

PIOTR ZAPLETAL, KATARZYNA TOMCZYK, WŁADYSŁAW MIGDAŁ,
HENRYK PUSTKOWIAK, ANDRZEJ WĘGLARZ

WPLYW ETAPÓW PRODUKCJI MARYNAT ZIMNYCH ZE ŚLEDZIA ATLANTYCKIEGO (*CLUPEA HARENGUS*) NA PROFIL KWASÓW TŁUSZCZOWYCH TŁUSZCZU RYBNEGO

Streszczenie

Celem pracy było określenie składu kwasów tłuszczowych w tłuszczu śledzia atlantyckiego (*Clupea harengus*) po kolejnych etapach produkcji marynat zimnych oraz w okresie składowania. Badania przeprowadzono na mrożonych filetach ze śledzi atlantyckich ($n = 320$) złowionych w strefie połowów FAO 27 na Morzu Północnym, które do zakładu produkcyjnego przywieziono w postaci głęboko zamrożonych ($-18\text{ }^{\circ}\text{C}$) 15 - 20 kg bloków. Płaty wg Polskich Norm należały do sortymentu H, tj. na 1 kg surowca przypadało 10 - 16 sztuk płyt. Przeprowadzono dwa eksperymenty, a każdy z nich podzielono na 4 etapy. Dwa pierwsze etapy dotyczyły produkcji i wykonano je w zakładzie przetwórczym. Pozostałe dwa wprowadzono w celu określenia zmian zachodzących w tłuszczu badanych ryb w okresie ich składowania. W etapie 1., w którym następowało wstępne mieszanie filetów z zalewą marynującą, sprawdzono dwie metody stosowane w zakładzie produkcyjnym: I – tradycyjną, w której dyfuzja składników zalewy do surowca następowała w kąpeli marynującej w basenie; II – z użyciem obrotowego bębna, w którym zalewę doprowadzano do surowca rurociągami. Marynowanie nie spowodowało istotnych zmian w udziale poszczególnych grup kwasów tłuszczowych. Dominującą grupą były kwasy monoenowe, następnie kwasy nasycone i polienowe (MUFA>SFA>PUFA). Istotne ($p < 0,05$) zmiany dotyczyły tylko zmniejszenia poziomu PUFA oraz stosunku n-3/n-6 ($p < 0,01$) w II etapie w obu eksperymentach. Na tej podstawie można wnioskować, że zastosowanie bębna obrotowego, w celu lepszego wymieszania surowca z zalewą marynującą, nie przyczyniło się do zmniejszenia poziomu PUFA w filetach marynowanych. Filety marynowane w sposób tradycyjny charakteryzowały się większą zawartością kwasów EPA i DHA aniżeli filety marynowane w bębnie obrotowym. Poziom długołańcuchowych kwasów tłuszczowych n-3 PUFA w filetach marynowanych podczas 30 i 60 dni przechowywania był nadal wysoki i nie różnił się istotnie od ich poziomu w filetach surowych.

Słowa kluczowe: marynowanie, śledź atlantycki, kwasy tłuszczowe

Dr hab. inż. P. Zapletal, dr inż. K. Tomczyk, mgr inż. H. Pustkowiak, dr hab. inż. A. Węglarz, Katedra Hodowli Bydła, al. Mickiewicza 24/28, prof. dr hab. inż. W. Migdał, Katedra Przetwórstwa Produktów Zwierzęcych, Uniwersytet Rolniczy im. H. Kollątaja w Krakowie, ul. Balicka 122, 30-149 Kraków

Wprowadzenie

Śledź atlantycki (*Clupea harengus*) to ryba pelagiczna, występująca na całym obszarze północnego Atlantyku, osiągająca długość 20 - 30 cm. Zaliczany jest do tłustych ryb morskich, pomimo że zawartość tłuszczu w jego mięsie podlega dużym wahaniom w zależności od sezonu i rejonu połowu oraz stanu fizjologicznego, dojrzałości, gatunku, a także dostępności pożywienia [31]. Według Kołakowskiej i wsp. [14] zawartość tłuszczu w mięsie śledzia może wynosić od 2 do 25 %. Zawartość lipidów wzrasta w kierunku od głowy do ogona, gdzie zlokalizowane są mięśnie odpowiedzialne za pływanie [15]. Ciemna tkanka mięśniowa śledzia atlantyckiego charakteryzuje się większą zawartością kwasów tłuszczowych PUFA, a zwłaszcza EPA i DHA, i korzystną proporcją kwasów n-3/n-6 w stosunku do tkanki jasnej [18]. Na poziom DHA i EPA ma wpływ dieta śledzia, której podstawę stanowi fitoplankton bogaty w te kwasy. Badania wykazały, że w organizmach ryb występują enzymy (elongazy), których aktywność prowadzić może do syntezy tych długołańcuchowych kwasów tłuszczowych [27]. Omawiane kwasy polienowe związane są głównie z fosfolipidami [9].

Do produkcji marynat najodpowiedniejsze są śledzie, których mięso zawiera od 5-15 % tłuszczu. Po złowieniu ryby muszą być poddane obróbce wstępnej i niezwłocznie zamrożone [11]. Jest to niezwykle ważne ze względu na nienasycony charakter tłuszczu śledzia i dużą zawartość wielonienasyconych kwasów tłuszczowych oraz prooksydantów [8, 33]. Ren i wsp. [25] wykazali, że obecne w mięśniach amura białego białka miofibrylarne miały wyraźnie hamujący wpływ na peroksydację lipidów i utlenianie lipoprotein o niskiej gęstości. Wymienione powyżej czynniki stanowią poważne ograniczenie w przechowywaniu i przetwarzaniu ryb i są przyczyną szybko zachodzących zmian hydrolytycznych oraz oksydacyjnych w mięśniach, które wiążą się z obniżeniem jakości surowca [33, 34]. Podczas przechowywania w stanie schłodzonym proteoliza miofibryli i białek tkanki łącznej poprzedzona glikolizą prowadzi do osłabienia tekstury mięsa [22]. W czasie dojrzewania w kąpieli marynującej w wyniku działania endogennych enzymów proteolitycznych i bakteryjnych następuje defragmentacja włókien mięśniowych [3, 32]. Niskie pH w zakresie od 4,0 do 4,8, wytworzone dzięki obecności kwasu octowego, aktywizuje katepsyny mięśniowe, które rozpuszczają mniej usieciowane frakcje kolagenu w tkance łącznej oraz denaturują białka mięśniowe [30]. W tej grupie decydujący wpływ wydaje się mieć kilka proteinaz, a wśród nich lizosomalne hydrolazy – katepsyny B, L i D [21]. Marynowanie, jako sposób konserwowania żywności, nie zabezpiecza w pełni produktu przed dalszymi zachodzącymi zmianami. Zawartość produktów utlenienia w początkowych dniach marynowania jest przeważnie mniejsza niż w surowcu, jednak okresowo podczas przechowywania marynat może wzrosnąć [16]. Składniki zalewy marynującej wpływają głównie na zahamowanie rozwoju mikroorganizmów [5, 12]. Podczas marynowania zmiany oksydacyjne są niewielkie, pomimo, że NaCl ma właściwości prooksydacyjne

[10]. Najważniejsze zmiany zachodzące w lipidach podczas marynowania ryb polegają na hydrolizie lipidów, co w konsekwencji może prowadzić do niewielkiego zmniejszenia ich zawartości w produkcie, wskutek wypłukiwania wolnych kwasów tłuszczowych [16]. Wzrost zakwaszenia środowiska w zakresie pH od 4,0 do 4,8 powoduje aktywację katepsyn mięśniowych, które z kolei oddziałują na białka, powodując ich denaturację [7]. Z drugiej strony obecność kwasu octowego wywołuje efekt konserwujący [19, 20, 35].

Stosunkowo niewiele badań koncentruje się na zmianach zawartości czy też profilu kwasów tłuszczowych podczas marynowania. Wiadomo jednak, że marynowanie nie wywołuje tak drastycznych zmian [24], jak np. smażenie czy gotowanie, podczas których na kwasy oddziałuje wysoka temperatura [14].

Celem pracy było określenie wpływu kolejnych procesów produkcji marynat na profil kwasów tłuszczowych w mięsie śledzia atlantyckiego (*Clupea harengus*) w zależności od metody marynowania.

Material i metody badań

Materiał badawczy stanowiło 320 mrożonych płatów śledzia atlantyckiego (*Clupea harengus*) złowionego w lutym 2005 roku w Morzu Północnym, w rejonie połowowym FAO 27. Do zakładu produkcyjnego przywieziono je w postaci głęboko zamrożonych (-18 °C) 15 - 20 kg bloków. Płaty wg Polskich Norm należały do sortymentu H, tj. na 1 kg surowca przypadało 10 - 16 sztuk płatów. Przed przystąpieniem do badań bloki przechowywano w zakładzie w stanie głębokiego zamrożenia (-18 °C) przez około 5 miesięcy. Do badań wykorzystano dwa bloki pochodzące z tej samej partii surowca.

Ryby rozmrażano w urządzeniu tunelowym, do którego wdmuchiwno powietrze o stałej temperaturze (15 °C) i wilgotności. Czas rozmrażania wynosił 12 h. Bloki rozmrażano w odstępie jednego miesiąca, ze względu na możliwości techniczne wykonania analiz. Po rozmrożeniu płaty dzielono na dwa filety: prawy i lewy. Filety lewe traktowano jako grupę kontrolną, a ich analizę wykonywano tego samego dnia po rozmrożeniu. Filety prawe, doświadczalne ważono i odpowiednio znakowano, a następnie poddawano marynowaniu. Wodny roztwór marynujący miał następujący skład: 4,5 % CH₃COOH, 8,2 % NaCl i 87,3 % H₂O. Filety zalewano marynatą w stosunku 1 : 2 (m/m). Stosowany sposób podziału materiału badawczego opracowano na podstawie badań własnych. Stwierdzono w nich, że filety prawy i lewy śledzia są homologiczne i nie ma pomiędzy nimi istotnej różnicy pod względem zawartości tłuszczu i kwasów EPA i DHA [17].

Przed wykonaniem analiz każdy filet odskórzano, a następnie rozdrabniano za pomocą miksera do uzyskania materiału o jednolitej konsystencji. Przeprowadzono dwa doświadczenia, a każde z nich składało się z 4 etapów. Dwa pierwsze były wybra-

nymi etapami procesu produkcyjnego i wykonane zostały w zakładzie przetwórczym, zgodnie z technologią tam stosowaną. Pozostałe dwa wprowadzono w celu określenia zmian zachodzących w tłuszczach badanych ryb w okresie ich składowania.

Etap 1 (technologiczny) – mieszanie rozmrożonych filetów w kąpeli marynującej w ciągu 15 min:

- doświadczenie I – metoda tradycyjna, w której dyfuzja składników zalewy do surowca następowała w kąpeli marynującej w basenie,
- doświadczenie II – metoda z zastosowaniem bębna, do którego zalewę doprowadzano rurociągiem, podczas gdy bęben z surowcem obracał się z prędkością 3 - 5 obr./min. Etap ten jest najważniejszą fazą technologiczną procesu produkcji, gdyż dokładne wymieszanie surowca z zalewą marynującą zapewnia ograniczenie strat w czasie dojrzewania.

Etap 2 (technologiczny) – dojrzewanie filetów z obu doświadczeń w kąpeli marynującej. Zgodnie z praktyką stosowaną w zakładzie dojrzewanie przebiegało w następujących warunkach: filety w zalewie marynującej znajdowały się w basenach pod przykryciem (w celu ograniczenia wpływu promieniowania słonecznego na kwasy tłuszczowe); czas dojrzewania wynosił 5 dni i w tym czasie filety mieszane były co dwa dni; temperatura w pomieszczeniu wynosiła do 7 °C.

Po marynowaniu filety, z obu doświadczeń, zostały wyjęte z zalewy, a następnie na linii produkcyjnej zapakowane w słoiki. Dodano do nich zalewę smakową o składzie: 0,42 % kwas octowy i 0,58 % sól, stosowaną do produktów typu „Bismarck”. Gotowe wyroby przewieziono z zakładu do jednego z marketów, gdzie były przechowywane w warunkach chłodniczych na półce sklepowej.

Etap 3 (przechowalniczy) – pobranie prób do badań z półki sklepowej po 30 dniach składowania od daty zapakowania, tj. w połowie terminu przydatności do spożycia.

Etap 4 (przechowalniczy) – pobranie prób do badań z półki sklepowej po 60 dniach składowania, tj. pod koniec terminu przydatności do spożycia.

Zawartość tłuszczu ogólnego oznaczano metodą Soxhleta [24], w dwóch powtórzeniach. Lipidy z filetów śledziowych ekstrahowano metodą Folsha i wsp. [4], a estryfikację wykonywano wg AOAC Official Method 991.39 [23]. Skład kwasów tłuszczowych w postaci estrów metylowych oznaczano za pomocą chromatografu gazowego PYE UNICAM, z detektorem płomieniowo-jonizującym (FIT) i kolumną SUPELCOWA 10 (30,0 m × 0,53 mm × 1 μm). Gazem nośnym był hel (2,5 ml/min). Każdą próbkę analizowano w dwóch powtórzeniach. Oznaczenia profilu kwasów tłuszczowych wykonano na 20 filetach surowych (lewych kontrolnych) i 20 marynowanych (prawych doświadczalnych) na każdym etapie doświadczenia I i II. Pomiar kwasowości wykonywano pH-metrem w 30 g homogenatu (15 g mięsa + 15 ml H₂O) w dwóch powtórzeniach.

Analizę statystyczną wyników przeprowadzono przy użyciu pakietu SAS [28]. Obliczono wartości średnie (\bar{x}) badanych cech mięsa i odchylenia standardowe (s). Obliczenia istotności różnic pomiędzy średnimi wartościami badanych parametrów mięsa filetów surowych i marynowanych wykonano testem T dla par skorelowanych wg podziału na doświadczenie i etap. Z kolei wpływ wybranych efektów na wartości badanych parametrów oszacowano w procedurze ANOVA wg następującego modelu liniowego:

$$Y_{ijk} = \bar{x} + D_i + E_j + e_{ijk}$$

gdzie: Y_{ijk} – wartość badanego parametru; \bar{x} – średnia populacji; D_i – stały efekt i-tego doświadczenia; E_j – stały efekt j-tego etapu; e_{ijk} – błąd losowy.

W celu stwierdzenia istotności wpływu czynnika na zmienność badanych parametrów (test F) dokonano pomiędzy średnimi porównań wielokrotnych za pomocą testu Tukey'a.

Wyniki i dyskusja

Zawartość tłuszczu ogólnego w filetach surowych (kontrolnych) doświadczenia I wynosiła średnio 4,91 % a doświadczenia II 4,69 %. Po każdym z etapów marynowania zawartość tłuszczu, w stosunku do zawartości oznaczonej w filetach surowych, zwiększała się. Najmniejszy przyrost stwierdzono po 5 dniach dojrzewania (etap 2). Po etapie 4. przyrost był największy. Zmiany te były statystycznie istotne ($P < 0,05$). Różnice pomiędzy wynikami zawartości tłuszczu po poszczególnych etapach doświadczenia I i II były nieistotne. Zbliżone wyniki uzyskali m.in. Kołakowska i wsp. [14], Kilinc i Cakli [12] oraz Sallama i wsp. [26]. Stwierdzony przyrost zawartości tłuszczu jest wynikiem zwiększenia zawartości suchej masy, przy jednoczesnym ubytku wody w mięsie, co z kolei jest następstwem działania składników kąpieli marynującej. Badania prowadzone na mięsie ryb dowodzą, że pomiędzy suchą masą a tłuszczem istnieje wysoka i dodatnia korelacja [6], a tym samym wysoka, ujemna korelacja pomiędzy zawartością wody i tłuszczu [2].

Proces marynowania śledzi nie wpłynął na zmianę grup kwasów tłuszczowych w mięsie. Dominującą grupą były kwasy jednonienasycone, następnie kwasy nasycone i wielonienasycone [6]. W grupie kwasów nasyconych oznaczono 6 kwasów tłuszczowych. Dominującym był kwas C16:0, którego zawartość w filetach surowych wynosiła średnio 14,28 %. W badanych próbkach oznaczono także kilkuprocentowe ilości kwasu C14:0 oraz C18:0. Zawartość pozostałych kwasów nasyconych, tj. C15:0, C17:0 i C20:0 nie przekroczyła 1 % wszystkich oznaczonych kwasów. Zmiany, jakie wystąpiły w profilu SFA w kolejnych etapach doświadczenia I i II były statystycznie nieistotne.

Filety marynowane I i II doświadczenia nie różniły się istotnie pomiędzy sobą pod względem zawartości SFA (tab. 1).

Tabela 1

Zawartość SFA w surowych i marynowanych filetach ze śledzia atlantyckiego, determinowana kolejnymi etapami doświadczenia I i II [%].

Content of SFA in raw and marinated fillets of Atlantic herring determined by subsequent experiment stages I and II [%].

Doświadczenie Experiment		Filety surowe Raw fillets n=160		Filety marynowane Marinated fillets n=160		Istotność Significance
		\bar{x}	s / SD	\bar{x}	s / SD	Różnica Difference
I	15 min 15 min	22,83	1,47	23,18	1,06	0,35
	5 dni 5 days	23,41	1,45	23,00	1,00	-0,41
	30 dni 30 days	23,19	1,07	23,39	1,19	0,20
	60 dni 60 days	24,06	1,27	23,80	1,19	-0,26
II	15 min 15 min	22,51	1,01	22,16	1,83	-0,35
	5 dni 5 days	23,05	1,07	23,32	1,62	0,27
	30 dni 30 days	22,69	1,36	23,20	1,20	0,51
	60 dni 60 days	22,21	2,34	22,46	1,54	0,25

Objaśnienia: / Explanatory notes:

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

Zarówno w grupie MUFA, jak i wśród wszystkich oznaczonych kwasów tłuszczowych dominującym był C22:1. Jego zawartość w filetach surowych wynosiła średnio 23,90 %. Drugim pod względem zawartości był kwas C20:1 (14,25 %), następnie C18:1 (12,60 %), C16:1 [n-7] (4 %), C17:1 (0,35 %), C14:1 (0,25 %). Różnice jakie wystąpiły w profilu MUFA w czasie marynowania, jak i przechowywania, były statystycznie nieistotne, podobnie jak różnice jakie wystąpiły po kolejnych etapach obydwu doświadczeń (tab. 2).

Tabela 2

Zawartość MUFA w surowych i marynowanych filetach ze śledzia atlantyckiego, determinowana kolejnymi etapami doświadczenia I i II [%].

Content of MUFA in raw and marinated fillets of Atlantic herring as determined by subsequent experiment stages I and II [%].

Doświadczenie Experiment		Filety surowe Raw fillets n=160		Filety marynowane Marinated fillets n=160		Istotność Significance
		\bar{x}	s / SD	\bar{x}	s / SD	Różnica Difference
I	15 min 15 min	54,72	3,67	54,94	3,58	0,22
	5 dni 5 days	53,81	3,32	55,04	3,42	1,23
	30 dni 30 days	56,66	2,96	56,45	2,52	-0,21
	60 dni 60 days	57,98	3,53	57,17	1,88	-0,81
II	15 min 15 min	54,91	4,15	56,14	3,05	1,23
	5 dni 5 days	56,69	1,99	58,50	1,91	1,81
	30 dni 30 days	56,23	3,94	55,68	3,57	-0,55
	60 dni 60 days	53,53	6,29	53,79	6,25	0,26

Objaśnienia: / Explanatory notes:

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

PUFA należały do rodziny n-6 i n-3. PUFA n-3 zarówno w filetach surowych, jak i marynowanych stanowiły ponad 90 % wszystkich kwasów polienowych. Największe istotne ($p < 0,05$) zmniejszenie zawartości PUFA stwierdzono po 5 dniach dojrzewania mięsa w kąpielii marynującej (tab. 3). Jedynym przedstawicielem kwasów z rodziny n-6 był C18:2. W grupie kwasów z rodziny n-3 oznaczono 5 kwasów tłuszczowych: C18:3 (α LNA), C18:4, C20:5, EPA [C20:5 (n-3)], C22:5 (DPA) i DHA [C22:6 (n-3)]. W filetach surowych i marynowanych dominował DHA, który wraz z EPA stanowił od ponad 70 % do ponad 80 % wszystkich oznaczonych kwasów polienowych (DHA \approx 9,96 %; EPA \approx 4,17 %). W doświadczeniu I i II po etapie 2. nastąpiło istotne ($p < 0,01$) zmniejszenie udziału sumy kwasów DHA i EPA. Zmniejszenie zawartości

tych kwasów miało miejsce również po 4. etapie doświadczenia II i różnice te były istotne na poziomie $p < 0,01$. Po dwóch pierwszych etapach obydwu doświadczeń zmniejszeniu uległa zawartość kwasu DHA. Największe obniżenie jego poziomu wystąpiło po etapie 2. W I doświadczeniu był istotny, na poziomie $p < 0,01$, a w II na poziomie $p < 0,05$.

Tabela 3

Zawartość PUFA w surowych i marynowanych filetach ze śledzia atlantyckiego, determinowana kolejnymi etapami doświadczenia I i II [%].

Content of PUFA in raw and marinated fillets of Atlantic herring as determined by subsequent experiment stages I and II [%].

Doświadczenie Experiment		Filety surowe Raw fillets n=160		Filety marynowane Marinated fillets n=160		Istotność Significance
		\bar{x}	s / SD	\bar{x}	s / SD	Różnica Difference
I	15 min. 15 minutes	20,32	2,16	19,65	2,26	-0,67
	5 dni 5 days	20,42	2,30	18,67	2,62	-1,75*
	30 dni 30 days	17,55	1,97	18,19	2,55	0,64
	60 dni 60 days	15,70	2,09	16,34	1,60	0,64
II	15 min. 15 minutes	19,19	3,86	18,44	2,22	-0,75
	5 dni 5 days	17,27	1,36	15,59	1,58	-1,68*
	30 dni 30 days	17,72	2,75	17,79	2,39	0,07
	60 dni 60 days	20,68	3,86	20,11	4,19	-0,57

Objaśnienia: / Explanatory notes:

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

* – różnice statystycznie istotne na poziomie $p < 0,05$ / statistically significant differences ($p < 0.05$);

Zawartość EPA zmniejszyła się w doświadczeniu II po wszystkich etapach. Największe zmniejszenie ($p < 0,01$) odnotowano po etapie 2. Po tym etapie wystąpiło

nieznaczne zmniejszenie zawartości EPA również w I doświadczeniu, jednak zmiana ta była nieistotna.

W trakcie marynowania w doświadczeniu I jedynie po etapie 2. tj. po 5 dniach dojrzewania filetów stwierdzono zmniejszenie stosunku kwasów n-3/n-6 i zmiana ta była istotna na poziomie $p < 0,01$ (tab. 4). W pozostałych etapach doświadczenia I stosunek tych kwasów zwiększył się, a po etapie 4. zmiana ta była istotna na poziomie $p < 0,01$. W doświadczeniu II po wszystkich etapach nastąpiło zmniejszenie n-3/n-6. Po etapie 2. zmniejszenie było, podobnie jak w doświadczeniu I, największe i istotne na poziomie $p < 0,01$.

Tabela 4

Stosunek kwasów n-3/n-6 w surowych i marynowanych filetach ze śledzia atlantyckiego, determinowany kolejnymi etapami doświadczenia I i II [%].

Ratio of n-3/n-6 fatty acids in raw and marinated fillets of Atlantic herring as determined by subsequent experiment stages I and II [%].

Doświadczenie Experiment		Filety surowe Raw fillets n=160		Filety marynowane Marinated fillets n=160		Istotność Significance
		\bar{x}	s / SD	\bar{x}	s / SD	Różnica Difference
I	15 min 15 min	14,50	3,65	15,46	3,07	0,96
	5 dni 5 days	15,98	5,20	14,23	3,68	-1,75**
	30 dni 30 days	11,53	1,62	12,03	2,43	0,5
	60 dni 60 days	10,53	1,30	12,04	1,79	1,51**
II	15 min 15 min	14,45	4,11	13,46	2,45	-0,99
	5 dni 5 days	12,89	1,43	10,96	1,56	-1,93**
	30 dni 30 days	13,67	3,05	13,51	2,33	-0,16
	60 dni 60 days	16,99	3,89	16,47	4,19	-0,52

Objaśnienia: / Explanatory notes:

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

** – różnice statystycznie istotne na poziomie $p < 0,01$ / statistically significant differences ($p < 0.01$).

W przypadku kwasów monoenowych i polienowych we wszystkich etapach zwiększeniu zawartości jednej grupy kwasów towarzyszyło zmniejszenie drugiej. Potwierdzeniem tego jest wysoka i ujemna korelacja pomiędzy tymi grupami kwasów, jaką wykazano zarówno w filetach surowych ($r = -0,89$; $p < 0,01$) jak i marynowanych. Podobne zależności opisuje Kołakowska i wsp. [14]. Zawartość kwasów MUFA po dwóch pierwszych etapach obydwu doświadczeń zwiększyła się, podczas gdy zawartość PUFA zmniejszyła się. Po etapie 2. zmiany PUFA były statystycznie istotne ($p < 0,05$). Decydujący dla zmniejszenia zawartości PUFA był okres trwający od początku procesu marynowania aż do 5. dnia. Można sądzić, że w tym czasie doszło do wyczerpania lub inaktywacji naturalnych antyoksydantów i zaprzestania ich ochronnej roli. Większe obniżenie poziomu EPA i DPA, które zaobserwowano po zastosowaniu bębna, mogło być wynikiem autooksydacji po natlenieniu roztworu marynującego w czasie jego mieszania. W ciągu pierwszych 30 dni od daty zapakowania filetów do słoików (etap 3) zaobserwowano nieistotne zwiększenie poziomu PUFA w obydwu doświadczeniach. Ta sama sytuacja miała także miejsce po 4. etapie doświadczenia I. Nie można wykluczyć hipotezy, że w trakcie nieustannego oddziaływania składników zalewy marynującej na mięso i jego składniki dochodziło do uwalniania PUFA związanych z fosfolipidami oraz cholesterolem w błonach komórkowych i wzrostu wydajności ich ekstrakcji w trakcie analiz [1].

Bardzo istotnym wyznacznikiem wartości żywieniowej ryb jest stosunek kwasów n-3 do n-6. Uważa się, że odpowiednio wyższy ich udział w żywności wpływa korzystnie na funkcjonowanie organizmu. Wyniki przedstawionych badań wskazują, że jedynie po 5 dniach dojrzewania filetów w kąpeli marynującej (etap 2) w obydwu doświadczeniach wystąpiło istotne zmniejszenie stosunku n-3/n-6. Można zatem wnioskować, że działające na mięso składniki zalewy marynującej nie są na tyle silne, aby spowodować takie zmiany, jakie powoduje np. smażenie czy gotowanie, podczas których na składniki mięsa działa wysoka temperatura [13, 14]. Dodatkowo konserwujące działanie kwasu octowego oraz soli w pewnym stopniu hamuje rozwój bakterii psychrotrofowych, dla których kwasy tłuszczowe mogłyby być substratem, powodując ich niekorzystne przemiany [26]. Rezultat ten jest korzystny z żywieniowego punktu widzenia, gdyż gotowy produkt pozostaje w mało zmienionym stanie w stosunku do surowca, co jest bardzo ważną cechą żywności funkcjonalnej.

W przedstawionych badaniach analizie poddano filety rybne tuż po rozmrożeniu, których pH wynosiło, od 6,14 - 6,45 co pozwala sądzić, że tuż po złowieniu były one odpowiednio przechowywane, a proces rozmrażania stosowany w zakładzie nie spowodował niekorzystnych zmian prowadzących do zbytowego obniżenia się kwasowości surowca. Wszystkie zmiany pH były statystycznie istotne na poziomie $p < 0,01$. Po etapie 1. nastąpiło obniżenie pH do 4,88 (doświadczenie I) i 4,22 (doświadczenie II). Wartość pH filetów marynowanych w końcowym etapie doświadczenia I nieznacznie

zwiększyła się. Zmiany te mogły nastąpić w wyniku działania heterofermentatywnych bakterii kwasu mlekowego lub bakterii gnilnych, które są w stanie przetrwać w środowisku kwaśnym [29].

Wnioski

1. W trakcie marynowania filetów ze śledzia atlantyckiego oraz ich przechowywania nie nastąpiły istotne zmiany w udziale poszczególnych grup kwasów tłuszczowych. Dominującą grupą były MUFA, następnie SFA i PUFA.
2. Istotne zmiany, związane ze zmniejszeniem poziomu PUFA wystąpiły po etapie 2. w obydwu doświadczeniach.
3. Zastosowanie w etapie 1. bębna, w celu lepszego wymieszania surowca z roztworem marynującym powodowało przyspieszenie zmniejszenia poziomu n-3 PUFA, w tym głównie kwasów DHA i EPA w filetach marynowanych. Filety marynowane w sposób tradycyjny w basenie charakteryzowały się wyższym poziomem kwasów EPA i DHA.
4. Zawartość długołańcuchowych kwasów tłuszczowych n-3 PUFA w filetach marynowanych w okresie 30 i 60 dni przechowywania była duża i nie różniła się istotnie od ich zawartości w filetach surowych.

Literatura

- [1] Aidos I.: Production of High-Quality Fish Oil from Herring Byproducts. Ph.D. Thesis, Wageningen University, The Netherlands, 2002.
- [2] Aidos I., Laureço S., van der Padt A., Luten J.B., Boom R.M.: Stability of crude herring oil produced from fresh byproduct: Influence of temperature during storage. *J. Food Sci.*, 2002, **67**, (9), 3314-3320.
- [3] Bremner H.A. Gaping in fish flesh. In: Extracellular Matrix of Fish and Shellfish. Ed. by K. Sato, M. Sakaguchi & H.A. Bremner). Trivandrum, India: Research Signpost., 1999, **273**, 32000-32008, pp. 81-94.
- [4] Folsch J, Lees M., Sloane G.H., Stanley G.H.: A simple method for isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J. Biol.*, 1957, **226**, 497-509.
- [5] Halamičková A., Malota L.: Muscle thiobarbituric acid reactive substance of the Atlantic Herring (*Clupea harengus*) in marinades collected in the market network. *Acta Vet. Brno.*, 2010, **79**, 329-333.
- [6] Hamre K, Sandnes L.K.: Seasonal development of nutrient composition, lipid oxidation and colour of fillets from Norwegian spring-spawning herring (*Clupea harengus L.*). *Food Chem.*, 2003, **82**, 441-446.
- [7] Horst K., Roepstroff A., Huss H.H., Bloemsma B.: Survival of Anisakis larvae in marinated herring fillets. *Int. J. Food Sci. Tech.*, 1995, **29**, 661-670.
- [8] Hultin H.O.: Oxidation of lipids in the seafoods, In *Seafood Chemistry, Processing Technology and Quality*. Ed Shahidi F & Botto JR., Blackie A&P, London, UK, 1994, pp. 47-74.
- [9] Hultin H.O., Kelleher S.D.: Surimi processing from dark muscle fish. In JW Park. Ed. *Surimi and Surimi Seafood*, Marcel Dekker, New York 2000, pp. 59-77.

- [10] Kanner J, Harel S., Köse S.: Lipid peroxidation of muscle food as affected by NaCl. *J. Agr. Food Chem.*, 2002, **39**, 1017-1021.
- [11] Kelleher S.D., Silva L.A, Hultin H.H., Wilhelm K.A.: Inhibition of lipids oxidation during processing on washed, minced atlantic mackerel. *J. Food Sci.*, 1992, **57**, 1103-1119.
- [12] Kilinc B., Cakli S.: Chemical, microbiological and sensory changes in thawed frozen fillets of sardine (*Sardina pilchardus*) during marination. *Food Chem.*, 2004, **88**, 275-280.
- [13] Kołakowska A., Domiszewski Z., Bienkiewicz G., Szczygielski M.: Effect of thermal treatment of Baltic herring and spart on n-3 PUFA's and lipid oxidation. Presented at Lipidforum, 21st Nordic Lipid Symposium, Bergen 2001, June 5-8.
- [14] Kołakowska A., Olley J., Dunstan G.A.: Fish lipids. In: *Chemical and Functional Properties of Food Lipids*. Z.E. Sikorski and A. Kołakowska (eds.). CRC Press, Boca Raton, 2002, pp. 221-264.
- [15] Kołakowska A., Szczygielski M, Bienkiewicz G, Zienkiewicz L.: Some of fish species as a source of n-3 polyunsaturated fatty acids. *Acta Ichthyol. Pisc.*, 2000, **30**, 59-70.
- [16] Kołakowski E., Kołakowska A.: Postępy w technologii solenia i marynowania ryb. Poradnik dla przetwórców ryb. Opracowanie w ramach projektu „Transfer wiedzy z zakresu innowacyjnych technik hodowli i technologii przetwórstwa ryb z uczelni wyższej do sektora rybołówstwa”, SPO „Rybołówstwo i Przetwórstwo Ryb 2004-2006”. Wyd. AR Szczecin 2007.
- [17] Kuza K., Zapletal P., Pustkowiak H., Węglarz A., Skrzyński G.: The fatty acids composition in frozen flaps of atlantic herring (*Clupea harengus*). *Anim. Sci.*, 2006, **1**, Supl., 188-189.
- [18] Kuza K., Zapletal P., Węglarz A., Skrzyński G., Pustkowiak H.: Bioactive role of fish dark muscles. *Scientific Messenger of Lviv State Academy of Veterinary Medicine*, 2005, **7**, 4, (2), 149-153.
- [19] Lund B.M., Eklund T.: Control of pH and use of organic acids. In: Lund B.M., Baird-Parker T.C., Gould G.W. (Eds.), *The microbiological safety and quality of food*. Vol. 1, Aspen Publishers, Inc., Gaithersburg, Maryland 2000, p.175.
- [20] Lyhs U., Koort J.M.K., Lundström H.S., Björkroth K.J.: *Leuconostoc gelidum* and *Leuconostoc gasicomitatum* strains dominated the lactic acid bacterium population associated with strong slime formstion in an acetic-acid herring preserve. *Int. J. Food Microbiol.*, 2004, **90**, 207-218.
- [21] Nielsen L.B., Nielsen H.H.: Purification and characterization of cathepsin D from herring muscle (*Clupea harengus*). *Comp. Biochem. Physiol.*, 2001, **128 B**, 351-363.
- [22] Nielsen M.K., Nielsen H.H.: Seafood enzymes. Chapter 17 in *Food Biochemistry and Food Processing*. Ed. by Y.H. Hui, Blackwell Publishing, 2006, p. 82.
- [23] Official Methods of Analysis of AOAC International, 16th Edition, 1995; Supplement, March 1996, AOAC International, Gaithersburg, MD, Chapter 41, p.21. Fatty Acids in Encapsulated Fish Oils and Fish Oil Methyl and Ethyl Esters.
- [24] PN-ISO 1444: 2000. Mięso i przetwory mięsne. Oznaczenie zawartości tłuszczu wolnego.
- [25] Ren J., Wang H., Zhao M., Cui Ch., Hu X.: Enzymatic hydrolysis of grass carp myofibrillar protein and antioxidant properties of hydrolysates. *Czech J. Food Sci.*, 2010, **28 (6)**, 475-484.
- [26] Sallam Kh.I., Ahmed A.M., Elgazzar M.M., Eldaly E.A.: Chemical quality and sensory attributes of marinated Pacific saury (*Cololabis saira*) during vacuum-packaged storage at 4°C. *Food Chem.*, 2007, **102**, 1061-1070.
- [27] Sargent J.R.: (n-3) polyunsaturated fatty acids and farmed fish. In: Hamilton RJ, Rice RD, editors. *Fish oil technology, nutrition and marketing*. Bucks, UK: P.J. Barnes and Associates, 1995, p. 67-94.
- [28] SAS/STAT. User's Guide, Version 8, Fourth Edition, 1990, **2**, 1135-1195.
- [29] Shenderyuk V.I., Bykowski P.J.: Salting and marination of fish. In Z.E. Sikorski (Ed.), *Seafood: resources, nutritional composition and preservation*, CRC Press, Inc, Boca Raton, Florida, 1989, pp. 147-62.
- [30] Sikorski E. Z.: Ryby i bezkręgowce morskie, pozyskiwanie, właściwości i przetwarzanie. WNT, Warszawa 2004.

- [31] Slotte A.: Differential utilization of energy during wintering and spawning migration in Norwegian spring-spawning herring. *J. Fish Biol.*, 1999, **54**, 338-355.
- [32] Taylor R.G., Fjaera S.O., Skjervold P.O.: Salmon fillet texture is determined by myofiber-myofiber and myofibermyocommata attachment. *J. Food Sci.*, 2002, **67**, 2067-2071.
- [33] Underland I., Ekstrand B., Lingnert H.: Lipid oxidation in herring (*Clupea harengus*) light muscle, dark muscle and skin, stored separately or as intact fillets. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 1998, **75**, 581-590.
- [34] Underland I., Stading M., Lingnert H.: Influence of skinning on lipid oxidation in different horizontal layers of herring (*Clupea harengus*) during storage. *J. Sci. Food Agr.*, 1998, **78**, 441-450.
- [35] Zaman M.Z., Bakar F.A., Selamat J., Bakar J.: Occurrence of biogenic amines and amines degrading bacteria in fish sauce. *Czech J. Food Sci.*, 2010, **28**, 440-449.

IMPACT OF PRODUCTION STAGES OF ATLANTIC HERRING (*CLUPEA HARENGUS*) COLD MARINADES ON PROFILE OF FATTY ACIDS IN FISH FAT

S u m m a r y

The objective of the study was to determine the composition of fatty acids in the fat of Atlantic herrings (*Clupea harengus*) after each subsequent stage of producing cold marinades thereof, and, also, during the period of storage. The study was performed using frozen fillets made of Atlantic herring fish (n = 320) netted in the FAO 27 fishing zone in the North Sea. Deep-frozen (-18 °C), 15 - 20 kg blocks of the fish netted were delivered to a manufacturing plant. According to the Polish Standards, the fish fillets represented an H assortment, i.e. 10 - 16 fillets equalled 1 kg of raw material. Two experiments were carried out; each one was divided into 4 stages. The first two stages were the production stages; they were performed at the processing plant. The other two were incorporated to determine the changes in the fat of fish analyzed during their storage. In stage 1, when the fish fillets were initially mixed with the marinating brine, two methods applied by the manufacturing plant were studied. Method I was a traditional method: components of the marinating brine diffused into the raw material during the marinating bath in a pool. In Method II, a special rotating drum was used: the raw material was in the drum and the marinating brine was supplied thereto by a pipeline. The process of marinating did not cause any significant changes in the percentage content of individual fatty acid groups. The monoenic acids prevailed, next, the saturated acids came followed by the polyenic acids (MUFA>SFA>PUFA). Significant ($p < 0.05$) changes were related only with the decreases in the level of PUFA and in the n-3/n-6 ratio ($p < 0.01$) in stage II in the two experiments. On this basis, it can be concluded that the use of rotating drum in order to better mix the raw material with the marinating brine did not contribute to the decreased in the PUFA level found in the marinated fillets. The traditionally marinated fillets were characterized by higher contents of EPA and DHA acids compared to the fillets marinated in the rotating drum. During the 30 and 60 day storage periods, the level of long-fatty n-3 PUFA acids in the marinating fillets was still high and did not differ significantly from the levels thereof in raw fillets.

Key words: marinating, Atlantic herring, fatty acids ☒