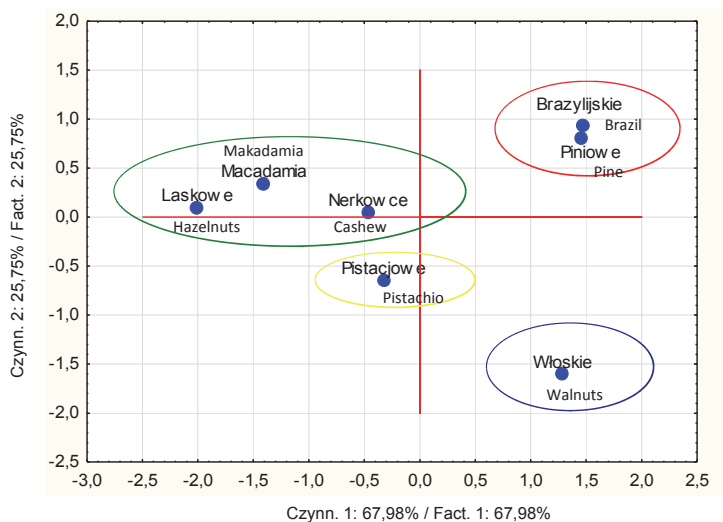
Tabela 3. Zawartość wybranych kwasów tłuszczowych w orzechach

Table 3. Comparing contents of selected fatty acid in nuts

Rodzaj orzechów Kind of nuts	Zawartość kwasów tłuszczowych w 100 g orzechów Content of fatty acid in 100 g of nuts				
	ALA [mg]	EPA [mg]	DHA [mg]	LA [g]	AA [mg]
Pistacjowe / Pistachio	250,3 ^b ± 5,6	2,9 ^d ± 0,2	8,1 ^a ± 1,0	13,6 ^d ± 0,1	111,9 ^d ± 8,4
Włoskie / Walnuts	6 209,3 ^a ± 13,8	3,1 ^c ± 0,2	6,8 ^b ± 0,5	35,1 ^a ± 1,0	90,6 ^e ± 7,8
Brazylijskie / Brazil	157,8 ^c ± 8,3	4,4 ^b ± 0,4	4,5 ^c ± 0,2	28,4 ^b ± 2,4	127,9 ^d ± 15,2
Nerkowca / Cashew	68,2 ^f ± 0,4	3,2 ^c ± 0,2	7,5 ^b ± 0,9	7,2 ^e ± 0,4	184,2 ^c ± 13,0
Makadamia / Macadamia	136,7 ^d ± 1,3	5,9 ^a ± 0,4	2,1 ^d ± 0,1	0,9 ^g ± 0,2	1035,1 ^a ± 53,4
Laskowe / Hazelnuts	77,2 ^e ± 1,8	2,9 ^d ± 0,2	6,2 ^b ± 0,4	4,8 ^f ± 0,6	110,9 ^d ± 1,0
Piniowe / Pine	155,8 ^c ± 1,1	5,9 ^a ± 0,3	9,0 ^a ± 0,7	24,1 ^c ± 0,4	439,1 ^b ± 13,6

ALA – kwas α -linolenowy / α -linolenic acid; EPA – kwas eikozapentaenowy / eicosapentaenoic acid; DHA – kwas dokozaheksaenowy / docosahexaenoic acid; LA – kwas linolowy / linoleic acid; AA – kwas arachidonowy / arachidonic acid.

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



Rys. 2. Projekcja różnic i podobieństw (PCA) badanych orzechów pod względem zawartości kwasów tłuszczowych

Fig. 2. PCA projection of differences and similarities among analyzed nuts as regard content of fatty acids

Na rys. 2. przedstawiono badane orzechy zgrupowane według różnic i podobieństw zawartości badanych kwasów tłuszczowych. Wyniki te wskazują, że zbliżo-

nym profilem kwasów tłuszczowych charakteryzowały się orzechy: a) brazylijskie i piniowe, b) laskowe, makadamia i nerkowce. Orzechy włoskie różniły się od pozostałych największą zawartością kwasów PUFA. Orzechy pistacjowe charakteryzowały się zbliżoną do nerkowców zawartością kwasów tłuszczowych MUFA oraz zbliżoną do orzechów włoskich zawartością kwasów nasyconych SFA. Profil kwasów tłuszczowych orzechów nerkowca opisany przez Bouafou i wsp. [6] znacznie różnił się od danych uzyskanych w niniejszej pracy. Autorzy stwierdzili większą zawartość nienasyconych kwasów tłuszczowych (91,0 %) oraz mniejszą zawartość kwasów: nasyconych (9,0 %), jednonienasyconych (27,0 %) i wielonienasyconych (8,0 %). Oceniane w niniejszej pracy orzechy pistacjowe były głównym źródłem kwasów jednonienasyconych, stanowiących prawie połowę całej frakcji tłuszczowej, co nie znalazło potwierdzenia w wynikach Kirbaslara i wsp. [16], którzy określili ten udział jako 68,45 %. Tym samym autorzy uzyskali mniejszą zawartość kwasów tłuszczowych PUFA (21,28 %). Borecka i wsp. [5] wykazali, że dominującym kwasem tłuszczowym w orzechach włoskich był nienasycony kwas linolowy (C18:2), stanowiący średnio 58,6 %.

W tab. 4. przedstawiono ilości orzechów, jakie należałoby spożyć, aby osiągnąć korzyści zdrowotne wyszczególnione w wymienionych oświadczeniach zdrowotnych.

Tabela 4. Porcja orzechów, jaką należałoby spożyć, aby spełnić warunki podane w wybranych oświadczeniach zdrowotnych

Table 4. Portion of nuts to be consumed in order to meet the requirements given in selected health claims

Rodzaj orzechów Kind of nuts	Masa orzechów [g] w jakiej zawarta jest wskazana ilość kwasów tłuszczowych / Weight of nuts [g] containing the amount of recommended fatty acids					
	2 g ALA	10 g LA	100 mg DHA	200 mg DHA	2 g EPA i DHA	3 ÷ 5 g EPA i DHA
Pistacjowe / Pistachio	800	73,5	1234,5	2469,1	93657	140485 ÷ 234142
Włoskie / Walnuts	31,8	28,5	1470,5	2941	93927	140891 ÷ 234818
Brazylijskie / Brazil	1267	35,2	2222,2	4444,4	89899	134848 ÷ 224747
Nerkowca / Cashew	2941	138,8	1333,3	2666,6	89167	133750 ÷ 222917
Makadamia / Macadamia	1463	1111,1	4761,9	9523,8	129136	193705 ÷ 322841
Laskowe / Hazelnuts	2590	208,3	1612,9	3225,8	101224	151835 ÷ 253059
Piniowe / Pine	1283	41,5	1111,1	2222,2	56121	84181 ÷ 140302

Porcja orzechów jaką należy spożyć, aby spełnić warunki oświadczenia zdrowotnego odnoszącego się do prawidłowego wzrostu i rozwoju dzieci w przypadku dostarczenia 2 g kwasu ALA wydaje się możliwa jedynie w odniesieniu do orzechów włoskich (31,8 g/dzień). Aby dostarczyć 10 g kwasu LA, dziennie należy spożyć: 73,5 g

orzechów pistacjowych, 28,5 g włoskich, 35,2 g brazylijskich oraz 41,5 g orzechów piniowych. Spełnienie warunków obu oświadczeń zdrowotnych, dotyczących spożycia 100 i 200 mg kwasu DHA, byłoby możliwe po spożyciu przez człowieka w ciągu dnia od ponad 1 kg do 4,7 kg oraz od 2,2 kg do ponad 9 kg orzechów. Wątpliwe jest więc, aby mogły one stanowić źródło kwasu DHA w diecie.

Najkorzystniejszą ilość kwasów tłuszczowych ALA, LA lub DHA mogą dostarczyć orzechy włoskie (źródło kwasu ALA), ale również orzechy brazylijskie, piniowe czy pistacjowe (jako źródło kwasu LA). Należałoby jednak spożyć ponad 1 kg każdego orzechów, aby w diecie dostarczyć ok. 100 mg i więcej kwasu DHA, co wydaje się bardzo trudne czy wręcz niemożliwe. Wskazane ilości orzechów, dostarczające od 2 do 5 g kwasów EPA i DHA łącznie, nie są możliwe do spożycia.

W 2003 roku amerykańska Agencja Żywności i Leków (FDA) opublikowała pierwsze dopuszczone oświadczenie zdrowotne dotyczące orzechów: *Dowody naukowe wskazują, lecz nie dowodzą, że spożywanie 1,5 uncji (tj. ok. 42,5 g) orzechów dziennie, jako część diety o małej zawartości tłuszczów nasyconych i cholesterolu, może zmniejszać ryzyko chorób serca*. Przy czym nie mogą one dostarczać więcej niż 4 g tłuszczów nasyconych w 50 g orzechów [28].

W tab. 5. przedstawiono wyliczenie zawartości wybranych kwasów tłuszczowych w 1 porcji ustalonej jako 42,5 g wybranych orzechów.

Tabela 5. Wyliczona (na podstawie oznaczeń analitycznych) zawartość wybranych kwasów tłuszczowych w 1 porcji stanowiącej 42,5 g wybranych orzechów

Table 5. Calculated (based on data of analytical determinations) content of selected fatty acids in 1 portion equalling 42.5 g of selected nuts

Rodzaj i przeciętna liczba orzechów stanowiących 42,5 g Kind and average number of nuts equalling 42.5 g		Zawartość wybranych kwasów tłuszczowych w 42,5 g orzechów Content of selected fatty acids in 42.5 g of nuts			
		ALA [mg]	LA [g]	DHA [mg]	SFA [g]
Laskowe / Hazelnuts	34 szt. / pcs	32	2	2,5	2,6
Pinii / Pine	10 szt. / pcs	65	10,2	3,8	6,3
Pistacjowe / Pistachio	57 szt. / pcs	105	5,8	3,4	2,5
Włoskie / Walnuts	10 szt. / pcs	$2,7 \times 10^3$	14,9	2,9	2,4
Wymagana zawartość dla oświadczeń zdrowotnych / Required content for health claims		$1,5 \times 10^3$	10	40 ÷ 100	max 4

Z uwagi na zawartość kwasów tłuszczowych ALA, LA i równocześnie wymaganą maksymalną zawartość nasyconych kwasów tłuszczowych SFA ograniczonych do 4 g w ok. 50 g orzechów, należy przede wszystkim wyróżnić orzechy włoskie i pistacjowe.

Natomiast biorąc pod uwagę wszystkie omawiane wskaźniki należy stwierdzić, że orzechy włoskie charakteryzują się najkorzystniejszym profilem kwasów tłuszczowych i odpowiednią zawartością poszczególnych kwasów, w tym ALA, LA i SFA.

W niniejszej pracy dowiedziono, że poszczególne rodzaje orzechów bardzo różnią się pod względem zawartości tłuszczu i profilu kwasów tłuszczowych. Dlatego też przy wykorzystywaniu orzechów jako składnika codziennej diety należy uwzględnić ich rodzaj, gdyż przypadkowy wybór może spowodować wprowadzenie do diety jedynie składnika o wysokiej wartości energetycznej.

Wnioski

1. Orzechy charakteryzują się dość zróżnicowaną zawartością tłuszczu i profilem kwasów tłuszczowych. Dla każdego rodzaju orzechów istotne pod względem zawartości są przede wszystkim takie kwasy tłuszczowe, jak: α -linolenowy (ALA), linolowy (LA), arachidowy (AA).
2. Stosunek zawartości kwasów tłuszczowych z grupy $n-6$ do $n-3$ jest bardzo korzystny dla orzechów włoskich oraz makadamia i zawiera się w wartościach rekomendowanych.
3. Ilość orzechów jaką należy spożyć, aby spełnić warunki oświadczenia zdrowotnego, odnoszącego się do zawartości kwasu ALA w ilości 2 g, wydaje się możliwa jedynie w przypadku orzechów włoskich (31,8 g/dzień).
4. Dostarczenie z dietą 10 g kwasu LA jest możliwe przy spożyciu: 28,5 g orzechów włoskich, 35,2 g – orzechów brazylijskich, 41,5 g orzechów piniowych lub 73,5 g – orzechów pistacjowych.
5. Z uwagi na zawartość kwasów tłuszczowych ALA oraz LA i równocześnie ograniczoną do 4 g w porcji orzechów maksymalną zawartość nasyconych kwasów tłuszczowych SFA należy wyróżnić orzechy włoskie i pistacjowe. Natomiast pod względem wszystkich omawianych wskaźników orzechy włoskie charakteryzują się najkorzystniejszym profilem kwasów tłuszczowych i zawartością poszczególnych kwasów, w tym ALA, LA i SFA.
6. W celu dostarczenia w diecie minimalnej (100 mg) ilości kwasu DHA dziennie, istotnej pod względem żywieniowym, należałoby spożyć ponad 1 kg każdego gatunku orzechów, co jest niemożliwe.

Literatura

- [1] Amaral J.S., Casal S., Citova I., Santos A., Seabra R.M., Oliveira B.P.P.: Characterization of several hazelnut (*Corylus avellana* L.) cultivars based in chemical, fatty acid and sterol composition. Eur. Food Res. Technol., 2006, **222** (3/4), 274-280.

- [2] Awad-Allah M.A.A.: Evaluation of selected nuts and their proteins functional properties. J. Appl. Sci. Res., 2013, **9 (1)**, 885-896.
- [3] Beyhan O., Elmastas M., Genc N., Aksit A.: Effect of altitude on fatty acid composition in Turkish hazelnut (*Coryllus avellana* L.) varieties. Afr. J. Biotechnol., 2011, **71 (10)**, 16064-16068.
- [4] Bolling B.W., McKay D.L., Blumberg J.B.: The phytochemical composition and antioxidant actions of tree nuts. Asia Pac. J. Clin. Nutr., 2010, **19 (1)**, 117-123.
- [5] Borecka W., Walczak Z., Starzycki M.: Orzech włoski (*Juglans regia* L.) – naturalne źródło prozdrowotnych składników żywności. Nauka Przyr. Technol., 2013, **7 (2)**, 1-7.
- [6] Bouafou K.G.M., Konan B.A., Zannou-Tchoko V., Kati-Coulibally S.: Cashew in breeding: Research synthesis. Int. J. Agr. & Agric. R., 2011, **1 (1)**, 1-8.
- [7] Dogan M., Akgul A.: Fatty acid composition of some walnut (*Juglans regia* L.) cultivars from east Anatolia. Grasas y Aceites, 2005, **56 (4)**, 328-331.
- [8] EFSA: Panel on Dietetic Products, Nutrition, and Allergies (NDA), scientific opinion on dietary reference values for fats, including saturated fatty acids, polyunsaturated fatty acids, monounsaturated fatty acids, trans fatty acids, and cholesterol. EFSA J., 2010, **8 (3)**, 1461.
- [9] EFSA: Scientific opinion on the substantiation of health claims related to nuts and essential fatty acids (omega-3/omega-6) in nut oil (ID 741, 1129, 1130, 1305, 1407) pursuant to Article 13 (1) of Regulation (EC) No 1924/2006. EFSA J., 2011, **9 (4)**, 2032.
- [10] EFSA: Scientific opinion on the substantiation of health claims related to walnuts and maintenance of normal blood LDL-cholesterol concentrations (ID1156, 1158) and improvement of endothelium dependent vasodilation (ID1155, 1157) pursuant to Article 13 (1) of Regulation (EC) No 1924/2006. EFSA J., 2011, **9 (4)**, 2074.
- [11] EFSA: Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA), scientific opinion on the tolerable upper intake level of eicosapentaenoic acid (EPA), docosahexaenoic acid (DHA) and docosapentaenoic acid (DPA). EFSA J., 2012, **10 (7)**, 2815.
- [12] Evaristo I., Batista D., Correia I., Correia P., Costa R.: Chemical profiling of portuguese *Pinus pinea* L. nuts and comparative analysis with *Pinus koraiensis* Sieb. and vZucc. commercial kernels. Options Méditerranéennes, Series A: Mediterranean Seminars, 2013, **A (105)**, 99-104.
- [13] Kelly J.H. Jr., Sabate J.: Nuts and coronary heart disease: An epidemiological perspective. Brit. J. Nutr., 2006, **96 (2)**, 61-67.
- [14] Kendall C.W.C., Esfahani A., Truan J., Srirachikul K., Jenkins D.J.A.: Health benefits of nuts in prevention and management of diabetes. Asia Pac. J. Clin. Nutr., 2010, **19 (1)**, 110-116.
- [15] King J.C., Blumberg J.B., Ingwersen L., Jenab M., Tucker K.L.: Tree nuts and peanuts as components of a healthy diet. J. Nutr., 2008, **138 (9)**, 1736-1740.
- [16] Kirbaslar F.G., Türker G., Özsoy-Güneş Z., Ünal M., Dülger B., Ertaş E., Kızılkaya B.: Evaluation of fatty acid composition, antioxidant and antimicrobial activity, mineral composition and calorie values of some nuts and seeds from Turkey. Rec. Nat. Prod., 2012, **6 (4)**, 339-349.
- [17] Koksak A.I., Artik N., Simsek A., Gunes N.: Nutrient composition of hazelnut (*Coryllus avellana* L.) varieties cultivated in Turkey. Food Chem., 2006, **99 (3)**, 509-515.
- [18] List G.R.: Decreasing trans and saturated fatty acid content in food oils. Food Technol., 2004, **58 (1)**, 23-30.
- [19] Muradoglu F., Oguz H.I., Yildiz K., Yilmaz H.: Some chemical composition of walnut (*Juglans regia* L.) selections from Eastern Turkey. Afr. J. Agric. Res., 2010, **17 (5)**, 2379-2385.
- [20] Neto V.Q., Bakke O.A., Ramos C.M.P., Bora P.S., Letelier J.C., Conceição M.M.: Brazil nut (*Bertholletia excelsa* HBK) seed kernel oil: Characterization and thermal stability. BioFar, 2009, **3 (1)**, 33-42.

- [21] Pereira J.A., Oliveira I., Sousa A., Ferreira I.C.F.R., Bento A., Estevinho L.: Bioactive properties and chemical composition of six walnut (*Juglans regia* L.) cultivars. *Food Chem. Toxicol.*, 2008, **46** (6), 2103-2111.
- [22] PN-EN ISO 659:2010. Nasiona oleiste. Oznaczanie zawartości oleju (Metoda odwoławcza).
- [23] Rozporządzenia komisji (UE) nr 536/2013 z dnia 11 czerwca 2013 r. zmieniające rozporządzenie Komisji (UE) nr 432/2012 ustanawiające wykaz dopuszczonych oświadczeń zdrowotnych dotyczących żywności, innych niż oświadczenia odnoszące się do zmniejszenia ryzyka choroby oraz rozwoju i zdrowia dzieci. *Dz. Urz. UE L 160*, s. 4-8, z 12.06.2013.
- [24] Rozporządzenie komisji (UE) nr 432/2012 z dnia 16 maja 2012 r. ustanawiające wykaz dopuszczonych oświadczeń zdrowotnych dotyczących żywności, innych niż oświadczenia odnoszące się do zmniejszenia ryzyka choroby oraz rozwoju i zdrowia dzieci. *Dz. Urz. UE L 136*, s. 1-40, z 25.05.2012.
- [25] Rozporządzenie komisji (UE) nr 440/2011 z dnia 6 maja 2011 r. w sprawie udzielenia i odmowy udzielenia zezwolenia na niektóre oświadczenia zdrowotne dotyczące żywności i odnoszące się do rozwoju i zdrowia dzieci. *Dz. Urz. UE L 119*, s. 4-9, z 07.05.2011.
- [26] Rozporządzenie (WE) nr 1924/2006 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 20 grudnia 2006 r. w sprawie oświadczeń żywieniowych i zdrowotnych dotyczących żywności. *Dz. Urz. UE L 12*, s. 16-18, z 18.01.2007.
- [27] Sanchez-Villegaz A., Toledo E.: Fast food and commercial baked goods consumption and the risk of depression. *Public Health Nutrition*, 2011, **15** (3), 424-432.
- [28] Qualified health claims subject to enforcement discretion (summary). [online]. FDA, 2003. Dostęp w Internecie [10.12.2014.]: <http://www.fda.gov/Food/IngredientsPackagingLabeling/LabelingNutrition/ucm073992.htm>
- [29] Toledo E., Hu F.B., Estruch R., Buil-Cosiales P., Corella D., Salas-Salvadó J., Covas M.I., Arós F., Gómez-Gracia E., Fiol M., Lapetra J., Serra-Majem L., Pinto X., Lamuela-Raventós R.M., Saez G., Bulló M., Ruiz-Gutiérrez V., Ros E., Sorli J.V., Martínez-González M.A.: Effect of the Mediterranean diet on blood pressure in the PREDIMED trial: results from a randomized controlled trial. 2013, *BMC Med.*, DOI: 10.1186/1741-7015-11-207.
- [30] Venkatachalam M., Sathe S.K.: Chemical composition of selected edible nut seeds. *J. Agric. Food Chem.*, 2006, **54** (13), 4705-4714.

ASSESSING THE POSSIBILITY OF APPLYING PERMITTED NUTRITION AND HEALTH CLAIMS ABOUT FATTY ACIDS IN RELATION TO EDIBLE NUTS

S u m m a r y

Under the research study, there were determined the content and profile of fatty acids in lipids of various nuts, and their suitability for nutrition was assessed in view of permitted nutrition and health claims as regards fatty acids. It was found that the lipids of various nuts contained 68.2 to 86.9 % of unsaturated fatty acids (UFA) where the amount of monounsaturated fatty (MUFA) ranged from 20.5 (walnuts) to 77.3 % (macadamia nuts) and the amount of polyunsaturated fatty acids (PUFA) from 2.4 (macadamia nuts) to 66.3 % (walnuts). The fat of Brazil and pine nuts was characterized by a similar, relatively high content of PUFA acids (approx. 43 - 44 %). It also contained the highest amount of saturated fatty acids: 23.5 and 24.9 %, respectively. The fat of walnuts and hazelnuts was characterized by the lowest content of saturated fatty acids (SFA) (8.8 % in walnuts and 9.5 % in hazelnuts). Based on the results obtained it was possible to conclude that, of all the nuts compared, the walnuts, Brazil nuts, pine and pistachio nuts were characterized by a beneficial composition of fatty acids. Those nuts might be nutritionally valuable for

consumers and, after being consumed on a daily basis: 31.8 g, 73.5 g, 35.2 g and 41.5 g, respectively, they might impact the body in accordance with health claims. Other nuts (cashews, macadamia nuts, and hazelnuts) are of no great importance as regards the content and profile of fatty acids as formulated in the health claims in force.

Key words: edible nuts, fat, human nutrition, nutrition claims, health claims ☒

TOMASZ TARKO, DOROTA SEMIK, ALEKSANDRA DUDA-CHODAK,
PAWEŁ SATORA, PAWEŁ SROKA

PRZEMIANY ZWIĄZKÓW POLIFENOLOWYCH W SYMULOWANYM PRZEWODZIE POKARMOWYM CZŁOWIEKA

Streszczenie

Biologiczna aktywność związków polifenolowych po ich spożyciu zależy głównie od przemian w przewodzie pokarmowym oraz od struktury powstałych metabolitów. Celem pracy było określenie przemian wybranych związków polifenolowych, zachodzących podczas ich trawienia *in vitro*. Do badań użyto roztworów kwasów ferulowego i p-kumarowego oraz (+)katechiny, kwercetyny, hesperetyny i hesperydyny. Zostały one poddane symulowanemu procesowi trawienia, przy czym w wybranych etapach określano aktywność przeciwrodnikową (metodą spektrofotometryczną z kationorodnikiem ABTS^{•+}) i oznaczano zawartość badanych związków przy użyciu wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC). Wśród analizowanych związków najwyższą aktywnością przeciwutleniającą charakteryzowała się kwercetyna (234 g Troloxu/100 g). Hesperetyna (aglikon) wykazywała wyższą aktywność przeciwrodnikową niż jej rutynozyd (hesperydyna). Trawienie większości badanych polifenoli rozpoczynało się w żołądku i dwunastnicy, a powstałe pochodne wykazywały wysoki potencjał przeciwutleniający. Najbardziej podatne na trawienie w tej części przewodu pokarmowego były kwasy fenolowe. Obserwowano również znaczny rozkład glikozydów (hesperydyny) pod wpływem kwasu żołądkowego i enzymów dwunastnicy. Badane polifenole charakteryzowały się różnym stopniem migracji przez membrany dializacyjne. Fenolokwasy łatwiej przenikały przez membrany niż flawonoidy, co mogło się wiązać z mniejszym rozmiarem cząsteczek kwasów. Bakterie jelitowe użyte w doświadczeniu oddziaływały na wszystkie polifenole, w tym w dużej mierze wpłynęły na trawienie flawonoidów, szczególnie kwercetyny i hesperetyny. Związki te były w niewielkim stopniu metabolizowane w żołądku i dwunastnicy. Mniejsze było natomiast oddziaływanie mikroflory jelitowej na kwasy fenolowe.

Słowa kluczowe: związki polifenolowe, trawienie *in vitro*, aktywność przeciwutleniająca, mikroflora jelitowa

Dr hab. inż. T. Tarko, mgr inż. D. Semik, dr hab. A. Duda-Chodak, dr hab. inż. P. Satora, dr P. Sroka,
Katedra Technologii Fermentacji i Mikrobiologii Technicznej, Wydz. Technologii Żywności, Uniwersytet
Rolniczy w Krakowie, ul. Balicka 122, 30-149 Kraków.
Kontakt: t.tarko@ur.krakow.pl

Wprowadzenie

Wolne rodniki łatwo reagują ze składnikami komórek, działając na nie destrukcyjnie. Są przyczyną wielu schorzeń, określanych mianem przewlekłych chorób niezakaźnych, np. chorób układu sercowo-naczyniowego, nowotworów czy dysfunkcji neurologicznych [5]. Przeciwutleniacze pochodzące z diety odgrywają ważną rolę, gdyż wspomagają czynniki wewnątrzustrojowe przy neutralizacji wolnych rodników. Do egzogennych przeciwutleniaczy zalicza się m.in. witaminy E i C, niektóre karotenoidy oraz związki polifenolowe. Właściwości przeciwutleniające związków polifenolowych wynikają m.in. z ich zdolności do chelatowania metali, wygaszania wolnych rodników i przeciwdziałania reakcji Fentona i Habera-Weissa. Zapobiega to np. peroksydacji tłuszczów. Reagują one również z produktami pośrednimi powstającymi w trakcie peroksydacji i prowadzą do zakończenia procesu wolnorodnikowego [8, 21].

Do polifenoli wykazujących właściwości przeciwutleniające należą przede wszystkim kwasy fenolowe oraz flawonoidy. Właściwości te w dużej mierze zależą od budowy cząsteczki, głównie od ilości i rozmieszczenia grup hydroksylowych [9].

Zarówno metabolizm, jak i wchłanianie związków polifenolowych z układu pokarmowego mają wpływ na sposób i stopień ich oddziaływania na organizm ludzki. Efektywność wchłaniania polifenoli w przewodzie pokarmowym jest pochodną wielu czynników, m.in. masy cząsteczkowej, pH środowiska, hydrofilowości związku, stopnia jego polimeryzacji czy rodzaju cukru w cząsteczce. Niektóre aglikony przenikają przez błony biologiczne na zasadzie dyfuzji prostej [13], jednak większość flawonoidów występuje w postaci glikozydów, które przed wchłonięciem muszą ulec hydrolizie [18].

Celem pracy było określenie przemian wybranych związków polifenolowych, zachodzących podczas trawienia *in vitro*.

Material i metody badań

Materiałem do badań były polifenole: kwas ferulowy i kwas p-kumarowy, (+)katechyna, hesperetyna i hesperydyna (7-rutynozyd hesperetyny) oraz kwercetyna (Sigma-Aldrich, USA). Ze związków tych przygotowywano roztwory o stężeniu 1 g/100 ml rozpuszczalnika, przy czym trzy pierwsze związki rozpuszczano w 96-procentowym (obj.) etanolu, hesperetynę i hesperydynę – w dimetylosulfotlenku, DMSO (Chempur, Polska), a kwercetynę – w mieszaninie etanolu i DMSO (1 : 1).

Metoda trawienia in vitro

Do zakręczanych probówek odmierzano po 0,5 ml roztworu polifenoli i zakwaszono do pH = 2 za pomocą roztworu HCl o stężeniu 0,5 M. Następnie dodawano 0,75 ml wodnego roztworu pepsyny o aktywności 3440 U/mg (Sigma-Aldrich, USA) i dopełniano wodą redestylowaną do objętości 3 ml. Próbkę inkubowano 2 h w temp. 37 °C,

po czym neutralizowano za pomocą NaHCO_3 do uzyskania $\text{pH} = 7$. Następnie dodawano po 0,375 ml roztworu pankreatyny i żółci, sporządzonego z 66,7 mg pankreatyny o aktywności $8 \times \text{USP}$ (Sigma-Aldrich, USA) i 833,3 mg żółci (Sigma-Aldrich, USA) rozpuszczonych w 10 ml 0,1 M NaHCO_3 , po czym uzupełniano wodą redestylowaną do objętości 5 ml. Próbki ponownie inkubowano w łaźni wodnej (temp. 37°C , 4 h) i wirowano ($1380 \times \text{g}$, 10 min). Supernatanty zlewano, a pozostałości przepłukiwano dwa razy trzema mililitrami wody redestylowanej, za każdym razem mieszając je i wirując. Pozostałości po wirowaniu (osad) używano do symulacji trawienia w jelicie grubym. Uzyskane supernatanty łączono natychmiast i przenoszono do worków dializacyjnych (Sigma-Aldrich, USA), po czym poddawano dializie wobec 50 ml buforu fosforanowego (PBS) w łaźni wodnej z wytrząsaniem (85 obr./min, temp. 37°C , 3 h). Zawartość worków dializacyjnych (retentat) łączono z osadem pozostałym po wirowaniu na wcześniejszym etapie trawienia, alkalizowano do $\text{pH} = 8$ (za pomocą 1 M NaOH) i zaszczipiano mieszaniną bakterii jelitowych (*Bacteroides galacturonicus*, *Enterococcus caccae*, *Bifidobacterium catenulatum*, *Ruminococcus gauvreauii*, *Lactobacillus sp.*, *Escherichia coli*) (DSMZ, Niemcy), symulując procesy fermentacyjne w jelicie grubym. Początkowa liczba bakterii w próbce poddawanej fermentacji wynosiła 10^9 jtk/ml. Całość wysycano gazem obojętnym (CO_2) i inkubowano (temp. 37°C , 16 h) w warunkach anaerobowych, a następnie wirowano ($1380 \times \text{g}$, 10 min). W wyniku przeprowadzonego procesu trawienia uzyskano następujące frakcje:

- supernatant – frakcja rozpuszczalna związków polifenolowych powstała po odwirowaniu próbki poddanej symulowanemu trawieniu enzymatycznemu w żołądku i dwunastnicy,
- osad – frakcja nierozpuszczalna związków polifenolowych poddanych symulowanemu trawieniu w żołądku i dwunastnicy, pozostałość po odwirowaniu próbki poddanej trawieniu enzymatycznemu,
- retentat – pozostałość po dializie, frakcja rozpuszczalna związków polifenolowych, które nie podlegają migracji przez membranę dializacyjną,
- permeat – bufor PBS (roztwór soli fizjologicznej) zawierający składniki, które przeniknęły przez membrany dializacyjne, frakcja rozpuszczalna związków polifenolowych wchłoniętych przez nabłonek jelita cienkiego,
- pozostałość po fermentacji – frakcja związków polifenolowych, która pozostała po trawieniu bakteryjnym osadu i retentatu w symulowanym jelicie grubym.

Określanie aktywności przeciwrodnikowej

Określenie aktywności przeciwrodnikowej wykonywano zgodnie z procedurą opisaną przez Tarko i wsp. [22], z wykorzystaniem aktywnego kationorodnika $\text{ABTS}^{+\cdot}$ (2,2'-azynobis(3-etylobenzotiazolino-6-sulfonian, Sigma-Aldrich, USA). Rodnik $\text{ABTS}^{+\cdot}$ był generowany w reakcji chemicznej między wodnym roztworem soli diamo-

nowej (2,2'-azynobis(3-etylobenzotiazolino-6-sulfonianu, Sigma-Aldrich, USA) o stężeniu 7 mM a perokso-disiarczanem(VI) potasu ($K_2S_2O_8$, POCh, Gliwice) o stężeniu 2,45 mM. Roztwór rodnika przetrzymywano przez 18 h w ciemności, w temp. 20 ± 2 °C, celem zakończenia reakcji i ustabilizowania kationorodnika $ABTS^{+\cdot}$. Stężony roztwór rodnika rozcieńczano do analiz buforem fosforanowym o pH 7,4 w taki sposób, aby jego końcowa absorbancja, mierzona przy $\lambda = 734$ nm, wynosiła $A = 0,70 \pm 0,02$ ($ABTS^{+\cdot}_{0,7}$). Do pomiaru używano spektrofotometru Beckman DU 650 (Beckman Instruments, USA). Do 1 ml $ABTS^{+\cdot}_{0,7}$ dodawano 100 μ l odpowiednio rozcieńczonej próbki i po 6 min od wymieszania składników mierzono absorbancję. Zdolność przeciwutleniającą próbek obliczano na podstawie krzywej wzorcowej, wykonywanej każdorazowo z roztworów syntetycznej witaminy E (Trolox – kwas (\pm)-6-hydroksy-2,5,7,8-tetrametylochromano-2-karboksylowy, Sigma-Aldrich, USA), o stężeniach od 0 do 10 mg/100 ml.

Oznaczanie profilu związków polifenolowych metodą HPLC

Analizę związków polifenolowych wykonywano przy użyciu chromatografu Flexar z detektorem UV-Vis (Perkin-Elmer, USA). Rozdział prowadzono w kolumnie Synergi Fusion RP-80A $200 \times 4,6$ mm (4 μ m) Phenomenex (Torrance, USA), termostatowanej w temp. 30 °C. Fazę ruchomą stanowiły roztwór A (2,5-procentowy kwas octowy) i roztwór B (acetonitryl).

Podczas oznaczania (+)katechiny, hesperetyny i hesperydyny (przy przepływie 0,5 ml/min) stosowano programy elucji: gradientowy – liniowo od 5 % B do 20 % B w ciągu 30 min, następnie liniowo 20 % B do 100 % B w ciągu 3 min, a w dalszym ciągu izokratyczny – przez 7 min 100 % B i liniowo do 5 % B w ciągu 4 min. Kolumnę przemywano 5 % roztworu B.

Podczas oznaczania kwasu p-kumarowego i ferulowego (przy przepływie 0,5 ml/min) stosowano procedurę elucji: izokratycznie 20 % B (15 min), liniowo od 20 % B do 100 % B w ciągu 30 min, izokratycznie 100 % B przez 4 min, liniowo do 20 % B w ciągu 3 min. Kolumnę przemywano 20 % roztworu B.

W przypadku kwercetyny (przy przepływie 1 ml/min) stosowano program elucji: gradientowy – liniowo od 5 % B do 20 % B w ciągu 20 min, następnie liniowo 20 % B do 100 % B w ciągu 10 min, izokratycznie 100 % B przez 3 min i liniowo do 5 % B w ciągu 4 min. Kolumnę przemywano 5 % roztworu B.

Detekcję prowadzono przy długościach fali: (+)katechyna, hesperetyna i hesperydyna – $\lambda = 280$ nm, kwas ferulowy i p-kumarowy – $\lambda = 325$ nm; kwercetyna – $\lambda = 360$ nm. Do ilościowych oznaczeń stosowano krzywe wzorcowe sporządzone z odpowiednich standardów: kwasu ferulowego, kwasu p-kumarowego, (+)katechiny, kwercetyny, hesperetyny i hesperydyny (Sigma-Aldrich, USA).

Analiza statystyczna wyników

Oznaczenia wykonywano w minimum trzech powtórzeniach. Analizę statystyczną wyników wykonano za pomocą programu InStat v. 3.01 (GraphPad Software Inc., USA). W celu określenia istotności różnic między średnimi przeprowadzono jednoczynnikową analizę wariancji (ANOVA) z testem *post hoc* Tukeya. Normalność rozkładu określono za pomocą testu Kołgomorowa-Smirnowa.

Wyniki i dyskusja

Doświadczenia rozpoczęto od określenia aktywności przeciwutleniającej wybranych związków, należących do różnych grup polifenoli, a następnie ich aktywności na poszczególnych etapach trawienia w symulowanych warunkach (tab. 1).

Tabela 1. Aktywność przeciwutleniająca polifenoli na poszczególnych etapach trawienia
Table 1. Antioxidant activity of polyphenols at different stages of digestion

Wyszczególnienie Specification	Aktywność przeciwutleniająca [g Troloksu/100 g] Antioxidant activity [g Trolox/100 g]					
	Polifenol Polyphenol	Supernatant Supernatant	Osad Sediment	Retentat Retentate	Permeat Permeate	Pozostałość po fermentacji Fermentation residue
Kwas ferulowy Ferulic acid	83,9 ^a ± 4,6	4,2 ^b ± 0,7	12,9 ^c ± 0,3	1,2 ^d ± 0,2	6,6 ^e ± 0,9	2,5 ^d ± 0,3
Kwas p-kumarowy p-Coumaric acid	106,3 ^a ± 2,4	10,5 ^b ± 0,8	16,0 ^c ± 0,2	1,6 ^d ± 0,1	8,2 ^b ± 0,6	5,0 ^e ± 0,2
(+)Katechina (+)Catechin	96,6 ^a ± 2,6	9,8 ^b ± 0,5	12,0 ^c ± 1,0	1,1 ^d ± 0,2	8,0 ^e ± 0,2	2,6 ^f ± 0,3
Kwercetyna Quercetin	234,4 ^a ± 5,3	1,3 ^b ± 0,2	96,3 ^c ± 2,0	0,1 ^d ± 0,0	2,0 ^e ± 0,2	0,7 ^f ± 0,0
Hesperetyna Hesperetin	42,6 ^a ± 1,6	1,7 ^b ± 0,0	25,4 ^c ± 0,7	0,1 ^d ± 0,0	2,1 ^e ± 0,1	0,8 ^f ± 0,1
Hesperydyna Hesperidin	33,2 ^a ± 0,4	4,2 ^b ± 0,2	6,4 ^c ± 0,0	0,3 ^d ± 0,1	2,4 ^e ± 0,1	2,8 ^e ± 0,1

Objaśnienia: / Explanatory notes:

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

a - f – wartości średnie oznaczone różnymi literami w wierszach (w obrębie analizowanego związku) różnią się statystycznie istotnie (p < 0,05) / mean values in rows (within compound analyzed) and denoted using different letters differ statistically significantly (p < 0.05).

Najwyższą aktywność przeciwutleniającą wykazała kwercetyna, najniższą zaś – hesperydyna. Podobne zależności przedstawili Robards i wsp. [17]. Właściwości przeciwutleniające flawonoidów są ściśle związane z pozycją i stopniem hydroksylacji cząsteczki, głównie pierścienia B. Hesperetyna, która ma tylko jedną grupę hydroksylową w pierścieniu B, wykazuje niską aktywność. Natomiast flawonoidy z ugrupowaniem katecholowym charakteryzują się dużą zdolnością przeciwutleniającą. Kwercetyna, oprócz ugrupowania katecholowego, ma również wiązanie podwójne między węglami C2 i C3, co dodatkowo zwiększa jej właściwości przeciwutleniające [17]. Wśród badanych fenolokwasów najwyższą aktywnością charakteryzował się kwas p-kumarowy. Z danych literaturowych [11, 23] wynika, że glikozylacja flawonoidów wpływa na obniżenie ich aktywności przeciwutleniającej w stosunku do aglikonów, co potwierdzono na przykładzie hesperydyny i hesperetyny (tab. 1).

Po wybranych etapach symulowanego procesu trawienia oceniano zmiany zawartości poszczególnych związków (HPLC). Wyniki przedstawiono jako procent początkowej zawartości polifenoli (tab. 2).

Tabela 2. Zawartość związków polifenolowych na poszczególnych etapach trawienia
Table 2. Content of polyphenol compounds at different stages of digestion

Wyszczególnienie Specification	Zawartość związków polifenolowych [% początkowej zawartości] Content of polyphenol compounds [% of initial content]				
	Supernatant Supernatant	Osad Sediment	Retentat Retentate	Permeat Permeate	Pozostałość po fermentacji Fermentation residue
Kwas ferulowy Ferulic acid	8,2 ^a ± 0,1	35,1 ^b ± 0,1	1,0 ^c ± 0,0	3,8 ^d ± 0,2	19,5 ^e ± 0,3
Kwas p-kumarowy p-Coumaric acid	2,3 ^a ± 0,0	47,3 ^b ± 0,5	0,0 ^c ± 0,0	0,2 ^c ± 0,0	17,0 ^d ± 0,3
(+)Katechina (+)Catechin	1,5 ^a ± 0,1	27,5 ^b ± 0,4	0,0 ^c ± 0,0	1,1 ^a ± 0,0	5,2 ^d ± 0,1
Kwercetyna Quercetin	0,2 ^a ± 0,0	96,4 ^b ± 0,2	0,0 ^a ± 0,0	0,0 ^a ± 0,0	0,0 ^a ± 0,0
Hesperetyna Hesperetin	1,8 ^a ± 0,1	90,8 ^b ± 0,2	0,1 ^c ± 0,0	0,0 ^c ± 0,0	0,2 ^d ± 0,0
Hesperydyna Hesperidin	0,5 ^a ± 0,0	2,2 ^b ± 0,0	0,0 ^c ± 0,0	0,0 ^c ± 0,0	1,2 ^d ± 0,2

Objaśnienia: / Explanatory notes:

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

a - e – wartości średnie oznaczone różnymi literami w wierszach (w obrębie analizowanego związku) różnią się statystycznie istotnie (p < 0,05) / mean values in rows (within compounds analyzed) and denoted using different letters differ statistically significantly (p < 0.05).

Supernatant uzyskany po pierwszym etapie trawienia kwasu ferulowego zawierał jedynie 8,2 % dawki początkowej, natomiast w osadzie (frakcja nierozpuszczalna) było go 35 %. Może to świadczyć o częściowym rozkładzie tego związku w żołądku i dwunastnicy. Po etapie symulującym migrację bierną w jelicie cienkim, w retentacie pozostało tylko ok. 1 % początkowej ilości kwasu ferulowego poddanego procesowi trawienia, podczas gdy do permeatu przeszło blisko 4 %, co pozwala przypuszczać, że kwas ferulowy w postaci niezmienionej może być biernie transportowany do organizmu. W pozostałości po fermentacji stwierdzono blisko 20 % początkowej zawartości badanego związku, co oznacza, że niemal połowa ilości poddanej fermentacji (łącznie zawartość w osadzie i retentacie) uległa rozkładowi pod wpływem enzymów bakteryjnych. Można zatem stwierdzić, że pewna część kwasu ferulowego podlega trawieniu dopiero pod wpływem mikroflory jelitowej w jelicie grubym. Wyniki te znajdują potwierdzenie w pomiarach aktywności przeciwutleniającej roztworów na poszczególnych etapach trawienia. Potencjał przeciwutleniający kwasu ferulowego przed trawieniem wynosił 84 g Troloxu/100 g (tab. 1). Aktywność przeciwutleniająca frakcji nierozpuszczalnej (osad) po symulacji trawienia w żołądku i dwunastnicy była stosunkowo niska (13 g Troloxu/100 g), co odpowiadało zaledwie 15 % początkowej aktywności kwasu ferulowego, poddanego trawieniu. Tak niska aktywność wskazywałaby na rozpad kwasu ferulowego do pochodnych o niższej zdolności wygaszania rodnika ABTS^{•+}. Z drugiej strony wykazano, że potencjał przeciwutleniający supernatantu był wyższy niż by to wynikało z oznaczonej w nim zawartości kwasu ferulowego. Potwierdza to, że na etapie trawienia w żołądku i dwunastnicy powstają prawdopodobnie pochodne dobrze rozpuszczalne i o wyższej aktywności przeciwutleniającej niż trawiony substrat. Na uwagę zasługuje również bardzo niski potencjał wygaszania wolnych rodników, obserwowany w próbie po trawieniu z udziałem mikroflory jelitowej. Z literatury wiadomo, że bakterie jelitowe rozkładają kwas ferulowy np. do kwasu 4-hydrokso-3-metoksyhipurowego (wanilinowego) lub kwasu 3-hydrokso-3-metoksyhipurowego [4]. Są to pochodne o znacznie słabszym potencjale przeciwutleniającym od kwasu ferulowego [12]. Ich znaczna ilość, powstała na skutek metabolizmu bakteryjnego, wpłynęła na bardzo niski potencjał przeciwutleniający pozostałości po trawieniu (na poziomie niecałych 3 % potencjału początkowego), przy równoczesnej zawartości kwasu ferulowego równej 19,5 % ilości początkowej.

Podobne zależności wykazano w przypadku drugiego z badanych fenolokwasów. Zawartość kwasu p-kumarowego w supernatancie wynosiła zaledwie 2,3 % ilości początkowej, ale aktywność przeciwutleniająca tej frakcji odpowiadała aż 10 % aktywności roztworu kwasu przed trawieniem (tab. 1 i 2). Ponownie zatem, pod wpływem trawienia w żołądku i dwunastnicy, z kwasu powstały pochodne rozpuszczalne, które przeszły do supernatantu o potencjale wygaszania rodnika ABTS^{•+} wyższym od początkowego kwasu. Z kolei w osadzie (frakcja nierozpuszczalna powstała po tym eta-

pie trawienia) zawartość kwasu p-kumarowego zmniejszyła się do 47,3 %, zaś aktywność przeciwutleniająca do 15 %, co oznacza, że powstałe nierozpuszczalne pochodne charakteryzowały się znacząco niższą aktywnością. Zawartość badanego kwasu w pozostałości po fermentacji była mniejsza o ok. 64 % niż w osadzie po trawieniu i charakteryzowała się niską aktywnością przeciwutleniającą. Można zatem wnioskować, że bakterie jelita grubego także metabolizują kwas p-kumarowy do pochodnych o niższym potencjale przeciwutleniającym.

Przyswajalność kwasów fenolowych zależy głównie od formy, w jakiej dostają się do układu pokarmowego. W badaniach [15, 16, 26] potwierdza się, że ze względu na małą masę cząsteczkową kwasy ferulowy i p-kumarowy są częściowo wchłaniane z przewodu pokarmowego w niezmienionej postaci. Mogą być transportowane z żołądka, gdyż niskie pH żołądka ułatwia transport tych związków w formie niezdysocjowanej poprzez mechanizm dyfuzji biernej. Z kolei w środowisku jelita cienkiego pochodne kwasu cynamonowego występują w formie jonowej i jako takie mogą być aktywnie pobierane przez komórki nabłonka jelitowego dzięki transporterom błonowym [15, 27]. W przypadku fenolokwasów po pierwszym etapie trawienia zaobserwowano wyższą aktywność przeciwutleniającą osadów niż supernatantów, co związane było z większą zawartością tych związków we frakcjach nierozpuszczalnych. Jednak również potencjał przeciwutleniający zebranych supernatantów był stosunkowo wysoki, co świadczy o rozkładzie badanych kwasów fenolowych w trakcie symulowanego trawienia w żołądku i dwunastnicy do bardziej aktywnych, rozpuszczalnych pochodnych. Wykazano [4], że kwasy fenolowe w jelicie cienkim nie są całkowicie absorbowane. Mogą więc docierać do jelita grubego, gdzie wywołują liczne efekty fizjologiczne lub ulegać dalszym przemianom pod wpływem rezydującej tam mikroflory. Po etapie inkubacji z bakteriami jelitowymi, w próbkach zaobserwowano zmniejszenie zawartości tych związków, w porównaniu z osadem po pierwszym etapie trawienia. Kwasy fenolowe są zatem w pewnym stopniu metabolizowane przez mikroflorę jelitową.

Trawienie flawonoidów i ich biodostępność różniły się istotnie ($p < 0,05$) w porównaniu z fenolokwasami (tab. 2). W przypadku (+)katechiny zaobserwowano znaczne zmniejszenie zawartości tego związku po pierwszym etapie trawienia. Pozostająca w osadzie (+)katechina stanowiła prawie 28 % dawki poddanej procesowi trawienia, zaś w supernatancie było jej jedynie 1,5 % początkowej zawartości. Mimo tak małej ilości związku oznaczanego w supernatancie (tab. 2) frakcja ta wykazywała umiarkowany potencjał przeciwutleniający (tab. 1) na poziomie ok. 10 % potencjału (+)katechiny przed trawieniem. Według Spencera [19] monomeryczne flawan-3-ole, do których zalicza się (+)katechinę, są stabilne w środowisku żołądka. Jednak w płynie jelitowym, wraz z coraz bardziej alkalicznym odczynem, związki te są łatwo utleniane i mogą tworzyć dimery, zwykle o silniejszym potencjale przeciwrodnikowym. Czą-

steczka (+)katechiny zawiera 5 grup hydroksylowych, a jej biodostępność jest stosunkowo niewielka ze względu na duży rozmiar. Za potencjał przeciwutleniający permeatu odpowiadają prawdopodobnie produkty rozpadu katechiny, które były w stanie przeniknąć przez membranę. Blisko 1/3 katechiny poddanej trawieniu dociera do jelita grubego, w którym ulega działaniu bakterii jelitowych. Z badań Donovan i wsp. [6] wynika, że w jelicie zachodzi glukuronidacja i metylacja (+)katechiny. Enzymy bakteryjne degradują też katechiny do prostszych cząsteczek, głównie do niskocząsteczkowych kwasów fenolowych. Związki te również wykazują właściwości przeciwutleniające i korzystnie działają na organizm [25]. Udział mikroflory w metabolizmie katechin został potwierdzony także przez inkubację *in vitro* z zawiesiną ludzkich lub zwierzęcych ekskrementów [1]. Z badań własnych wynika, że po fermentacji z bakteriami jelitowymi zawartość (+)katechiny zmniejszyła się pięciokrotnie w stosunku do jej ilości w osadzie, co potwierdza jej mikrobiologiczną degradację.

Znacznie większą odpornością na trawienie w żołądku i dwunastnicy odznaczała się kwercetyna – aż 96,4 % ilości poddanej symulowanemu trawieniu przechodziło do osadu (tab. 2). Osad charakteryzował się także wysokim potencjałem przeciwutleniającym (tab. 1). Pozostałe frakcje (supernatant, retentat, permeat i pozostałość po fermentacji) nie zawierały w ogóle kwercetyny, a ich aktywność przeciwutleniająca była bliska zeru. Uzyskane wyniki mogą świadczyć o tym, że kwercetyna, która dociera do jelita grubego, jest w nim całkowicie degradowana przez bakterie. Spencer i wsp. [20] stwierdzili, że kwercetyna jest metabolizowana do tego stopnia, że w krwioobiegu nie występuje w postaci wolnej. Kwercetyna występuje w tkankach niemal wyłącznie w formie glukuronidowej, sulfonowej i metylowej, co sugeruje, że w warunkach *in vivo* jej aktywność biologiczna zależy głównie od metabolitów tego związku [10]. Według Walle'a [24] glukuronidy i siarczany kwercetyny zachowują aktywność przeciwutleniającą. Wykazano, że kwercetyna i inne flawonoidy podlegają metabolicznej konwersji podczas wchłaniania w komórkach nabłonka jelita przed dotarciem do wątroby [14]. Graf i wsp. [10] badali zawartość kwercetyny w tkankach przewodu pokarmowego. Wykazali oni, że żołądek, jelito cienkie i grube zawierają zarówno wolną kwercetynę, jak i różne jej metabolity, co dowodzi, że może ona być wchłaniana i aktywnie metabolizowana w przewodzie pokarmowym. Należy wziąć pod uwagę, że kwercetyna w żywności najczęściej występuje w formie glikozydów. Jej aktywność przeciwutleniająca zależy więc od pozycji oraz rodzaju grupy cukrowej dołączonej do podstawowej struktury [14]. Enzymy produkowane przez bakterie przewodu pokarmowego hydrolizują niektóre flawonoidy i ich glikozydy. Prowadzą zatem do rozszczepienia pierścienia i powstania produktów, takich jak kwasy hydroksyfenylooctowy i hydroksyfenylopropionowy, które prawdopodobnie ulegają wchłanianiu [7].

W wyniku trawienia *in vitro* do osadu przechodziło ponad 90 % początkowej ilości hesperetyny. Odmienne wyniki uzyskano w przypadku hesperydyny, czyli 7-O-

rutynozylu hesperetyny, gdyż w osadzie znajdowało się jedynie 2 % ilości poddanej procesowi trawienia. Wyniki te wskazują, że hesperydyna ulega hydrolizie w żołądku i jelicie cienkim, podczas gdy hesperetyna jest metabolizowana tylko w niewielkim stopniu. W permeacie uzyskanym po dializie hesperetyny nie wykryto jej obecności, natomiast w retencie były śladowe ilości tego związku. Hesperydyna nie występowała w żadnej z tych frakcji. Podkreślić należy bardzo duży ubytek hesperetyny (o 99 %) na skutek aktywności mikroflory jelitowej. Bardzo zmalał również potencjał przeciwutleniający osadu poddanego działaniu bakterii. Dowodzi to, że metabolity powstające w jelicie grubym pod wpływem rezydującej w nim mikroflory charakteryzują się mniejszymi zdolnościami do wygaszania wolnych rodników niż badany flawanon. Odmienne wyniki uzyskano w przypadku hesperydyny. Zarówno supernatant, jak i osad, charakteryzowały się zbliżoną zdolnością do wygaszania wolnych rodników. Potwierdza to, że hesperydyna w kwaśnym środowisku żołądka i przy udziale enzymów trawiennych była rozkładana do bardziej aktywnych pochodnych, z których część przeniknęła przez membrany dializacyjne. Na skutek metabolizmu mikroflory jelitowej aktywność przeciwutleniająca frakcji hesperydynowej obniżyła się dwukrotnie, wskazując na jej udział w trawieniu i wchłanianiu hesperydyny. Reszta cukrowa jest głównym wyznacznikiem miejsca wchłaniania i biodostępności flawonoidów, przy czym biodostępność aglikonów jest kilkakrotnie wyższa niż glikozydów [2, 3].

Uzyskane wyniki można wykorzystać na przykład podczas opracowywania przeciwutleniających suplementów diety. Zastosowanie kwasów fenolowych umożliwia ich metabolizm i wchłanianie już na początkowych odcinkach przewodu pokarmowego. Flawonoidy, szczególnie w postaci aglikonów, są metabolizowane głównie przy udziale mikroflory jelitowej. Dlatego takie suplementy nie powinny być adresowane do osób ze schorzeniami okrężnicy. Wnioski z badań własnych mogłyby być również wskazówką podczas planowania diet dla osób z różnymi schorzeniami układu pokarmowego. Wprawdzie metabolizm czystych polifenoli różni się od metabolizmu tych komponentów związanych z matrycą żywieniową, ale owoce i warzywa bogate w kwasy fenolowe będą szybciej dostarczały do krwiobiegu składników przeciwutleniających niż dania zasobne we flawonoidy.

Wnioski

1. Trawienie większości wybranych związków polifenolowych rozpoczynało się na etapie żołądka i dwunastnicy, a powstałe pochodne wykazywały wysoki potencjał przeciwutleniający. Kwasy fenolowe i glikozydy były łatwo metabolizowane w górnych odcinkach przewodu pokarmowego.
2. Badane polifenole w różnym stopniu były biernie transportowane przez membrany dializacyjne. Najłatwiej migrowały kwasy fenolowe, przypuszczalnie ze względu na małe rozmiary cząsteczek.

3. Mikroflora jelitowa odgrywała istotną rolę podczas trawienia związków polifenolowych, głównie kwercetyny i hesperetyny, które w nieznacznym stopniu były hydrolizowane przez kwas żołądkowy i enzymy dwunastnicy.
4. Wiedza o miejscu trawienia polifenoli w przewodzie pokarmowym umożliwi prawidłowe projektowanie suplementów diety oraz opracowywanie diet dla osób ze schorzeniami gastrycznymi.

Praca została sfinansowana ze środków Narodowego Centrum Nauki, przyznanych na podstawie decyzji numer DEC-2011/01/B/NZ9/00218.

Literatura

- [1] Aura A.M., Mattila I., Seppanen-Laakso T., Miettinen J., Oksman-Caldentey K.M., Oresic M.: Microbial metabolism of catechin stereoisomers by human faecal microbiota: Comparison of targeted analysis and a non-targeted metabolomics method. *Phytochem. Letters*, 2008, **1**, 18-22.
- [2] Brand W., van der Wel P.A.I., Rein M.J., Barron D., Williamson G., van Bladeren P.J., Rietjens I.M.C.M.: Metabolism and transport of the citrus flavonoid hesperetin in Caco-2 cell monolayers. *Drug Met. Dispos.*, 2008, **36** (9), 1794-1802.
- [3] Bredsdorff L., Nielsen I.L.F., Rasmussen S.E., Cornett C., Barron D., Bouisset F., Offord E., Williamson G.: Absorption, conjugation and excretion of the flavanones, naringenin and hesperetin from α -rhamnosidase-treated orange juice in human subjects. *Brit. J. Nutr.*, 2010, **103**, 1602-1609.
- [4] Budryn G., Nebesny E.: Fenolokwasy – ich właściwości, występowanie w surowcach roślinnych, wchłanianie i przemiany metaboliczne. *Bromat. Chem. Toksyk.*, 2006, **2**, 103-110.
- [5] Czajka A.: Wolne rodniki tlenowe a mechanizmy obronne organizmu. *Nowiny Lek.*, 2006, **75** (6), 582-586.
- [6] Donovan J.L., Crespy V., Manach C., Morand C., Besson C., Scalbert A., Remesy C.: Catechin is metabolized by both the small intestine and liver of rats. *J. Nutr.*, 2001, **131**, 1753-1757.
- [7] Erlund I.: Review of the flavonoids quercetin, hesperetin, and naringenin. Dietary sources, bioactivities, bioavailability, and epidemiology. *Nutr. Res.*, 2004, **24**, 851-874.
- [8] Gałecka E., Mrowicka M., Malinowska K., Gałecki P.: Wybrane substancje nieenzymatyczne uczestniczące w procesie obrony przed nadmiernym wytwarzaniem wolnych rodników. *Pol. Merk. Lek.*, 2008, **147**, 269-272.
- [9] Gawlik-Dziki U.: Fenolokwasy jako bioaktywne składniki żywności. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2004, **41** (4), 29-40.
- [10] Graf B.A., Ameho C., Dolnikowski G.G., Milbury P.E., Chen C.Y., Blumberg J.B.: Rat gastrointestinal tissues metabolize quercetin. *J. Nutr.*, 2006, **136**, 39-44.
- [11] Heim K.E., Tagliaferro A.R., Bobilya D.J.: Flavonoid antioxidants: Chemistry, metabolism and structure-activity relationships. *J. Nutr. Biochem.*, 2002, **13**, 572-584.
- [12] Karamać M., Kosińska A., Pegg R.B.: Comparison of radical-scavenging activities for selected phenolic acids. *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, 2005, **2**, 165-170.
- [13] Manach C., Scalbert A., Morand C., Remesy C., Jimenez L.: Polyphenols: Food sources and bioavailability. *Am. J. Clin. Nutr.*, 2004, **79**, 727-747.
- [14] Murota K., Terao J.: Antioxidative flavonoid quercetin: implication of its intestinal absorption and metabolism. *Arch. Biochem. Bioph.*, 2003, **417**, 12-17.

- [15] Olthof M.R., Hollman P.C.H., Katan M.B.: Chlorogenic acid and caffeic acid are absorbed in humans. *J. Nutr.*, 2001, **131** (1), 66-71.
- [16] Poquet M., Clifford M.N., Williamson G.: Transport and metabolism of ferulic acid through the colonic epithelium. *Drug Met. Disposit.*, 2008, **36**, 190-197.
- [17] Robards K., Prenzler P.D., Tucker G., Swatsitang P., Glover W.: Phenolic compounds and their role in oxidative processes in fruits. *Food Chem.*, 1999, **66**, 401-436.
- [18] Scalbert A., Williamson G.: Dietary intake and bioavailability of polyphenols. *J. Nutr.*, 2000, **130** (8), 2073-2085.
- [19] Spencer J.P.E.: Metabolism of tea flavonoids in the gastrointestinal tract. *J. Nutr.*, 2003, **133**, 3255-3261.
- [20] Spencer J.P.E., Kuhlne G.G.C., Williams R.J., Rice-Evans C.: Intracellular metabolism and bioactivity of quercetin and its in vivo metabolites. *Biochem. J.*, 2003, **372**, 173-181.
- [21] Sroka Z., Gamian A., Cisowski W.: Niskocząsteczkowe związki przeciwutleniające pochodzenia naturalnego. *Post. Hig. Med. Dośw.*, 2005, **59**, 34-41.
- [22] Tarko T., Duda-Chodak A., Tuszyński T.: The influence of microwaves and selected manufacturing parameters on apple chip quality and antioxidant activity. *J. Food Process. Pres.*, 2009, **33**, 676-690.
- [23] Van Acker S.A., van der Berg D.J., Tromp M.N., Griffioen D.H., van Bennekom W.P., van der Vijgh W.J., Bast A.: Structural aspects of antioxidant activity of flavonoids. *Free Rad. Biol. Med.*, 1996, **20** (3), 331-342.
- [24] Walle T.: Absorption and metabolism of flavonoids. *Free Rad. Biol. Med.*, 2004, **36** (7), 829-837.
- [25] Yashin A., Nemzer B., Yashin Y.: Bioavailability of tea components. *J. Food Res.*, 2012, **2** (1), 281-290.
- [26] Zhang Y., Tie X., Bao B., Wu X., Zhang Y.: Metabolism of flavone C-glucosides and p-coumaric acid from antioxidant of bamboo leaves (AOB) in rats. *Brit. J. Nutr.*, 2007, **97**, 484-494.
- [27] Zhao Z., Moghadasian M.H.: Chemistry, natural sources, dietary intake and pharmacokinetic properties of ferulic acid: A review. *Food Chem.*, 2008, **109**, 691-702.

TRANSFORMATIONS OF POLYPHENOLIC COMPOUNDS IN SIMULATED HUMAN GASTROINTESTINAL TRACT

S u m m a r y

Bioactivity of polyphenolic compounds after intake depends mainly on transformations in the gastrointestinal tract and the structure of the metabolites produced. The objective of the research study was to determine the transformations of some selected polyphenolic compounds occurring during in vitro digestion thereof. For the experiment, solutions of ferulic and p-coumaric acids, (+)catechin, quercetin, hesperidin and hesperetin were used. They underwent a simulated digestive process, and, at some selected stages, the antioxidant activity (using a spectrophotometric method with ABTS^{•+} radical cation) was determined and the contents were assayed of the compounds (with the use of a HPLC high-performance liquid chromatography). Of the analyzed compounds, quercetin was characterized by the highest antioxidant activity (234 g Trolox/g). Hesperetin (aglycone) showed a higher antiradical activity than hesperidin, its rutinoside. The digestion of the majority of polyphenols analyzed started in the stomach and duodenum, and the derivatives produced had a high antioxidant potential. Phenolic acids were most digestion-prone in this part of the gastrointestinal tract. Also, it was found that the glycosides (hesperidin) were significantly decomposed by the gastric acid and duodenal enzymes. The polyphenols tested were characterized by a varying degree of migration through the dialysis membranes. The phenolic acids passed more easily through the membranes than the flavonoids; this fact could be related to a smaller size of the acid mole-

cules. The intestinal bacteria used in the experiment impacted all the polyphenols analyzed and they significantly affected the digestion of flavonoids, especially quercetin and hesperetin. In the stomach and duodenum, those compounds were metabolized to a limited extent. On the other hand, the intestinal microbiota affected the phenolic acids to a lesser extent.

Key words: polyphenolic compounds, in vitro digestion, antioxidant activity, intestinal microflora ☒

HENRYK KOSTYRA, ELŻBIETA KOSTYRA, DAGMARA ŻŁOTKOWSKA

CHEMIA BIONIEORGANICZNA I BIOORGANICZNA ŻYWNOSCI

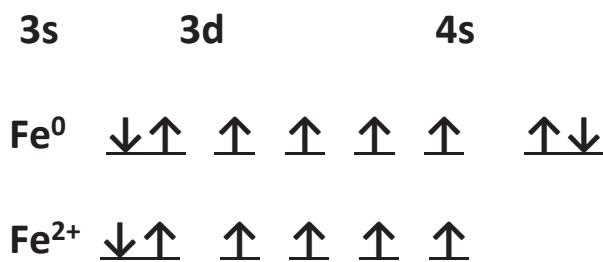
Prezentujemy 2. część cyklu nt. „Chemia bionieorganiczna i bioorganiczna żywności”. Druk materiałów z tego cyklu rozpoczęliśmy w Żywności nr 1 (104), 2016.

Ten odcinek chemii bionieorganicznej i chemii bioorganicznej żywności rozpoczynamy od pytania, jaka jest natura chemiczna wiązania tlenu przez hemoglobinę? Hemoglobina jest składnikiem krwi, substancji nieodzownej do życia. Głównym jej zadaniem jest dostarczanie do organizmu tlenu do poszczególnych komórek, odbieranie ditlenku węgla, utrzymywanie określonego pH, rozprowadzanie ciał biologicznie aktywnych, składników pożywienia oraz usuwanie produktów zbędnych i szkodliwych. Substancje mogą być transportowane przez krew trzema różnymi sposobami – jako roztwory w osoczu bądź w połączeniu z niektórymi białkami osocza, bądź też w połączeniu z hemoglobiną. By dać odpowiedź na postawione pytanie, przyjrzymy się najpierw budowie elektronowej tlenu i żelaza. Cząsteczka tlenu [$1s^2 2s^2 2p^4$] wykazuje właściwości paramagnetyczne (*Paramagnetyzm jest to zjawisko, w wyniku którego materia niewykazująca dotąd właściwości magnetycznych w silnym polu magnetycznym ulega namagnesowaniu i oddziałuje z tym polem*), chociaż zawiera parzystą liczbę elektronów, odpowiadającą dwóm niesparowanym elektronom. Oznacza to, że każdy z dwóch orbitali antywiązących cząsteczki tlenu (O_2) jest obsadzony pojedynczym elektronem, zgodnie z regułą Hunda (rys. 1). Z kolei żelazo o budowie elektronowej ($1s^2 2s^2 2p^6 3s^2 3p^6 3d^6 4s^2$), charakterystycznej dla pierwiastków przejściowych, wykazuje właściwości ferromagnetyczne (*Ferromagnetyk jest to ciało mające domeny*

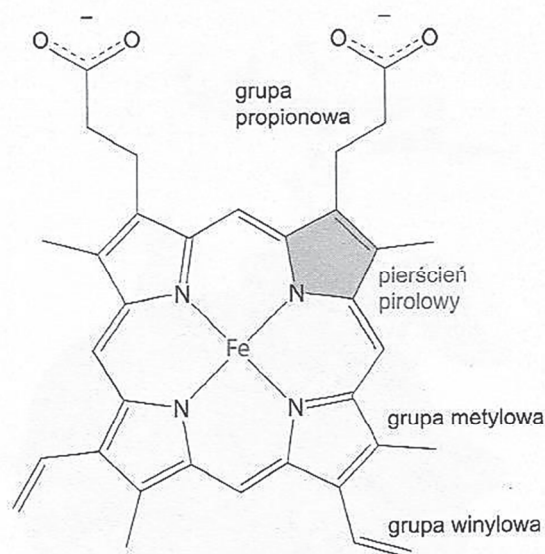
Prof. dr hab. H. Kostyra, Pracownia Nutrikosmetyki, Wydz. Zdrowia Publicznego, Olsztyńska Szkoła Wyższa im. J. Rusieckiego, ul. Bydgoska 33, 10-243 Olsztyn, prof. dr hab. E. Kostyra, Katedra Biochemii, Wydz. Biologii i Biotechnologii, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, ul. Oczapowskiego 1 a, 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.



Rys. 1. Budowa elektronowa cząsteczki tlenu



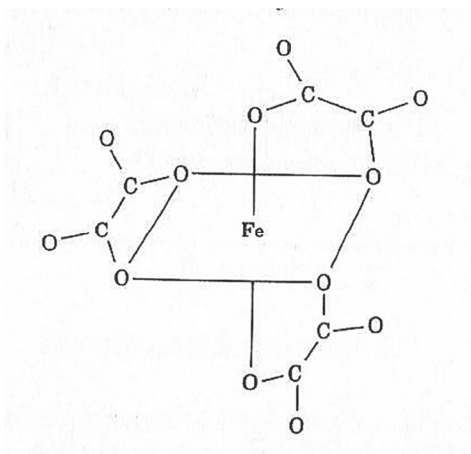
Rys. 2. Zbiór elektronów dla żelaza na zerowym i utlenionym stopniu



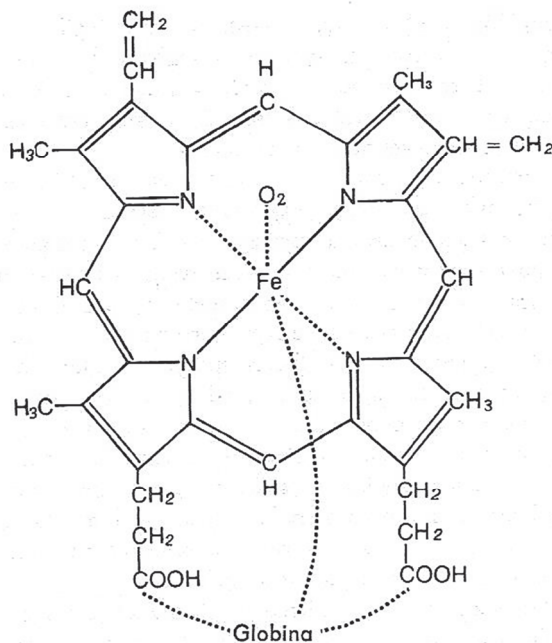
Rys. 3. Wiązanie jonów żelaza w cząsteczce protoporfiryny

magnetyczne wytwarzające wokół siebie pole magnetyczne). Aby utworzył się jon (Fe^{2+}), należy pozbyć się dwóch elektronów z orbitalu 4s. Pozostają wówczas cztery elektrony pojedyncze i jeden duet elektronowy na orbitalach 3d (rys. 2). Przy tej okazji warto przypomnieć, że do powstania wiązania chemicznego atomy muszą się tak do siebie zbliżyć, aby nastąpiło nakładanie się (przenikanie) ich orbitali walencyjnych.

W przypadku hemoglobiny atom żelaza jest umieszczony w centrum protoporfiryny, gdzie wiąże się z czterema atomami azotu pierścieni pirolowych (rys. 3). W warunkach fizjologicznych żelazo występuje w postaci jonu żelazowego (Fe^{2+}). Jon żelaza może tworzyć dwa dodatkowe wiązania, po jednym z każdej strony płaszczyzny hemu

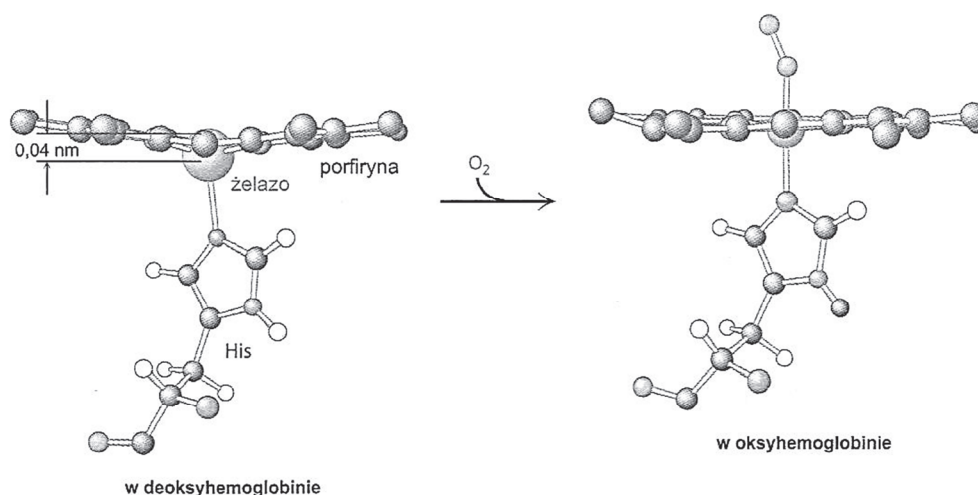


Rys. 4. Struktura oktaedryczna żelaza w kompleksie



Rys. 5. Kompleks żelaza z tlenem w hemoglobinie

(struktura oktaedryczna kompleksu) – rys. 4. Te miejsce wiązania nazywa się pozycjami koordynacyjnymi. Właśnie jedna z tych pozycji koordynacyjnych może związać się z cząsteczką tlenu (rys. 5). Związanie cząsteczki tlenu z tą pozycją koordynacyjną jonu Fe^{2+} zmienia istotnie układ elektronów w obrębie żelaza, w wyniku czego jon staje się mniejszy, a to z kolei umożliwia jego wnikięcie w płaszczyznę porfiryny (rys. 6). Tlen związany z jonami żelaza jest stabilizowany wiązaniem wodorowym z histydyną. Wiązanie Fe-O_2 jest wysoko polarne z powodu dobrego nakładania się pomiędzy orbitalami d jonu żelazowego (Fe^{2+}) i π orbitalami molekularnymi elektronu O_2 . Warto wspomnieć, że efekt ten nie jest związany z procesem utleniania i redukcji. Z tego powodu taką hemoglobinę nazywa się utlenowaną, a nie utlenioną. Ponadto zmianom w układzie elektronów, pojawiającym się w wyniku wsunięcia jonu żelaza (Fe^{2+}) w płaszczyznę porfiryny, towarzyszą zmiany właściwości magnetycznych, co wykorzystano w metodzie obrazowania metodą czynnościowego rezonansu magnetycznego różnych tkanek organizmu człowieka.



Rys. 6. Położenie atomu żelaza w płaszczyźnie porfiryny

Finalnie można powiedzieć, że wiązanie tlenu przez hemoglobinę za pomocą jonów żelaza (Fe^{2+}) jest dobrym przykładem chemii bionieorganicznej i bioorganicznej żywności. Wynika to z dwóch powodów, a mianowicie krew jest surowcem do produkcji żywności, podobnie jak tworzenie kompleksów jonów żelaza (Fe^{2+}) z tlenem uzmysławia zależność budowy konformacyjnej związku chemicznego od jego funkcji biologicznej. ☒

GRAŻYNA MORKIS

PROBLEMATYKA ŻYWNOŚCIOWA W USTAWODAWSTWIE POLSKIM I UNIJNYM

Publikujemy kolejny przegląd aktów prawnych, które ukazały się w Dzienniku Ustaw RP oraz Dzienniku Urzędowym UE. Poniższe zestawienie zawiera akty prawne dotyczące szeroko omawianej problematyki żywnościowej wg stanu na dzień 31 marca 2016 r.

Polskie akty prawne

1. Ustawa z dn. 20 kwietnia 2004 r. o organizacji rynku mleka i przetworów mlecznych (tekst jednolity) (Dz. U. 2016 r., poz. 155).
Został ogłoszony jednolity tekst ustawy z dn. 20 kwietnia 2004 r. o organizacji rynku mleka i przetworów mlecznych. Ustawa określa zadania i właściwość jednostek organizacyjnych oraz organów w zakresie organizacji rynku mleka i przetworów mlecznych, określonej przepisami Unii Europejskiej, wymienionymi w załączniku do niniejszej ustawy.
2. Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dn. 25 sierpnia 2004 r. w sprawie terytorialnego zakresu działania oraz siedzib powiatowych i granicznych lekarzy weterynarii (tekst jednolity) (Dz. U. 2016 r., poz. 197).
Ogłoszono jednolity tekst rozporządzenia Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dn. 25 sierpnia 2004 r. w sprawie terytorialnego zakresu działania oraz siedzib powiatowych i granicznych lekarzy weterynarii.
3. Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dn. 10 lutego 2016 r. w sprawie współczynników równoważności określających ilości mleka wykorzystywanego do wyprodukowania podstawowych przetworów mlecznych (Dz. U. 2016 r., poz. 219).
Zostały wprowadzone współczynniki równoważności określające ilość mleka wykorzystywanego do wyprodukowania podstawowych przetworów mlecznych

wprowadzonych do obrotu przez organizacje producentów, w tym organizacje tworzące zrzeszenia organizacji producentów, a które wynoszą:

- 1 kg mleka spożywczego – 1 kg,
 - 1 kg odtłuszczonego mleka w proszku – 11,3 kg,
 - 1 kg pełnego mleka w proszku – 8,5 kg,
 - 1 kg jogurtu naturalnego lub smakowego – 1 kg,
 - 1 kg jogurtu z dodatkiem owoców – 0,9 kg,
 - 1 kg kefiru naturalnego lub smakowego – 1 kg,
 - 1 kg kefiru z dodatkiem owoców – 0,9 kg,
 - 1 kg maślanki naturalnej lub smakowej – 1 kg,
 - 1 kg maślanki z dodatkiem owoców – 0,9 kg,
 - 1 kg sera twarogowego – 8 kg,
 - 1 kg sera dojrzewającego – 11 kg,
 - 1 kg sera smażonego – 9 kg,
 - 1 kg sera topionego – 9 kg,
 - 1 kg śmietanki – 0,263 kg x % zawartości tłuszczu w śmietance, wyrażonej jako masa,
 - 1 kg masła – 22,5 kg.
4. Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dn. 19 lutego 2016 r. zmieniające rozporządzenie w sprawie wymagań weterynaryjnych przy produkcji mięsa przeznaczonego na użytek własny (Dz. U. 2016 r., poz. 230).
W rozporządzeniu Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 21 października 2010 r. w sprawie wymagań weterynaryjnych przy produkcji mięsa przeznaczonego na użytek własny (Dz. U. z 2015 r. poz. 392, 973 i 1271) wprowadzono zmianę, która stanowi, że dopuszcza się ubój na terenie gospodarstwa, w celu produkcji mięsa, świń utrzymywanych w gospodarstwie położonym na obszarze, o którym mowa w załączniku do rozporządzenia Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 19 lutego 2016 r. w sprawie zarządzenia odstrzału sanitarnego dzików (Dz. U. poz. 229), gdy gospodarstwo to nie jest położone na obszarze Rzeczypospolitej Polskiej wymienionym w części I, II i III załącznika do decyzji nr 2014/709/UE.
5. Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dn. 28 stycznia 2016 r. uchylające rozporządzenie w sprawie bezpieczeństwa i higieny pracy w zakładach przetwórstwa rybnego (Dz. U. 2016 r., poz. 263).
Na podstawie niniejszego rozporządzenia traci moc rozporządzenie Ministrów Pracy i Opieki Społecznej oraz Zdrowia z dnia 14 listopada 1952 r. w sprawie bezpieczeństwa i higieny pracy w zakładach przetwórstwa rybnego (Dz. U. 1952. Nr 47, poz. 317).

6. Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dn. 3 marca 2016 r. w sprawie wprowadzenia "Krajowego programu zwalczania niektórych serotypów *Salmonella* w stadach indyków hodowlanych" na 2016 r." (Dz. U. 2016 r., poz. 307). Wprowadzono "Krajowy program zwalczania niektórych serotypów *Salmonella* w stadach indyków hodowlanych". Zakres tego programu, który będzie realizowany w 2016 r., został określony w załączniku do niniejszego rozporządzenia.
7. Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dn. 18 marca 2016 r. w sprawie nabywania uprawnień do wykonywania niektórych czynności związanych z oceną jakości handlowej artykułów rolno-spożywczych oraz dokumentowania tych czynności (Dz. U. 2016 r., poz. 398).

Rozporządzenie określa:

- sposób powoływania i skład komisji kwalifikacyjnej,
- sposób przeprowadzania egzaminu dla pracowników oraz egzaminu kwalifikacyjnego na rzeczoznawcę, o których mowa w ustawie z dn. 21 grudnia 2000 r. o jakości handlowej artykułów rolno-spożywczych,
- szczegółowy tryb ubiegania się o udzielenie upoważnienia oraz szczegółowe wymagania do uzyskania przez podmiot upoważnienia do prowadzenia szkoleń w zakresie, o którym mowa w ustawie z dn. 21 grudnia 2000 r. o jakości handlowej artykułów rolno-spożywczych,
- wzór zaświadczenia o wpisaniu do rejestru rzeczoznawców i pieczęci imiennej rzeczoznawcy,
- wzory protokołów z czynności przeprowadzanych przez rzeczoznawców.

Unijne akty prawne

1. Rozporządzenie Komisji (UE) 2016/239 z dn. 19 lutego 2016 r. zmieniające rozporządzenie (WE) nr 1881/2006 w odniesieniu do najwyższych dopuszczalnych poziomów alkaloidów tropanowych w niektórych produktach zbożowych dla niemowląt i małych dzieci. (Tekst mający znaczenie dla EOG). (Dz. Urz. UE L 2016 r., Nr 45, s.3).

Alkaloidy tropanowe są metabolitami wtórnymi występującymi naturalnie w roślinach kilku rodzin, w tym: *Brassicaceae*, *Solanaceae* oraz *Erythroxylaceae*. Dotychczas zidentyfikowano ponad 200 alkaloidów tropanowych. Najlepiej zbadanymi alkaloidami tropanowymi są (-)-hioscyjamina i (-)-skopolamina. Atropina jest mieszaniną racemiczną (-)-hioscyjminy i (+)-hioscyjminy, z których tylko enancjomer (-)-hioscyjminy wykazuje aktywność antycholinergiczną.

W załączniku do rozporządzenia (WE) nr 1881/2006 wprowadzono zmiany zgodnie z załącznikiem do niniejszego rozporządzenia, które dotyczą najwyższego dopuszczalnego poziomu alkaloidu tropanowego: atropina, skopolamina – 1,0 µg/kg

w produktach zbożowych przetworzonych oraz w żywności dla niemowląt i małych dzieci, zawierającej proso, sorgo, grykę zwyczajną lub ich produkty pochodne.

2. Rozporządzenie Komisji (UE) 2016/263 z dn. 25 lutego 2016 r. zmieniające załącznik II do rozporządzenia Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 1333/2008 w odniesieniu do tytułu kategorii żywności 12.3 Octy. (Tekst mający znaczenie dla EOG). (Dz. Urz. UE L 2016 r., Nr 50, s. 25).

W załączniku II do rozporządzenia (WE) nr 1333/2008 w części D i E pozycja dotycząca kategorii żywności 12.3 otrzymuje brzmienie: „Octy i rozcieńczony kwas octowy (rozcieńczony wodą do 4 - 30 % obj.)”.

3. Rozporządzenie Komisji (UE) 2016/441 z dn. 23 marca 2016 r. zmieniające załącznik II do rozporządzenia Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 1333/2008 w odniesieniu do stosowania glikozydów stewiolowych (E 960) jako substancji słodzącej w musztardzie (Tekst mający znaczenie dla EOG). (Dz. Urz. UE L 2016 r., Nr 78, s. 47).

W części E załącznika II do rozporządzenia (WE) nr 1333/2008 wprowadzona zmiana dotyczy dodania w kategorii żywności 12.4 „Musztarda” po pozycji dotyczącej E 959 dodaje się pozycję w brzmieniu: „E 960 Glikozydy stewiolowe 120/(60)”. Tym samym zezwolono na stosowanie glikozydów stewiolowych (E 960) jako substancji słodzącej dodawanej do musztardy (kategoria żywności 12.4) w maksymalnej ilości wynoszącej 120 mg/kg. ☒

NOWE KSIĄŻKI

Handbook of Food Processing: Food Preservation

[Poradnik przetwórstwa spożywczego: utrwalanie żywności]

Theodoros Varzakas, Constantina Tzia

Wydawnictwo: CRC Press, 2015, ISBN 9781498721752, stron 164, cena 121,00 £

Zamówienia: www.crcpress.com

W opracowaniu przedstawiono informacje niezbędne do projektowania operacji przetwarzania żywności, szczegółowo opisano sprzęt potrzebny do ich przeprowadzenia. Krok po kroku omówiono etapy przetwarzania – od surowca do produktu końcowego. Scharakteryzowano także najczęstsze operacje jednostkowe inżynierii żywności i procesów utrwalania żywności, takie jak blanszowanie, pasteryzacja, chłodzenie i zamrażanie, pakowanie aseptyczne, obróbka termiczna, ekstruzja, suszenie lub odwadnianie. Przedstawiono zasady i zastosowania nowych technologii, w tym ogrzewania mikrofalowego lub rezystancyjnego, stosowanie wysokich ciśnień, pulsującego pola elektrycznego, pola magnetycznego oraz ultradźwięków.

Genetically Modified Organisms in Food. Production, Safety, Regulation and Public Health

[Genetycznie zmodyfikowane organizmy w żywności. Produkcja, bezpieczeństwo, regulacje i zdrowi publiczne]

Ronald Ross Watson, Victor R. Preedy

Wydawnictwo: Academic Press, 2015, ISBN 9780128022597, stron 516, cena 91,80 EUR

Zamówienia: <http://store.elsevier.com/Academic-Press/IMP>

Autorzy skoncentrowali się na ocenie naukowej opublikowanych wyników badań odnoszących się do produktów spożywczych zawierających GMO w celu określenia ich bezpieczeństwa i wskazania potencjalnego zagrożenia dla zdrowia. Jest to podstawowe opracowanie dla naukowców i profesjonalistów, którzy potrzebują informacji na temat bezpieczeństwa produkcji żywności z wykorzystaniem GMO i bez GMO oraz korzyści ekonomicznych wynikających z wykorzystania organizmów GMO. Opisano także zagadnienia inżynierii genetycznej w przetwarzaniu żywności.

Antimicrobial Food Packaging**[Przeciwdrobnoustrojowe pakowanie żywności]**

J. Barros-Velazquez (Ed.)

Wydawnictwo: Academic Press, 2016, ISBN 9780128007235, stron 676, cena 121,55 EUR

Zamówienia: www.store.elsevier.com/Academic-Press/

W książce zawarto podstawowe informacje i praktyczne wskazówki potencjalnego zastosowania powłok w opakowaniach żywności. Opisano różne rodzaje mikroorganizmów obecnych w żywności i możliwości ograniczenia ich rozwoju poprzez stosowanie odpowiednich materiałów opakowaniowych i wdrażanie w procesie pakowania opakowań przeciwdrobnoustrojowych. Przedstawiono również taktykę monitorowania aktywności drobnoustrojów w środkach spożywczych poprzez stosowanie biosensory. Informacje zawarte w opracowaniu mają na celu wskazanie możliwości ograniczenia rozwoju zanieczyszczeń mikrobiologicznych w żywności w celu poprawy bezpieczeństwa w łańcuchu żywnościowym.

Oxidative Stability and Shelf Life of Foods Containing Oils and Fats**[Oksydacyjna stabilność i okres trwałości produktów spożywczych zawierających oleje i tłuszcze]**

Min Hu & Charlotte Jacobsen (Eds.),

Wydawnictwo: AOCS, 2016, ISBN 9781630670566, stron 566, cena 121,55 EUR

Zamówienia: www.aocs.org/Books/

Przedmiotem opracowania jest stabilność i trwałość żywności w aspekcie poprawy jakości i rozwoju produktu. Przedstawiono metody oceny stabilności oksydacyjnej i okresu przechowywania olejów i tłuszczów spożywczych, tłuszczów smażalniczych i smażonych potraw, emulsji spożywczych, suszonej żywności, mięsa i produktów mięsnych oraz owoców morza.

Food Safety**[Bezpieczeństwo żywności]**

Gary Ades, Ken Leith, Patti Leith

Wydawnictwo: Academic Press, ISBN 9780128031049, stron 142, cena 71,95 EUR

Zamówienia: <http://store.elsevier.com/Academic-Press/>

Autorzy przygotowali dla czytelników praktyczne wskazówki umożliwiające określenie, które z czynników kulturowych mają istotny wpływ na zmniejszenie ryzyka za-

grożenia bezpieczeństwa żywności. Przedstawione informacje stanowią swoistą mapę drogową, zgodnie z którą identyfikuje się i omawia elementy bezpieczeństwa żywności. W przedsiębiorstwie składają się na nie: kultura, zaangażowanie kierownictwa, struktura organizacyjna, wdrażanie, komunikacja, edukacja, szkolenia, odpowiedzialność oraz wszystkie elementy łączące te składowe. Wykorzystując zawarte w opracowaniu informacje, specjaliści ds. bezpieczeństwa żywności mogą zarządzać tym obszarem w szeroko rozumianym aspekcie ekonomicznym i społecznym w celu odniesienia sukcesu.

Postharvest Ripening Physiology of Crops

[Fizjologia dojrzewania roślin uprawnych]

Sunil Pareek

Wydawnictwo: CRC Press, 2016, ISBN 9781498703802, stron 78, cena 159 £

Zamówienia: www.crcpress.com

Książka jest źródłem wiedzy z zakresu różnych aspektów dojrzewania roślin uprawnych. Autor skoncentrował się na fizjologii pozbiorczej, biochemii i biologii molekularnej dojrzewania oraz zawarł przegląd cech jakości pozbiorczej owoców, warzyw i roślin ozdobnych. Omówił odkrycia naukowe dotyczące określania i zmiany funkcji genów związanych z dojrzewaniem. Książka zawiera przegląd najważniejszych szlaków metabolicznych oraz genów, które kontrolują modelową biosyntezę charakterystycznych składników, ze szczególnym uwzględnieniem dojrzewania owoców i roli etylenu w trakcie tego procesu. Autor przedstawił krótką charakterystykę składu lotnych składników różnych gatunków owoców i wpływy czynników i technologii pozbiorczej na aromat owoców. Omówił podstawowe mechanizmy odpowiedzialne za pozbiorcze zmiany smaku świeżych produktów i potencjalny wpływ różnych technologii pozbiorczych

Opracował: Lesław Juszcak

Z ŻAŁOBNEJ KARTY

PROF. DR HAB. MAREK GOGOLEWSKI 1933 – 2015



Dnia 30 kwietnia 2015 roku zmarł prof. dr hab. Marek P. Gogolewski, wieloletni pracownik Wydziału Nauk o Żywności i Żywieniu Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu.

Profesor Marek Gogolewski urodził się 12 maja 1933 roku w Piotrkowie Trybunalskim. W 1955 roku, bezpośrednio po uzyskaniu magisterium z chemii na Uniwersytecie Poznańskim im Adama Mickiewicza, podjął pracę w Katedrze Technologii Rolnej Wyższej Szkoły Rolniczej kierowanej przez prof. Józefa Janickiego.

Od samego początku pracy badania Pana Profesora związane były z chemią tłuszczowców i witamin lipofilnych, której pozostał wierny do końca swojej pracy naukowej na Uczelni. Po obronie dysertacji pt. "Otrzymywanie oraz właściwości biologiczne i przeciwutleniające niektórych tokoferoli o podstawnikach etylowych" uzyskał stopień doktora nauk rolniczych w 1964 roku, a dziewięć lat później habilitował się, przedstawiając pracę pt. "Zmiany jakościowe i ilościowe niektórych pochodnych chromanolu w kiełkujących nasionach soi i rzepaku". W 1975 roku został powołany przez Ministra Nauki, Szkolnictwa Wyższego i Techniki na stanowisko docenta, a w 1989 roku z rąk Prezydenta RP odebrał tytuł profesora nauk rolniczych.

Po reorganizacji Wydziału, od 1970 roku Prof. Gogolewski był związany z Zakładem Biochemii i Analizy Żywności, jednostką naukową w Instytucie Podstaw Nauk o Żywności, później w Instytucie Żywienia Człowieka. Po kolejnej reorganizacji Zakład stał się samodzielną Katedrą Biochemii i Analizy Żywności. Pan Profesor był współtwórcą jej powstania, a od 1991 roku – kierownikiem przez kolejnych 12 lat.

Profesor Gogolewski uchodzi za twórcę polskiej szkoły związanej z analityką lipidów. W szczególności dotyczy to prac nad związkami witamino-E aktywnymi

w surowcach roślinnych i zwierzęcych oraz w produktach spożywczych. Ważne kierunki prac badawczych związane były z doświadczeniami zdobytymi w czasie wielokrotnych pobytów i staży zagranicznych. Długoterminowe staże Profesor Gogolewski odbył w Katedrze Chemii Politechniki w Kijowie, w Katedrze Technologii Spożywczej w Budapeszcie i w Królewskim Instytucie Weterynarii w Sztokholmie. Przebywał również w Państwowym Instytucie Żywności w Kopenhadze i Uniwersytecie w Roskilde. Wiele razy wizytował wiodące zagraniczne placówki naukowe, a były to m.in. Wyższa Szkoła Techniczna w Zurychu, Instytut Naukowy La Roche w Bazylei, Uniwersytety w Londynie i Liverpoolu oraz ośrodki w Czechosłowacji, Bułgarii i Niemczech. Podczas realizacji badań współfinansowanych przez rząd USA wizytował Uniwersytet w Berkeley i Chicago, Instytut Rathforda w Menlo Park i Rockefellera w Nowym Jorku. Podczas wizyt w ośrodkach zagranicznych wygłaszał wykłady z zakresu tematyki realizowanych badań. Na Zjeździe Amerykańskiego Towarzystwa Chemików Tłuszczowych w USA przedstawiał polskie osiągnięcia z lipidowej problematyki badawczej. Szerokie kontakty zagraniczne zaowocowały poszerzeniem własnych doświadczeń i nowymi koncepcjami prac badawczych, które realizował poprzez granty naukowe i prace dyplomowe wykonywane przez współpracowników i młodych podopiecznych.

Dzięki prowadzonym badaniom i współpracy z zakresu chemii lipidów, Profesor Gogolewski był niekwestionowanym autorytetem naukowym. Wartość naukowa Jego badań wynikała z wielkiej pasji badacza oraz z wysokiego poziomu prowadzonych przez Niego i Jego zespół prac naukowych oraz publikowanych artykułów w czasopiśmie o zasięgu międzynarodowym.

Dorobek naukowy Prof. Marka Gogolewskiego to ponad 200 pozycji, w tym wiele opublikowanych w czasopiśmie z tzw. Listy Filadelfijskiej. Artykuły ukazywały się w takich czasopiśmie, jak: *Nahrung/Food*, *Analytical Chemistry*, *Food Science Technology*, *Chemistry Engineering and Technology*, *Japan Food Industry*, *Journal American Oil Chemist's Society*, *Ernahrung/Nutrition*. Jest autorem i współautorem rozdziałów do książek i podręczników akademickich. W Jego dorobku są również liczne artykuły naukowe i popularnonaukowe, a ponad 80 streszczeń konferencyjnych o zasięgu krajowym i międzynarodowym jest istotnym uzupełnieniem wiedzy z zakresu chemii związków lipidowych i witaminy E aktywnej.

Główna tematyka badań Prof. Marka Gogolewskiego dotyczyła, poczynając od pracy doktorskiej, przemian tłuszczów jadalnych, ich trwałości, wpływu przeciwutleniaczy naturalnych i syntetycznych oraz oddziaływania synergistycznego wielu związków występujących naturalnie lub dodanych do matrycy lipidowej. W problematyce badań podejmowanych przez Prof. Gogolewskiego wyróżnić można trzy kierunki: pierwszy – związany z badaniem wpływu różnych czynników na trwałość tłuszczów, drugi – dotyczący identyfikacji, wyodrębniania i oceny właściwości witamin lipofil-

nych, w szczególności związków witamino-E aktywnych i ich pochodnych, trzeci – obejmujący opracowywanie nowych metod w analizie żywności, a także syntezę nowych związków chemicznych alkilopochodnych tokoferoli o właściwościach antyoksydacyjnych. Ważnym nurtem pracy Profesora Gogolewskiego były badania dotyczące destrukcji tokoferoli i tokotrienoli oraz wpływu promieniowania jonizującego na rozpad i dimeryzację tokochromanoli. Dużą wagę miały prace prowadzone na zwierzętach, w których starano się wyjaśnić nieznane aspekty metabolizmu i działania tokoferoli *in vivo*.

Profesor Marek Gogolewski w kierowanej przez siebie Katedrze stworzył zespół, który pierwszy realizował i nadal kontynuuje prace związane z tematyką dotyczącą chemii tłuszczowców i przemian związków witamino-E aktywnych.

Osiągnięcia Profesora Gogolewskiego w dziedzinie kształcenia kadr naukowych mają dużą wartość. Profesor wypromował 12 doktorów, którzy zdobyte kwalifikacje rozwijali w działalności naukowej w naszej Uczelni oraz w uczelniach USA i Austrii. Jego wychowankami jest wiele pokoleń studentów, którzy uzyskali stopień magistra, a w obecnej chwili zajmują wysokie stanowiska w przemyśle spożywczym w branży tłuszczowej. Udział Profesora Gogolewskiego w kształceniu kadr naukowych dopełnia wielokrotna rola recenzenta dysertacji, habilitacji, przewodniczącego lub członka w komisjach w sprawie nadania tytułu naukowego oraz stanowisk profesora nadzwyczajnego i zwyczajnego. W dorobku Prof. Gogolewskiego są również recenzje publikacji, książek i podręczników, a także opinie o projektach badawczych wykonywane dla Komitetu Badań Naukowych.

Profesor Marek Gogolewski w swojej pracy przykładał wielką wagę do obowiązków dydaktyczno-wychowawczych. Brał udział w tworzeniu programów do takich przedmiotów, jak: analiza żywności, biochemia, biofizyka, toksykologia. Prowadząc wykłady, seminaria i ćwiczenia przykazywał kolejnym rocznikom studentów olbrzymi zasób wiedzy w sposób interesujący i ciekawy.

W trakcie swojej długoletniej pracy Profesor Gogolewski pełnił wiele ważnych funkcji w strukturach Wydziału – był wicedyrektorem Instytutu Żywienia Człowieka (1977 - 1978), a w latach 1991 - 2003 – kierownikiem Katedry Biochemii i Analizy Żywności. Sprawował również funkcję Prodziekana Wydziału Technologii Żywności (1985 - 1987). Uczestniczył ponadto w wielu komisjach rektorskich, senackich i wydziałowych. W środowisku naukowym poza Uczelnią aktywnie działał w wielu towarzystwach, w Komisji Analizy Tłuszczów, Sekcji Chemii i Technologii Tłuszczów, Sekcji Analizy Żywności Komitetu Chemii i Technologii Żywności PAN, a także w Polskim Towarzystwie Biochemicznym.

Za działalność naukowo-badawczą, dydaktyczną i organizacyjną prof. dr hab. Marek Gogolewski był wielokrotnie nagradzany, otrzymał liczne wyróżnienia i odznaczenia państwowe. Spośród nich należy wymienić Złoty Krzyż Zasługi oraz Krzyż

Kawalerski Orderu Odrodzenia Polski. Uhonorowany również został Medalem „Zasłużony dla Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu”.

Pan Profesor był osobą bardzo lubianą. Jako kierownik i przełożony był autorytetem budzącym wielki szacunek. Zawsze żywo interesował się wszystkimi, tym, co związane było z pracą w Katedrze, ale również naszym życiem rodzinnym. Będziemy pamiętać Pana Profesora jako cenionego naukowca, doskonałego nauczyciela oraz ciepłego, dobrego, życzliwego i wyrozumiałego Człowieka.

Prof. dr hab. Małgorzata Nogala-Kałucka

*Powyższe wspomnienie ukazało się również w *Więściach Akademickich* – czasopiśmie Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu*

Z ŻAŁOBNEJ KARTY

PROF. DR HAB. MIECZYŚLAW JANKIEWICZ 1933 - 2016



Dnia 14 lutego 2016 roku zmarł prof. dr hab. Mieczysław Jankiewicz.

Pracę nauczyciela akademickiego Profesor Jankiewicz rozpoczął w 1954 roku, aktywnie włączając się w organizowanie przyszłego Wydziału Nauk o Żywności i Żywieniu Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu. Był współautorem pierwszych pomocy naukowych w języku polskim do kształcenia technologów zbóż.

Prof. dr hab. Mieczysław Jankiewicz przez długie lata pełnił ważne funkcje w organizowaniu nauki i dydaktyki: dyrektora Instytutu, prodziekana i dziekana Wydziału Technologii Żywności (1972 - 1981), prorektora ds. studiów Akademii Rolniczej (1981 - 1984). Był seniorem budowy gmachu Wydziału Technologii Żywności (1972 - 1975), będącego pierwszą po wojnie inwestycją służącą kształceniu technologów żywności. Profesor Jankiewicz zorganizował przy Wydziale Technologii Żywności studia podyplomowe i magisterskie dla nauczycieli oraz studia magisterskie dla oficerów służby żywnościowej Wojska Polskiego, a także inne formy dokształcania zawodowego absolwentów wydziału. W latach 1972 - 1996 był członkiem Rady Naukowej Wyższej Szkoły Oficerskiej Służb Kwatermistrzowskich w Poznaniu. Udzielał pomocy w rozwoju kadry akademickiej i doskonaleniu procesu kształcenia na poziomie akademickim. Ma ogromne zasługi w kształceniu kadr dla przemysłu spożywczego i nauczycieli w średnim i wyższym szkolnictwie zawodowym. Wśród Jego uczniów jest dwóch profesorów tytularnych, czterech doktorów habilitowanych, dziesięciu doktorów oraz absolwenci: 172 magistrów i 69 inżynierów. Przez ponad 22 lata reprezentował Polskę, jako delegat krajowy, we władzach Międzynarodowego Stowarzyszenia Chemii Zbóż (International Association for Cereal Science and Technology), piastując kolejno funkcje członka

Komitetu Technicznego i Wykonawczego oraz wiceprezydenta i prezydenta tej organizacji. Od 1972 roku do czasu przejścia na emeryturę był członkiem Komitetu Technologii i Chemii Żywności Polskiej Akademii Nauk. Był członkiem Prezydium Rady Naukowej przy Ministrze Przemysłu Spożywczego. Profesor Jankiewicz był przewodniczącym rad naukowych w jednostkach organizacyjnych zaplecza naukowo-badawczego przemysłu zbożowo-młynarskiego i piekarskiego, przewodniczącym Rady Programowej Przeglądu Zbożowo-Młynarskiego i członkiem Komitetu Redakcyjnego Przeglądu Piekarskiego i Cukierniczego. Za zasługi dla rozwoju technologii żywności został wyróżniony medalem im. Eugeniusza Pijanowskiego. W latach 1996 - 1998 zorganizował, a następnie koordynował Europejski Program TEMPUS, grupujący 6 instytucji akademickich z krajów Unii Europejskiej. Dorobkiem programu było przeszkolenie ponad 40 nauczycieli akademickich w wiodących ośrodkach europejskich, wydanie podręcznika akademickiego i wyposażenie 11 pracowni naukowo-dydaktycznych. W 2001 roku w uznaniu Jego talentów organizacyjnych powierzono mu funkcję Przewodniczącego Krajowej Rady Przetwórstwa Zbożowo-Młynarskiego. Profesor Jankiewicz był w latach 1998 - 2006 członkiem Prezydium Zarządu Głównego Stowarzyszenia Inżynierów i Techników Przemysłu Spożywczego NOT oraz delegatem członków honorowych do Zarządu Głównego Stowarzyszenia Naukowo - Technicznego Inżynierów i Techników Przemysłu Spożywczego. Pełniąc funkcję Przewodniczącego Sekcji Współpracy z Zagranicą przy Zarządzie Głównym tego stowarzyszenia podejmował działania dotyczące tytułu europejskiego inżyniera technologii żywności. Organizował liczne konferencje i sympozja, których dorobek ma istotną wartość dla doskonalenia kadr i rozwoju przemysłu spożywczego w Polsce. W ramach Kongresu Techniki Polskiej (2002) przygotował strategiczny referat na temat kształcenia kadr. Profesor Mieczysław Jankiewicz pracował także jako członek Prezydium Rady Gospodarki Żywnościowej przy Ministrze Rolnictwa i Rozwoju Wsi. W ramach działalności tej Rady przewodniczył pracom Komitetu Technologii Żywności Pochodzenia Roślinnego. Sprawując funkcję Przewodniczącego Rady Programowej Krajowego Centrum Kształcenia Zawodowego opracowywał program kształcenia kadr dla przemysłu piekarskiego i młynarskiego.

Prowadzone przez Niego wykłady i inne zajęcia dydaktyczne cieszyły się bardzo dużą popularnością wśród studentów. Był osobą bardzo szanowaną i lubianą przez współpracowników i studentów, zawsze skłonny do dzielenia się swoją szeroką wiedzą i doświadczeniem zawodowym. W Jego bogatym dorobku naukowym z zakresu technologii i chemii zbóż szczególną wartość mają prace dotyczące funkcjonalności białek zbożowych, a monografia *Białka w technologii zbóż* weszła na stałe do ważnej literatury z tego zakresu.

W uznaniu zasług prof. dr hab. Mieczysław Jankiewicz otrzymał m.in.: Krzyż Kawalerski Orderu Odrodzenia Polski (1984), Krzyż Oficerski Orderu Odrodzenia

Polski (2002), Złoty Krzyż Zasługi (1974), Medal 40-lecia PRL (1984), Medal za Zasługi dla Obronności Kraju (brązowy - 1974, srebrny - 1976, złoty - 1979), Odznakę za Zasługi dla Rozwoju Oświaty w Polsce (1996 i 1997), Medal Komisji Edukacji Narodowej, Zasłużony dla Województwa Poznańskiego (złota odznaka), Zasłużony dla Miasta Poznania, Zasłużony dla Kwidzyna, Zasłużony dla Przemysłu Spożywczego (złota odznaka), dwukrotnie Złotą Odznakę ZNP oraz Medal: Zasłużony dla Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu (2009).

Cześć Jego pamięci.

*Prof. dr hab. Jan Michniewicz
Dziekan Wydziału Nauk o Żywności i Żywieniu
Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu*

Z ŻAŁOBNEJ KARTY

PROF. DR HAB. ROMAN URBAN 1937 – 2016



W dniu 22 marca 2016 r. zmarł w Warszawie prof. dr hab. Roman Urban – wybitny naukowiec, autorytet w dziedzinie ekonomiki przemysłu spożywczego, wieloletni pracownik i członek Rady Naukowej Instytutu Ekonomiki Rolnictwa i Gospodarki Żywnościowej – PIB, członek Komitetu Ekonomiki Rolnictwa Polskiej Akademii Nauk, autor lub współautor kilkudziesięciu publikacji książkowych oraz kilkuset artykułów naukowych, członek rad programowych kilku czasopism naukowych, redaktor działowy „Przemysłu Spożywczego”.

Prof. dr hab. Roman Urban urodził się 24 sierpnia 1937 r. W 1954 r. rozpoczął studia wyższe w Szkole Głównej Planowania i Statystyki, które ukończył w 1959 r., otrzymując stopień magistra nauk ekonomicznych. W Szkole Głównej Planowania i Statystyki uzyskał też kolejne stopnie naukowe – w 1966 r. stopień doktora nauk ekonomicznych, a w 1975 r. – doktora habilitowanego nauk ekonomicznych. W 1989 r. otrzymał tytuł profesora nauk ekonomicznych.

Po ukończeniu studiów Profesor Roman rozpoczął pracę na stanowisku asystenta w Szkole Głównej Planowania i Statystyki, gdzie pracował do 1961 r. Przez następne dwadzieścia lat był zatrudniony w Instytucie Przemysłu Mięsnego i Tłuszczowego, kolejno na stanowiskach: asystenta, docenta i kierownika Zakładu. W latach 1980 - 1982 pracował na stanowisku zastępcy dyrektora do spraw naukowo-badawczych w Instytucie Ekonomiki i Organizacji Przemysłu Spożywczego. Od 1983 r. był zatrudniony kolejno jako docent i profesor w Instytucie Ekonomiki Rolnictwa i Gospodarki Żywnościowej – Państwowym Instytucie Badawczym, w którym pracował na stanowiskach: zastępcy dyrektora do spraw naukowo-badawczych (1983 - 1990), zastępcy

dyrektora do spraw naukowych (1991 - 1993) oraz kierownika Zakładu Ekonomiki Przemysłu Spożywczego. Zakład ten stworzył i kierował nim przez dwadzieścia pięć lat (1983 - 2008).

Dorobek naukowy prof. dr. hab. Romana Urbana jest imponujący, a działalność badawcza rozległa i wszechstronna. Główne pola aktywności naukowej Profesora to szeroko rozumiane badania ekonomiczne przemysłu spożywczego oraz rynku żywnościowego, a zwłaszcza procesów dostosowywania tych dziedzin do gospodarki rynkowej, globalizacji i integracji Polski z Unią Europejską, przebieg procesów transformacji systemowej, analizy efektywności polskich przedsiębiorstw przemysłu spożywczego oraz rozwój produkcji i rynku żywnościowego. Swoją pozycję jednego z najwybitniejszych ekonomistów w dziedzinie ekonomiki przemysłu spożywczego Profesor Urban zawdzięczał nie tylko rozległej wiedzy i doskonałemu warsztatowi badawczemu, ale także niezwyklej pracowitości i nieprzeciętnej osobowości. Dorobek Profesora, Jego wkład w rozwój ekonomii i stosowania jej w życiu gospodarczym jest trwały i istotny dla formułowania kierunków dalszego rozwoju przemysłu spożywczego. Wiele inicjatyw badawczych zainicjowanych przez Profesora jest kontynuowanych przez Jego uczniów i współpracowników.

Oprócz działalności *stricto* naukowej prof. dr hab. Roman Urban był głęboko zaangażowany w działalność doradczą i ekspercką dla instytucji administracji rządowej, organizacji zrzeszających producentów żywności oraz przedsiębiorstw przemysłu spożywczego. Był autorem i współautorem ponad pięciuset ekspertyz dla tych instytucji i organizacji oraz podmiotów gospodarczych, zwłaszcza dotyczących: koncepcji urynkwienia gospodarki żywnościowej (1987), projektów dla Banku Światowego i Ministerstwa Rolnictwa (1987 - 1993), raportów o stanie sektora żywnościowego (2000 - 2004), projektów restrukturyzacji i prywatyzacji głównych branż przemysłu spożywczego oraz kilkudziesięciu przedsiębiorstw tego sektora (1992 - 2004). Był współzałożycielem trzech firm konsultingowych oraz członkiem rad nadzorczych kilku firm spożywczych.

Prof. dr hab. Roman Urban wykazywał szczególne zdolności łączenia pracy naukowo-badawczej, popularyzatorskiej, organizacyjnej i eksperckiej. Na wszystkich tych polach miał wybitne i niekwestionowane osiągnięcia.

W 2001 r. Profesor Urban został odznaczony przez Prezydenta RP Krzyżem Kawalerskim Odrodzenia Polski, a wcześniej, w 1993 r., otrzymał nagrodę Ministra Rolnictwa i Gospodarki Żywnościowej.

Prof. dr hab. Roman Urban był naukowcem niezwykle twórczym i błyskotliwym, a przy tym do końca pozostał Człowiekiem skromnym, dobrym i życzliwym ludziami. Był mistrzem i przewodnikiem w rozwoju naukowym kilku pokoleń młodych pracowników naukowych IERiGŻ – PIB. Dużą wagę przywiązywał do etyki w nauce. Nikt tak jak On nie potrafił w sposób syntetyczny wyrazić swoich myśli i przelać ich na papier.

Publikacje i wystąpienia Profesora nie zawierały zbędnych słów. Zawsze miał czas dla nas, swoich uczniów i współpracowników z Zakładu. Był Szefem wyjątkowym. I taki na zawsze pozostanie w naszej pamięci.

Odejście prof. dr. hab. Romana Urbana jest wielką stratą również dla miesięcznika „Przemysł Spożywczy”, z którym Profesor był związany od 1991 r. jako redaktor działowy, a którym pozostał do sierpnia 2015 r.

Będzie nam brakować Jego mądrości i wskazówek. Będzie nam brakować Wielkiego Człowieka.

*Koleżanki i koledzy z Zakładu Ekonomiki Przemysłu Spożywczego
Instytutu Ekonomiki Rolnictwa i Gospodarki Żywnościowej - PIB*

I SYMPOZJUM NAUKOWE Z CYKLU „BEZPIECZEŃSTWO ŻYWNOŚCIOWE I ŻYWNOŚCI”

KIRY K. ZAKOPANEGO, 17 - 19 KWIETNIA 2016

I Sympozjum Naukowe z cyklu „Bezpieczeństwo żywnościowe i żywności” odbyło się w dniach 17-19 kwietnia w Kirach k. Zakopanego. Organizatorem Sympozjum był ZG Polskiego Towarzystwa Technologów Żywności oraz Zakład Higieny i Zarządzania Jakością Żywności SGGW w Warszawie. Uczestnikami Sympozjum byli naukowcy z kilku ośrodków, tj. Instytutu Ekonomiki Rolnictwa i Gospodarki Żywnościowej – PIB, Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie, Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie, Akademii im. Jana Długosza w Częstochowie, Centrum Doradzo Szkoleniowego Malon Group, Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie. Podczas obrad zaprezentowano 11 referatów w 3 sesjach. W zakresie bezpieczeństwa żywnościowego prezentacje koncentrowały się wokół regionalnego wymiaru bezpieczeństwa żywnościowego oraz marnotrawstwa żywności, możliwości odzyskiwania żywności na cele społeczne oraz modelu ograniczenia strat. W zakresie bezpieczeństwa żywności poruszano takie zagadnienia, jak: zafałszowania żywności a jej bezpieczeństwo w świadomości konsumentów, białkowe markery gatunkowe pszenicy jako potencjalne narzędzie do kontroli autentyczności produktów orkiszowych, aktualny stan wiedzy dotyczący bezpieczeństwa zdrowotnego żywności zmodyfikowanej genetycznie pochodzenia zwierzęcego, systemy RSPO i UTZ jako narzędzia w zapewnieniu bezpieczeństwa konsumenta, jakość żywienia według nowych zaleceń żywieniowych. W czasie podsumowującej dyskusji stwierdzono, że sympozjum ze względu na istotność i aktualność poruszanych tematów przyczyniło się do wymiany doświadczeń i rozszerzenia wiedzy z zakresu bezpieczeństwa żywnościowego i żywności – zagadnień nabierających coraz większego znaczenia we współczesnym świecie.

*Prof. dr hab. Danuta Kołożyn-Krajewska
Przewodniczącą Komitetu Naukowego*

VII SYMPOZJUM NAUKOWE Z CYKLU „PROBIOTYKI W ŻYWNOSCI”

KIRY K. ZAKOPANEGO, 20 - 22 KWIETNIA 2016

W dniach 20 - 22 kwietnia 2016 r. w Kirach k. Zakopanego odbyło się VII Sympozjum Naukowe „Probiotyki w żywności”, zorganizowane przez ZG Polskiego Towarzystwa Technologów Żywności, Zakład Higieny i Zarządzania Jakością Żywności SGGW w Warszawie oraz Katedrę Technologii Mięsa i Zarządzania Jakością Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie. Celem Sympozjum było przedstawienie, przedyskutowanie i analiza problemów związanych z możliwością wytwarzania produktów żywnościowych z udziałem bakterii probiotycznych. Tematy przedstawiane podczas sesji dotyczyły zastosowania wybranych szczepów probiotycznych do produkcji żywności funkcjonalnej, zarówno pochodzenia roślinnego, jak i zwierzęcego. Omawiano zagadnienia przeżywalności bakterii, właściwości prozdrowotnych i jakości badanych produktów. W sympozjum uczestniczyło 20 osób. Reprezentowali oni ośrodki: Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Politechnikę Łódzką, Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie, Instytut Biotechnologii Przemysłu Rolno-Spożywczego w Warszawie oraz Szkołę Główną Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie. Podczas obrad zaprezentowano 15 referatów w trzech sesjach.

Sympozjum zakończyła dyskusja *Okrągłego Stołu*, którą poprowadziła prof. dr hab. Danuta Kołożyn-Krajewska. Omawiano tematy dotyczące bezpieczeństwa i aspektów funkcjonalnych stosowania probiotyków. Dyskutowano m.in. znaczenie martwych, uśpionych, uszkodzonych komórek oraz antybiotykooporności szczepów probiotycznych.

*Prof. dr hab. Danuta Kołożyn-Krajewska
Przewodniczącą Komitetu Naukowego*

1ST MEETING OF YOUNG RESEARCHERS FROM V4 COUNTRIES “SCIENTIFIC RESEARCHES IN FOOD PRODUCTION”

20 kwietnia br. na Wydziale Biologiczno-Rolniczym Uniwersytetu Rzeszowskiego odbyła się konferencja – 1st Meeting of Young Researchers from V4 Countries “Scientific researches in food production”, inaugurująca cykl corocznych spotkań młodych naukowców z krajów Grupy Wyszehradzkiej. Patronat nad konferencją objęli J.M. Rektor Uniwersytetu Rzeszowskiego prof. dr hab. Sylwester Czopek oraz Odział Podkarpacki PTTŻ. Otwarcia konferencji dokonali reprezentanci czterech uczelni partnerskich: dr hab. inż., prof. UR Czesław Puchalski – Prorektor ds. Rozwoju Uniwersytetu Rzeszowskiego, doc. Frantisek Bunka – Dziekan Wydziału Technologii Uniwersytetu w Żlinie (Czechy), prof. Miroslava Kacaniova – Prodziekan Wydziału Biotechnologii i Nauk o Żywności Słowackiego Uniwersytetu Rolniczego w Nitrze oraz prof. Bela Kovacs – Dyrektor Instytutu Nauk o Żywności Uniwersytetu w Debrecenie (Węgry). Wykłady wygłosili: prof. Bela Kovacs – *Possible research activities in our institutes (past, present and future)* oraz prof. Adriana Kolesarova – *Apricot kernels – controversy in the health community*. W konferencji udział wzięło 89 młodych naukowców z Polski, Słowacji, Czech i Węgier. Komisja oceniająca przyznała nagrody (I, II i III miejsce oraz dwa wyróżnienia). Za najlepszą prezentację ustną uznano: *Changes in the technological quality of malting barley grain stored for several months* (Krajčovič T., Uniwersytet w Nitrze), a poster – *Changes of quality parameters and decaying fungal community following modified atmosphere packaging of Prunus cerasus fruits* (Kovacs C., Uniwersytet w Debrecenie).

W przyszłym roku kolejne spotkanie odbędzie się w Słowackim Uniwersytecie Rolniczym w Nitrze, na które już dziś zapraszamy.

*Mgr inż. Monika Wesółowska
Sekretarz Komitetu organizacyjnego konferencji*

6TH INTERNATIONAL YOUNG SCIENTISTS CONFERENCE „HUMAN – NUTRITION – ENVIRONMENT”

21 - 22 kwietnia 2016 r. na Wydziale Biologiczno-Rolniczym Uniwersytetu Rzeszowskiego odbyła się konferencja – 6th International Young Scientists Conference „Human – Nutrition – Environment” zorganizowana przez Studenckie Koło Naukowe Technologów Żywności „FERMENT”. Patronat nad konferencją objęli J.M. Rektor Uniwersytetu Rzeszowskiego – prof. dr hab. Sylwester Czopek, Marszałek Województwa Podkarpackiego – Władysław Ortyl oraz Oddział Podkarpacki PTTŻ. Konferencję otworzył Prorektor ds. Rozwoju UR – dr hab. inż., prof. UR Czesław Puchalski. Wykłady plenarne wygłosili prof. prof. Volkmar Passoth (Szwecja), Andriy Sibirny (Polska, Ukraina) i Patrick Fickers (Belgia). W konferencji udział wzięło 152 młodych naukowców z Polski, Słowacji, Rumunii i Ukrainy. Prace prezentowano w pięciu sesjach tematycznych: Biotechnologia i mikrobiologia, Technologia żywności, Żywienie człowieka i zdrowie, Wpływ czynników środowiska na zdrowie człowieka, Rolnictwo. Wystąpienia ustne (38) i postery (84) oceniło jury złożone z członków Komitetu naukowego: prof. prof. Małgorzata Nogala-Kałucka (UP Poznań), Edward Pospiech (UP Poznań), Patrick Fickers (Belgia), Andrzej Sybirny (UR Rzeszów i Ukraina), Bohdan Achrem-Achremowicz (UR Rzeszów), Grażyna Jaworska (UR Rzeszów), Agata Znamiorska (UR Rzeszów), Małgorzata Dżugan (UR Rzeszów), doc. Helena Frančáková (SUA Nitra, Słowacja), dr dr Simona Vicas (Uniwersytet w Oradei, Rumunia), Katarzyna Marciniak-Łukasiak (SGGW Warszawa), Anna Pasternakiewicz (UR Rzeszów). Jury przyznało nagrody (I, II i III miejsce oraz dwa wyróżnienia). Za najlepszą prezentację ustną uznano: *Self-cleaning effect of the surface in nature and technological application* (Rymuszka D., UMCS Lublin), a poster – *Unique yeast isolates – new candidates for biotechnological purposes* (Rzeszutko J., UR Rzeszów).

Dr Maciej Kluz

Przewodniczący Komitetu organizacyjnego konferencji

TECHNOLOG ŻYWNOŚCI

INFORMATOR POLSKIEGO TOWARZYSTWA TECHNOLOGÓW ŻYWNOŚCI

Rok 26 Nr 2

kwiecień 2016

DZIAŁALNOŚĆ TOWARZYSTWA

Zarząd Główny

W dniu 11 kwietnia 2016 r. na Wydziale Nauk o Żywności Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu odbyło się pierwsze zebranie Zarządu Głównego X kadencji PTTŻ. Tematyka zebrania obejmowała sprawozdanie z działalności Prezydium ZG oraz przyjęcie sprawozdań merytorycznego i finansowego z działalności PTTŻ za 2015 rok. Przedstawiono również informacje dotyczące stanu zaawansowania rejestracji PTTŻ (w KRS) oraz nowego statutu. Następnie przedstawiono i omówiono plany działania oddziałów i sekcji na rok 2016. Podjęto uchwałę o przyznaniu medali 25-lecia. W dalszej części ustalono harmonogram zgłaszania prac do konkursu PTTŻ na najlepszą pracę doktorską z zakresu nauk o żywności oraz konkurs na najlepszą publikację w czasopiśmie ŻNTJ w 2015 r. Powołano nową komisję oceniającą na kadencję 2016 - 2018. Następnie przedstawiono informacje dotyczące stopnia zaawansowania przygotowań do XXI Sesji Naukowej Sekcji Młodej Kadry Naukowej PTTŻ oraz realizacji Programu MOST.

WAŻNIEJSZE MIĘDZYKRAJOWE I KRAJOWE KONFERENCJE NAUKOWE W 2016 r.

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: zywnosexxi@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 ŻYWNOSCI

Przy Zarządzie Głównym: **TCHIBO – WARSZAWA Sp. z o.o. Marki, BUNGE POLSKA Sp. z o.o. Karczew, HORTIMEX Plus Spółka komandytowa Konin.**

Przy Oddziale Małopolskim: **ZAKŁADY PRZEMYSŁU TŁUSZCZOWEGO BIELMAR Sp. z o.o., Bielsko-Biała.**

Material zawarty w Nr 2(105)/2016 Biuletynu podano według stanu informacji do 23 kwietnia 2016 r. Materiały do Nr 3(106)2016 prosimy nadsyłać do 1 czerwca 2016 r. na adres Redakcji Czasopisma.

KOMUNIKAT

Informujemy P.T. Autorów, że Informacje dla Autorów oraz wymagania redakcyjne publikujemy na stronie <http://wydawnictwo.pttz.org/for-authors>

**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 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