



ŻYWNOŚĆ

Nauka Technologia Jakość

FOOD

Science Technology Quality

Nr 3 (106)

Kraków 2016

Rok 23

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 Libudziś, 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

ŻYWNOŚĆ. Nauka. Technologia. Jakość

Organ naukowy PTTŻ – dwumiesięcznik

Nr 3 (106)

Kraków 2016

Rok 23

SPIS TREŚCI

Od Redakcji.....	3
ALICJA ZACHARA, LESŁAW JUSZCZAK: Zanieczyszczenie żywności wielopierścieniowymi węglowodorami aromatycznymi – wymagania prawne i monitoring.....	5
ELIZA WOLSKA, MAGDALENA BONIECKA, MAŁGORZATA SZNITOWSKA: Superdezintegranty – substancje pomocnicze w suplementach diety w postaci tabletek.....	21
PIOTR DOMARADZKI, ZYGMUNT LITWIŃCZUK, MARIUSZ FLOREK, ANNA LITWIŃCZUK: Zmiany właściwości fizykochemicznych i sensorycznych mięsa wołowego w zależności od warunków jego dojrzewania.....	35
JOLANTA CALIK: Ocena zawartości wybranych składników chemicznych w jajach kurzych w zależności od cyklu ich produkcji.....	54
KAROL MIŃKOWSKI, ARTUR KALINOWSKI, ANNA KRUPSKA: Wpływ enzymatycznej i hydrotermicznej obróbki nasion oraz dodatku przeciwutleniacza i witaminy E na stabilność oleju lnianego w czasie przechowywania.....	64
MAŁGORZATA MIZIELIŃSKA, PAULA JANKOWSKA, AGNIESZKA BIENI, ŁUKASZ ŁOPUSIEWICZ, ARTUR BARTKOWIAK: Ocena zdolności wybranych szczepów grzybów z gromady <i>Basidiomycota</i> do syntezy lipaz oraz esteraz.....	78
EWELINA ŁYSONI, WIOLETTA BIEL: Ocena składu chemicznego ziarna wybranych odmian żyta (<i>Secale cereale</i> L.) z uprawy ekologicznej i konwencjonalnej.....	91
GABRIELA ZIĘĆ: Właściwości teksturalne miękiszku i jakość chlebów pszenno-owsianych.....	102
PAULINA BOGDAN, EDYTA KORDIALIK-BOGACKA: Aktywność przeciwutleniająca piw produkowanych z dodatkiem niesłodzonej komosy i amarantusa.....	118
ALINA KAŁUŻEWICZ, JOLANTA LISIECKA, MONIKA GAŚECKA, AGNIESZKA WAŚKIEWICZ, WŁODZIMIERZ KRZESIŃSKI, TOMASZ SPIŻEWSKI, BARBARA FRĄSZCZAK: Zmiany składu fenoli i tokoferoli w różach brokułu w trakcie krótkotrwałego przechowywania.....	127
MAŁGORZATA KOWALSKA, BARBARA GAJEWNIK, TERESA SUMIŃSKA, ANDRZEJ BARYGA: Parametry mikrobiologiczne i fizykochemiczne soku surowego z buraków cukrowych przed i po ozonowaniu.....	140
HENRYK KOSTYRA, ELŻBIETA KOSTYRA, DAGMARA ZŁOTKOWSKA: Chemia bionieorganiczna i bioorganiczna żywności.....	153
GRAŻYNA MORKIS: Problematyka żywnościowa w ustawodawstwie polskim i unijnym.....	156
LESŁAW JUSZCZAK: Nowe książki.....	159
Twórcy polskiej nauki o żywności: Prof. dr hab. inż. Paweł Michał Pisulewski (1945 - 2009).....	162
XXI Krajowa Konferencja Młodej Kadry Naukowej.....	165
Technolog Żywności.....	168

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 3 (106)

Kraków 2016

Vol. 23

CONTENTS

From the Editor.....	3
ALICJA ZACHARA, LESŁAW JUSZCZAK: Contamination of food with polycyclic aromatic hydrocarbons – legal requirements and monitoring.....	5
ELIZA WOLSKA, MAGDALENA BONIECKA, MAŁGORZATA SZNITOWSKA: Superdisintegrants – excipients in dietary supplements in the form of tablets	21
PIOTR DOMARADZKI, ZYGMUNT LITWIŃCZUK, MARIUSZ FLOREK, ANNA LITWIŃCZUK: Changes in physicochemical and sensory properties of beef meat depending on its ageing conditions	35
JOLANTA CALIK: Assessment of content of selected chemical components in hen eggs depending on their production cycle.....	54
KAROL MIŃKOWSKI, ARTUR KALINOWSKI, ANNA KRUPSKA: Effect of enzymatic and hydrothermal treatment of seeds, and of adding antioxidant and vitamin e on stability of flax oil during storage	64
MAŁGORZATA MIZIELIŃSKA, PAULA JANKOWSKA, AGNIESZKA BIENI, ŁUKASZ ŁOPUSIEWICZ, ARTUR BARTKOWIAK: Assessment of ability of selected fungal strains in <i>Basidiomycota</i> phylum to synthesize lipases and esterases	78
EWELINA ŁYSONI, WIOLETTA BIEL: Assessing chemical composition of grain of some selected rye (<i>Secale cereale</i> L.) cultivars from organic and conventional crops	91
GABRIELA ZIĘĆ: Textural properties of crumb of wheat and oats flour bread	102
PAULINA BOGDAN, EDYTA KORDIALIK-BOGACKA: Antioxidant activity of beer produced with unmalted quinoa and amaranth additives.....	118
ALINA KAŁUŻEWICZ, JOLANTA LISIECKA, MONIKA GAŚECKA, AGNIESZKA WAŚKIEWICZ, WŁODZIMIERZ KRZESIŃSKI, TOMASZ SPIŻEWSKI, BARBARA FRĄSZCZAK: Changes in composition of phenolic compounds and tocopherols in broccoli heads during short-term storage.....	127
MAŁGORZATA KOWALSKA, BARBARA GAJEWNIK, TERESA SUMIŃSKA, ANDRZEJ BARYGA: Microbiological and physicochemical parameters of raw sugar beets juice before and after ozonation	140
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
Creators of the Polish food science: Prof. dr hab. inż. Paweł Michał Pisulewski (1945 - 2009).....	162
The 21 st Polish Conference of Young Academic Scientists	165
The Food Technologist.....	168

Only reviewed papers are published

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

OD REDAKCJI

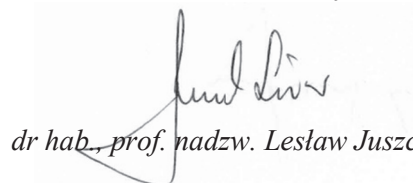
Szanowni Czytelnicy,

przekazujemy Państwu nr 3 (106) dwumiesięcznika Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, w którym zamieściliśmy różnorodnie tematycznie artykuły naukowe, prezentujące dorobek kilku krajowych ośrodków nauki o żywności. Jak w każdym numerze, zamieściliśmy także interesujące informacje w stałych działach. Ponownie informujemy, że od drugiego numeru br. zmianie uległ numer ISSN czasopisma. Nowy numer ISSN wersji drukowanej: 2451-0769, natomiast wersji on-line: 2451-0777.

Dostępna jest także nowa strona internetowa czasopisma pod adresem: <http://wydawnictwo.pttz.org/>. Znajdą tam Państwo podstawowe informacje o czasopiśmie oraz archiwum wydań od 2004 roku, zawierające zarówno pełne numery czasopism, jak i poszczególne artykuły w formacie PDF.

Kraków, czerwiec 2016 r.

Redaktor Naczelny



dr hab., prof. nadzw. Lesław Juszcak

ALICJA ZACHARA, LESŁAW JUSZCZAK

ZANIECZYSZCZENIE ŻYWNOŚCI WIELOPIERŚCIENIOWYMI WĘGLOWODORAMI AROMATYCZNYMI – WYMAGANIA PRAWNE I MONITORING

Streszczenie

Wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne występują powszechnie w środowisku, a rozwój cywilizacyjny i technologiczny powoduje wzrost narażenia człowieka na te zanieczyszczenia. Poliareny są związkami chemicznie stabilnymi, o silnych właściwościach lipofilnych. Mogą zawierać od dwóch do kilkudziesięciu pierścieni benzenowych połączonych ze sobą, co decyduje o ich zróżnicowanych właściwościach fizykochemicznych i toksycznych. WWA to związki o udokumentowanym działaniu mutagennym i kancerogennym. W artykule omówiono zagadnienia związane z powstawaniem oraz właściwościami wielopierścieniowych węglowodórów aromatycznych. Szczególną uwagę zwrócono na wyniki badań żywności w kierunku zanieczyszczenia poliarenami oraz na zmiany w obowiązujących wymaganiami prawnych. Obecność WWA została stwierdzona przez wielu badaczy w produktach mięsnych i rybnych poddanych obróbce termicznej (wędzenie, smażenie, grillowanie), produktach zbożowych, owocach morza, tłuszczach roślinnych i zwierzęcych, warzywach, roślinach strączkowych, a także w żywności dla niemowląt i małych dzieci, suplementach diety, herbacie i kawie. Oznaczenie zawartości wielopierścieniowych węglowodórów aromatycznych wykonuje się w żywności głównie z wykorzystaniem chromatografii cieczowej lub gazowej, metodami badawczymi poddany walidacji, spełniającymi kryteria zawarte w Rozporządzeniu Komisji (UE) nr 836/2011. Według oceny Komisji Europejskiej niezbędne jest monitorowanie zawartości WWA w środkach spożywczych w celu stałej kontroli zagrożenia.

Słowa kluczowe: wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne (WWA), benzo(a)piren (B(a)P), zanieczyszczenia żywności, kancerogeny

Wprowadzenie

Poszerzanie asortymentu żywności wygodnej, sensorycznie atrakcyjnej, o długich terminach przydatności do spożycia wymusza często produkcję żywności wysoko

*Mgr inż. A. Zachara, dr hab. inż. L. Juszczyk, prof. UR, Katedra Analizy i Oceny Jakości Żywności, Wydz. Technologii Żywności, Uniwersytet Rolniczy w Krakowie, ul. Balicka 122, 30-149 Kraków.
Kontakt: azachara@poczta.onet.pl*

przetworzonej, zawierającej dużo substancji dodatkowych oraz związków niekorzystnie oddziałujących na organizm człowieka. Zanieczyszczenie środowiska wpływa na jakość zdrowotną surowców stosowanych do produkcji żywności, dlatego też producenci zobligowani są do ciągłego monitoringu bezpieczeństwa surowców i wytwarzanych produktów. Decydujący wpływ na jakość żywności często mają substancje obcego pochodzenia, jak np. zanieczyszczenia technologiczne oraz substancje dodatkowe stosowane świadomie do produkcji środków spożywczych. Do najbardziej powszechnych zanieczyszczeń chemicznych, które mogą występować w żywności, należą: metale ciężkie i ich związki, pozostałości pestycydów, polichlorowane bifenyle oraz dioksyny i dibenzofurany, chloropropanole, akryloamid, melamina, mikotoksyny, jak również nitrozoaminy, heterocykliczne aminy aromatyczne (HCA) oraz wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne [15].

Celem pracy jest przedstawienie aktualnego stanu wiedzy na temat zagadnień związanych z powstawaniem, właściwościami oraz zanieczyszczeniem żywności wielopierścieniowymi węglowodarami aromatycznymi, analiza wymagań prawnych oraz monitoringu żywności w tym zakresie.

Występowanie i charakterystyka wielopierścieniowych węglodorów aromatycznych (WWA)

Zanieczyszczenie środowiska WWA może być spowodowane przez katastrofy ekologiczne, pożary lasów, erupcje wulkanów, a także wypalanie ściernisk i nawożenie pól uprawnych osadami ściekowymi. Nie bez znaczenia jest emisja różnorodnych zanieczyszczeń, a wraz z nimi WWA z zakładów przemysłowych szczególnie przemysłu ciężkiego [11, 34]. Istotnym źródłem zanieczyszczenia jest tzw. niska emisja, związana z uruchamianiem w okresie zimowym źle wyregulowanych pieców węglowych starego typu. Również inne źródła ciepła emitują do środowiska związki z grupy WWA, np. w wyniku spalania drewna przy mocno zredukowanym dostępie powietrza.

Poliareny występują w surowcach przemysłowych, takich jak pak węglowy oraz oleje mineralne a także w produktach ich obróbki: smołe pogazowej, sadzach czy też oleju kreozotowym. Skład i ilość mieszanin WWA emitowanych do środowiska zależy od rodzaju substancji spalanej, metody spalania oraz od tego, czy stosuje się filtry lub inne urządzenia chroniące przed ich emisją. Ilości WWA pochodzące ze źródeł naturalnych są niewielkie w porównaniu z tymi, które są wynikiem działalności człowieka. WWA powstające w wyniku syntezy przez glony morskie oraz biosyntezy przez mikroorganizmy nie mają dużego znaczenia.

Wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne tworzą się w procesie niepełnego spalania węgla, podczas którego przy niewystarczającym dostępie tlenu możliwe jest formowanie i zamykanie łańcuchów węglowych w wielopierścieniowe układy aromatyczne. Struktura poliarenów charakteryzuje się tym, że atomy węgla i wodoru tworzą

dwa lub więcej sprzężonych pierścieni aromatycznych bez podstawnika lub heteroatomu. Węglowodory zbudowane z węgla i wodoru oraz ich pochodne z podstawnikami alkilowymi, grupami nitrowymi i aminowymi stanowią grupę związków homocyklicznych. Natomiast grupę związków heterocyklicznych tworzą węglowodory skondensowane, również występujące z podstawnikami oraz zawierające atomy tlenu, siarki i azotu. Poliareny występują w środowisku jako mieszaniny związków homo- i heterocyklicznych. Często dokonuje się podziału na WWA lekkie – zawierające od 2 do 4 skondensowanych pierścieni aromatycznych oraz ciężkie – zawierające 5 lub więcej pierścieni. Zdolność adsorpcji na powierzchni pyłów, pomimo niewielkiej lotności cięższych WWA, sprzyja ich rozprzestrzenianiu się wraz z zanieczyszczonym (zapylnym) powietrzem [16].

Wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne w czystej postaci to substancje krystaliczne, o barwie białej, bladożółtej, zielonkawej lub bezbarwne. Charakteryzują się wysokimi temperaturami topnienia i niskimi prężnościami par. Są związkami niepolarnymi, lipofilnymi [16]. Dobrze rozpuszczają się w rozpuszczalnikach organicznych, natomiast słabo lub bardzo słabo w wodzie. Ich rozpuszczalność w wodzie można zwiększyć pod wpływem obecności detergentów (zjawisko solubilizacji) lub innych substancji organicznych (hydrotropia). WWA wykazują duże powinowactwo do powierzchni ciał stałych, pod wpływem światła oraz tlenu łatwo ulegają reakcjom fotochemicznym, tworząc epoksydy, diole, fenole i aldehydy oraz chinony, które jako reaktywne związki pośrednie ulegają dalszym przemianom [44].

Występowanie WWA we wszystkich elementach środowiska człowieka (w powietrzu, w wodzie, w glebie) oraz w żywności powoduje, że narażenie na ich działanie ma charakter powszechny [17]. Związki te dostają się do organizmu ludzkiego na różne sposoby: podczas spożywania pokarmów, drogą inhalacyjną oraz przez skórę. Wykrywalne ilości WWA obserwuje się już w temperaturze przekraczającej 400 °C, jednak benzo(a)piren pojawia się w znacznie większych ilościach dopiero w temp. powyżej 500 °C, a najintensywniej powstaje w zakresie 800 ÷ 900 °C [19, 20].

O transporcie oraz kumulacji WWA decyduje ich słaba rozpuszczalność w wodzie, masa cząsteczkowa, lotność, zdolność do adsorpcji na powierzchni pyłów oraz duża rozpuszczalność w tłuszczach. Związki te kumulują się w tkance tłuszczowej roślin i zwierząt. WWA łączą się silnie z organiczną frakcją gleby, ale nie przenikają do jej głębszych warstw, a ich pobieranie przez system korzeniowy roślin jest ograniczone. Czas półtrwania w powietrzu wynosi do kilku dni, w glebie do kilku lat, w środowisku wodnym występują przede wszystkim w osadach dennych [11, 35].

WWA stanowią bardzo zróżnicowaną grupę zanieczyszczeń, do której obecnie zalicza się kilkaset związków chemicznych. Amerykański Narodowy Instytut Standaryzacji i Technologii (*National Institute of Standards and Technology*) w NIST Spe-

cial Publication 922/2011 pn. *Polycyclic Aromatic Hydrocarbon Structure Index* zamieścił 660 wzorów strukturalnych WWA.

Działanie toksyczne wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych

WWA to grupa związków, które zawierają od dwóch do kilkunastu pierścieni benzenowych połączonych ze sobą, co decyduje o zróżnicowanych właściwościach fizykochemicznych i toksycznych. Wiele z nich, szczególnie ciężkie WWA, jest genotoksycznymi kancerogenami [16, 20, 35]. Duża liczba WWA wykazuje także silne efekty mutacji biologicznych. Część związków, mimo nieudowodnionych właściwości kancerogennych, może wykazywać działanie synergistyczne. Po dostaniu się do wnętrza komórek ulegają one metabolicznej aktywacji do toksycznych reaktywnych pośrednich metabolitów, które mogą nieodwracalnie uszkadzać makrocząsteczki komórkowe (DNA, lipidy oraz białka). Aktywowane głównie przez cytochrom P450 metabolity WWA tworzą addukty z DNA oraz albuminą i hemoglobina. Poliareny reprezentują klasę związków o zróżnicowanej toksyczności, które mogą wywoływać niebezpieczne efekty *in vivo*, w tym działanie cytotoksyczne, genotoksyczne, immunotoksyczne, teratogenne i kancerogenne. Stwierdzono, że wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne wykazują toksyczność układową, co potwierdziły badania przeprowadzone na zwierzętach (uszkodzenie układu oddechowego i krwiotwórczego). W niektórych cząsteczkach WWA występuje tzw. *bay region* – obszar o zwiększonej gęstości elektronowej umożliwiający tworzenie się np. adduktów z DNA, przez co związki te mogą oddziaływać na replikację komórki. W cząsteczce benzo(a)pirenu *bay-region* występuje pomiędzy 10. i 11. węglem [20, 44]. WWA i ich metabolity identyfikuje się m.in. w mięśniach, mózgu, a nawet łożyskach kobiet. Związki te mogą być przekształcane przez mikroorganizmy jelitowe do równie niebezpiecznych pochodnych. WWA występują zawsze w postaci mieszanin, dlatego bardzo trudno ocenić, jakie zagrożenie dla człowieka mogą powodować poszczególne związki. Niemniej jednak wskazuje się na korelacje między narażeniem na poszczególne WWA a występowaniem zmian nowotworowych oraz niekorzystnym wpływem na zdrowie noworodków [21, 25, 41].

Przez ostatnie kilkanaście lat wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne podlegały ocenie Międzynarodowego Programu Bezpieczeństwa Chemicznego przy Światowej Organizacji Zdrowia (WHO), Komitetu Naukowego ds. Żywności przy Komisji Europejskiej oraz Wspólnego Komitetu Ekspertów FAO/WHO ds. Dodatków do Żywności [9, 43]. W 2002 r. Komitet Naukowy ds. Żywności (SCF) wydał opinię, zgodnie z którą zalecił oprócz badania zawartości benzo(a)piranu, traktowanego jako marker obecności i działania rakotwórczego WWA w żywności, przeprowadzanie dalszych analiz WWA w żywności oraz kolejną ocenę przydatności benzo(a)pirenu jako jedyne go markera. Zgodnie z zaleceniami Komisji Europejskiej z 2005 r. [43] w państwach

członkowskich wykonywane były czteroletnie badania monitoringowe mające na celu oznaczanie zawartości 15 związków z grupy WWA z tzw. Listy Komisji Europejskiej, wraz z benzo(c)fluorenem wskazanym dodatkowo przez JECFA (*The Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives*). W wyniku tych badań Europejski Urząd ds. Bezpieczeństwa Żywności (EFSA) stwierdził, że benzo(a)piren nie jest wystarczającym markerem do oceny zanieczyszczenia żywności przez WWA, ponieważ stanowił tylko 8 % zawartości badanych WWA, natomiast nie stwierdzono go w 33 % środków spożywczych, w których wykryto inne związki z grupy WWA [9].

Zanieczyszczenie żywności wielopierścieniowymi węglowodorami aromatycznymi – wymagania prawne

Wyniki badań dowodzące rakotwórczego oddziaływania WWA na człowieka oraz dostępne dane o poziomie zanieczyszczenia żywności tymi związkami były powodem ustanowienia Rozporządzenia Komisji UE nr 208/2005 [29], a następnie Rozporządzenia (WE) nr 1881/2006 [28], w których ustalono maksymalne dopuszczalne poziomy benzo(a)pirenu w olejach i tłuszczach (2 µg/kg), produktach dla niemowląt i małych dzieci (1 µg/kg), w wędzonych: mięsie, rybach (z wyłączeniami) i ich produktach (5 µg/kg), w mięsie ryb niewędzonych (2 µg/kg), skorupiakach, głowonogach niewędzonych (5 µg/kg) oraz w małżach (10 µg/kg). Nie ustalono dopuszczalnego poziomu B(a)P w maśle kakaowym. Przegląd tej derogacji zaplanowano w 2007 r. po zakończeniu badań na obecność benzo(a)pirenu w maśle kakaowym. Podjęte w rozporządzeniu środki miały na celu zapewnienie pełnej harmonizacji dopuszczalnych poziomów WWA w wyszczególnionej żywności we wszystkich państwach członkowskich. W Rozporządzeniu Komisji (UE) nr 835/2011 [30] zmieniającym Rozporządzenie (WE) nr 1881/2006 [28] wprowadzono zmianę dotychczasowego markera wskazującego na obecność WWA w żywności, którym był benzo(a)piren i zgodnie z opinią EFSA ustalono limity zawartości sumy czterech WWA: benz(a)antracenu, benzo(b)fluorantenu, benzo(a)pirenu i chryzenu. Stwierdzono, że związki te występują w środkach spożywczych w zróżnicowanych ilościach, ale ich suma pokrywa ok. 60 % zawartości kancerogennych 15 WWA (według listy Komisji Europejskiej) [30]. System taki ma gwarantować utrzymanie zawartości WWA w żywności na poziomie niezagrażającym zdrowiu konsumentów oraz umożliwiać kontrolę próbek, w których nie jest wykrywalny benzo(a)piren, a w których obecne są inne wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne. Odrębny najwyższy dopuszczalny poziom benzo(a)pirenu został zachowany w celu możliwości porównywania zgromadzonych danych z danymi uzyskiwanymi w przyszłości. Ustalono najwyższy dopuszczalny poziom BaP oraz sumy czterech WWA w ziarnie kakaowym i produktach pochodnych oraz w oleju kokosowym. Wprowadzono najwyższe dopuszczalne poziomy WWA w mięsie i produktach mięsnych, które poddawane są pieczeniu na ruszcie (grillu). Zrezygnowano

z utrzymywania dopuszczalnego poziomu BaP w „mięsie ryb innych niż wędzone”, ponieważ wykazano, że poliareny w komórkach świeżych ryb szybko ulegają reakcjom metabolicznym, w związku z czym nie dochodzi do ich odłożenia w mięśniach. W rozporządzeniu 835/2011 [30] wprowadzono więc dwie istotne zmiany dotyczące przemysłu mięsnego. Nowe wymagania wprowadzono dwuetapowo, z dwuletnim okresem przejściowym.

Tabela 1. Najwyższe dopuszczalne poziomy WWA w mięsie wędzonym i produktach mięsnych wędzonych

Table 1. Maximum permissible levels of PAH in smoked meat and smoked meat products

Środek spożywczy Foodstuff	Nazwa związku Name of compound	Rozporządzenie Komisji (UE) nr 835/2011 Commission Regulation (EU) No 835/2011		Rozporządzenie Komisji (UE) nr 1327/2014 / Commission Regulation (EU) No 1327/2014	
		NDP MRL [µg/kg]	Okres obowiązywania Period of validity	NDP MRL [µg/kg]	Okres obowiązywania Period of validity
Mięso wędzone i produkty mięsne wędzone Smoked meat and smoked meat products	Benzo(a)piren Benzo(a)pyrene	5,0	do 31 sierpnia 2014 r. / to 31 August 2014	5,0	Stosuje się od 1.09.2014 r. dla mięsa i produktów mięsnych wędzonych tradycyjnie na swoim terytorium i przeznaczonych do spożycia na swoim terytorium Shall apply from 1 Sep 2014 for meat and meat products smoked traditionally on EU territory and intended for consumption on EU territory
		2,0	od 1 września 2014 r. / from 1 September 2014		
	Suma: benzo(a)pirenu, benz(a)antracenu, benzo(b)fluorantenu chryzenu Total of: benzo(a)pyrene, benz(a)anthracene, benzo(b)fluoranthene and chrysene	30,0	od 1 września 2012 r. do 31 sierpnia 2014 r. / from 1 September 2012 to 31 August 2014	30,0	
		12,0	od 1 września 2014 r. / from 1 September 2014		

Na podstawie danych zebranych przez Komisję Europejską stwierdzono, że możliwe jest obniżenie najwyższych dopuszczalnych poziomów (NDP) BaP i sumy czterech WWA, zakładając, że w niektórych przypadkach może zachodzić potrzeba dostosowania aktualnie stosowanej technologii wędzenia. W przeprowadzonych w 2014 roku badaniach monitoringowych wykazano, że w wielu państwach członkowskich nie jest możliwe osiągnięcie niższych poziomów WWA bez dużej zmiany praktyk wędzarniczych powodujących w efekcie zmianę cech sensorycznych produktu. W Rozpo-

rzządzeniu Komisji (UE) nr 1327/2014 [27] ustanowiono trzyletnie odstępstwo od stosowania obniżonych najwyższych dopuszczalnych poziomów WWA (tab. 1), natomiast w Rozporządzeniu Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi [32] zostały określone zasady stosowania tej derogacji.

W ww. rozporządzeniu przyjęto, że przez produkty mięsne wędzone tradycyjne rozumie się produkty wędzone bez udziału środków aromatyzujących dymu wędzarniczego. W przypadku wędzenia z użyciem aromatów dymnych lub preparatów dymu wędzarniczego regulacje UE limitują zawartość benzo(a)pirenu – B(a)P i benz(a)antracenu – B(a)A dla produktów początkowych na poziomie odpowiednio 10 µg·kg B(a)P i 20 µg·kg B(a)A [26]. Również woda używana do produkcji żywności powinna spełniać wymagania odnoszące się do wody pitnej. W Rozporządzeniu Ministra Zdrowia [33] wśród podstawowych wymagań chemicznych dotyczących wody przeznaczonej do spożycia przez ludzi określono najwyższe dopuszczalne stężenie sumy wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych – benzo(b)fluorantenu, benzo(k)fluorantenu, benzo(ghi)perylenu, indeno(1,2,3-cd)pirenu na poziomie 0,10 µg/l.

Występowanie WWA w żywności

Ilość wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych, na którą narażony jest człowiek zależy od prowadzonego stylu życia, sposobu odżywiania się oraz od tego, czy pali się papierosy. W przypadku palaczy to narażenie dodatkowo zwiększa się o 2 - 5 µg/dzień [21]. WHO szacuje, że narażenie na WWA jest w 99 % wynikiem konsumpcji żywności: jedynie ok. 0,9 % tych związków dostaje się do organizmu wskutek wdychania, zaś 0,1 ÷ 0,3 % – z wodą pitną. Żywność może być zanieczyszczona przez WWA występujące w powietrzu, w glebie, w wodzie oraz w czasie przetwarzania żywności (wędzenie, pieczenie, smażenie, grillowanie, suszenie). Produktami wnoszącymi WWA do diety są produkty mięsne i rybne poddane obróbce termicznej (wędzenie, smażenie), produkty zbożowe, owoce morza, tłuszcze roślinne i zwierzęce, warzywa, orzechy i rośliny strączkowe, a także kakao, herbata, kawa. W wyniku oszacowania wielkości pobrania poliarenow na podstawie średniego dziennego spożycia artykułów żywnościowych stwierdzono, że najczęściej WWA uznanych przez CONTAM Panel za indykatory potencjału kancerogennego [9] wnoszą produkty zbożowe, przetwory mięsne oraz oleje roślinne [40]. Wzrost zawartości WWA w żywności związany jest ze stosowanymi parametrami termicznej obróbki technologicznej. Im wyższa temperatura i dłuższy czas procesu tym większa zawartość policyklicznych pochodnych benzenu w gotowym produkcie. Owoce morza oraz ryby narażone są na związki z grupy WWA obecne w wodzie oraz osadach dennych. Zawartość WWA jest ściśle powiązana ze zdolnościami organizmów wodnych do ich metabolizowania. Skorupiaki i mięczaki kumulują większe ilości WWA niż ryby, które wykazują zdolność

stosunkowo intensywnego metabolizowania i usuwania WWA z organizmu – w rezultacie rzadko dochodzi do ich znacznego zanieczyszczenia. Mechanizm ten nie działa tak sprawnie u bezkręgowców [14].

Zawartość WWA w produkcie jest w dużej mierze zależna od zawartości tłuszczu w środku spożywczym oraz od rodzaju źródła ciepła i jego usytuowania względem środka spożywczego poddawanego obróbce. Zróżnicowane zawartości poliarenowe w kawach naturalnych, herbatach, owocach suszonych lub nasionach mogą wynikać z różnego stopnia zanieczyszczenia środowiska a także z prowadzonego sposobu suszenia (przeponowe, bezprzeponowe). Parametry prażenia kaw (temperatura, czas, technika palenia) mogą przyczyniać się do istotnie różnych poziomów zawartości wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych [3].

Tworzenie się WWA podczas produkcji i przetwarzania żywności

W wielu pracach badawczych stwierdzono, że ze względu na powszechną obecność WWA w środowisku oraz ich lipofilny charakter oleje i tłuszcze jadalne mogą zawierać znaczne ilości tych związków. W przypadku olejów roślinnych jako źródła skażenia produktu wymienia się: bezpośrednie suszenie materiału roślinnego dymem, jak również użycie zanieczyszczonych rozpuszczalników do ekstrakcji, natomiast w mniejszym stopniu zanieczyszczenia atmosferyczne materiału roślinnego czy też zanieczyszczenia pobierane przez rośliny z gleby. Wykazano, że oleje tłoczone zawierają znacznie więcej WWA od olejów poddanych procesowi rafinacji. Zabiegi technologiczne, takie jak bielenie (dodatek węgla aktywnego) oraz rafinacja zmniejszają zawartość zanieczyszczeń, w tym WWA. Zabieg dezodoryzacji redukuje tzw. lekkie WWA, natomiast na skutek bielenia zmniejszeniu ulega zawartość tzw. ciężkich WWA [5, 18, 38]. Ciecierska i Obiedziński [5] w wyniku przeprowadzonych badań stwierdzili, że oliwa z wytlóków oliwnych typu Pomace może stanowić istotne źródło pobierania WWA z żywnością. Wśród zbadanych olejów (tłoczone, rafinowane) oraz oliw z oliwek, największą zawartość benzo(a)pirenu – 61 µg/kg – oznaczono w oliwie z wytlóków oliwnych typu Pomace. Zawartość ta 30-krotnie przekraczała dopuszczalne limity, natomiast suma 15 WWA wyniosła ponad 230 µg/kg. Według badaczy duża ilość tego związku w oliwie typu Pomace to wynik zastosowanego procesu produkcyjnego, podczas którego redukowana jest zawartość wody w miazdze przed procesem ekstrakcji oleju, a więc ilość ta jest wynikiem bezprzeponowego suszenia miazgi jako zabiegu wstępnego do pozyskania pozostałej oliwy [5]. Również po przeprowadzeniu badań suplementów diety przez Food and Consumer Product Safety Authority (VWA) w Holandii stwierdzono, że zawartość benzo(a)pirenu w ponad 30 % przebadanych próbek zawierających w swoim składzie surowe oleje przekracza obowiązujące wymagania prawne [37].

Starski i Jędra [35] zaobserwowali, że istnieją różnice zawartości WWA w olejach wytwarzanych przez różnych producentów, co może wynikać z rejonizacji upraw rzepaku dostarczanego do zakładów tłuszczowych. Oznaczone zanieczyszczenie krajowych olejów rzepakowych sumą węglowodorów – benzo(a)pirenu, benzo(a)antracenu, benzo(b)fluoroantenu i chryzenu było zbliżone do średniego poziomu tych zanieczyszczeń występujących w tłuszczach i olejach badanych w krajach UE. Stwierdzono również istnienie zależności między zawartością benzo(a)pirenu a łączną zawartością 4 WWA – wraz ze wzrostem zawartości benzo(a)pirenu w próbkach olejów obserwowano wzrost zawartości sumy 4 WWA [35].

Jesionek i wsp. [13] przeprowadzili badania tłuszczu surowego oraz smażonego (masło extra, smalec oraz mieszanina masła z margaryną). W tłuszczu uważanym powszechnie za mniej wartościowy pod względem żywieniowym (smalec) stwierdzono najmniejszą zawartość związków z grupy WWA, co potwierdzają również badania przeprowadzone przez Znamirovską i wsp. [14].

W przypadku przetworów rybnych wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne mogą znajdować się w produkcie na skutek użycia ryb z zanieczyszczonych akwenów oraz/lub w wyniku przeprowadzonych procesów przetwórczych – zwłaszcza wędzenia. Ciemniak i Witczak [8] przeprowadzili badanie zawartości 23 WWA w konserwach ze szprota w oleju. Sprawdzono poziom WWA w próbkach otrzymanych na bazie szprota wędzonego oraz parowanego. Oznaczono zawartość poliarenow w oleju i mięsie ryb (cała tuszka, skóra, mięso) bezpośrednio po wyprodukowaniu oraz po przechowywaniu przez 4 tygodnie w temperaturze pokojowej. Autorzy wykazali, że w czasie przechowywania doszło do migracji WWA ze szprota wędzonego do oleju, natomiast w przypadku konserw ze szprota parowanego (surowiec zawierał śladowe ilości WWA) zaobserwowano odmienną tendencję. Stężenie B(a)P w mięsie szprota wędzonego nie przekraczało dopuszczalnych limitów, jednak w przypadku spożywania przez konsumentów ryby wędzonej wraz ze skórą, co jest dość powszechnym zwyczajem ze względu na niewielkie rozmiary szprotek, spożywane mogą być ilości poliarenow przekraczające najwyższe dopuszczalne poziomy (w zależności od stopnia zanieczyszczenia wędzonego produktu wyjściowego). Zauważono również, że w zalewach olejowych pochodzących z konserwy ryby wędzonej dochodzi do wielokrotnego przekroczenia dopuszczalnych ilości B(a)P [8].

W wyrobach mięsnych wędzonych metodami tradycyjnymi zawartość WWA w produkcie gotowym zależy od gatunku i wilgotności drewna, temperatury spalania oraz utleniania, sposobu przepływu dymu przez komorę oraz czasu i sposobu wędzenia, a także stopnia obsuszenia wyrobów. Zaobserwowano, że zawartość tłuszczu w wyrobie oraz rodzaj wędliny (grubość i skład surowcowy) w znacznym stopniu wpływają na zawartość WWA w wyrobie gotowym. W wędlinach drobiowych stwierdzano mniejsze zawartości B(a)P i sumy 4 WWA niż w wędlinach wieprzowych. Za-

obserwowano, że im większa jest powierzchnia wędzonego wyrobu przy małej masie (np. kabanosy), tym większa jest zawartość badanych poliarenow – zarówno B(a)P (do 9,1 µg/kg) i sumy 4WWA (do 70 µg/kg) [20]. W ramach przeprowadzonych urzędowych kontroli wędzonego mięsa i ryb w Szwecji wykazano, że w wyniku wędzenia wyrobów bezpośrednio nad paleniskiem występowały w nich większe zawartości benzo(a)pirenu niż w przypadku wędzenia techniką pośrednią, z zastosowaniem zewnętrznego dymogeneratora [42].

Przetwory zbożowe zawierają niewielkie ilości poliarenow, ale ze względu na ich duże spożycie szacuje się, że dostarczają one od ok. 30 ÷ 35 % do nawet 52,9 % sumarycznego dziennego pobrania z żywnością WWA uznanych za indikator potencjału kancerogennego [40]. Ciemniak i Chraćol [7] przeprowadzili badania zbożowych produktów śniadaniowych (musli, płatki kukurydziane, jęczmienne, i owsiane, crunchy) oraz różnych rodzajów chleba. Zawartość 16 WWA kształtowała się na poziomie 4,2 ÷ 169 µg/kg, wyjątek stanowiły zbyt silnie wypieczone, przypalone fragmenty chleba, w których zawartość sumy 16 WWA wynosiła 1793 µg/kg [7].

Wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne wykrywane są również w herbatach oraz w ich naparach. Szczególnie wysokie wartości stwierdzono w herbatach, które w trakcie procesu technologicznego poddawane są prażeniu lub wędzeniu, w herbatach czarnych lub niektórych gatunkach herbat zielonych [6]. Analiza zanieczyszczenia kaw naturalnych poliarenowi dowodzi, że ich ilość może być uzależniona od stopnia zanieczyszczenia środowiska, od sposobu suszenia ziarna po zbiorach a także od parametrów procesu prażenia kawy [3].

W nasionach fasoli, grochu i bobu, zakupionych w krajowych przedsiębiorstwach nasiennych, oznaczono zawartość 15 związków z grupy WWA. W większości badanych nasion roślin strączkowych stwierdzono obecność WWA w zróżnicowanych ilościach. Duże różnice zawartości WWA w poszczególnych odmianach fasoli (od 34 ÷ 89 µg/kg w nasionach odmiany ‘Madera’ do 160,47 µg/kg w odmianie ‘Polka’), grochu (od 65,33 µg/kg w nasionach odmiany ‘Jowisz’ do 97,42 µg/kg w odmianie ‘Cud Kelwedonu’) oraz bobu (od 78,19 µg/kg w nasionach odmiany ‘Jankiel Biały’ do 189,34 µg/kg w odmianie ‘Hangdown Biały’) [1]. Warzywa i owoce uprawiane w rejonach zurbanizowanych i uprzemysłowionych zawierają więcej WWA niż te uprawiane w rejonach czystych ekologicznie. WWA atmosferyczne, występujące w fazie gazowej oraz zaadsorbowane na powierzchni pyłów, osiadają na powierzchni roślin i rozpuszczają się w woskowej kutikuli pokrywającej ich powierzchnię. Wieczorek i Wieczorek [40] stwierdzili, że poza produktami zbożowymi i olejami roślinnymi pozostałe produkty pochodzenia roślinnego w niewielkim stopniu wpływają na wielkość pobrania kancerogennych WWA z żywnością. Warzywa badane po umyciu i obraniu wносиły do dziennej porcji żywności 0,20 µg kancerogennych WWA (6,6 %),

w tym B(a)P – 0,021 µg, natomiast największy ich udział zaobserwowano w grupie tzw. warzyw pozostałych (w tym w warzywach liściowych).

Bardzo ważna jest kontrola jakości produktów przeznaczonych dla niemowląt i małych dzieci ze względu na szczególną wrażliwość tej grupy konsumentów. W badaniach mleka początkowego i następnego dla niemowląt Ciecierska i Obiedziński [4] stwierdzili, że 4 związki z grupy „lekkich” WWA według EPA stanowiły 100 % sumarycznej zawartości poliarenow, natomiast w żywności dla małych dzieci (obiady i zupki) występowały niewielkie ilości chryzenu, 5-metylochryzenu, benzo(b)fluoroantenu, benzo(k)fluoroantenu, benzo(a)pirenu oraz śladowe ilości benzo(a)antracenu. W żadnej z analizowanych próbek nie został przekroczony najwyższy dopuszczalny poziom benzo(a)pirenu [4]. Natomiast w mleku w proszku pochodzącym z Argentyny i Brazylii ustalono przekroczenie dopuszczalnego w UE poziomu sumy 4 WWA w 65 % przebadanych próbek [12].

W raporcie opublikowanym przez EFSA zestawiono wyniki analiz wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych wykonane przez 17 państw członkowskich, obejmujące prawie 10 tysięcy próbek środków spożywczych z różnych kategorii [10]. W 13,4 % próbek stwierdzono zawartość benzo(a)pirenu powyżej 1 µg/kg, natomiast w 2,3 % próbek – powyżej 10 µg/kg. Poziom B(a)P przekraczający 10 µg/kg oznaczono w próbkach konserw rybnych, owoców morza, w tłuszczach roślinnych (łącznie z masłem kakaowym), w mięsie poddanym obróbce termicznej, suplementach diety, herbacie, kawie oraz ziołach i przyprawach. W przypadku pozostałych 14 priorytetowych WWA i benzo(c)fluorenu średnia zawartość oznaczanych związków wynosiła w granicach od 0,08 µg/kg (dibenzo[a,h]piren) do 3,23 µg/kg (chryzen). Maksymalny poziom benzo(a)antracenu – 1064 µg/kg – oznaczono w próbce szprotek w oleju w konserwie, natomiast w próbce suplementu diety oznaczono 690 µg/kg benzo(b)fluorantenu [10].

Z raportu ekspertów FAO/WHO dotyczącego oceny niektórych zanieczyszczeń występujących w żywności, w tym oceny szacunkowego spożycia żywności zanieczyszczonej wielopierścieniowymi węglowodorami aromatycznymi, wynika, że głównymi czynnikami przyczyniającymi się do spożycia WWA (ze względu na wielkość spożycia) są zboża i produkty zbożowe oraz tłuszcze i oleje roślinne (z uwagi na większą zawartość WWA w tej grupie żywności) [39]. Największą zawartość benzo(a)antracenu, benzo(b)fluorantenu, benzo(a)pirenu i chryzenu oznaczono w mięsie i produktach mięsnych poddanych obróbce termicznej (tab. 2).

Tabela 2. Zakres zawartości WWA w wybranych grupach środków spożywczych [$\mu\text{g}/\text{kg}$]Table 2. Range of PAH concentrations in selected groups of foodstuffs [$\mu\text{g}/\text{kg}$]

WWA PAH	Mięso i produkty mięsne Meat and meat products (a)	Ryby i owoce morza Fish and seafood (a)	Oleje I tłuszcze Oils and fats	Warzywa Vegetables	Zboża i produkty zbożowe Cereal and cereal products (b)
BaP	ND - 212	ND - 173	ND - 164	ND - 25	ND - 5,4
BaA	ND - 144	ND - 86	ND - 79	0,05 - 15	0,03 - 4,2
BbFA (c)	ND - 197	ND - 134	ND - 91	ND - 28,7	0,03 - 1,3
CHR (d)	ND - 140	ND - 49	ND - 76	ND - 62	ND - 2,8

Objaśnienia / Explanatory notes:

BaP – benzo(a)piren / benzo(a)pyrene; BaA – benzo(a)antracen / benzo(a)anthracene; BbFA – benzo(b)fluoranten / benzo(b)fluoranthene; CHR – chryzen / chrysene; (a) – obejmuje żywność grillowaną, wędzoną oraz wędzoną z dodatkiem preparatów dymu wędzarniczego / includes grilled and smoked foods and smoke flavouring food additives; (b) – obejmuje herbatniki, chleb, otręby i płatki śniadaniowe / includes biscuits, bread, bran, and breakfast cereals; (c) – w niektórych publikacjach raportowany jako suma z benzo(j + b + k)fluorantenu / reported as a total of benzo(j + b + k)fluoranthenes in some publications; (d) – w niektórych publikacjach raportowany łącznie z trifenylenem / reported inclusive triphenylene in some publications; ND – nie wykryto / not detected.

Źródło: [39] / Source: [39]

Aspekty metodyczne oznaczania zawartości WWA

Oznaczenie zawartości wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych wykonuje się w żywności głównie metodami chromatografii cieczowej lub gazowej. Zależnie od rodzaju wykrywanych związków używa się detektorów uniwersalnych i selektywnych. W celu ilościowego oznaczania poliarenów laboratoria europejskie stosują: wysokosprawną chromatografię cieczową z detekcją fluorescencyjną (HPLC-FLD lub HPLC-FLD/UV), chromatografię gazową w sprzężeniu ze spektrometrią mas (GC/MS, GC-MS/MS, GC-TOFMS) lub dwuwymiarową chromatografię gazową z detektorem mas (GCxGC-MS) [15, 36]. Bardzo ważnym etapem procesu analitycznego jest ekstrakcja analitu z matrycy. Możliwa jest ekstrakcja ciecz-ciecz, ekstrakcja do fazy stałej lub w stanie nadkrytycznym. Większość próbek (oprócz tłuszczów) poddaje się alkalicznej hydrolizie (zmydlanie estrów kwasów tłuszczowych), a WWA ekstrahuje się rozpuszczalnikiem organicznym niepolarnym (np. cykloheksanem lub cykloheksanem/DCM). Wiele laboratoriów prowadzi ekstrakcję techniką Soxhleta lub metodą QuEChERS (wytrząsanie z wodą i mieszaniną odpowiednich rozpuszczalników oraz soli). Do oczyszczania ekstraktów stosuje się najczęściej kolumny chromatograficzne z odpowiednim wypełnieniem (np. z tlenkiem

glinu) lub ekstrakcję do fazy stałej SPE (*Solid Phase Extraction*), kolumny C18 i silica żel [8, 22, 23, 36]. Oczyszczanie próbek może być prowadzone przy użyciu chromatografii GPC-SEC – niskociśnieniowej chromatografii z zastosowaniem kolumn szklanych/stalowych, gotowych lub samodzielnie wypełnianych. Innymi technikami służącymi do oczyszczania próbek są techniki sprzężone SPE-HPLC lub DACC-HPLC. Europejskie Laboratorium Referencyjne nie planuje przeprowadzenia harmonizacji metod oznaczania WWA [36]. Zarówno metody chromatografii cieczowej (zdecydowanie powszechniejsze, wystarczające do kontroli związków limitowanych prawem UE), jak i metody chromatografii gazowej (bardziej powszechne w pracach naukowych w przypadku oznaczania różnego rodzaju związków) są odpowiednie do oznaczania wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych, jeśli spełniają wymogi zawarte w Rozporządzeniu Komisji (UE) nr 836/2011 [31]. Ważnymi czynnikami, które mają wpływ na wynik analizy są: reprezentatywny pobór próbki do badań, odpowiednie przygotowanie szkła laboratoryjnego, walidacja metody dla badanej matrycy, potwierdzanie kompetencji poprzez stosowanie odpowiednich materiałów odniesienia oraz udział w badaniach biegłości [24, 31].

Podsumowanie

Najwyższe dopuszczalne poziomy wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych w środkach spożywczych (oleje roślinne, w tym olej kokosowy i tłuszcze, wędzone mięso i przetwory mięsne, ryby i produkty rybołówstwa, małe oraz żywność dla niemowląt i małych dzieci, ziarno kakaowe i produkty pochodne) reguluje Rozporządzenie Komisji (UE) nr 835/2011 z 19.08.2011 r. oraz nr 1327/2014 z 12 grudnia 2014 r. W ostatnich ocenach rozważano konieczność limitowania zawartości WWA w produktach, takich jak: herbata i kawa, zboża i środki spożywcze wytwarzane na bazie zbóż oraz warzywa. Poziomy zanieczyszczenia tej żywności będą monitorowane i w przyszłości mogą być wprowadzone limity do obowiązujących aktów prawnych. Komisja Europejska uważa, że system taki gwarantuje utrzymanie zawartości WWA w żywności na poziomie niezagrażającym zdrowiu konsumentów oraz umożliwi kontrolę w próbkach, w których nie jest obecny benzo(a)piren, a które zawierają inne wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne. W związku z brakiem progowej dawki dla substancji genotoksycznych zawartości WWA muszą być określone na najniższym możliwym do osiągnięcia poziomie – zgodnie z zasadą ALARA (ang. *As Low As Reasonably Achievable*), z zastosowaniem dobrych praktyk produkcyjnych. Dlatego tak ważne jest stałe monitorowanie zanieczyszczeń występujących w środkach spożywczych, opracowywanie sposobów ograniczania powstawania WWA w żywności i w środowisku poprzez współpracę producentów z przedstawicielami inspekcji kontrolujących bezpieczeństwo żywności oraz z instytucjami naukowymi.

Literatura

- [1] Bałdyga B., Borejszo Z., Wieczorek J., Dymkowska-Malesa M., Smoczyński S.: Wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne w nasionach fasoli, grochu i bobu z krajowego rynku w latach 1999-2002. Rocz. PZH, 2005, **56** (1), 83-90.
- [2] Ciecierska M., Obiedziński M.: Influence of smoking process on polycyclic aromatic hydrocarbons' content in meat products. Acta Sci. Pol., Technol. Aliment., 2007, **6** (4), 17-28.
- [3] Ciecierska M., Obiedziński M.: Oznaczenie zawartości wielopierścieniowych węglodorów aromatycznych w kawach naturalnych palonych metodą HPLC-FLD/DAD. Bromat. Chem. Toksykol., 2011, **XLIV** (3), 732-737.
- [4] Ciecierska M., Obiedziński M.: Występowanie WWA w preparatach do początkowego i dalszego żywienia niemowląt oraz w żywności dla małych dzieci w odniesieniu do wymagań prawa żywnościowego Unii Europejskiej. Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 2009, **1** (62), 37-45.
- [5] Ciecierska M., Obiedziński M.: Zanieczyszczenie olejów roślinnych wielopierścieniowymi węglodorami aromatycznymi. Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 2006, **2** (47) Supl., 48-55.
- [6] Ciemniak A., Mocek K.: Wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne w herbatach i ich naparach. Rocz. PZH, 2010, **61** (3), 243-248.
- [7] Ciemniak A., Chraćol L.: Wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne (WWA) w zbożowych produktach śniadaniowych. Rocz. PZH, 2008, **59** (3), 301-307.
- [8] Ciemniak A., Witczak A.: Zmiany zawartości wielopierścieniowych węglodorów aromatycznych (WWA) podczas przechowywania konserw ze szprota w oleju. Bromat. Chem. Toksykol., 2010, **XLIII** (1), 86-92.
- [9] European Food Safety Authority: Polycyclic aromatic hydrocarbons in food. Scientific opinion of the panel on contaminants in the food chain (Question N° EFSA-Q-2007-136). The EFSA Journal, 2008, **724**, 1-114.
- [10] European Food Safety Authority: Findings of the EFSA Data Collection on Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Food. [on line]. Dostęp w Internecie [15.04.2015]: <http://www.efsa.europa.eu/en/scdocs/doc/33r.pdf>
- [11] Fismes J., Perrin-Ganier C., Empereur-Bissonnet P., Morel J.L.: Soil-to-root transfer and translocation of polycyclic aromatic hydrocarbons by vegetables grown on industrial contaminated soils. J. Environ. Qual., 2002, **31** (5), 1649-56.
- [12] Garcia Londoño V., Garcia L., Scussel V., Resnik S.: Polycyclic aromatic hydrocarbons in milk powders marketed in Argentina and Brazil. Food Addit. Contam., 2013, **30** (9), 1573-1580.
- [13] Jesionek M., Odzimek J., Wlazło A.: Badanie obecności wielopierścieniowych węglodorów aromatycznych w tłuszczach po procesie smażenia. Proceedings of ECOpole, 2007, **1** (1/2), 147-151.
- [14] Johnsson G., Bechmann R.K., Bamber S.D., Baussant T.: Bioconcentration, biotransformation, and elimination of polycyclic aromatic hydrocarbons in sheepshead minnows (*Cyprinodon variegatus*) exposed to contaminated seawater. Environ. Toxicol. Chem., 2004, **23** (6), 1538-1548.
- [15] Juszcak L.: Chemiczne zanieczyszczenia żywności i metody ich oznaczania – cz. II. Laboratorium – Przegląd Ogólnopolski, 2008, **4**, 28-31.
- [16] Kubiak M.S.: Wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne (WWA) – ich występowanie w środowisku i w żywności. Prob. Hig. Epidemiol., 2013, **94** (1), 31-36.
- [17] Kuna P.: Zanieczyszczenie wybranych komponentów środowiska przez wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne (WWA) w Dąbrowie Górniczej. Nauka Przyr. Technol., 2011, **5** (4), #38, 1-9.
- [18] Lage Yusty M.A., Cortizo Daviña J.L.: Supercritical fluid extraction and high-performance liquid chromatography-fluorescence detection method for PAHs investigation in vegetable oils. Food Cont., 2005, **16**, 59-64.
- [19] McGrath T.E., Chan W.G., Hajaligol R.: Low temperature mechanism for the formation of polycyclic aromatic hydrocarbons from the pyrolysis of cellulose. J. Anal. Appl. Pyrolysis, 2003, **66**, 51-57.


- [20] Migdał W., Dudek R., Kapinos F., Kluska W.: Wędliny wędzone tradycyjnie – zawartość wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych (WWA). W: Właściwości produktów i surowców żywnościowych. Wybrane zagadnienia. Red. T. Tarko, A. Duda-Chodak, M. Witzczak, D. Najgebauer-Lejko, Oddz. Małopolski PTTŻ, Kraków 2014, ss. 75-87.
- [21] Nowak A., Libudzisz Z.: Karcynogeny w przewodzie pokarmowym człowieka. Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 2008, **4 (59)**, 9-25.
- [22] PN-EN ISO 15302:2010. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Oznaczanie benzo[a]pirenu. Metoda wysokosprawnej chromatografii cieczowej z odwróconą fazą.
- [23] PN-EN ISO 15753:2016-05. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Oznaczanie wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych.
- [24] PN-EN ISO/IEC 17025:2005 Ogólne wymagania dotyczące kompetencji laboratoriów badawczych i wzorujących.
- [25] Polanska K., Dettbarn G., Jurewicz J., Sobala W., Magnus P., Seidel A., Hanke W.: Effect of prenatal polycyclic aromatic hydrocarbons exposure on birth outcomes: the Polish mother and child cohort study. *Biomed. Res. Int.*, 2014, Article ID:408939.
- [26] Rozporządzenie (WE) Nr 2065/2003 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 10 listopada 2003 w sprawie środków aromatyzujących dymu wędzarniczego używanych lub przeznaczonych do użycia w środkach spożywczych lub na ich powierzchni. *Dz. Urz. UE L 309*, s. 1, z dn. 26.11.2003.
- [27] Rozporządzenie Komisji (UE) Nr 1327/2014 z dnia 12 grudnia 2014 r. zmieniające rozporządzenie (WE) nr 1881/2006 w odniesieniu do najwyższych dopuszczalnych poziomów wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych (WWA) w mięsie wędzonym tradycyjnie i produktach mięsnych wędzonych tradycyjnie oraz w rybach i produktach rybołówstwa wędzonych tradycyjnie. *Dz. Urz. UE L 358*, s.13, z dn. 13.12.2014.
- [28] Rozporządzenie Komisji (WE) Nr 1881/2006 z dnia 19 grudnia 2006 r. ustalające najwyższe dopuszczalne poziomy niektórych zanieczyszczeń w środkach spożywczych. *Dz. Urz. UE L 364*, s. 5, z dnia 20.12.2006 z późn. zm.
- [29] Rozporządzenie Komisji (WE) Nr 208/2005 z dnia 4 lutego 2005 r. zmieniające rozporządzenie (WE) nr 466/2001 w odniesieniu do wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych. *Dz. Urz. UE L 34*, s. 3, z dn. 8.02.2005.
- [30] Rozporządzenie Komisji (WE) Nr 835/2011 z dnia 19 sierpnia 2011 r. zmieniające rozporządzenie (WE) nr 1881/2006 odnośnie do najwyższych dopuszczalnych poziomów wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych w środkach spożywczych. *Dz. Urz. UE L 215*, s.4, z dn. 20.08.2011.
- [31] Rozporządzenie Komisji (WE) Nr 836/2011 z dnia 19 sierpnia 2011 r. zmieniające rozporządzenie Nr 333/2007 z dnia 28 marca 2007 r. ustanawiające metody pobierania próbek i metody analiz do celów urzędowej kontroli poziomów ołowiu, kadmu, rtęci, cyny nieorganicznej, 3-MCPD i benzo[a]pirenu w środkach spożywczych. *Dz. Urz. UE L 215*, s. 9, z dn. 20.08.2011.
- [32] Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 15 grudnia 2014 r. w sprawie wymagań weterynaryjnych przy produkcji produktów mięsnych wędzonych w odniesieniu do najwyższych dopuszczalnych poziomów zanieczyszczeń wielopierścieniowymi węglowodorami aromatycznymi (WWA). *Dz. U.* 2014 r., poz. 1845.
- [33] Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 13 listopada 2015 r. w sprawie jakości wody przeznaczonej do spożycia przez ludzi. *Dz. U.* 2015, poz. 1989.
- [34] Samsoe-Petersen L., Larsen E.H., Larsen P.B., Bruun P.: Uptake of trace elements and PAHs by fruit and vegetables from contaminated soils. *Environ. Sci. Technol.*, 2002, **36 (14)**, 3057-3063.
- [35] Starski A., Jędra M.: Ocena zawartości wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych (WWA) w oleju rzepakowym produkowanym w Polsce. *Bromat. Chem. Toksykol.*, 2011, **XLIV (4)**, 1054-1060.
- [36] Starski A.: Działalność Krajowego Laboratorium Referencyjnego ds. wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych w żywności. Spotkanie Krajowego Laboratorium Referencyjnego z Laboratoriami Państwowej Inspekcji Sanitarnej, Warszawa 2014.
- [37] Van Der Wielen J.C., Jansen J.T., Martena M.J., De Groot H.N., In't Veld P.H.: Determination of the level of benzo[a]pyrene in fatty foods and food supplements. *Food Addit. Contam.*, 2006, **23 (7)**, 709-714.

- [38] Węgrzyn E., Grześkiewicz S., Popławska W., Głód B.K.: Udoskonalona metoda oznaczania ośmiu WWA w olejach jadalnych przy zastosowaniu RP-HPLC-FLD oraz preparatywnej SEC. *Acta Chromatogr.*, 2005, 11.
- [39] World Health Organization Technical Report Series, 930: Evaluation of certain food contaminants. Sixty-fourth report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives, Genewa 2006.
- [40] Wieczorek J., Wieczorek Z.: Pobranie wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych z żywnością. *Bromat. Chem. Toksykol.*, 2011, **XLIV** (3), 725-731.
- [41] World Health Organization, International Agency for Research on Cancer: IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Some Non-heterocyclic Polycyclic Aromatic Hydrocarbons and Some Related Exposures. IARC Lyon 2010, 92.
- [42] Wretling S., Eriksson A., Eskhult G.A., Larsson B.: Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in Swedish smoked meat and fish. *J. Food Compos. Anal.*, 2010, **23**(3), 264-272.
- [43] Zalecenie Komisji Nr 2005/108/WE z dnia 4 lutego 2005 r. w sprawie dalszego badania poziomów wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych w niektórych środkach spożywczych. *Dz. Urz. UE L 34*, s. 43 z 8.02.2005.
- [44] Zasadowski A., Wysocki A.: Niektóre aspekty toksycznego działania WWA. *Roczn. PZH*, 2002, **53**, 1.
- [45] Znamirowska A., Zachara A., Jarzyna M., Rudy M., Duma P.: Benzo(a)piren w wędzonych produktach mięsnych i smalcu. *Postępy Nauki Technol. Przem. Rolno-Spoż.*, 2011, **1**, 137-140.

CONTAMINATION OF FOOD WITH POLYCYCLIC AROMATIC HYDROCARBONS – LEGAL REQUIREMENTS AND MONITORING

S u m m a r y

Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) commonly occur in the environment, and the development of civilization and technology causes the exposure of man to those contaminants to increase. PAHs are chemically stable compounds with strong lipophilic properties. The amount of benzene rings, which PAHs may contain, is between two and several tens; those benzene rings are bound to one another and this determines their differentiated physical-chemical and toxic properties. PAHs are compounds with proven mutagenic and carcinogenic effects. In the paper, the issues were discussed that related to the formation and properties of polycyclic aromatic hydrocarbons. Particular attention was paid to the results of tests for PAHs in food and to changes in the legal requirements in force. Many researchers have reported the presence of PAHs in meat and fish products subjected to heat treatment (smoking, frying, grilling), cereal products, seafood, vegetable and animal fats, vegetables, legumes as well as foods for infants and young children, diet supplements, tea and coffee. In food, polycyclic aromatic hydrocarbons are determined using, principally, liquid or gas chromatography and applying test methods that meet the criteria set out in Commission Regulation (EU) No 836/2011. According to the assessment by the European Commission, it is indispensable to monitor PAHs in foods for the purpose of permanent risk control.

Key words: polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs), benzo(a)pyrene (B(a)P), food contaminants, carcinogens 

ELIZA WOLSKA, MAGDALENA BONIECKA, MAŁGORZATA SZNITOWSKA

SUPERDEZINTEGRANTY – SUBSTANCJE POMOCNICZE W SUPLEMENTACH DIETY W POSTACI TABLETEK

Streszczenie

Wśród środków spożywczych wyróżnia się suplementy diety, które produkowane są m.in. w postaci tabletek. Za jedną z najważniejszych substancji pomocniczych w takiej postaci uznaje się substancje rozsadzające, warunkujące rozpad tabletek w przewodzie pokarmowym i uwolnienie substancji aktywnych. Tradycyjne substancje rozsadzające stosowane w tabletkach to np. skrobia, hydrofilowe pochodne celulozy czy pektyny.

Celem niniejszej pracy była charakterystyka substancji rozsadzających, tzw. superdezintegrantów, jak np. kroskarmeloza, krospowidon czy glikolan sodowy skrobi. Użycie superdezintegrantów pozwala uzyskać tabletki, które bardzo szybko rozpadają się w żołądku, uwalniając substancję aktywną w krótkim czasie. Mechanizm działania superdezintegrantów jest złożony i może polegać na pęcznieniu cząstek, odzyskiwaniu pierwotnego kształtu po sprasowaniu, egzotermicznych reakcjach zwilżania czy działaniu sił kapilarnych.

W artykule, poza właściwościami stosowanych polimerów i mechanizmami ich działania omówiono także sposoby wprowadzania superdezintegrantów do tabletek (przed lub/i po granulacji). Uwzględniono również status prawny charakteryzowanych substancji pomocniczych na podstawie ustawy o bezpieczeństwie żywności i żywienia oraz wymagań obowiązującej Farmakopei.

Słowa kluczowe: superdezintegranty, kroskarmeloza, krospowidon, skrobia, suplementy diety, tabletki

Wprowadzenie

Zgodnie z definicją zawartą w ustawie o bezpieczeństwie żywności i żywienia [28] suplement diety to środek spożywczy, którego celem jest uzupełnienie normalnej diety, będący skoncentrowanym źródłem witamin lub składników mineralnych lub innych substancji wykazujących efekt odżywczy lub inny fizjologiczny, pojedynczych lub złożonych, wprowadzany do obrotu w formie umożliwiającej dawkowanie, w po-

Dr E. Wolska, mgr M. Boniecka, prof. dr hab. M. Sznitowska, Katedra i Zakład Farmacji Stosowanej, Wydz. Farmaceutyczny z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej, Gdański Uniwersytet Medyczny, al. Gen. J. Hallera 107, 80-416 Gdańsk. Kontakt: eliw@gumed.edu.pl

staci: kapsulek, tabletek, drażetek i w innych podobnych postaciach, (...) z wyłączeniem produktów posiadających właściwości produktu leczniczego w rozumieniu przepisów prawa farmaceutycznego.

Suplementy diety są więc szczególnym rodzajem środków spożywczych. Ich liczba, jak i częstotliwość stosowania w ciągu ostatnich lat znacząco wzrosły. Wynika to z wdrażanych programów suplementacji w poszczególnych krajach dla różnych populacji oraz indywidualnego, powszechnego stosowania suplementów diety. Przyczynami tego zjawiska są zarówno różnorodność substancji w składzie suplementów diety (poza witaminami i składnikami mineralnymi także aminokwasy, enzymy, probiotyki, nienasycone kwasy tłuszczowe, substancje bioaktywne otrzymywane z surowców roślinnych i inne), jak również powszechna ich dostępność [11].

Formy suplementów diety są takie same jak produktów leczniczych, pomimo że różnice w wymaganiach „rejestracyjnych” oraz we wskazaniach są bardzo duże. Obowiązujące prawo jednoznacznie wskazuje, że preparat o właściwościach produktu leczniczego w rozumieniu przepisów prawa farmaceutycznego nie może być kwalifikowany jako suplement diety. Mimo to pod względem technologicznym produkcja suplementów diety, np. w postaci tabletek lub kapsulek, przebiega tak samo jak produkcja tych form jako produktów leczniczych. Nie różni ich ani skład substancji pomocniczych potrzebnych do otrzymania końcowej formy produktów ani procesy produkcyjne. W skład tabletek, niezależnie od ich kwalifikacji, wchodzi takie substancje pomocnicze jak: wypełniające (np. laktoza, celuloza mikrokrystaliczna), wiążące (np. skrobia, powidon), poślizgowe (np. stearynian magnezu). Poza tym w tabletkach i kapsułkach obecne są substancje rozsadzające. Ta grupa substancji pomocniczych wzbożona została w ostatnich latach o tzw. superdezintegranty – substancje o wyjątkowych właściwościach rozsadzających, dzięki którym tabletki lub kapsułki bardzo szybko rozpadają się w żołądku, uwalniając substancję aktywną w krótkim czasie. Ponadto dzięki takim substancjom można wytwarzać tabletki, które nie wymagają połknięcia w całości – rozpraszane są w wodzie przed użyciem lub stanowią tzw. tabletki szybko rozpadające się w jamie ustnej. W tym drugim przypadku można je przyjmować bez popijania wodą, gdyż w ciągu kilkunastu sekund dyspergują się w ślinie.

Przedmiotem niniejszego artykułu jest charakterystyka superdezintegrantów, nowoczesnych substancji pomocniczych. Właściwości superdezintegrantów, podobnie jak innych substancji pomocniczych, badane są przede wszystkim w odniesieniu do produktów leczniczych i z wyników takich badań korzystają wytwórcy suplementów diety.

Celem opracowania jest przegląd informacji na temat właściwości substancji, dzięki którym można modyfikować cechy suplementów diety w postaci tabletek lub kapsulek, tak by uzyskać lepsze wchłanianie substancji czynnych.

Substancje rozsadzające

Substancje rozsadzające są to związki lub ich mieszaniny ułatwiające w środowisku wodnym rozpad tabletki albo kapsułki na mniejsze cząstki, dzięki czemu następuje szybsze uwalnianie substancji czynnych w przewodzie pokarmowym niż w przypadku braku tych substancji w preparacie. Substancje rozsadzające wpływają więc na szybkość wchłaniania substancji aktywnych z przewodu pokarmowego do krwi, w efekcie decydując o ich biodostępności. Brak substancji rozsadzających lub ich niewłaściwy dobór może skutkować ograniczeniem skuteczności oddziaływania suplementu diety [13, 29].

Funkcję substancji rozsadzających pełnią polimery półsyntetyczne lub naturalne, powszechnie wykorzystywane np. jako substancje żelujące w różnych produktach spożywczych, takich jak: dżemy, galaretki, śmietany, produkty zbożowe, także produkty przeznaczone do żywienia dietetycznego w przypadku zaburzeń metabolizmu [18, 24]. Do substancji rozsadzających należą: różne rodzaje skrobi – ziemniaczana, kukurydziana czy pszenna (pszeniczna – zgodnie z nomenklaturą FP X), hydrofilowe pochodne celulozy (np. karboksymetyloceluloza), alginiany (kwas alginowy, alginian sodu) i pektyny [2]. W zależności od potrzeb właściwości tych substancji można modyfikować. Niekiedy wykorzystuje się połączenie dwóch lub więcej substancji rozsadzających. Ilość środka rozsadzającego najczęściej stanowi 2 ÷ 20 % masy tabletki [24].

Substancje rozsadzające, poza konwencjonalnymi tabletkami do połykania, wchodzi również w skład granulatów i wypełnienia twardych kapsułek żelatynowych. Rozwój nowoczesnych form podania substancji aktywnych nierzadko wymaga stosowania skuteczniejszych i szybciej działających substancji rozsadzających, tzw. superdezintegrantów. Są one szczególnie istotne w tabletkach do sporządzania roztworu i zawiesiny doustnej oraz w tabletkach szybko rozpuszczalnych/rozpadających się w jamie ustnej (*orodispersible tablets, ODT*) [5, 16], których czas rozpadu nie powinien przekroczyć 3 min (a według wytycznych FDA – *Food and Drug Administration* nawet 30 s). Krótki czas rozpadu to kluczowa cecha tych postaci. Najważniejszą rolę wśród substancji pomocniczych odgrywają substancje rozsadzające, dzięki którym uzyskuje się dobrą zwilżalność i szybki rozpad tabletki [5, 10].

Superdezintegranty

Nowe polimery używane jako superdezintegranty zapewniają skuteczniejszy rozpad tabletki niż polimery stosowane jako tradycyjne substancje rozsadzające. Są skuteczne w niższych stężeniach (już przy 1 % całkowitej masy tabletki), a jednocześnie nie zmniejszają wytrzymałości mechanicznej tabletek [10].

Superdezintegranty to substancje o doskonałych właściwościach absorpcyjnych (1 g absorbuje zwykle 10 ÷ 40 g wody). Są nierozpuszczalne w wodzie, jednak w kon-

takie z nią silnie pęcznieją [10, 25]. Superdezintegranty rozproszone w matrycy tabletki w kontakcie z wodą zwiększają swoją objętość i generują wysokie ciśnienie hydrostatyczne, prowadzące do natychmiastowego rozpadu („rozsadzenia”) całej tabletki [14, 15] – fot. 1. Do superdezintegrantów dopuszczonych do stosowania w tabletkach, a więc także w suplementach diety, należą: kroskarmeloza sodu, krospowidon i glikolan sodowy skrobi. Są to polimery półsyntetyczne, otrzymane metodą chemicznych modyfikacji struktury cząsteczek skrobi, celulozy i powidonu (poliwinylopirolidonu) [5 - 7, 18, 21, 26, 27].



Objaśnienia: Explanatory notes:

Skład tabletek: / Composition of tablets: superdezintegrant 2 % / superdisintegrant 2 % (A – glikolan sodowy skrobi / sodium starch glycolate, B – kroskarmeloza sodu / croscarmellose sodium, C – krospowidon / crospovidone, D – skrobia żelowana / pre-gelatinized starch), stearynian magnezu 0,5 % / magnesium stearate 0.5 %; laktoza 97,5 % / lactose 97.5 %.

Fot. 1. Porównanie rozpadu tabletek *placebo* z różnymi superdezintegrantami w ciągu 3 min po dodaniu wody

Photo 1. Comparing the disintegration of *placebo* tablets with various superdisintegrants 3 minutes after water was added

Do innych zalet superdezintegrantów należą: możliwość wykorzystania w tabletkowaniu bezpośrednim, poprawa prasowalności tabletek, zwiększona twardość i odporność tabletek na ścieranie, wysoka siła pęcznienia z minimalnym efektem wzrostu lepkości w porównaniu z klasycznymi substancjami rozsadzającymi (np. skrobią), brak nieprzyjemnego uczucia „ziarnistości” w ustach z uwagi na małe i porowate cząstki [9, 13, 14]. Oprócz odpowiedniej zdolności hydratacji i pęcznienia dobry środek rozsadzający musi charakteryzować się również: słabą rozpuszczalnością w wodzie, słabym

żelowaniem, dobrą zsypywalnością pożądaną w procesie tabletkowania, brakiem reakcji z substancjami aktywnymi i innymi substancjami pomocniczymi [3, 13, 16, 23].

Na działanie i wydajność superdezintegrantów wpływać będą: udział w tablecie, sposób wprowadzania do mieszaniny pozostałych składników podczas granulacji, siła kompresji podczas tabletkowania (twardość i porowatość tabletki), rodzaj pozostałych substancji obecnych w tablecie i ich hydrofobowość, obecność innych substancji rozsadzających, obecność środków powierzchniowo czynnych [12, 20, 23].

Do podstawowych ograniczeń superdezintegrantów jako substancji pomocniczych należą właściwości higroskopijne i anionowy charakter sprzyjający tworzeniu połączeń kompleksowych [29]. Spośród trzech najczęściej stosowanych superdezintegrantów (kroskarmeloza sodu, krospowidon i glikolan sodowy skrobi) tylko krospowidon (sieciowany poliwinylpirolidon) jest substancją niejonową, przez co nie oddziałuje z kationowymi substancjami czynnymi. Kroskarmeloza sodu i karboksymetylo-skrobias sodu to anionowe superdezintegranty, które mogą tworzyć kompleksy z kationowymi substancjami i spowalniać ich uwalnianie.

Wartość pH środowiska może mieć wpływ na siłę pęcznienia substancji rozsadzających [15]. W przypadku krospowidonu o charakterze niejonowym nie obserwuje się znaczącej zależności między zdolnością pęcznienia a pH. W przypadku kroskarmelozy sodu i glikolanu sodowego skrobi istotne różnice (zmniejszenie siły pęcznienia o 30 ÷ 60 %) obserwowane są zwłaszcza przy niskim pH (ok. 1,5).

Sposób wprowadzania superdezintegrantów do tabletek

Substancje rozsadzające mogą być wprowadzane do tabletek na różnych etapach procesu produkcyjnego. W przypadku tabletkowania bezpośredniego dodaje się je do mieszaniny zawierającej inne substancje pomocnicze i czynne [13].

W procesie tabletkowania granulatu istnieją 3 metody dodawania superdezintegrantów [13, 14, 23]:

- dodanie „wewnętrzne” (podczas granulacji) – mieszane są z innymi substancjami przed granulacją proszku, w wyniku czego wchodzi w skład ziaren granulatu,
- dodanie „zewnętrzne” (po granulacji) – dodawane są do utworzonego wcześniej granulatu, z którym miesza się je przed procesem tabletkowania,
- częściowe dodanie „wewnętrzne” i „zewnętrzne”, będące połączeniem powyższych metod.

Najkorzystniejszymi właściwościami charakteryzują się tabletki wytwarzane z zastosowaniem trzeciej metody, gdyż rozpadają się początkowo do ziaren granulatu, a następnie do jeszcze mniejszych cząstek, czego nie obserwuje się po „zewnętrznym” dodaniu superdezintegranta [14]. Wprowadzanie substancji rozsadzającej podczas gra-

nulacji na mokro naraża ją na wilgoć oraz zbyt wysoką temperaturę podczas suszenia, co może powodować spadek jej aktywności [13].

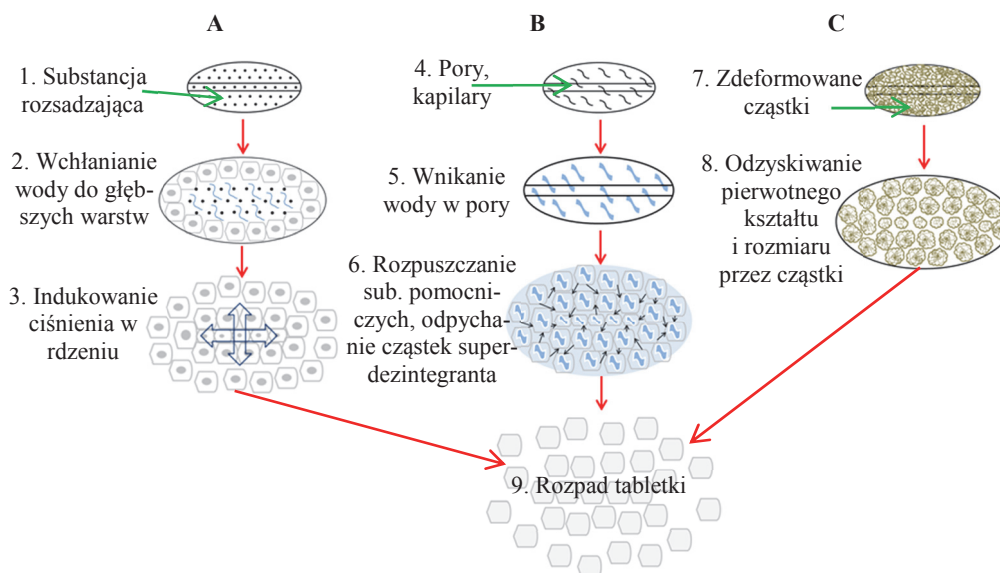
Mechanizm działania

Działanie superdezintegrantów polega głównie na interakcji z wodą oraz zmianach w ich strukturze, zachodzących dzięki tej interakcji. Rozpad tabletki następuje w wyniku pokonania sił kohezji utworzonych przez wiązania między cząstkami. Wśród licznych mechanizmów prowadzących do rozpadu tabletki wymienia się: pęcznienie cząstek substancji rozsadzających, egzotermiczną reakcję ich zwilżania, ułatwienie wnikania wody do tabletki na skutek porowatości i działania sił kapilarnych, siłę odpychania cząstek, odzyskiwanie pierwotnego kształtu sprzed deformacji wywołanej prasowaniem [9, 13, 14, 23, 25].

Działanie superdezintegrantów najczęściej tłumaczy się mechanizmem pęcznienia (które jest miarą zmiany objętości substancji rozsadzającej po umieszczeniu jej w wodzie i osiągnięciu stanu równowagi) z uwagi na to, że prawie wszystkie w pewnym stopniu pęcznią w kontakcie z wodą [9, 10]. Mechanizm rozpadu w wyniku pęcznienia, w porównaniu z innymi mechanizmami, przedstawiono na rys. 1.

Na skuteczność mechanizmu polegającego na pęcznieniu może mieć wpływ ilość wolnych przestrzeni w tabletkce, czyli porowatość tabletki oraz spoistość cząstek substancji [12, 20]. Przy zastosowaniu małych nacisków podczas tabletkowania oraz zbyt małych stężeń substancji rozsadzających, ze względu na stosunkowo dużą porowatość tabletki, superdezintegrant wypełni wolne przestrzenie, ale nie będzie dostatecznie „upakowany” i nie „rozepchnie” gwałtownie cząstek podczas pęcznienia, co będzie skutkowało stosunkowo wolnym rozpadem (słabe oddziaływanie sił pęcznienia na tabletkę). Z drugiej strony, przy zastosowaniu dużych nacisków prowadzących do powstania mało porowatej matrycy ograniczona zostanie penetracja wody do wnętrza matrycy, co też spowolni rozpad [29]. W takiej sytuacji tylko dobór substancji rozsadzającej i substancji pomocniczych o odpowiednich właściwościach (mała spoistość między cząstkami) zapewni szybki rozpad [12]. Wpływ porowatości i spoistości cząstek na czas rozpadu jest jeszcze bardziej wyraźny w przypadku polimerów, które wykazują tendencję do żelowania.

Rozpad tabletki pod wpływem działania superdezintegrantów może zachodzić także dzięki zwiększonej porowatości tabletki, co ułatwia wnikanie wody (rys. 1). Cząstki substancji rozsadzającej mają małą spójność, przez co same zwiększają porowatość i umożliwiają penetrację płynu do matrycy tabletki, co powoduje rozerwanie wiązań wewnątrzcząsteczkowych [13]. Absorpcja wody przez tabletkę zależy od hydrofilowości wszystkich substancji, a także od warunków procesu tabletkowania. Dzięki porowatości i niskiemu napięciu międzyfazowemu możliwe jest utworzenie hydrofilowej sieci wokół cząstek substancji aktywnej [14].



Explanatory notes:

1. Disintegrant; 2. Water absorption into the deeper layers; 3. Inducing the pressure in the core; 4. Pores, capillaries; 5. Water penetration into the pores; 6. Dissolution of the excipients, repulsion of particles of the superdisintegrant; 7. Deformed particles; 8. Regaining of original shape and size of particles; 9. Tablet disintegration

Rys. 1. Mechanizmy działania superdezintegrantów polegające na: A – pęcznieniu substancji rozsadzającej, B – porowatej strukturze i działaniu sił kapilarnych, C – odzyskiwaniu kształtu sprzed deformacji w czasie prasowania

Fig. 1. Mechanisms of action of disintegration involving: A – swelling of disintegrant; B – porosity and capillary forces, C –regaining of original shape of particles deformed during compression

Kolejnym mechanizmem, który tłumaczy działanie superdezintegrantów, jest siła odpychania cząstek. Przenikanie wody między ziarnami powoduje rozerwanie wiązań wodorowych, powstawanie cząstek z powierzchniowym ładunkiem elektrostatycznym i wzajemne ich odpychanie [14] – rys. 1.

W przypadku substancji rozsadzających wykazujących nieznaczne pęcznienie lub brak tej zdolności mechanizm rozpadu polega na rozprężaniu do kształtu sprzed deformacji wywołanej prasowaniem. W procesie tabletkowania cząstki superdezintegranta ulegają zniekształceniu, lecz dzięki swojej „elastyczności” wracają do pierwotnego kształtu po zwilżeniu, rozprężają się, zwiększają swoje rozmiary, co prowadzi do rozpadu tabletki [14] – rys. 1. Siła działania takiego superdezintegranta jest tym większa, im większej siły kompresji użyto podczas tabletkowania [13].

Obecnie uważa się, że działanie wielu superdezintegrantów nie polega tylko na jednym mechanizmie, ale jest rezultatem jednoczesnego występowania wymienionych wyżej głównych mechanizmów rozpadu [14, 25].

Charakterystyka polimerów stosowanych jako superdezintegranty

Zastosowanie nowych substancji dodatkowych i pomocniczych wiąże się z koniecznością przeprowadzania badań toksyczności substancji na zwierzętach i ustalenia bezpieczeństwa ich stosowania u ludzi, co jest procesem długotrwałym i bardzo kosztownym. Dlatego częstszym rozwiązaniem jest wykorzystywanie substancji otrzymanych na drodze modyfikacji dobrze znanych i stosowanych już substancji pomocniczych. W wyniku takiej modyfikacji polimerów celulozy, skrobi, czy poliwinylpirolidonu otrzymano superdezintegranty: kroskarmelozę sodu, skrobię żelowaną, karboksymetyloskrobię sodu i krospowidon.

Jeżeli substancje te mają być stosowane do produktów leczniczych, muszą spełniać wymagania jakościowe opisane w farmakopei. W Europie obowiązuje Farmakopea Europejska (Ph. Eur., [6]) opracowana przez Dyrektoriat ds. Jakości Leków, której tłumaczenie stanowi Farmakopea Polska (FP, [7]). Odpowiednikiem Farmakopei Europejskiej w Stanach Zjednoczonych jest Farmakopea Amerykańska (USP, [26]). Charakterystykę superdezintegrantów przedstawiono w tab. 1. Producent leków najczęściej wytwarza również suplementy diety w postaci tabletek, dlatego w obu liniach produktów stosowane są te same substancje pomocnicze, a więc odpowiadające wymaganiom farmakopealnym [6, 7, 26]. Wszystkie omawiane superdezintegranty należą również do wykazu FDA substancji pomocniczych (*Inactive Ingredients Database*) i są dopuszczone do stosowania doustnego jako substancje pomocnicze w tabletkach i kapsułkach.

Bezpieczeństwo stosowania substancji dodatkowych do żywności ustalane jest przez Komitet Naukowy ds. Żywności UE (*SCF*) na podstawie oceny danych toksykologicznych. W krajach Unii Europejskiej, w tym w Polsce, obowiązuje lista dozwolonych substancji dodatkowych stosowanych do żywności, oznaczonych literą „E” z odpowiednim numerem, wyszczególnionych w Rozporządzeniu Komisji UE z 2011 roku [18], jak również w obowiązującym w Polsce Rozporządzeniu Ministra Zdrowia w sprawie dozwolonych substancji dodatkowych z późn. zm. [19]. Spośród charakteryzowanych superdezintegrantów numerem E oznaczone są kroskarmeloza sodowa i krospowidon (tab. 1), które należą do wykazu trzeciego dodatków do żywności, obejmującego dodatki inne niż barwniki i substancje słodzące [18].

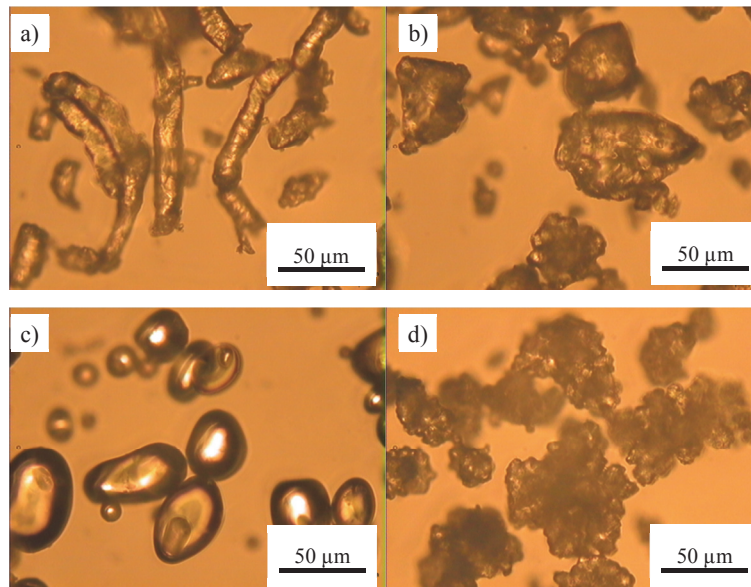
Kroskarmeloza sodu (*Croscarmellose sodium*) jest solą sodową poprzecznie usieciowanej, częściowo *O*-karboksymetylowanej celulozy czyli karmelozy sodu. Termiczne sieciowanie zmniejsza rozpuszczalność, lecz zachowana jest zdolność substancji do absorpcji wody. Dzięki włóknistej strukturze (fot. 2a) kroskarmeloza szybko się zwilża i, chociaż jest nierozpuszczalna w wodzie, to w kontakcie z wodą silnie i szybko (< 10 s) pęcznieje, zwiększając swoją objętość nawet 4 ÷ 8 krotnie [13, 17].

Tabela 1. Charakterystyka polimerów wykorzystywanych jako superdezintegranty w tabletkach
 Table 1. Profile of polymers used as superdisintegrants in tablets

Superdezintegrant Nr „E” Superdisintegrant No. “E”	Definicja Definition	Wygląd Appearance	Rozpuszczalność w wodzie Water solubility	Rozpuszczalność w etanolu Ethanol solubility	Nazwy hand- lowe Trade names	Zawartość w tab- letkach Content in tablets [%]
Kroskarmeloza sodu Croscarmellose sodium E 468	Sól sodowa poprzecznie ustieciowanej, częściowo O-karboksymetylowanej celulozy	Biały lub szarawobiałe proszek	Rozprasza się w wodzie niezależnie od temperatury, z utworzeniem roztworu koloidalnego	Praktycznie nierozpuszczalna	Ac-Di-Sol Explocel Solutab Vivasol	0,5 ÷ 5,0
Skrobia żelowana Starch pre-gelatinized	$(C_6H_{10}O_5)_n$ n = 300-1000	Białe lub żółtawobiałe proszek	Pęcznieje w zimnej wodzie	Praktycznie nierozpuszczalna	Lycatab C Merigel Prejel	5 ÷ 10
Karboksymetylo- skrobia sodu / glikolan sodowy (skrobi) Sodium starch glycolate	Sól sodowa poprzecznie sieciovanej, częściowo O-karboksymetylowanej skrobi ziemniaczanej	Białe lub prawie białe, miałki, o dobrej syško- ści proszek, bardzo higroskopijny	Tworzy zawiesinę	Praktycznie nierozpuszczalna	ExploTAB Primojel Vivastar P	2 ÷ 8
Krospowidon Crospovidone E 1202	$(C_6H_9NO)_n$ poprzecznie sieciovany homopolimer 1-etenylpiperolidyn-2-onu	Higroskopijny, białe lub żółtawobiałe pro- szek lub płatki	Praktycznie nierozpuszczalny	Praktycznie nierozpuszczalny	Kollidon CL Polyplasdone XL	2 ÷ 5

Źródło: / Source: opracowano na podstawie [7, 17, 18] / developed based on [7, 17, 18]

Kroskarmeloza sodu charakteryzuje się dużą spoistością cząstek [12]. Mielenie jej polimerowych włókien w celu skrócenia ich długości poprawia sypkość tej substancji [17].



Fot. 2. Mikroskopowe fotografie superdezintegranów (powiększenie 40-krotne): a) kroskarmeloza sodu, Ac-Di-Sol (FMC BioPolymer), b) skrobia żelowana Starch 1500 (Colorcon), c) glikolan sodowy skrobi, Explotab, (JRS Pharma), d) krospowidon, Polypladone XL (ISP)

Photo. 2. Optical micrographs (40 x magnification) superdisintegrants: a) croscarmellose sodium, Ac-Di-Sol (FMC BioPolymer, USA), b) starch pregelatinized, Starch 1500 (Colorcon, UK), c) sodium starch glycolate, Explotab, (JRS Pharma, Germany), d) crospovidone, Polypladone XL (ISP, Germany)

Skrobia żelowana (*Pregelatinised starch*) otrzymywana jest ze skrobi kukurydzianej, ziemniaczanej lub ryżowej przez mechaniczne przetwarzanie w obecności wody, z ogrzewaniem lub bez, do pęknięcia wszystkich lub części ziaren skrobi (fot. 2b). Wielkość cząstek wynosi $30 \div 150 \mu\text{m}$. Może być dalej modyfikowana w celu uzyskania lepszej prasowalności i poprawy właściwości zsypanych.

Częściowo żelowana skrobia zawiera zwykle 5 % wolnej amylozy, 15 % wolnej amylopektyny i 80 % skrobi niemodyfikowanej, podczas gdy całkowicie przetworzona jest mieszaniną amylozy i amylopektyny w stosunku 3 : 7. Częściowe żelowanie wpływa korzystnie na takie właściwości skrobi, jak zdolność płynięcia i prasowalność [4]. Skrobia żelowana może więc pełnić funkcję substancji poślizgowej przy produkcji tabletek. Nie wykazuje tak silnych właściwości rozsadzających jak krospowidon czy

kroskarmeloza, jednak w połączeniu z tymi substancjami pozwala na ich zastosowanie w znacznie niższych stężeniach i może korzystnie wpływać na trwałość formulacji [4].

Karboksymetyloskrobia sodu, glikolan sodowy skrobi (*Sodium starch glycolate*) jest solą sodową poprzecznie sieciowanej, częściowo *O*-karboksymetylowanej skrobi ziemniaczanej. Substancja składa się z ziaren nieregularnych lub owalnych o wielkości $30 \div 100 \mu\text{m}$ lub zaokrąglonych o wielkości $10 \div 35 \mu\text{m}$ (fot. 2c). Taki kształt cząstek wpływa korzystnie na zdolność płynięcia masy tabletkowej. Farmakopee wyróżniają trzy typy polimeru: A, B i C, różniące się pH oraz zawartością jonów sodu.

Właściwości fizyczne karboksymetyloskrobi sodu i jej skuteczność jako substancji rozsadzającej zależą od stopnia poprzecznego usieciowania, stopnia podstawienia i czystości. Na skutek poprzecznego sieciowania dochodzi do zmniejszenia frakcji polimeru rozpuszczalnej w wodzie i zmniejszenia lepkości dyspersji wodnej, a obecność grup karboksymetylowych powoduje wzrost hydrofilowości polimeru. Równowaga między stopniem podstawienia i stopniem poprzecznego usieciowania pozwala na szybką absorpcję wody przez polimer, z uniknięciem tworzenia lepkiego żelu hamującego uwalnianie substancji czynnej [29].

Mechanizm działania rozsadzającego polega na szybkiej absorpcji wody i znacznym pęcznieniu [23]. Glikolan sodowy skrobi chłonie wodę szybciej i w większej ilości niż skrobia, zwiększając swoją objętość $7 \div 12$ razy w ciągu < 30 s, a maksymalnie nawet 300 krotnie [13, 17]. Skuteczność karboksymetylowanej skrobi sodowej jest niezależna od innych substancji pomocniczych obecnych w składzie tabletki, np. hydrofobowych substancji poślizgowych.

Krospowidon (*Crospovidone*) to poprzecznie sieciowany homopolimer 1-etenypolirolidyn-2-onu, wytwarzany w procesie polimeryzacji tzw. *popcorn polymerization*. W zależności od wielkości cząstek, zgodnie z kryterium farmakopealnym [7], wyróżnia się dwa typy krospowidonu: typ A ($> 15\%$ cząstek ma średnicę większą niż $63 \mu\text{m}$) lub typ B ($\leq 15\%$ cząstek ma średnicę większą od $63 \mu\text{m}$). Oba typy reprezentują np. produkty odpowiednio *Polyplasdone XL* i *Polyplasdone XL-10* (Ashland, Niemcy). Wielkość cząstek ma istotny wpływ na właściwości rozsadzające, ponieważ większe cząstki zapewniają szybszy rozpad niż mniejsze [17]. Krospowidon jest superdezintegrantem niejonowym, przez co nie oddziałuje z kationowymi substancjami czynnymi.

Duża gęstość sieciowania krospowidonu i porowata natura cząstek (fot. 2d) ułatwia wnikanie wody i szybkie pęcznienie z wytworzeniem ciśnienia hydrostatycznego zapewniającego rozpad [23]. Krospowidon wykazuje złożony (potrójny) mechanizm działania rozsadzającego polegający na pęcznieniu (wzrost objętości o $95 \div 120\%$), działaniu sił kapilarnych i odzyskiwaniu kształtu przez zdeformowane cząstki [15]. Jednocześnie pęcznieniu nie towarzyszy żelowanie [10, 17]. Jest to bardzo korzystne, gdyż żelowanie może opóźnić uwalnianie substancji aktywnej. Jest to również zaleta

przy stosowaniu granulacji na mokro, poprzedzającej proces tabletkowania. Brak żelowania w trakcie zwilżania powoduje, że krospowidon zachowuje całą skuteczność właściwości rozsadzających nawet po kilku cyklach zwilżania i suszenia (kroskarmeloza sodu i glikolan sodowy skrobi w tych samych warunkach ulegają nieodwracalnym zmianom i nie odzyskują pierwotnego kształtu cząstek) [27].

Poszukiwanie nowych superdezintegrantów

Ze względu na technologie form stałych istnieje duże zapotrzebowanie na polimery o silnym działaniu rozsadzającym, które mogłyby być wykorzystane w formułacjach o bardzo krótkim czasie rozpadu, zarówno do użycia w tabletkowaniu bezpośrednim, jak i po uprzedniej granulacji, na sucho lub na mokro.

Prowadzone są badania nad modyfikacją polimerów naturalnych, powszechnie wykorzystywanych w środkach spożywczych, takich jak: chitozan, ksylan, guma guar, skrobia z tapioki, guma karaya czy agar [24]. W przypadku niektórych substancji wykazuje się większą ich skuteczność niż kroskarmelozy lub krospowidonu [8].

Ograniczone stosowanie innowacyjnych polimerów o działaniu rozsadzającym, podobnie jak innych substancji pomocniczych, wynika z konieczności wykazania bezpieczeństwa ich stosowania, co wymaga kosztownych i długich badań [1]. Nie są one wymagane, gdy nowa substancja pomocnicza jest mieszaniną fizyczną znanych już składników, których nie poddano modyfikacjom chemicznym. Przykładem mogą być handlowe mieszaniny wysoce funkcjonalnych, koprocesowanych substancji pomocniczych przeznaczonych do tabletkowania, tzw. *coprocessed excipients* [22]. W ich składzie znajdują się obok substancji rozsadzających substancje wypełniające, wiążące, poprawiające sypkość i smak. Są to najczęściej mieszaniny współsuszone. Interakcje w czasie tego procesu nierzadko prowadzą do powstania materiału o lepszych właściwościach w porównaniu z fizyczną mieszaniną poszczególnych składników pod względem wielkości cząstek, ich kształtu i porowatości. Przykładem takich mieszanin mogą być: Pardeck ODT (kroskarmeloza sodu i mannitol), Prosolv ODT (krospowidon, celuloza mikrokrystaliczna, krzemionka koloidalna, mannitol i fruktoza), Pharmaburst 500 (krospowidon, krzemionka koloidalna, mannitol i sorbitol), F-Melt typ C (krospowidon, celuloza mikrokrystaliczna, mannitol, ksylitol i fosforan wapnia).

Podsumowanie

Ze względów technologicznych, jak również składu substancji pomocniczych, otrzymywanie suplementów diety pod postacią tabletek lub kapsułek nie różni się od otrzymywania produktów leczniczych w takiej formie. Za proces rozpadu tabletki warunkujący uwolnienie substancji aktywnych, których jest ona nośnikiem i dalsze ich wchłanianie odpowiedzialne są substancje rozsadzające. Obecnie coraz częściej wykorzystuje się nowoczesne substancje rozsadzające zwane superdezintegrantami, takie jak

kroskarmeloza sodu czy krospowidon. Zastosowanie takich środków umożliwi osiągnięcie tabletek lub kapsułek pozwalających na szybkie uwalnianie substancji aktywnych oraz na doskonalenie formy aplikacyjnej (np. tabletki rozpadające się w jamie ustnej).

Literatura

- [1] Baldrick P.: The safety of chitosan as a pharmaceutical excipient. *Regul. Toxicol. Pharmacol.*, 2010, **56** (3), 290-299.
- [2] Banker G.S., Rhodes C.T.: *Modern Pharmaceutics*. Marcel Dekker, New York 1996, pp. 341-354.
- [3] Camarco W., Ray D., Druffner A.: Selecting superdisintegrants for orally disintegrating tablets formulations. *Pharm. Tech.*, 2006, **1** (1), 1-5.
- [4] Cunningham C.R., Scattergood L.K.: Evaluation of a partially pre-gelatinized starch in comparison with superdisintegrants in a direct-compression hydrochlorothiazide formulation. [online]. Dostęp w Internecie [11.09.2014]: http://www.colorcon.com/literature/marketing/ex/Starch%201500/eval_par_starch_sbup_65.pdf
- [5] Desale K.Y., Bankar V.H., Gaikwad P.D., Pawar S.P.: Review on: Fast dissolving/disintegrating tablets. *Int. J. Pharm. Sci. Rev. Res.*, 2011, **11** (1), 152-158.
- [6] *European Pharmacopoeia 8th edition*. EDQM, Strasbourg 2014.
- [7] *Farmakopea Polska X*. Polskie Towarzystwo Farmaceutyczne, Warszawa 2014.
- [8] Goudanavar P., Hiremath D., Spandana D., Reddy S.R.: Development and evaluation of fast disintegrating tablets of granisetron HCl with natural and synthetic polymers. *Asian J. Pharm. Res.*, 2011, **1** (3), 72-77.
- [9] Gupta A.K., Dalal M., Kumar A., Mishra D., Singh S.K.: True MDTs: Mouth disintegrating tablets or mouth dissolving tablets, a comparative study. *Pharm. Res. J.*, 2011, **6** (1), 1-11.
- [10] Jeong S.H., Takaishi Y., Fu Y., Park K.: Material properties for making fast dissolving tablets by a compression method. *J. Mater. Chem.*, 2008, **18**, 3527-3535.
- [11] Krasnowska G., Sikora T.: Suplementy diety a bezpieczeństwo konsumenta. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2011, **4** (77), 5-23.
- [12] Lasota J.: Dezintegratory – substancje rozsadzające stosowane w tabletkach. Badanie skuteczności. Cz. III. *Świat Przem. Farmac.*, 2011, **3**, 20-28.
- [13] Mohanachandran P.S., Sindhumol P.G., Kiran T.S.: Superdisintegrants: An overview. *Int. J. Pharm. Sci. Rev. Res.*, 2011, **6** (1), 105-109.
- [14] Pahwa R., Gupta N.: Superdisintegrants in the development of orally disintegrating tablets: A review. *IJPSR*, 2011, **2** (11), 2767-2780.
- [15] Polypladone, materiały firmy Ashland. [online]. Dostęp w Internecie [10.09.2014]: http://www.ashland.com/Ashland/Static/Documents/ASI/PC_11319_Polypladone_Overview.pdf
- [16] Ram D.K., Vidyanand P., Shekhar V., Kumar P.A., Pramod D.: A review on mouth dissolving tablet techniques. *IJRAP*, 2011, **2** (1), 66-74.
- [17] Rowe R.C., Sheskey P.J., Quinn M.E.: *Handbook of pharmaceutical excipients*. 6th ed. Pharmaceutical Press, London 2009.
- [18] 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. *Dz. U. UE* 12.11.2011, L 295/1.
- [19] Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 22 listopada 2010 r. w sprawie dozwolonych substancji dodatkowych. *Dz. U.* 2010, nr 232, poz. 1525, z późn. zm. (Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 22 kwietnia 2011 r., *Dz. U.* 2011, nr 91, poz. 525).
- [20] Schiermeier S., Schmidt P.C.: Fast dispersible ibuprofen tablets. *Eur. J. Pharm. Sci.*, 2002, **15**, 295-305.

- [21] Shailaja T., Latha K., Alkabab A.M., Sasibhushan P., Uhumwangho M.U.: Formulation and evaluation of orodispersible tablets of metoprolol tartrate with natural and synthetic superdisintegrants. *Int. J. Pharm. Pharm. Sci.*, 2012, **4** (3), 148-154.
- [22] Sharma V., Singh L.: Ion exchange resins: a boon for pharmaceutical industry – an overview. *Int. J. Pharm. Sci. Rev. Res.*, 2011, **6** (1), 10-13.
- [23] Shihora H., Panda S.: Superdisintegrants, utility in dosage forms: A quick review. *JPSBR*, 2011, **1** (3), 148-153.
- [24] Sikora M., Krystyan M.: Interakcje skrobi różnego pochodzenia botanicznego z nie skrobiowymi hydrokoloidami polisacharydowymi. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2008, **1** (56), 23-40.
- [25] Swarbrick J.: *Encyclopedia of pharmaceutical technology*. Third edition, Vol. 6. Informa healthcare. New York 2007, pp. 3553-3567.
- [26] *The United States Pharmacopoeia 38 – National Formulary 33*. United States Pharmacopoeial Convention, New Yourk 2014.
- [27] Thibert R., Hancock B.C.: Direct visualization of superdisintegrant hydration using environmental scanning electron microscopy. *J. Pharm. Sci.*, 1996, **85** (11), 1255-1258.
- [28] Ustawa z dnia 25 sierpnia 2006 r. o bezpieczeństwie żywności i żywienia. *Dz. U.* 2006 r. Nr 171, poz. 1225. Tekst jednolity z dnia 29 czerwca 2010 r. *Dz. U.* 2010 r. Nr 136, poz. 914.
- [29] Vimal V.V., Aarathi T.S., Anuja, Soumya B.J.: Superdisintegrants in fast disintegrating drug delivery systems: A brief review. *Int. J. Pharm.*, 2013, **3** (2), 380-385.

SUPERDISINTEGRANTS – EXCIPIENTS IN DIETARY SUPPLEMENTS IN THE FORM OF TABLETS

S u m m a r y

Amidst food products, there are dietary supplements, which are manufactured, among other things, in the form of tablets. Disintegrants in this form are considered to be one of the most important excipients since they determine the disintegration of tablets in the gastrointestinal tract and the release of the active substances. Traditional disintegrants used in tablets are, for example: starch, hydrophilic cellulose derivatives, or pectins.

The objective of the review was to characterize the new generation of disintegrants, so called superdisintegrants, e.g. croscarmellose, crospovidone, and sodium starch glycolate. The utilization of superdisintegrants makes it possible to produce tablets that rapidly disintegrate in the stomach and release the active substance in a short time. The mechanism of action of superdisintegrants is complex and may include the swelling of particles, recovering the original shape by particles after they are compressed, exothermic wetting reactions, or capillary forces.

In addition to the properties of the polymers used and the mechanisms of their action, the paper also discusses the methods of incorporating disintegrants into tablets (before or/and after the granulation process). The legal status of the substances being described is also taken into account based on the regulation on food and feed safety as well as on the requirements of the Pharmacopoeia in force.

Key words: superdisintegrants, croscarmellose, crospovidone, starch, dietary supplements, tablets ☒

PIOTR DOMARADZKI, ZYGMUNT LITWIŃCZUK, MARIUSZ FLOREK,
ANNA LITWIŃCZUK

ZMIANY WŁAŚCIWOŚCI FIZYKOCHEMICZNYCH I SENSORYCZNYCH MIĘSA WOŁOWEGO W ZALEŻNOŚCI OD WARUNKÓW JEGO DOJRZEWANIA

Streszczenie

Pod względem wartości odżywczej wołowina jest bardzo cenionym gatunkiem mięsa. W celu uzyskania wysokiej wartości kulinarnej surowiec ten wymaga zabiegów, prowadzących przede wszystkim do wykształcenia pożądanych właściwości sensorycznych. Znaczącą poprawę cech jakościowych wołowina uzyskuje w trakcie odpowiednio długiego okresu dojrzewania, tj. naturalnego procesu zachodzącego po ustąpieniu fazy *rigor mortis* w każdym mięśniu tuszy. Proces dojrzewania wołowiny w warunkach chłodniczych stosowany jest od ponad stulecia. Współcześnie na skalę przemysłową stosuje się dojrzewanie suche lub mokre. Ma ono charakter zamierzony (celowy) lub prowadzone jest przypadkowo, jako jeden z elementów dystrybucji i sprzedaży mięsa. W pracy przedstawiono różne metody i warunki, w jakich prowadzone jest dojrzewanie wołowiny (w tym pakowanie) oraz ich wpływ na cechy jakościowe mięsa (wodochłonność, kruchość i smakowitość). Oprócz bezsprzecznie pozytywnych aspektów związanych z poubojowym dojrzewaniem mięsa przedstawiono również procesy mogące negatywnie wpływać na końcową jego jakość, wynikającą przede wszystkim z oksydacji składników tkanki mięśniowej (lipidów, barwników i białek). Odpowiednio prowadzony (najczęściej w warunkach próżniowych) proces poubojowego dojrzewania wołowiny pozwala na uzyskanie produktu o wysokiej jakości, tzn. odpowiedniej kruchości i smakowitości oraz bezpieczny pod względem zdrowotnym. Analiza dostępnej literatury pozwala na stwierdzenie, że kulinarne mięso wołowe osiąga pełnię swoich walorów sensorycznych w trzecim tygodniu dojrzewania w temp. $2 \div 4$ °C.

Słowa kluczowe: wołowina, dojrzewanie, utlenianie, systemy pakowania

Wprowadzenie

Bezpośrednio po uboju zwierzęcia tkanka mięśniowa nie jest pełnowartościowym surowcem zarówno pod względem cech kulinarnych dla konsumenta, jak i technolo-

Dr inż. P. Domaradzki, dr hab. inż. M. Florek, prof. dr hab. A. Litwińczuk, 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: piotr.domaradzki@up.lublin.pl

gicznych dla przetwórcy. Jest twarda, gumowata, niesoczysta i ciężkostrawna, a składniki odżywcze są słabo przyswajalne. Poprawa cech sensorycznych mięsa, zwłaszcza kruchości i smakowitości, następuje w trakcie procesu dojrzewania, tj. przechowywania (po ustąpieniu fazy *rigor mortis*) w temperaturze wyższej od punktu zamarzania. Zachodzące zmiany w strukturze morfologicznej oraz właściwościach fizycznych i chemicznych tkanki mięśniowej prowadzą do uzyskania mięsa kulinarnego [5, 61, 79].

Proces dojrzewania wołowiny w warunkach chłodniczych wykorzystuje się już od ponad 100 lat [61]. Ma on charakter zamierzony (celowy) lub prowadzony jest przypadkowo, jako jeden z elementów dystrybucji i sprzedaży mięsa [5].

W przemyśle mięsnym stosuje się obecnie dojrzewanie suche i mokre [40, 75]. Dojrzewanie suche (tradycyjne, bez pakowania), które wykorzystywano powszechnie do lat 60. ubiegłego wieku, prowadzi się w powietrzu atmosferycznym o temp. $0 \div 4$ °C, wilgotności względnej $75 \div 85$ % i prędkości jego przepływu $0,5 \div 2,5$ m/s. Mięso w tuszach lub elementach może dojrzewać w takich warunkach nawet do 5 tygodni [70]. Dojrzewanie mokre (w opakowaniu) stosuje się do elementów wykrawanych z półtuszy „na ciepło” lub po wychłodzeniu, które następnie zamykane są próżniowo w opakowania barierowe i przechowywane w temp. $0 \div 2$ °C. Ponad 90 % wołowiny kulinarnej na świecie poddaje się dojrzewaniu mokremu [19].

W literaturze brak jest jednoznacznych wyników potwierdzających istotny wpływ metody dojrzewania na wyróżniki sensoryczne mięsa. W badaniach Lastera i wsp. [40], w okresie 35-dniowego dojrzewania wołowiny metodą mokrą i suchą nie wykazano istotnych różnic pod względem ogólnej pożądalności oraz cech typowych dla wołowiny: smaku, kruchości i soczystości. Elementy kulinarne (rostbef, krzyżowa, antrykot) poddane suchemu dojrzewaniu zostały ocenione (w skali 10-punktowej) przez konsumentów w zakresie: $6,1 \div 7,0$ pkt w przypadku pożądalności, $6,3 \div 6,8$ pkt – smaku; $5,9 \div 7,3$ pkt – kruchości oraz $5,5 \div 6,6$ pkt – soczystości. W przypadku mięsa dojrzewającego na mokro właściwości te oceniono podobnie, odpowiednio: $6,1 \div 7,0$ pkt; $6,3 \div 6,9$ pkt; $6,0 \div 7,5$ pkt oraz $5,6 \div 6,8$ pkt. Co więcej, respondenci poproszeni o wskazanie steków, które byliby skłonni zakupić i ich ocenę (w skali 5-punktowej), zarówno w przypadku mięsa dojrzewającego na sucho, jak i na mokro, przyporządkowali noty równorzędne, tj. w zakresie $2,3 \div 2,8$ pkt.

Sitz i wsp. [75] podają podobne wyniki odnoszące się do wołowiny klasy jakościowej *Choice*. Konsumenty ocenili w 8-punktowej skali właściwości sensoryczne steków dojrzewających na sucho oraz na mokro i przyznali za smakowitość odpowiednio: 5,77 i 5,91 pkt, za soczystość – 5,30 i 5,39 pkt, za kruchość – 5,59 i 5,68 pkt oraz za ogólną akceptację – 5,56 i 5,72 pkt. Nieznacznie bardziej zróżnicowane dane uzyskano natomiast w przypadku wołowiny zakwalifikowanej do klasy jakościowej *Prime*. Steki dojrzewające na mokro, w porównaniu z dojrzewającymi na sucho, zosta-

ły ocenione jako bardziej pożądane. Oceniono je średnio o 0,39 pkt wyżej za smak, kruchość oraz ogólną akceptację. Z kolei w badaniach Campbella i wsp. [8] przeszkolony zespół oceniających wykazał, że steki dojrzewające na sucho przez 14 i 21 dni charakteryzowały się bardziej pożądanym smakiem (średnio o 0,65 pkt), kruchością (o 0,4 pkt) oraz soczystością (o 0,4 pkt). W opinii Warrena i Kastnera [80] mięso dojrzewające w opakowaniu próżniowym ze względu na kwaśny posmak i silnie wyczuwalny aromat krwi oceniane jest niżej niż wołowina dojrzewająca tradycyjnie, która jest bardziej krucha i smakowita, z charakterystyczną nutą mięsa pieczonego. Zdaniem Dikemana i wsp. [16], nabywcy, w przeciwieństwie do wykwalifikowanego panelu oceniającego, nie są w stanie wychwycić bardzo subtelnych różnic pomiędzy wołowiną dojrzewającą w różnych warunkach. Przeciętni konsumenci nie potrafią przede wszystkim rozpoznać unikatowego profilu smakowego mięsa dojrzewającego tradycyjnie, określając go niejednokrotnie jako lekko „stęchły” [19, 75].

Ograniczone stosowanie dojrzewania suchego związane jest z wysokimi kosztami długiego okresu przechowywania mięsa w kontrolowanych warunkach, dużymi ubytkami masy i stratami związanymi z usuwaniem tzw. ususzki oraz z dużym ryzykiem zanieczyszczenia mikrobiologicznego surowca [76]. Dlatego opracowano innowacyjną metodę dojrzewania suchego, prowadzącą do zwiększenia wydajności gotowego produktu i ograniczenia rozwoju mikroflory, która polega na pakowaniu elementów w folie o dużej przepuszczalności wody [48]. W badaniach Lundesjö Ahnström i wsp. [48] ubytki masy spowodowane parowaniem wody w zależności od czasu suchego dojrzewania mięsa zawierały się w przedziale od 6,5 % w 14. dniu, do 10,2 % w 21. dniu. Natomiast straty związane z usuwaniem suchych i odbarwionych elementów wyniosły odpowiednio: 15,0 i 17,9 %. Podobnie Laster i wsp. [40] obserwowali większe ubytki spowodowane ususzką do 28. dnia dojrzewania, natomiast w 35. dniu – nieznaczne zmniejszenie strat. W przypadku rostbefu w 14. dniu dojrzewania było to: 5,2 %, w 21. – 11,8 %, w 28. – 15,9 %, a w 35. – 12,9 %, . W przypadku krzyżowej było to odpowiednio [%]: 17,9, 21,0, 23,6 i 19,0 %, natomiast w przypadku antrykotu – odpowiednio [%]: 16,8, 17,3, 24,2 i 22,8.

DeGeer i wsp. [14] podają, że konsumenci wołowiny dojrzewającej tradycyjnie skłonni są zapłacić wyższą cenę za produkt charakteryzujący się unikatowymi walorami smakowymi. Tradycyjne dojrzewanie mięsa prowadzone jest aktualnie tylko na specjalne zamówienie. Wołowina taka sprzedawana jest przez specjalistyczne sklepy internetowe albo dostępna jest w ekskluzywnych restauracjach, prowadzących ten typ dojrzewania na własne potrzeby [76].

Proces dojrzewania a wyróżniki fizykochemiczne mięsa

W trakcie dojrzewania następuje częściowy rozpad białek, glikogenu i pozostałych składników tkanki mięśniowej, zostają ukształtowane pożądane właściwości tech-

nologiczne i kulinarne (przede wszystkim kruchość, smakowitość, soczystość, barwa, zdolność do wiązania wody dodanej, emulgowania tłuszczów, pęcznienia i żelowania) oraz odżywcze mięsa (np. zwiększenie przyswajalności składników odżywczych). Kruszenie mięsa (tenderyzacja) jest procesem długotrwałym, szczególnie w odniesieniu do wołowiny. Uzyskanie akceptowalnej przez konsumentów kruchości kulinarnego mięsa wołowego wymaga przechowywania w temperaturze chłodniczej przez co najmniej 10 ÷ 14 dni, cielęciny i baraniny – 4 ÷ 7 dni, wieprzowiny – 3 ÷ 5 dni, a mięsa drobiowego – 0,5 ÷ 1 dnia. Według Takahashiego [77] *m. semitendinosus* bydlą przechowywany w temp. 4 °C uzyskuje optymalną kruchość – charakteryzowaną przez siłę cięcia – w 28. dniu po uboju, świń – w 10. dniu, a kurcząt – w 2. Tenderyzacja mięsa przebiega w dwóch fazach – szybkiej i wolnej. W pierwszej obserwuje się osłabienie struktur miofibrili (linii Z, filamentów konektyny i nebuliny), w drugiej – strukturalne zmiany *endomysium* i *perimysium*. Wpływ dojrzewania na kruchość mięsa jest bardziej zauważalny w przypadku zwierząt starszych niż młodszych [19].

Skutkiem proteolizy tkanki łącznej w trakcie dojrzewania jest zwiększenie rozpuszczalności kolagenu śródmięśniowego [35, 64]. Wykazano, że w mięśni *semitendinosus* bydlą była ona dwukrotnie większa po 12 dniach dojrzewania chłodniczego w porównaniu z rozpuszczalnością w 5. dniu [64]. Powyższe zmiany zachodzące w tkance łącznej prowadzą do istotnej poprawy kruchości mięsa wołowego, ocenianej instrumentalnie. Zdaniem innych autorów [68], zachodząca w tkance łącznej proteoliza *post mortem* wpływa jedynie na wzrost kruchości mięsa surowego, natomiast po obróbce termicznej (> 60 °C) nie występują istotne różnice pod względem kruchości mięsa przed i po dojrzewaniu. Poubojowa proteoliza śródmięśniowej tkanki łącznej stanowi swoiste „tło” dla przemian związanych z tenderyzacją, bez większego wpływu na kruchość mięsa po obróbce termicznej. Wskazuje to na możliwość degradacji podczas obróbki kulinarnej mięsa tych samych struktur, które zmieniane są w trakcie dojrzewania. Ngapo i wsp. [60] potwierdzili jedynie istotny związek ($r = 0,41$) kolagenu rozpuszczalnego (w temp. 77 °C) z ocenianą instrumentalnie kruchością surowej wołowiny, nie wykazali natomiast żadnych zależności w przypadku mięsa wołowego gotowanego lub grillowanego. Christensen i wsp. [10] uzyskali niskie współczynniki korelacji pomiędzy różnymi frakcjami kolagenu (ogólną, rozpuszczalną i nierozpuszczalną) a siłą cięcia w surowym i ogrzewanym *m. longissimus*, tj. w zakresie -0,081 ÷ 0,085. Autorzy uzasadniają brak istotnego związku, zwłaszcza w mięsie poddanym obróbce termicznej powyżej 60 °C, dominującym wpływem białek miofibrilarnych (nie zaś łącznotkankowych) w kształtowaniu kruchości mięsa. Dodatkowym czynnikiem mogła być także niewielka (0,35 %) zawartość kolagenu w *m. longissimus* w porównaniu z innymi mięśniami tuszy.

W procesie tenderyzacji zachodzą również znaczące zmiany wodochłonności (WHC, ang. *water-holding capacity*) tkanki mięśniowej. Mięso wykazuje największą

wodochłonność tuż po uboju i po uzyskaniu pełnej dojrzałości, natomiast w czasie stężenia pośmiertnego ulega ona zmniejszeniu. W wyniku przemian poubojowych następuje przegrupowanie wody z komórki do przestrzeni pozakomórkowej, stanowiąc potencjalne źródło wycieku [17, 38]. Zdolność wiązania i zatrzymywania wody podczas procesu dojrzewania jest uzależniona od przemian biochemicznych i strukturalnych tkanki mięśniowej, w tym zmiany ładunku elektrostatycznego, konfiguracji przestrzennej białek miofibrylarnych oraz rozkładu struktur cytoszkieletowych białek związanych z interakcją białek miofibryli podczas *rigor mortis*. W efekcie rozluźnienia struktur wewnątrz- i międzykomórkowych następuje zwiększenie i powstanie nowych przestrzeni dostępnych dla wody [38, 71], a tym samym zwiększa się wodochłonność mięsa. Farouk i wsp. [23] opisują to zjawisko jako tzw. efekt gąbki. W wyniku zmian białek strukturalnych następuje degradacja przestrzeni („kanałów”), przez które pierwotnie w stanie *rigor* woda mogła być usuwana na zewnątrz włókien mięśniowych, stanowiąc źródło wycieku. Rozkład struktur białkowych, a więc i wcześniej utworzonych „kanałów” prowadzi do powstawania swoistego „efektu gąbki”, w wyniku czego woda fizycznie zatrzymywana jest wewnątrz tkanki mięśniowej, a wielkość wycieku zmniejsza się. W temperaturze chłodniczej na skutek obecności substancji rozpuszczalnych w wodzie (w tym m.in. białek sarkoplazmatycznych, wolnych aminokwasów czy peptydów) oraz częściowego zżelowania protein, wzrasta lepkość soku mięśniowego, co dodatkowo wzmacnia „efekt gąbki”.

Wzrost WHC w trakcie chłodniczego dojrzewania mięsa nie przekłada się bezpośrednio na mniejsze straty związane z jego obróbką termiczną. Mięso wołowe dojrzewające dłużej niż 6 dni w porównaniu z niepoddanym temu zabiegowi wykazywało większy wyciek termiczny o 0,08 % w 6. dniu, 0,87 % – w 10. dniu, 2,28 % – w 14. dniu, 2,05 % – w 21. dniu oraz o 6,39 % – w 35. dniu chłodniczego przechowywania [29, 73]. Wielkość wycieku termicznego uzależniona była w większym stopniu od temperatury mięśni w fazie *pre-rigor* i długości sarkomerów niż czasu dojrzewania.

Poprawa profilu smakowo-zapachowego

W okresie poubojowego dojrzewania mięsa wzbogaceniu ulega jego profil smakowo-zapachowy. Prekursory smakowo-zapachowe podzielić można generalnie na dwie grupy: rozpuszczalne w wodzie i rozpuszczalne w tłuszczu. Do najważniejszych zalicza się cukry proste (zwłaszcza rybozę), fosforany, rybonukleotydy, wolne aminokwasy (głównie cysteinę), peptydy oraz inne związki azotowe (np. tiaminę), węglowodory alifatyczne, kwasy tłuszczowe (zwłaszcza nienasycone) oraz produkty ich oksydacji i degradacji [36, 58, 59]. W okresie chłodniczego przechowywania mięsa następuje kumulacja nukleotydów inozynowych – IMP, IDP i ITP (inozynomono-, di- i trifosforan), jak również inozyny i hipoksantyny, pochodzących z rozkładu nukleotydów adeninowych – AMP, ADP i ATP (adenozynomono-, di- i trifosforan). Związki te

wraz z rybozą oraz produktami ich rozpadu odznaczają się specyficznym profilem smakowym, a wchodząc w reakcje z innymi substancjami tworzą złożone kompleksy smakowo-zapachowe [37]. Spośród nukleotydów inozynowych, izomer 5'-IMP wykazuje najsilniejsze właściwości smakowo-zapachowe. Mięso osiąga najlepsze cechy sensoryczne, gdy poziom hipoksantyny wynosi $1,5 \div 2,0 \mu\text{M/g}$ [28]. Smak umami, określany jakorosołowy, pikantny lub wołowy, jest efektem obecności związków potęgujących smak, takich jak: kwas glutaminianowy, guanozyno-5'-monofosforan (GMP) oraz IMP. Na początku procesu dojrzewania poubojowego zawartość kwasu glutaminowego zwiększa się ponad dwukrotnie, tzn. z $9 \text{ mg}/100 \text{ g}$ w 4. dniu do $21 \text{ mg}/100 \text{ g}$ w 7. dniu *post mortem* [3]. Wykazano, że w trakcie 21-dniowego dojrzewania próżniowego wołowiny poziom wolnej rybozy zwiększył się 6-krotnie, a cukrów redukujących – o 15 %. Obserwowano również wzrost udziału wolnych aminokwasów, zwłaszcza siarkowych (7-krotny – metioniny i 3-krotny – cysteiny), którym przypisuje się szczególną rolę w kształtowaniu aromatu i smaku mięsa [37]. Podczas dojrzewania wzrasta również udział węglowodorów o dużej masie cząsteczkowej, peptydów, związków benzenowych, pirazyn, węglowodorów alifatycznych (zwłaszcza rozgałęzionych alkanów, m.in. 2-oktenu, 3-oktenu, 2,2,5-trimetyloheksanu, pochodzących z utleniania lipidów) oraz wolnych kwasów tłuszczowych, szczególnie kwasu oleinowego [26, 36].

Pełnię walorów sensorycznych mięso uzyskuje w trakcie kulinarnych zabiegów termicznych, tj. gotowania, pieczenia, smażenia i duszenia. Uzyskana w trakcie obróbki termicznej smakowitość jest ściśle związana z właściwościami i ilością prekursorów występujących w surowej tkance mięśniowej. Smakowitość mięsa gotowanego związana jest głównie z przemianami białek oraz azotowych związków niebiałkowych, natomiast smakowitość mięsa pieczonego – z przemianami składników tłuszczowych w trakcie ogrzewania [36].

Zadowolający poziom związków o charakterze smakowo-zapachowym osiągnany jest dopiero po $10 \div 14$ dniach poubojowego dojrzewania mięsa [1, 19, 36]. Wołowina poddana obróbce termicznej przed upływem tego okresu nie wykształca typowego dla tego mięsa smaku i zapachu. W ocenie sensorycznej wykazuje posmak „metaliczny” i „mdły”. Wykazano jednak, że dojrzewanie może także negatywnie oddziaływać na cechy smakowo-zapachowe wołowiny poprzez osłabienie zróżnicowania smakowitości lub zwiększenie posmaku metalicznego mięsa [82]. Pogłębia się również posmak tłuszczowy oraz inne negatywne cechy, takie jak: „przypominający farbę”, „tekturowy”, „gorzki” i „kwaśny” [2, 6]. Wynika to m.in. ze zwiększonej ilości związków karbonylowych, pochodzących z oksydacji lipidów (zwłaszcza fosfolipidów bogatych w wielonienasycone kwasy tłuszczowe), które mogą brać udział w tworzeniu obcego posmaku. Lipidy uczestniczą zarówno w kształtowaniu pożądaných, jak i niepożądanych cech smakowo-zapachowych mięsa [72]. Łagodne reakcje oksydacji i degradacji

lipidów zachodzące w trakcie obróbki cieplnej mięsa generują pożądane związki smakowo-zapachowe. Zawansowane natomiast zmiany oksydacyjne frakcji lipidowej (spowodowane np. długotrwałym przechowywaniem mięsa) przyczyniają się do tworzenia obcego posmaku, określanego jako jełki [58, 72].

Gorriaz i wsp. [26] w trakcie 7-dniowego dojrzewania wykazali wzrost smakowości wołowiny grillowanej. Większość, tj. 93,6 % wykrytych związków lotnych pochodziła z utleniania lipidów tkanki mięśniowej. Były to przede wszystkim węglowodory alifatyczne (51,6 %) i acykliczne (6,4 %), aldehydy (16,1 %), alifatyczne (6,4 %) i alicykliczne (3,2 %) ketony, węglowodory aromatyczne (6,4 %) oraz alkohole (3,2 %). Zdaniem autorów korzystny wpływ dojrzewania na smakowość związany był ze wzrostem lotnych produktów degradacji kwasów tłuszczowych oraz zmniejszeniem udziału aldehydu octowego. W przypadku tego ostatniego wykazano dodatnią korelację z „posmakiem wątrobowym” (*livery flavour*) i ujemną z charakterystycznym zapachem mięsa. Ponadto heksan przyczyniał się do tworzenia smaku tłuszczowego, a 2-propanon – do posmaku wątrobowego i krwistego. Związkiem odpowiedzialnym za charakterystyczny smak wołowiny grillowanej był 2,2,4,4,6-pentametyloheptan. Ba i wsp. [1] wykazali również, że związkami w głównej mierze odpowiedzialnymi za kształtowanie profilu smakowo-zapachowego wołowiny obrabianej termicznie są produkty degradacji/utleniania lipidów. W badaniach wykazano, że *m. longissimus dorsi* (LD) odznaczał się bardziej korzystnymi cechami sensorycznymi w porównaniu z *m. semitendinosus* (ST) zarówno w 7., jak i w 28. dniu dojrzewania. Mięsień LD zawierał przede wszystkim więcej: 1) aldehydów pochodzących z degradacji Streckera aminokwasów, tj. aldehydu octowego (średnio o 0,025 µg/g) oraz 2-metylobutanalu (średnio o 0,075 µg/g), 2) aldehydów będących produktami oksydacji kwasu oleinowego (C18:1n-9), tj. heptanal (średnio o 0,165 µg/g), oktanal (średnio o 0,47 µg/g), nonanal (średnio o 0,38 µg/g), 3) aldehydów charakterystycznych dla przemian oksydacyjnych kwasu linolowego (C18:2n-6), tj. pentanal (średnio o 0,19 µg/g), (E)-2-heptenal (średnio o 0,07 µg/g), 4) związku zawierającego siarkę i wykazującego silny aromat zbliżony do cebulowo-czosnkowego, tj. metanotolu (średnio o 0,085 µg/g). W opinii autorów związki z grupy drugiej, będące jednymi z ważniejszych w kształtowaniu cech sensorycznych wołowiny gotowanej, zwykle korzystnie oddziałują na receptory smakowo-zapachowe. W literaturze przedmiotu są one definiowane jako: owocowe, słodkie tłuszczowe, surowe oraz olejowe. Większość zidentyfikowanych związków lotnych w 28. dniu dojrzewania próżniowego mięsa istotnie wzrosła w porównaniu z dniem 7. W przypadku mięśnia ST poziom podstawowych substancji odpowiedzialnych za pozytywne nuty smakowe, takich jak oktanal oraz nonanal uległ obniżeniu, odpowiednio o: 0,22 i 0,43 µg/g. Dodatkowo w trakcie chłodniczego przechowywania w mięśniu tym obserwowano wzrost stężenia benzaldehydu z 1,04 µg/g w 7. dniu do 1,94 µg/g – w 28. Pochodna oksydacji kwasu linolenowego (C18:3n-3)

odpowiedzialna jest m.in. za niekorzystne odczucia smakowo-zapachowe, zbliżone do cech gorzkich migdałów.

Juárez i wsp. [33] ocenili jakość sensoryczną 6 elementów kulinarnych wołowiny klasy jakościowej *Canada AA* w trakcie 42-dniowego dojrzewania i wykazali w większości przypadków wzrost kruchości mięsa do 21. dnia dojrzewania chłodniczego, a następnie jego zmniejszenie. W przypadku smakowitości rostbefu, ligawy oraz łopatki obserwowali jej zmniejszenie już po 14 dniach, a w przypadku zrazowej zewnętrznej i zrazowej wewnętrznej – po 21 dniach. W dalszym okresie chłodniczego przechowywania pojawiał się obcy nieswoisty dla mięsa smak (ang. *off-flavour*). Autorzy wykazali ponadto, że podwyższenie temperatury dojrzewania wołowiny z 1 do 5 °C negatywnie wpływało na smakowitość analizowanych elementów kulinarnych przy nieznacznej tylko poprawie ich kruchości.

Yancey i wsp. [82] wykazali, że próżniowe dojrzewanie steków wołowych przez 35 dni w porównaniu do 7, 14, i 21 dni zmniejsza smakowitość wołowiny poprzez wzrost udziału smaku metalicznego, kwaśnego i zjełczałego. W trakcie pierwszych trzech pomiarów wyróżniki sensoryczne oceniane w skali 15-punktowej zawierały się w przedziałach: posmak metaliczny – 4,15 ÷ 4,17 pkt, posmak kwaśny – 2,54 ÷ 2,56 pkt, posmak zjełczały – 0,28 ÷ 0,33 pkt. W 35. dniu oceny tych cech wynosiły odpowiednio: 4,23; 2,64; i 0,37.

Generalnie, smakowitość mięsa wzrasta wraz z wydłużaniem okresu dojrzewania aż do uzyskania optimum, a następnie ulega obniżeniu [1, 2, 26, 32, 57, 83]. W efekcie, w trakcie długiego składowania chłodniczego skutkuje to wystąpieniem niepożądanego, zjełczałego smaku określanego mianem *off-flavour*. Najbardziej korzystny dla wołowiny wydaje się być 21-dniowy okres chłodniczego dojrzewania. Po tym czasie obserwuje się zwiększony udział związków odpowiedzialnych za niekorzystne zmiany smakowo-zapachowe.

Oprócz dojrzewania końcową smakowitość wołowiny kształtują również inne czynniki, zarówno hodowlane, jak i przetwórcze (wiek, rasa, płeć zwierząt, sposób żywienia, rodzaj mięśnia, metoda pakowania, zawartość tłuszczu, skład kwasów tłuszczowych, poziom żelaza i mioglobiny, pH, temperatura i dostępność tlenu w trakcie dojrzewania) [7, 26, 30, 44, 51, 82].

Zmiany oksydacyjne

Kolejnymi zmianami odgrywającymi istotną rolę w kształtowaniu poubojowej jakości mięsa są procesy związane z utlenianiem jego składników. Przyżyciowo w tkance mięśniowej obecne są mechanizmy obronne (endogenne antyoksydanty o charakterze hydrofilowym i lipofilowym) kontrolujące procesy utleniania. Do antyoksydantów hydrofilowych zalicza się przede wszystkim enzymy (katalazę, peroksydazę glutationową, dysmutazę ponadtlenkową), dipeptydy (karnozynę i anserynę), kwas moczowy,

aminy, askorbiniany oraz selen i cynk. Składniki o charakterze nieenzymatycznym, takie jak: α - tokoferol (witamina E), ubichinon, karotenoidy zaliczane są do antyoksydantów lipofilowych [50]. Substancje te wykazują działanie antyoksydacyjne również w mięśniach po śmierci zwierząt, ale wraz z postępującym procesem dojrzewania ich aktywność zmniejsza się [81]. Szereg reakcji biochemicznych zachodzących w procesie dojrzewania powoduje zaburzenie równowagi między czynnikami prooksydacyjnymi i antyoksydacyjnymi, co skutkuje nagromadzeniem się większej ilości reaktywnych form tlenu (ROS, ang. *reactive oxygen species*). Oprócz ROS w procesy utleniania składników mięsa zaangażowane są także różne reaktywne formy azotu (RNS, ang. *reactive nitrogen species*) powstające np. podczas przekształcania argininy do cytruliny w reakcjach katalizowanych przez syntazy tlenu azotu [4, 41, 55, 69].

Reakcje oksydacji lipidów, barwników hemowych i białek mięśniowych, poza mikrobiologicznym psuciem, uważane są za najważniejsze procesy wpływające na obniżenie jakości (właściwości funkcjonalnych, sensorycznych, tekstury i wartości odżywczej) mięsa w trakcie przechowywania [4, 47, 67]. W ich efekcie zmniejsza się rozpuszczalność białek, pogorszeniu ulegają smak i zapach, tworzą się wolne rodniki i inne produkty oksydacji, np. utlenione formy cholesterolu [78].

W kontekście procesów utleniania najczęściej omawiane są zmiany oksydacyjne lipidów i barwników mięśniowych. Na szybkość i kierunek utleniania tłuszczu w mięsie po uboju zwierząt wpływa wiele czynników, m.in. ilość, rodzaj i charakter lipidów, zawartość wody, obecność naturalnych pro- i antyoksydantów, rodzaj stosowanych zabiegów technologicznych oraz warunki i sposób przechowywania, np. czas, temperatura, dostępność światła i tlenu [27, 67]. Utlenianie lipidów w mięsie przechowywanym w stanie zamrożonym lub w warunkach chłodniczych jest zwykle powolne, jednak ze względu na rozpuszczalność wolnych rodników we frakcji lipidowej i ich stabilność w niskich temperaturach nie jest całkowicie zahamowane [64].

Produktami utleniania tłuszczów jest wiele związków odpowiedzialnych za powstawanie zjełczałego, niepożądanego smaku i zapachu. Należą do nich niskocząsteczkowe substancje lotne, przede wszystkim krótkołańcuchowe aldehydy oraz powstające z nich wskutek utleniania kwasy [27, 67]. Najbardziej podatne na utlenianie są wielonienasycone kwasy tłuszczowe, wchodzące głównie w skład fosfolipidów membran komórkowych. Produkty utleniania lipidów wchodzą ponadto w reakcję z innymi składnikami mięsa, powodując obniżenie jego wartości odżywczej, a niektóre z nich (4-hydroksynonenal, dialdehyd malonowy) to związki toksyczne dla człowieka [20, 55]. Stopień peroksydacji lipidów mięśniowych najpowszechniej określany jest na podstawie zawartości substancji reagujących z kwasem 2-tiobarbiturowym (tzw. wskaźnika TBARS). W badaniach Sierra i wsp. [74] wykazano istotny wpływ czasu dojrzewania na wzrost TBARS w pakowanym próżniowo mięśniem LD. W zależności od genotypu bydła wartość TBARS zawierała się w przedziale od 0,15 (w 3. dniu) do

0,39 mg MDA/kg w ostatnim, 21. dniu dojrzewania. Wskazuje się także, że mięso o większej zawartości kwasów wielonienasyconych (PUFA) w trakcie dojrzewania może również charakteryzować się wyższą wartością TBARS [74]. McKenna i wsp. [52] wykazali systematyczny wzrost wskaźnika TBARS w 19 mięśniach wołowych w czasie ich 5-dniowego przetrzymywania w warunkach sprzedaży detalicznej (niepakowanych próżniowo). W żadnym z analizowanych przypadków TBARS nie przekroczył wartości progowej 1 mg MDA/kg, związanej z pojawieniem się nieakceptowanego aromatu będącego efektem oksydacyjnego jęlczenia. Min i wsp. [56] do najważniejszych czynników wpływających na wzrost wartości TBARS surowego mięsa wołowego zaliczają ilość mioglobiny (zwłaszcza formy ferryłmioglobiny) i/lub hematyny, w mniejszym zakresie – żelazo niehemowe czy skład kwasów tłuszczowych.

Wolne rodniki pochodzące z utleniania lipidów mogą zainicjować utlenianie mioglobiny do metmioglobiny, powodując pogorszenie barwy mięsa [34]. Aldehydy pochodzące z oksydacji lipidów zwiększają ponadto utlenianie oksymioglobiny, wzmagają właściwości prooksydacyjne metmioglobiny oraz obniżają enzymatyczną zdolność redukcji metmioglobiny [49]. Procesy oksydacji lipidów i mioglobiny w mięsie są sprzężone, a obie reakcje mogą wzajemnie na siebie oddziaływać. Wskutek wyczerpania zasobów NADH w komórce, mioglobina (MbFe(II)) i oksymioglobina (MbFe(II)O₂) ulegają utlenieniu do metmioglobiny (MbFe(III)), ta z kolei wchodząc w reakcje z H₂O₂ tworzy wysoko reaktywne rodniki mioglobiny, tj. ferryłmioglobinę (MbFe(IV)=O) i perferryłmioglobinę (•MbFe(IV)=O), które wpływają na dynamikę procesów oksydacji lipidów [25]. Insausti i wsp. [31] podają, że mięso o większej zawartości barwników jest bardziej podatne na oksydację, a jego barwa jest mniej stabilna. Pastsart i wsp. [65] w mięśniach wołowych owiniętych w przepuszczalną dla powietrza folię obserwowali wzrost stopnia oksydacji mioglobiny. Średnie zmniejszenie wartości parametru a* barwy między 0. a 10. dniem wyniosło 10,7, natomiast wzrost zawartości metmioglobiny (%MetMb) – 31,9 %. Wykazano ponadto, że zawartość MetMb była dodatnio skorelowana (r = 0,49) z wartością TBARS [65]. Ujemne, ale niskie wartości współczynnika korelacji wskaźnika TBARS z mioglobiną oraz parametrem a* (odpowiednio r = -0,12 i r = -0,18) w mięsie wołowym stwierdzili z kolei McKenna i wsp. [52].

Do innych ważnych prooksydantów odznaczających się wysoką aktywnością katalityczną w produktach pochodzenia zwierzęcego należą niektóre metale, a zwłaszcza żelazo, zarówno hemowe (mioglobina, hemoglobina), jak i niehemowe. Żelazo hemowe może inicjować utlenianie lipidów zarówno w mięsie surowym, jak i ogrzewanym. Żelazo niehemowe odgrywa większą rolę w przyspieszaniu procesów utleniania lipidów w mięsie ogrzewanym [13, 27].

W ocenie jakości mięsa, poza oksydacją lipidów i barwników mięśniowych, coraz większą uwagę poświęca się zagadnieniom związanym z utlenianiem białek i enzy-

mów, zwłaszcza białek miofibrylarnych i sarkoplazmatycznych oraz kalpain. Oksydacja białek, podobnie jak tłuszczów, ma charakter rodnikowej reakcji łańcuchowej [78]. Dużą reaktywność wobec białka wykazują zwłaszcza α,β -nienasycone aldehydy (np. 4-hydroksynonenal) pochodzące z utleniania tłuszczów [24].

Zmiany oksydacyjne zachodzące *post mortem* przyczyniają się do obniżenia właściwości funkcjonalnych białek mięśniowych. Reakcje oksydacji białek mogą przebiegać zarówno w ich szkielecie (rdzeniu), jak i w bocznych łańcuchach aminokwasów. Prowadzi to do zmian ich hydrofobowości, konformacji (zmiany w drugo- i trzeciorzędowej strukturze), rozpuszczalności (w wyniku agregacji i tworzenia kompleksów) oraz aktywności enzymatycznej. Oksydacyjne zmiany białek obniżają ich strawność, a z uwagi na straty aminokwasów egzogennych – również wartość odżywczą. Najbardziej podatne na utlenianie są tryptofan oraz aminokwasy zawierające siarkę (cysteina i metionina) [21, 46].

Zmiany oksydacyjne białek obejmują fragmentację łańcucha polipeptydowego, modyfikację bocznych łańcuchów aminokwasów, tworzenie między- i wewnątrzcząsteczkowych dwusiarczkowych wiązań sieciujących, tworzenie pochodnych karbonylowych oraz zmniejszenie udziału grup tiolowych (-SH). Związki karbonylowe, uważane za najbardziej charakterystyczne produkty oksydacji białek, pochodzą z utleniania reszt takich aminokwasów, jak: arginina, lizyna, prolina i treonina. Wiązania sieciujące (krzyżowe) bądź inne pochodne zawierające siarkę (np. kwas sulfenowy, kwas sulfinowy, sulfotlenek, pochodne disiarczkowe) tworzą natomiast utlenione reszty cysteiny i metioniny [21, 46]. Wykazano, że mięso wołowe ze względu na większą zawartość żelaza i mioglobiny, tj. związków mogących działać prooksydacyjnie, jest bardziej podatne na karbonylację białek niż mięso wieprzowe czy drobiowe (tab. 1). Na procesy utleniania zachodzące *post mortem* w tkance mięśniowej (szybkość i zakres) wpływa wiele czynników przyżyciowych związanych m.in. z rasą, płcią, sposobem żywienia, stanem immunologicznym zwierząt, ich temperamentem i umiejętnością radzenia sobie ze stresem, sposobem obchodzenia się ze zwierzętami, temperaturą otoczenia podczas transportu i uboju. Znaczący jest również wpływ czynników poubojowych związanych z prowadzonymi zabiegami technologicznymi, takimi jak: elektrostymulacja, temperatura przetrzymywania tusz, pH, czas, temperatura i dostępność tlenu podczas dojrzewania mięsa, stosowane antyoksydanty, rodzaj prowadzonej obróbki termicznej [4, 55].

Pakowanie próżniowe

Ważnym elementem współczesnej dystrybucji mięsa jest wykorzystanie techniki pakowania próżniowego. Umożliwia ona ograniczenie dostępu tlenu do reaktywnych grup składników wołowiny, a tym samym ogranicza niekorzystne zmiany wywołane utlenianiem. Wykazano, że system pakowania próżniowego jest korzystniejszy w po-

równaniu z pakowaniem w modyfikowanej atmosferze (MAP), w tym również z dużą zawartością tlenu (hO_2 , ang. *high oxygen*) [12, 39, 45, 81]. Stwierdzono, że steki wołowe pakowane próżniowo odznaczały się lepszą stabilnością barwy, zachowaniem witaminy E, kruchością, soczystością, a nawet w pewnym stopniu zapachem, w porównaniu z mięsem pakowanym w MAP i MAP hO_2 [12, 39].

Główną zaletą stosowania technologii pakowania MAP z wysoką koncentracją tlenu ($70 \div 80 \% \text{O}_2$) w sprzedaży detalicznej mięsa kulinarnego jest przede wszystkim wytworzenie i utrzymanie barwy jasnoczerwonej, pożądanej przez konsumentów, związanej z wykształceniem oksymyoglobiny. Jakkolwiek wprowadzenie do atmosfery dodatkowego CO_2 ($20 \div 30 \%$) przedłuża (wskutek hamowania rozwoju mikroflory) okres przechowywania mięsa, to i tak jest on znacznie krótszy niż w przypadku mięsa pakowanego próżniowo [43, 45, 53]. Wykazano, że jakość sensoryczna mięsa pakowanego w MAP hO_2 była akceptowana tylko do 7. dnia dojrzewania poubojowego [45]. Pakowanie takie było zalecane dla wołowiny dojrzewającej krótko, tj. od 5 do 10 dni [43]. Podobną opinię sformułowali wcześniej Insausti i wsp. [31], którzy wykazali, że oceniana sensorycznie barwa mięsa pakowanego w systemie MAP hO_2 była akceptowana tylko do 10. dnia chłodniczego przechowywania ze względu na wysokie stężenie metmyoglobiny odpowiedzialnej za brązowienie jego powierzchni. Wysokie stężenie tlenu w atmosferze przyspiesza w znacznym stopniu utlenianie składników mięsa, zwiększa sieciowanie białek oraz obniża stopień fragmentacji miofibrili. Powyższe niekorzystne zmiany łączone są z obniżeniem jakości (zwłaszcza sensorycznej) mięsa przechowywanego w MAP hO_2 [12, 85]. Wzrost udziału tlenu w składzie gazowym atmosfery (w przedziale $40 \div 80 \% \text{O}_2$) oraz wydłużanie chłodniczego czasu dojrzewania steków wołowych (do 12 dni) istotnie zwiększały oksydację lipidów i białek mięsniowych [86].

Clausen i wsp. [12], Lorenzo i Gómez [45] oraz Xiao i wsp. [81] twierdzą, że najskuteczniejszą metodą ograniczania zmian oksydacyjnych w okresie chłodniczego dojrzewania mięsa jest zastosowanie technologii pakowania próżniowego. Wykazano, że o ile w czasie kolejnych dni próżniowego dojrzewania mięsa wartość TBARS i stężenie grup karbonylowych wzrastają, to zmiany te są niezbyt zawansowane i z reguły nieistotne [12, 18, 45, 85].

Mankamentem metody pakowania próżniowego jest to, że po usunięciu z opakowania tlenu mioglobina w mięsie pozostaje w postaci purpurowej deoksymyoglobiny i brązowej metmyoglobiny, co ma niekorzystny wpływ na atrakcyjność wyglądu mięsa dla konsumenta. Podczas długiego chłodniczego dojrzewania mięso traci niekiedy zdolność do redukcji metmyoglobiny. W większości przypadków wołowina po wyjęciu z opakowania i ekspozycji na tlen uzyskuje jednak po pewnym czasie swoją pożądaną jasnoczerwoną barwę związaną z pojawieniem się jasnoczerwonej oksymyoglobiny

Tabela 1. Zawartość grup karbonylowych [nmol/mg białka] w mięsie różnych gatunków i kategorii zwierząt w zależności od systemu pakowania i czasu dojrzewania

Table 1. Protein carbonyl content [nmol/mg] in meat of different animal categories and species, depending on the packaging system and ageing time

Gatunek mięsa Meat species	System pakowania System packaging	Dojrzewanie [dni] Ageing [days]								Mrożenie Freezing	Źródło Refer- ence
		0 - 1	4 - 5	7 - 8	9 - 10	14 - 15	21				
Wieprzowina Pork	70 % O ₂ /30 % CO ₂	1,03	0,99	1,04	-	1,1	-	-	[47]		
	Próżniowo / Vacuum	1,03	0,97	1,07	-	1,05	-	-			
Mięso indycze Turkey meat	Mięso świeże – niepakowane Fresh meat – non-packaged	-	1,72	-	1,83	-	-	-	[9, 54]		
	Próżniowo / Vacuum packed	-	-	-	-	-	2,0	-			
Mięso kurcząt Chicken meat	Folia przepuszczalna dla O ₂ O ₂ permeable foil	0,46	0,62	0,81	-	-	-	-	[81]		
	Próżniowo / Vacuum packed	0,37	0,44	0,63	-	-	-	-			
Mięso zrebicęce Foal meat	80 % O ₂ /20 % CO ₂	2,27	2,51	3,06	4,60	4,73	-	-	[45]		
	Próżniowo / Vacuum	2,27	3,04	2,76	3,39	2,65	-	-			
Jagnięcina Lamb	Mięso świeże – niepakowane Fresh meat – non-packaged	-	0,74	1,13	-	-	-	-	[66]		
	80 % O ₂ /20 % CO ₂	2,0	2,2	-	2,1	-	-	-			
Wołowina Beef	Próżniowo / Vacuum packed	2,0	2,0	-	-	2,1	-	-	[42]		
	Próżniowo 5d, następnie 80 % O ₂ /20 % CO ₂ / Vacuum packed 5d, followed by 80 % O ₂ /20 % CO ₂	-	-	-	2,1	2,5	-	-			

(tzw. kwitnienie mięsa, ang. *blooming*). Nowoczesne rozwiązania próżniowego pakowania mięsa wołowego w podwójnej folii zapewniają uzyskanie w warunkach beztlenowych jasnoczerwonej barwy pożądanej przez konsumentów, a jednocześnie wydłużoną trwałość mikrobiologiczną. Taki sposób pakowania zapobiega ponadto typowemu wyciekowi, eliminuje zatem konieczność stosowania wkładek chłonących (*soaker pad*) [11].

Wydłużenie czasu próżniowego przechowywania (do 21 dni) mięśnia *longissimus thoracis* wpłynęło na wzrost wartości parametrów barwy a^* i b^* , tzn. mięso stawało się bardziej czerwone i żółte, odcień był bardziej różowy (wyższe H°), a nasycenie barwy intensywniejsze (wyższe C^*) [62][62, 63]. Z kolei Insausti i wsp. [31] w pakowanym próżniowo mięsie różnych hiszpańskich ras bydła wykazali, że w ciągu pierwszych 5 dni wartości parametrów $L^*a^*b^*C^*$ i H° wyraźnie wzrastały, a następnie do 15. dnia dojrzewania utrzymywały się na tym samym poziomie. Oliete i wsp. [63] dowodzą, że wzrost wartości parametru L^* podczas chłodniczego dojrzewania mięsa jest konsekwencją rozpadu linii Z, co powoduje lepsze rozproszenie światła i wrażenie jaśniejszej barwy mięsa. Wzrost wartości wyróżnika a^* związany jest natomiast z brakiem aktywności mitochondrialnego łańcucha oddechowego, w następstwie czego na powierzchni mięsa wzrasta ilość tlenu podchodzącego ze świeżo utworzonej czerwonej oksymyoglobiny.

W warunkach *post mortem* obniżenie aktywności redukującej mięsa, jak również procesy utleniania, są nieuniknione. Uwzględniając, że dojrzewanie mięsa wołowego prowadzone jest przede wszystkim w warunkach próżniowych, należy przyjąć, że reakcje oksydacji są w znacznym stopniu ograniczone. Należy także zaznaczyć, że utlenianie składników mięsa następuje szczególnie szybko w surowcu rozdrobnionym i w czasie jego przechowywania po obróbce cieplnej [13, 55].

Mięso o większej zawartości antyoksydantów jest mniej podatne na niekorzystne zmiany spowodowane utlenianiem. W związku z powyższym podejmuje się liczne badania nad wzbogaceniem mięsa w naturalne antyoksydanty. W przypadku mięsa nierozdrobnionego (zasadniczo dojrzewanie wołowiny prowadzone jest tylko w takiej postaci) jedną z głównych strategii podnoszenia jego potencjału oksydoredukcyjnego jest podawanie zwierzętom z paszą związków o charakterze antyoksydacyjnym. Szczególnie dobre efekty zaobserwowano w przypadku suplementacji dawek pokarmowych witaminą E oraz β -karotenem. Wykazano również, że mięso pozyskane ze zwierząt wypasanych na pastwisku (ze względu na obecność w zielonce pastwiskowej naturalnych przeciwutleniaczy) charakteryzuje się wyższą stabilnością oksydacyjną niż surowiec pozyskany ze zwierząt utrzymywanych w intensywnych technologiach, tzn. żywionych dużą ilością pasz treściwych [4, 15, 22].

Podsumowanie

Dojrzewanie jest naturalnym procesem zachodzącym *post mortem* we wszystkich mięśniach, niezależnie od tego czy znajdują się w tuszy lub w postaci całych nieosłoniętych elementów kulinarnych, czy też pakowane są próżniowo jako pojedyncze elementy. W trakcie dojrzewania zachodzi wiele złożonych procesów, których najistotniejszym rezultatem jest wzrost kruchości oraz wykształcenie pożądanego profilu smakowo-zapachowego mięsa. Warto podkreślić, że chociaż dojrzewanie ma decydujący wpływ na zmniejszenie twardości mięsa po uboju, to proces ten nie zapewnia jednakowej i równomiernej kruchości wszystkich mięśni, bowiem wiele innych czynników przed- i poubojowych decyduje o końcowej jakości surowca.

Do najważniejszych czynników negatywnie wpływających na końcową jakość mięsa (zwłaszcza na jego kruchość i smakowitość) zaliczyć należy reakcje oksydacji składników tkanki mięśniowej. Szczególnie podatna na te niekorzystne zmiany jest wołowina, ze względu na dużą zawartość substancji potencjalnie prooksydacyjnych (nienasycone lipidy, barwniki hemowe, pierwiastki katalizujące). Odpowiednio prowadzony (najczęściej w warunkach próżniowych) proces poubojowego dojrzewania wołowiny pozwala uzyskać produkt o wysokiej jakości, tzn. o odpowiedniej kruchości i smakowitości oraz bezpieczny pod względem zdrowotnym.

Literatura

- [1] Ba H.V., Hwang I., Jeong D., Touseef A.: Principle of meat aroma flavors and future prospect. In.: Latest research into quality control. Ed. I. Akyar. InTech, Rijeka 2012, pp. 145-175.
- [2] Ba H.V., Park K., Dashma D., Hwang I.: Effect of muscle type and vacuum chiller ageing period on the chemical compositions, meat quality, sensory attributes and volatile compounds of Korean native cattle beef. *Anim. Sci. J.*, 2014, **85**, 164-173.
- [3] Bauer F.: Free glutamic acid in meat products. *Ernahrung*, 1983, **7**, 688.
- [4] Bekhit A.E.D., Hopkins D.L., Fahri F.T., Ponnampalam E.N.: Oxidative processes in muscle systems and fresh meat: Sources, markers, and remedies. *Compr. Rev. Food Sci. F.*, 2013, **12**, 565-597.
- [5] Brewer S., Novakofski J.: Consumer sensory evaluations of aging effects on beef quality. *J. Food Sci.*, 2008, **73** (1), 78-82.
- [6] Bruce H.L., Beilken S.L., Leppard P.: Textural descriptions of cooked steaks from bovine m. longissimus thoracis et lumborum from different production and aging regimes. *J. Food Sci.*, 2005, **70**, 309-316.
- [7] Calkins C.R., Hodgen J.M.: A fresh look at meat flavor. *Meat Sci.*, 2007, **77**, 63-80.
- [8] Campbell R.E., Hunt M.C., Levis P., Chambers IV E.: Dry-aging effects on palatability of beef *longissimus* muscle. *J. Food Sci.*, 2001, **66**, 196-199.
- [9] Chan J.T.Y., Omana D.A., Betti M.: Effect of ultimate pH and freezing on the biochemical properties of proteins in turkey breast meat. *Food Chem.*, 2011, **127**, 109-117.
- [10] Christensen M., Erbjerg P., Failla S., Sañudo C., Richardson R.I., Nute G.R., Olleta J.L., Panea B., Albertí P., Juárez M., Hocquette J.F., Williams J.L.: Relationship between collagen characteristics, lipid content and raw and cooked texture of meat from young bulls of fifteen European breeds. *Meat Sci.*, 2011, **87**, 61-65.

- [11] Claus J.R., Du C.: Nitrite-embedded packaging film effects on fresh and frozen beef color development and stability as influenced by meat age and muscle type. *Meat Sci.*, 2013, **95**, 526-535.
- [12] Clausen I., Jakobsen M., Ertbjerg P., Madsen N.T.: Modified atmosphere packaging affects lipid oxidation, myofibrillar fragmentation index and eating quality of beef. *Packag. Technol. Sci.*, 2009, **22**, 85-96.
- [13] Dai Y., Lua Y., Wua W., Lu X., Han Z., Liua Y., Li X., Dai R.: Changes in oxidation, color and texture deteriorations during refrigerated storage of ohmically and water bath-cooked pork meat. *Innov. Food Sci. Emerg.*, 2014, **26**, 341-346.
- [14] DeGeer S.L., Hunt M.C., Bratcher L.C., Crozier-Dodson B.A., Johnson D.E., Stika J.F.: Effects of dry aging of bone-in and boneless strip loins using two aging processes for two aging times. *Meat Sci.*, 2009, **83**, 768-774.
- [15] Descalzo A.M., Sancho A.M.: A review of natural antioxidants and their effects on oxidative status, odor and quality of fresh beef produced in Argentina. *Meat Sci.*, 2008, **79**, 423-436.
- [16] Dikeman M.E., Obuz E., Gök V., Akkaya L., Stroda S.: Effects of dry, vacuum, and special bag aging; USDA quality grade; and end-point temperature on yields and eating quality of beef *Longissimus lumborum* steaks. *Meat Sci.*, 2013, **94**, 228-233.
- [17] Dolatowski Z.J., Twarda J., Dudek M.: Zmiany uwodnienia mięsa podczas dojrzewania. *Ann. UMCS, Sect. E*, 2004, **5 (94)**, 1595-1606.
- [18] Domaradzki P., Skąlecki P., Florek M., Litwińczuk A.: Wpływ przechowywania zamrażalniczego na właściwości fizykochemiczne mięsa wołowego pakowanego próżniowo. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2011, **4 (77)**, 117-126.
- [19] Epley R.J.: Aging beef. Minnesota Extension Service. University of Minnesota, St. Paul, MN, 1992, pp. 1-2.
- [20] Esterbauer H.: Cytotoxicity and genotoxicity of lipid-oxidation products. *Am. J. Clin. Nutr.*, 1993, **57 (5 Suppl.)**, 779S-785S.
- [21] Estévez M.: Protein carbonyls in meat systems: A review. *Meat Sci.*, 2011, **89**, 259-279.
- [22] Falowo A.B., Fayemi P.O., Muchenje V.: Natural antioxidants against lipid-protein oxidative deterioration in meat and meat products: A review. *Food Res. Int.*, 2014, **64**, 171-181.
- [23] Farouk M.M., Mustafa N.M., Wu G., Krsinic G.: The "sponge effect" hypothesis: An alternative explanation of the improvement in the waterholding capacity of meat with ageing. *Meat Sci.*, 2012, **90**, 670-677.
- [24] Faustman C., Liebler D.C., McClure T.D., Sun Q.R.: α , β -Unsaturated aldehydes accelerate oxymyoglobin oxidation. *J. Agric. Food Chem.*, 1999, **47**, 3140-3144.
- [25] Frederiksen A.M., Lund M.N., Andersen M.L., Skibsted L.H.: Oxidation of porcine myosin by hypervalent myoglobin: The role of thiol groups. *J. Agric. Food Chem.*, 2008, **56**, 3297-3304.
- [26] Gorraiz C., Beriain M.J., Chasco J., Insausti K.: Effect of aging time on volatile compounds, odor, and flavor of cooked beef from Pirenaica and Friesian bulls and heifers. *J. Food Sci.*, 2002, **67**, 916-922.
- [27] Hęś M., Korczak J.: Wpływ różnych czynników na szybkość utleniania się lipidów mięsa. *Nauka Przyr. Technol.*, 2007, **1 (1)**, 1-11.
- [28] Howard A., Lee C.A., Webster H.L.: C.S.I.R.O. Div. Food Pres. Tech., 1960, **21**, 3.
- [29] Hughes J.M., Oiseth S.K., Purslow P.P., Warner R.D.: A structural approach to understanding the interactions between colour, water-holding capacity and tenderness. *Meat Sci.*, 2014, **98**, 520-532.
- [30] Insausti K., Beriain M.J., Gorraiz C., Purroy A.: Volatile compounds of raw beef from 5 local Spanish cattle breeds stored under modified atmosphere. *J. Food Sci.*, 2002, **67 (4)**, 1580-1589.
- [31] Insausti K., Beriain M.J., Purroy A., Alberti P., Lizaso L., Hernandez B.: Colour stability of beef from different Spanish native cattle breeds stored under vacuum and modified atmosphere. *Meat Sci.*, 1999, **53**, 241-249.
- [32] Jeremiah L.E., Gibson L.L.: The effects of postmortem product handling and aging time on beef palatability. *Food Res. Int.*, 2003, **36**, 929-941.
- [33] Juárez M., Larsen I.L., Gibson L.L., Robertson W.M., Dugan M.E.R., Aldai N., Aalhus J.L.: Extended ageing time and temperature effects on quality of sub-primal cuts of boxed beef. *Can. J. Anim. Sci.*, 2010, **90 (3)**, 361-370.

- [34] Karwowska M., Dolatowski Z.J.: The effect of natural antioxidant on the oxidative processes in beef. *Acta Sci. Pol. Technol. Aliment.*, 2007, **6** (1), 17-25.
- [35] Kołczak T., Krzysztoforski K., Palka K.: Effect of *post-mortem* ageing, method of heating and re-heating on collage solubility, shear force and texture parameters of bovine muscles. *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, 2008, **58** (1), 27-32.
- [36] Kołczak T.: Jakość wołowiny. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2008, **1** (56), 5-22.
- [37] Koutsidis G., Elmore J.S., Oruna-Concha M.J., Campo M.M., Wood J.D., Mottram D.S.: Water-soluble precursors of beef flavour. Part II: Effect of *post-mortem* conditioning. *Meat Sci.*, 2008, **79**, 270-277.
- [38] Kristensen L., Purslow P.P.: The effect of ageing on the water-holding capacity of pork: Role of cytoskeletal proteins. *Meat Sci.*, 2001, **58**, 17-23.
- [39] Lagerstedt A., Lundström K., Lindahl G.: Influence of vacuum or high-oxygen modified atmosphere packaging on quality of beef *m. longissimus dorsi* steaks after different ageing times. *Meat Sci.*, 2011, **87**, 101-106.
- [40] Laster M.A., Smith R.D., Nicholson K.L., Nicholson J.D.W., Miller R.K., Griffin D.B., Harris K.B., Savell J.W.: Dry versus wet aging of beef: Retail cutting yields and consumer sensory at-tribute evaluations of steaks from ribeyes, strip loins, and top sirloins from two quality grade groups. *Meat Sci.*, 2008, **80**, 795-804.
- [41] Li Y., Liu R., Zhang W., Fu Q., Liu N., Zhou G.: Effect of nitric oxide on μ -calpain activation, protein proteolysis, and protein oxidation of pork during *post-mortem* aging. *J. Agric. Food Chem.*, 2014, **62**, 5972-5977.
- [42] Lindahl G., Lagerstedt A., Ertbjerg P., Sampels S., Lundström K.: Ageing of large cuts of beef loin in vacuum or high oxygen modified atmosphere-effect on shear force, calpain activity, desmin degradation and protein oxidation. *Meat Sci.*, 2010, **85**, 160-166.
- [43] Lindahl G.: Colour stability of steaks from large beef cuts aged under vacuum or high oxygen modified atmosphere. *Meat Sci.*, 2011, **87**, 428-435.
- [44] Litwińczuk Z., Barłowska J., Florek M., Tabała K.: Slaughter value of heifers, cows and young bulls from commercial beef production in the central-eastern region of Poland. *Anim. Sci. Pap. Rep.*, 2006, **24** (2 Suppl.), 187-194.
- [45] Lorenzo J.M., Gómez M.: Shelf life of fresh foal meat under MAP, over wrap and vacuum packaging conditions. *Meat Sci.*, 2012, **92**, 610-618.
- [46] 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.
- [47] Lund M.N., Lametsch R., Hviid M.S., Jensen O.N., Skibste L.H.: High-oxygen packaging atmosphere influences protein oxidation and tenderness of porcine *longissimus dorsi* during chill storage. *Meat Sci.* 2007, **77**, 295-303.
- [48] Lundesjö Ahnström M., Seyfert M., Hunt M.C., Johnson D.E.: Dry aging of beef in a bag highly permeable to water vapour. *Meat Sci.*, 2006, **73**, 674-679.
- [49] Lynch M.P., Faustman C.: Effect of aldehyde lipid oxidation products on myoglobin. *J. Agric. Food Chem.*, 2000, **48**, 600-604.
- [50] Martínez J., Nieto G., Ros G.: Total antioxidant capacity of meat and meat products consumed in a reference 'Spanish standard diet'. *Int. J. Food Sci. Technol.*, 2014, **49**, 2610-2618.
- [51] Maughan C., Tansawat R., Cornforth D., Ward R., Martini S.: Development of a beef flavor lexicon and its application to compare the flavor profile and consumer acceptance of rib steaks from grass- or grain-fed cattle. *Meat Sci.*, 2012, **90**, 116-21.
- [52] McKenna D.R., Mies P.D., Baird B.E., Pfeiffer K.D., Ellebracht J.W., Savell J.W.: Biochemical and physical factors affecting discoloration characteristics of 19 bovine muscles. *Meat Sci.*, 2005, **70**, 665-682.
- [53] McMillin K.W.: Where is MAP going? A review and future potential of modified atmosphere packaging for meat. *Meat Sci.*, 2008, **80**, 43-65.
- [54] Mercier Y., Gatellier Ph., Viau M., Remignon H., Renner M.: Effect of dietary fat and vitamin E on colour stability and lipid and protein oxidation in turkey meat during storage. *Meat Sci.*, 1998, **48**, 301-318.

- [55] Min B, Ahn D.U.: Mechanism of lipid peroxidation in meat and meat products: A review. *Food Sci. Biotechnol.*, 2005, **14**, 152-163.
- [56] Min B., Nam K.C., Cordray J., Ahn D.U.: Endogenous factors affecting oxidative stability of beef loin, pork loin, and chicken breast and thigh meats. *J. Food Sci.*, 2008, **73**, 439-446.
- [57] Monsón F., Sañudo C., Sierra I.: Influence of breed and ageing time on the sensory meat quality and consumer acceptability in intensively reared beef. *Meat Sci.*, 2005, **71**, 471-479.
- [58] Mottram D.S.: Flavor formation in meat and meat products: A review. *Food Chem.*, 1998, **62**, 415-424.
- [59] Myers A.J., Scramlin S.M., Dilger A.C., Souza C.M., McKeith F.K., Killefer J.: Contribution of lean, fat, muscle color and degree of doneness to pork and beef species flavor. *Meat Sci.*, 2009, **82**, 59-63.
- [60] Ngapo T.M., Berge P., Culioli J., Dransfield E., De Smet S., Claeys E.: Perimysial collagen cross-linking and meat tenderness in Belgian Blue double-muscling cattle. *Meat Sci.*, 2002, **61**, 91-102.
- [61] Novakofski J., Brewer M.S.: The paradox of toughening during the aging of tender steaks. *J. Food Sci.*, 2006, **71**, 473-479.
- [62] Oliete B., Carballo J.A., Varela A., Moreno T., Monserrat L., Sanchez L.: Effect of weaning status and storage time under vacuum upon physical characteristics of meat of the Rubia Gallega breed. *Meat Sci.*, 2006, **73**, 102-108.
- [63] Oliete B., Moreno T., Carballo J.A., Varela A., Monserrat L., Sánchez L.: Influence of ageing time on the quality of yearling calf meat under vacuum. *Eur. Food Res. Technol.*, 2005, **220**, 489-493.
- [64] Palka K.: The influence of *post-mortem* ageing and roasting on the microstructure, texture and collagen solubility of bovine semitendinosus muscle. *Meat Sci.*, 2003, **64**, 191-198.
- [65] Pastsart U., De Boever M., Claeys E., De Smet S.: Effect of muscle and *post-mortem* rate of pH and temperature fall on antioxidant enzyme activities in beef. *Meat Sci.*, 2013, **93**, 681-686.
- [66] Petron M.J., Raes K., Claeys E., Lourenço M., Fremaut D., De Smet S.: Effect of grazing pastures of different botanical composition on antioxidant enzyme activities and oxidative stability of lamb meat. *Meat Sci.*, 2007, **75**, 737-745.
- [67] Popova T., Marinova P., Vasileva V., Gorinov Y., Lidji K.: Oxidative changes in lipids and proteins in beef during storage. *Arch. Zoot.*, 2009, **12 (3)**, 30-38.
- [68] 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.
- [69] Santé-Lhoutellier V., Engel E., Aubry L., Gatellier P.: Effect of animal (lamb) diet and meat storage on myofibrillar protein oxidation and in vitro digestibility. *Meat Sci.*, 2008, **79**, 777-783.
- [70] Savell J.W.: Dry-aging of beef. Center for Research and Knowledge Management, National Cattleman's Beef Association, Centennial, CO, 2008, pp. 1-12.
- [71] Schäfer A., Rosenvold K., Purslow P.P., Andersen H.J., Henckel P.: Physiological and structural events *post mortem* of importance for drip loss in pork. *Meat Sci.*, 2002, **61**, 355-366.
- [72] Shahidi F.: Lipid-derived flavours in meat products. In: *Meat Processing: Improving Quality*. Eds. J. Kerry, J. Kerry, D. Ledward. Woodhead Publishing Ltd, Cambridge 2002, pp. 105-121.
- [73] Shanks B.C., Wulf D.M., Maddock R.J.: Technical note: The effect of freezing on Warner-Bratzler shear force values of beef longissimus steaks across several postmortem aging periods. *J. Anim. Sci.*, 2002, **80**, 2122-2125.
- [74] Sierra V., Guerrero L., Fernández-Suárez V., Martínez A., Castro P., Osoro K., Rodríguez-Colunga M.J., Coto-Montes A., Oliván M.: Eating quality of beef from biotypes included in the PGI "Ternera Asturiana" showing distinct physicochemical characteristics and tenderization pattern. *Meat Sci.*, 2010, **86**, 343-351.
- [75] Sitz B.M., Calkins C.R., Feuz D.M., Umberger W.J., Eskridge K.M.: Consumer sensory acceptance and value wet-aged and dry-aged beef steaks. *J. Anim. Sci.*, 2006, **84**, 1221-1226.
- [76] Stenström H., Li X., Hunt M.C., Lundström K.: Consumer preference and effect of correct or misleading information after ageing beef longissimus muscle using vacuum, dry ageing, or a dry ageing bag. *Meat Sci.*, 2014, **96**, 661-666.

- [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] Ventanas S., Estévez M., Tejeda J.F., Ruiz J.: Protein and lipid oxidation in *Longissimus dorsi* and dry cured loin from Iberian pigs as affected by crossbreeding and diet. *Meat Sci.*, 2006, **72**, 647-655.
- [79] Wajda S.: Możliwości wzrostu produkcji i poprawy jakości wołowiny. *Gosp. Mięś.*, 2006, **12**, 26-29.
- [80] Warren K.E., Kastner C.L.: A comparison of dry-aged and vacuum-aged beef strip loins. *J. Muscle Foods*, 1992, **3**, 151-157.
- [81] Xiao S., Zhang W.G., Lee E.J., Ma C.W., Ahn D.U.: Effects of diet, packaging, and irradiation on protein oxidation, lipid oxidation, and color of raw broiler thigh meat during refrigerated storage. *Poult. Sci.*, 2011, **90**, 1348-1357.
- [82] Yancey E.J., Dikeman M.E., Hachmeister K.A., Chambers IV E.C., Milliken G.A.: Flavor characterization of top blade, top sirloin, and tenderloin steaks as affected by pH, maturity, and marbling. *J. Anim. Sci.*, 2005, **831**, 2618-2623.
- [83] Yancey E.J., Grobbel J.P., Dikeman M.E., Smith J.S., Hachmeister K.A., Chambers IV E.C.: Effects of total iron, myoglobin, hemoglobin, and lipid oxidation of uncooked muscles on livery flavor development and volatiles of cooked beef steaks. *Meat Sci.*, 2006, **73** (4), 680-686.
- [84] Yim D., Jo C., Kim H., Cha J., Kim H.C., Nam K.: Combined effect of irradiation and ageing condition on physicochemical and microbial quality of Hanwoo eye of round. *Korean J. Food Sci. An.*, 2015, **35** (3), 406-412.
- [85] Zakrys P.I., Hogan S.A., O'Sullivan M.G., Allen P., Kerry J.P.: Effects of oxygen concentration on the sensory evaluation and quality indicators of beef muscle packed under modified atmosphere. *Meat Sci.*, 2008, **79**, 648-655.
- [86] Zakrys-Waliwander P.I., O'Sullivan M.G., Allen P., O'Neill E.E., Kerry J.P.: Investigation of the effects of commercial carcass suspension (24 and 48 h) on meat quality in high oxygen modified atmosphere packed beef steaks during chill storage. *Food Res. Int.*, 2010, **43**, 277-284.

CHANGES IN PHYSICOCHEMICAL AND SENSORY PROPERTIES OF BEEF MEAT DEPENDING ON ITS AGEING CONDITIONS

S u m m a r y

In terms of nutritional value beef is a very valued variety of meat. In order to obtain a high culinary value, this raw material requires treatments to develop desirable sensory properties of meat. The quality characteristics of beef are substantially improved during a reasonably long period of ageing, which is a natural process that takes place in each muscle of the carcass after a *rigor mortis* phase. Beef has been aged in cold storage conditions for over a century. Dry or wet ageing are currently used on an industrial scale. They are carried out either intentionally (with a target set) or incidentally as one of the elements of meat distribution and sales. The paper presents various methods and conditions of beef ageing (including packaging) and their effect on the quality properties of meat (water-holding capacity, tenderness, and palatability). In addition to the unquestionably positive aspects of post-slaughter ageing of beef, those processes are also shown, which may negatively affect the final meat quality, mainly because of the oxidation of muscle tissue components (lipids, pigments, and proteins). When conducted properly (usually under the vacuum conditions), the post-mortem ageing process of beef meat makes it possible to obtain a product of high quality, i.e. properly tender and palatable as well as safe in terms of health. The analysis of the reference literature available shows that the culinary beef meat achieves its full sensory values in the third week of ageing at 2 ÷ 4 °C.

Key words: beef, ageing, oxidation, packaging systems ☒

JOLANTA CALIK

OCENA ZAWARTOŚCI WYBRANYCH SKŁADNIKÓW CHEMICZNYCH W JAJACH KURZYCH W ZALEŻNOŚCI OD CYKLU ICH PRODUKCJI

Streszczenie

Celem pracy była ocena zawartości wybranych składników chemicznych w jajach pochodzących od czterech ras kur nieśnych objętych programem ochrony zasobów genetycznych, w zależności od cyklu ich nieśności.

Materiał do badań stanowiły jaja pobrane od Zielononózki kuropatwianej (Z-11), Żółtonózki kuropatwianej (Ż-33), Sussex (S-66), Leghorn (G-99) oraz zestawu towarowego o handlowej nazwie Hy-Line Brown. Nioski utrzymywane były w fermie Zakładu Doświadczalnego Instytutu Zootechniki – PIB w Chorzelowie k. Mielca. Analizy chemiczne jaj wykonano w 33. i 83. tygodniu życia kur.

W 33. tygodniu życia kur największą zawartością białka ogółem oraz związków mineralnych w postaci popiołu surowego wyróżniały się białka jaj kur Hy-line Brown, natomiast w 83. tygodniu – pochodzące od kur: S-66, G-99 i Hy-Line Brown, przy równocześnie największej w nich zawartości suchej masy i popiołu surowego. Największą zawartość białka ogółem, zwłaszcza w drugim cyklu produkcji, oznaczono w żółtkach kur ras zachowawczych Z-11 i Ż-33. Istotnie mniejszą zawartość białka ogółem w 33. i 83. tygodniu stwierdzono w żółtkach jaj pochodzących od kur G-99 i Hy-Line Brown. W żółtkach jaj kur S-66 stwierdzono największą zawartość tłuszczu, przy tendencji do jego zwiększania wraz z wiekiem kur. Zawartość cholesterolu całkowitego w żółtkach w 33. i 83. tygodniu życia kur wahała się w zakresach odpowiednio: 13,90 ÷ 14,78 i 14,29 ÷ 15,48 mg/g żółtka, przy czym kury Z-11, w porównaniu z pozostałymi badanymi rasami, znosiły jaja o najmniejszym udziale tego składnika. Zaobserwowana w drugim cyklu produkcji duża zawartość składników odżywczych wskazuje na zasadność użytkowania wszystkich ocenianych ras kur przez co najmniej półtora roku.

Słowa kluczowe: rodzime rasy kur, cykle nieśności kur, jakość jaj, białko, żółtko

Wprowadzenie

Jaja kurze to jeden z najwartościowszych produktów pochodzenia zwierzęcego, ceniony ze względu na walory odżywcze (dużą wartość biologiczną białka, witaminy,

zwłaszcza rozpuszczalne w tłuszczach: A, D, E, K oraz cenne składniki mineralne, takie jak: wapń, mangan, żelazo, cynk), jak również szerokie zastosowanie, głównie w przemyśle spożywczym [14, 26]. Konsument coraz częściej zwraca uwagę nie tylko na dostępność jaj i niską ich cenę, lecz także na ich wartość odżywczą oraz walory smakowe. Na kształtowanie się cech fizycznych i skład chemiczny jaj wpływa m.in. pochodzenie niosek, które obok żywienia, wieku czy systemu utrzymania ma kluczowe znaczenie warunkujące wartość odżywczą jaj [5, 6, 7, 10, 15, 16, 17, 22]. W obrocie handlowym najważniejsze cechy to masa jaja oraz parametry jakości skorupy, w tym: masa, grubość i gęstość, które wpływają na jej wytrzymałość [12, 18].

W wyniku zastosowania nowoczesnych metod hodowli drobiu uzyskano znaczny postęp w zakresie produktywności kur. Stwierdzono jednak, że wraz ze wzrostem nieśności pogarsza się nie tylko jakość skorupy [21], ale również jakość treści jaja [19, 20]. Ponadto postępująca intensyfikacja produkcji drobiarskiej przyczynia się do zubożenia, a nawet wyginięcia starych rodzimych ras. Polska posiada bezcenną kolekcję ras/rodów zachowawczych kur, których większość znajduje się w Instytucie Zootechniki – PIB. Każdy z rodów objętych programem ochrony stanowi odrębny genotyp, warunkujący występowanie unikatowych cech, których nie mają rasy selekcyjonowane w kierunku wysokiej produktywności. Rasy te znakomicie nadają się do drobnotowarowej gospodarki rolnej oraz w gospodarstwach agroturystycznych i proekologicznych ze względu na dobre przystosowanie do lokalnych warunków środowiskowych. Rasy rodzime charakteryzuje posiadanie genów sprzężonych z płcią, które mogą być wykorzystywane do produkcji mieszańców autoseksingowych oraz unikalne walory smakowe mięsa i jaj [8, 10].

Zwiększające się koszty wychowu 18 - 20 tygodniowych kur, wynikające głównie ze wzrostu cen pasz i energii elektrycznej, powodują, że jednosezonowe użytkowanie niosek jest mało opłacalne i celowe jest wydłużanie użytkowania kur do dwóch lub więcej okresów produkcyjnych [1]. Jak podają Sokołowicz i Krawczyk [24], następuje wówczas rozłożenie kosztów wychowu kur na większą liczbę jaj zniesionych w dwóch okresach nieśności, co przyczynia się to do zwiększenia opłacalności produkcji.

Celem pracy była ocena zawartości wybranych składników chemicznych w jajach kurzych w zależności od cyklu ich produkcji.

Material i metody badań

Material do badań stanowiły jaja pochodzące od czterech rodów kur nieśnych objętych programem ochrony zasobów genetycznych, tj. Zielononózki kuropatwianej (Z-11), Żółtonózki kuropatwianej (Ż-33), Sussex (S-66), Leghorn (G-99) oraz zestawu towarowego o handlowej nazwie Hy-Line Brown. Kury utrzymywane były w fermie Zakładu Doświadczalnego Instytutu Zootechniki – PIB w Chorzelowie k. Mielca. Wszystkie procedury doświadczenia były zgodne z wymaganiami nadanymi przez II

Lokalną Komisję Etyczną do Spraw Doświadczeń na Zwierzętach Instytutu Farmakologii PAN w Krakowie – nr decyzji/593/2009. Ptaki utrzymywano w optymalnych warunkach środowiskowych: temp. 18 - 20 °C, wilgotność względna 60 - 80 %, w systemie ściółkowym, przy obsadzie 5 szt./m². W pierwszym i drugim okresie produkcji kury żywiono standardową mieszanką dla niosek DJ, przy swobodnym dostępie do wody i paszy. W tab. 1. przedstawiono wyniki analizy podstawowych składników pokarmowych mieszanki DJ-1, którą wykonano w Centralnym Laboratorium Instytutu Zootechniki PIB (CL IZ PIB) zgodnie z metodyką AOAC [4]. Podane zawartości poszczególnych składników są zgodne z zaleceniami żywieniowymi dla kur nieśnych [23].

Tabela 1. Skład chemiczny mieszanki paszowej stosowanej w żywieniu kur

Table 1. Chemical composition of feed mixture used to feed hens

Sucha masa Dry matter [%]	Popiół surowy Crude ash [%]	Białko ogółem Total protein [%]	Tłuszcz surowy Crude fat [%]	Włókno surowe Crude fibre [%]
89,11	11,28	16,93	2,15	2,54

Od niosek każdej rasy i w każdym cyklu produkcyjnym pobierano po 20 jaj. Badania wykonywano w 33. i 83. tygodniu życia kur. W białku jaja oznaczano zawartość [%]: suchej masy, białka ogółem i związków mineralnych w postaci popiołu surowego. W żółtku jaja oznaczano zawartość [%]: suchej masy, białka ogółem, związków mineralnych w postaci popiołu surowego, tłuszczu surowego oraz zawartość cholesterolu całkowitego [mg/g].

W Centralnym Laboratorium IZ – PIB w treści jaj oznaczano zawartość [4]:

- suchej masy – metodą suszarkową – P001, wersja 1 z 21.02.01 r.,
- związków mineralnych w postaci popiołu surowego metodą wagową po spopieieniu próbki – P002, wersja 1 z 24.05.01 r.,
- białka ogółem – metodą Kjeldahla (współczynnik przeliczeniowy azotu na białko = 6,25) – P005, wersja 1 z 29.06.01 r.,
- tłuszczu surowego – metodą Soxleta – P 004.1, wersja 1 z 24.05.01 r.,
- cholesterolu całkowitego – metodą Wasburna i Nixa [27], przy użyciu aparatu EPOLL 20 i przy $\lambda = 500$ nm.

Uzyskane wyniki poddano analizie wariancji, a istotność różnic między wartościami średnimi weryfikowano testem Duncana. Obliczenia wykonano w programie statystycznym Statgraphics Plus 5.1.

Wyniki i dyskusja

Zgodnie z programem ochrony zasobów genetycznych kur nieśnych w stadach zachowawczych prowadzony jest losowy dobór par do kojarzeń w reprodukcji, przy założeniu odpowiedniej rotacji kogutów. Ponad to nie prowadzi się selekcji, zatem wszelkie zmiany zachodzące w kształtowaniu się wartości badanych cech wynikają z właściwości genetycznej danej populacji oraz warunków środowiskowych, w jakich przebywają ptaki [8].

Wyniki badań cech chemicznych białka jaj pochodzących od czterech stad zachowawczych i komercyjnego zestawu hodowlanego przedstawiono w tab. 2. Pod względem podstawowego składu białka jaj wykazano, że w 33. tygodniu życia kur największą zawartością białka ogółem (11,68 %) oraz związków mineralnych w postaci popiołu (0,69 %) wyróżniały się jaja niosek Hy-line Brown. W 83. tygodniu największej białka stwierdzono w białku jaj rodów S-66, G-99 i Hy-Line Brown (11,13 ÷ 11,23 %), przy największej zawartości suchej masy (12,97 ÷ 13,16 %) i popiołu (0,68 ÷ 0,70 %). Najmniejszą zawartość białka, zarówno w 33., jak i w 83. tygodniu życia ptaków zaobserwowano w białku jaj rodu Ż-33 (10,10 ÷ 10,90 %), przy również najmniejszej zawartości popiołu (0,63 ÷ 0,67 %) i suchej masy (11,77 ÷ 12,80 %), a różnice w tych zakresach potwierdzono statystycznie ($p < 0,05$ i $p < 0,01$). Współczynnik zmienności tych cech w 33., jak i w 83. tygodniu był na ogół niski i nie przekroczył 6 %. Przyjmuje się, że zawartość suchej masy w białku wynosi średnio 12 ÷ 13 % [26] i takie średnie wartości tej cechy stwierdzono w badaniach własnych. W porównaniu z wynikami uzyskanymi przez Lewko i Gornowicz [17], które prowadziły badania siedmiu krajowych rodów kur nieśnych, oceniane białko jaj wyróżniało się większą zawartością białka ogółem przy porównywalnej zawartości wody.

Skład chemiczny żółtka jaj przedstawiono w tab. 3. W 33. tygodniu życia kur zawartości suchej masy i popiołu były najmniejsze w żółtkach jaj rodu G-99 (odpowiednio: 49,58 i 1,51 %), natomiast największe – w żółtkach kur Z-11 i S-66 (odpowiednio: 51,31 ÷ 51,35 % i 1,64 ÷ 1,66 %), a różnice w tym zakresie potwierdzono statystycznie ($p < 0,05$). Podobne istotne ($p < 0,01$) różnice odnotowano w 83. tygodniu życia ptaków. Największą zawartość białka ogółem zarówno w 33., jak i w 83. tygodniu życia ptaków stwierdzono w żółtkach jaj: Z-11 (16,56 ÷ 16,81 %) i Ż-33 (16,35 ÷ 16,77 %), natomiast najmniejszą – w żółtkach jaj: G-99 (15,17 ÷ 15,62 %) i Hy-Line Brown (15,23 ÷ 15,48 %), przy różnicach statystycznych istotnych na poziomie $p < 0,01$. Największą zawartość tłuszczu surowego oznaczono w żółtkach jaj rodu S-66 (33,56 ÷ 33,96 %), przy średnich wartościach 31,28 ÷ 32,21 % w żółtkach pozostałych ras. Zaobserwowano tendencję do zwiększania poziomu tego składnika wraz z wiekiem kur. Jednocześnie stwierdzono, że w żółtkach jaj ptaków Z-11, które zawierały najmniej tłuszczu surowego, było najwięcej białka ogółem. Podobną tendencję między wymienionymi parametrami wykazały Czaja i Gornowicz [9].

Tabela 2. Podstawowy skład chemiczny białka jaj pochodzących od kur różnego pochodzenia, determinowany cyklem produkcyjnym
 Table 2. Basic chemical composition of egg white in eggs derived from hens of various breeds as determined by production cycle

Wyróżnienie Specification	Tydzień Week		Z-11		Ż-33		S-66		G-99		Hy-Line Brown	
	$\bar{x} \pm s / SD$	V [%]	$\bar{x} \pm s / SD$	V [%]	$\bar{x} \pm s / SD$	V [%]	$\bar{x} \pm s / SD$	V [%]	$\bar{x} \pm s / SD$	V [%]	$\bar{x} \pm s / SD$	V [%]
Sucha masa Dry matter [%]	33.	13,22 ± 0,42	3,14	12,80 ± 0,28	2,20	13,49 ± 0,30	2,26	13,06 ± 0,44	3,39	13,57 ± 0,75	5,54	
	83.	12,57 ^b ± 0,45	3,57	11,77 ^A ± 0,62	5,24	12,97 ^B ± 0,21	1,67	13,04 ^B ± 0,58	4,45	13,16 ^B ± 0,43	3,24	
-	NS	-	**	-	-	*	-	NS	-	NS	-	
Zw. miner. jako popiół surowy Mineral com- pounds as crude ash [%]	33.	0,66 ± 0,03	4,19	0,67 ± 0,04	5,99	0,69 ± 0,04	5,79	0,67 ± 0,01	1,30	0,69 ± 0,02	2,80	
	83.	0,66 ± 0,02	2,57	0,63 ^A ± 0,03	4,17	0,68 ± 0,03 b	4,41	0,70 ^B ± 0,02	2,18	0,69 ^b ± 0,02	2,51	
-	NS	-	*	-	-	NS	-	NS	-	NS	-	
Białko ogółem Total protein [%]	33.	11,21 ± 0,37	3,29	10,90 ± 0,30	2,75	11,49 ± 0,15	1,34	11,33 ± 0,45	3,94	11,68 ± 0,65	5,56	
	83.	11,07 ^b ± 0,42	3,83	10,10 ^A ± 0,54	5,35	11,23 ^B ± 0,61	5,45	11,13 ^B ± 0,53	4,77	11,13 ^B ± 0,28	2,49	
-	NS	-	*	-	-	NS	-	NS	-	NS	-	

Objaśnienia / Explanatory notes:

Z-11 – Zielononóżka kuropatwiana / Greenleg Partridge; Z-33 – Żółtonóżka kuropatwiana / Yellowleg Partridge; S-66 – Sussex; G-99 – Leghorn; \bar{x} - wartość średnia / mean value; s - odchylenie standardowe / SD - standard deviation; n = 20; wartości średnie w wierszach w 83. tygodniu oznaczone różnymi literami różnią się statystycznie istotnie: A, B - przy $p < 0,01$, a, b, c, d - przy $p < 0,05$ / mean values in rows in 83 week and denoted by different letters differ statistically significantly: A, B - at $p < 0,01$, a, b, c, d - at $p < 0,05$; wartości średnie w kolumnach oznaczone gwiazdkami różnią się statystycznie istotnie: ** - przy $p < 0,01$, * - przy $p < 0,05$ / mean values in columns and denoted by asterisks differ statistically significantly: ** - at $p < 0,01$, * - at $p < 0,05$; NS - różnice nieistotne / insignificant differences.

Tabela 3. Podstawowy skład chemiczny żółtka jaj pochodzących od kur różnego pochodzenia, determinowany cyklem produkcyjnym
 Table 3. Basic chemical composition of egg yolk in eggs derived from hens of various breeds as determined by production cycle

Wyróżnienie Specification	Tydzień Week	Z-11		Ż-33		S-66		G-99		Hy-Line Brown	
		$\bar{x} \pm s / SD$	V [%]	$\bar{x} \pm s / SD$	V [%]	$\bar{x} \pm s / SD$	V [%]	$\bar{x} \pm s / SD$	V [%]	$\bar{x} \pm s / SD$	V [%]
Sucha masa Dry matter [%]	33.	51,35 ^b ± 1,04	2,02	51,04 ± 1,03	2,02	51,31 ^b ± 1,07	2,10	49,58 ^a ± 1,84	3,71	50,04 ± 0,55	1,11
	83.	52,10 ^b ± 0,98	1,82	52,12 ^b ± 1,02	1,96	52,27 ^B ± 1,09	2,09	49,48 ^A ± 1,69	3,41	50,40 ^a ± 0,42	0,83
-	-	NS	-	NS	-	NS	-	NS	-	NS	-
Zw. miner. jako popiół surowy Crude ash [%]	33.	1,66 ± 0,05 b	3,01	1,62 ^b ± 0,02	1,23	1,64 ^b ± 0,03	1,97	1,51 ^a ± 0,08	5,04	1,53 ^a ± 0,07	4,68
	83.	1,62 ± 0,09	5,54	1,56 ± 0,07	4,56	1,53 ± 0,14	9,24	1,55 ± 0,12	8,03	1,61 ± 0,05	3,10
-	-	NS	-	NS	-	NS	-	NS	-	NS	-
Białko ogłem Total protein [%]	33.	16,56 ^b ± 0,16	0,98	16,35 ^B ± 0,30	1,84	16,20 ^b ± 0,10	0,62	15,62 ^a ± 0,55	3,52	15,23 ^{Aa} ± 0,69	4,56
	83.	16,81 ^B ± 0,36	2,14	16,77 ^B ± 0,40	2,40	16,53 ^B ± 0,58	3,48	15,17 ^A ± 1,15	7,59	15,48 ± 0,48 a	3,04
-	-	NS	-	NS	-	NS	-	NS	-	NS	-
Tłuszcz surowy Crude fat [%]	33.	31,32 ^a ± 1,62	5,16	32,11 ^a ± 1,28	3,99	33,56 ^b ± 1,08	3,23	31,28 ^a ± 0,41	1,32	31,76 ^a ± 2,00	6,30
	83.	31,91 ^a ± 1,37	4,29	32,21 ^a ± 0,68	2,11	33,96 ^b ± 0,56	1,66	31,85 ^a ± 0,85	2,69	31,98 ^a ± 0,94	2,95
-	-	NS	-	NS	-	NS	-	NS	-	NS	-
Zawartość cholesterolu całkowitego Total content of cholesterol [mg/g]	33.	13,90 ^A ± 0,29	2,10	14,26 ^{ab} ± 0,33	2,34	14,78 ^{B,c,d} ± 0,36	2,43	14,40 ^{b,c} ± 0,49	3,43	14,31 ^{ab} ± 0,31	2,15
	83.	14,29 ^A ± 0,63	4,50	14,45 ^A ± 0,42	2,94	15,48 ^B ± 0,41	2,65	14,63 ^A ± 0,59	4,01	14,52 ^A ± 0,29	2,03
-	-	NS	-	NS	-	**	-	NS	-	NS	-

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

Większa zawartość tłuszczu w żółtkach kur S-66 wskazuje, że jaja tej rasy wyróżniają się cechą pożądaną w przetwórstwie, czyli większą zdolnością do emulgowania. Cecha ta jest przydatna przy produkcji galanterii cukierniczej i makaronów [16]. Wyniki badań własnych potwierdziły wyniki innych autorów. Wykazano, że istnieją różnice dotyczące chemicznych cech jaj od kur nieśnych różnego pochodzenia, będących w dwóch różnych cyklach produkcyjnych. Podobne zróżnicowanie cech podstawowego składu chemicznego jaj przedstawili Ahn i wsp. [2] oraz Dziadek i wsp. [11]. W doświadczeniach Czai i Gornowicz [9], przeprowadzonych na kurach towarowych: Rossa 1, Rossa 2, Messa 443, Messa 445, Astra D, Astra N, Astra W, Astra W-2 oraz zestawu eksperymentalnego N-11 × P-11, w dwóch okresach nieśności wykazano, że skład chemiczny jaj zmieniał się w większym stopniu w zależności od wieku kur niż ich genomu. Dotyczyło to głównie większej zawartości białka ogółem w białku i żółtku kur starszych oraz większej zawartości wody w białku i tłuszczu w żółtku jaj od kur młodszych. Natomiast cechą najmniej zmienną jaj z różnych okresów nieśności kur była zawartość popiołu i to zarówno w białku, jak i w żółtku.

Jedną z najbardziej interesujących konsumentów cech jakości jaja spożywczego jest zawartość cholesterolu całkowitego. W ostatnim okresie ukazały się prace naukowe, których autorzy zrewidowali swoje stanowisko na temat szkodliwego wpływu jaj na zdrowie człowieka. Cholesterol zaliczany do lipidów jest związkiem koniecznym do prawidłowego przebiegu wielu procesów metabolicznych [24]. Omawiany związek jako składnik błon biologicznych uczestniczy w regulacji ich struktury i funkcji. Ponadto jest wyjściowym substratem do biosyntezy hormonów sterydowych kory nadnerczy, hormonów płciowych, witaminy D₃ i kwasów żółciowych. Zawartość cholesterolu uzależniona jest od wielu czynników, m.in. od pochodzenia kur, ich wieku, systemu utrzymania i żywienia [3, 25].

W badaniach własnych ogólna zawartość cholesterolu, wyrażona w mg/g żółtka, w 33. i 83. tygodniu życia kur wahała się w granicach odpowiednio: 13,90 ÷ 14,78 i 14,29 ÷ 15,48. Kury Z-11 w porównaniu z pozostałymi ocenianymi rodami znosiły jaja o najmniejszym jego udziale, co zostało potwierdzone statystycznie ($p < 0,05$ i $p < 0,01$). Mniejsza zawartość cholesterolu w 1 g żółtka niosek Z-11 w porównaniu z pozostałymi rasami kur jest zgodna z wcześniejszymi badaniami Cywy-Benko [10] oraz Stępińskiej i wsp. [25] i wskazuje na genetyczne uwarunkowanie tej cechy. W badaniach własnych największą zawartością cholesterolu zarówno w 33., jak i w 83. tygodniu charakteryzowały się jaja rodu S-66. Jak podają Zgłobica i wsp. [28], wzrost zawartości cholesterolu w żółtkach wraz z wiekiem ptaków stanowi efekt zmniejszania nieśności kur. Również Krawczyk [15] wykazała, że cecha ta jest odwrotnie proporcjonalna do tempa nieśności. Z obserwacji Jamroz i Hawalej [13] wynika, że w jajach młodych niosek, zwykle o mniejszej masie niż masa jaj ptaków dorosłych, zawartość cholesterolu jest relatywnie duża. W miarę zwiększania się nieśności kur zwiększa się

masa żółtka, które zawiera mniej cholesterolu, jednak jego ogólna zawartość w treści jaja nie ulega zmianie. Również ujemną tendencję pomiędzy zawartością cholesterolu w żółtku a masą żółtka i zawartością żółtka w jajach wykazała Stępińska i wsp. [25].

Wnioski

1. Stwierdzono różnice dotyczące cech chemicznych jaj od kur nieśnych różnego pochodzenia, będących w dwóch kolejnych cyklach produkcyjnych.
2. Najbardziej odpowiednim dla konsumenta składem chemicznym cechowały się jaja pochodzące od kur ras Zielononóżka kuropatwiana (Z-11) i Żółtonóżka kuropatwiana (Ż-33). Jaja te charakteryzowały się mniejszą ilością wody w żółtku, większą zawartością białka ogółem oraz mniejszą zawartością tłuszczu surowego i cholesterolu całkowitego w porównaniu z jajami innych badanych ras kur.
3. Zaobserwowana w drugim cyklu produkcyjnym relatywnie duża zawartość składników odżywczych wskazuje na zasadność użytkowania wszystkich ocenianych ras kur przez co najmniej półtora roku.

Literatura

- [1] Adamski M., Bernacki Z., Kuźniacka J.: Kształtowanie się jakości jaj w drugim okresie nieśności kur Tetra SL i Hy-line po przymusowym przepierzaniu. Zesz. Nauk. ART. w Bydgoszczy, Zootechnika, 2004, **244 (34)**, 87-96.
- [2] Ahn D.U., Sell J.L., Jo C., Champrusspollert M., Jeffrey M.: Effect of dietary conjugated linoleic acid on the quality characteristic of chicken eggs during refrigerated storage. Poultry Sci., 1999, **78**, 922-928.
- [3] Anash G.A., Chan C.W., Touchburn S.P., Buckland R.B.: Selection for low yolk cholesterol in leghorn-type chickens. Poultry Sci., 1985, **64**, 1-5.
- [4] AOAC: Official Methods of Analysis. 15th Edition. Association of Official Analytical Chemists. 15th Edition. Washington, DC, 1990.
- [5] Basmacioglu H., Ergul M.: Characteristic of egg in laying hens. The effect of genotype and rearing system. Turk. J. Veter. Anim. Sci., 2005, **29**, 157-164.
- [6] Biesiada-Drzazga B., Janocha A.: Wpływ pochodzenia i systemu utrzymania kur na jakość jaj spożywczych. Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 2009, **3 (64)**, 67-74.
- [7] Calik J.: Ocena jakości jaj sześciu ras kur nieśnych w zależności od ich wieku. Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 2011, **5 (78)**, 85-93.
- [8] Calik J., Krawczyk J.: Kury, gęsi i kaczki w programie ochrony zasobów genetycznych zwierząt. Wyd. IZ PIB, Kraków 2012, ss. 3-34.
- [9] Czaja L., Gornowicz E.: Wpływ genomu oraz wieku kur na jakość jaj spożywczych. Roczn. Nauk. Zoot., 2006, **33 (1)**, 59-70.
- [10] Cywa-Benko K.: Charakterystyka genetyczna i fenotypowa rodzimych ras kur objętych programem ochrony bioróżnorodności. Roczn. Nauk Zoot., 2002, **15**, 5-112.
- [11] Dziadek K., Gornowicz E., Czekalski P.: Chemical composition of table eggs as influence by the origin of laying hens. Pol. J. Food Nutr. Sci., 2003, **12 (53)**, 21-24.
- [12] Hunton, P.: Research on eggshell structure and quality: An historical overview. Braz. J. Poultry Sci., 2005, **7**, 67-71.
- [13] Jamroz D., Hawalej P.: Biologiczna rola cholesterolu i jego zawartość w jajach. Zwierzęta Gospodarskie, 1994, **3**, 19-21.

- [14] Kijowski J., Leśnierowski G.: Nowości o wartości konsumpcyjnej i użytkowej kurzych jaj. *Polskie Drobiarstwo*, 2012, **7**, 8-13.
- [15] 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.
- [16] Lewko L. Gornowicz E., Leśnierowski G.: Kształtowanie się fizyko-chemicznych cech jaj trzech krajowych rodów kur nieśnych. *Hodowca Drobiu*, 2007, **6-7**, 21-24.
- [17] Lewko L. Gornowicz E.: Egg albumen quality as affected by bird origin. *J. Cent. Europ. Agric.*, 2009, **10 (4)**, 455-464.
- [18] Nys Y., Gautron, McKee M.D, Garcia-Ruiz J.M., Hincke M.T.: Biochemical and functional characterization of eggshell matrix proteins in hens. *World's J. Poult. Sci.*, 2001, **57 (4)**, 401-413.
- [19] Pingel H., Jeroch J.: Egg Quality as influenced by genetic, management and nutritional factors. VII Europ. Symp. Quality of Eggs and Egg Products, Poznań 1997, **1**, pp. 13-27.
- [20] Premavalli K., Viswanagthan K.: Influence of age on the egg quality characteristics of commercial white leghorn chicken. *Indian J. Veter.*, 2004, **81 (11)**, 1243-1247.
- [21] Roberts J.R.: Factors affecting egg internal quality and egg shell quality in laying hens. *J. Poultry Sci.*, 2004, **41 (3)**, 161-177.
- [22] Silversides F.G., Budgell K.: The relationships among measures of egg albumen height, pH and whipping volume. *Poultry Sci.*, 2004, **83**, 1619-1623.
- [23] Smulikowska S., Rutkowski A. (Red.): *Normy Żywienia Drobiu*. IFiZZ PAN, Warszawa 2005.
- [24] Sokołowicz Z., Krawczyk J.: Economic efficiency of lengthening the productive life of laying hens through moulting. *Ann. Anim. Sci.*, 2005, **1**, 215-223.
- [25] Stępińska M., Niemiec J., Riedel J., Świerczewska E.: Zależność między zawartością cholesterolu w żółtku a wybranymi cechami jakości jaja w kilku stadach zachowawczych kur nieśnych. *Zesz. Nauk. PTZ*, 1996, **1**, 69-71.
- [26] Trziszka T.W. (Red.): *Jajczarstwo. Nauka, technologia, praktyka*. Wyd. AR we Wrocławiu, Wrocław 2000.
- [27] Washburn K.W., Nix D.F.: A rapid technique for extraction of yolk cholesterol. *Poultry Sci.*, 1974, **53**, 1118-1122.
- [28] Zgłobica A., Cywa-Benko K., Wężyk S.: The effect of adding vegetable extracts to hen feed on egg quality and layers performance. VI Europ. Symp. on the Quality of Eggs and Egg Products. Zaragoza 1995, pp. 251-256.

ASSESSMENT OF CONTENT OF SELECTED CHEMICAL COMPONENTS IN HEN EGGS DEPENDING ON THEIR PRODUCTION CYCLE

S u m m a r y

The objective of the research study was to assess the content of some chemical components in hen eggs from four laying hen breeds covered by the genetic resources conservation programme, depending on the egg production cycle.

The research material consisted of eggs from: Greenleg Partridge (Z-11), Yellowleg Partridge (Ż-33), Sussex (S-66), Leghorn (G-99) as well as from Hy-Line Brown commercial laying hens. The laying hens were kept on a farm at the Experimental Station, National Research Institute of Animal Production in Chorzele near Mielec. The chemical analyses of eggs were performed in the 33rd and 83rd week of the age of hens.

The highest content of total protein and mineral compounds in the form of crude ash was found in the eggs laid by the Hy-line Brown hens in their 33rd week of age and in the eggs laid by the S-66, G-99, and Hy-Line Brown hens in their 83rd week of age; the latter also had the highest level of dry matter and the highest level of crude ash. The highest content of total protein was determined in the yolks in the eggs produced by the Z-11 and Ż-33 hens of the conservation breeds, especially in the second year of produc-

tion. A significantly lower content of protein was reported in the yolks in the eggs laid by the G-99 and Hy-Line Brown hens in their 33rd and 83rd week of age. The yolks in the eggs laid by the S-66 laying hens had the highest concentration of fat, which tended to increase along with the age of the hens. The level of cholesterol ranged from 13.90 to 14.78 mg/g of yolk in the 33rd week of age and from 14.29 to 15.48 mg/g of yolk in the 83rd week of age, whereas the Z-11 hens produced eggs with the lowest percent level of cholesterol compared to all other hen breeds. A high content of nutrients assayed in the second production cycle proves that it is reasonable to utilize all the hen breeds studied during a period of at least one year and a half.

Key words: domestic hen breeds, hens laying cycles, egg quality, egg white, egg yolk 

KAROL MIŃKOWSKI, ARTUR KALINOWSKI, ANNA KRUPSKA

**WPLYW ENZYMATYCZNEJ I HYDROTERMICZNEJ OBRÓBK
NASION ORAZ DODATKU PRZECIWUTLENIACZA I WITAMINY E
NA STABILNOŚĆ OLEJU LNIANEGO W CZASIE
PRZECHOWYWANIA**

Streszczenie

Celem pracy było określenie wpływu obróbki enzymatycznej i hydrotermicznej nasion oraz dodatku przeciwutleniacza i witaminy E na stabilność oleju lnianego w trakcie przechowywania. Materiałem wyjściowym były nasiona lnu wysokolinolenowej odmiany „Bukoz”. Nasiona poddawano obróbce enzymatycznej i hydrotermicznej w temp. 50 °C przez 3 h. Stosowano mieszaninę enzymów: celulazę i proteazę w postaci preparatów Celluclast 1.5 L i Alcalase 2.4. Olej tłoczono na zimno w prasie ślimakowej i oczyszczano przez naturalną sedimentację i dekantację. Jako przeciwutleniacz stosowano mieszaninę α -tokoferolu, palmitynianu askorbylu i lecytyny sojowej, a jako witaminę E – octan dl- α -tokoferylu. Oleje przechowywano w brązowych butelkach szklanych, w warunkach chłodniczych, w temp. 6 °C przez 6 miesięcy. Badaniom poddano oleje pochodzące z nasion: bez obróbki, po obróbce oraz po obróbce z dodatkiem przeciwutleniacza i witaminy E. W olejach oznaczono: stopień hydrolizy, pierwotny i wtórny stopień utlenienia lipidów oraz wykonano ich ocenę sensoryczną. Ustalono, że obróbka enzymatyczna i hydrotermiczna nasion lnu przed tłoczeniem na zimno wywarła korzystny wpływ na stabilność oleju w trakcie 6-miesięcznego przechowywania w warunkach chłodniczych. Ogólny stopień utlenienia oleju na koniec okresu przechowywania, określony za pomocą wskaźnika Totox, nie przekraczał 10 jednostek, wyznaczających dobrą jakość olejów jadalnych. Stwierdzono, że obróbka enzymatyczna i hydrotermiczna nasion spowodowała znaczne zmiany w charakterystyce sensorycznej oleju, w którym wystąpiła intensywna nuta „skórki od chleba”. W trakcie przechowywania nastąpiło zmniejszenie intensywności tej nuty oraz wzrost intensywności nuty „utlenionej” i „gorzkiej”, a końcowa ocena smakowitości ogółem oleju była na granicy akceptacji i wynosiła 6 pkt w skali 10-punktowej. Dodatek przeciwutleniacza w ilości 150 mg/kg opóźnił pierwotne i wtórne procesy oksydacyjne a także ograniczył niekorzystne zmiany sensoryczne. Dodatek octanu dl- α -tokoferylu w ilości 400 mg/kg do oleju pozwolił na uzyskanie zalecanej wartości współczynnika Harrisa (0,6).

Słowa kluczowe: nasiona lnu, obróbka enzymatyczna i hydrotermiczna, olej lniany, przechowywanie

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

Wprowadzenie

Olej lniany jest bogatym źródłem kwasów tłuszczowych z rodziny *n-3*, o specyficznych cechach prozdrowotnych [5]. Olej pozyskiwany jest zwykle metodą tłoczenia na zimno całych nasion. Technologia ta jest mało efektywna i charakteryzuje się niską wydajnością [7]. Enzymatyczna i hydrotermiczna obróbka nasion przed tłoczeniem na zimno przyczynia się do wyraźnej poprawy stopnia wydobywania oleju a także zwiększenia zawartości naturalnych antyoksydantów, takich jak tokoferole i związki fenolowe [21, 22]. W procesie tym dostęp do substratu mogą mieć jednak nie tylko enzymy dodane, ale także natywne, takie jak lipaza, peroksydaza, fosfolipaza, lipooksygenaza, co sprzyja zachodzeniu niekorzystnych reakcji enzymatycznych [1, 8]. Łatwy dostęp tlenu atmosferycznego w trakcie procesu sprzyja utlenianiu oleju. Czynniki te mogą mieć wpływ na jego stabilność, czyli odporność na niekorzystne zmiany parametrów chemicznych i cech sensorycznych, począwszy od etapu pozyskania aż do momentu konsumpcji. Zmiany te mogą się pojawiać już w procesie wydobywania oleju i później w czasie jego oczyszczania, pakowania oraz przechowywania, przed zakupem i u konsumenta. Powstają one na skutek hydrolizy, autooksydacji i/lub utleniania fotosensybilizowanego. Procesy hydrolityczne wymagają obecności wody i przebiegają na drodze reakcji chemicznych, a także mogą zachodzić wskutek aktywności enzymów natywnych, pozostających po tłoczeniu olejów na zimno oraz drobnoustrojów o aktywności lipolitycznej. Ich negatywnym skutkiem jest wzrost zawartości wolnych kwasów tłuszczowych a także mono- i diacylogliceroli [5]. W wyniku oksydacyjnych przemian tłuszczów powstają nadtlenki i bardzo reaktywne rodniki, które inicjują wiele procesów obniżających jakość żywności poprzez degradację wielu witamin i innych związków biologicznie czynnych oraz zmiany cech sensorycznych. Są one szkodliwe dla zdrowia, gdyż w organizmie człowieka biorą udział m.in. w procesie kancerogenezy, mutagenezy oraz starzenia się [2, 5]. O szybkości utleniania decyduje stopień nienasylenia oleju, zawartość jonów metali proutleniających, barwników, tokoferoli, fosfolipidów, mono- i diacylogliceroli, związków fenolowych oraz czynników zewnętrznych, takich jak: dostęp tlenu, światła, temperatura i czas przechowywania [20]. Olej lniany powinien być przechowywany w warunkach chłodniczych, a jego trwałość może być podwyższona poprzez dodatek substancji o właściwościach przeciwutleniających [5, 6, 18]. Spożywanie oleju lnianego o znacznej zawartości polienowych kwasów tłuszczowych wymaga jednak jego zabezpieczenia przed utlenianiem wewnątrzustrojowym za pomocą dodatku witaminy E [5, 9]. W badaniach świeży olej lniany, otrzymany z nasion poddanych obróbce enzymatycznej i hydrotermicznej, zabezpieczono przed nadmiernym utlenianiem w czasie przechowywania poprzez dodatek przeciwutleniacza w postaci mieszaniny α -tokoferolu, palmitynianu askorbylu i lecytyny, a ochronę po-

lienowych kwasów tłuszczowych w organizmie człowieka – poprzez dodatek witaminy E w postaci octanu dl- α -tokoferylu.

Celem pracy było określenie wpływu obróbki enzymatycznej i hydrotermicznej nasion oraz dodatku przeciwutleniacza i witaminy E na stabilność oleju lnianego tłoczonego na zimno w trakcie przechowywania w warunkach chłodniczych.

Material i metody badań

Materiałem wyjściowym były nasiona lnu wysokolinolenowej odmiany „Bukoz” (IWNiRZ, Poznań) pochodzące z upraw ekologicznych, ze zbiorów roku 2013. Nasiona były zdrowe, nieuszkodzone, pozbawione zanieczyszczeń i charakteryzowały się typową wilgotnością (6,0 %) oraz zawartością tłuszczu (41,9 %). Nasiona poddawano płatkowaniu w młynie laboratoryjnym typu Gosmet wg Sadkiewicza (RSZZBM Gosmet, Bydgoszcz), wyposażonym w parę gładkich walców ze stałą szczeliną pomiędzy nimi o wielkości 0,2 mm. Uzyskane płatki nawilżano do wilgotności 20 % i poddawano obróbce enzymatycznej i hydrotermicznej w temp. 50 °C przez 3 h. Stosowano mieszaninę enzymów: celulazę i proteazę w postaci preparatów handlowych odpowiednio: Celluclast 1.5 L, oraz Alcalase 2.4 L (Novozymes, Bagsvaerd, Dania) w proporcji 10 : 90, w ilości 0,25 % suchej masy beztłuszczowej (smb) nasion. Inkubację płatków prowadzono w cieplarni laboratoryjnej typu Incubat 801 (Selecta, Barcelona, Hiszpania). Płatki po inkubacji podsuszano w suszarce owiewowej typu DA 750, (Rommelsbacher, Dinkelsbühl, Niemcy). Temperatura powietrza suszącego wynosiła 60 °C, temperatura wewnętrzna złoża płatków na półce – 44,5 °C, a przybliżony czas podsuszania do wilgotności 8,5 % to około 50 min. Olej tłoczono w prasie ślimakowej, typ UNO-SE (Farmet, Česká Skalice, Czechy). Poddawano go naturalnej sedymentacji w warunkach chłodniczych w temp. 6 °C przez 3 dni, a następnie dekantacji. Jako przeciwutleniacz stosowano mieszaninę α -tokoferolu (5 %), palmitynianu askorbylu (25 %) i lecytyny sojowej (70 %), w ilości 150 mg/kg (preparat handlowy Ronoxan A, DSM Nutritional Products, Polska). Olej wzbogacano w witaminę E poprzez dodatek octanu dl- α -tokoferylu w ilości 400 mg/kg (Sigma-Aldrich Poznań, Polska).

Badaniom przechowalniczym poddawano:

- olej z nasion bez obróbki (próba kontrolna),
- olej z nasion poddanych obróbce enzymatycznej i hydrotermicznej,
- olej z nasion poddanych obróbce enzymatycznej i hydrotermicznej, z dodatkiem przeciwutleniacza oraz witaminy E.

Oleje rozlewano do brązowych butelek szklanych o poj. 100 cm³. Próbkę przechowywano przez 6 miesięcy w warunkach chłodniczych, w temp. 6 ± 0,5 °C, bez dostępu światła (komora chłodnicza). Analizy chemiczne wykonywano w oleju świeżym oraz po 1, 2, 3, 4, 5 i 6 miesiącach, a ocenę sensoryczną – w oleju świeżym oraz po 3 i 6 miesiącach. Kolejne butelki z próbkami otwierano przed analizami, a następnie

wykluczano z dalszego badania. Zmiany chemiczne olejów określano poprzez oznaczanie liczby kwasowej (LK) [10], nadtlenkowej (LOO) [12] i anizydynowej (LA) [13] oraz wyliczanie wskaźnika oksydacji Totox (2LOO + LA), a zmiany sensoryczne – poprzez ocenę smakowitości ogółem metodą punktową (w skali 5-punktowej) oraz profilową analizę sensoryczną, w której oceniano intensywność nut: orzechowej, gorzkiej, „skórki od chleba” i utlenionej za pomocą jednostek umownych (j.u.). W opracowaniu graficznym, dla ułatwienia porównań z oceną smakowitości ogółem, stosowano skalowanie w zakresie 10 j.u. (wynik oceny mnożono przez 2). Ocenę przeprowadzał 5 - 6 osobowy zespół oceniający w Pracowni Sensorycznej, mający doświadczenie w przeprowadzaniu oceny olejów tłoczonych na zimno, przy użyciu skomputeryzowanego systemu zbierania danych ANALSENS. W olejach świeżych po tłoczeniu oznaczano także zawartość wody i substancji lotnych metodą wagową [11] oraz skład kwasów tłuszczowych – metodą chromatografii gazowej [14]. Do rozdzielania estrów stosowano kolumnę kapilarną BPX 70 (SGE, Ringwood, Australia). Wzrost temperatury kolumny zaprogramowano w następujący sposób: 140 °C (1 min), 10 °C/min do 165 °C (1 min), 0,5 °C/min do 180 °C (2 min), 1°C/min do 210 °C (2 min). Ponadto oznaczano zawartość związków fenolowych ogółem metodą Folina-Ciocalteu'a [19] oraz zawartość tokoferoli metodą chromatografii cieczowej w układzie faz odwróconych z detekcją spektrofotometryczną [15]. Stosowano kolumnę Supelcosil LC-18 (Supelco, Bellefonte, USA). Parametry pracy były następujące: temp. 30 °C, przepływ fazy ruchomej (metanol : woda, 97 : 3) 1ml/min. Oznaczano homologi α , γ i δ przy długości fali $\lambda = 292$ nm. Zawartość ekwiwalentu witaminy E (C_E) wyliczano z równania:

$$C_E = C_1 + 0,1C_2 + 0,01C_3$$

gdzie: C_1 – zawartość homologu α -T [mg/100 g], C_2 – zawartość homologu γ -T [mg/100 g], C_3 – zawartość homologu δ -T [mg/100 g]. Współczynnik Harrisa wyliczono jako stosunek zawartości ekwiwalentu witaminy E [mg] do zawartości polienowych kwasów tłuszczowych [g] w 100 g oleju.

Doświadczenia przeprowadzono w dwóch seriach, a oznaczenia wykonano w trzech powtórzeniach ($n = 2 \times 3$). Uzyskane wyniki poddano analizie statystycznej za pomocą programu Statgraphics Plus 4.1 z zastosowaniem jednoczynnikowej analizy wariancji (ANOVA) oraz testu Duncana przy $p \leq 0,05$.

Wyniki i dyskusja

W tab. 1. przedstawiono wyniki badań wybranych cech jakościowych olejów wyjściowych w poszczególnych wariantach doświadczeń. Oleje, pomimo odmiennego przygotowania surowca, charakteryzowały się bardzo dobrą smakowitością ogółem. Ich oceny punktowe były zbliżone i zawierały się w zakresie $4,4 \div 4,6$ pkt. Różniły się

one jednak wyraźnie pod względem dominujących nut smakowych. W oleju wytłoczonym z nasion bez obróbki wstępnej dominowała nuta orzechowa, natomiast w oleju pozyskanym z nasion po obróbce enzymatycznej i hydrotermicznej – nuta „skórki od chleba”. Łagodna nuta orzechowa, bez cech gorzkości i posmaku utlenionego, zwykle dominuje w olejach świeżo wytłoczonych z nasion [18, 23]. Nuta „skórki od chleba” jest charakterystyczna dla oleju lnianego tłoczonego na zimno z płatków poddawanych obróbce hydrotermicznej [7]. Jest ona prawdopodobnie skutkiem reakcji Maillarda inicjowanych przez bezpośrednią reakcję grupy karbonylowej bądź hemiacetalowej cukrów redukujących z grupą aminową aminokwasów, peptydów, lub innych związków i tworzeniem się m.in. lotnych związków o małych masach cząsteczkowych, nadających produktom charakterystyczny aromat [24]. Substraty tych reakcji występują w masie beztłuszczowej nasion lnu. Obróbka enzymatyczna i hydrotermiczna nasion różnicowała oleje pod względem wielkości liczb charakterystycznych (tab. 1). Olej z nasion poddanych obróbce miał wyższą o 11 % liczbę kwasową (2,17 mg KOH/1 g), zawierał o 40 % więcej pierwotnych produktów utlenienia, określanymi jako liczba nadtlenkowa (1,36 meq O₂/kg) oraz o 7 % więcej wtórnych produktów utlenienia, wyrażonych jako liczba anizydynowa (0,30). Wyższa kwasowość oleju wynika prawdopodobnie z ułatwionego, wskutek działania celulazy i proteazy, dostępu rodzimych enzymów lipolitycznych do substratu w czasie obróbki a także z powodu zwiększonej zawartości wody, katalizującej proces hydrolizy chemicznej [5]. Łatwiejszy dostęp tlenu atmosferycznego oraz natywnej lipooksygenazy mogły się przyczynić do wzrostu zawartości nadtlenków [1, 20]. Przy wyższych wartościach liczby nadtlenkowej w oleju pojawiło się nieznacznie więcej wtórnych produktów oksydacji.

Tabela 1. Charakterystyka olejów użytych do badań przechowalniczych
Table 1. Profile of oils used in research related to storage

Wyszczególnienie Specification	Rodzaj oleju / Type of oil		
	z nasion bez obróbki (próba kontrolna) from seeds without treatment (control sample)	z nasion po obróbce from seeds after treat- ment	z nasion po obróbce + przeciwutleniacz + wit.E / from seeds after treatment + antioxidant + vit. E
	$\bar{x} \pm s / SD$	$\bar{x} \pm s / SD$	$\bar{x} \pm s / SD$
Smakowitość ogółem [pkt] Overall palatability [score]	4,4	4,6	4,5
Dominująca nuta smakowa Dominant flavour note	lekko orzechowa bez cech gorzkości light nutty without bitterness	nuta „skórki od chleba” „crust of bread” note	nuta „skórki od chleba” „crust of bread” note
Liczba kwasowa Acid value [mg KOH/g]	1,95 ^A ± 0,04	2,17 ^B ± 0,05	2,17 ^B ± 0,05

Liczba nadtlenkowa Peroxide value [meq O ₂ /kg]	0,83 ^A ± 0,05	1,36 ^B ± 0,06	1,36 ^B ± 0,06
Liczba anizydynowa Anisidine value [-]	0,28 ^A ± 0,02	0,30 ^B ± 0,02	0,30 ^B ± 0,02
Wskaźnik Totox Totox index [-]	1,94 ± 0,05	3,02 ± 0,06	3,02 ± 0,06
Zawartość wody i substancji lotnych / Content of water and volatile substances [%]	0,37 ^A ± 0,02	0,41 ^B ± 0,02	0,41 ^B ± 0,02
Zawartość związków fenolowych ogółem Total content of phenolic compounds [mg/kg]	14,1 ^A ± 0,6	15,6 ^B ± 0,7	15,6 ^B ± 0,7
Zawartość tokoferoli ogółem Total content of tocopherols [mg/kg] w tym: / including:	496,0 ^A ± 14,7	522,4 ^B ± 15,8	929,9 ^C ± 16,9
α-tokoferol / α-tocopherol	3,9 ^A ± 0,2	4,0 ^A ± 0,3	11,5 ^B ± 0,3
γ-tokoferol / γ-tocopherol	479,2 ^A ± 15,6	505,7 ^B ± 16,2	505,7 ^B ± 16,2
δ-tokoferol / δ-tocopherol	12,9 ^A ± 0,3	12,7 ^B ± 0,3	12,7 ^B ± 0,3
octan dl-α-tokoferylu	-	-	400,0 ± 0,2
dl-α-tocopheryl acetate	-	-	-
Ekwiwalent witaminy E Vitamin E equivalent [mg/100g]	5,2	5,5	46,2
Zawartość polienowych kwasów tłuszczowych Content of PUFA [%]	74,6 ^A ± 1,1	74,4 ^A ± 1,6	74,4 ^A ± 1,6
Współczynnik Harrisa Harris coefficient	0,1	0,1	0,6

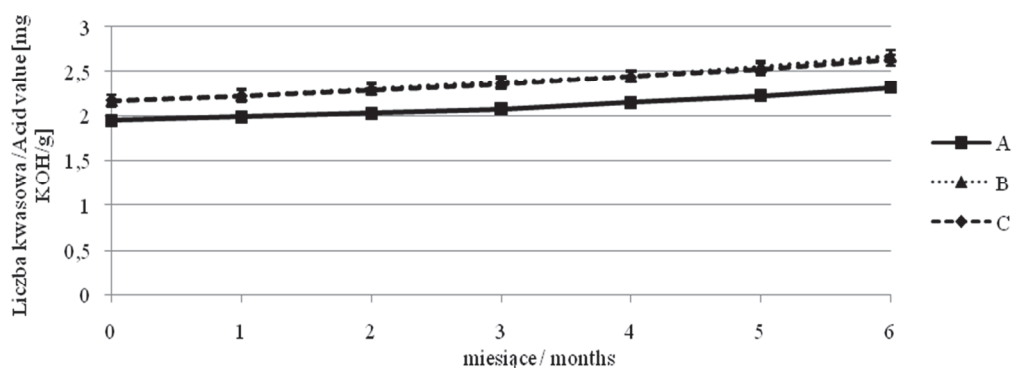
Objaśnienia / Explanatory notes:

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

Wartości liczb charakterystycznych olejów użytych do badań przechowalniczych były znacznie niższe niż maksymalne limity dla olejów tłoczonych na zimno (LK ≤ 4 mg KOH/g, LOO ≤ 15 meq. O₂ /kg), wymienione w Codex Stan 210 [4]. Podwyższona zawartość wody (0,41 %) w oleju pochodzącym z nasion poddanych obróbce mogła sprzyjać zwiększonemu przechodzeniu związków fenolowych o naturze hydrofilowej [25], których było o 11 % więcej (zwiększenie zawartości z 14,1 do 15,6 mg/kg). Związki fenolowe pełnią funkcje naturalnych przeciwutleniaczy i wywierają znaczący, pozytywny wpływ na stabilność oksydacyjną olejów [20]. Olej z nasion po obróbce enzymatycznej i hydrotermicznej zawierał o około 4 % więcej tokoferoli, związków o silnych właściwościach przeciwutleniających [5]. Wiadomo jest, że

w miarę głębszego wydobycia oleju wzrasta w nim zawartość substancji niezmydlających, w tym tokoferoli [8]. Trzecim olejem poddanym badaniom przechowalniczym był olej z nasion po obróbce enzymatycznej i hydrotermicznej z dodatkiem przeciwutleniacza i witaminy E. Ich dodatek miał wpływ na skład i zawartość tokoferoli. Nastąpił wzrost zawartości tokoferoli ogółem, w tym α -tokoferolu (z 4,0 do 11,5 mg/kg) oraz octanu dl-alfa-tokoferylu, który jako dodany pojawił się w składzie. Obróbka nasion oraz zastosowane substancje dodatkowe nie miały istotnego wpływu na zawartość polienowych kwasów tłuszczowych (α -linolenowego i linolowego) w olejach wyjściowych. Dodatek octanu dl-alfa tokoferylu w ilości 400 mg/kg pozwolił na uzyskanie zalecanego stosunku zawartości ekwiwalentu witaminy E [mg] do zawartości polienowych kwasów tłuszczowych [g] w 100 g oleju (współczynnik Harrisa), który powinien wynosić 0,6 [5, 9].

Oleje przechowywano przez 6 miesięcy w warunkach chłodniczych. Przebieg zmian chemicznych olejów, określonych za pomocą liczb charakterystycznych, przedstawiono na rys. 1 - 3.

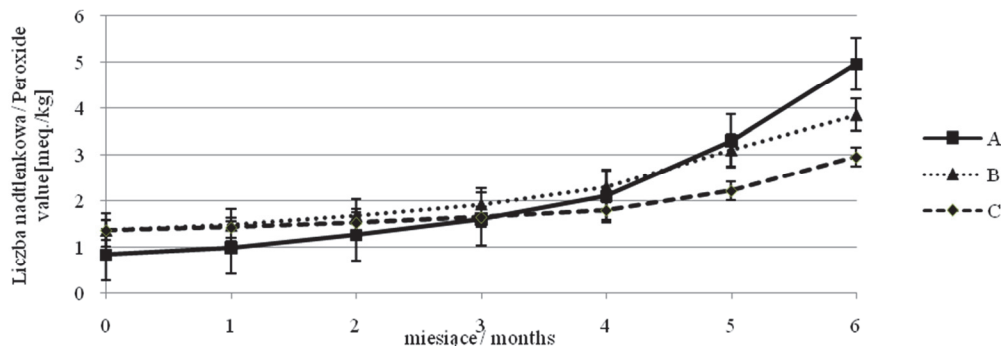


Objaśnienia / Explanatory notes:

A – olej z nasion bez obróbki / oil from seeds without pretreatment; B – olej z nasion po obróbce / oil from seeds after pretreatment; C – olej z nasion po obróbce z dodatkiem przeciwutleniacza i witaminy E / oil from seeds after pretreatment with antioxidant and vitamin E added. Wykresy B i C pokrywają się / Graphs B and C are overlap.

Rys. 1. Wpływ obróbki wstępnej nasion lnu oraz dodatku przeciwutleniacza i witaminy E na liczbę kwasową oleju

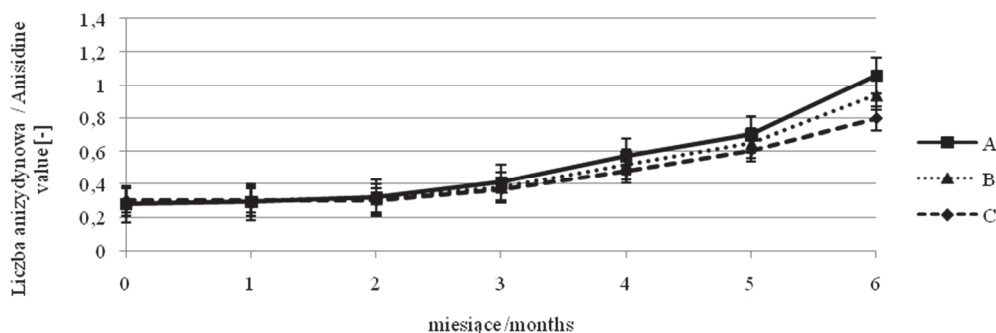
Fig. 1. Effect of pre-treatment of flaxseeds and of adding antioxidant and vitamin E on acid value of oil



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

Rys. 2. Wpływ obróbki wstępnej nasion lnu oraz dodatku przeciwutleniacza i witaminy E na liczbę nad-tlenkową oleju

Fig. 2. Effect of pre-treatment of flaxseeds and of adding antioxidant and vitamin E on peroxide value of oil



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

Rys. 3. Wpływ obróbki wstępnej nasion lnu oraz dodatku przeciwutleniacza i witaminy E na liczbę anizydynową oleju

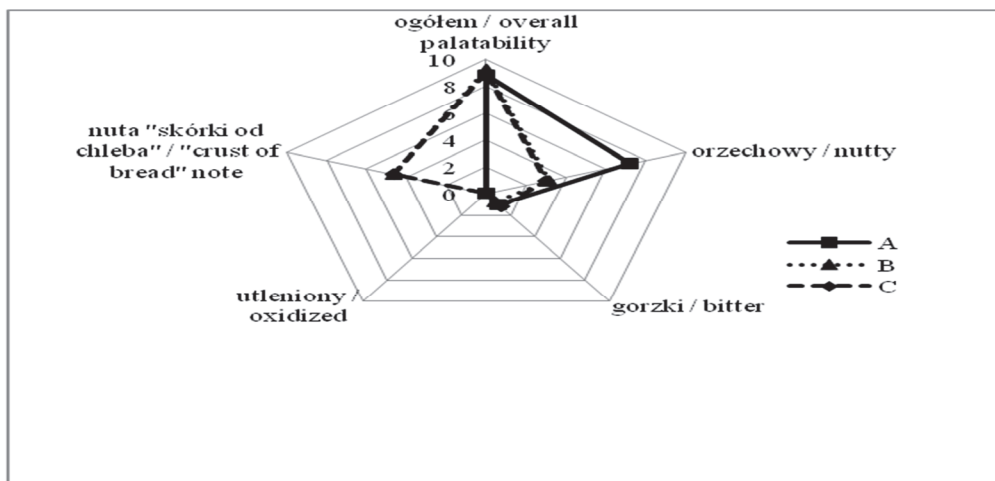
Fig. 3. Effect of pre-treatment of flaxseeds and of adding antioxidant and vitamin E on anisidine value of oil

Liczba kwasowa, charakteryzująca zmiany hydrolityczne, wzrastała stopniowo, ale w dość ograniczonym zakresie – w oleju wytłoczonym z nasion bez obróbki z 1,95 do 2,32 mg KOH/g, a w oleju po obróbce nasion (o większej zawartości wody) – z 2,17 do 2,63 mg KOH/g (rys. 1). Wartości końcowe liczb były znacznie niższe niż określone w Codex Stan 210 dla olejów tłoczonych na zimno [4]. Liczba nad-tlenkowa, charakteryzująca zawartość pierwotnych produktów oksydacji zmieniła się istotnie. Największy przyrost LOO z 0,83 do 4,99 meq O₂/kg nastąpił w oleju wytłoczonym z nasion bez ich obróbki. Olej otrzymany z nasion po obróbce enzymatycznej i hydro-

termicznej ulegał utlenieniu wolniej. Pomimo wyższej początkowej wartości liczby nadtlencowej – 1,36 meq O₂ /kg, wzrosła ona tylko do 4,15 meq O₂/kg. Korzystny wpływ obróbki na stabilność oksydacyjną wynika prawdopodobnie z podwyższonej zawartości tokoferoli i związków fenolowych w oleju, silnych naturalnych przeciwutleniaczy pierwszorzędowych [20]. Najmniejsze zmiany zaszły w przypadku oleju wytłoczonego z nasion poddanych obróbce, do którego dodano przeciwutleniacz i witaminę E. Liczba nadtlencowa oleju wzrosła z 1,36 do 3,15 meq O₂/kg. Zastosowany przeciwutleniacz, będący mieszaniną α -tokoferolu, palmitynianu askorbylu i lecytyny sojowej, okazał się skuteczny w hamowaniu oksydacji oleju lnianego. Wchodzący w jego skład α -tokoferol jest silnym przeciwutleniaczem pierwszorzędowym, a palmitynian askorbylu i lecytyna pełnią funkcję synergentów [17]. W trakcie przechowywania olejów wzrosła w nich istotnie zawartość wtórnych produktów oksydacji. Liczba anizydynowa, charakteryzująca zawartość tych produktów, wzrosła 4-krotnie (z 0,28 do 1,07) w oleju pochodzącym z nasion bez obróbki, 3-krotnie (z 0,30 do 0,86) – w oleju z nasion poddanych obróbce enzymatycznej i hydrotermicznej oraz 2,5-krotnie (z 0,30 do 0,80) – w oleju z nasion poddanych obróbce enzymatycznej i hydrotermicznej, zawierającym dodatek przeciwutleniacza i witaminy E. Ogólny stopień utlenienia, wyrażony jako wskaźnik Totox, wyniósł odpowiednio: 11,04, 9,16 i 7,10. Graniczny poziom wskaźnika Totox (10 jednostek) został przekroczony tylko w oleju pozyskanym z nasion bez obróbki. Obróbka nasion oraz dodatek przeciwutleniacza do oleju ograniczały tworzenie się nie tylko pierwotnych, ale i wtórnych produktów oksydacji. Wyraźnie odmiennie przebiegały zmiany oksydacyjne oleju lnianego w badaniach Preschi i wsp. [16], w których olej przechowywany w temp. 20 °C z częściowym dostępem światła wykazywał bardzo ograniczone zmiany oksydacyjne. Na temat skuteczności działania naturalnych, jak i syntetycznych przeciwutleniaczy w oleju lnianym i ich wpływu na stabilność oleju podczas przechowywania istnieją w literaturze zróżnicowane doniesienia [6, 18].

Podczas przechowywania oleju lnianego, oprócz zmian chemicznych, istotne są zmiany sensoryczne, gdyż nieodpowiednia smakowitość jest cechą limitującą przydatność oleju do spożycia [18, 23, 26]. Wyniki pełnej oceny sensorycznej olejów wyściowych przedstawiono na rys. 4. Oleje te charakteryzowały się bardzo dobrą smakowitością ogółem. W oleju z nasion bez obróbki dominowała nuta „orzechowa” (7,2 j.u.) intensywność nuty gorzkiej była na bardzo niskim poziomie (1,0 j.u.), a nuta „skórki od chleba” oraz „utleniona” były nieobecne. W wyniku obróbki enzymatycznej i hydrotermicznej nasion nastąpiły w olejach zmiany intensywności poszczególnych nut smakowych. Wyraźnie zmalała intensywność nuty „orzechowej”, z 7,2 do 3,2 j.u., pojawiła się natomiast wyraźna nuta „skórki od chleba” (4,6 j.u.). Praktycznie bez zmian były pozostałe nuty smakowe. Dodatek przeciwutleniacza i witaminy E nie

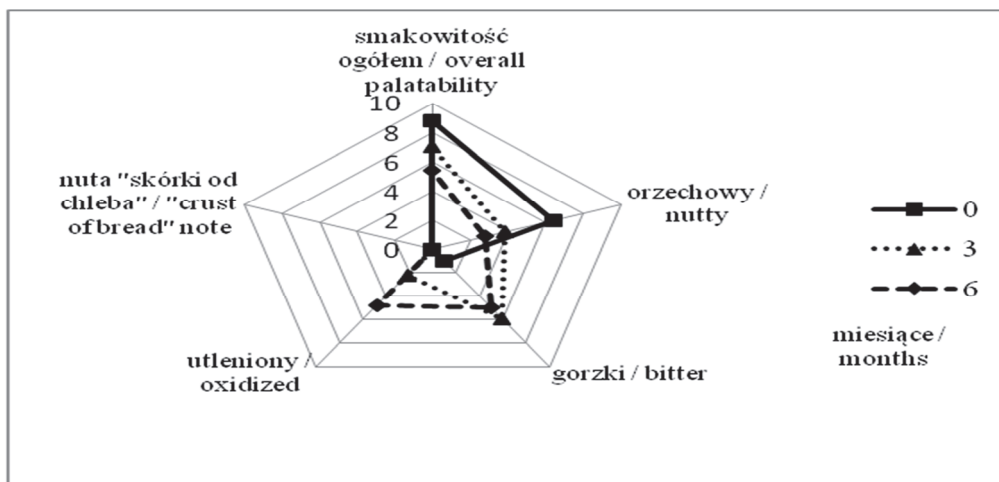
spowodował zmian intensywności poszczególnych nut smakowych, w związku z tym na rys. 4. linia C pokrywa się z linią B.



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

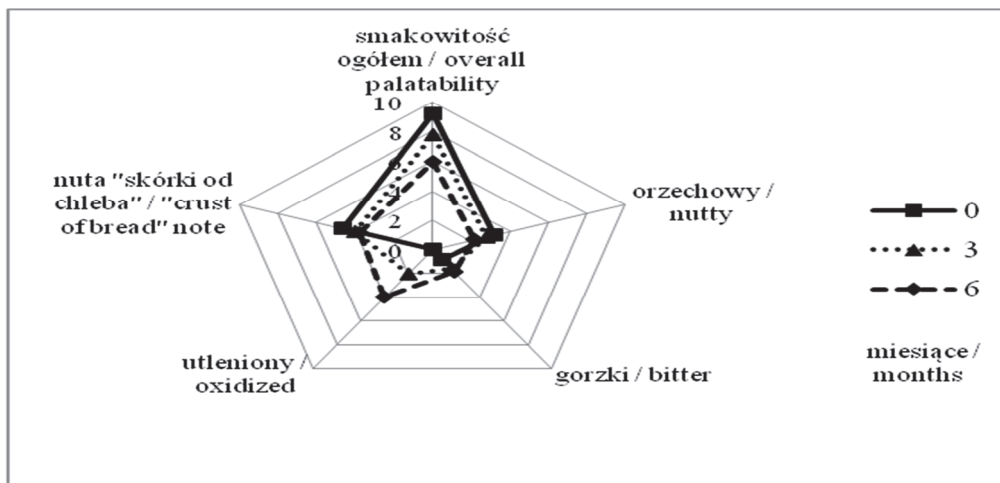
Rys. 4. Wpływ obróbki wstępnej nasion lnu oraz dodatku witaminy E i przeciwutleniacza na cechy sensoryczne oleju

Fig. 4. Effect of pre-treatment of flaxseeds and of adding vitamin E and antioxidant on sensory features of oil

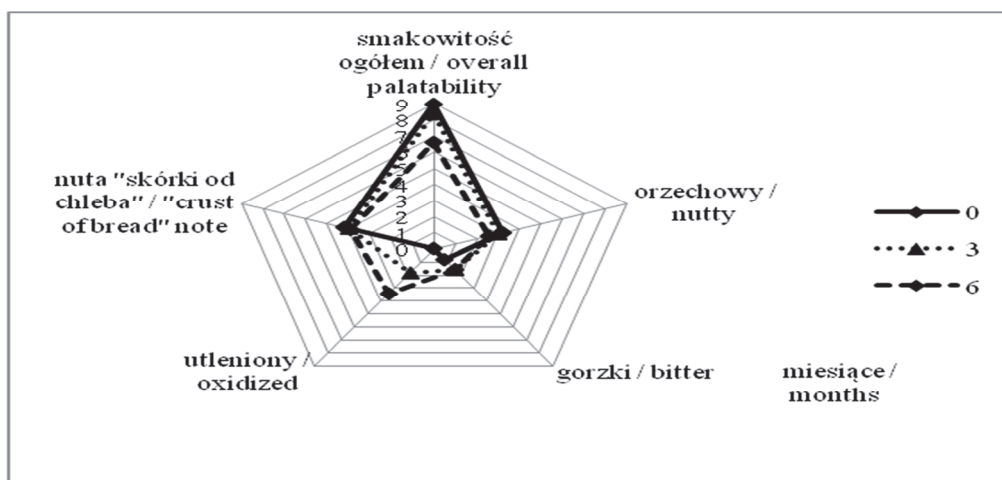


Rys. 5. Wpływ czasu przechowywania na cechy sensoryczne oleju z nasion lnu bez obróbki wstępnej

Fig. 5. Effect of storage period on sensory features of oil from flaxseeds without pre-treatment



Rys. 6. Wpływ czasu przechowywania na cechy sensoryczne oleju z nasion lnu po obróbce wstępnej
 Fig. 6. Effect of storage period on sensory features of oil from flaxseeds after pre-treatment



Rys. 7. Wpływ czasu przechowywania na cechy sensoryczne oleju z nasion lnu po obróbce wstępnej, z dodatkiem przeciwutleniacza i witaminy E
 Fig. 7. Effect of storage period on sensory features of oil from flaxseeds after pre-treatment, with vitamin E and antioxidant added

Na rys. 5 - 7 przedstawiono zmiany cech sensorycznych olejów, jakie nastąpiły w trakcie ich przechowywania.

Zaobserwowano, że po 3-miesięcznym przechowywaniu cechy sensoryczne wszystkich olejów uległy ograniczonym zmianom, a ich smakowitość ogółem była na akceptowanym poziomie. Po 6 miesiącach przechowywania największe zmiany zaszły

w oleju z nasion niepoddanych obróbce. Jego smakowitość ogółem obniżyła się do 5,4 pkt, czyli była poniżej akceptowanego poziomu (6,0 pkt). W oleju nastąpił znaczny wzrost intensywności nuty „gorzkiej” z 1 j.u. do 5 j.u. i „utlenionej” – z 0 j.u. do 4,8 j.u. Jednocześnie nastąpiło zmniejszenie intensywności nuty „orzechowej” z 7,2 j.u. do 2,8 j.u. Podobne zmiany stwierdzili Brühl i wsp. [3] oraz Wiesenborn i wsp. [23]. Inny przebieg miały zmiany sensoryczne oleju wytłoczonego z nasion poddanych obróbce enzymatycznej i hydrotermicznej. Końcowa ocena smakowitości ogółem tego oleju była na granicy akceptacji i wynosiła 6,0 pkt. W oleju nastąpił łagodniejszy, w porównaniu z poprzednio omawianymi olejami, wzrost intensywności nuty „utlenionej” i „gorzkiej” oraz zaobserwowano zmniejszenie intensywności nuty „orzechowej”. Intensywność nuty „skórki od chleba” zmalała z 4,6 j.u. do 3,8 j.u. Jak wcześniej zaznaczono, obróbka przyczyniła się do wzrostu zawartości naturalnych przeciwutleniaczy w oleju, tj. związków fenolowych oraz tokoferoli i prawdopodobnie produktów reakcji Maillarda, co zapewne hamowało proces oksydacji i niekorzystne zmiany sensoryczne. Dodatek przeciwutleniacza do oleju po obróbce ograniczył niekorzystne zmiany cech sensorycznych oleju. Odnotowano niższe przyrosty intensywności nuty „gorzkiej” i „utlenionej”. Końcowa ocena smakowitości ogółem wynosiła 6,6 pkt w skali 10-punktowej.

Wnioski

1. Obróbka enzymatyczna i hydrotermiczna nasion lnu przed tłoczeniem na zimno wywiera korzystny wpływ na stabilność oleju w trakcie jego 6-miesięcznego przechowywania w warunkach chłodniczych. Na koniec okresu przechowywania stwierdzono niewielkie zmiany hydrolityczne, a ogólny stopień utlenienia nie przekraczał poziomu wyznaczającego dobrą jakość olejów jadalnych.
2. Obróbka enzymatyczna i hydrotermiczna nasion powoduje istotne zmiany smakowitości oleju lnianego, następuje ograniczenie intensywności nuty „orzechowej” i pojawienie się nuty „skórki od chleba”. W czasie przechowywania oleju następuje łagodne zmniejszenie intensywności obu nut oraz ograniczony wzrost intensywności nuty „gorzkiej”. Większe zmiany następują w przypadku nuty „utlenionej”, a końcowa ocena smakowitości ogółem jest na granicy akceptacji.
3. Dodanie do oleju lnianego pochodzącego z nasion poddanych obróbce enzymatycznej i hydrotermicznej mieszaniny α -tokoferolu, palmitynianu askorbylu i lecytyny sojowej w ilości 150 mg/kg opóźnia pierwotne i wtórne procesy oksydacyjne a także ogranicza niekorzystne zmiany sensoryczne. Dodatek octanu dl- α -tokoferylu w ilości 400 mg/kg pozwala na uzyskanie odpowiedniej proporcji zawartości ekwiwalentu witaminy E do zawartości polienowych kwasów tłuszczowych.

Literatura

- [1] Baraniak B.M., Szymanowska U.: Lipooksygenaza w żywności pochodzenia roślinnego. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2006, **2** (47), 29-45.
- [2] Bartosz G.: *Druga twarz tlenu. Wolne rodniki w przyrodzie*. Wyd. Nauk. PWN, 2006, ss. 99-120, 192-194.
- [3] Brühl L., Matthäus B., Fehling E., Wiege B., Lehmann B., Luftmann H., Bergander K., Quiroga K., Scheipers A., Frank O., Hofmann T.: Identification of bitter off-taste compounds in the stored cold pressed linseed oil. *J. Agric. Food Chem.*, 2007, **55**, 7864-7868.
- [4] CODEX STAN 210-1999. Codex standard for named vegetable oil. Codex Alimentarius. Amendment 2005, 2011, 2015.
- [5] Drozdowski B.: *Lipidy. W: Chemia żywności. Sacharydy, lipidy i białka*. Red. Z.E. Sikorski. WNT, Warszawa 2007, ss. 73-144.
- [6] Łukaszewicz M., Szopa J., Krasowska A.: Susceptibility of lipids from different flax cultivars to peroxidation and its lowering by added antioxidants. *Food Chem.*, 2004, **88**, 225-231.
- [7] 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, **2** (99), 79-90.
- [8] Niewiadomski H.: *Technologia tłuszczów jadalnych*. WNT, Warszawa 1993.
- [9] Nogala-Kałucka M., Siger A.: Tokochromanole – bioaktywne związki roślin oleistych. Od biosyntezy do biomarkerów. *Rośliny Oleiste*, 2011, **32**, 10-28.
- [10] PN-EN ISO 660:2010. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Oznaczenie liczby kwasowej i kwasowości.
- [11] PN-EN ISO 662:2016-06. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Oznaczania zawartości wody i substancji lotnych.
- [12] PN-EN ISO 3960:2012. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Oznaczanie liczby nadtlenkowej. Jodometryczne (wizualne) oznaczanie punktu końcowego.
- [13] PN-EN ISO 6885:2016-04. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Oznaczanie liczby anizydynowej.
- [14] PN-EN ISO 12966-1:2015-01. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Chromatografia gazowa estrów metylowych kwasów tłuszczowych. Część 1: Przewodnik do nowoczesnej chromatografii gazowej estrów metylowych kwasów tłuszczowych.
- [15] PN-EN 12822:2014-08. Artykuły żywnościowe. Oznaczanie zawartości witaminy E metodą wysokosprawnej chromatografii cieczowej. Pomiar α -, β -, γ - i δ -tokoferolu.
- [16] Prescha A., Grajzer M., Dedyk M., Grajeta H.: The antioxidant activity and oxidative stability of cold pressed oils. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 2015, **91** (8), 1291-1301.
- [17] Rutkowski A.: *Dodatki do żywności. W: Chemia żywności. Składniki żywności*. Red. Z.E. Sikorski. WNT, Warszawa 2007, ss. 107-141.
- [18] Sielicka M.M.: Ocena skuteczności dodatku substancji o właściwościach przeciwutleniających w przedłużeniu trwałości oleju lnianego tłoczonego na zimno. Rozprawa doktorska. UE w Poznaniu. Wydz. Towaroznawstwa, Poznań 2014.
- [19] 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.
- [20] Szukalska E. Wybrane zagadnienia utleniania tłuszczów. *Tłuszcze Jadalne*, 2003, **38**, 42-64.
- [21] Szydłowska-Czeraniak 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.
- [22] Szydłowska-Czeraniak 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.
- [23] 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.

- [24] Wilska-Jeszka J. Monosacharydy i oligosacharydy. W: Chemiczne i funkcjonalne właściwości składników żywności. Red. Z.E. Sikorski. WNT, Warszawa 1994, ss. 93-130.
- [25] Wilska-Jeszka J.: Polifenole, glukozynolany i inne związki prozdrowotne i antyżywniowe. W: Chemia żywności. Składniki żywności. Red. Z.E. Sikorski. Wyd. 5. WNT, Warszawa 2007, ss. 203-226.
- [26] Wroniak M., Cenker J.: Porównanie cech sensorycznych, fizykochemicznych i stabilności oksydacyjnej wybranych olejów tłoczonych na zimno. Zesz. Probl. Post. Nauk Rol., 2015, **581**, 123-133.

**EFFECT OF ENZYMATIC AND HYDROTHERMAL TREATMENT OF SEEDS,
AND OF ADDING ANTIOXIDANT AND VITAMIN E ON STABILITY OF FLAX OIL
DURING STORAGE**

S u m m a r y

The objective of this research study was to determine the effect of enzymatic and hydrothermal treating of seeds and of adding of antioxidant and vitamin E on the stability of cold pressed flax oil during storage. The initial research material consisted of flaxseeds of high linolenic variety "Bukoz". Seeds were subject to the enzymatic and hydrothermal treatment at a temperature of 50°C during a period of 3 hours. A mixture was used of cellulase and protease enzymes in the form of Celluclast 1.5 L and Alcalase 2.4 L preparations. The oil was cold pressed in a "Farmet" screw press, and purified by the natural sedimentation and decantation. A mixture was used of the α -tocopherol, ascorbyl palmitate, and soy lecithine as the antioxidant, and the dl- α -tocopheryl acetate as the vitamin E. The oils were stored in brown glass bottles for 6 months, at a temperature of 6°C under the cooling conditions. The oils from the seeds without treatment were analyzed as were the oils from the seeds after treatment and those from the seeds after treatment with the antioxidant and vitamin E added. In the oils, the degree of hydrolysis was assayed as was the degree of primary and secondary lipid peroxidation; the oils were also sensory assessed. It was proved that the enzymatic and hydrothermal treatment of seeds before cold pressing exerted a beneficial effect on the oil stability during 6 months of storing them under the cool conditions. At the end of the storage period, the overall degree of the oxidation determined as a Totox index didn't exceed 10 units, which define a good quality of edible oils. It was found that the enzymatic and hydrothermal treatment of seeds caused significant changes in the sensory characteristics of oils, in which a strong "crust of bread" note appeared. During storage, the intensity of that note decreased and the intensity of the "oxidized" and "bitter" note increased; the final assessment of overall palatability of oil was at the limit of acceptability and totalled 6 points on a 10 point scale. The antioxidant added in the amount of 150 mg/kg delayed the primary and secondary oxidation processes and, also, reduced unfavourable sensory changes. The dl- α -tocopheryl acetate added in the amount of 400 mg/kg made it possible to reach a recommended Harris coefficient (0.6).

Key words: flaxseeds, enzymatic and hydrothermal treatment, flax oil, storage ☒

MAŁGORZATA MIZIELIŃSKA, PAULA JANKOWSKA, AGNIESZKA BIEŃ,
ŁUKASZ ŁOPUSIEWICZ, ARTUR BARTKOWIAK

OCENA ZDOLNOŚCI WYBRANYCH SZCZEPÓW GRZYBÓW Z GROMADY *BASIDIOMYCOTA* DO SYNTEZY LIPAZ ORAZ ESTERAZ

Streszczenie

Do głównych producentów lipaz o komercyjnym znaczeniu należą grzyby rodzaju: *Aspergillus*, *Candida*, *Mucor*, *Rhizomucor*, *Rhizopus* i *Penicillium*. Szacuje się, że dotychczas scharakteryzowano jedynie 1 ÷ 2 % całej populacji grzybów. Istnieje więc duże prawdopodobieństwo możliwości odkrycia nowych szczepów grzybów, mających właściwości lipolityczne. Celem pracy było sprawdzenie czy wybrane gatunki grzybów należących do gromady *Basidiomycota* wykazują zdolność do syntetyzowania lipaz oraz esteraz. Analizowano także wpływ wybranych źródeł węgla na aktywność lipolityczną badanych grzybów. Materiał do badań stanowiło 30 szczepów należących do gromady grzybów podstawkowych *Basidiomycota*.

Na podstawie przeprowadzonych badań stwierdzono, że gatunki: *A. citrina*, *A. vulgare*, *C. cornea*, *C. striatus*, *H. lateritium*, *K. mutabilis*, *L. amethystina*, *L. camphoratus*, *L. vellerus*, *M. konradii*, *P. involutus*, *P. impudicus*, *Ramaria* sp., *R. turci*, *S17 Mycena* sp., *S. citrinum*, *S. hirsutum*, *Strobilurus* sp., *S. variegatus* i *T. sulphureum* wykazywały zdolność do produkcji lipaz. Wykazano, że rodzaj źródła węgla dodanego do podłoża hodowlanego miał istotny wpływ na aktywność lipolityczną grzybów podstawkowych. Gatunki: *G. lucidum*, *R. butyracea*, *S. citrinum* i *L. edodes* nie syntetyzowały esteraz.

Słowa kluczowe: gromada *Basidiomycota*, lipazy, esterazy, rodzaj źródła węgla

Wprowadzenie

W przemyśle spożywczym lipazy używane są do syntezy strukturyzowanych triacylogliceroli, produkcji estrów sacharydów oraz otrzymywania niskocząsteczkowych estrów smakowo-zapachowych. Strukturyzowane triacyloglicerole (sTAG) to inaczej

Dr inż. M. Mizielńska, mgr inż. P. Jankowska, mgr inż. A. Bień, mgr inż. Ł. Łopusiewicz, prof. dr hab. inż. A. Bartkowiak, Centrum Bioimmobilizacji i Innowacyjnych Materiałów Opakowaniowych, Wydz. Nauk o Żywności i Rybactwa, Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie, ul. Kłemenśa Janickiego 35, 71- 270 Szczecin. Kontakt: malgorzata.mizielinska@zut.edu.pl

lipidy o pożądanej budowie strukturalnej. Położenie łańcuchów kwasów tłuszczowych w glicerydzie oraz ich kompozycja determinują walory żywieniowe lipidów. Mają również istotny wpływ na ich właściwości fizykochemiczne, takie jak: stabilność oksydacyjna, temperatura krzepnięcia i temperatura topnienia. Lipazy poprzez ukierunkowaną modyfikację struktury tłuszczów umożliwiają otrzymywanie lipidów o cennych walorach żywieniowych [1, 3, 4, 17]. Przykładem pozyskiwanych w ten sposób produktów są: tańszy substytut masła kakaowego, substytut mleka ludzkiego, tłuszcze o obniżonej kaloryczności, tłuszcze bogate w wielonienasycone kwasy tłuszczowe, a także tłuszcze o właściwościach prozdrowotnych [2, 9]. Do znanych preparatów enzymatycznych stosowanych do restrukturyzacji tłuszczów należą: Novozym®435 i Lipozyme®RMIM (Novozymes A/S, Dania) [15]. Wiadomo również, że immobilizowana lipaza syntetyzowana przez *Mucor miehei* wykorzystywana jest do biosyntezy wielonienasyconych kwasów tłuszczowych *omega-3* w oleju kukurydzianym, słonecznikowym, sojowym, arachidowym oraz w oliwie z oliwek [9]. Kolejną możliwością zastosowania lipaz jest synteza estrów sacharydów. Związki te pełnią głównie rolę stabilizatorów i emulgatorów produktów spożywczych. Dodatek estrów sacharydów do produkcji sproszkowanych przypraw, sosów i mleka ułatwia ich rozpuszczanie się w wodzie oraz zapobiega zbrylaniu. Użyte w piekarnictwie i cukiernictwie lipazy pozwalają wydłużyć okres przydatności do spożycia oraz zwiększyć kruchość i objętość ciast po wypieku. W procesie produkcji czekolady zapobiegają tworzeniu się na jej powierzchni nalotu wykrystalizowanego tłuszczu, a dodane do lodów przeciwdziałają wydzielaniu się tłuszczów podczas zamrażania. Estrów sacharozu używa się również do wyrobu kiełbas, prasowanych szynek i past rybnych, aby zwiększyć w nich zawartość wody oraz poprawić ich elastyczność [2]. Liczne i wyjątkowe właściwości lipaz sprawiają, że jako biokatalizatory mają one niemal nieograniczone możliwości wszechstronnego zastosowania w przemyśle spożywczym [3, 4].

Grzyby stanowią jedno z głównych źródeł lipaz do zastosowań przemysłowych. Najczęściej pozyskuje się z nich lipazy zewnątrzkomórkowe, gdyż są dużo prostsze do oddzielenia w czystej postaci od lipaz wewnątrzkomórkowych [7, 10]. Lipazy grzybowe, które są najczęściej wykorzystywane w technologiach przemysłowych to monomery o masie cząsteczkowej $(30 \div 60) \cdot 10^3$ Da, pochodzące z drożdży i grzybów nitkowatych. Do głównych producentów lipaz o komercyjnym znaczeniu należą grzyby rodzaju: *Aspergillus*, *Candida*, *Mucor*, *Rhizomucor*, *Rhizopus* i *Penicillium* [16, 18]. Szacuje się, że dotychczas scharakteryzowano jedynie 1 ÷ 2 % całej populacji grzybów. Istnieje więc duże prawdopodobieństwo odkrycia nowych szczepów grzybów mających właściwości lipolityczne [3, 4].

Celem pracy było sprawdzenie czy wybrane gatunki grzybów należących do gromady *Basidiomycota* wykazują zdolność do syntetyzowania lipaz oraz esteraz. Prze-

analizowano także wpływ wybranych źródeł węgla na aktywność lipolityczną badanych grzybów.

Material i metody badań

Materiałem doświadczalnym były szczepy 30 gatunków należących do gromady grzybów podstawkowych *Basidiomycota*: *Amanitacitrina*, *Armillariamellea*, *Auriscalpium vulgare*, *Calocera cornea*, *Cyathus striatus*, *Daedaleopsis confragosa*, *Ganoderma applanatum*, *Ganoderma lucidum*, *Hypholoma lateritium*, *Kuehneromyces mutabilis*, *Laccariaa methystina*, *Lactarius camphoratus*, *Lactarius vellereus*, *Lentinula edodes*, *Lycoperdon perlatum*, *Macrolepiota konradii*, *Paxillus involutus*, *Phallus impudicus*, *Pleurotus eryngii*, *Pleurotus ostreatus*, *Ramaria sp.*, *Rhodocollybia butyracea*, *Russulaturci*, *S17 Mycena sp.*, *Schizophyllum commune*, *Scleroderma citrinum*, *Stereum hirsutum*, *Strobilurus sp.*, *Suillus variegatus*, *Tricholma sulphureum*. W badaniach wykorzystano również szczep *Yarrowia lipolytica*, który stanowił próbę kontrolną. Szczepy grzybów pochodziły z kolekcji Centrum Bioimmobilizacji i Innowacyjnych Materiałów Opakowaniowych Wydziału Nauk o Żywności i Rybactwa ZUT w Szczecinie.

Do hodowli grzybów używano pożywki Potato Dextrose Agar (PDA, Merck, Niemcy). Podłoża przygotowywano zgodnie z wytycznymi firmy. W przygotowywanych pożywkach stosowano także: olej słonecznikowy, olej rzepakowy oraz oliwę z oliwek. Oleje oraz oliwę zakupiono w sieci handlowej w Szczecinie. Wszystkie pozostałe odczynniki, których używano w trakcie realizacji doświadczeń, zakupiono w firmie Sigma i Scharlau Chemie S.A (USA).

Szczepy wymienionych gatunków grzybów izolowano z owocników. Do tego celu używano jałowej ezy, za pomocą której pobierano skrawki trzonu zawierające kawałek grzybni. Pozyskane izolaty umieszczano na płytkach Petriego z podłożem hodowlanym Potato Dextrose Agar, z dodatkiem chloramfenikolu o stężeniu 50 mg/l.

Po zaszczepieniu podłoża PDA badanymi gatunkami grzybów każdą z płytek zaklejano parafilmem i inkubowano przez 10 dni w cieplarni, w temp. 24 °C.

W celu określenia zdolności badanych gatunków grzybów do wytwarzania indukowanej lipazy wykonywano badania przesiewowe, w których stosowano różne substraty (tab. 1). Doświadczenie to miało na celu porównanie zdolności badanych gatunków grzybów do konwersji różnych źródeł węgla. Dodatkowo badano zdolność wymienionych grzybów do wytwarzania esteraz.

Tabela 1. Podłoża hodowlane do biosyntezy lipaz (a, b, c, d) oraz esteraz (e)

Table 1. Culture media for lipase (a, b, c, d) and esterase synthesis (e)

Składniki podłoża Components of medium [g/l]	Podłoże agarowe z dodatkiem: / Agar medium with:				
	olejów roślinnych i rodamininy B vegetable oils and rhodamine B added	gumy arabskiej, oliwy z oliwek i rodamininy B Gum Arabic, olive oil, and rhodamine B added	Tweenu 80 i rodamininy B Tween 80 and rho-damine B added	tributyryny i rodamininy B tributyryn and rhodamine B	purpury bromo- krezolowej Bromocresol purple
	(a)	(b)	(c)	(d)	(e)
Pepton Peptone	5	5	10	3	10
Ekstrakt drożdżowy Yeast extract	5	-	-	5	5
MgSO ₄ x 7H ₂ O	0,5	-	-	-	-
K ₂ HPO ₄	1	-	-	-	-
Agar	15	15	20	10	15
Ekstrakt wołowy Beef extract	-	3	-	-	-
Glukoza Glucose	10	10	10	-	-
NaCl	-	15	5	-	0,5
CaCl ₂	-	-	0,1	-	0,1
20 % Tween 80	-	-	50	-	-
Guma arabska Gum arabic	-	20	-	-	-
Tributyryna Tributyryn	-	-	-	10	-
Olej/Oliwa Oil/Olive	10	10	-	-	-
Purpura bromokrezolowa Bromocresol purple	-	-	-	-	10

Ocenę zdolności badanych gatunków do wytwarzania lipaz prowadzono przy użyciu transiluminatora MultiDoc-It Digital Imagine System (UV) (Ultra-Violet Products Ltd., Wielka Brytania). Aktywność lipolityczną grzybów monitorowano poprzez pomiar fluorescencji spowodowanej uwolnieniem kwasów tłuszczowych w wyniku działania lipazy. Po 4 dniach inkubacji grzybów na pożywkach opisanych w tab. 1. płytki wyciągano z inkubatora, następnie każdą z nich obserwowano w świetle UV

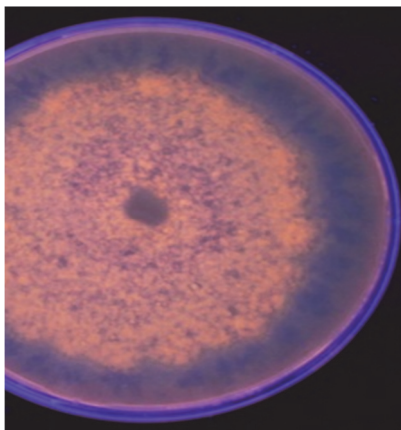
o długości fali $\lambda = 350$ nm. Próbę kontrolną stanowiła hodowla szczepu *Y. lipolytica*. Za wynik pozytywny uznawano świecące pomarańczowo strefy wokół kolonii grzyba. Uwzględniano rozmiar świecącej strefy oraz intensywność fluorescencji, na podstawie których opracowano skalę oceny. Hodowle o największej świecącej strefie wokół grzyba (o średnicy $70 \div 90$ mm) i najintensywniejszej fluorescencji oznaczano jako (++++), hodowle o intensywnej fluorescencji i mniejszych strefach (o średnicach $40 \div 70$ mm oraz $20 \div 40$ mm) odpowiednio: (+++) i (++) , natomiast hodowle o najmniejszej strefie (o średnicy poniżej 20 mm) i najsłabszej intensywności fluorescencji oznaczano jako (+). Hodowle, w których nie zaobserwowano fluorescencji oznaczono (-).

Ocenę zdolności do wytwarzania esteraz prowadzono po 4 dniach inkubacji w temp. 24 °C. Wskaźnikiem świadczącym o zdolności badanych gatunków do syntezy esteraz była zmiana zabarwienia podłoża z żółtego na fioletowy. Opracowano skalę oceny. Hodowle o największej średnicy fioletowej strefy podłoża ($70 \div 90$ mm) oznaczano jako (++++), hodowle o średnicach stref od $40 \div 70$ mm oraz $20 \div 40$ mm odpowiednio: (+++) i (++) , natomiast hodowle o najmniejszej średnicy strefy poniżej 20 mm oznaczano jako (+). Hodowle, w których nie zaobserwowano zmiany barwy podłoża oznaczano (-).

Wyniki i dyskusja

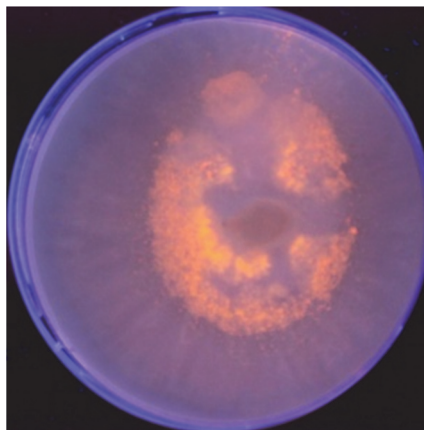
Na podstawie badań stwierdzono, że średnice świecących stref, świadczących o aktywności lipolitycznej oraz ich intensywność były zróżnicowane w zależności od gatunku grzyba. Zależały one także od rodzaju podłoża, co potwierdziło zależność średnic stref od wprowadzonego do pożywki źródła węgla (fot. 1 - 5, tab. 2).

Fluoryzujące pomarańczowo strefy wystąpiły prawie wokół wszystkich kolonii badanych grzybów. Pomarańczowa fluorescencja nie pojawiła się zaledwie w przypadku 3 hodowli na podłożu z gumą arabską i oliwą z oliwek (*C. striatus*, *L. camphoratus* i *Strobilurus sp.*) oraz w 5 hodowlach na pożywce z Tweenem 80 (*P. involutus*, *P. eryngii*, *L. edodes*, *S. hirsutum*, *Strobilurus sp.*) (tab. 2). Do gatunków wykazujących zdolność do syntezy lipaz na stosowanych podłożach należały: *A. citrina*, *A. mellea*, *D. confragosa*, *R. turci*, *S. variegatus*, *T. sulphureum* i *G. applanatum*. Z kolei gatunki, które przejawiały bardzo niewielką aktywność lipolityczną, niezależnie od użytego źródła węgla, to: *P. impudicus*, *P. eryngii*, *P. ostreatus* i *L. edodes* (tab. 2).



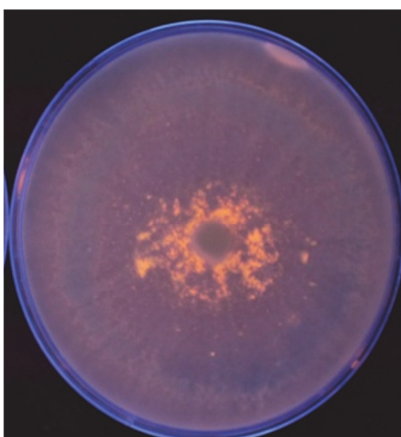
++++

Fot. 1. Obraz hodowli *D. confragosa* na podłożu z oliwą z oliwek
Photo 1. Image of *D. confragosa* culture on medium containing olive oil



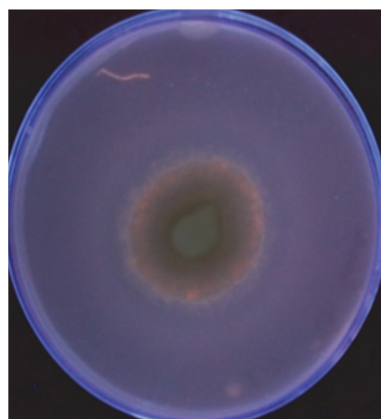
+++

Fot. 2. Obraz hodowli *L. vellerus* na podłożu z oliwą z oliwek
Photo 2. Image of *L. vellerus* culture on medium containing olive oil



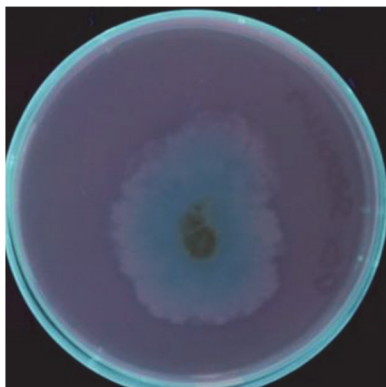
++

Fot. 3. Obraz hodowli *S. citrinum* na podłożu z olejem rzepakowym
Photo 3. Image of *S. citrinum* culture on medium containing rapeseed oil



+

Fot. 4. Obraz hodowli *G. lucidum* na podłożu z gumą arabską i oliwą z oliwek
Photo 4. Image of *G. lucidum* culture on medium containing gum arabic and olive oil



Fot. 5. Obraz hodowli *Strobilurus sp.* na podłożu z gumą arabską i oliwą z oliwek
Photo 5. Image of *Strobilurus sp.* culture on medium containing gum arabic and olive oil

Tabela 2. Zdolność wybranych grzybów z gromady *Basidiomycota* do syntezy lipaz w zależności od rodzaju źródła węgla

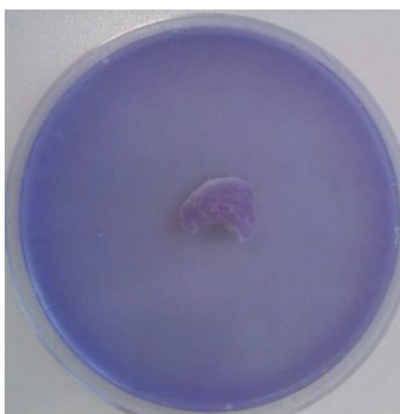
Table 2. Ability of selected fungi in *Basidiomycota* phylum to synthesize lipase depending on the type of carbon source

Gatunek grzyba Fungal species	Oliwa i guma arabska Olive Oil and gum arabic	Oliwa Olive oil	Olej słonecznikowy Sunflower oil	Olej rzepakowy Rapeseed oil	Tributyryna Tributyryn	Tween 80
<i>A. citrine</i>	++	++++	++++	++++	+++	+
<i>A. mellea</i>	++++	++++	++++	++++	+++	+
<i>A. vulgare</i>	++	++++	+++	++++	++	+
<i>C. cornea</i>	+	++	++	++	+++	+
<i>C. striatus</i>	-	+++	+++	+++	++	+
<i>D. confragosa</i>	++	++++	++++	++++	+++	+
<i>G. applanatum</i>	++	+++	+++	+++	+++	+
<i>G. lucidum</i>	+	+	++	+	++	++
<i>H. lateritium</i>	+	++	++	+++	++++	+
<i>K. mutabilis</i>	++++	+	+	+	+	+
<i>L. amethystina</i>	+++	+++	+	+	+++	+
<i>L. camphoratus</i>	-	+++	+++	+++	++	+
<i>L. vellereus</i>	++	+++	+	+	+	+
<i>L. edodes</i>	++	+	+	+	+	-
<i>L. perlatum</i>	+	++	++	++	++++	++
<i>M. konradii</i>	+	+	+	++	+	+
<i>P. involutus</i>	+	++++	++	++++	+	-
<i>P. impudicus</i>	+	+	+	+	+	+
<i>P. eryngii</i>	++	+	+	+	+	-

Gatunek grzyba Fungal species	Oliwa i guma arabska Olive Oil and gum arabic	Oliwa Olive oil	Olej słonecznikowy Sunflower oil	Olej rzepakowy Rapeseed oil	Tributyryna Tributyryn	Tween 80
<i>P. ostreatus</i>	+	+	+	+	+	+
<i>Ramaria sp.</i> ,	++	+	+	+	+++	+
<i>R. butyracea</i>	+++	++	++	++++	+++	+
<i>R. turci</i>	+	++++	++++	++++	++	+
<i>S17 Mycena sp.</i>	++	++	+	++	++++	++
<i>S. commune</i>	++++	++	++	++	+++	+
<i>S. citrinum</i>	++	++	++	++++	+++	+
<i>S. hirsutum</i>	+++	++++	++++	++	++	-
<i>Strobilurus sp.</i>	-	+++	+	+	+++	-
<i>S. variegatus</i>	++	+++	+++	+++	++	++
<i>T. sulphureum</i>	++	++++	+++	++++	+++	+

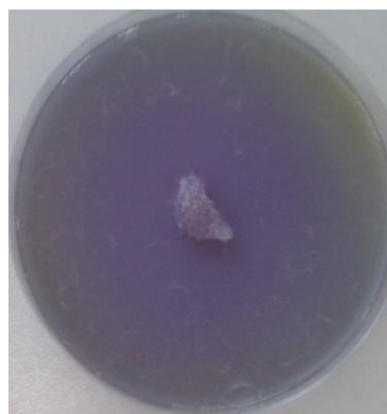
Lipazy są cennym substratem wielu procesów, stąd ich zastosowanie w technologii żywności może być szerokie. Niewiele jest jednak badań na temat zdolności grzybów wielkoowocnikowych do syntezy lipaz. Została ona potwierdzona w przypadku takich gatunków, jak: *Bjerkandera adusta*, *Antrodia cinnamomea*, *Agaricus bisporus* i *Lentinus edodes* [12, 13, 16].

W trakcie doświadczeń dokonano także oceny zdolności badanych gatunków podstawczaków do biosyntezy esteraz na podstawie zmiany barwy podłoża z żółtej na niebieską. Wielkość strefy niebieskiego zabarwienia – w skali od (++++) do (-) – świadczyła o intensywności syntetyzowania esteraz przez analizowane gatunki grzybów (fot. 6 - 10).



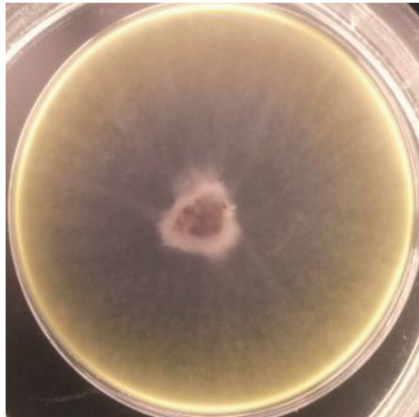
++++

Fot. 6. Obraz hodowli *S. variegatus*
Photo 6. Image of *S. variegates* culture



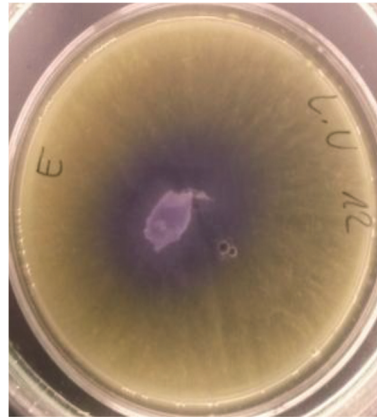
+++

Fot. 7. Obraz hodowli *A. citrina*
Photo 7. Image of *A. citrina* culture



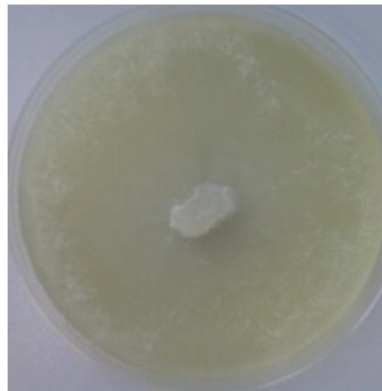
++

Fot. 8. Obraz hodowli *L. amethystina*
Photo 8. Image of *L. amethystina* culture



+

Fot. 9. Obraz hodowli *L. vellereus*
Photo 9. Image of *L. vellereus* culture



-

Fot. 10. Obraz hodowli *S. citrinum*
Photo 10. Image of *S. citrinum* culture

Stwierdzono, że nie wszystkie gatunki analizowanych w pracy grzybów podstawkowych miały zdolność do wytwarzania esteraz (tab. 3). Zdolności tej nie wykazywały gatunki *G. lucidum*, *R. butyracea*, *S. citrinum*, *L. edodes*, pomimo że w hodowli w pożywce z Tweenem 80 oraz z dodatkiem tributyriny charakteryzowały się zdolnością do syntetyzowania lipaz. Największą aktywnością esteraz cechowały się gatunki: *C. striatus*, *D. confragosa*, *L. perlatum*, *M. konradii*, *P. involutus* i *S. variegatus*.

Tabela 3. Zdolność wybranych grzybów z gromady *Basidiomycota* do syntezy esterazTable 3. Ability of selected fungi in *Basidiomycota* phylum to synthesise esterases

Gatunek grzyba Fungal species	Synteza esteraz Synthesis of esterases	Gatunek grzyba Fungal species	Synteza esteraz Synthesis of esterases
<i>A. citrina</i>	+++	<i>M. konradii</i>	++++
<i>A. mellea</i>	+++	<i>P. involutus</i>	++++
<i>A. vulgare</i>	+++	<i>P. impudicus</i>	+++
<i>C. cornea</i>	++	<i>P. eryngii</i>	+++
<i>C. striatus</i>	++++	<i>P. ostreatus</i>	+
<i>D. confragosa</i>	++++	<i>Ramaria sp.</i>	+++
<i>G. applanatum</i>	+	<i>R. butyracea</i>	-
<i>G. lucidum</i>	-	<i>R. turci</i>	+
<i>H. lateritium</i>	+++	<i>S17 Mycena sp.</i>	+++
<i>K. mutabilis</i>	+	<i>S. commune</i>	++
<i>L. amethystina</i>	++	<i>S. citrinum</i>	-
<i>L. camphoratus</i>	++	<i>S. hirsutum</i>	+++
<i>L. vellereus</i>	+	<i>Strobilurus sp.</i>	+++
<i>L. edodes</i>	-	<i>S. variegatus</i>	++++
<i>L. perlatum</i>	++++	<i>T. sulphureum</i>	+

Eichlerová i wsp. [6] przeprowadzili badanie aktywności enzymatycznej (w tym lipaz i esteraz) 111 gatunków *Basidiomycota*. Uwzględniono m.in. gatunki: *D. confragosa*, *A. mellea*, *G. applanatum*, *L. edodes*, *L. perlatum*, *P. ostreatus* oraz *R. butyracea*. Wymienieni autorzy wykazali, że *A. mellea*, *D. confragosa*, *G. applanatum*, *L. perlatum*, *P. ostreatus* i *R. butyracea* przejawiają zdolność biosyntezy lipaz, co potwierdzono w badaniach własnych. W przypadku *L. edodes* autorzy [6] użyli do testu 3 szczepów tego gatunku, z czego jeden nie syntetyzował lipaz. Dowiedli oni, że zdolność do syntezy esteraz wykazują gatunki: *D. confragosa*, *G. applanatum*, *L. edodes*, *L. perlatum*, *R. butyracea* oraz *P. ostreatus*, natomiast *A. mellea* zdolności tej nie przejawia. Wyniki uzyskane przez Eichlerową i wsp. [6] w odniesieniu do esteraz nie korespondują z wynikami własnymi. W niniejszych badaniach zaobserwowano bowiem zdolność do produkcji esteraz przez *A. mellea* i jej brak w przypadku *L. edodes* i *R. butyracea*. Badania zdolności wybranych grzybów podstawkowych do wytwarzania różnych enzymów przeprowadzili także Goud i wsp. [8] oraz Krupodorova i wsp. [11]. Oba zespoły badawcze wykazały zdolność gatunków *G. lucidum* i *S. commune* do produkcji lipaz. Aktywność lipolityczną stwierdzono również w przypadku *G. applanatum*, *P. ostreatus*, *L. edodes* [11] oraz *D. confragosa* [8]. Przytoczone wyżej wyniki potwierdzono w badaniach własnych. Z kolei w obu pracach zaobserwowano brak aktywności lipaz w przypadku gatunku *P. eryngii*, w przeciwieństwie do wyników badań własnych, a Goud i wsp. [8] wykazali dodatkowo brak aktywności lipaz pochodzących z *G. ap-*

planatum. Goud i wsp. [8] oznaczyli także zdolność wybranych podstawczaków do syntezy esteraz. Uzyskane przez nich wyniki są zbieżne z rezultatami badań własnych tylko w odniesieniu do gatunku *D. confragosa*. Zespół stwierdził bowiem zdolność do produkcji esteraz przez gatunek *G. applanatum* oraz wykazał jej brak w przypadku *P. eryngii* i *G. lucidum*. Wyniki te były także odmienne od uzyskanych przez Nietera i wsp. [14], którzy potwierdzili zdolność gatunku *P. etungii* do wytwarzania esteraz. Zdolność wytwarzania lipaz na podłożach agarowych z tributyriną i czerwienią fenolową przez gatunek *S. commune* potwierdzili również Singh i wsp. [18]. Ponadto Cruz Ramírez i wsp. [5] stwierdzili aktywność lipolityczną grzybów wyizolowanych w Meksyku, wśród których zidentyfikowano rodzaj *Schizophyllum*.

W literaturze przedmiotu brak informacji na temat aktywności lipolitycznej następujących gatunków należących do *Basidiomycota*: *A. citrina*, *A. vulgare*, *C. cornea*, *C. striatus*, *H. lateritium*, *K. mutabilis*, *L. amethystina*, *L. camphoratus*, *L. vellerus*, *M. konradii*, *P. involutus*, *P. impudicus*, *Ramaria sp.*, *R. turci*, *S17 Mycena sp.*, *S. citrinum*, *S. hirsutum*, *Strobilurus sp.*, *S. variegatus* i *T. sulphureum*, dlatego wyniki uzyskane w niniejszej pracy mogą zainicjować dalsze badania nad możliwością wykorzystania aktywności lipolitycznej wybranych gatunków grzybów podstawkowych do różnych zastosowań biotechnologicznych.

Wnioski

1. Gatunki należące do *Basidiomycota*: *A. citrina*, *A. vulgare*, *C. cornea*, *C. striatus*, *H. lateritium*, *K. mutabilis*, *L. amethystina*, *L. camphoratus*, *L. vellerus*, *M. konradii*, *P. involutus*, *P. impudicus*, *Ramaria sp.*, *R. turci*, *S17 Mycena sp.*, *S. citrinum*, *S. hirsutum*, *Strobilurus sp.*, *S. variegatus* i *T. sulphureum* wykazują zdolność do produkcji lipaz.
2. Rodzaj źródła węgla dodanego do podłoża hodowlanego ma istotny wpływ na aktywność lipolityczną grzybów podstawkowych.
3. Gatunki *G. lucidum*, *R. butyracea*, *S. citrinum* i *L. edodes* nie mają zdolności wytwarzania esteraz.

Literatura

- [1] Adamczak M., Bednarski W.: Doskonalenie wybranych właściwości lipaz oraz ich zastosowanie w kontrolowanej modyfikacji lipidów. W: Enzymatyczna modyfikacja składników żywności. Red. E. Kołakowski, W. Bednarski, S. Bielecki. Wyd. AR w Szczecinie, Szczecin 2005, ss. 275-294.
- [2] Antczak T., Szczęśna-Antczak M., Patura J.: Wykorzystanie lipaz do otrzymywania estrów sacharydów, ich charakterystyka i zastosowanie. W: Enzymatyczna modyfikacja składników żywności. Red. E. Kołakowski, W. Bednarski, S. Bielecki. Wyd. AR w Szczecinie, Szczecin 2005, ss. 295-311.
- [3] Bednarski W., Adamczak M.: Właściwości lipaz oraz ich zastosowanie. W: Enzymatyczna modyfikacja składników żywności. Red. E. Kołakowski, W. Bednarski, S. Bielecki. Wyd. AR w Szczecinie, Szczecin 2005, ss. 241-274.

- [4] Bednarski W., Adamczak M., Tomasiak J., Kowalczyk M., Stasiewicz K.: Biotechnologiczna modyfikacja składu i właściwości tłuszczów odpadowych. W: Enzymatyczna modyfikacja składników żywności. Red. E. Kołakowski, W. Bednarski, S. Bielecki. Wyd. AR w Szczecinie, Szczecin 2005, ss. 355-371.
- [5] Cruz Ramírez M.G., Rivera-Ríos J.M., Téllez-Jurado A., Maqueda Gálvez A.P., Mercado-Flores Y., Arana-Cuenca A.: Screening for thermotolerant ligninolytic fungi with laccase, lipase, and protease activity isolated in Mexico. *J. Environ. Manag.*, 2012, **95**, 256-259.
- [6] Eichlerová I., Homolka L., Žifčáková L., Lisa P., Baldrian P.: Enzymatic systems involved in decomposition reflects the ecology and taxonomy of saprotrophic fungi. *Fungal Ecol.*, 2015, **13**, 10-22.
- [7] Gopinath S.C.B., Anbu P., Lakshmi priya T., Hilda A.: Strategies to characterize fungal lipases for applications in medicine and dairy industry. *BioMed Res. Inter.*, 2013, **#154549**, 1-10.
- [8] Goud M.J.P., Suryam A., Lakshmi pathi V., Charya M.A.S.: Extracellular hydrolytic enzyme profiles of certain South Indian *Basidiomycetes*. *Afr. J. Biotechnol.*, 2009, **8**, 354-360.
- [9] Hasan F., Shah A.A., Hameed A.: Industrial applications of microbial lipases. *Enzym. Microb. Tech.*, 2006, **39 (2)**, 235-251.
- [10] Hernández-Rodríguez B., Córdova J., Bárzana E., Favela-Torres E.: Effects of organic solvents on activity and stability of lipases produced by thermotolerant fungi in solid-state fermentation. *J. Mol. Catal. B-Enzym.*, 2009, **61 (3-4)**, 136-142.
- [11] Krupodorova T., Ivanova T., Barshteyn V.: Screening of extracellular enzymatic activity of macrofungi. *J. Microbiol. Biotechnol. Food Sci.*, 2014, **4 (3)**, 315-318.
- [12] Lin E.S., Ko H.C.: Glucose stimulates production of the alkaline-thermostable lipase of the edible *Basidiomycete Antrodia cinnamomea*. *Enzym. Microb. Tech.*, 2005, **37 (2)**, 261-265.
- [13] Lin E.S., Wang C.C., Sung S.C.: Cultivating conditions influence lipase production by the edible *Basidiomycete Antrodia cinnamomea* in submerged culture. *Enzym. Microb. Tech.*, 2006, **39 (1)**, 98-102.
- [14] Nieter A., Haase-Aschoff P., Linke D., Nimtz M., Berger R.G.: A halotolerant type A feruloyl esterase from *Pleurotus eryngii*. *Fungal Biol.*, 2014, **118 (3)**, 348-357.
- [15] Ptasznik S., Jerzewska M., Ropelewska M.: Enzymatyczna restrukturyzacja triacylogliceroli mieszanek tłuszczowych. W: Enzymatyczna modyfikacja składników żywności. Red. E. Kołakowski, W. Bednarski, S. Bielecki. Wyd. AR w Szczecinie, Szczecin, 2005, ss. 313-333.
- [16] Shu C.H., Xu C.J., Lin G.C.: Purification and partial characterization of a lipase from *Antrodia cinnamomea*. *Process Biochem.*, 2006, **41 (3)**, 734-738.
- [17] Siepka M., Gładkowski W.: Właściwości i zastosowanie lipaz w biotechnologii. W: Nowe trendy nauk przyrodniczych. Wyd. II. Creative Time, Kraków 2011, ss. 158-167.
- [18] Singh M.K., Singh J., Kumar M., Thakur I.S.: Novel lipase from basidiomycetes *Schizophyllum commune* ISTL04, produced by solid state fermentation of *Leucaena leucocephala* seeds. *J. Mol. Catal. B-Enzym.*, 2014, **110**, 92-99.

ASSESSMENT OF ABILITY OF SELECTED FUNGAL STRAINS IN *BASIDIOMYCOTA* PHYLUM TO SYNTHESIZE LIPASES AND ESTERASES

S u m m a r y

Amidst the major producers of commercially important lipases are the following genera of fungi: *Aspergillus*, *Candida*, *Mucor*, *Rhizomucor*, *Rhizopus*, and *Penicillium* genus. It is estimated that only 1 to 2 % of the entire population of fungi have, by now, been characterized. Therefore, there is a high probability that new fungal strains having lipolytic properties might be discovered. The objective of the research study was to verify whether or not some selected species of fungi belonging to the *Basidiomycota* phylum have the ability to synthesize lipases and esterases. Also, the effect was analyzed of some selected sources

of carbon on the lipolytic activity of the fungi studied. The research material consisted of 30 strains of fungi from a *Basidiomycota* phylus.

Based on the research results, it was found that the genera of *A. citrina*, *A. vulgare*, *C. cornea*, *C. striatus*, *H. lateritium*, *K. mutabilis*, *L. amethystina*, *L. camphoratus*, *L. vellerus*, *M. konradii*, *P. involutus*, *P. impudicus*, *Ramaria* sp., *R. Turci*, *S17 Mycena* sp., *S. citrinum*, *S. hirsutum*, *Strobilurus* sp., *S. variegatus*, and *T. sulphureum* had the ability to produce lipases. It was proved that the type of a carbon source added to the culture medium had a significant effect on the lipolytic activity of the *Basidiomycota* fungi. The *G. lucidum*, *R. butyracea*, *S. citrinum*, and *L. edodes* genera did not synthesize esterases.

Key words: *Basidiomycota* phylum, lipases, esterases, type of carbon source ☒

EWELINA ŁYSOŃ, WIOLETTA BIEL

OCENA SKŁADU CHEMICZNEGO ZIARNA WYBRANYCH ODMIAN ŻYTA (*SECALE CEREALE L.*) Z UPRAWY EKOLOGICZNEJ I KONWENCJONALNEJ

Streszczenie

Żywność ekologiczna jest dla konsumentów synonimem wysokiej jakości oraz gwarancji bezpieczeństwa produkcji. W związku z tym celem pracy była analiza składu podstawowego (suchej masy, białka ogółem, tłuszczu surowego, włókna surowego, związków mineralnych w postaci popiołu ogółem i węglowodanów ogółem), frakcji błonnika (NDF – błonnika neutralnodetergentowego, ADF – błonnika kwaśnodetergentowego, ADL – ligniny kwaśnodetergentowej, HCEL – hemicelulozy i CEL – celulozy) oraz makroelementów (wapnia, fosforu, potasu i sodu) ziarna czterech odmian żyta ozimego ('Visello', 'Kapitan', 'Kondukt', 'Dukato'), pochodzących z upraw ekologicznej i konwencjonalnej.

Na podstawie wyników badań stwierdzono, że ziarno żyta z produkcji ekologicznej zawierało średnio o 9,4 g/kg s.m. mniej białka niż ziarno z uprawy konwencjonalnej ($p \leq 0,05$). Ziarno to zawierało również istotnie mniej: popiołu ogółem, NDF, ADL i potasu w porównaniu z ziarnem żyta z uprawy konwencjonalnej. Badane odmiany żyta również różniły się między sobą. W ziarnie odmiany 'Kondukt' było istotnie więcej: białka ogółem, włókna surowego oraz wapnia w porównaniu z pozostałymi odmianami. Na podstawie przeprowadzonych badań nie stwierdzono korzystnego wpływu ekologicznego systemu uprawy ziarna żyta ozimego na jego skład chemiczny.

Słowa kluczowe: żyto ozime, odmiany żyta, uprawa ekologiczna, uprawa konwencjonalna, skład chemiczny, frakcje włókna, makroelementy

Wprowadzenie

Wielu producentów i przetwórców upatruje w produkcji ekologicznej szansy na rozwój i zapełnienie niszy rynkowej powstałej na skutek zwiększonego zainteresowania konsumentów żywnością wysokiej jakości, jaką jest żywność ekologiczna [14, 20]. Podkreśla się, że surowce z produkcji ekologicznej mają korzystniejsze cechy pro-

Mgr inż. E. Lysoń, dr hab. inż. W. Biel, Katedra Hodowli Trzody Chlewnej, Żywienia Zwierząt i Żywności, Wydz. Biotechnologii i Hodowli Zwierząt, Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie, ul. Doktora Judyma 10, 71-460 Szczecin. Kontakt: Wioletta.Biel@zut.edu.pl

zdrowotne, wynikające na ogół z większej wartości odżywczej i zdecydowanie mniejszego poziomu zanieczyszczeń niż produkowane w systemie konwencjonalnym. Wpływ na to ma wiele czynników, w tym m.in. sposób uprawy, odmiana roślin, stopień dojrzałości oraz warunki w okresie wegetacji [37, 38]. Ponadto surowce pochodzące z rolnictwa ekologicznego lepiej się przechowują w stosunku do płodów rolnictwa konwencjonalnego, co jest uwarunkowane z reguły większą zawartością suchej masy i związanym z tym ograniczeniem aktywności enzymatycznej oraz spowolnieniem procesów oddychania, gnicia i rozkładu. Wraz ze wzrostem suchej masy wzrasta też zawartość składników odżywczych, stąd można przypuszczać, że uprawa ekologiczna jest sposobem na zachowanie i zwiększenie zawartości składników odżywczych oraz związków bioaktywnych [6, 15].

Zmiany zachodzące w uprawie żyta ozimego stały się możliwe dzięki postępowi biologicznemu i agrotechnicznemu. W pewnym stopniu zostały wymuszone większym popytem na ziarno dla piekarnictwa. Ziarno żyta i jego przetwory, zwłaszcza pieczywo żytnie, wnoszą do codziennej diety wiele cennych składników [4, 33]. Aktualne badania dostarczają nowych informacji na temat walorów żywieniowych i dietetycznych tego zboża [5, 22]. Ze względu na wartościowy skład chemiczny i właściwości zdrowotne żyto, obok pszenicy, jest cennym surowcem do produkcji chleba. Ziarno żyta charakteryzuje się łatwo przyswajalnym białkiem, bogatym w lizynę. Mąka żytnia razowa przewyższa mąkę pszenną pod względem zawartości błonnika pokarmowego (o ok. 25 %). Ponadto podczas fermentacji kwasowej ciasta żytniego zostają uwolnione większe ilości wapnia niż w przypadku ciasta pszennego [16, 23, 25]. Pieczywo żytnie znacznie dłużej zachowuje świeżość i przydatność konsumpcyjną [4, 34, 40]. Ziarno żyta jest również bogate w witaminy a także w kwasy fenolowe oraz fitoestrogeny [3, 9, 11]. Spośród wszystkich zbóż żyto odznacza się najniższą kalorycznością (netto). Szczególnie ważne jest wykorzystanie mąki całościowej do wypieku chleba [23].

Istnieje niewiele danych dotyczących składu chemicznego ziarna żyta z upraw ekologicznych, co skłoniło autorki do podjęcia badań w tym kierunku.

Celem pracy było określenie wpływu metody uprawy (ekologicznej i konwencjonalnej) oraz odmiany żyta ozimego na skład chemiczny ziarna.

Material i metody badań

Materiałem doświadczalnym było ziarno żyta ozimego (*Secale cereale* L.) z dwóch lat zbioru (2010 i 2011) otrzymane z Krajowego Instytutu Badawczego ds. Rybactwa i Rybołówstwa w Gülzow (Niemcy). Analizowanymi czynnikami doświadczenia były: sposób uprawy (ekologiczny i konwencjonalny) oraz odmiana żyta ozimego ('Viselo', 'Kapitan', 'Kondukt' i 'Dukato'). W systemie konwencjonalnym zastosowano nawożenie azotem w ilości 210 kg N/ha oraz pełną ochronę roślin z zastosowaniem herbicydów w postaci oprysków przeciwko chorobom i szkodnikom.

W uprawie ekologicznej źródłem azotu była mieszanka koniczyny z trawami, jako przedplon, bez stosowania regulatorów wzrostu i środków ochrony roślin, w tym środków grzybobójczych. W roku 2010 przedplonem w uprawie konwencjonalnej były trawy w uprawie polowej, a w roku 2011 – jęczmień ozimy. W uprawie ekologicznej w obydwu latach przedplonem była mieszanka koniczyny z trawami. Wilgotność otrzymanego ziarna nie przekraczała $14 \div 15$ %, w związku z czym nie wymagało dosuszenia [28]. Do badań chemicznych używano śruty otrzymanej z ziarna zmielonego w młynku laboratoryjnym Knifetec 1095 (Foss Tecator, Szwecja). W celu oznaczenia suchej masy próbki suszono w temp. $105\text{ }^{\circ}\text{C}$ do uzyskania stałej masy. W wysuszonej śrucie oznaczano podstawowy skład chemiczny (białko ogółem, tłuszcz surowy, włókno surowe, związki mineralne w postaci popiołu ogółem, węglowodany ogółem) zgodnie z AOAC [1]. Zawartość tłuszczu surowego oznaczano metodą Soxhleta, a jako rozpuszczalnik stosowano eter dietylowy według PN-ISO 6492:2005 [31]. Zawartość popiołu ogółem oznaczano poprzez mineralizację próbki w piecu muflowym w temp. $580\text{ }^{\circ}\text{C}$ przez 8 h, według PN-ISO-2171:1994 [27]. Białko ogółem ($N \times 6,25$) określano metodą Kjeldahla według PN-EN-ISO-5983-1:2005 [30] przy użyciu aparatu Büchi B-324 (Szwajcaria). Zawartość włókna surowego oznaczano według PN-EN-ISO-6865:2002 [29]. Zawartość węglowodanów ogółem obliczano z tzw. różnicy według schematu [17]: węglowodany ogółem = $100 - (\text{woda} + \text{białko ogółem} + \text{tłuszcz surowy} + \text{włókno surowe} + \text{popiół ogółem})$.

Zawartość frakcji błonnika oznaczano metodą van Soesta i wsp. [41]. Metoda ta różnicuje skład błonnika na frakcje: neutralnodetergentowe (NDF, *neutral detergent fibre*), kwaśnodetergentowe (ADF, *acid detergent fibre*), celulozę (CEL, *cellulose*), hemicelulozy (HCEL, *hemicellulose*) i ligniny (ADL, *acid detergent lignin*). Oznaczenia wykonywano przy użyciu aparatu Ankom 220 Fiber Analyzer (ANKOM Technology, Macedon New York, USA). Błonnik neutralnodetergentowy (NDF), odpowiadający sumie hemiceluloz, celulozy i ligniny, oznaczano przy użyciu dodecylosiarczanu sodu (Merc 102342, Niemcy), zaś kwaśnodetergentowy (ADF), w skład którego wchodzi celuloza i lignina – przy użyciu bromku cetylotrimetyloamoniowego. Zawartość ligniny (ADL) określano po hydrolizie próbki ADF w 72-procentowym kwasie siarkowym(VI), natomiast hemicelulozy (HCEL) wyliczano na podstawie różnicy zawartości NDF i ADF, a celulozę (CEL) z różnicy między ADF i ADL.

Zawartość wapnia, potasu i sodu oznaczano przy użyciu fotometru płomieniowego FLAPHO-4 (Carl Zeiss Jena, Niemcy), a fosfor – metodą spektrofotometryczną według PN-ISO 6491:2000 [26] z zastosowaniem aparatu Spekol 11 (Carl Zeiss Jena, Niemcy).

Każdą analizę wykonano w trzech powtórzeniach i przedstawiono jako wartość średnią z dwóch lat ($n = 3 \times 2$). Wyniki badań dotyczące wpływu metody uprawy i odmian żyta na zawartość składników odżywczych opracowano statystycznie z zasto-

sowaniem dwuczynnikowej analizy wariancji dla doświadczeń wieloletnich, a istotność różnic przy poziomie istotności $p = 0,05$ oceniano testem Tukeya. Analizy statystyczne wykonano w programie Statistica 12.0 PL.

Różnice procentowe obrazujące zmiany zawartości badanych składników w ziarnie obliczano z równania Worthingtona [42]:

$$[(\text{eko} - \text{konw})/\text{konw} \times 100 \text{ \%}]$$

gdzie: eko – zawartość badanych składników w ziarnie żyta z uprawy ekologicznej, konw – zawartość badanych składników w ziarnie żyta z uprawy konwencjonalnej.

Wyniki i dyskusja

Skład chemiczny próbek ziarna wykazywał zmienność w zależności od analizowanych czynników (tab. 1 - 3). Nie wykazano statystycznie istotnych ($p > 0,05$) różnic pod względem zawartości suchej masy w ziarnie żyta w zależności od sposobu uprawy, natomiast odmiana miała istotny wpływ na poziom analizowanych składników (tab. 1).

W ocenie wartości odżywczej zbóż ważnym parametrem jest zawartość białka. Spośród badanych czynników doświadczenia zarówno sposób uprawy, jak i odmiana żyta w istotny sposób różnicowały zawartość białka. Konwencjonalny system uprawy żyta wpłynął istotnie na zwiększenie poziomu białka o 9,4 g/kg suchej masy (s.m.) w ziarnie. Także odmiany żyta wykazały istotne zróżnicowanie pod względem zawartości białka w ziarnie. Najmniej tego składnika było w ziarnie odmiany ‘Visello’. Wyniki potwierdzają badania Sadowskiego i Rychcika [35], którzy również stwierdzili, że zawartość białka ogółem w ziarnie żyta z uprawy ekologicznej była mniejsza niż w ziarnie pozyskanym z uprawy konwencjonalnej. Równocześnie w badaniach wymienionych autorów zawartość białka w ziarnie pochodzącym z upraw ekologicznej i konwencjonalnej była mniejsza odpowiednio: o 23,9 g/kg s.m i 23,5 g/kg s.m. niż w badaniach własnych. Kraska [13] oznaczył zawartość tego składnika w ziarnie żyta uprawianego konwencjonalnie w granicach 97,68 ÷ 107,14 g/kg s.m. Dla porównania średnia zawartość białka w ziarnie najstarszego zboża chlebowego, czyli pszenicy z produkcji ekologicznej i konwencjonalnej wynosi odpowiednio: 115,7 i 158,3 g/kg s.m. [18].

Zarówno czynnik genetyczny, jak i uprawowy, nie miały istotnego wpływu na zawartość lipidów w ziarnie. Średnia ich zawartość wynosiła 14,2 g/kg s.m. Schwarz i wsp. [36] wykazali zawartość lipidów na poziomie 16,54 g/kg s.m. Ragaee i wsp. [32] podają ich z kolei aż 25,3 g/kg s.m., a Nowotna i wsp. [23] – 18 ÷ 26 g/kg s.m. w próbkach ziarna pochodzącego z uprawy konwencjonalnej.

Tabela 1. Podstawowy skład ziarna żyta ozimego z upraw ekologicznej i konwencjonalnej

Table 1. Basic composition of winter rye grain from organic and conventional crops

Wyszczególnienie Specification		Sucha masa Dry matter [g/kg]	Białko ogółem Total protein [g/kg s.m. / d.m.]	Tłuszcz surowy Crude fat [g/kg s.m. / d.m.]	Włókno surowe Crude fibre [g/kg s.m. / d.m.]	Popiół ogółem Total ash [g/kg s.m. / d.m.]	Węglowodany ogółem Total carbohydrates [g/kg s.m. / d.m.]
Sposób uprawy Cultivation system	ekologiczna organic	894 ± 2,3	97,7 ± 9,2	14,4 ± 0,5	13,4 ± 1,4	17,3 ± 0,6	857,3 ± 10,2
	konwencjonalna conventional	894,9 ± 2,0	107,1 ± 6,8	14,0 ± 1,0	12,6 ± 1,4	17,7 ± 0,7	848,6 ± 6,7
Odmiana Cultivar	'Visello'	896,5 ± 1,9	94,3 ± 7,2	13,9 ± 0,4	13,2 ± 1,3	17,1 ± 0,5	861,4 ± 7,9
	'Kapitan'	894,3 ± 2,6	103,1 ± 8,1	14,4 ± 0,5	13,1 ± 1,9	17,6 ± 0,8	851,9 ± 8,4
	'Kondukt'	893,3 ± 1,6	106,3 ± 9,9	14,5 ± 1,2	13,7 ± 1,0	17,5 ± 0,8	847,9 ± 9,0
	'Dukato'	893,7 ± 1,1	105,9 ± 7,9	13,9 ± 0,7	12,0 ± 1,2	17,8 ± 0,6	850,5 ± 8,6
\bar{x}		894,4	102,4	14,2	13,0	17,5	852,9
Różnica eko/konw Difference org/conv [%]		-0,1	-8,8	2,9	6,4	-2,3	1,0
NIR _{0,05} uprawa LSD _{0,05} cultivation		n.s.	4,631	n.s.	n.s.	0,369	4,426
NIR _{0,05} odmiana LSD _{0,05} cultivar		2,186	8,878	n.s.	1,576	n.s.	8,483

Objaśnienia / Explanatory notes:

W tabeli przedstawiono wartości średnie ± odchylenia standardowe / Table shows mean values and standard deviations; n = 6;

NIR_{0,05} – najmniejsza istotna różnica / LSD_{0,05} – least significant difference; n.s. nieistotnie statystycznie / statistically insignificant difference. Węglowodany ogółem = 100 – (woda + białko ogółem + tłuszcz surowy + włókno surowe + popiół ogółem) / Total carbohydrates = 100 – (water + total protein + crude fat + crude fibre + total ash).

W przeprowadzonych badaniach czynnik genetyczny miał istotny wpływ na zawartość włókna surowego. Największą zawartością włókna surowego odznaczało się ziarno odmiany 'Kondukt' – 13,7 g/kg s.m. Dla porównania Chrenková i wsp. [7] podają zawartość włókna surowego w ziarnie z uprawy konwencjonalnej jako 24,55 g/kg s.m.

Ziarno zbóż jest źródłem składników mineralnych. Spośród badanych czynników wpływ na zawartość tych składników w postaci popiołu miał sposób uprawy. Próbkę pochodzące z uprawy konwencjonalnej zawierały istotnie więcej popiołu niż ziarno pochodzące z uprawy ekologicznej. Średnia zawartość popiołu ogółem w ziarnie żyta wynosiła 17,5 g/kg s.m. Jak podają Nyström i wsp. [24], ziarno żyta zawiera 16 ÷

22 g/kg s.m. popiołu ogółem, natomiast Nowotna i wsp. [23] wykazali go 15,6 ÷ 19,2 g/kg s.m. Wymienieni autorzy badali ziarno pochodzące z uprawy konwencjonalnej.

Spośród badanych czynników, zarówno sposób uprawy, jak i czynnik genetyczny miały wpływ na zawartość węglowodanów ogółem w ziarnie żyta. Największą zawartością tego składnika odznaczała się odmiana ‘Visello’, zawierająca 861,4 g/kg s.m. Matras i Szot [19] podają średnią zawartość tego składnika na niższym poziomie, wynoszącym 855,60 g/kg s.m.

W tab. 2. przedstawiono zawartość frakcji błonnika pokarmowego. Odmiana miała statystycznie istotny wpływ ($p \leq 0,05$) na zawartość frakcji ADF, ADL oraz CEL, a system uprawy – na poziom frakcji NDF i ADL. Cohn i wsp. [8] stwierdzili, że duża zawartość frakcji rozpuszczalnej błonnika w diecie prowadzi do obniżenia poziomu cholesterolu i triacylogliceroli we krwi poprzez wiązanie cholesterolu dostarczanego z pożywieniem w strukturze żelowej, a to powoduje zmniejszenie jego wchłaniania oraz zwiększenie wydalania z kałem. Próbkami pochodzące z uprawy konwencjonalnej w porównaniu z próbkami pochodzącymi z uprawy ekologicznej zawierały o 7,8 g/kg s.m. więcej frakcji neutralnodetergentowej. Średnia zawartość NDF w ziarnie wynosiła 165 g/kg s.m. W badaniach ziarna żyta pochodzącego z uprawy konwencjonalnej Žilić i wsp. [43] oznaczyli więcej tej frakcji – 220,1 ÷ 461,0 g/kg s.m. Z kolei Mikulioniene i Balezentiene [21] podają średnią zawartość frakcji NDF na poziomie 139 g/kg s.m.

Na zawartość frakcji kwaśnodetergentowej (ADF), na którą składają się celuloza i lignina, istotnie większy wpływ miała odmiana żyta. Najbogatsze we frakcję ADF okazało się ziarno odmiany ‘Kapitan’ – zawierało jej 33,1 g/kg s.m. Z kolei odmiana ‘Dukato’ zawierała najmniej ADF – 29,4 g/kg s.m. Podobne wyniki uzyskali Žilić i wsp. [43], natomiast Mikulioniene i Balezentiene [21] oznaczyli zawartość frakcji ADF na poziomie 47 g/kg s.m. Wymienieni autorzy przeprowadzili badania z udziałem ziarna pochodzącego z uprawy konwencjonalnej.

W badaniach własnych poziom frakcji ADL był większy w próbkach uzyskanych z uprawy konwencjonalnej o 1,0 g/kg s.m. Największą ilością tej frakcji odznaczała się odmiana ‘Kapitan’, zawierająca 8,1 g/kg s.m. Žilić i wsp. [43] oznaczyli zawartości tej frakcji w zakresie 6 ÷ 13,8 g/kg s.m., a Mikulioniene i Balezentiene [21] – 19 g/kg s.m.

Średni poziom hemicelulozy w ziarnie żyta wynosił 134,6 g/kg s.m. Była to zawartość mniejsza od wyników Žilića i wsp. [43], którzy oznaczyli 186,7 ÷ 423,7 g/kg s.m. hemicelulozy.

Średnia zawartość celulozy w badanych próbkach wynosiła 23,6 g/kg s.m. Najbogatsze w tę frakcję było ziarno odmiany ‘Kapitan’, zawierające 25,0 g/kg s.m. Więcej celulozy w ziarnie oznaczyli Mikulioniene i Balezentiene [21] – 28 g/kg s.m.

Tabela 2. Zawartość frakcji błonnika w ziarnie żyta ozimego z upraw ekologicznej i konwencjonalnej [g/kg s.m.]

Table 2. Content of fibre fraction in winter rye grain from organic and conventional crops [g/kg d.m.]

Wyszczególnienie Specification		Błonnik neutralno- detergentowy Neutral de- tergent fibre	Błonnik kwaśno- detergentowy Acid deter- gent fibre	Lignina kwaśno- detergentowa Acid deter- gent lignin	Hemiceluloza Hemicellulose	Celuloza Cellulose
Sposób uprawy Cultivation system	ekologiczna organic	161,1 ± 9,5	30,9 ± 3,2	7,2 ± 0,7	131,3 ± 10,8	23,6 ± 3,0
	konwencjonalna conventional	168,9 ± 7,5	31,8 ± 2,5	8,2 ± 1,1	137,9 ± 7,9	23,6 ± 1,7
Odmiana Cultivar	'Visello'	165,8 ± 10,3	32,3 ± 1,4	7,7 ± 1,0	133,2 ± 9,2	24,5 ± 1,1
	'Kapitan'	164,5 ± 7,8	33,1 ± 2,2	8,1 ± 1,4	135,6 ± 10,0	25,0 ± 1,6
	'Kondukt'	165,6 ± 8,6	30,4 ± 2,8	7,0 ± 0,7	135,1 ± 10,9	23,4 ± 2,4
	'Dukato'	164,1 ± 11,9	29,4 ± 3,4	7,9 ± 0,7	134,7 ± 11,2	21,5 ± 2,9
\bar{X}		165,0	31,3	7,7	134,6	23,6
Różnica eko/konw Difference org/conv [%]		-4,6	-2,8	-12,2	-4,8	0
NIR _{0,05} uprawa LSD _{0,05} cultivation		5,860	n.s.	0,468	n.s.	n.s.
NIR _{0,05} odmiana LSD _{0,05} cultivar		n.s.	2,620	0,898	n.s.	2,096

Objaśnienia / Explanatory notes:

W tabeli przedstawiono wartości średnie ± odchylenia standardowe / Table shows mean values and standard deviations; n = 6;

NIR_{0,05} – najmniejsza istotna różnica / LSD_{0,05} – least significant differences; n.s. nieistotne statystycznie / statistically insignificant difference.

Składniki mineralne są niezbędne do prawidłowego funkcjonowania organizmu człowieka. Utrzymujący się przez dłuższy czas zarówno ich niedobór, jak i nadmiar, może mieć udział w etiologii niektórych chorób metabolicznych [2]. Właściwie zbilansowana dieta ma korzystny wpływ na parametry stresu oksydacyjnego [10]. W tab. 3. przedstawiono zawartość wybranych składników mineralnych w badanym ziarnie żyta. Czynniki genetyczne miały istotny wpływ na zawartość wapnia, potasu i sodu, co wskazuje na różną zdolność do pobierania i kumulowania w biomacie wymienionych składników przez poszczególne odmiany rosnące w tych samych warunkach siedliskowych. Sposób uprawy miał istotny wpływ jedynie na poziom potasu w ziarnie żyta. Średnia zawartość wapnia w badanych próbkach wynosiła 1,1 g/kg s.m. i była większa od tej, którą oznaczyli Matras i Szot [19].

W badaniach własnych na poziom fosforu w ziarnie nie miał wpływu żaden z badanych czynników. Średnia zawartość tego składnika wynosiła 3,6 g/kg s.m. Sadowski i Rychcik [35] stwierdzili w ziarnie pochodzącym z uprawy ekologicznej 3,42 g/kg s.m. tego pierwiastka, a z uprawy konwencjonalnej – 3,51 g/kg s.m.

Tabela 3. Zawartość makroelementów w ziarnie żyta ozimego z upraw ekologicznej i konwencjonalnej [g/kg s.m.]

Table 3. Content of macro-elements in winter rye grain from organic and conventional crops [g/kg d.m]

Wyszczególnienie / Specification		Wapń Calcium	Fosfor Phosphorus	Potas Potassium	Sód Sodium
Sposób uprawy Cultivation system	ekologiczna organic	1,1 ± 0,1	3,7 ± 0,3	4,5 ± 0,5	0,20 ± 0,07
	konwencjonalna conventional	1 ± 0,1	3,6 ± 0,2	4,9 ± 0,3	0,19 ± 0,07
Odmiana Cultivar	'Visello'	1,1 ± 0,1	3,7 ± 0,2	4,4 ± 0,4	0,17 ± 0,03
	'Kapitan'	1,1 ± 0,1	3,5 ± 0,2	4,3 ± 0,4	0,12 ± 0,02
	'Kondukt'	1,1 ± 0,1	3,8 ± 0,2	4,9 ± 0,3	0,25 ± 0,04
	'Dukato'	1,0 ± 0,1	3,6 ± 0,4	5,1 ± 0,2	0,25 ± 0,04
\bar{x}		1,1	3,6	4,7	0,20
Różnica eko/konw Difference org/conv [%]		10	2,8	-8,2	5,26
NIR _{0,05} uprawa LSD _{0,05} cultivation		n.s.	n.s.	0,190	n.s.
NIR _{0,05} odmiana LSD _{0,05} cultivar		0,047	n.s.	0,364	0,047

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

Ziarno żyta pochodzące z uprawy konwencjonalnej zawierało istotnie więcej potasu niż ziarno pochodzące z uprawy ekologicznej. Najbogatsze w ten składnik było ziarno odmiany 'Dukato', zawierające 5,1 g/kg s.m. Z kolei Sadowski i Rychcik [35] podają zawartość potasu w ziarnie pochodzącym z uprawy konwencjonalnej – 4,48 g/kg s.m., natomiast z ekologicznej – 4,42 g/kg s.m.

Średnia zawartość sodu w ziarnie żyta wynosiła 0,20 g/kg s.m. Największą zawartością tego składnika charakteryzowały się odmiany 'Dukato' i 'Kondukt' – 0,25 g/kg s.m. Uzyskane wyniki własne były porównywalne z przedstawionymi przez Kowieskę i wsp. [12], którzy w ziarnie z uprawy konwencjonalnej oznaczyli sód w ilości 0,208 g/kg s.m.

Na podstawie przeprowadzonych badań nie można jednoznacznie określić korzystnego wpływu ekologicznego sposobu uprawy na skład chemiczny ziarna żyta. Wymaga to dalszych badań chemicznych oraz badań nad przydatnością technologiczną i przechowalniczą omawianych odmian żyta.

Wnioski

1. Czynniki genetyczne w znacznie większym stopniu miały wpływ na skład chemiczny ziarna żyta niż sposób uprawy.
2. Brak stosowania nawozów azotowych w uprawie ekologicznej wpłynął na statystycznie istotne ($p \leq 0,05$) zmniejszenie zawartości białka ogółem w ziarnie żyta (o 9,4 g/kg s.m.).
3. Ziarno żyta z uprawy ekologicznej zawierało statystycznie istotnie ($p \leq 0,05$) mniej: związków mineralnych w postaci popiołu ogółem, błonnika neutralnoderwentowego, błonnika kwaśnodetergentowego i potasu w porównaniu z ziarnem żyta z produkcji konwencjonalnej.
4. Żyto 'Kondukt' charakteryzujące się ziarnem o statystycznie istotnie ($p \leq 0,05$) najmniejszej zawartości węglowodanów ogółem, a największej zawartości: białka ogółem, włókna surowego oraz wapnia jest odmianą polecaną do przeprowadzenia szerszej oceny wartości odżywczej i technologicznej.

Literatura

- [1] AOAC: Official methods of analysis of AOAC International. 19th ed. Gaithersburg 2012.
- [2] Berg A.O.: Screening for osteoporosis in postmenopausal women: Recommendations and rationale. *Am. J. Nurs.*, 2003, **103** (1), 73-80.
- [3] Björk I., Östman E., Kristensen M., Anson M.N., Price R.K., Haenen G.R.M.M., Havenaar M., Knudsen K.E.B., Frid A., Mykkänen H., Welch R.W., Riccardi G.: Cereal grains for nutrition and health benefits: Overview of results from in-vitro animal and human studies in the health grain project. *Trends Food Sci. Technol.*, 2012, **25**, 87-100.
- [4] Buksa K., Nowotna A., Gambuś H.: Wpływ dodatku preparatu pentozanowego na właściwości ciasta i chleba z mąki żytniej. *Acta Agrophysica*, 2012, **19** (1), 7-18.
- [5] Buksa K., Nowotna A., Gambuś H., Krawontka J., Sabat R., Noga M.: Analiza towaroznawcza i skład chemiczny ziarna wybranych polskich odmian żyta, pochodzących z trzech kolejnych lat uprawy. *Acta Agrophysica*, 2012, **19** (2), 265-276.
- [6] Carvalho F.P.: Agriculture, pesticides, food security, and food safety. *Environ. Sci. Policy.*, 2006, **9**, 685-692.
- [7] Chrenková M., Chrastinová L., Lauková A., Ondruška L., Poláčíková M., Formelová R., Szabóová R., Rafay J.: The use of selected triticale and rye varieties in rabbit diets: Effect on growth performance, digestibility and balance of nutrients. *JMBFS*, 2012, **1**, 923-929.
- [8] Cohn J.C., Kamili A., Wat E., Chung R.W.S., Tandy S.: Reduction in intestinal cholesterol absorption by various food components: Mechanisms and implications. *Atherosclerosis Suppl.* 2010, **11**, 45-48.
- [9] Gani A., Wani S.M., Masoodi F.A., Hameed G.: Whole-grain cereal bioactive compounds and their health benefits: A review. *J. Food. Proces. Technol.*, 2012, **3**, 3.
- [10] Hans C., Chaudhary D., Bansal D.: Effect of magnesium supplementation on oxidative stress in alloxanic diabetic rats. *Magnes. Res.*, 2003, **16** (1), 13.
- [11] Jasińska I., Kołodziejczyk P., Michniewicz J.: Ziarno żyta jako potencjalne źródło składników prozdrowotnych w diecie. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2006, **2** (47) **Supl.**, 85-92.
- [12] Kowieska A., Lubowicki R., Jaskowska I.: Chemical composition and nutritional characteristics of several cereal grain. *Acta Sci. Pol., Zootech.*, 2011, **10** (2), 37-50.

- [13] Kraska P.: Wpływ zróżnicowanej agrotechniki na plon i wybrane cechy jakościowe ziarna jęczmienia jarego i żyta ozimego. Pam. Puł., 2005, **139**, 75-85.
- [14] Kuś J., Jończyk K., Stalenga J., Feledyn-Szewczyk B., Mróz A.: Plonowanie wybranych odmian pszenicy ozimej w uprawie ekologicznej i konwencjonalnej. J. Res. Appl. Agric. Eng., 2010, **55 (3)**, 18-23.
- [15] Lairon D.: Nutritional quality and safety of organic food. A review. Argon. Sustain. Dev., 2010, **30**, 33-41.
- [16] Litwinek D., Gambuś H., Sabat R., Wywrotka-Gurgul A., Lakoś M.: Porównanie jakości i wartości odżywczej mąki żytniej, pszennej i orkiszowej z pełnego przemiału. W: Technologiczne kształtowanie jakości żywności. Red. K.M. Wójciak, Z.J. Dolatowski. Wyd. Nauk. PTTŻ, Kraków 2015, ss. 171-180.
- [17] Łoś-Kuczera M., Iwanow K., Kłys W., Kunachowicz H., Nadolna I., Okolska G., Rutkowska U., Wojtasik A.: Produkty spożywcze. Skład i wartość odżywcza. Warszawa 1990, Prace IŻŻ nr 54.
- [18] Lysoń E., Biel W., Sobolewska M.: Estimation of the selected winter wheat (*Triticum aestivum* L.) varieties cultivated in organic and conventional crop production systems. Folia Pomer. Univ. Technol. Stetin., Agric., Aliment., Pisc., Zootech., 2015, **320 (35) 3**, 59-68.
- [19] Matras J., Szot B.: Wstępna ocena właściwości fizycznych i składu chemicznego ziarna żyta *Secale montanum*. Acta Agrophysica, 2009, **13 (3)**, 753-759.
- [20] Mazurkiewicz J.: Porównanie jakości technologicznej pszenicy i żyta uprawianych w warunkach konwencjonalnych i gospodarstwa ekologicznego. Acta Agrophysica, 2005, **6 (3)**, 729-741.
- [21] Mikulioniene S., Balezentiene L.: Responses of cereals grain quality on organic and conventional farming. Agron. Res., 2009, **7 (2)**, 677-683.
- [22] Nordlund E., Heiniö R.L., Viljaen K., Pihlava J.M.: Flavour and stability of rye grain fractions in relation to their chemical composition. Food Rev. Int., 2013, **54**, 48-56.
- [23] Nowotna A., Buksa K., Gambuś H., Gnela M., Ziobro R., Sabat R., Krawontka J.: Użycie mąki całościowej z różnych odmian żyta w piekarstwie. Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 2007, **3 (52)**, 90-97.
- [24] Nyström L., Lampi A.M., Andersson A.M., Kamal-Eldin A., Gebruers K., Courtin C.M., Delcour J.A., Li L., Ward J.L., Fra A., Boros D., Rakszegi M., Bedő Z., Shewry P.R., Piironen V.: Phytochemicals and dietary fiber components in rye varieties in the health grain diversity screen. J. Agric. Food Chem., 2008, **56**, 9758-9766.
- [25] Peñas E., Martínez-Villaluenga C., Vidal-Casero C., Zieliński H., Frias J.: Protein quality of traditional rye breads and ginger cakes as affected by the incorporation of flour with different extraction rates. Pol. J. Food Nutr., 2013, **63 (1)**, 5-10.
- [26] PN-ISO 6491:2000. Pasze. Oznaczanie zawartości fosforu. Metoda spektrometryczna.
- [27] PN-EN ISO 2171:2010. Ziarno zbóż, nasiona roślin strączkowych i ich przetwory. Oznaczanie zawartości popiołu metodą spalania.
- [28] PN-EN ISO 712:2012. Ziarno zbóż i przetwory zbożowe. Oznaczanie wilgotności. Metoda odwoławcza.
- [29] PN-EN ISO 6865:2002. Pasze. Oznaczanie zawartości włókna surowego. Metoda z pośrednią filtracją.
- [30] PN-EN ISO 5983-1:2006. Pasze. Oznaczanie zawartości azotu i obliczanie zawartości białka ogólnego. Część 1: Metoda Kjeldahla.
- [31] PN-ISO 6492:2005. Pasze. Oznaczanie zawartości tłuszczu.
- [32] Ragaei S., Abdel-Aal E.M., Noaman M.: Antioxidant activity and nutrient composition of selected cereals for food use. Food Chem., 2006, **98**, 32-38.
- [33] Rosén L.A.H., Östman E.M., Shewry P.R., Ward J.L., Andersson A.A.M., Piironen V., Lampi A.M., Rakszegi M., Bedő Z., Björk I.M.E.: Postprandial glycemia, insulinemia, and satiety responses in healthy subjects after whole grain rye bread made from different rye varieties 1. J. Agric. Food Chem., 2011, **59**, 12139-12148.
- [34] Ruszkowska M.: Właściwości sorpcyjne mąk przeznaczonych do wypieku chleba w warunkach domowych. Acta Agrophysica, 2012, **19 (1)**, 111-121.


- [35] Sadowski T, Rychcik B.: Plonowanie i wybrane cechy jakościowe żyta ozimego w okresie przestawiania jego uprawy na system ekologiczny. *Ann. UMCS Lublin*, 2010, **LXV (2)**, 91-99.
- [36] Schwarz T., Kuleta W., Turek A., Tuz R., Nowicki J., Rudzki B., Bartlewski P.M.: Assessing the efficiency of using a modern hybrid rye cultivar for pig fattening, with emphasis on production costs and carcass quality. *Anim. Prod. Sci.*, 2014, **55 (4)**, 467-473.
- [37] Sembratowicz I., Rusinek-Prystupa E.: Zawartość substancji bioaktywnych w owocach pozyskiwanych z upraw ekologicznych i konwencjonalnych. *Probl. Hig. Epidemiol*, 2015, **96 (1)**, 259-263.
- [38] Staniak S.: Charakterystyka żywności produkowanej w warunkach rolnictwa ekologicznego. *Pol. J. Agron.*, 2014, **19**, 25-35.
- [39] Szajdek A., Borowska J.: Właściwości przeciwutleniające żywności pochodzenia roślinnego. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2004, **4 (41) Supl.**, 5-28.
- [40] Tomiło J., Dzikowski D., Różyło R.: Zmiany tekstury pieczywa żytniego podczas przechowywania. *Episteme*, 2013, **21 (2)**, 143-154.
- [41] Van Soest P.J., Robertson J.B., Lewis B.A.: Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *J. Dairy Sci.*, 1991, **74**, 3583-3597.
- [42] Worthington V.: Nutritional quality of organic versus conventional fruits, vegetables and grains. *J. Altern. Complem. Med.*, 2001, **7 (2)**, 161-173.
- [43] Žilić S., Dodig D., Milašinović-Šeremešić M., Kandić V., Kostadinović M., Prodanović S., Savić D.: Small grain cereals compared for dietary fibre and protein contents. *Genetika*, 2011, **43 (2)**, 381-395.

ASSESSING CHEMICAL COMPOSITION OF GRAIN OF SOME SELECTED RYE (*SECALE CEREALE L.*) CULTIVARS FROM ORGANIC AND CONVENTIONAL CROPS

S u m m a r y

For consumers, organic food is the byword for high quality and guarantee of production safety. Therefore, the objective of the research study was the analysis of the basic composition (i.e. dry matter, total protein, crude fat, crude fibre, mineral compounds in the form of total ash and total carbohydrates) of four winter rye cultivars ('Visello', 'Kapitan', 'Kondukt', 'Dukato') derived from organic and conventional crops as well as the analysis of the fibre fractions (NDF – neutral detergent fibre, ADF – acid detergent fibre, ADL – acid detergent lignin, HCEL – hemicellulose, CEL – cellulose) and macro-elements (calcium, phosphorus, potassium, sodium) therein.

Based on the analysis research, it was found that the content of crude protein in rye grain from organic crops was, on average, 9.4 g/kg of d.m. lower compared to that in the rye grain from conventional crops ($p \leq 0.05$). Moreover, the rye grain from organic crops contained significantly lower amounts of: total ash, NDF, ADL, and potassium compared to the rye grain from conventional crops. Also, the rye cultivars analyzed differed from each other. Compared to others cultivars, the grain from the 'Kondukt' cultivar contained significantly more crude protein, crude fibre, and Ca. Based on the research performed, it was concluded that the organic farming of winter rye grain had no beneficial effect on its chemical composition.

Key words: winter rye, cultivars of rye, organic crops, conventional crops, chemical composition, fibre fraction, macro-elements 

GABRIELA ZIĘĆ

WŁAŚCIWOŚCI TEKSTURALNE MIĘKISZU I JAKOŚĆ CHLEBÓW PSZENNO-OWSIANYCH

Streszczenie

Celem pracy była ocena zmian wybranych właściwości teksturalnych miękiszu chlebów pszenno-owsianych z 50-procentowym udziałem mąki owsianej resztkowej, wytworzonych metodą fermentacji przy użyciu drożdży bez zakwasu z mąki żytniej (MORD) lub z użyciem takiego zakwasu (MORZ). Chleby te porównywano z chlebami z 50-procentowym udziałem mąki owsianej handlowej, wytworzonymi tymi samymi metodami (MOHD i MOHZ) oraz z chlebem pszennym przygotowanym wyłącznie przy użyciu drożdży (MPD). Zastosowany 50-procentowy udział mąki owsianej resztkowej lub handlowej wpłynął na zwiększenie wydajności tego pieczywa – o około 6 % oraz zmniejszenie objętości (o 360 cm³), w porównaniu z chlebem pszennym. Niezależnie od metody prowadzenia ciasta chleby wypieczone z udziałem mąki owsianej resztkowej oceniono wyżej w zakresie cech organoleptycznych niż chleby z mąką owsianą handlową. Stwierdzono, że odbojność i spójność miękiszu wszystkich badanych chlebów zmniejszała się sukcesywnie podczas całego okresu przechowywania. Wszystkie badane chleby pszenno-owsiane odznaczały się większą twardością (o około 8 N) i żujnością (o około 3,5 N) w dniu wypieku, w porównaniu z chlebem pszennym. Zaobserwowano wpływ użycia zakwasu na proces twardnienia miękiszu badanych chlebów, zarówno na ograniczenie intensywności tego procesu, jak i ostateczny wynik po 3 dobach przechowywania – chleby pszenno-owsiane bez udziału zakwasu charakteryzowały się znacznie większą twardością już po pierwszej dobie przechowywania niż chleby z jego udziałem.

Słowa kluczowe: mąka owsiana resztkowa, chleby pszenno-owsiane, parametry tekstury miękiszu, cechy organoleptyczne chlebów

Wprowadzenie

Produkty zbożowe odgrywają zasadniczą rolę w żywieniu człowieka. We wszystkich schematach propagujących zasady prawidłowego żywienia (tzw. piramidach żywieniowych) w podstawie trójkąta obrazującego zalecane spożycie poszczególnych

rodzajów produktów umieszczono przetwory zbożowe, w tym pieczywo, które powinny stanowić bazę dziennej racji pokarmowej zdrowego człowieka [11].

Jakość pieczywa zależy od wielu czynników, w tym od rodzaju użytej mąki, jej właściwości czy stosowanych dodatków. Produkuje się pieczywo m.in. z udziałem mąki lub ziaren zbóż niechlebowych, które korzystnie wpływają na jego wartość odżywczą oraz walory smakowo-zapachowe [17]. Konsumenci poszukują pieczywa o dobrym smaku, charakteryzującego się długo świeżością, odpowiednią barwą miększu i dobrą teksturą [7, 13]. Cechy mechaniczne miększu pieczywa decydują o jakości produktu świeżego, ale świadczą też o zmianach zachodzących podczas jego przechowywania oraz określają wpływ różnych dodatków na cechy tekstury [7, 25].

Od lat powszechne zainteresowanie wzbudza ziarno owsa. Obserwuje się coraz szersze zastosowanie przetworów z tego zboża niechlebowego w przemyśle spożywczym, szczególnie do produkcji pieczywa [9, 17, 21, 26]. Przetwory owsiane w odróżnieniu od przetworów ze zbóż chlebowych odznaczają się większą zawartością nieskrobiowych polisacharydów, tj. włókna pokarmowego, β -D-glukanów oraz pentozań. Są także dobrym źródłem składników mineralnych, witamin z grupy B, tokochromanoli oraz innych przeciwutleniaczy [3, 17, 21]. Do handlu wprowadzane są nowe produkty owsiane, które mają zachęcić konsumentów do spożywania przetworów z tego wartościowego ziarna. Jednym z takich produktów jest koncentrat β -glukanów, produkowany pod nazwą Betaven przez firmę Microstructure Sp. z o.o. w Warszawie. Podczas izolacji składników Betavenu ze zmikronizowanych płatków owsianych powstaje jako produkt uboczny mąka owsiana, tzw. resztkowa, pozbawiona wprawdzie dużej części rozpuszczalnej frakcji włókna pokarmowego, ale charakteryzująca się pod względem żywieniowym nadal bardzo korzystnym składem chemicznym [12, 31].

W ujęciu ilościowym w procesie produkcji Betavenu powstaje 10 razy więcej produktu ubocznego, tj. mąki tzw. resztkowej niż produktu głównego.

Z uwagi na walory produktów wzbogacanych przetworami owsianymi celem pracy była ocena zmian wybranych właściwości teksturalnych miększu chlebów pszenno-owsianych z 50-procentowym udziałem mąki owsianej resztkowej, wytworzonych metodą fermentacji przy użyciu drożdży bez zakwasu z mąki żytniej lub z użyciem takiego zakwasu. Chleby te porównywano z chlebami z 50-procentowym udziałem mąki owsianej handlowej, wytworzonymi tymi samymi metodami oraz z chlebem pszennym przygotowanym wyłącznie przy użyciu drożdży.

Materiał i metody badań

Materiałem doświadczalnym były chleby pszenno-owsiane z 50-procentowym udziałem mąki owsianej resztkowej (Microstructure Sp. z o.o., Warszawa) lub handlowej (Młyn Gospodarczy Bogutyn, Radzyń Podlaski) w mieszance, sporządzone

z udziałem lub bez udziału zakwasu z mąki żytniej oraz chleb pszenny przygotowany przy użyciu drożdży. Mąka pszenna i żytnia pochodziły z PZZ Kraków S.A.

Wszystkie badane chleby wypiekano metodą bezpośrednią – jednofazową według receptur przedstawionych w tab. 1.

Zakwas o konsystencji 300 j.B. otrzymano z mąki żytniej typu 720 i kultur startowych LV2 (Lesaffre Polska S.A.) metodą jednofazową, w żurowniku laboratoryjnym własnej konstrukcji. Fermentację prowadzono w temp. 31 °C przez 20 h, z automatycznym mieszaniem przez 10 s w odstępach 10-minutowych.

Z mieszanek pszenno-owsianych, które zawierały 50 % mąki owsianej w stosunku do całkowitej masy mieszanki sporządzano ciasto o konsystencji 350 j.B. w mieszarce spiralnej Diosna, typ SP 12 (Dierks & Söhne, Niemcy), w ciągu 9 min i formowano kęsy o masie 250 g. Chleby wypiekano w temp. 230 °C przez 30 min w piecu Miwe Condo, typ CO 2608 (Miwe, Niemcy). W przypadku chlebów sporządzanych z użyciem zakwasu do mieszanek pszenno-owsianych dodawano wcześniej przygotowanego zakwasu żytniego i postępowano tak samo jak przy wytwarzaniu chlebów pszenno-owsianych z użyciem drożdży.

Po wyjęciu z pieca chleby studzono przez około 2 h, następnie ważono, mierzono objętość w laserowym analizatorze objętości Volscan Profiler (Stable Micro Systems, Wielka Brytania) i wykonywano organoleptyczną ocenę punktową według PN-A-74108:1996 [21] przez 15-osobowy zespół o sprawdzonej wrażliwości sensorycznej. Oceniano następujące wyróżniki jakości pieczywa: wygląd zewnętrzny, barwę i grubość skórki, elastyczność i porowatość miękiszu, smak oraz zapach. Do uzyskanej liczby punktów doliczano każdorazowo 8 punktów za wskaźniki fizykochemiczne w celu standaryzacji oceny organoleptycznej z fizykochemiczną. Na podstawie ogólnej liczby punktów określano klasę jakości pieczywa. Wyliczano również całkowitą stratę wypiekową oraz wydajność otrzymanego pieczywa [15].

Chleby przechowywano przez 3 doby w woreczkach z folii polietylenowej (LDPE) i w stałych warunkach wilgotności względnej (64 %) oraz w temp. 20 °C. Zarówno w dniu wypieku, jak i każdego dnia przechowywania oznaczano: wilgotność miękiszu chleba (według AOAC 2006, metoda nr 925.10) [1] oraz wybrane cechy mechaniczne miękiszu metodą TPA, tj. twardość, żujność, odbojność i spójność w analizatorze tekstury TA. XT Plus (Stable Micro Systems, Wielka Brytania). Test polegał na dwukrotnym ściśnięciu próbki w środkowej części kromki o grubości 3 cm trzpieniem o średnicy 20 mm z prędkością przesuwu 2 mm·min⁻¹. Przerwa między przesuwami wynosiła 2 s, a stopień kompresji – 3 mm.

Tabela 1. Receptury chlebów: pszenne oraz pszenno-owsiane (50/50 %), bez udziału mąki żytniej i z 10-procentowym jej udziałem (w stosunku do całkowitej masy mąki) w formie zakwasu
 Table 1. Recipes for wheat flour bread and wheat and oats flour bread (50/50 %) without and with 10 % of rye flour (in relation to the total flour weight) added in the form of sourdough

Rodzaj chleba Type of bread	Mąka pszenna typu 650 Wheat flour type 650 [g]	Mąka owsiana resztkowa Residual oats flour [g]	Mąka owsiana handlowa Commercial oats flour [g]	Mąka żytnia typu 720 Rye flour type 720 [g]	Drożdże Yeast [g]	Sól Salt [g]	Woda Water [cm ³]
MORD	500	500	-	-	30	20	660*
MORZ	450	450	-	100 w formie 300 g zakwasu 100 in the form of 300 g sourdough	30	20	460
MOHD	500	-	500	-	30	20	660
MOHZ	450	-	450	100 w formie 300 g zakwasu 100 in the form of 300 g sourdough	30	20	460
MPD	1000	-	-	-	30	20	610

Objaśnienia / Explanatory notes:

MORD – chleb pszenno-owsiany z udziałem mąki owsianej resztkowej, sporządzony przy użyciu drożdży / wheat and oats flour bread with residual oats flour made using yeast; MORZ – chleb pszenno-owsiany z udziałem mąki owsianej resztkowej, sporządzony przy użyciu zakwasu żytniego / wheat and oats flour bread with residual oats flour made using rye sourdough; MOHD – chleb pszenno-owsiany z udziałem mąki owsianej handlowej, sporządzony przy użyciu drożdży / wheat and oats flour bread with commercial oats flour made using yeast; MOHZ – chleb pszenno-owsiany z udziałem mąki owsianej handlowej, sporządzony przy użyciu zakwasu żytniego / wheat and oats flour bread with commercial oats flour made with using rye sourdough; MPD – chleb pszenno-owsiany sporządzony przy użyciu drożdży / wheat flour bread made using yeast; * – oznaczona wodochłonność 500 j.B + 30 cm³ H₂O w celu doprowadzenia do konsystencji ciasta 350 j.B / water absorption determined at 500 B.U. + 30 cm³ of H₂O in order to achieve a dough consistency of 350 B.U.

Wyniki poddano jednoczynnikowej analizie wariancji (ANOVA) w programie Statistica 10.0. Istotność różnic między wartościami średnimi weryfikowano testem Duncana przy $p \leq 0,05$.

Wyniki i dyskusja

Zastosowany 50-procentowy udział mąki owsianej resztkowej (lub handlowej) wpłynął na zwiększenie masy pieczywa pszenno-owsianego, przygotowanego zarówno z użyciem drożdży (MORD, MOHD), jak i z użyciem zakwasu żytniego (MORZ, MOHZ), a tym samym na zwiększenie wydajności tego pieczywa w porównaniu z chlebem pszennym (tab. 2). Związane jest to z większym zatrzymaniem wody w miększu chlebów z udziałem obu rodzajów mąk owsianych oraz większą wodochłonnością mieszanek mąki pszennej z owsianymi, o czym świadczy istotnie większa wilgotność miększu tych chlebów oznaczona w dniu wypieku. Jednak chleby pszenno-owsiane wypieczone z użyciem zakwasu odznaczały się istotnie ($p \leq 0,05$) większą wilgotnością niż chleby pszenno-owsiane sporządzone z użyciem drożdży (tab. 2). Duża zdolność wiązania wody przez produkty owsiane wynika głównie z obecności silnie chłonących wodę β -D-glukanów i drobniejszej granulacji tej mąki w porównaniu z mąką pszenną, co zostało udokumentowane we wcześniejszych badaniach [2, 5, 12, 17, 19, 32]. Większą wilgotność chlebów pszenno-owsianych z udziałem zakwasu żytniego (MORZ, MOHZ) można natomiast tłumaczyć wniesieniem do ciasta pszenno-owsianego pewnej ilości pentozanów wraz z ukwaszoną mąką żytnią, które, podobnie jak β -D-glukany, są nieskrobiowymi polisacharydami silnie chłonącymi wodę [4].

Istotny ($p \leq 0,05$) wpływ użycia mąki owsianej stwierdzono podczas analizy zmian objętości bochenków badanych chlebów. Chleby z 50-procentowym udziałem mąki owsianej (resztkowej lub handlowej), niezależnie od metody prowadzenia ciasta, odznaczały się znacznie mniejszą objętością niż chleb pszenny (tab. 2). Wynika to z odmiennego składu frakcyjnego białek owsianych, tj. z mniejszej zawartości białek strukturotwórczych, które decydują m.in. o strukturze miększu pieczywa, a większej zawartości białek rozpuszczalnych i frakcji azotu niebiałkowego [12, 16, 17, 32].

W ocenie punktowej wszystkie badane chleby zostały zakwalifikowane do pierwszej klasy jakości, mimo przyporządkowania przez oceniających mniejszej liczby punktów chlebom z mąkami owsianymi, przygotowanym zarówno z użyciem drożdży, jak i z zakwasem, głównie za wygląd zewnętrzny i mniejszą porowatość miększu (tab. 2). Chleby z mąkami owsianymi zostały jednak wysoko ocenione ze względu na smak i zapach oraz grubszą i bardziej chrupiącą skórkę. Niżej niż chleby pszenno-owsiane z udziałem mąki resztkowej i drożdży (MORD) oceniono takie same chleby pszenno-owsiane z udziałem mąki owsianej handlowej (MOHD) oraz chleby pszenno-owsiane (niezależnie od rodzaju użytej mąki) z zakwasem (MORZ, MOHZ). Podkreślono ich większą twardość, bardziej zbity miększ i nieznacznie mniejszą objętość (tab. 2).

W ocenie jakości pieczywa ważne są właściwości teksturalne jego miększu, w głównej mierze cechy mechaniczne pieczywa. Twardość miększu pieczywa jest jednym z najczęściej określanych parametrów charakteryzujących teksturę chleba [7].

Tabela 2. Wyniki oceny jakości badanych chlebów w dniu wypieku
 Table 2. Results of quality assessment of bread loaves on the day of baking

Rodzaj chleba Type of bread	Masa chleba zimnego Weight of cold bread [g]	Objętość Volume [cm ³]	Wydajność pieczywa Bread yield [%]	Całkowita strata wypiekowa Total baking loss [%]	Wilgotność miękiszu Crumb moisture [%]	Ocena punktowa Points assessment	
						Suma punktów Score	Klasa jakości Quality class
MORD	210,21 ^b ± 2,85	405,03 ^a ± 27,20	140,24 ^b ± 1,89	15,32 ^a ± 1,14	42,94 ^b ± 0,76	38 ± 0,65	I
MORZ	211,47 ^b ± 1,44	395,74 ^a ± 12,02	139,09 ^b ± 0,95	15,91 ^a ± 0,57	43,85 ^c ± 0,82	37 ± 0,70	I
MOHD	210,14 ^b ± 2,62	399,47 ^a ± 19,59	138,87 ^b ± 1,74	15,77 ^a ± 1,05	42,85 ^b ± 1,28	37 ± 0,53	I
MOHZ	211,57 ^b ± 1,17	391,60 ^a ± 30,28	140,48 ^b ± 1,18	15,37 ^a ± 0,70	43,23 ^c ± 1,54	37 ± 0,15	I
MPD	208,46 ^a ± 1,84	762,08 ^b ± 26,19	134,25 ^a ± 1,19	16,81 ^b ± 0,74	42,38 ^a ± 0,87	39 ± 1,50	I

Objaśnienia / Explanatory notes:

Znaczenie symboli jak w tab. 1 / Meaning of the symbols as in Tab. 1; W tabeli przedstawiono wartości średnie ± odchylenia standardowe / Table shows mean values ± standard deviations. n = 3; a - c – wartości średnie w kolumnach oznaczone różnymi literami różnią się statystycznie istotnie przy p ≤ 0,05 / mean values in columns denoted by different letters differ statistically significantly at p ≤ 0.05

Po analizie twardości miękiszu badanych chlebów, wyrażonej jako maksymalna siła mierzona podczas pierwszego zgniatania miękiszu w analizie TPA, stwierdzono, że w dniu wypieku chleby pszenno-owsiane (z mąki resztkowej i handlowej), fermentowane przy użyciu drożdży, jak i zakwasu, odznaczały się około 2,5-krotnie większymi wartościami tego parametru (średnio 13 N) niż chleby pszenne (ok. 5 N) – tab. 3. Wynika to z około dwukrotnie większej zawartości włókna pokarmowego w obu mąkach owsianych w porównaniu z mąką pszenną [32]. Udowodniono bowiem, że składnik ten znacząco pogarsza parametry tekstury miękiszu chleba [12, 32]. Większa twardość chlebów z udziałem produktów owsianych, nawet ze znacznie mniejszym ich udziałem niż 50 % masy mąki pszennej, jest już dobrze poznana [12, 19, 26, 32]. Łączona jest z mniejszą objętością, jak i bardziej zbitą strukturą miękiszu, co z kolei jest wynikiem mniejszej zawartości białek glutenowych w takich chlebach.

Tabela 3. Parametry tekstury miękiszu badanych chlebów w dniu wypieku

Table 3. Texture parameters of bread crumb on the day of baking

Rodzaj chleba Type of bread	Parametry tekstury / Texture parameters			
	Twardość Hardness [N]	Żujność Chewiness [N]	Odbojność Resilience	Spójność Cohesiveness
MORD	13,62 ^c ± 0,12	6,30 ^b ± 0,90	0,25 ^a ± 0,05	0,52 ^a ± 0,06
MORZ	13,88 ^d ± 0,42	6,18 ^b ± 0,16	0,26 ^a ± 0,04	0,53 ^a ± 0,06
MOHD	12,28 ^b ± 0,28	6,01 ^b ± 2,06	0,27 ^a ± 0,04	0,55 ^a ± 0,05
MOHZ	13,55 ^c ± 0,25	6,60 ^b ± 0,01	0,28 ^a ± 0,02	0,54 ^a ± 0,01
MPD	4,60 ^a ± 0,19	3,48 ^a ± 0,18	0,48 ^b ± 0,03	0,51 ^a ± 0,34

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

Chleby pszenno-owsiane przygotowane przy użyciu zakwasu żytniego (MORZ lub MOHZ) charakteryzowały się większą twardością w porównaniu z ich odpowiednikami sporządzonymi z udziałem drożdży (MORD lub MOHD), ze względu na mniejszą zawartość białek glutenowych w tych chlebach, na skutek zastąpienia mąki pszennej mąką żytnią w formie zakwasu (tab. 3), przy czym chleby z mąki handlowej (MOHD) odznaczały się mniejszymi wartościami tego parametru od chlebów z owsianą mąką resztkową. Chleby pszenno-owsiane sporządzone z udziałem zakwasu zawierały jeszcze mniej białek glutenowych tworzących strukturę zatrzymującą gazy w procesie wypieku, co było spowodowane 10-procentowym udziałem mąki żytniej (nietworzącej siatki glutenowej) wprowadzonej w formie zakwasu [4, 6]. W dniu wypieku chleby pszenno-owsiane charakteryzowały się większą twardością miękiszu niż chleb pszenny, jednak chleby z udziałem mąki owsianej handlowej wypieczone z ciasta fermentowanego drożdżami (MOHD) odznaczały się mniejszymi wartościami tego parametru niż chleby z udziałem mąki resztkowej, niezależnie od zastosowanego procesu technologicznego (tab. 3). Przyczyną tych różnic mogło być większe skleikowanie skrobi z mąki resztkowej podczas procesu wypieku na skutek niewielkiego uszkodzenia ziarenek tej skrobi w procesie mikronizacji i większego wpływu z ziarenek liniowej amylozy, która najszybciej ulega procesowi retrogradacji, nawet jeszcze w piecu lub podczas chłodzenia chlebów po wypieku [20].

Żujność, czyli energia potrzebna do rozdrobnienia (żucia) produktu, doprowadzająca go do stanu nadającego się do połknięcia, jest wypadkową (iloczynem) twardości, spójności i sprężystości [26]. Stwierdzono, że podobnie jak w przypadku pomiarów twardości, żujność miękiszu chlebów pszenno-owsianych była istotnie większa (około 6 N) w porównaniu z miękiszem chleba pszennego – MPD (ok. 3,5 N) – tab. 3. Nie zaobserwowano natomiast istotnych ($p \leq 0,05$) różnic pod względem żujności pomię-

dzy chlebami pszenno-owsianymi przygotowanymi przy użyciu zakwasu (MORZ, MOHZ) lub z użyciem drożdży (MORD, MOHD) – tab. 3.

Najmniejszą odbojnością odznaczały się chleby pszenno-owsiane, które charakteryzowały się prawie dwukrotnie mniejszą odbojnością niż chleb pszenny (tab. 3). Wynikało to z mniejszej objętości, mniejszej porowatości i większej twardości chlebów pszenno-owsianych w porównaniu z pszennymi. Nie wykazano różnic pomiędzy wartościami tego parametru chlebów z udziałem zakwasu żytniego i bez tego udziału.

Spójność wszystkich badanych chlebów była podobna, co może sugerować, że miękisz chlebów pszenno-owsianych był tak samo odporny na niszczenie struktury jak miękisz chleba pszennego. Prawdopodobnie większa zawartość tłuszczu w obu mąkach owsianych wpłynęła korzystnie na tę cechę miękiszu [17], mimo niekorzystnego oddziaływania nierozpuszczalnej frakcji włókna pokarmowego, w które bogate były obie użyte do wypieku mąki owsiane [12].

Podobne wyniki pomiarów parametrów tekstury chlebów pszenno-owsianych uzyskali inni autorzy [12, 26, 32].

Oceniano proces starzenia się pieczywa przez 3 dni przechowywania. W dniu wypieku i w kolejnych dwóch dniach oznaczono wilgotność miękiszu badanych chlebów oraz profil ich tekstury (analiza TPA).

Wraz z upływem czasu przechowywania chlebów zaobserwowano, że ubytek wody był niewielki, zarówno w chlebie pszennym, jak i w chlebach z udziałem obu mąk owsianych, niezależnie od metody prowadzenia ciasta (tab. 4). Różnice ubytku wody w miękiszu po jednej dobie przechowywania tylko w przypadku miękiszu chleba z mąk owsianej resztkowej i handlowej sporządzonych z użyciem drożdży (MORD i MOHD) okazały się statystycznie istotne ($p \leq 0,05$), a dalsze zmiany zawartości wody w miękiszu tych chlebów były statystycznie nieistotne do końca okresu przechowywania, co w dużej mierze należy przypisać prawidłowemu przechowywaniu chlebów w woreczkach z folii polietylenowej (LDPE) i w stałych warunkach wilgotności i temperatury.

Wyniki dotyczące zawartości wody w miękiszu są potwierdzeniem teorii, że pieczywo nie musi tracić wody podczas przechowywania. Już Senti i Dimler [27] zaobserwowali, że pozorne wysuszenie miękiszu chleba może być wynikiem transferu wody w chlebie z miękiszu do skórki i że zmniejszenie zawartości wody w glutenie lub skrobi, albo w obydwu tych koloidach, powoduje wzrost sztywności ścian porów powietrznych miękiszu i przez to wzrost jego twardości. Teorię tę potwierdziła Gambuś [10]. Zatem czerstwy, twardy miękisz pieczywa zawiera często tyle samo wody, co świeży [10, 20].

Przez cały okres przechowywania w chlebach pszenno-owsianych wykazywano większą wilgotność miękiszu w porównaniu z chlebem pszennym. Zaobserwowano

także po okresie przechowywania największą utratę wody (około 3,5 %) przez miękisz chleba pszennego (tab. 4).

Tabela 4. Wilgotność miękiszu badanych chlebów podczas 3-dobowego przechowywania
Table 4. Moisture of crumbs of analyzed bread loaves during 3 days of storage

Rodzaj chleba Type of bread	Wilgotność miękiszu podczas przechowywania Moisture of crumb during storage [%]				Całkowity ubytek wilgotności Total loss in moisture [%]
	Czas przechowywania [doby] Storage period [days]				
	0	1	2	3	
MORD	42,94 ^b ± 0,76	42,57 ^a ± 0,64	42,26 ^a ± 0,05	41,98 ^a ± 1,13	2,23 ^A ± 0,32
MORZ	43,85 ^b ± 0,82	43,18 ^{ab} ± 0,37	42,94 ^a ± 0,56	42,74 ^a ± 0,89	2,53 ^A ± 0,04
MOHD	42,85 ^b ± 1,28	42,25 ^a ± 0,62	41,98 ^a ± 0,59	41,56 ^a ± 0,77	3,01 ^B ± 0,50
MOHZ	43,23 ^b ± 1,54	43,06 ^{ab} ± 0,31	42,67 ^a ± 2,41	41,99 ^a ± 1,76	2,86 ^B ± 0,02
MPD	42,38 ^b ± 0,87	41,96 ^{ab} ± 0,63	41,67 ^a ± 0,80	40,87 ^a ± 0,02	3,56 ^B ± 0,04

Objaśnienia / Explanatory notes:

Znaczenie symboli jak w tab. 1; / Meaning of the symbols as in Tab. 1.

W tabeli przedstawiono wartości średnie ± odchylenia standardowe / Table shows mean values ± standard deviations; n = 2, 0 – dzień wypieku / day of baking; 1 – pierwsza doba po wypieku / first day after baking; 2 – druga doba po wypieku / second day after baking; 3 – trzecia doba po wypieku / third day after baking; a - b – wartości średnie w wierszach oznaczone różnymi literami różnią się statystycznie istotnie przy $p \leq 0,05$ / mean values in lines denoted by different letters differ statistically significantly at $p \leq 0,05$. A - B – wartości średnie w kolumnie oznaczone różnymi literami różnią się statystycznie istotnie przy $p \leq 0,05$ / mean values in column denoted by different letters differ statistically significantly at $p \leq 0,05$.

Zaobserwowano różnice wilgotności miękiszu pomiędzy chlebami pszenno-owsianymi, zależne od udziału w nich zakwasu żytniego, w dniu wypieku, które zostały zachowane podczas kolejnych dni przechowywania. Chleby pszenno-owsiane sporządzone z użyciem zakwasu (MORZ, MOHZ) przez cały okres przechowywania odznaczały się większą wilgotnością niż chleby z użyciem drożdży (MORD, MOHD) a także najmniejszym ubytkiem wody (ok. 2 %) po okresie przechowywania (tab. 4), co prawdopodobnie wynikało z obecności w mące żytniej pentozanów.

W oznaczeniach profilu tekstury miękiszu chlebów pszenno-owsianych i pszennego zauważono, że mimo niewielkiego ubytku wody podczas przechowywania, badane chleby przejawiały oznaki starzenia się, tj. wyraźną zmianę parametrów profilu tekstury pomiędzy dniem wypieku a trzecią dobą przechowywania.

Stwierdzono, że chleby wypieczone z użyciem zakwasu już po jednej dobie przechowywania cechowały się nieznacznie mniejszą twardością miękiszu niż pozostałe chleby, a tendencja ta utrzymywała się przez cały okres przechowywania. To korzystne

oddziaływanie zakwasu na przemiany strukturalne skrobi tłumaczy się biologicznym zakwaszeniem środowiska, aktywnością proteolityczną i amylolityczną mikroflory zakwasu, dzięki czemu zmniejsza się stopień skleikowania skrobi, co uznawane jest za przyczynę opóźnienia czerstwienia pieczywa [24]. Mniejszy wzrost twardości miękiszu chlebów z udziałem zakwasu niż chlebów przygotowanych z użyciem drożdży mógł być spowodowany opóźnieniem procesu retrogradacji skrobi i w efekcie mniejszą szybkością twardnienia miękiszu [16]. Ponadto, produkowane przez bakterie mlekowe kompleksy polisacharydowo-białkowe działają jak naturalne emulgatory, wpływając korzystnie na opóźnienie czerstwienia chleba [6]. Natomiast twardość miękiszu chleba pszenno-owsianego, począwszy od pierwszej doby przechowywania, odznaczała się podobnymi wartościami jak twardość miękiszu chlebów pszenno-owsianych sporządzonych przy użyciu drożdży, przy czym w ostatniej dobie przechowywania była największa spośród porównywanych chlebów (tab. 5).

Największy wzrost twardości miękiszu nastąpił po pierwszej dobie przechowywania, zarówno w chlebie pszennym (MPD), jak i w chlebach pszenno-owsianych z udziałem drożdży lub zakwasu żytniego (MORD, MORZ, MOHD, MOHZ) – tab. 5, co potwierdza wyniki wcześniejszych badań [8, 20] i wiąże się z największą retrogradacją amylozy w tym czasie [8, 10]. Skrobia owsiana z natury odznacza się mniejszą skłonnością do retrogradacji ze względu na dużą zawartość w niej lipidów, które tworząc kompleksy amylozowo-tłuszczowe, utrudniają ten proces [29, 30]. Te właściwości zostały potwierdzone istotnie ($p \leq 0,05$) mniejszym wzrostem twardości miękiszu chlebów pszenno-owsianych (z udziałem drożdży jak i zakwasu) po pierwszej dobie przechowywania (o ok. $35 \div 45$ %) w porównaniu z miękiszem chleba pszenno-owsianego (wzrost twardości o 79 %). Ponadto w badaniach procesu retrogradacji skrobi owsianej, wyizolowanej z mąki handlowej i resztkowej, metodą DSC i turbidymetryczną wykazano, że skrobia z mąki owsianej resztkowej ulega retrogradacji wolniej niż skrobia z mąki handlowej [33], co może tłumaczyć mniejszy wzrost twardości po pierwszej dobie przechowywania miękiszu chlebów wypieczonych z 50-procentowym udziałem mąki owsianej resztkowej (MORD – o 35 %, MORZ – o 25 %) niż miękiszu chlebów z udziałem mąki handlowej (MOHD – o 45 %, MOHZ – o 35 %) – tab. 5.

Po trzech dobach przechowywania stwierdzono największy (ponad 5-krotny), wzrost twardości miękiszu chleba pszenno-owsianego – tab. 5. W przypadku wszystkich chlebów pszenno-owsianych wzrost twardości po trzech dobach był mniejszy (około 2-krotnie – MORD i MOHD oraz 1,5-krotnie – MORZ, MOHZ), w porównaniu z miękiszem chleba pszenno-owsianego (MPD). Chleby sporządzone z użyciem zakwasu żytniego charakteryzowały się istotnie ($p \leq 0,05$) mniejszym wzrostem twardości miękiszu (o około 30 %) niż chleby z użyciem drożdży – tab. 5.

Tabela 5. Twardość miększu badanych chlebów podczas 3-dobowego przechowywania

Table 5. Hardness of crumb of analyzed bread loaves during 3 days of storage

Rodzaj chleba Type of bread	Twardość miększu podczas przechowywania Hardness of crumb during storage [N]				Całkowita zmiana twardości Total change in hardness [%]
	Czas przechowywania [doby] Storage period [days]				
	0	1	2	3	
MORD	13,62 ^a ± 0,52	20,96 ^b ± 2,03	22,38 ^c ± 3,28	24,6 ^d ± 1,10	80,61 ^B ± 0,67
MORZ	13,88 ^a ± 0,88	18,40 ^b ± 0,46	21,40 ^c ± 0,33	23,05 ^c ± 6,21	66,06 ^A ± 0,52
MOHD	12,28 ^a ± 4,28	22,20 ^b ± 2,70	23,22 ^b ± 5,47	25,30 ^c ± 4,50	106,02 ^C ± 0,43
MOHZ	13,55 ^a ± 0,94	18,18 ^b ± 0,69	20,70 ^c ± 0,45	23,90 ^c ± 7,50	76,38 ^B ± 0,09
MPD	4,60 ^a ± 0,19	21,94 ^b ± 0,13	22,80 ^c ± 0,28	26,97 ^d ± 1,10	486,30 ^D ± 0,87

Objaśnienia / Explanatory notes:

Znaczenie symboli jak w tab. 1 / Meaning of the symbols as in Tab. 1.

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

A - D – wartości średnie w kolumnie oznaczone różnymi literami różnią się statystycznie istotnie przy $p \leq 0,05$ / mean values in column denoted by different letters differ statistically significantly at $p \leq 0.05$.

Pozostałe objaśnienia jak pod tab. 4. / Other explanatory notes as in Tab. 4.

W miarę postępującego procesu starzenia się badanych chlebów istotnemu zwiększeniu ulegała także żujność ich miększu – tab. 6. W dniu wypieku oznaczono większą żujność miększu wszystkich chlebów pszenno-owsianych niż miększu chleba pszennego. Nie zaobserwowano natomiast różnic żujności miększu chlebów sporządzonych z udziałem zakwasu lub wyłącznie drożdży. Ta tendencja uległa jednak zmianie już po pierwszej dobie przechowywania – chleby pszenno-owsiane, zarówno z udziałem mąki resztkowej, jak i handlowej, sporządzone z użyciem zakwasu żytniego, odznaczały się mniejszą żujnością miększu niż miększ chlebów pszenno-owsianych z udziałem drożdży oraz chleba pszennego i tendencja ta utrzymywała się przez cały okres przechowywania. Po pierwszej dobie przechowywania nie wykazano istotnych różnic pomiędzy żujnością miększu chlebów pszenno-owsianych wytworzonych z użyciem drożdży a miększem chleba pszennego i również ta tendencja utrzymywała się do końca okresu przechowywania.

Podobnie jak w przypadku twardości, największy wzrost żujności stwierdzono po pierwszej dobie przechowywania, zarówno w chlebie pszennym, jak i w chlebach pszenno-owsianych przygotowanych przy użyciu drożdży (MORD i MOHD) – tab. 6. Chleby pszenno-owsiane (z udziałem mąki owsianej resztkowej i handlowej) sporządzone z użyciem zakwasu żytniego odznaczały się istotnym ($p \leq 0,05$) wzrostem żuj-

ności po pierwszej dobie. Nie uległa ona zmianie od drugiej doby do końca okresu przechowywania – tab. 6.

Miękisz chleba pszennego charakteryzował się największą odbojnością tylko w dniu wypieku (tab. 3). Podczas kolejnych dni przechowywania nie zaobserwowano zmian wartości tego parametru we wszystkich badanych chlebach.

Tabela 6. Żujność miękiszu badanych chlebów podczas 3-dobowego przechowywania

Table 6. Chewiness of analyzed bread during 3 days of storage

Rodzaj chleba Type of bread	Żujność miękiszu podczas przechowywania Chewiness of crumb during storage [N]				Całkowita zmiana żujności Total change in chewiness [%]
	Czas przechowywania [doby] Storage period [days]				
	0	1	2	3	
MORD	6,40 ^a ± 0,90	7,50 ^b ± 0,70	8,05 ^b ± 1,58	8,29 ^c ± 0,52	29,5 ^B ± 0,43
MORZ	6,28 ^a ± 0,16	6,55 ^b ± 1,39	6,80 ^c ± 0,21	6,93 ^c ± 2,05	10,35 ^A ± 0,87
MOHD	6,01 ^a ± 2,06	7,30 ^b ± 0,97	8,20 ^b ± 2,08	8,69 ^c ± 1,54	44,59 ^C ± 0,37
MOHZ	6,60 ^a ± 0,01	6,70 ^a ± 0,31	7,00 ^b ± 0,48	7,20 ^b ± 2,47	9,09 ^A ± 0,08
MPD	3,48 ^a ± 0,18	7,67 ^b ± 0,70	8,18 ^c ± 1,58	8,91 ^d ± 0,52	156,03 ^D ± 0,67

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

Odbojność i spójność miękiszu wszystkich badanych chlebów zmniejszała się sukcesywnie podczas całego okresu przechowywania, lecz od drugiego dnia przechowywania były to zmiany nieistotne statystycznie za wyjątkiem odbojności miękiszu chleba pszennego – tab. 7. i 8. Po trzech dobach przechowywania zaobserwowano ponad 50-procentowe zmniejszenie odbojności miękiszu chlebów pszenno-owsianych, niezależnie od metody prowadzenia ciasta i 75-procentowe zmniejszenie wartości tego parametru w miękiszu chleba pszennego (tab. 7), co świadczy o mniejszej szybkości starzenia się chlebów pszenno-owsianych, niezależnie od zastosowanej metody prowadzenia ciasta.

Zastosowany udział mąki owsianej (resztkowej, jak i handlowej) oraz metoda prowadzenia ciasta nie wpłynęły negatywnie na spójność miękiszu badanych chlebów, zarówno w dniu wypieku (tab. 8), jak i podczas 3-dobowego przechowywania, w odniesieniu do chleba pszennego.

Tabela 7. Odbojność miękiszu badanych chlebów podczas 3-dobowego przechowywania

Table 7. Resilience of crumb of analyzed bread loaves during 3 days of storage

Rodzaj chleba Type of bread	Odbojność miękiszu podczas przechowywania Resilience of crumb during storage [-]				Całkowita zmiana odbojności Total change in resilience [%]
	Czas przechowywania [doby] Storage period [days]				
	0	1	2	3	
MORD	0,25 ^c ± 0,05	0,17 ^b ± 0,01	0,13 ^a ± 0,01	0,12 ^a ± 0,01	52,00 ^A ± 0,23
MORZ	0,26 ^c ± 0,04	0,16 ^b ± 0,01	0,12 ^a ± 0,00	0,12 ^a ± 0,00	53,84 ^A ± 0,05
MOHD	0,27 ^c ± 0,04	0,17 ^b ± 0,01	0,13 ^a ± 0,01	0,12 ^a ± 0,01	55,55 ^B ± 0,34
MOHZ	0,28 ^c ± 0,02	0,15 ^b ± 0,01	0,13 ^a ± 0,01	0,12 ^a ± 0,01	57,14 ^B ± 0,08
MPD	0,48 ^c ± 0,03	0,17 ^b ± 0,01	0,14 ^b ± 0,01	0,12 ^a ± 0,01	75,00 ^C ± 0,54

Objaśnienia / Explanatory notes:

Znaczenie symboli jak w tab. 1 / Meaning of the symbols as in Tab. 1.

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

A - C – wartości średnie w kolumnie oznaczone różnymi literami różnią się statystycznie istotnie przy $p \leq 0,05$ / mean values in column denoted by different letters differ statistically significantly at $p \leq 0.05$.

Pozostałe objaśnienia jak pod tab. 4. / Other explanatory notes as in Tab. 4.

Tabela 8. Spójność miękiszu badanych chlebów podczas 3-dobowego przechowywania

Table 8. Cohesiveness of crumb of analyzed bread loaves during 3 days of storage

Rodzaj chleba Type of bread	Spójność miękiszu podczas przechowywania Cohesiveness of crumb during storage [-]				Całkowita zmiana spójności Total change in cohesiveness [%]
	Czas przechowywania [doby] Storage period [days]				
	0	1	2	3	
MORD	0,52 ^c ± 0,06	0,44 ^b ± 0,01	0,37 ^a ± 0,02	0,34 ^a ± 0,02	34,61 ^A ± 0,56
MORZ	0,53 ^c ± 0,06	0,41 ^b ± 0,02	0,37 ^a ± 0,02	0,33 ^a ± 0,01	37,73 ^B ± 0,79
MOHD	0,55 ^c ± 0,05	0,43 ^b ± 0,01	0,37 ^a ± 0,02	0,33 ^a ± 0,01	40,00 ^C ± 0,08
MOHZ	0,54 ^c ± 0,01	0,40 ^b ± 0,02	0,37 ^a ± 0,01	0,34 ^a ± 0,02	37,03 ^B ± 0,76
MPD	0,51 ^c ± 0,34	0,44 ^b ± 0,01	0,37 ^a ± 0,02	0,32 ^a ± 0,02	37,25 ^B ± 0,50

Objaśnienia jak pod tab. 7. / Explanatory notes as in Tab. 7.

Wnioski

1. Chleby z 50-procentowym udziałem mąki owsianej resztkowej przygotowane przy użyciu drożdży zostały wyżej ocenione w ocenie punktowej niż chleby z mąką owsianą handlową.
2. Niezależnie od metody prowadzenia ciasta chleby z 50-procentowym udziałem mąki owsianej resztkowej i handlowej odznaczały się mniejszą objętością i większą twardością miękiszu niż chleb psenny.
3. Niezależnie od rodzaju użytej mąki owsianej chleby sporządzone przy użyciu zakwasu odznaczały się większą twardością miękiszu w dniu wypieku i mniejszym wzrostem twardości miękiszu podczas przechowywania niż chleby wykonane wyłącznie przy użyciu drożdży.
4. Odbojność i spójność miękiszu badanych chlebów pszenno-owsianych oraz chleba psennego zmniejszała się do drugiego dnia przechowywania.
5. W dniu wypieku żujność miękiszu chlebów pszenno-owsianych była większa niż chleba psennego, jednak tendencja ta uległa zmianie już po pierwszej dobie przechowywania, kiedy nastąpiło wyrównanie wartości tej cechy w ocenianych chlebach.
6. Użycie zakwasu z mąki żytniej spowolniło proces starzenia się chlebów pszenno-owsianych, niezależnie od rodzaju użytej mąki, nie tylko ze względu na parametry tekstury miękiszu, ale również ograniczenie ubytku wody z miękiszu podczas przechowywania.

Projekt sfinansowano częściowo ze środków Narodowego Centrum Nauki (NN 312331640) oraz z dotacji przyznanej przez MNiSW na działalność statutową.

Project was supported partly with funds of National Science Centre (NN 312331640) and by the Ministry of Science and Higher Education of the Republic of Poland.

Literatura

- [1] AOAC: Official Methods of Analysis, 18th ed. Association of Analytical Chemists International, Gaithersburg 2006.
- [2] Baik B.K., Ullrich S.E.: Barley for food: Characteristics, improvement, and renewed interest (Review). *J. Cereal Sci.*, 2008, **48**, 233-242.
- [3] Bartnikowska E., Lange E., Rakowska M.: Ziarno owsa – niedoceniane źródło składników odżywczych i biologicznie czynnych. Cz. II. Polisacharydy i włókno pokarmowe, składniki mineralne, witaminy. *Biuletyn IHAR*, 2000, **215**, 223-237.
- [4] Buksa K., Nowotna A., Ziobro R.: Zastosowanie teksturometru do wyznaczania wodochłonności mąki żytniej o zróżnicowanej zawartości popiołu. *Acta Agrophysica*, 2013, **20** (4), 529-541.
- [5] Czubaszek A.: Charakterystyka technologiczna mieszanek mąki pszennej z produktami przemiału owsa. *Zesz. Nauk. UP we Wrocławiu*, 2008, **564**, Rozprawy CCLIII.

- [6] Diowksz A., Ambroziak W.: Sourdough. In: Bakery Products. Science and Technology. Eds. Y.H. Hui, H. Corke, I. De Leyh, W. Nip, R.B. Swanson. Blackwell Publishing, 2006, pp. 365-380.
- [7] Dziki D., Siastała M., Laskowski J.: Ocena właściwości fizycznych pieczywa handlowego. *Acta Agrophysica* 2011, **18** (2), 235-244.
- [8] Fik M.: Czerstwienie pieczywa i sposoby przedłużania jego trwałości. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2004, **2** (39), 5-22.
- [9] Flander L., Salmenkallio-Marttila M., Suortti T., Autio K.: Optimization of ingredients and baking process for improved wholemeal oat bread quality. *LWT*, 2007, **40**, 860-870.
- [10] Gambuś H.: Wpływ fizykochemicznych właściwości skrobi na jakość i starzenie się pieczywa (badania modelowe). *Zesz. Nauk. AR w Krakowie*, 1997. Rozprawy, nr 226.
- [11] Gambuś H., Litwinek D.: Pieczywo – dlaczego warto jeść i jakie wybierać? [online]. Dostęp w Internecie [10.06.2014]: <http://dieta.mp.pl/zasady/74904>, 2013.
- [12] Gambuś H., Zięć G., Gibiński M., Pastuszka D., Nowakowski K.: Wykorzystanie resztkowej mąki owsianej do wypieku chleba. *Zesz. Probl. Post. Nauk Rol.*, 2011, **566**, 49-60.
- [13] Gellynck X., Kühne B., van Bockstaele F., van de Walle D., Dewettinck K.: Consumer perception of bread quality. *Appetite*, 2009, **53**, 16-23.
- [14] Haber T., Jakubczyk T.: *Analiza zbóż i przetworów zbożowych*. Wyd. SGGW – AR, Warszawa 1983.
- [15] Katina K., Arendt E., Liukkonen K.H., Autio K., Flander L., Poutanen K.: Potential of sourdough for healthier cereal products. *Trends Food Sci. Technol.*, 2005, **16**, 104-112.
- [16] Kawka A.: Współczesne trendy w produkcji piekarskiej – wykorzystanie owsa i jęczmienia jako zbóż niechlebowych. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2010, **3** (70), 25-43.
- [17] Kawka A., Górecka D.: Porównanie składu chemicznego pieczywa pszenno-owsianego i pszenno-jęczmiennego z udziałem zakwasów fermentowanych starterem LV2. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2010, **3** (70), 44-55.
- [18] Kim S.K., D'Appolonia B.L.: The role of wheat flour constituents in bread staling. *The Bakers Digest*, 1977, **51**, 38-44.
- [19] Lange E.: Produkty owsiane jako żywność funkcjonalna. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2010, **3** (70), 7-24.
- [20] Oomah B.D.: Baking and related properties of wheat-oat composite flours. *Cereal Chem.*, 1983, **60**, 220-225.
- [21] PN-A-74108:1996. *Pieczywo. Metody badań*.
- [22] Poutanen K., Flander L., Katina K.: Sourdough and cereal fermentation in a nutritional perspective. *Food Microbiology*, 2009, **26**, 693-699.
- [23] Rosell C.M., Santos E.: Impact of fibers on physical characteristics of fresh and staled bake off bread. *J. Food Eng.*, 2010, **98**, 273-281.
- [24] Różyło R.: Zmiany cech tekstury miększu chleba pszennego pod wpływem dodatku produktów z owsa. *Acta Agrophysica* 2007, **10**, **3**, 667-676.
- [25] Senti F.R., Dimler R.J.: Changes in starch and gluten during ageing of bread. *The Bakers Digest*, 1960, **34**, 28-33.
- [26] Surówka K.: Tekstura żywności i metody jej badania. *Przem. Spoż.*, 2002, **56** (10), 12-17
- [27] Zhou M., Robards K., Glennie-Holmes M., Helliwel S.: Structure and pasting properties of oat starch (review). *Cereal Chemistry*, 1998, **75**, **3**, 273-281.
- [28] Zhou M., Robards K., Glennie – Holmes M.: Effects of oat lipids and groat meal casting properties. *J. Sci. Food Agric.*, 1999, **79**, 585-592.
- [29] Zięć G., Gambuś H., Gumul D., Kowalski S., Łukasiewicz M.: Pasting properties and chemical composition of the new oat flour, obtained in the β -D-glucans concentrate production. *Proc. 37th Int. Conf. of Slovak Society of Chemical Engineering*, 2010, 1526-1526.
- [30] Zięć G., Gambuś H., Litwinek D., Nowotna A., Mikulec A.: Ocena właściwości fizycznych pieczywa ze zróżnicowanym udziałem mąki owsianej, wypieczonego z ciasta prowadzonego bez udziału i z udziałem zakwasu żytniego. *Acta Agrophysica*, 2013, **20** (4), 721-734.

- [31] Ziobro R., Berski W., Witczak M., Nowotna A., Gambuś H.: Retrogradacja skrobi pochodzącej z mąki owsianej resztkowej i handlowej. Mat. XLI Sesji Naukowej KNoŻ PAN nt. „Innowacyjność w nauce o żywności i żywieniu”, Kraków, 2 - 3 lipca 2013.

TEXTURAL PROPERTIES OF CRUMB OF WHEAT AND OATS FLOUR BREAD

S u m m a r y

The objective of the research study was to assess the changes in some selected textural properties of crumb of wheat and oats flour bread with 50 % of residual oats flour therein and made using a fermentation method, either with yeast and without rye flour sourdough (MORD), or with rye sourdough (MORZ). That bread was compared with the bread containing 50% of commercial oats flour and made using the two above methods (MOHD and MOHZ); it was also compared with the wheat flour bread baked only with yeast (MPD). The addition of 50 % of the residual or commercial oats flour caused the yield of that bread to increase ca. 6 %, and its volume to decrease (ca. 360 cm³) compared to the wheat flour bread. Regardless of the method of making the dough, the organoleptic properties of the bread baked using the residual oats flour were better assessed than those of the bread made using the commercial oats flour. It was found that the resilience and springiness of bread crumb of all the bread loaves studied decreased gradually during the whole period of storage. All the tested wheat and oats flour bread loaves were characterized by a greater hardness (about 8 N) and chewiness (about 3,5 N) on the day of baking them compared to the wheat flour bread. It was confirmed that the use of sourdough had a positive effect on the hardening process of crumb of the bread loaves analyzed as it caused the intensity of that process to decrease. The sourdough used also impacted the final result after 3 days of storage: the wheat and oats flour bread loaves without the rye sourdough added showed a significantly higher crumb hardness already after the first day of storage.

Key words: residual oats flour, wheat and oats flour bread loaves, textural parameters of crumb, properties ☒

PAULINA BOGDAN, EDYTA KORDIALIK-BOGACKA

AKTYWNOŚĆ PRZECIWUTLENIAJĄCA PIW PRODUKOWANYCH Z DODATKIEM NIESŁODOWANEJ KOMOSY I AMARANTUSA

Streszczenie

Celem badań była ocena aktywności przeciwutleniającej piw produkowanych z dodatkiem niesłodowanej komosy ryżowej (nasion lub płatków) lub amarantusa (nasion, płatków lub poppingu), jako zamienników 10 i 30 % słodu jęczmiennego. Aktywność przeciwutleniającą badanych piw określono na podstawie efektywności wygaszania syntetycznego rodnika DPPH oraz zdolności do redukcji jonu żelaza(III) metodą FRAP. W badaniach oznaczono również zawartość związków polifenolowych metodą spektrofotometryczną. Zdolność redukująca piw wyprodukowanych z 10-procentowym dodatkiem niesłodowanych nasion lub płatków z amarantusa była wyższa niż piw otrzymanych wyłącznie ze słodu jęczmiennego. Zastąpienie 10 % słodu amarantusem lub komosą ryżową, w każdej zastosowanej formie, nie spowodowało zmniejszenia aktywności przeciwrodnikowej piw w porównaniu z piwami uzyskanymi w całości ze słodu. Wykorzystanie niesłodowanych pseudozbóż, bogatych w polifenole, jako zamiennika części słodu nie wpłynęło na zwiększenie zawartości tych związków w gotowym piwie. W przypadku zastąpienia 30 % słodu nasionami z amarantusa lub komosy stwierdzono znaczne obniżenie zdolności redukującej uzyskanych piw względem piw wyprodukowanych z 10-procentowym udziałem pseudozbóż oraz piw otrzymanych wyłącznie ze słodu. Po przeprowadzeniu badań nie uzyskano jednoznacznej odpowiedzi, czy komosa ryżowa lub amarantus wpływają na zwiększenie aktywności przeciwutleniającej piw produkowanych z ich dodatkiem, a w konsekwencji na dłuższą trwałość piw. Niezbędne są dalsze badania w tym zakresie, uwzględniające m.in. zawartość kwasów tłuszczowych wprowadzanych do piwa wraz z pseudozbożami.

Słowa kluczowe: słód jęczmienny, pseudozboża, piwo, aktywność przeciwutleniająca, polifenole

Wprowadzenie

Wolne rodniki to atomy, cząsteczki lub jony, które charakteryzują się występowaniem na zewnętrznej orbicie niesparowanego elektronu. Dążąc do przyłączenia lub oddania elektronu, wykazują dużą aktywność chemiczną – utleniają każdy związek,

Mgr inż. P. Bogdan, dr inż. E. Kordialik-Bogacka, Instytut Technologii Fermentacji i Mikrobiologii, Wydz. Biotechnologii i Nauk o Żywności, Politechnika Łódzka, ul. Wólczańska 171/173, 90-924 Łódź. Kontakt: paulina.bogdan@dokt.p.lodz.pl

z którym mają kontakt [1]. Konsekwencją wysokiej reaktywności chemicznej wolnych rodników jest ich szkodliwe działanie na żywe organizmy [9]. Reakcje o charakterze oksydacyjnym zachodzące w produktach spożywczych przyczyniają się także do obniżania ich jakości [9]. W produktach tych, w tym w napojach alkoholowych, takich jak piwo, występują naturalne przeciwutleniacze o aktywności przeciwrodnikowej [12]. W piwie największe znaczenie mają: tworzony przez drożdże podczas fermentacji SO_2 , pochodzące z chmielu kwasy goryczkowe oraz reduktyny, melanoidy, witaminy, ale przede wszystkim polifenole, których głównym źródłem jest słód [12, 18]. Zastąpienie części słodu niesłodowanym dodatkiem prowadzi do zmian zawartości poszczególnych przeciwutleniaczy, ale również ilości wolnych rodników. Wpływa to na aktywność przeciwutleniającą gotowego produktu i jego stabilność oksydacyjną [7, 10, 13, 20]. Obecnie, ze względu na wysycenie rynku piwami typu lager, poszukuje się wciąż nowych surowców, głównie niesłodowanych, które mogą zaciekać konsumenta oraz wpłynąć pozytywnie na zmianę cech sensorycznych piwa i jego stabilność [5].

Pseudozboża, do których zalicza się komosę ryżową i amarantus, to rośliny wytwarzające nasiona bogate w skrobię, o dużej zawartości związków biologicznie czynnych [18]. W porównaniu z tradycyjnymi zbożami charakteryzują się one m.in. dużą zawartością polifenoli, które powszechnie uznawane są za związki przeciwutleniające [1, 18]. W nasionach komosy ryżowej przeciwutleniacze o największym znaczeniu to: kemferol, kwas ferulowy oraz kwercetyna, natomiast w amarantusie – kwasy: kawowy, ferulowy oraz 4-hydroksybezoowy. Według danych literaturowych komosa ryżowa charakteryzuje się większą zawartością polifenoli i wyższą aktywnością przeciwutleniającą niż amarantus [11].

Celem badań była ocena wpływu zamiany części słodu niesłodowanymi pseudozbożami, tj. komosą ryżową lub amarantusem (w różnych formach) na właściwości przeciwutleniające otrzymanych piw.

Material i metody badań

Materiałem doświadczalnym były piwa wyprodukowane w warunkach laboratoryjnych ze słodu jęczmiennego (Browary Łódzkie) z 10- i 30-procentowym udziałem niesłodowanej, obłuszczonej komosy ryżowej (*Chenopodium quinoa*) (Bio Planet, Polska) lub obłuszczonego amarantusa (*Amaranthus cruentus L.*) (Bio Planet, Polska) w postaci nasion, płatków lub poppingu (nasion ekspandowanych). Użyta w badaniach komosa ryżowa, jak i amarantus, charakteryzowały się większą zawartością białka (średnio 15,8 % s.m.) i tłuszczu (średnio 4,54 % s.m.) oraz mniejszą zawartością β -glukanu (za wyjątkiem nasion z amarantusa) i skrobi niż słód jęczmienny [4]. Zarówno słód, jak i pseudozboża stosowane do produkcji brzeczek, rozdrabniano w młynku DFLU-230/50 (Buhler Universal, Niemcy). Szerokość szczeliny między tarczami w przypadku słodu wynosiła 0,2 mm, a pseudozboż – 0,1 mm. Brzeczeki pro-

dukowano metodą zacierania infuzyjnego (30 min w temp. 45 °C, 60 min w 62 °C, 30 min w 72 °C, 10 min w 78 °C) w zaciernicy laboratoryjnej LZ-0000 (Niemcy) sterowanej automatycznie. Przy ustalaniu składu surowcowego uwzględniano wilgotność słodu oraz surowców niesłodowanych. Stosunek śruty do wody wynosił 1 : 4. Po procesie filtracji gotowano brzeczke z granulatem chmielu 'Marynka T-45' (Powiśle Sp.j., Kępa Chotecka, Polska) w ilości 1,5 g na 1 dm³ brzeczki. Zawartość ekstraktu we wszystkich brzeczkach nastawnych standaryzowano do 12 °Blg. Proces fermentacji prowadzono z udziałem drożdży *Saccharomyces pastorianus* przez 14 dni w temp. 11 °C. Młode piwo poddawano dojrzewaniu przez kolejne 14 dni w temp. 1 °C. Piwo wraz z ziemią okrzemkową (10 g/dm³) filtrowano przez filtry papierowe i poddawano analizie. Próby odniesienia były piwa uzyskane wyłącznie ze słodu jęczmiennego. Wszystkie piwa otrzymano w 3 niezależnych powtórzeniach.

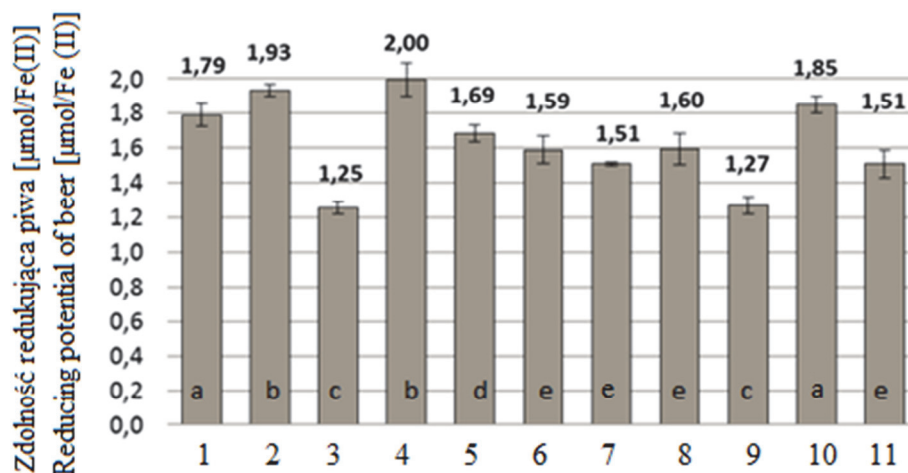
Do oznaczenia aktywności przeciwutleniającej stosowano dwie metody: FRAP [3] i DPPH [8]. Zawartość polifenoli w piwie oznaczano metodą spektrofotometryczną według Analytica EBC (9.11) [2], przy długości fali $\lambda = 600$ nm, z użyciem spektrofotometru Cecil 2041 (Cecil Instruments Ltd., Wielka Brytania).

Wyniki badań opracowano statystycznie. Istotność różnic między wartościami średnimi weryfikowano testem t-Studenta (Excel) na poziomie istotności $p < 0,05$.

Wyniki i dyskusja

Piwo wykazuje endogenną aktywność przeciwutleniającą wynikającą z obecności związków o silnym działaniu przeciwutleniającym oraz przeciwrodnikowym [16]. Wyższa aktywność przeciwutleniająca piw może pozytywnie wpłynąć na stabilność sensoryczną gotowego produktu podczas przechowywania [21]. Piwa, przy których produkcji 10 % słodu zastąpiono nasionami lub płatkami amarantusa, wykazywały istotnie ($p < 0,05$) wyższą zdolność redukującą (rys. 1) niż piwa wyprodukowane wyłącznie ze słodu jęczmiennego.

Z kolei 10-procentowy dodatek poppingu z amarantusa bądź nasion lub płatków z komosy ryżowej nie wpłynął istotnie ($p > 0,05$) na zwiększenie zdolności redukującej. Zastąpienie 30 % słodu pseudozbożami spowodowało obniżenie zdolności redukującej piw ($p < 0,05$). Najniższą zdolność redukującą oznaczono w piwach, do produkcji których użyto nasion amarantusa lub nasion komosy ryżowej w ilości 30 %. Zastąpienie 10 % słodu niesłodowanymi nasionami z amarantusa nie spowodowało istotnego ($p > 0,05$) obniżenia aktywności przeciwrodnikowej piw oznaczonej metodą DPPH (rys. 2). W piwach, do produkcji których użyto płatków z amarantusa lub z komosy, względnie poppingu z amarantusa lub nasion komosy ryżowej w ilości 10 %, wykazano istotnie ($p < 0,05$) wyższą aktywność przeciwrodnikową niż w piwie ze słodu jęczmiennego (rys. 2). Zastąpienie 30 % słodu pseudozbożami spowodowało istotne ($p < 0,05$) obniżenie zdolności redukujących piw.



Objaśnienia: / Explanatory notes:

Udział surowców niesłodowanych w brzeczkiach do produkcji piw: / Content of unmalting raw substances in worts used to produce beers; **1** – 100 % słoju jęczmiennego (próbna kontrolna) / 100 % of barley malt (control sample); **2** – 10 % nasion amarantusa / 10 % of amaranth seeds; **3** – 30 % nasion amarantusa / 30 % of amaranth seeds; **4** – 10 % płatków z amarantusa / 10 % of amaranth flakes; **5** – 30 % płatków z amarantusa / 30 % of amaranth flakes; **6** – 10 % ekspandowanych nasion amarantusa / 10 % popped amaranth; **7** – 30 % poppingu z amarantusa / 30 % popped amaranth; **8** – 10 % nasion komosy / 10 % of quinoa seeds; **9** – 30 % nasion komosy / 30 % of quinoa seeds; **10** – 10 % płatków z komosy / 10 % of quinoa flakes; **11** – 30 % płatków z komosy / 30 % of quinoa flakes.

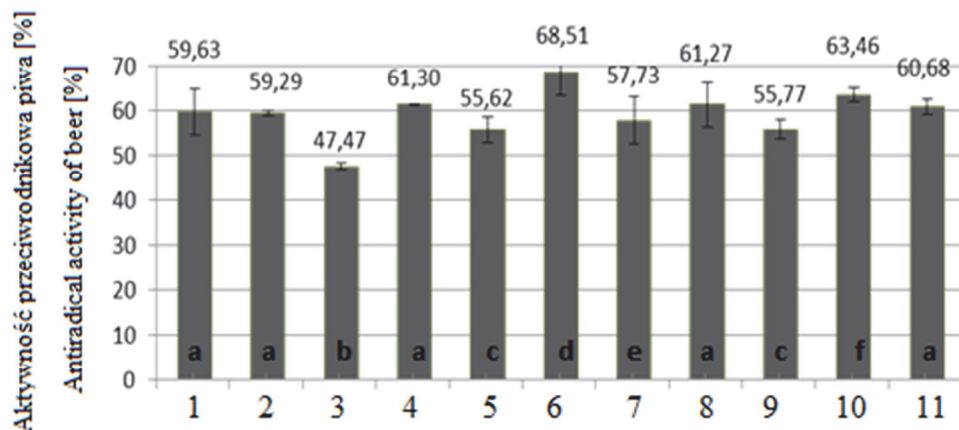
Na rysunku przedstawiono wartości średnie (w postaci słupków) i odchylenia standardowe (w postaci odcinków) / Figure shows means (in the form of bars) and standard deviations (in the form of sections); n = 3; a - e – wartości średnie oznaczone różnymi literami różnią się statystycznie istotnie ($p < 0,05$) / mean values denoted by different letters differ statistically significantly ($p < 0.05$).

Rys. 1. Zdolność redukująca piw wyprodukowanych z dodatkiem niesłodowanych pseudozboż

Fig. 1. Reducing potential of beers produced with unmalting pseudocereals added

Piwa wyprodukowane z 30-procentowym udziałem komosy lub amarantusa charakteryzowały się aktywnością przeciwrodnikową niższą średnio o 5 ÷ 20 % niż piwa uzyskane z ich 10-procentowym dodatkiem. Można zatem przypuszczać, że cechy sensoryczne tych produktów szybciej będą ulegać niekorzystnym zmianom.

Polifenole jako naturalne przeciwutleniacze zabezpieczają żywność przed niekorzystnymi procesami utleniania, zapewniając dłuższą stabilność smakowo-zapachową [9]. Właściwości przeciwutleniające wykazują jednak jedynie krótkołańcuchowe polifenole. Polifenole o dłuższych łańcuchach tracą aktywność przeciwutleniającą, zwiększając natomiast prawdopodobieństwo występowania zmętnień w gotowym piwie. Nasiona amarantusa i komosy są bogate w polifenole [11, 15]. Przypuszczano więc, że wykorzystanie tych surowców niesłodowanych do produkcji piwa może przyczynić się



Objaśnienia: / Explanatory notes:

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

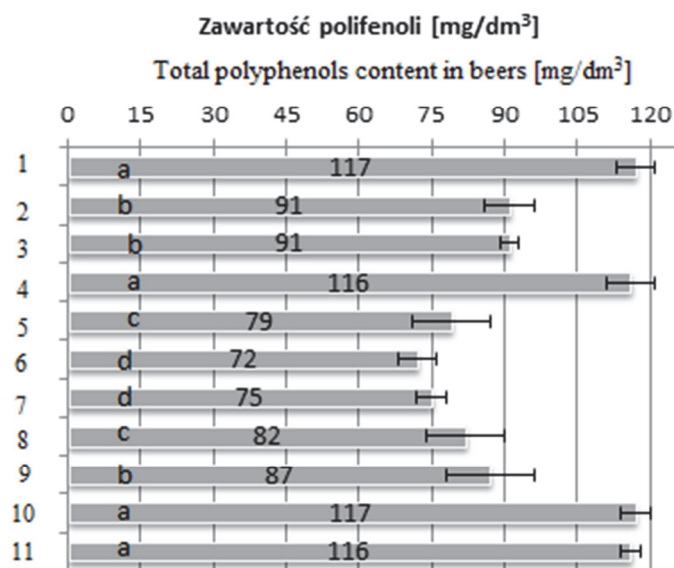
a - f – wartości średnie oznaczone różnymi literami różnią się statystycznie istotnie ($p < 0,05$) / mean values denoted by different letters differ statistically significantly ($p < 0.05$).

Rys. 2. Zdolność piw produkowanych z udziałem niesłodowanych pseudozboż do redukcji wolnego rodnika DPPH'

Fig. 2. Ability of beers produced with unmalted pseudocereals to reduce free DPPH' radical

do zwiększenia zawartości polifenoli w gotowym produkcie. Wstępna hipoteza nie została jednak potwierdzona. Zastosowanie niesłodowanych pseudozboż jako częściowego zamiennika słodu jęczmiennego nie spowodowało zwiększenia zawartości polifenoli. W większości produktów stwierdzono mniejszą zawartość polifenoli niż w piwie otrzymanym wyłącznie ze słodu (rys. 3). Największe zmniejszenie zawartości tych związków wystąpiło w piwach otrzymanych z udziałem 10 i 30 % nasion amarantusa ekspandowanego (72 i 75 mg/dm^3). Według źródeł literaturowych zawartość polifenoli w piwach typu lager powinna mieścić się w zakresie $50 \div 150$ mg/dm^3 [1]. Wszystkie piwa otrzymane w badaniach własnych charakteryzowały się więc prawidłową zawartością polifenoli. Tendencję do zmniejszania zawartości polifenoli w piwach otrzymywanych z udziałem niesłodowanych surowców wykazali Depaetere i wsp. [7], Fumi i wsp. [10], Kunze i wsp. [13] oraz Yano i wsp. [20] – w badaniach tych słód zastępowano odpowiednio: ziarnem niesłodowanej pszenicy, kukurydzy, jęczmienia lub syropem glukozowym. W cytowanych pracach mniejsza zawartość polifenoli w piwach otrzymanych z dodatkiem niesłodowanych surowców była prawdopodobnie wynikiem mniejszej zawartości polifenoli w tych surowcach niż w słodzie jęczmiennym. W badaniach własnych wykorzystano jednak surowce bogate w polifenole. Związki fenolowe, jak i inne związki o charakterze przeciwutleniającym, nie są jednak równomiernie

rozmieszczone we wszystkich częściach ziaren lub nasion. Największa ich zawartość występuje zwykle w zewnętrznych warstwach ziaren i nasion [17]. W niniejszych badaniach zastosowano natomiast obłuszczone nasiona komosy i amarantusa. Pozostałe formy surowca niesłodowanego otrzymano także po usunięciu zewnętrznych warstw nasion. W takim surowcu zawartość związków fenolowych oraz innych związków przeciwutleniających, takich jak witamina E, jest prawdopodobnie mniejsza niż podawane w źródłach literaturowych stężenia, które dotyczą całych nasion pseudozbóż. Spostrzeżenie to potwierdza wyniki badań Dabiny-Blickiej i wsp. dotyczących obłuszczonego i nieobłuszczonego jęczmienia [6].



Objaśnienia: / Explanatory notes:

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

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

Rys. 3. Zawartość polifenoli w piwach wyprodukowanych z dodatkiem niesłodowanych pseudozbóż

Fig. 3. Content of polyphenols in beers produced with unmalted pseudocereals added

Mniejsza zawartość polifenoli w piwach otrzymanych z dodatkiem pseudozbóż może także świadczyć o mniej efektywnej ekstrakcji związków fenolowych z pseudozbóż do zacieru, czego przyczyną może być ich nierozluźniona struktura. Mniejsza zawartość polifenoli w piwach produkowanych z dodatkiem niesłodowanych pseudozbóż może być także konsekwencją wysokiej reaktywności fenolowych związków pochodzących z pseudozbóż, które tworzą kompleksy z białkami, usuwane z brzezki

po procesie jej gotowania z chmielem. To stwierdzenie wydaje się bardziej prawdopodobne, biorąc pod uwagę większą zawartość białka w komosie ryżowej i amarantusie, w porównaniu ze słodem jęczmiennym. Zastąpienie słodu jęczmiennego w 10 % płatkami z amarantusa lub w 10 i 30 % płatkami z komosy ryżowej nie spowodowało zmniejszenia zawartości polifenoli w piwach w porównaniu z piwem wyprodukowanym wyłącznie ze słodu jęczmiennego ($p < 0,05$). Zawartość polifenoli w pozostałych piwach otrzymanych z dodatkiem komosy ryżowej i amarantusa oscylowała w granicach $82 \div 91 \text{ mg/dm}^3$. W przypadku zastąpienia 10 % słodu nasionami z komosy ryżowej lub nasionami ekspandowanego amarantusa stwierdzono, że mimo mniejszej zawartości polifenoli w piwach tych wariantów, ich aktywność przeciwrodnikowa była wyższa niż w piwach produkowanych wyłącznie ze słodu ($p < 0,05$). Prawdopodobnie inne związki niż polifenole obecne w komosie ryżowej lub amarantusie mogą mieć wpływ na zwiększanie stabilności przeciwutleniającej piw produkowanych z udziałem pseudozbóż. Jednym z takich związków występujących w wysokich stężeniach w nasionach komosy ryżowej i amarantusa (w porównaniu z tradycyjnymi zbożami) może być witamina E (tokoferol), która wykazuje silne działanie przeciwutleniające, zwłaszcza wobec kwasów tłuszczowych [19]. Wskazuje to również na fakt, że przy niewielkim udziale surowców niesłodowanych większa zawartość tłuszczu występująca w pseudozbożach prawdopodobnie nie ma wpływu na stabilność smakową. Z kolei obniżenie aktywności przeciwutleniającej piw produkowanych z 30-procentowym udziałem pseudozbóż może być wynikiem zwiększenia w piwie zawartości tłuszczów pochodzących z tych surowców. Zwiększona zawartość tłuszczu w piwie może przyspieszyć proces jego starzenia się. Utlenianie kwasów tłuszczowych przez lipooksygenazy prowadzi do powstawania wodoronadtlenków, z których następnie tworzone są związki karbonylowe (heksanal, nonenal czy nonedienal), pogarszające smak i zapach piwa [14].

Wnioski

1. Aktywność przeciwrodnikowa piw wyprodukowanych z 10-procentowym dodatkiem nasion lub płatków z komosy ryżowej czy też amarantusa w postaci płatków oraz poppingu była wyższa niż piw produkowanych wyłącznie ze słodu jęczmiennego.
2. W piwach, przy produkcji których 10 % słodu w brzezkach zastąpiono nasionami amarantusa, względnie płatkami z komosy ryżowej lub amarantusa, wykazano wzrost zdolności redukującej względem piw otrzymanych wyłącznie ze słodu jęczmiennego ($p < 0,05$).
3. Zastąpienie 30 % słodu niesłodowaną komosą lub amarantusem wpłynęło na obniżenie zdolności redukującej piw produkowanych z ich udziałem.

4. Dodatek niesłodowanych pseudozbóż nie powodował zwiększenia zawartości polifenoli w piwach.
5. Nie uzyskano jednoznacznej odpowiedzi, czy nasiona komosy ryżowej lub amarantusa, jako częściowe zamienniki słoju jęczmiennego, wpływają na zwiększenie aktywności przeciwutleniającej piw produkowanych z ich dodatkiem, a w konsekwencji na stabilność oksydacyjną piw.

Literatura

- [1] Aaron P.M., Shelhammer T.H.: A discussion of polyphenols in physical and flavor stability. *J. Inst. Brew.*, 2010, **4**, 369-380.
- [2] Analytica-EBC: Method 9.11. Verlag Hans Carl Getränke-Fachverlag, Nuernberg 2013.
- [3] Benzie I.F., Strain J.J.: The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": The FRAP assay. *Anal. Biochem.*, 1996, **239**, 70-76.
- [4] Bogdan P., Kordialik-Bogacka E.: Amarantus i komosa ryżowa jako niesłodowane dodatki w produkcji piwa. *Przem. Ferm. Owoc. Warz.*, 2015, **7-8**, 14-16.
- [5] Bogdan P., Kordialik-Bogacka E.: Alternatywne surowce wykorzystywane w browarnictwie. *Przem. Ferm. Owoc. Warz.*, 2014, **9**, 8-10.
- [6] Dabina-Blicka I., Karklina D., Kruma Z.: Polyphenols and vitamin E as potential antioxidants in barley and malt. In: *Innovations for Food Science and Production*. Faculty of Food Technology, Jęlgawa 2011, pp.121-126.
- [7] Depraetere S., Delavaux F., Coghe S., Delvaux F.: Wheat variety and barley malt properties: Influence on haze intensity and foam stability of wheat beer. *J. Inst. Brew.*, 2004, **110**, 200-206.
- [8] Ditrych M., Kordialik-Bogacka E., Czyżowska A.: Antiradical and reducing potential of commercial beers. *Czech J. Food Sci.*, 2015, **33**, 261-266.
- [9] Drużyńska B., Klepacka M.: Właściwości przeciwutleniające preparatów polifenoli otrzymanych z odkrywy nasiennej fasoli czarnej, różowej i białej (*Phaseolus*). *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2004, **4 (41)**, 69-78.
- [10] Fumi M.D., Gali R., Lambri M., Donadini G.: Effect of full-scale brewing process on polyphenols in Italian all-malt and maize adjunct lager beers. *J. Food Comp. Anal.*, 2011, **24**, 568-573.
- [11] Gorinstein S., Lojek A., Ciz M., Pawelzik E., Delgado-Licon E., Medina O., Moreno M., Salas I.M., Goshev I.: Comparison of composition and antioxidant capacity of some cereals and pseudocereals. *J. Food Sci. Technol.* 2008, **43**, 629-637.
- [12] Kordialik-Bogacka E.: Wartość żywieniowa piwa. W: *Żywność projektowana*. Red. M. Wälczycka, A. Duda-Chodak, G. Jaworska, T. Tarko. Oddz. Małopolski PTTŻ, Kraków 2011, ss. 124-134.
- [13] Kunz T., Muller C., Mat-Gonzales D., Methner F-J.: The influence of unmalted barley on the oxidative stability of wort and beer. *J. Inst. Brew.*, 2012, **118**, 32-39.
- [14] Michałowska D.: Lipooksygenazy a stabilność sensoryczna piwa. *Przem. Ferm. Owoc. Warz.*, 2012, **3**, 9-13.
- [15] Paško P., Bartoń H., Zagrodzki P., Gorinstein S., Fołta M., Zachwieja Z.: Anthocyanins, total polyphenols and antioxidant activity in amaranth and quinoa seeds and sprouts during their growth. *Food Chem.*, 2009, **115**, 994-998.
- [16] Szwajger D.: Content of individual phenolic acids in worts and beers and their possible contribution to the antiradical activity of beer. *J. Inst. Brew.*, 2009, **115**, 243-252.
- [17] Szwajgier D., Targoński T.: Arabinoksyłany ze słoju źródłem naturalnego przeciwutleniacza – kwasu ferulowego i błonnika pokarmowego w piwie. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2005, **4 (45)**, 27-41.
- [18] Śledziński T., Kwaśniewska D., Zieliński R.: Aktywność przeciwrodnikowa piwa. *Probl. Hig. Epidemiol.*, 2013, **3**, 648-652.

- [19] Valcárcel-Yamani B., Caetano da Silva Lannes S.: Applications of quinoa (*Chenopodium quinoa Willd.*) and amaranth (*Amaranthus* spp.) and their influence in the nutritional value of cereal based foods. *Food Publ. Health*, 2012, **6**, 265-275.
- [20] Yano M., Back W., Krottenthaler M.: The impact of liquid adjunct and barley on wort and beer quality. *Brewing Science*, 2008, **61**, 10-24.
- [21] Zhao H., Li H., Sun G., Yang B., Zhao M.: Assessment of endogenous antioxidative compounds and antioxidant activities of lager beers. *J. Sci. Food Agric.*, 2013, **93**, 910-917.

ANTIOXIDANT ACTIVITY OF BEER PRODUCED WITH UNMALTED QUINOA AND AMARANTH ADDITIVES

S u m m a r y

The objective of the research study was to assess the antioxidant activity of beers produced using unmalted quinoa (seeds or flakes) or amaranth (seeds, flakes, or popped seeds) as substitutes for 10 and 30 % of malt from barley. The antioxidant activity of the beers studied was determined based on the effectiveness of quenching a synthetic DPPH^{•+} radical and the ability to reduce ferric ion by a FRAP method. Under the research studies conducted, the content of polyphenols was also determined by a spectrophotometric method. The reducing ability of beers produced with added 10 % of unmalted amaranth seeds or flakes was higher compared to the beers manufactured solely from barley malt. Compared to the beers manufactured wholly from malt, the antiradical activity of beers did not decrease where any form of quinoa was used to substitute the amount of 10 % of malt. The application of unmalted polyphenols-rich pseudocereals as a substitute for malt did not cause the content of those compounds in the final beer to increase. In the case the amaranth or quinoa seeds substituted 30 % of the barley malt, it was found that the reducing potential of the produced beers significantly decreased compared to beers produced with 10 % of pseudocereals added and to beers produced exclusively from barley malt. The completed research study has not given a clear-cut answer whether or not the quinoa or amaranth cause the antioxidant activity of beers produced with them to increase, and, consequently, the shelf life of those beers to become longer. More research on this subject is indispensable including, among other things, the analysis of fatty acids added to beer along with pseudocereals.

Key words: barley malt, pseudocereals, beer, antioxidant activity, polyphenols ☒

ALINA KAŁUŻEWICZ, JOLANTA LISIECKA, MONIKA GĄSECKA,
AGNIESZKA WAŚKIEWICZ, WŁODZIMIERZ KRZESIŃSKI,
TOMASZ SPIŻEWSKI, BARBARA FRĄSZCZAK

CHANGES IN COMPOSITION OF PHENOLIC COMPOUNDS AND TOCOPHEROLS IN BROCCOLI HEADS DURING SHORT-TERM STORAGE

Summary

Broccoli (*Brassica oleracea* L. var. *italica*) contains numerous biologically active compounds. However, their levels change during processing and storage.

The objective of the research study was to determine the effect of short-term storage (1 ÷ 4 days) of broccoli heads at different temperatures (3 °C, 16 °C, and 21 °C) on the contents of phenolic acids, selected flavonoids (quercetin and kaempferol), and tocopherols. Broccoli heads were harvested in autumn when they reached their maximum size and their buds were 2 mm in diameter.

The content of phenolics and tocopherols depended on the storage time of broccoli heads. The lowest content of phenolics was found immediately after the broccoli was harvested, whereas the highest content thereof was reported after 4 days of storage. However, the storage temperature did not impact the contents of those compounds. In the research study, the content of caffeic acid was reported to be highest in the fresh broccoli heads; the content of sinapic acid was the second-highest, and that of the ferulic acid was the third-highest. The content of kaempferol in the broccoli heads was higher than that of quercetin. No differences were reported in the content of quercetin and kaempferol at particular storage temperatures on every single day of the experiment. An increase was reported only when compared with the control sample (the 0 day of storage). In the broccoli heads, the predominant tocopherol was α -tocopherol. The lowest loss in the total tocopherols occurred while storing at a temperature of 3 °C and the highest: at a temperature of 21 °C.

Key words: *Brassica oleracea* L. var. *italica*, HPLC, phenolics, tocopherols, storage, temperature

*Dr A. Kałużewicz, dr J. Lisiecka, dr W. Krześciński, dr T. Spiżewski, dr B. Frąszczak, Katedra Warzywnictwa, Wydz. Ogrodnictwa i Architektury, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, ul. Dąbrowskiego 159, 60-594 Poznań, dr M. Gąsecka, dr hab. A. Waśkiewicz, Katedra Chemii, Wydz. Technologii DREWNA, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, ul. Wojska Polskiego 25, 60-625 Poznań.
Kontakt: kalina@up.poznan.pl*

Introduction

Broccoli (*Brassica oleracea* L. var. *italica*) is a vegetable of high nutritional value owing to the abundance of health-promoting phytochemicals therein [1]. The variation among the contents of bioactive components therein depends both on the genetics and the environment including the conditions of growing it and the pre-harvest and/or post-harvest conditions [25]. Of all the bioactive compounds, phenolics deserve special attention [1] because of their role in preventing cancer and cardiovascular diseases [3]. Owing to their health-promoting effects, the phenolic compounds were intensively investigated over recent years [29]. Depending on their structure, phenolic compounds may be classified into simple phenols, phenolic acids, hydroxycinnamic acid derivatives, and flavonoids [10].

Phenolic compounds, especially flavonoids, are among the major antioxidants in *Brassica* vegetables [24]. Many research studies show that broccoli has a very high content of total phenolics [3].

Quercetin and kaempferol are the major flavonoids found in broccoli and they are known to be potent free-radical scavengers and antioxidants [24].

Tocopherols that belonging to lipid-soluble antioxidants are produced only by photosynthetic organisms including all plants, algae, and most cyanobacteria. The composition of tocopherol varies among species and among tissues within one species [14]. Tocopherols have vitamin E activity in mammals, with α -tocopherol and γ -tocopherol exhibiting the greatest effects. The high level of vitamin E in broccoli is of great importance because of its potential role in preventing heart diseases, cancer, Alzheimer's disease, and other degenerative diseases [14].

Broccoli has a limited shelf life [32]. Many researchers reported a reduction in the amount of bioactive compounds in broccoli during post-harvest handling, processing, and storage [18, 28]. There are rather limited reference literature data on the changes in the content of flavonoids and tocopherols in broccoli upon storage; they often appear contradictory [15, 18].

The objective of the research study was to assess the effect of short-term storage (1 ÷ 4 days) of broccoli heads at different temperatures (3 °C, 16 °C, and 21 °C) on the levels of selected phenolic compounds, i.e. phenolic acids and flavonoids (quercetin and kaempferol), as well as tocopherols.

Materials and methods

Materials

In 2011, two experiments were conducted on the effect of storage time (1 ÷ 4 days) and temperature (3 °C, 16 °C, and 21 °C) on chemical changes in broccoli heads. The first experiment was carried out in a period from the 5th to the 9th of September,

and the second one from the 19th to 23rd of September. Each combination of the material analyzed consisted of 5 broccoli heads. The analysis included one cultivar, i.e. 'Tiburón'. The heads for the experiments were collected from the broccoli planted on the 7th of July, at its four-leaf stage, and spaced 0.5 × 0.5 m from each other. The experiment was established on a podzolic soil, the arable layer of which was loamy sand underlying sandy loam. The soil was tested before planting the broccoli; 90 kg·ha⁻¹ of P₂O₅, 140 kg·ha⁻¹ of K₂O and 100 kg·ha⁻¹ of N were applied before the soil preparation. Additionally, nitrogen (100 kg ha⁻¹) was applied in three doses during the growing season. The plants were watered when the soil water potential exceeded - 0.04 MPa. The broccoli heads were harvested when they reached the maximum size and their buds were 2 mm in diameter. They were stored under the following conditions: humidity: 95 % at 3 °C and 50 % at 16 and 21 °C, in the dark. The chemical analyses were made on a frozen material (-20 °C).

Methods

Phenolic compounds

The phenolics were extracted from the frozen broccoli heads that were homogenised in 80 % methanol (sample weight: 8 g of broccoli; heating at a temperature of 80 °C for 2 h in 10 ml of methanol). The content of phenolic compounds was determined by means of a Folin-Ciocalteu assay with gallic acid used as a standard [27]. The absorbance was measured using a Varian Cary 300 Bio UV-Visible spectrophotometer at $\lambda = 765$ nm.

The concentration of phenolic acids (caffeic, ferulic, and sinapic) and flavonoids (quercetin and kaempferol) was determined after the accomplished alkaline and acid hydrolysis. The methanolic extract was treated with 2M NaOH and boiled for 30 minutes. After acidification, the phenolics were extracted with diethyl ether. Then, the methanolic extract was treated with 6M HCl, boiled for 30 minutes, and once more extracted with diethyl ether. The combined extracts were dried and re-dissolved in 1 ml of 80 % ethanol before being injected into a HPLC column [12].

The HPLC analysis was made with a Waters Alliance 2695 Chromatograph coupled with a Waters 2996 Photodiode Array Detector. The chromatographic separation was carried out on an RP C-18 column, 250 × 4 mm × 5 μ m (at a temperature of 20 °C), with an acetonitrile: 2 % aqueous acetic acid mixture (pH = 2) used as an elution phase (gradient). The mobile phase consisted of A (acetonitrile) and B (water and 2 % acetic acid). The gradient elution was as follows: at the start: 100 % B; 0 ÷ 14 min: 90 % B; 14 ÷ 30 min: 90 % B; 30 ÷ 45 min: 82 % B; 45 ÷ 55 min: 100 % A; 55 ÷ 60 min: 100 % A; 60 ÷ 75 min: 100 % B. The concentrations of phenolic acids were determined by means of an internal standard at wavelengths of $\lambda = 280$ nm (caffeic and

sinapic acid) or $\lambda = 320$ nm, and 280 nm (ferulic acid), whereas the wavelength of flavonoids was $\lambda = 320$ nm. The compounds were identified by comparing the retention time of the peak under analysis with the retention time of the standard, and by adding a specific amount of the standard to the samples analysed as well as by repeating the analysis. The detection level was 1 $\mu\text{g/g}$. The retention times of the assayed acids and flavonoids were as follows: caffeic acid - 26.19 min; ferulic acid - 46.20 min; sinapic acid - 48.00 min; quercetin - 52.25 min; and kaempferol - 53.13 min.

The gallic, caffeic, ferulic, sinapic acids, quercetin, kaempferol, Folin-Ciocalteu's phenol reagent, sodium carbonate, NaOH and methanol were purchased from Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA). The diethyl ether was purchase from Honeywell (Germany).

Tocopherols

Tocopherols were extracted from a frozen homogenised broccoli head (10 g) by means of 50 ml of n-hexane according to the procedure as described by Gliszczyńska-Świąło et al. [11]; the n-hexane fractions were combined and evaporated to dryness in vacuum at 30 °C.

Prior to the HPLC analysis, the residue was dissolved in 2 ml of 2-propanol. The tocopherols were determined with a Waters 2695 apparatus (Waters, Milford, MA, USA) with a Waters 2475 fluorescence detector at an emission wavelength of 325 nm and excitation of 295 nm with a Symmetry C18 column (150 mm \times 3.9 mm, 5 μm). A mobile phase of acetonitrile and methanol (1:1, v/v) was used at a flow rate of 1 mL/min. The detection limits for tocopherols were 10.0 ng/g. The tocopherols were identified by comparing their retention times with the relevant standards. The external standard method was applied to the quantification of those compounds. Additionally, the Waters 2996 Photodiode Array Detector was utilized to identify the compounds on the basis of their absorption spectra.

Statistical analysis

All statistical analyses were performed using a *Statistica* software (StatSoft, Poland). The significance of the impact of temperature and duration of storage on the content of phenolic compounds and tocopherols was determined with the F-test. The differences among the mean values were estimated with the Duncan test at a significance level of $p = 0.05$.

Results and discussion

Tab. 1 - 4 show the results of the present study on the effect of short-term storage on the content of phenolic and tocopherols in broccoli heads. The study confirmed the presence of caffeic, ferulic and sinapic acids, quercetin, and kaempferol as well as of

α -, γ - and δ -tocopherol in the broccoli. Other authors also documented the presence of chlorogenic acid, p-coumaric acid, and benzoic acid, or glucose esters of those acids or other derivatives in broccoli heads [30, 25]. Their reports show that a high variation occurs among the phenolics in broccoli. According to many researchers [7, 13, 16, 17, 23], this fact can be attributed to numerous factors such as genotype, agronomic environment, maturity stage at the harvest, and postharvest treatment. In some studies the differences between plant organs were observed [7]. Borowski et al. [1] also reported the high variability within the same cultivar grown under the same agricultural and climatic conditions. The results of many research works indicate that bioactive, nutritional and organoleptic qualities of broccoli are strongly affected by the storage period and storage conditions [9, 31].

Total phenolics

Broccoli is known to have a high level of phenolics [10, 14]. The content of total phenolics in a 'Tiburón' cv. of broccoli is presented in tab. 1 and expressed as mg of gallic acid equivalents (GAE) per 100 g fresh weight. In our study the content ranged from 1.68 to 7.28 mg GAE/100 g f.w. A two-year study conducted by Koh et al. [16], showed that in fresh broccoli heads the amount of total phenolics was more wide-ranging: from 15.18 to 121.38 mg GAE/100 g f.w.

Table 1. Content of total phenolics in broccoli heads during short-term storage

Tabela 1. Zawartość związków fenolowych ogółem w różach brokuła podczas krótkotrwałego przechowywania

Storage temperature Temperatura przechowywania [°C]	Day of storage / Dzień przechowywania				
	0	1	2	3	4
	Content of total phenolics / Ogólna zawartość fenoli [mg GAE/100 g f.w.]				
3	1.68 ^K ± 0.10	2.52 ^J ± 0.14	3.37 ^{GH} ± 0.10	4.00 ^{DE} ± 0.29	4.71 ^C ± 0.19
16		2.80 ^{IJ} ± 0.11	3.80 ^{EF} ± 0.01	4.31 ^D ± 0.12	6.12 ^B ± 0.11
21		3.00 ^{HI} ± 0.05	3.45 ^{FG} ± 0.12	4.82 ^C ± 0.05	7.28 ^A ± 0.01

Explanatory notes / objaśnienia:

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

All means denoted by different superscript letters differ statistically significantly at $p \leq 0.05$ / Wszystkie wartości oznaczone różnymi literami w indeksie górnym różnią się statystycznie istotnie przy $p \leq 0,05$.

Kaur et al. [14] assayed eight broccoli cultivars for the total phenolic level and the values ranged from 19.6 to 41.4 mg GAE/100 g f.w. Higher values were obtained by Singh et al. [26], Chu et al. [3] and Kevers et al. [15] 44.5 ÷ 82.9 mg GAE/100 g f.w.,

101.6 mg GAE/100 g f.w., and 127 mg GAE/100 g f.w., respectively. Differences between the extraction procedures and the ways of expressing results can contribute to the array of contrasting results what proves that the comparison among the research studies might be very difficult [14, 24].

In the present study, changes were found in the content of total phenolics during storage. The lowest concentration of phenolics was detected at the 0th day of storage; it was the highest after 4 days of storage (tab. 1). However, the concentration of those compounds was not affected by temperature. In addition, Kervers et al. [15] and Conversa et al. [5] found an increase in the level of phenolics in broccoli heads during storage. In the study by Zhan et al. [32], the content of total phenolics rose significantly in the broccoli heads exposed to light during storage (at 4 and 7 °C) and reached its peak, with a 1.6-fold increase, on the 7th day of storage. Yet, it was constant in the heads stored in darkness.

Leja et al. [18] also confirmed the accumulation of total phenolics during storage. In their studies, an intense accumulation was observed at a temperature of 20 °C from the first day of storage, while at a temperature of 5 °C - from the seventh day.

In the study conducted by Patras et al. [22], the content of phenolics in the unblanched broccoli samples increased significantly from the day when the accumulation was intense, i.e. in a period between the 0th and 5th day, and, then, it decreased. Lemoine et al. [19] obtained similar results. While comparing seven broccoli cultivars stored for 7, 14, and 21 days at 5 °C, Conversa et al. [5] found the unchanged content of total phenolics (except for two cultivars) after 7 days of storage; but, after 14 days of storage, they reported an increase in all but one of the cultivars they analyzed.

Fernandez-Leon et al. [9] also found an increase in the content of total phenolics after 13 days of cold-storing the samples in a controlled atmosphere (1 ÷ 2 °C, 85 ÷ 90 % RH, 10 % O₂ and 5 % CO₂). On the other hand, as regards the broccoli heads stored at 1 ÷ 2 °C and at 85 ÷ 90 % RH (control samples) and the broccoli heads treated with Smart-FreshTM, a sharp decrease was reported.

According to Page et al. [21] and Costa et al. [6], the increase in the content of phenolics during storage can result from of the senescing of broccoli heads.

Phenolic acids

Under the present study, it was found that the fresh broccoli heads had the highest content of caffeic acid, the content of sinapic acid therein was the second-highest and that of the ferulic acid – the third-highest (tab. 2). Vallejo et al. [30] obtained different results. They reported that the sinapic acid had the highest content, the ferulic acid had the second-highest content, and the caffeic acid derivatives – the third-highest.

Table 2. Content of phenolic acids in broccoli heads during short-term storage

Tabela 2. Zawartość kwasów fenolowych w różach brokołu podczas krótkotrwałego przechowywania

Storage temperature Temperatura przechowywania [°C]	Day of storage / Dzień przechowywania				
	0	1	2	3	4
Caffeic acid / Kwas kawowy [µg/g f.w.]					
3	8.76 ^E ± 1.19	9.03 ^E ± 1.09	10.01 ^{DE} ± 1.07	12.31 ^{BC} ± 0.47	12.86 ^B ± 0.27
16		8.58 ^{DE} ± 1.77	11.23 ^{BCD} ± 0.88	12.96 ^B ± 0.51	16.24 ^A ± 0.71
21		10.33 ^{CDE} ± 2.12	12.44 ^B ± 2.45	14.89 ^A ± 1.89	16.68 ^A ± 0.78
Ferulic acid / Kwas ferulowy [µg/g f.w.]					
3	6.48 ^E ± 0.01	7.00 ^E ± 0.24	11.28 ^{CDE} ± 2.34	15.15 ^{BCD} ± 4.81	20.90 ^{AB} ± 3.61
16		6.97 ^E ± 0.02	9.56 ^{DE} ± 1.43	17.32 ^{BC} ± 0.73	25.00 ^A ± 1.10
21		8.98 ^{DE} ± 0.15	12.13 ^{CDE} ± 2.0	19.34 ^{AB} ± 1.44	21.97 ^{AB} ± 3.11
Sinapic acid / Kwas synapinowy [µg/g f.w.]					
3	7.07 ^G ± 1.01	10.23 ^F ± 0.13	13.11 ^{EF} ± 0.65	14.67 ^{CDE} ± 0.42	16.52 ^{CD} ± 0.51
16		13.84 ^{DE} ± 0.73	16.14 ^{CDE} ± 0.71	19.93 ^{AB} ± 0.63	21.12 ^A ± 0.74
21		13.97 ^{DE} ± 0.51	15.65 ^{CDE} ± 0.58	17.76 ^{BC} ± 1.45	21.61 ^A ± 2.44

Explanatory notes / Objasnienia:

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

Means denoted by different superscript letters differ statistically significantly at $p \leq 0.05$, for each acid separately/ Wartości oznaczone różnymi literami w indeksie górnym różnią się statystycznie istotnie przy $p \leq 0,05$, oddzielnie dla każdego kwasu.

The concentration of caffeic acid ranged from 8.76 to 16.68 µg/g f.w. The content of caffeic acid was the lowest in the fresh broccoli heads (on the 0th day of storage) and amounted to 8.76 µg/g f.w. In the study conducted by Sikora et al. [25], the fresh broccoli heads contained 4 µg/g f.w. In the study by Vallejo et al. [29], the content of caffeic acid was strongly related to the broccoli cultivar and ranged from 7.6 to 38.2 µg/g f.w.

The one day storage did not affect the concentration of caffeic acid in the broccoli heads at any of the temperatures applied. At 3 °C, 16 °C, and 21 °C, there was a significant increase in the concentration documented on the second (except for the temperature of 3 °C), third, and fourth day of storage, respectively, compared to the day of harvesting. Apart from the first day of storage, on every following day, there were higher concentrations of caffeic acid observed at all the storage temperatures compared to the control samples. Our results are in contrast with those of Vallejo et al. [31] who showed large loss rates of caffeic acid derivatives during storage.

The concentration of ferulic acid ranged from 6.48 to 25.00 $\mu\text{g/g}$ f.w. In the studies conducted by Sikora et al. [25] and Pek et al. [23], the content of ferulic acid was 19.8 $\mu\text{g/g}$ f.w. and 0.6 ÷ 24.3 $\mu\text{g/g}$ f.w., respectively.

While storing the broccoli heads for one and two days at any of the temperatures indicated, no impact of that storage period was found on the concentration of ferulic acid therein. But on the third day of storing them at any of the temperatures applied, a significant increase was documented in the concentration of ferulic acid. An increase in the storage temperature did not affect the concentration of ferulic acid on any respective day of storage.

The derivatives of sinapic acid are characteristic compounds in the *Brassicaceae* family and, mainly owing to their antioxidant activity, those compounds are suggested for potential use in food processing, cosmetics, and the pharmaceutical industry [20]. Broccoli heads were reported to contain more than 100 $\mu\text{g/g}$ of sinapic acid bound in its esters and conjugates [2]. Vallejo et al. [29] obtained a lower content of sinapic acid, i.e. 25.4 ÷ 82.5 $\mu\text{g/g}$ f.w. In the studies conducted by Sikora et al. [25] and Fernandez-Leon et al. [8], the content of sinapic acid was 29.5 $\mu\text{g/g}$ f.w. and 6.4 ÷ 12.5 $\mu\text{g/g}$ f.w., respectively. Pek et al. [23] obtained a content of that acid ranging from 6.8 to 43.4 $\mu\text{g/g}$ f.w. and it depended on the treatment and harvest date.

In the present study, the concentration of sinapic acid ranged from 7.07 to 21.61 $\mu\text{g/g}$ f.w. On all of the days of experiment and at all of the storage temperatures, higher concentrations of sinapic acid were found in the samples stored compared to those in the non-stored control samples. There were also changes in the concentration level related to the increase in the temperature (except for the second day of storage). Fernandez-Leon et al. [9] observed a degradation of sinapic acid after 9 days of storage. In the research performed by Vallejo et al. [31], high losses of the amount of sinapic acid derivatives were also observed.

Quercetin and kaempferol

The concentration of quercetin ranged from 9.23 to 18.74 $\mu\text{g/g}$ f.w. (tab. 3). According to what many researchers earlier documented [17, 25], kaempferol prevailed and its concentration ranged from 50.33 to 67.99 $\mu\text{g/g}$ f.w. In contrast, Kevers et al. [15], and Koh et al. [16] reported a higher content of quercetin than that of kaempferol.

Higher or similar concentrations of those flavonoids were confirmed by other experiments [13, 16]. Much lower concentrations were obtained by Kurilich et al. [17]. According to them, the differences observed in the levels of flavonoids could be attributed to the extraction methods used.

Table 3. Content of quercetin and kaempferol in broccoli heads during short-term storage

Tabela 3. Zawartość kwercetyny i kemferolu w różach brokołu podczas krótkotrwałego przechowywania

Storage temperature Temperatura przechowywania [°C]	Day of storage / Dzień przechowywania				
	0	1	2	3	4
	Quercetin / Kwercetyna [$\mu\text{g/g f.w.}$]				
3	9.23 ^F \pm 0.28	12.01 ^{DEF} \pm 1.97	16.04 ^{ABC} \pm 0.51	15.30 ^{BC} \pm 2.21	18.74 ^A \pm 1.66
16		9.48 ^F \pm 2.11	12.01 ^{DEF} \pm 0.89	14.23 ^{CD} \pm 0.56	17.95 ^{AB} \pm 1.09
21		11.29 ^{EF} \pm 0.39	13.30 ^{CDE} \pm 0.69	14.41 ^{CD} \pm 0.04	17.28 ^{AB} \pm 0.37
	Kaempferol / Kemferol [$\mu\text{g/g f.w.}$]				
3	50.33 ^F \pm 3.08	51.09 ^F \pm 1.18	56.46 ^{DE} \pm 1.55	63.60 ^{BC} \pm 2.53	66.56 ^{AB} \pm 1.58
16		52.18 ^F \pm 3.06	57.92 ^D \pm 1.99	63.03 ^{BC} \pm 0.95	66.49 ^{AB} \pm 1.92
21		52.60 ^{EF} \pm 1.68	59.84 ^{CD} \pm 2.17	63.91 ^{ABC} \pm 3.02	67.99 ^A \pm 2.09

Explanatory notes / objaśnienia:

Table shows mean values and standard deviations; (n = 2) / W tabeli przedstawiono wartości średnie \pm odchylenia standardowe.All means denoted by different superscript letters differ statistically significantly at $p \leq 0.05$ / Wszystkie wartości oznaczone różnymi literami w indeksie górnym różnią się statystycznie istotnie przy $p \leq 0.05$.

In the study conducted by Kałużewicz et al. [13], the content of quercetin and kaempferol fluctuated throughout the storage period, whereas Kevers et al. [15] reported a relatively stable content of those flavonoids. In our study, there were no differences between the concentrations of quercetin and kaempferol, no matter what temperature was applied and what day of the experiment it was. An increase was observed only when compared with the control sample (the 0 day of storage). Our previous study indicated that the contents of quercetin and kaempferol increased along with the increase in the storage temperature [13].

Tocopherols

According to Podsędek [24], vitamin E consists of four tocopherols (α -, β -, γ - and δ -T) and the corresponding (α -, β -, γ - and δ -T3) tocotrienols. In *Brassica* spp., both the α - and the β -tocopherol were identified at significant levels [12, 17]. Many authors show that α -tocopherol is the predominant tocopherol in all *Brassica* vegetables and broccoli is the best source of lipid-soluble antioxidants [4, 24, 26]. Literature data on the content of tocopherols found in broccoli vary greatly and this fact could be ascribed to diverse cultivars and various conditions of growing them [24].

Table 4. Content of tocopherols in broccoli heads during short-term storage

Tabela 4. Zawartość tokoferoli w różach brokołu podczas krótkotrwałego przechowywania

Storage temperature Temperatura przechowywania [°C]	Day of storage / Dzień przechowywania				
	0	1	2	3	4
	α -tocopherol / α -tokoferol [$\mu\text{g/g}$ f.w.]				
3	39.02 ^{ABC} \pm 1.95	41.00 ^{ABC} \pm 0.06	30.10 ^{BCD} \pm 3.79	28.75 ^{CD} \pm 3.20	24.42 ^{DE} \pm 3.67
16		42.34 ^{AB} \pm 3.50	30.55 ^{BCD} \pm 1.32	19.65 ^{DEF} \pm 6.26	11.29 ^{EF} \pm 2.79
21		44.20 ^A \pm 2.29	21.12 ^{DEF} \pm 6.38	20.13 ^{DEF} \pm 6.81	8.53 ^F \pm 1.23
	γ -tocopherol / γ -tokoferol [$\mu\text{g/g}$ f.w.]				
3	15.98 ^{AB} \pm 0.62	9.09 ^{BCDE} \pm 0.91	7.13 ^{CDE} \pm 1.81	5.87 ^{CDE} \pm 1.39	4.96 ^{DE} \pm 0.68
16		16.73 ^A \pm 0.28	15.92 ^{AB} \pm 0.28	10.55 ^{ABCD} \pm 2.33	5.37 ^{CDE} \pm 1.02
21		12.42 ^{ABC} \pm 1.40	10.29 ^{ABCD} \pm 2.28	7.69 ^{CDE} \pm 1.17	2.58 ^E \pm 0.04
	δ -tocopherol / δ -tokoferol [$\mu\text{g/g}$ f.w.]				
3	1.17 ^A \pm 0.08	0.50 ^{CDE} \pm 0.06	0.44 ^{DE} \pm 0.07	0.46 ^{CDE} \pm 0.04	0.34 ^E \pm 0.21
16		1.06 ^{AB} \pm 0.02	0.86 ^{ABCD} \pm 0.09	0.86 ^{ABCD} \pm 0.28	0.62 ^{BCDE} \pm 0.05
21		0.83 ^{ABCD} \pm 0.01	0.94 ^{ABC} \pm 0.16	0.83 ^{ABCD} \pm 0.21	0.57 ^{CDE} \pm 0.25
	Total tocopherols / Suma tokoferoli [$\mu\text{g/g}$ f.w.]				
3	56.16 ^A \pm 1.37	50.60 ^{AB} \pm 0.82	37.67 ^{BC} \pm 5.56	35.30 ^{BCD} \pm 4.46	29.72 ^{CDE} \pm 4.24
16		60.13 ^A \pm 3.21	47.33 ^{ABC} \pm 1.08	30.96 ^{CD} \pm 8.68	17.27 ^{DE} \pm 3.83
21		57.44 ^A \pm 3.69	32.35 ^{BCD} \pm 8.73	28.65 ^{CDE} \pm 8.08	11.68 ^E \pm 1.06

Explanatory notes / Objasnienia:

Table shows mean values and standard deviations; (n = 2) / W tabeli przedstawiono wartości średnie \pm odchylenia standardowe.

All means denoted by different superscript letters differ statistically significantly at $p \leq 0.05$ / Wszystkie wartości oznaczone różnymi literami w indeksie górnym różnią się statystycznie istotnie przy $p \leq 0,05$.

In the present study, the α -, β - and δ -tocopherols were identified in the fresh broccoli heads and in the heads stored at different temperatures (3 °C, 16 °C, and 21 °C) for 4 days (tab. 4). The content of α -tocopherol was predominant and ranged from 70.4 to 81.0 % of total tocopherols. A similar result (79 %) was obtained by Ibrahim and Juvik [12]. The percent content of β - and δ -tocopherols in all the tocopherols was 18.0 \div 27.8 and 1.0 \div 1.76 %, respectively, which was confirmed by other researchers [11].

In the available literature, there is little information about the effect of storage temperature on the content of tocopherols. During storage at 3 °C, it was found that the stability of total tocopherols was good (41.3 % of reduction). During storage at 21 °C, the stability was the lowest: 79.7 % of reduction. The highest concentration of tocoph-

erols was reported at 16 °C on the first day of storage (60.13 µg/g f.w.) and the lowest at 21 °C on the fourth day of storage (11.68 µg/g f.w.). Compared to the control samples (the 0 day of storage), a slight increase in the content of α -tocopherol observed in the present study is most likely the result of better availability of those compounds for extraction.

Conclusion

1. The highest content of phenolics was observed at the end of storage.
2. The content of kaempferol was much higher than the content of quercetin in the broccoli heads.
3. On the harvest day of broccoli, the highest tocopherol content was reported.
4. Of the contents of total tocopherols, the content of alfa tocopherol was predominant.
5. The contents of tocopherols were characterised by the highest stability at the lowest temperature.

References

- [1] Borowski J., Szajdek A., Borowska E.J., Ciska E., Zieliński H.: Content of selected bioactive components and antioxidant properties of broccoli (*Brassica oleracea* L.). Eur. Food Res. Technol., 2008, **226** (3), 459-465.
- [2] Clifford M.N.: Chlorogenic acids and other cinnamates – nature, occurrence and dietary burden. J. Sci. Food Agr., 2000, **80** (7), 1033-1043.
- [3] Chu Y.F., Sun J., Wu X., Liu R.H.: Antioxidant and antiproliferative activities of common vegetables. J. Agric. Food Chem., 2002, **50** (23), 6910-6916.
- [4] Chun J., Lee J., Ye L., Exler J., Eitenmiller R.R.: Tocopherol and tocotrienol contents of raw and processed fruits and vegetables in the United States diet. J. Food Compos. Anal., 2006, **19** (2-3), 196-204.
- [5] Conversa G., Bonasia A., Lazzizzera C., Elia A.: Changes in biochemical and qualitative properties in fresh-cut broccoli genotypes during storage. Acta Hort., 2013, **1005**, 641-647.
- [6] Costa L., Vicente A.R., Civello P.M., Chaves A.R., Martinez G.A.: UV-C treatment delays postharvest senescence in broccoli florets. Postharvest Biol. Tec., 2006, **39**, 204-210.
- [7] Długosz-Grochowska O., Leja M., Grabowska A., Kunicki E.: The effect of preliminary chilling of broccoli transplants on some antioxidative parameters. Folia Hort., 2012, **24** (2), 131-139.
- [8] Fernandez-Leon M.F., Fernandez-Leon A.M., Lozano M., Ayuso M.C., Gonzalez-Gomez D.: Identification, quantification and comparison of the principal bioactive compounds and external quality parameters of two broccoli cultivars. J. Funct. Foods, 2012, **4** (2), 465-473.
- [9] Fernandez-Leon M.F., Fernandez-Leon A.M., Lozano M., Ayuso M.C., Gonzalez-Gomez D.: Different postharvest strategies to preserve broccoli quality during storage and shelf life: Controlled atmosphere and 1-MCP. Food Chem., 2013, **138** (1), 564-573.
- [10] Gawlik-Dziki U.: Fenolokwasy jako bioaktywne składniki żywności. Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 2004, **4** (41) Supl., 29-40.
- [11] Gliszczyńska-Świgło A., Ciska E., Pawlak-Lemańska K., Chmielewski J., Borkowski T., Tyrakowska B.: Changes in the content of health-promoting compounds and antioxidant activity of broccoli after domestic processing. Food Addit. Contam., 2006, **23** (11), 1088-1098.

- [12] Gliszczyńska-Świągło A., Kałużewicz A., Lemańska K., Knaflewski M., Tyrakowska B.: The effect of solar radiation on the flavonol content in broccoli inflorescence. *Food Chem.*, 2007, **100** (1), 241-245.
- [13] Ibrahim K.E., Juvik J.A.: Feasibility for improving phytonutrient content in vegetable crops using conventional breeding strategies: Case study with carotenoids and tocopherols in sweet corn and broccoli. *J. Agric. Food Chem.*, 2009, **57** (11), 4636-4644.
- [14] Kałużewicz A., Gliszczyńska-Świągło A., Klimczak I., Lisiecka J., Tyrakowska B., Knaflewski M.: The influence of short-term storage on the content of flavonoids and vitamin C in broccoli. *Europ. J. Hort. Sci.*, 2012, **77** (3), 137-143.
- [15] Kaur C., Kumar K., Anil D., Kapoor H.C.: Variations in antioxidant activity in broccoli (*Brassica oleracea* L.) cultivars. *J. Food Biochem.*, 2007, **31** (5), 621-638.
- [16] Kevers C., Falkowski M., Tabart J., Defraigne J.O., Dommès J., Pincemail J.: Evolution of antioxidant capacity during storage of selected fruits and vegetables. *J. Agric. Food Chem.*, 2007, **55** (21), 8596-8603.
- [17] Koh E., Wimalasiri K.M.S., Chassy A.W., Mitchell A.E.: Content of ascorbic acid, quercetin, kaempferol and total phenolics in commercial broccoli. *J. Food Compos. Anal.*, 2009, **22** (7-8), 637-643.
- [18] Kurilich A.C., Jeffery E.H., Juvik J.A., Wallig M.A., Klein B.P.: Antioxidant capacity of different broccoli (*Brassica oleracea*) genotypes using the oxygen radical absorbance capacity (ORAC) assay. *J. Agric. Food Chem.*, 2002, **50** (18), 5053-5057.
- [19] Leja M., Mareczek A., Starzyńska A., Rożek S.: Antioxidant ability of broccoli flower buds during short-term storage. *Food Chem.*, 2001, **72** (2), 219-222.
- [20] Lemoine M.L., Civello P., Chaves A., Martinez G.: Hot air treatment delays senescence and maintains quality of fresh-cut broccoli florets during refrigerated storage. *LWT-Food Sci. Technol.*, 2009, **42** (6), 1076-1081.
- [21] Nićiforović N., Abramović H.: Sinapic acid and its derivatives: natural sources and bioactivity. *Compr. Rev. Food. Sci. F.*, 2014, **13** (1), 34-51.
- [22] Page T., Griffiths G., Buchanan-Wollaston V.: Molecular and biochemical characterization of post-harvest senescence in broccoli. *Plant Physiol.*, 2001, **125**, 718-727.
- [23] Patras A., Tiwari B.K., Brunton N.P.: Influence of blanching and low temperature preservation strategies on antioxidant activity and phytochemical content of carrots, green beans and broccoli. *LWT-Food Sci. Technol.*, 2011, **44** (1), 299-306.
- [24] Pek Z., Daood H., Nagyne M.G., Berki M., Tothne M.M., Nemenyi A., Helyes L.: Yield and phytochemical compounds of broccoli as affected by temperature, irrigation, and foliar sulfur supplementation. *HortScience*, 2012, **47** (11), 1646-1652.
- [25] Podsędek A.: Natural antioxidants and antioxidant capacity of *Brassica* vegetables: A review. *LWT-Food Sci. Technol.*, 2007, **40** (1), 1-11.
- [26] Sikora E., Cieślak E., Filipiak-Florkiewicz A., Leszczyńska T.: Effect of hydrothermal processing on phenolic acids and flavonols contents in selected brassica vegetables. *Acta Sci. Pol., Technol. Aliment.*, 2012, **11** (1), 45-51.
- [27] Singh J., Upadhyay A.K., Prasad K., Bahadur A., Rai M.: Variability of carotenes, vitamin C, E and phenolics in *Brassica* vegetables. *J. Food Compos. Anal.*, 2007, **20** (2), 106-112.
- [28] Singleton V.L., Rossi J.A.: Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdenic-phosphotungstic acid reagents. *Am. J. Enol. Vitic.*, 1965, **16** (3), 144-158.
- [29] Szydłowska A., Czarniecka-Skubina E.: Wpływ sposobu gotowania i przechowywania po ugotowaniu na temperaturę, wydajność i jakość sensoryczną brokułów. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2006, **1** (46), 117-132.
- [30] Vallejo F., Tomas-Barberan F.A., Garcia-Viguera C.: Potential bioactive compounds in health promotion from broccoli cultivars grown in Spain. *J. Sci. Food Agr.*, 2002, **82** (11), 1293-1297.
- [31] Vallejo F., Tomas-Barberan F.A., Garcia-Viguera C.: Effect of climatic and sulphur fertilisation conditions, on phenolic compounds and vitamin C, in the inflorescences of eight broccoli cultivars. *Eur. Food Res. Technol.*, 2003, **216** (5), 395-401.

- [32] Vallejo F., Tomas-Barberan F.A., Garcia-Viguera C.: Health-promoting compounds in broccoli as influenced by refrigerated transport and retail sale period. *J. Agric. Food Chem.*, 2003, **51** (10), 3029-3034.
- [33] Zhan L., Hu J., Li Y., Pang L.: Combination of light exposure and low temperature in preserving quality and extending shelf-life of fresh-cut broccoli (*Brassica oleracea* L.). *Postharvest Biol. Tec.*, 2012, **72**, 76-81.


ZMIANY SKŁADU FENOLI I TOKOFEROLI W RÓŻACH BROKUŁU W TRAKCIE KRÓTKOTRWAŁEGO PRZECHOWYWANIA

Streszczenie

Brokuł (*Brassica oleracea* L. var. *italica*) zawiera liczne związki biologicznie aktywne. Ich poziom ulega jednak zmianie w trakcie przetwarzania i przechowywania.

Przedmiotem badań było określenie wpływu krótkotrwałego przechowywania róż brokułu (1 ÷ 4 dni) w różnych temperaturach (3, 6 i 21 °C) na zawartość kwasów fenolowych, wybranych flawonoidów (kwercetyny i kemferolu) oraz tokoferoli. Brokuły były zbierane jesienią, kiedy róże osiągnęły swoje maksymalne rozmiary, a ich pączki wynosiły około 2 mm.

Zawartość fenoli i tokoferoli zależała od czasu przechowywania róż. Najmniejszą zawartość fenoli stwierdzono tuż po zbiorze, a największą – po 4 dniach przechowywania. Na zawartość tych składników nie miała jednak wpływu temperatura przechowywania. Wśród badanych kwasów fenolowych stwierdzono największą zawartość kwasu kawowego, następnie synapinowego i ferulowego. Zawartość kemferolu w różach brokułu była większa niż zawartość kwercetyny. Nie było różnic pod względem zawartości kemferolu i kwercetyny w poszczególnych temperaturach przechowywania, w każdym dniu badań. Wzrost obserwowano tylko w porównaniu z próbą kontrolną (dzień 0). Dominującym tokoferolem w różach brokułu był α -tokoferol. Najmniejszy ubytek sumy tokoferoli uzyskano podczas przechowywania w temperaturze 3 °C, a największy – w temperaturze 21 °C.

Słowa kluczowe: *Brassica oleracea* L. var. *italica*, HPLC, fenole, tokoferole, przechowywanie, temperatura 

MAŁGORZATA KOWALSKA, BARBARA GAJEWNIK, TERESA SUMIŃSKA,
ANDRZEJ BARYGA

PARAMETRY MIKROBIOLOGICZNE I FIZYKOCHEMICZNE SOKU SUROWEGO Z BURAKÓW CUKROWYCH PRZED I PO OZONOWANIU

Streszczenie

Celem pracy było określenie wpływu ozonowania soku surowego otrzymanego z buraków cukrowych na jego skład chemiczny i zanieczyszczenie mikrobiologiczne. Materiał do badań stanowiły próbki soku surowego z kampanii cukrowniczej 2014 r. Zastosowano następujące parametry procesu ozonowania soku: czas 5 ÷ 30 min, przepływ ozonu 1,0, 4,5 i 7 dm³·min⁻¹, temperatura soku ok. 18 °C, objętość próbki: 500 ml. Stężenie ozonu w mieszaninie powietrzno-ozonowej wyniosło średnio 11 mg·dm⁻³. W badaniach wykazano, że ozon zastosowany w dawce 7 dm³·min⁻¹ obniżył liczbę bakterii mezofilnych o 4 log, bakterii tworzących śluz o 3,3 log, drożdży o 2,6 log, przetrwalników bakterii termofilnych tlenowych o 1,2 log a liczbę pleśni o 0,5 log. Statystycznie istotną ($p \leq 0,05$) różnicę wykazano tylko w przypadku liczby bakterii mezofilnych po 30 min stosowania ozonu w dawce 7 dm³·min⁻¹. Nie wykazano wpływu ozonowania na zawartość takich składników soku surowego, jak: sucha masa sacharozy, związki mineralne w postaci popiołu, związki azotowe i metale – Na i K. Zmiany stwierdzono w przypadku zawartości związków redukujących, kwasowości i zabarwienia. Intensywność zabarwienia zmniejszyła się maksymalnie o 35 % przy 30-minutowym przepływie ozonu 7 dm³·min⁻¹. Kwasowość uległa redukcji o 52 % przy dawce 4,5 dm³·min⁻¹ i 20-minutowym ozonowaniu. Wydłużenie czasu ozonowania do 30 min przy przepływie 1,0 i 7,0 dm³·min⁻¹ nie wpłynęło znacząco na obniżenie kwasowości soku surowego. Zawartość związków redukujących zmniejszyła się maksymalnie o 44 % podczas 20-minutowego ozonowania, przy przepływie gazu 4,5 dm³·min⁻¹.

Słowa kluczowe: buraki cukrowe, sok surowy, zabarwienie soku, ozonowanie, dawka, redukcja

Wprowadzenie

W przemyśle cukrowniczym ozon stosuje się głównie do zmniejszenia intensywności zabarwienia cukru. Barwa jest podstawowym wskaźnikiem decydującym o jako-

Mgr inż. M. Kowalska, mgr inż. B. Gajewnik, mgr inż. T. Sumińska, dr inż. A. Baryga, Zakład Cukrownictwa, Instytut Biotechnologii Przemysłu Rolno-Spożywczego, ul. Inżynierska 4, 05-084 Leszno k. Błonia. Kontakt: malgorzata.kowalska@ibprps.pl

ści cukru. Sok komórkowy buraka cukrowego nie zawiera substancji barwnych. Pojawiają się one dopiero w trakcie procesu technologicznego, nadając oczyszczonym sokom barwę od żółtej do brunatnej. Ich obecność w procesie krystalizacji zmniejsza również szybkość wzrostu kryształów sacharozy [8]. Na zabarwienie cukru wpływa jakość odwirowanych mączek, z których sporządza się klarówki i gotuje cukrzycę I. Ilość substancji barwnych wzrasta siedmiokrotnie w kolejnych etapach produkcji cukru, począwszy od soku rzadkiego aż do melasu. Intensywność barwy soków cukrowniczych zależy od: czasu trwania technologicznych procesów jednostkowych, temperatury, odczynu (pH), zawartości suchej masy, zawartości związków redukujących i aminokwasów [8, 13, 14, 15]. Barwę soku tworzą: melaniny, substancje karmelowe, barwne produkty rozkładu związków redukujących oraz melanoidyny (produkty reakcji Maillarda). W celu zmniejszenia zawartości substancji barwnych cukrownie stosują m.in. węgiel aktywny, żywice, węglanocukrzany. Środki te są kosztowne, a ich stosowanie powoduje komplikacje technologiczne. Z danych literaturowych wynika, że zastosowanie ozonu pozwala na zmniejszenie zabarwienia roztworu cukru nawet o 75 % jednostek ICUMSA. Zmniejszyła się również mętność roztworu cukru, a jego jakość była wyższa ze względu na brak pozostałości chemicznych związków stosowanych do odbarwiania cukru [1, 4]. Godshall i McKee [5] porównali skuteczność odbarwiania soku za pomocą H_2O_2 , ozonu i związków siarki. Stwierdzili, że środki te silnie oddziaływały na barwniki soku, ale równocześnie związki siarki wpływały na 12-procentowe zmniejszenie zawartości sacharozy, czego nie obserwowano w przypadku zastosowania ozonu i H_2O_2 . Analizowano również możliwość odbarwiania ozonem klarówek. Efekt odbarwiania syropów trzcinowych przekraczał 70 %. Za optymalną dawkę ozonu (wysoki efekt odbarwienia roztworów przy stosunkowo niskim jego zużyciu uznano 250 ÷ 400 mg ozonu w przeliczeniu na 1 kg sacharozy w analizowanych syropach. Proces ozonowania przebiegał najefektywniej w temp. ok. 70 °C i w środowisku o pH 6 - 7. W trakcie dodawania ozonu struktury związków barwnych były niszczone i powstawały kwasy organiczne powodujące obniżenie pH o ok. 0,5 jednostki na 250 mg·kg⁻¹ dodanego ozonu [12]. Mechanizmy usuwania zabarwienia roztworów ozonem są skomplikowane. Gaz ten działa m.in. na sprzężone wiązania podwójne, odpowiedzialne za zabarwienie soku przez większość substancji barwnych. Przeprowadzono też badania nad odbarwianiem syropów cukrowniczych z użyciem ozonu, nadtlenku wodoru oraz kwasu nadtlenodwusiarkowego [11]. Środki te wpłynęły na znaczne zmniejszenie intensywności zabarwienia roztworów, czemu towarzyszył wzrost zawartości związków redukujących oraz zmniejszenie zawartości sacharozy. Użycie optymalnych dawek utleniaczy spowodowało 40- do 50-procentowe odbarwienie roztworów. Zastosowanie tej metody nie zapewniło jednak trwałego odbarwienia syropów. Dzięki wykorzystaniu ozonu i kwasu nadtlenodwusiarkowego otrzymano cukier o mniejszej intensywności zabarwienia niż miał cukier uzyskany z roztworów

wyściowych, ale zawierający więcej związków redukujących niż ten wykrystalizowany z syropów wyjściowych. Odcieki po krystalizacji poddano też testom mikrobiologicznym w celu określenia ich ewentualnej przydatności w przemyśle fermentacyjnym. Ozonowanie syropów spowodowało silne natlenienie środowiska, co sprzyjało wzrostowi komórek drożdżowych. Po zakończeniu procesu ozonowania stwierdzono znaczne zmniejszenie zabarwienia roztworów. Efekt odbarwienia wynosił ok. 50 % przy zużyciu maksymalnie 0,18 % ozonu na suchą masę klarówki. W odbarwionych syropach zaobserwowano również zmniejszenie odczynu (pH) o ok. 2 jednostki, wzrost zawartości związków redukujących oraz niewielki ubytek sacharozy [6, 7, 9]. Madho i Davis [10] wykazali, że zmniejszenie zabarwienia soku rzadkiego o 60 % można uzyskać przy zastosowaniu dawki ozonu 12500 ppm. Jest to bardzo duża i nieuzasadniona ekonomicznie dawka. Przeprowadzono także próby eliminacji specyficznego zapachu cukru z buraków cukrowych. Przez warstwę cukru przepuszczano ozon i powietrze. Stwierdzono, że charakterystyczny zapach cukru wynika głównie z obecności lotnych kwasów tłuszczowych. Lepsze efekty, także ekonomiczne, osiągnięto po zastosowaniu napowietrzania [3].

Do zalet stosowania ozonu należy zaliczyć brak szkodliwych produktów rozpadu. Ozon generowany jest na miejscu, w zakładzie produkcyjnym, co eliminuje potrzebę jego transportu i składowania. W trakcie ciągłej produkcji generowanie ozonu jest stosunkowo tanie [9].

Celem pracy było określenie wpływu ozonowania soku surowego otrzymanego z buraków cukrowych na jego skład chemiczny i zanieczyszczenie mikrobiologiczne.

Material i metody badań

Material do badań stanowiły próbki soku surowego z cukrowni mazowieckiej, z kampanii cukrowniczej w 2014 r.

Próbki ozonowano mieszaniną gazów wytworzoną w urządzeniu OZ-5G (BNP Ozone, Chiny) o wydajności ozonu $5 \text{ g} \cdot \text{h}^{-1}$ z O_2 . Parametry procesu ozonowania soku surowego były następujące: czas $5 \div 30$ min, przepływ ozonu: 1,0, 4,5 i $7 \text{ dm}^3 \cdot \text{min}^{-1}$, temperatura soku ok. $18 \text{ }^\circ\text{C}$, objętość próbki 500 ml. Podjęto próbę określenia optymalnej dawki ozonu, przy której uzyska się dezynfekcję soku surowego i zmniejszenie intensywności jego zabarwienia. Dlatego też przy różnych przepływach ozonu stosowano różne okresy czasowe jego oddziaływania. Stężenie ozonu w mieszaninie powietrzno-ozonowej wynosiło średnio $15 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$. Do soku surowego dodawano 0,5 ml preparatu przeciwwapiennego. Ozonowanie prowadzono w cylindrze o wysokości 25 cm z bełkotką.

Liczbę drobnoustrojów oznaczano metodą płytek lanych. Bakterie mezofilne hodowano na pożywce PCA (BTL, Polska) 72 h w temp. $30 \text{ }^\circ\text{C}$, pleśnie i drożdże – na pożywce YGC (Merck, Niemcy) 72 h w temp. $30 \text{ }^\circ\text{C}$, bakterie tworzące śluzę – na

pożywce Mc Clesky Favillea (pożywkę wykonano w laboratorium wg metody ICUMSA GS2/3-45:2002) 48 h w temp. 30 °C oraz bakterie termofilne tlenowe – na pożywce glukozowo-tryptonowej z purpurą bromokrezolową (pożywkę wykonano w laboratorium wg metody ICUMSA GS2/3-49:1998) 48 h w temp. 55 °C. Stężenie ozonu w mieszaninie gazów określano metodą pośrednią z wykorzystaniem 10-procentowego roztworu KI i tiosiarczanu sodu.

W soku surowym przed procesem ozonowania, jak i po jego przeprowadzeniu, oznaczano [2]: zawartość suchej masy (Bx) metodą refraktometryczną (refraktometrem ATR firmy Schmidt & Hansach, Niemcy), zawartość sacharozy (Ck) – metodą polarymetryczną (przy użyciu polarymetru fotoelektrycznego Saccharomat Z, firmy Schmidt & Hansach, Niemcy), czystość (Cz) (czyli procentową zawartość cukru w stosunku do zawartości suchej masy) – metodą obliczeniową, pH – metodą potencjometryczną (przy użyciu pH-metru FiveEasy 20, firmy Mettler Toledo, Niemcy), zabarwienie – metodą spektrofotometryczną, przez pomiar absorbancji przy $\lambda = 560$ nm (przy użyciu spektrofotometru HACH DR 5000, firmy HACH, Niemcy), kwasowość – metodą miareczkową (1/28 M roztwór HCL), zawartość związków redukujących (inwertu) – metodą miareczkową, popiół konduktometryczny – metodą konduktometryczną (przy użyciu konduktometru WTW, InoLab Cond 730, Niemcy), metale: Na, K – metodą spektrofotometrii atomowej (przy użyciu spektrofotometru AAS Solaar 929, firmy ATI Unicam Ltd., Wielka Brytania), zawartość azotu amidowego i amoniakalnego, zawartość azotu ogólnego oraz zawartość azotu białkowego – metodą miareczkową po destylacji z parą wodną, zawartość azotu α -aminokwasowego – metodą spektrofotometryczną przy $\lambda = 600$ nm (przy użyciu spektrofotometru HACH DR 5000, firmy HACH, Niemcy).

Analizę statystyczną przeprowadzono tylko dla wyników uzyskanych w doświadczeniu z dozowaniem ozonu w ilości $7 \text{ dm}^3 \cdot \text{min}^{-1}$ przez 10, 15, 20 i 30 min. Doświadczenie to powtórzono trzykrotnie. Analizę statystyczną wykonano testem t-Studenta przy $p = 0,05$ i $n = 3$. Porównano parami średnie liczby bakterii mezofilnych, pleśni, drożdży, bakterii tworzących śluz i przetrwalników bakterii termofilnych tlenowych przed ozonowaniem i 10, 15, 20 i 30 min po ozonowaniu. W ten sam sposób porównano parametry fizykochemiczne istotne dla procesu technologicznego produkcji cukru (zawartość: suchej masy, sacharozy, związków redukujących, popiołu oraz azotu α -aminokwasowego, ponadto czystość, pH, zabarwienie i kwasowość). Do obliczeń wykorzystano program Microsoft Excel 2010.

Omówienie wyników

Ozonowanie soku surowego dawką $1 \text{ dm}^3 \cdot \text{min}^{-1}$ przez 30 min zredukowało liczbę bakterii mezofilnych o 3 log, liczbę drożdży o 0,65 log, liczbę bakterii tworzących

śluzy o 0,75 log, liczbę przetrwalników bakterii termofilnych tlenowych o 1,35 log i liczbę pleśni o 0,12 log (tab. 1).

Tabela 1. Liczba drobnoustrojów w soku surowym przed ozonowaniem i po ozonowaniu dawką ozonu $1 \text{ dm}^3 \cdot \text{min}^{-1}$

Table 1. Count of microorganisms in raw juice before and after ozonation with ozone dose of $1,0 \text{ dm}^3 \cdot \text{min}^{-1}$

Grupa drobnoustrojów Group of microorganisms	Sok surowy przed ozonowaniem Raw juice before ozonation	Sok surowy po ozonowaniu Raw juice after ozonation		
		Czas ozonowania / Duration time of ozonation [min]		
		5	15	30
log [jtk/ml] / log [cfu/ml]				
Bakterie mezofilne Mesophilic bacteria	7,64	7,15	5,15	4,64
Pleśnie / Moulds	2,65	2,38	2,69	2,53
Drożdże / Yeasts	4,30	4,08	3,74	3,65
Bakterie tworzące śluzy Slime-forming bacteria	2,86	2,59	2,74	2,11
Przetrwalniki bakterii termofilnych tlenowych Spores of thermophilic aerobic bacteria	3,30	2,48	1,88	1,95

Na skutek ozonowania w soku surowym wzrosła zawartość sacharozy (o 6,5 %), a zmniejszyło się zabarwienie (o 65,4 %), zawartość związków redukujących (o 17,1 %) i kwasowość (o 78 %). Zaobserwowano także obniżenie wartości takich parametrów, jak: pH, zawartość popiołu, azotu α -aminokwasowego i sodu (tab. 2).

W kolejnym doświadczeniu zwiększono przepływ ozonu do $4,5 \text{ dm}^3 \cdot \text{min}^{-1}$. Uzyskane wyniki przedstawiono w tab. 3 i 4. Wyniki analiz mikrobiologicznych wykazały, że wydłużenie czasu ozonowania zwiększyło redukcję liczby bakterii mezofilnych (o 4,34 log), drożdży (o 1,72 log), bakterii tworzących śluzy (o 1,81 log) i przetrwalników bakterii termofilnych tlenowych (o 0,96 log). Liczba pleśni obniżyła się o 0,66 log po 20 minutach, a następnie zwiększyła się po 25 i 30 min ozonowania.

Tabela 2. Właściwości fizykochemiczne soku surowego przed ozonowaniem i po ozonowaniu dawką ozonu $1 \text{ dm}^3 \cdot \text{min}^{-1}$ Table 2. Physicochemical properties of raw juice before and after ozonation using ozone dose of $1 \text{ dm}^3 \cdot \text{min}^{-1}$

Parametr Parameter	Jednostka Unit	Sok surowy przed ozonowaniem Raw juice before ozonation	Sok surowy po ozono- waniu przez 30 min Raw juice after 30 min ozonation
Zawartość suchej masy Content of dry matter	[%]	16,3	16,2
Zawartość sacharozy Content of sucrose		13,8	14,7
Czystość / Purity quotient		84,7	90,7
pH	-	5,4	5,2
Zabarwienie / Colour	[IU ₅₆₀]	89153	30879
Zawartość popiołu kon- duktometrycznego Content of conductivity ash	[%]	0,49	0,48
Zawartość związków re- dukujących (inwertu) Content of reducing com- pounds (invert sugar)		0,35	0,29
Kwasowość / Acidity	[g CaO · 100 ml ⁻¹]	0,050	0,011
Zawartość azotu α -aminokwasowego Content of α -aminoacid ni- trogen	[%]	0,019	0,008
Zawartość azotu amidowego i amoniakalnego Content of amido and amido nitrogen		0,013	0,014
Zawartość azotu białkowego Content of protein nitrogen		0,010	0,040
Zawartość azotu ogólnego Content of total nitrogen		0,110	0,120
Zawartość sodu Content of sodium		0,060	0,051
Zawartość potasu Content of potassium		0,155	0,163

Tabela 3. Liczba drobnoustrojów w soku surowym przed ozonowaniem i po ozonowaniu dawką ozonu $4,5 \text{ dm}^3 \cdot \text{min}^{-1}$
 Table 3. Count of microorganisms in raw juice before and after ozonation using ozone dose of $4.5 \text{ dm}^3 \cdot \text{min}^{-1}$

Grupa drobnoustrojów Group of microorganisms	Sok surowy przed ozonowaniem Raw juice before ozonation	Sok surowy po ozonowaniu Raw juice after ozonation					
		Czas ozonowania / Times ozonation [min]					
		5	10	15	20	25	30
log [jtk/ml] / log [cfu/ml]							
Bakterie mezofilne Mesophilic bacteria	8,38	4,38	4,32	6,76	4,00	3,95	4,04
Pleśnie Moulds	2,89	2,74	2,78	2,60	2,23	3,00	3,04
Drożdże Yeasts	4,46	4,56	4,43	4,32	2,70	3,18	2,74
Bakterie tworzące śluzy Slime-forming bacteria	3,59	3,59	3,59	4,90	1,78	2,11	1,78
Przetrwalniki bakterii termofilnych tlenowych Spores of thermophilic aerobic bacteria	2,26	2,18	2,15	1,48	2,00	1,70	1,30

Stwierdzono, że ozonowanie soku surowego w ilości $4,5 \text{ dm}^3 \cdot \text{min}^{-1}$ wpłynęło na jego kwasowość, zawartość związków redukujących i zabarwienie. Kwasowość obniżyła się o 50 % po 20 min ozonowania, zawartość związków redukujących zmniejszyła się o ok. 44 % również po 20 min. Zabarwienie soku surowego zmniejszało się stopniowo i dopiero po 30 min ozonowania uległo redukcji o 28,5 %. W przypadku kwasowości i zawartości związków redukujących przedłużenie czasu ozonowania soku surowego z 20 do 25 i 30 min nie zwiększyło ich redukcji. Zaobserwowano w soku surowym ozonowanym zmniejszenie zawartości popiołu, azotu α -aminokwasowego, białkowego i ogólnego.

Doświadczenia z zastosowaniem ozonu w ilości 1 i $4,5 \text{ dm}^3 \cdot \text{min}^{-1}$ przeprowadzono jednokrotnie, co mogło mieć wpływ na uzyskane wyniki (brak monotoniczności wyników). Zaobserwowano jednak wpływ ozonu na obniżenie się liczby większości grup drobnoustrojów oraz zmniejszenie intensywności zabarwienia, związków redukujących (inwertu) i kwasowości.

Tabela 4. Właściwości fizykochemiczne soku surowego przed ozonowaniem i po ozonowaniu dawką ozonu $4,5 \text{ dm}^3 \cdot \text{min}^{-1}$ Table 4. Physicochemical properties of raw juice before and after ozonation using ozone dose of $4.5 \text{ dm}^3 \cdot \text{min}^{-1}$

Parametr Parameter	Jednostka Unit	Sok surowy przed ozonowaniem Raw juice before ozonation	Sok surowy po ozonowaniu Raw juice after ozonation					
			Czas ozonowania / Duration time of ozonation [min]					
			5	10	15	20	25	30
Zawartość suchej masy Content of dry matter	[%]	16,2	16,3	16,2	16,2	16,2	16,3	16,3
Zawartość sacharozy Content of sucrose		13,9	13,9	13,9	14,0	14,0	14,0	14,0
Czystość Purity quotient		85,8	85,3	85,8	86,4	86,4	85,9	85,9
pH	-	4,8	5,0	5,0	5,0	5,0	4,9	5,0
Zabarwienie / Colour	[IU ₅₆₀]	18151	17120	17885	16956	14094	13301	12969
Zawartość popiołu kondukt. Content of conductivity ash	[%]	0,51	0,49	0,48	0,47	0,48	0,48	0,48
Zawartość związków redukcujących (inwertu) Content of reducing com- pounds (invert sugar)		0,82	0,86	0,75	0,74	0,46	0,46	0,47
Kwasowość / Acidity	[g CaO· 100 ml ⁻¹]	0,108	0,084	0,068	0,058	0,052	0,052	0,056
Zawartość azotu α -amino-kwasowego Content of α -aminoacid nitrogen	[%]	0,018	0,019	0,013	0,018	0,016	0,017	0,016
Zawartość azotu amidowe- go i amoniakalnego Content of amido and ammonia nitrogen		0,011	0,011	0,012	0,012	0,013	0,013	0,013
Zawartość azotu białkowego Content of protein nitrogen		0,012	-	-	-	-	-	0,010
Zawartość azotu ogólnego Content of total nitrogen		0,12	0,010	-	0,01	-	0,11	0,11
Zawartość sodu Content of sodium		0,033	0,038	0,034	0,030	0,038	0,042	0,037
Zawartość potasu Content of potassium		0,128	0,143	0,142	0,127	0,132	0,142	0,148

W następnym doświadczeniu dawkę ozonu zwiększono do $7,0 \text{ dm}^3 \cdot \text{min}^{-1}$, a czas ozonowania wyniósł [min]: 10, 15, 20, 30. Badania przeprowadzono trzykrotnie. Średnie wartości analizowanych parametrów przedstawiono w tab. 5 i 6.

Tabela 5. Liczba drobnoustrojów w soku surowym przed ozonowaniem i po ozonowaniu dawką ozonu $7 \text{ dm}^3 \cdot \text{min}^{-1}$

Table 5. Count of microorganisms in raw juice before and after ozonation using ozone dose of $7 \text{ dm}^3 \cdot \text{min}^{-1}$

Grupa drobnoustrojów Group of microorganisms	Sok surowy przed ozonowaniem Raw juice before ozonation	Sok surowy po ozonowaniu Raw juice after ozonation			
		Czas ozonowania / Duration time of ozonation [min]			
		10	15	20	30
log [jtk/ml] / log [cfu/ml]					
Bakterie mezofilne Mesophilic bacteria	$7,18 \pm 0,37$	$5,21 \pm 0,18^*$	$4,88 \pm 0,23^*$	$4,36 \pm 0,13^*$	$4,15 \pm 0,06^*$
Pleśnie Moulds	$2,97 \pm 0,26$	$3,19 \pm 0,11$	$3,01 \pm 0,21$	$2,86 \pm 0,42$	$2,52 \pm 0,25$
Drożdże Yeasts	$3,51 \pm 0,28$	$3,34 \pm 0,11$	$2,73 \pm 0,18^*$	$2,38 \pm 0,11^*$	$1,35 \pm 1,17^*$
Bakterie tworzące śluzę Slime-forming bacteria	$5,54 \pm 0,22$	$3,77 \pm 0,66^*$	$3,26 \pm 0^*$	$2,41 \pm 0,21^*$	$2,28 \pm 0,11^*$
Przetrwalniki bakterii termofilnych tlenowych Spores of thermophilic aerobic bacteria	$3,41 \pm 0,47$	$2,45 \pm 0,64$	$2,15 \pm 0,21^*$	$2,26 \pm 0,25^*$	$2,22 \pm 0,38^*$

Objaśnienia:/ Explanatory notes:

W tabeli przedstawiono wartości średnie \pm odchylenia standardowe / Table shows mean values and standard deviations. Wartości średnie oznaczone gwiazdką różnią się statystycznie istotnie (w porównaniu z wynikami soku surowego przed ozonowaniem) przy $p \leq 0,05$ / Mean values denoted by asterisk differ statistically significantly (compared to the results for the raw juice before ozonation) at $p \leq 0.05$; $n = 3$.

Tabela 6. Właściwości fizykochemiczne soku surowego przed i po ozonowaniu dawką ozonu $7,0 \text{ dm}^3 \cdot \text{min}^{-1}$ Table 6. Physicochemical properties of raw juice before and after ozonation using ozone dose of $7.0 \text{ dm}^3 \cdot \text{min}^{-1}$

Parametr Parameter	Jednostka Unit	Sok surowy przed ozono- waniem Raw juice before the ozonation	Sok surowy po ozonowaniu Raw juice after ozoning			
			Czas ozonowania / Duration time of ozona- tion [min]			
			10	15	20	30
Zawartość suchej substancji Content of dry matter	[%]	17,17 ± 0,61	16,9 ± 0,29	16,9 ± 0,45	16,9 ± 0,25	16,87 ± 0,31
Zawartość sacharozy Content of sucrose		15,54 ± 0,41	15,3 ± 0,44	15,2 ± 0,37	15,1 ± 0,49	15,40 ± 0,26
Czystość / Purity quotient		90,37 ± 0,95	90,5 ± 1,29	89,9 ± 2,15	89,3 ± 0,98	90,3 ± 2,45
pH	-	5,67 ± 0,12	5,4 ± 0,22	5,4 ± 0,19	5,4 ± 0,13	5,3 ± 0,1*
Zabarwienie / Colour	[IU ₅₆₀]	27586 ± 4209	23808 ± 4010	22345 ± 3808	20604 ± 1155	17963 ± 960*
Zawartość popiołu konduktometrycznego Content of conductivity ash	[%]	0,44 ± 0,02	0,44 ± 0,03	0,45 ± 0,01	0,45 ± 0,04	0,45 ± 0,03
Zawartość związków redukujących (inwertu) Content of reducing compounds (invert sugar)		0,44 ± 0,12	0,34 ± 0,13	0,36 ± 0,09	0,30 ± 0,07	0,36 ± 0,09
Kwasowość / Acidity	[g CaO· 100 ml ⁻¹]	0,049 ± 0,017	0,040 ± 0,019	0,039 ± 0,013	0,036 ± 0,010	0,041 ± 0,014
Zawartość azotu α -aminokwasowego Content of α -aminoacid nitrogen	[%]	0,019 ± 0,002	0,020 ± 0,003	0,018 ± 0,001	0,015 ± 0,004	0,020 ± 0,002
Zawartość azotu amidowego i amoniakalnego Content of amido and ammonia nitrogen		0,014	0,014	0,014	0,014	0,014
Zawartość azotu białkowego Content of protein nitrogen		0,020	0,020	0,019	0,019	0,019
Zawartość azotu ogólnego Content of total nitrogen		0,11	0,11	0,12	0,011	0,11
Zawartość sodu content Content of sodium		0,063	0,050	0,038	0,031	0,031
Zawartość potasu Content of potassium		0,148	0,144	0,169	0,187	0,187

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

Liczba bakterii mezofilnych i bakterii wytwarzających śluz zmniejszyła się w sposób statystycznie istotny po 10, 15, 20 i 30 min ozonowania. Zaobserwowano także statystycznie istotną różnicę w odniesieniu do liczby drożdży i przetrwalników bakterii termofilnych tlenowych po 15, 20 i 30 min ozonowania. Liczba pozostałych grup drobnoustrojów zmniejszyła się w niewielkim stopniu (o ok. 1 log). Nie stwierdzono statystycznie istotnego wpływu ozonowania na zawartość związków redukujących i kwasowość. Wraz z wydłużaniem czasu ozonowania odczyn (pH) soku surowego obniżył się z 5,8 do 5,2, co mogło być przyczyną zmniejszenia zawartości sacharozy. Kwasowość soku zmniejszyła się maksymalnie o 26,5 % po 20 min. Intensywność zabarwienia zmniejszyła się o 35,0 % po 30 min, a ilość związków redukujących – o 40 % po 20 min.

Przeprowadzone w skali laboratoryjnej badania nad ozonowaniem soku surowego umożliwiły wykazanie, że ozon w zastosowanych dawkach nie obniżył w istotny sposób liczby drobnoustrojów. W przetwórstwie spożywczym poziom redukcji drobnoustrojów w wyniku prawidłowego działania środka dezynfekcyjnego powinien wynosić co najmniej 4 log dla bakterii i 3 log dla grzybów. Żadna z zastosowanych dawek nie spełniła tego wymogu. Nie wykazano wpływu ozonowania na takie składniki soku surowego, jak zawartość: suchej masy (Bx) sacharozy, związków mineralnych w postaci popiołu, związków azotowych oraz metali: Na i K. Stwierdzono interakcje pomiędzy zawartością związków redukujących, kwasowością i zabarwieniem a dawką ozonu. Intensywność zabarwienia zmniejszyła się maksymalnie o 35,0 % przy 30-minutowym przepływie ozonu w ilości $7 \text{ dm}^3 \cdot \text{min}^{-1}$. Kwasowość uległa redukcji o 52 % przy dawce $4,5 \text{ dm}^3 \cdot \text{min}^{-1}$ i czasie ozonowania wynoszącym 20 min. Dalsze wydłużenie czasu ozonowania do 30 min przy przepływie $1,0$ i $7,0 \text{ dm}^3 \cdot \text{min}^{-1}$ spowodowało tylko niewielkie zmniejszenie kwasowości soku surowego w granicach $16 \div 26,5$ %. Zawartość związków redukujących w soku surowym zmniejszyła się maksymalnie o 44 % podczas 20-minutowego ozonowania przy przepływie gazu $4,5 \text{ dm}^3 \cdot \text{min}^{-1}$. Niska skuteczność zastosowanych dawek ozonu może wynikać z obecności dużej ilości substancji organicznych w soku surowym. Analiza statystyczna badań fizykochemicznych wykazała statystycznie istotne różnice w przypadku wartości pH i zabarwienia.

Wnioski

1. W przeprowadzonych badaniach wykazano częściowe zmiany w składzie chemicznym i zanieczyszczeniu mikrobiologicznym soku surowego pod wpływem stosowania różnych dawek ozonu.
2. Zastosowana w badaniach najwyższa dawka ozonu wynosząca $7 \text{ dm}^3 \cdot \text{min}^{-1}$ obniżyła w soku surowym liczbę bakterii mezofilnych i bakterii tworzących śluz o ok. 3 log, drożdży – o 2,2 log, a pleśni – o 0,45 log.

3. Wśród badanych składników soku surowego zmiany dotyczyły tylko kwasowości, zabarwienia i zawartości związków redukujących. Maksymalna zastosowana dawka ozonu wpłynęła na zmniejszenie zawartości związków redukujących o 40 % po 20 min ozonowania, zabarwienia – o 34,9 % po 30 min i kwasowości – o 16 % po 30 min.

Publikacja została zrealizowanych w ramach tematu pt. „Określenie wpływu ozonowania soku dyfuzyjnego na jego jakość chemiczną i mikrobiologiczną”, Etap roczny I: „Porównanie parametrów fizykochemicznych i mikrobiologicznych soku dyfuzyjnego przed i po ozonowaniu”, finansowanego przez Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego.

Literatura

- [1] Anonim: E2O3 – Ozone Sugar Decolorization System. Dostęp w Internecie [11.05.2015]: <http://www.e2ps.com.br/site/ingles/ozonio.htm>
- [2] Butwiłowicz A.: Metody analityczne kontroli produkcji w cukrowniach. Instytut Przemysłu Cukrowniczego, Warszawa 1997.
- [3] Duffant E., Godshall M., Grimm C.: Ozone treatment for off odors in sugar. Sugar Journal, 2003, **66**, 14-21
- [4] Fernandez L.A., Bataller M., Perez Rey R., Véliz E., Hernández C., Alvarez C.: Use of ozone in the decolorization of sugar industry liquors. Ozone: Sci. Eng.: J. Inter. Ozone Assoc., 2006, **28** (4), 261-267.
- [5] Godshall M.A., McKee M.: Effect of ozone, hydrogen peroxide and sulfite on cane and beet macromolecules. Proc. Conf. Sugar Processing Res., New Orleans, 2004, pp. 111-127.
- [6] Grabka J., Miłek L., Śmigielski K.: Zastosowanie ozonu do odbarwiania klarówek. Gazeta Cukrownicza, 2004, **9**, 251-254.
- [7] Grabka J., Miłek L., Śmigielski K.: Termiczne kondycjonowanie i krystalizacja cukru z syropów odbarwianych ozonem. Gazeta Cukrownicza, 2006, **8**, 243-245.
- [8] Gruszecka H., Strębska J., Sumińska T.: Przebieg reakcji Maillarda w modelowych roztworach cukrowniczych. Gazeta Cukrownicza, 2002, **5**, 120-128.
- [9] Kryża K., Bielowiec P., Szczepanik G., Błaszkiwicz P.: Zastosowanie techniki ozonowania w przechowywalnictwie żywności. Rol. Mag. Elektron. CBR. Dostęp w Internecie [11.05.2015]: <http://rme.cbr.net.pl/index.php/archiwum-rme/29-maj-czerwiec-nr-43/wiadomosci-rolnicze/35-zastosowanie-techniki-ozonowania-w-przechowalnictwie-zywnosci>
- [10] Madho S., Davis S.B.: Review of proven technologies available for the reduction of raw sugar colour. Proc. S. Afr. Sug. Technol. Ass., 2008, **81**, 165-183. Dostęp w Internecie [11.05.2015]: <http://www.sasta.co.za/wp-content/uploads/essential%20reading/Factory/2008%20Madho,%20A%20review%20of%20proven%20technologies%20for%20the%20removal%20of%20colour.pdf>
- [11] Miłek L.: Podwyższanie jakości syropów cukrowniczych przez zastosowanie utleniaczy do ich odbarwienia. Rozprawa doktorska, Politechnika Łódzka, Wydział Biotechnologii i Nauki o Żywności, 2007.
- [12] Moodley M., Davis S.B., Adendorff M.: Full scale decolourisation trials with ozone. Inter. Sugar J., 1999, **101**, 165-171.

- [13] Waleriańczyk E., Żero M.: Rola i znaczenie procesu ekstrakcji w aspekcie intensywności tworzenia się substancji barwnych w produktowni. Cz. I. *Gazeta Cukrownicza*, 2000, **11/12**, 213-218.
- [14] Waleriańczyk E., Żero M.: Rola i znaczenie procesu ekstrakcji w aspekcie intensywności tworzenia się substancji barwnych w produktowni. Cz. II. *Gazeta Cukrownicza*, 2002, **2**, 38-46.
- [15] Żero M.: Zagadnienia przyrostu zabarwienia syropów cukrowych w warunkach fabrycznych. *Gazeta Cukrownicza*, 2001, **4**, 69-72.

MICROBIOLOGICAL AND PHYSICOCHEMICAL PARAMETERS OF RAW SUGAR BEETS JUICE BEFORE AND AFTER OZONATION

Summary

The objective of the research study was to determine the effect of ozonising raw juice obtained from sugar beet on its chemical composition and microbiological contamination. The research material were samples of raw juice from sugar beets harvested during a 2014 sugar campaign. The following parameters of the ozonation process of raw juice were applied: time: from 5 to 30 min; flow of ozone: 1.0, 4.5, and 7 dm³·min⁻¹; temperature of juice: approx. 18 °C; sample volume: 500 ml. The ozone concentration in the mixture of air and ozone was 11 mg·dm⁻³ on average. The research showed that the ozone applied in a dose of 7 dm³·min⁻¹ reduced the count of mesophilic bacteria by 4 log, the count of slime-forming bacteria by 3.3 log, the count of yeast by 2.6 log, the count of thermophilic aerobic spore-forming bacteria by 1.2 log, and the count of moulds by 0.5 log. A statistically significant ($p \leq 0.05$) difference was confirmed only in the case of the count of mesophilic bacteria where the application of ozone in a dose of 7 dm³·min⁻¹ lasted 30 min. No effect of ozone was confirmed on the content of the following ingredients in the raw juice: dry matter of sucrose, mineral compounds in the form of ash, nitrogen compounds, and metals: Na and K. Changes were found in the case of the content of reducing compounds (invert sugar), acidity, and colour. The maximum decrease in the intensity of the juice colour was 35 % when ozone was applied in a dose of 7 dm³·min⁻¹ during 30 min. period. The reduction in the acidity was 52 % for the ozone dose of 4.5 dm³·min⁻¹ during 20 min. lasting ozonation. The application of ozone in a dose of 1.0 and 7.0 dm³·min⁻¹ during a prolonged 30 min. lasting ozonation period did not significantly impact the decrease in the acidity of raw juice. The content of reducing compounds decreased 44 % during 20 min. ozonation at a gas flow rate of 4.5 dm³·min⁻¹.

Key words: sugar beets, raw juice, colour of juice, ozonation, dose, reduction ☒

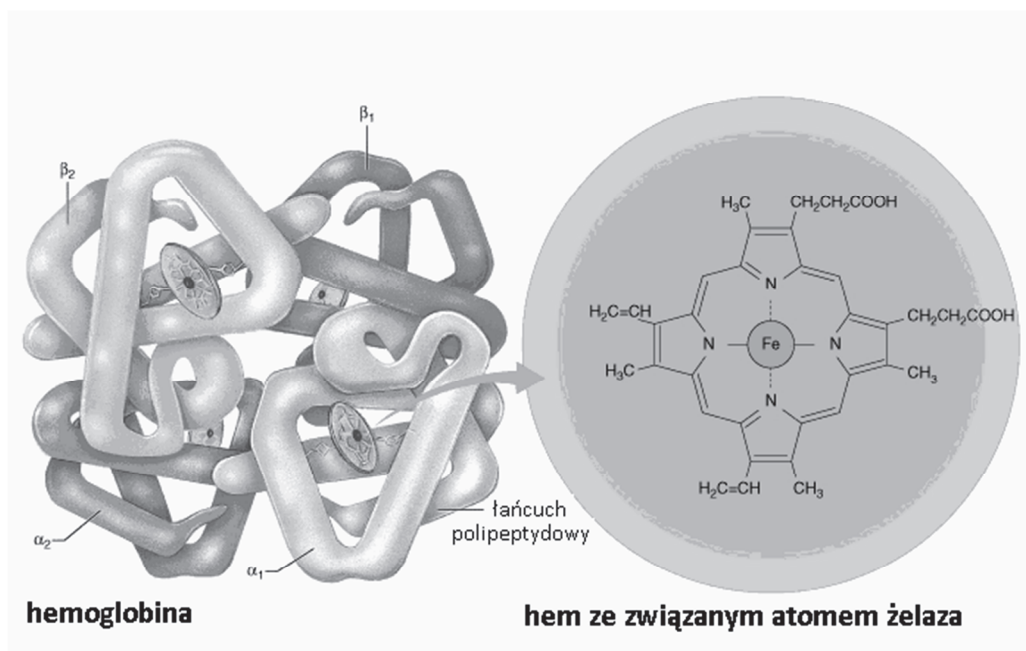
HENRYK KOSTYRA, ELŻBIETA KOSTYRA, DAGMARA ŻŁOTKOWSKA

CHEMIA BIONIEORGANICZNA I BIOORGANICZNA ŻYWNOŚCI

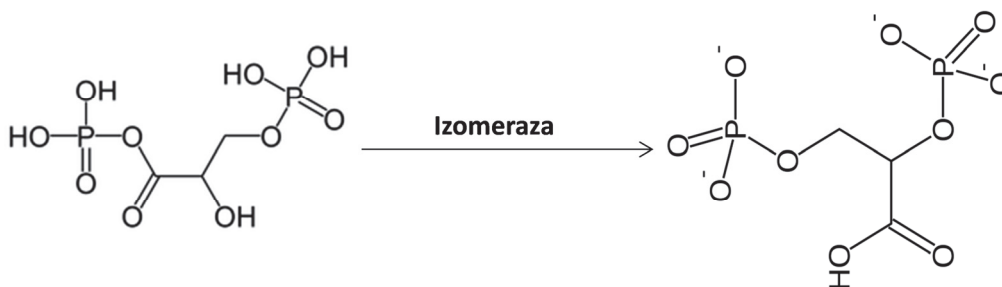
Prezentujemy 3. część cyklu nt. „Chemia bionieorganiczna i bioorganiczna żywności”. Druk materiałów z tego cyklu rozpoczęliśmy w Żywności nr 1 (104), 2016.

Hemoglobina będąca składnikiem krwi jest przykładem ewolucji molekuly bioorganicznej umożliwiającej życie organizmom w warunkach tlenowych (rys. 1). To dzięki krwi przenoszącej tlen za pomocą hemoglobiny pokarmy spożyte i zmetabolizowane w komórkach organizmu człowieka są źródłem niezbędnej do życia energii. Oznacza to, że tlen stanowi jeden z podstawowych składników naszego środowiska naturalnego i większość organizmów nie potrafi bez niego żyć. Hemoglobina oczyszczona w porównaniu z hemoglobina erytrocytów wykazuje większe powinowactwo do tlenu. Powstaje więc pytanie, czy zdolność hemoglobiny do wiązania tlenu jest modulowana przez jakieś cząsteczki regulatorowe, a jeżeli tak, to jaki jest mechanizm ich działania? W istocie tak jest, a tą cząsteczką regulatorową jest 2,3-bisfosfoglicerynian (2,3-BPG), który powstaje w organizmie człowieka z pośredniego produktu glikolizy, jakim jest 1,3-bisfosfoglicerynian (rys. 2). 2,3-BPG jest związkiem silnie anionowym. Pojedyncza cząsteczka 2,3-BPG wiąże się z centrum tetrameru hemoglobiny w kieszeni deoksyhemoglobiny, co potwierdza różnice konformacyjne pomiędzy utlenowaną i odtlenowaną hemoglobina. Oddziaływania te ułatwiają wiązania jonowe między naładowanymi częściami 2,3-BPG i trzema naładowanymi dodatkowo resztami aminokwasowymi każdej białkowej podjednostki β hemoglobiny (rys. 3). Prowadzi to do uwolnienia tlenu z hemoglobiny. Warto przypomnieć, że mechanizm działania cząsteczki

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.

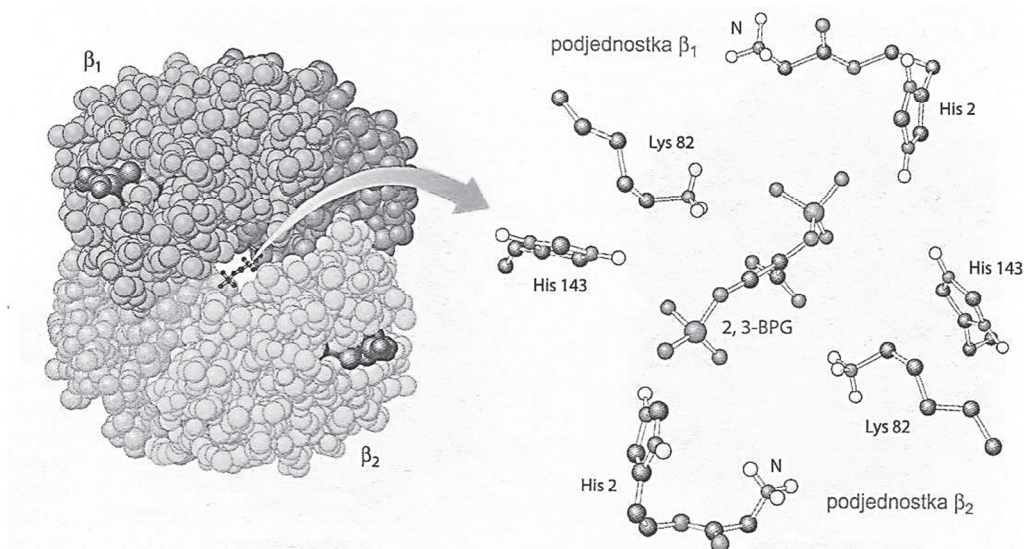


Rys. 1. Obraz graficzny hemoglobiny.



Rys. 2. Izomeryzacja 1,3-bisfosfoglicerynianu (produkt glikolizy) do 2,3-bisfosfoglicerynianu.

regulatorowej, 2,3-BPG, polega na działaniu allosterycznym. Działanie to nie przebiega zgodnie z kinetyką działania enzymów, natomiast zależne jest od środowiska. Spróbujmy odnieść ten fakt do człowieka pokonującego różne uwarunkowania środowiskowe. Podczas wspinaczki w górach, wraz ze zwiększającą się wysokością n.p.m. człowiek początkowo odczuwa ból w klatce piersiowej związany ze zmniejszającym się stężeniem tlenu w środowisku, a więc jego dostępnością dla hemoglobiny. To zjawisko przemija po okresie adaptacji do nowych warunków, trwającej od kilku dni do paru miesięcy, w zależności od pokonywanej wysokości. Z czym to jest związane w biochemicznym układzie organizmu człowieka? W okresie aklimatyzacji następuje



Rys. 3. Sposób wiązania 2,3-bisfosfoglicerynianu z deoksyhemoglobina ludzką.

wzrost stężenia czerwonych krwinek we krwi oraz stężenia 2,3-BPG. Efektem tego jest wzrost wiązania 2,3-BPG do hemoglobiny, co sprzyja większemu uwalnianiu z niej tlenu, czyli dotlenieniem organizmu człowieka. Czy można ten proces oddzielić od żywienia? Na pewno nie! Dociekliwy czytelnik nie do końca jest usatysfakcjonowany tematem. I słusznie. Zanim człowiek zetknie się ze środowiskiem naturalnym przebywa w niezwykle sprzyjającym mu środowisku wód płodowych matki. Płód uzyskuje tlen z hemoglobiny matki, a nie z powietrza. Oznacza to, że jego hemoglobina musi mieć duże powinowactwo do tlenu. Powstaje więc pytanie, w jaki sposób dochodzi do zwiększenia powinowactwa hemoglobiny płodowej do tlenu? Ten problem rozwiązała genetyka ewolucyjna. Tetramer hemoglobiny płodowej obejmuje dwa łańcuchy α i dwa łańcuchy γ (nie β). Łańcuch γ ma sekwencję aminokwasową identyczną w 72 % z sekwencją łańcucha β hemoglobiny dorosłego człowieka. Jedną z wartych uwagi zmian jest zmiana reszty seryny na histydynę 143 w łańcuchu γ . Zmiana ta eliminuje wiązania 2,3-BPG dwa ładunki dodatnie i zmniejsza powinowactwo hemoglobiny płodowej do 2,3-BPG (rys. 3).

Ten odcinek powinien uzmysłwić nam, że nauka o żywności i żywieniu człowieka jest procesem dynamicznym i zależnym od globalnej genetyki człowieka. ☒

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 maja 2016 r.

Polskie akty prawne

1. Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dn. 21 marca 2016 r. w sprawie szczegółowych warunków uznania działalności marginalnej, lokalnej i ograniczonej (Dz. U. 2016 r., poz. 451).

Rozporządzenie określa:

- szczegółowe warunki pozwalające na uznanie działalności za działalność marginalną, lokalną i ograniczoną, w tym zakres i obszar produkcji, a także wielkość dostaw produktów pochodzenia zwierzęcego do zakładów prowadzących handel detaliczny z przeznaczeniem dla konsumenta końcowego,
- wymagania weterynaryjne, jakie powinny być spełnione przy prowadzeniu działalności marginalnej, lokalnej i ograniczonej.

Akt prawny wchodzi w życie z dniem 1 czerwca 2016 r., a traci moc prawną rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 8 czerwca 2010 r. w sprawie szczegółowych warunków uznania działalności marginalnej, lokalnej i ograniczonej (Dz. U. 2010 r., poz. 753).

2. Rozporządzenie Ministra Gospodarki Morskiej i Żeglugi Śródlądowej oraz Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dn. 19 kwietnia 2016 r. w sprawie sposobu i form współdziałania okręgowych inspektorów rybołówstwa morskiego oraz Inspekcji Jakości Handlowej Artykułów Rolno-Spożywczych przy dokonywaniu kontroli produktów rybnych (Dz. U. 2016 r., poz. 630).

Rozporządzenie określa sposób i formy:

- współdziałania okręgowych inspektorów rybołówstwa morskiego i Inspekcji Jakości Handlowej Artykułów Rolno-Spożywczych przy dokonywaniu kontroli produktów rybnych, w tym przekazywania informacji o nieprawidłowościach dotyczących produktów rybołówstwa, w zakresie kategorii wielkości i kategorii świeżości oraz identyfikowalności,
- organizowania wspólnych kontroli produktów rybnych.

Unijne akty prawne

1. Rozporządzenie Wykonawcze Komisji (UE) 2016/635 z dn. 22 kwietnia 2016 r. zmieniające załącznik do rozporządzenia (WE) nr 2870/2000 w odniesieniu do niektórych metod referencyjnych dla analizy napojów spirytusowych (Dz. Urz. UE L 2016 r., Nr 108, s.1).

W nowym, zmienionym załączniku do rozporządzenia wprowadzono m.in. opis metody oznaczania kwasowości lotnej i łącznej zawartości cukrów w napojach spirytusowych.

2. Rozporządzenie Komisji (UE) 2016/637 z dn. 22 kwietnia 2016 r. zmieniające załącznik I do rozporządzenia Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 1334/2008 w odniesieniu do usunięcia z unijnego wykazu niektórych substancji aromatycznych (Tekst mający znaczenie dla EOG) (Dz. Urz. UE L 2016 r., Nr 108, s.24).

W nowym załączniku I do rozporządzenia zostały wykreślone z unijnego wykazu niektórych substancji aromatycznych dodawanych do środków spożywczych następujące pozycje:

- 05.121 – aldehyd 2,6,6-trimetylo-1-cyklohekseno-1-karboksylowy,
- 09.272 – mrówczan mirtenyłu,
- 09.899 – 2-metylomaślan myrtenyłu,
- 09.900 – 3-metylomaślan myrtenyłu.

3. Rozporządzenie Komisji (UE) 2016/691 z dn. 4 maja 2016 r. zmieniające załącznik II do rozporządzenia Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 1333/2008 w odniesieniu do stosowania dodatków do żywności w kazeinianach spożywczych (Tekst mający znaczenie dla EOG) (Dz. Urz. UE L 2016 r., Nr 120, s.4).

Załączniku II do rozporządzenia dotyczy wykazu dodatków do żywności dopuszczonych do stosowania w żywności oraz warunków ich stosowania. Wprowadzona zmiana dotyczy „01.9 – Kazeiniany spożywcze”.

4. Rozporządzenie Komisji (UE) 2016/692 z dn. 4 maja 2016 r. zmieniające załącznik I do rozporządzenia Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 1334/2008

w odniesieniu do niektórych substancji aromatycznych (Tekst mający znaczenie dla EOG) (Dz. Urz. UE L 2016 r., Nr 120, s.7).

Załączniku I do rozporządzenia zawiera unijny wykaz środków aromatyzujących i materiałów źródłowych dopuszczonych do stosowania w oraz na środkach spożywczych oraz warunki ich stosowania. Wprowadzona zmiana dotyczy dodania do tego wykazu siedmiu nowych substancji, tj. 2-acetylotiofenu, 2-butylofenu, aldehydu 5-etylotiofeno-2-karboksyowego, 2-heksylofenu, 2-oktylofenu, 2-pentylofenu i 2-propionylotiofenu. ☒

NOWE KSIĄŻKI

Bakery Products Science and Technology

[Produkty piekarskie – nauka i technologia]

Weibiao Zhou, Y. H. Hui

Wydawnictwo: Wiley-Blackwell 2014, Wyd. II, ISBN 978-1-119-9671-5-6, stron 776, cena 250.00 EUR

Zamówienia: <http://eu.wiley.com>

Książka jest drugim, poprawionym wydaniem obejmującym zagadnienia związane z nauką i technologią piekarstwa. Kompleksowo ujęto zagadnienia dotyczące zarówno chleba, jak i różnych produktów piekarskich z całego świata. Zakres tematyczny publikacji obejmuje: surowce, składniki i dodatki funkcjonalne, szczegóły procesu technologicznego i kontroli międzyoperacyjnej. Omówiono również aspekty żywieniowe oraz zagadnienia związane z przetwarzaniem, kontrolą jakości, w tym oceną sensoryczną oraz systemami pakowania. Połączenie aspektów technologii piekarstwa z najnowszymi wynikami badań naukowych powoduje, że pozycja będzie przydatna dla technologów, naukowców i studentów.

Emulsifiers in Food Technology

[Emulgatory w technologii żywności]

Viggo Norn

Wydawnictwo: Wiley-Blackwell 2015, Wyd. II, ISBN 978-0-470-6706-3-7, stron 360, cena 162.50 EUR

Zamówienia: <http://eu.wiley.com>

Emulgatory są niezbędnymi składnikami wielu przemysłowych produktów żywnościowych. Mają one zdolność do działania na granicy faz, a więc mogą stabilizować mieszaninę oleju i wody w takich produktach, jak: majonez, lody, sosy do sałatek. Mogą one również stabilizować układy typu gaz - ciecz w piankach. Ponadto są w coraz większym stopniu stosowane do modyfikacji tekstury i właściwości sensorycznych, w zwiększaniu stabilności przechowalniczej oraz kompleksowaniu lub stabilizacji innych składników, takich jak skrobia lub białka. W drugim wydaniu publikacji, w zmienionej i uaktualnionej formie, opisano emulgatory spożywcze w aspekcie ich

funkcjonalności, a także właściwości fizykochemicznych, technologii, statusu prawnego i stosowania. W każdym z rozdziałów przedstawiono jedną z głównych grup emulgatorów spożywczych, ich charakterystykę i przykłady zastosowania. W załączniku opracowania zamieszczono spis emulgatorów stosowanych w żywności, z ich głównym zastosowaniem, numerem E, międzynarodową nazwą i jej synonimami oraz odwołaniem do metod i standardów analitycznych.

Understanding Wine Chemistry

[Zrozumienie chemii wina]

Andrew L. Waterhouse, Gavin L. Sacks, David W. Jeffery

Wydawnictwo: Wiley-Blackwell 2016, ISBN 978-1-118-7307-0-6, stron 472, cena 95.99 EUR

Zamówienia: <http://eu.wiley.com>

W książce scharakteryzowano związki występujące w winie, ich podstawowe właściwości chemiczne oraz wpływ na stabilność i właściwości sensoryczne wina. Szczegółowo omówiono mechanizm reakcji chemicznych i biochemicznych, które są podstawą procesu produkcji wina. Opracowanie zawiera ponadto studia przypadków, w których wskazano, jak znajomość chemii można wykorzystać do wzmocnienia barwy, zapachu, smaku wina oraz poprawić jego stabilność i jakość.

Lipids: Biochemistry, Biotechnology and Health

[Tłuszcze: biochemia, biotechnologia i zdrowie]

Michael I. Gurr, John L. Harwood, Keith N. Frayn, Denis J. Murphy, Robert H. Michell

Wydawnictwo: Wiley-Blackwell 2016, Wyd. VI, ISBN 978-1-118-5011-3-9, stron 448, cena 68.80 EUR

Zamówienia: <http://eu.wiley.com>

Podręcznik stanowi kompleksowe opracowanie dotyczące znaczenia lipidów w żywności i żywieniu. Omówiono w nim rolę tłuszczów spożywczych w żywności oraz ich aspekt żywieniowy. Scharakteryzowano budowę i chemiczne właściwości lipidów spożywczych, podano również ich nomenklaturę i klasyfikację oraz metody analiz. W dalszej kolejności opisano techniki ekstrakcji, rafinacji, konwertowania i stabilizacji, jak również estryfikację chemiczną. Zamieszczono zagadnienia inżynierii genetycznej roślin oleistych. W podręczniku zawarto również zagadnienia związane ze stabilnością oksydacyjną oraz przemianami lipidów w trakcie ich przechowywania i możliwością stosowania substancji przeciwutleniających. Opisano interakcje lipidów

ze składnikami żywności i ich rolę w żywieniu oraz aspekty zdrowotne związane z nadmiernym spożywaniem tłuszczów.

Handbook of Vegetable Preservation and Processing

[Poradnik przetwórstwa i konserwowania warzyw]

Y. H. Hui, E. Özgül Evranuz

Wydawnictwo: CRC Press 2015, Wyd. II, ISBN 978-1-482-2122-8-0, stron 110, cena 165.00 £

Zamówienia: www.crcpress.com

Opracowanie zawiera opis tradycyjnych i nowoczesnych procedur przetwarzania warzyw obejmujący: konserwowanie tradycyjne, suszenie, mrożenie, fermentację oraz konserwowanie chemiczne. Przedstawiono żywieniowe i zdrowotne korzyści związane ze spożywaniem warzyw i przetworów warzywnych. Przytoczono najnowsze osiągnięcia nauki i technologii, przeanalizowano różne aspekty przetwórstwa i konserwowania warzyw oraz innych produktów roślinnych. Omówiono: bioaktywne związki warzyw, smakowitość i inne właściwości sensoryczne warzyw i ich przetworów, zagadnienia inżynierii genetycznej w produkcji roślinnej, szkodniki i choroby roślinne, aktywne i inteligentne opakowania, dodatki i środki przedłużające trwałość, jakość i bezpieczeństwo warzyw i ich przetworów, w tym zasady dobrej praktyki rolniczej. Przedstawiono ponadto rolę bakterii LAB w procesie fermentacji i bioochronie żywności pochodzenia roślinnego.

Opracował: Lesław Juszcak

TWÓRCY POLSKIEJ NAUKI O ŻYWNOSCI

PROF. DR HAB. INŻ. PAWEŁ MICHAŁ PISULEWSKI (1945 - 2009)



Paweł Michał Pisulewski urodził się 25 stycznia 1945 r. w Krakowie. Studia na Wydziale Rolniczym Wyższej Szkoły Rolniczej w Krakowie ukończył w 1968 r., przedstawiając pracę magisterską pt. „Aktywność rybonukleazy pszenicy w zależności od sposobu utrwalania materiału, rodzaju i pH buforu oraz temperatury inkubacji. Stopień doktora nauk rolniczych w zakresie żywienia zwierząt uzyskał w roku 1974 na Wydziale Zootechnicznym AR w Krakowie na podstawie rozprawy pt. "Przemiany w żwaczu oraz wartość pokarmowa białka bobiku (*Vicia faba* L.) poddanego działaniu aldehydu mrówkowego". Praca została przygotowana pod kierunkiem prof.

dr hab. R. Rysia. Stopień doktora habilitowanego nauk rolniczych w zakresie żywienia zwierząt uzyskał w Instytucie Zootechniki w Krakowie w 1982 r., na podstawie rozprawy pt. „Stopień pokrycia potrzeb aminokwasowych owiec w warunkach żywienia moczniakiem” W 1994 r. otrzymał tytuł naukowy profesora nauk rolniczych.

W 1971 r. prof. P. Pisulewski został zatrudniony w Zakładzie Żywienia Zwierząt IZ na stanowisku starszego asystenta. Trzy lata później (w 1974 r.) otrzymał awans na stanowisko adiunkta. W latach 1980 - 1988 pełnił funkcję kierownika Pracowni Biochemii Stosowanej w Zakładzie Żywienia Zwierząt. W międzyczasie (1984 r.) otrzymał nominację na stanowisko docenta. Przez rok (1988 - 1989), również na stanowisku docenta, pracował w SGGW-AR w Warszawie (w Katedrze Fizjologii Zwierząt Wydziału Weterynaryjnego). Następnie powrócił do Zakładu Żywienia Zwierząt IZ. W latach 1989 - 1995 pełnił funkcję kierownika Grupy Problemowej ds. Wdrażania i Upowszechniania Nowych Systemów Wartościowania Pasz i Potrzeb Pokarmowych Zwierząt Przeżuwających, działającej pod patronatem KNZ PAN. W 1994 r., po nadaniu tytułu naukowego profesora, uzyskał nominację na stanowisko profesora w IZ

w Krakowie. W 1995 r. rozpoczął pracę w Katedrze Żywienia Człowieka Wydziału Technologii Żywności AR w Krakowie. Stanowisko kierownika Katedry objął w 1997 r. W tym samym roku uzyskał nominację na stanowisko kierownika Studium Podyplomowego z zakresu "Żywienia człowieka z elementami gospodarstwa domowego". W latach 1999 - 2002 był Prodziekanem, a w latach 2005 - 2008 Dziekanem Wydziału Technologii Żywności. Pełnił w Uczelni liczne funkcje, m.in. Pełnomocnika Rektora ds. Integracji Europejskiej (1997 - 2000) oraz członka Rady Programowej Studium Doktoranckiego (2002 - 2008).

Problematyka badawcza prof. Pawła Pisulewskiego dotyczyła głównie wpływu warunków produkcyjnych lub procesów przetwórczych na skład chemiczny, wartość odżywczą i właściwości funkcjonalne produktów spożywczych pochodzenia roślinnego i zwierzęcego. Właściwości funkcjonalne weryfikował, prowadząc badania z udziałem zwierząt, zarówno szczurów, jak i myszy genetycznie zmodyfikowanych ApoE/LDLR^{-/-}. Zajmował się również wybranymi zagadnieniami z zakresu toksykologii żywności (m.in. oddziaływaniem azotanów (V) i (III) na funkcje endokrynologiczne i obraz histologiczny tarczycy) oraz oceną sposobu żywienia wybranych grup ludności (m.in. spożyciem mleka i jego przetworów jako źródła wapnia). Wyniki swoich prac opublikował w ponad 250 publikacjach, w tym 70 oryginalnych prac twórczych, które zamieszczał w uznanych polskich i zagranicznych periodykach naukowych, m.in. *Acta Agraria et Silvestria*, *Annals of Nutrition and Metabolism*, *Animal Feed Science and Technology*, *Annals of Animal Production*, *British Journal of Nutrition*, *Journal of Animal and Feed Sciences*, *Journal of Dairy Science*, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *Journal of Nutrition*, *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, *Scandinavian Journal of Nutrition*, *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, *Postępy Nauk Rolniczych*.

Profesor jest autorem 10 rozdziałów autorskich lub współautorskich w podręcznikach i skryptach, m.in. "Żywienie przeżuwaczy – zalecane normy i tabele wartości pokarmowej pasz" (Red. R. Jarrige), Warszawa, Omnitech Press (1993 r.), "Normy żywienia bydła, owiec i kóz – wartość pokarmowa pasz dla przeżuwaczy", Warszawa, Omnitech Press (1993 r.), „Jajczarstwo. Nauka - Technologia - Praktyka" (Red. F. Trziszka), AR we Wrocławiu (2000 r.). Jest także współautorem ponad 90 komunikatów na konferencje naukowe i 50 artykułów przeglądowych.

Profesor Paweł Pisulewski przebywał kilkakrotnie na zagranicznych stażach naukowych, m.in. w University of Nottingham, Wielka Brytania (1977 - 1979, 1983 - 1984), Institut National de la Recherche Agronomique, Centre de Rennes, Francja (1991 - 1993, 1994).

Za osiągnięcia naukowe Profesor został wyróżniony licznymi nagrodami, odznaczeniami i medalami, m.in. Krzyżem Kawalerskim Orderu Odrodzenia Polski, Meda-

lem Komisji Edukacji Narodowej oraz Medalem im. Profesora Franciszka Nowotnego w Krakowie.

Podczas wieloletniej działalności dydaktycznej na Wydziale Technologii Żywności zajmował się zagadnieniami żywienia człowieka oraz nauki o żywności. Prowadził zarówno wykłady, jak i seminaria dla studentów studiów II stopnia. Był opiekunem ponad 24 zakończonych prac magisterskich i 4 inżynierskich oraz promotorem 5 zakończonych prac doktorskich. Dodatkowo był recenzentem w 13 przewodach doktorskich, 7 przewodach habilitacyjnych i 9 postępowaniach o nadanie tytułu naukowego profesora.

Profesor Paweł Pisulewski był członkiem wielu prestiżowych organizacji naukowych, m.in. Komisji Nauk Rolniczych i Leśnych PAN (Oddział w Krakowie), Komisji Nauk Rolniczych PAU w Krakowie, Polskiego Towarzystwa Technologów Żywności (Oddziału Małopolskiego), Polskiego Towarzystwa Badań nad Miazdżycą, a także Association Europeenne de Recherche sur les Proteagineux-AEP (Francja), International Union of Nutrition Society (Wielka Brytania), Rady Naukowej Instytutu Fizjologii i Żywienia Zwierząt PAN w Jabłonnej, jak również recenzentem Państwowej Komisji Akredytacyjnej przy MENiS (2002 - 2006) oraz konsultantem FAO UN ds. światowych zasobów pasz lignocelulozowych i ich wykorzystania.

Prof. dr hab. inż. Paweł Michał Pisulewski zmarł 30 października 2009 r. w Krakowie.

Dr hab. inż. Renata Kostogrys, prof. nadzw.

**XXI KRAJOWA KONFERENCJA NAUKOWA SEKCJI MŁODEJ
KADRY NAUKOWEJ ORAZ V KONFERENCJA
MIĘDZYNARODOWA „ŻYWNOŚĆ – OD A DO Z”
12-13 MAJA 2016, ŁÓDŹ**

Konferencja Naukowa Młodej Kadry Naukowej rok rocznie gromadzi wielu młodych adeptów nauki z całego kraju. Podobnie w tym roku niemal 80 uczestników z różnych ośrodków przybyło do Łodzi, gdzie na zaproszenie Łódzkiego Oddziału Polskiego Towarzystwa Technologów Żywności oraz Politechniki Łódzkiej obradowano w obszarze nauk o żywności i żywieniu. Inicjatorem tego spotkania była Sekcja Młodej Kadry Naukowej PTTŻ (reprezentowana przez przewodniczącą – mgr inż. Monikę Przeor, UP w Poznaniu) oraz młodzi członkowie Sekcji Chemii Żywności Polskiego Towarzystwa Chemicznego (reprezentowani przez przewodniczącą – dr Małgorzatę Przygodzką, PAN Olsztyn). Współpraca pomiędzy dwoma Sekcjami z dwóch różnych Towarzystw o podobnym obszarze zainteresowań ponownie zaowocowała ciekawymi znajomościami. Do Łodzi zjechali przedstawiciele takich ośrodków, jak: Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, Polska Akademia Nauk w Olsztynie, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Uniwersytet Rzeszowski, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Politechnika Łódzka, Akademia im. Jana Długosza w Częstochowie, Politechnika Gdańska, Uniwersytet Łódzki, Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu, Uniwersytet Rolniczy w Krakowie, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Polska Akademia Nauk w Lublinie, Instytut Ogrodnictwa w Skierniewicach, Akademia Morska w Gdyni.

Konferencja Młodej Kadry już po raz 21. umożliwiła prezentację dorobku naukowego doktorantów i młodych pracowników nauki oraz wymianę doświadczeń między ośrodkami. Rozmowy i bezpośredni kontakt z członkami Komitetu Naukowego umożliwiły uzyskanie cennych wskazówek od osób bardziej doświadczonych. Sesja

była także miejscem integracji środowiska związanego z szeroko rozumianymi naukami o żywności i żywieniu

Temat Konferencji – „Żywność od A do Z” objął szeroki obszar badań związanych z żywnością zarówno pod względem naukowym, jak i aplikacyjnym. Skupiono się wokół tematyki związanej z przetwarzaniem i utrwalaniem żywności, udoskonalaniem procesów technologicznych, bezpieczeństwem żywności, dodatkami do żywności, analizą żywności, chemią i biotechnologią żywności, nowymi produktami spożywczymi, obecnymi trendami w żywieniu człowieka, a także substancjami prozdrowotnymi i bioaktywnymi w żywności.

Wykład inauguracyjny pt. „Żywność bezglutenowa – moda czy konieczność?” wygłosiła dr inż. Katarzyna Marciniak-Łukasiak (SGGW w Warszawie), rozpoczynając dyskusję na temat tej mody w kontekście uwarunkowań żywieniowych i zdrowotnych. Dr inż. Krzysztof Kołodziejczyk wykładem „Problemy nazewnictwa produktów owocowych, tradycyjne pojęcia i regulacje europejskie” zainicjował sesję referatową w języku polskim. W drugim dniu Konferencji wystąpił gość, dr hab. Sylvain Guyot (INRA, Francja), z wykładem nt. „Polyphenols in apple fruits and their derived products, an overview of their variability, reactivity and properties in relation to organoleptic qualities of French juices and ciders”. Wykład wzbudził dyskusję na temat takich produktów spożywczych.

Nad wysokim poziomem merytorycznym obrad czuwał Komitet Naukowy, w skład którego weszli: prof. dr hab. Agnieszka Kita (Prezes PTTŻ, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu), prof. dr hab. Danuta Kołożyn-Krajewska (Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie), prof. dr hab. Małgorzata Nogala-Kałucka (Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu), dr hab. Małgorzata Dżugan, prof. nadzw. (Oddział Podkarpacki PTTŻ, Uniwersytet Rzeszowski), dr hab. Dorota Piasecka-Kwiatkowska, prof. nadzw. (Oddział Wielkopolski, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu), dr hab. Sylvain Guyot (INRA, Francja), dr hab. Lesław Juszcak, prof. nadzw. (Uniwersytet Rolniczy w Krakowie), dr hab. Joanna Leszczyńska (Oddział Łódzki PTTŻ, Politechnika Łódzka), dr inż. Katarzyna Marciniak-Łukasiak (Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie), dr inż. Krzysztof Kołodziejczyk (Politechnika Łódzka), dr inż. Arkadiusz Żych (Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie).

W ciągu 2 dni obrad zaprezentowano 15 referatów i 22 plakaty w języku polskim, 11 referatów i 22 plakaty w języku angielskim. Konferencja składała się z 5 sesji plenarnych (3 polskich i 2 angielskich) i 2 sesji plakatowych, spośród których Komitet Naukowy wytypował najciekawszych prelegentów i autorów posterów.

W polskojęzycznej sesji referatowej nagrodzono Łukasza Wajdę (SGGW w Warszawie) – nagroda: publikacja w czasopiśmie *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*. W anglojęzycznej sesji referatowej nagrodę w postaci publikacji w czasopiśmie *Polish*

Journal of Food and Nutrition Sciences przyznano Renacie Jędrkiewicz (PG Gdańsk). Za najlepszy plakat w sesji polskiej wyróżniono Adriana Góreckiego (PAN, Olsztyn) – nagroda: publikacja w czasopiśmie *Nauka Przyroda Technologie*. W sesji posterowej w języku angielskim najwyżej oceniono pracę Anety Graczyk (UP Poznań) – nagroda: bezpłatny udział w kolejnej Sesji Naukowej MKN. Przyznano również tzw. nagrody publiczności, które uczestnicy wytypowali w głosowaniu. W tej kategorii nagrodę za najlepszy referat otrzymał Adam Zwolan (SGGW Warszawa), a za najlepszy plakat – Kinga Czajkowska (SGGW Warszawa).

Kolejne spotkanie Młodej Kadry Naukowej odbędzie się w maju 2017. Wszystkich chętnych zapraszamy do Szczecina, który po raz pierwszy podejmie się organizacji tego spotkania. Zachęcamy do odwiedzania strony internetowej PTTŻ (www.pttz.org), na której zamieszczane będą informacje o kolejnej edycji tego spotkania. Do zobaczenia w Szczecinie.

Mgr inż. Monika Przeor
Przewodnicząca Sekcji Młodej Kadry Naukowej PTTŻ
Katedra Technologii Żywności Człowieka, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu

TECHNOLOG ŻYWNOŚCI

INFORMATOR POLSKIEGO TOWARZYSTWA TECHNOLOGÓW ŻYWNOŚCI

Rok 26 Nr 3

czerwiec 2016

WAŻNIEJSZE MIĘDZYKRAJOWE I KRAJOWE KONFERENCJE NAUKOWE W 2016 r.

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
- 20 – 22 WARSZAWA = Konferencja Naukowa w ramach międzynarodowego projektu COST “Improving Allergy Risk Assessment Strategy for new food proteins (ImPARAS)”
Organizatorzy: Zakładu Immunologii i Mikrobiologii Żywności Instytutu Rozrodu Zwierząt i Badań Żywności Polskiej Akademii Nauk w Olsztynie
Kontakt: <http://imparas.eu>

22 - 23 KRAKÓW = XII Konferencja Naukowa z cyklu „Żywność XXI wieku“, nt. „Żywność a innowacje“

Organizatorzy: Oddział Małopolski PTTŻ, Wydział Technologii Żywności UR w Krakowie

Informacje: <http://www.pttzm.org>

Kontakt: zywnoscxxi@pttzm.org

Październik / Listopad

30 - 1 AMSTERDAM, Holandia = The 1st Food Chemistry Conference “Shaping the Future of Food Quality, Health and Safety”

Informacje: <http://www.foodchemistryconference.com/>

CZŁONKOWIE WSPIERAJĄCY POLSKIEGO TOWARZYSTWA
TECHNOLOGÓW ŻYWNOCI

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

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

Material zawarty w Nr 3(106)/2016 Biuletynu podano według stanu informacji do 15 czerwca 2016 r. Materiały do Nr 4(107)2016 prosimy nadsyłać do 15 sierpnia 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