



ŻYWNOŚĆ

Nauka Technologia Jakość

FOOD

Science Technology Quality

Nr 4 (107)

Kraków 2016

Rok 23

Redaktor naczelny: prof. dr hab. Lesław Juszcak; 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 hab. Mariusz Witczak

Stali współpracownicy: dr Grażyna Morkis (Kraków)

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

WYDAWCA: POLSKIE TOWARZYSTWO TECHNOLOGÓW ŻYWNOSTCI 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 4 (107)

Kraków 2016

Rok 23

SPIS TREŚCI

Od Redakcji.....	3
MAGDALENA GÓRSKA: Rola dystrofiny w kształtowaniu jakości mięsa <i>post mortem</i>	5
URSZULA ŚWIERCZEK, ALICJA BOROWIECKA, JOANNA FEDER-KUBIS: STRUKTURA, Właściwości i przykłady zastosowań syntetycznych substancji słodzących	15
MARZENA KOWALSKA, BARBARA SOKOŁOWSKA: Wykorzystanie bakteriofagów w łańcuchu żywnościowym.....	26
PIOTR DOMARADZKI, ZYGMUNT LITWIŃCZUK, ANNA LITWIŃCZUK, MARIUSZ FLOREK: Zmiany tekstury i właściwości sensorycznych wybranych mięśni szkieletowych różnych kategorii bydła rzeźnego w okresie 12-dniowego dojrzewania próżniowego	37
PIOTR SZYMAŃSKI, DANUTA KOŁOŻYŃ-KRAJEWSKA: Wpływ zastosowania <i>Staphylococcus carnosus</i> ATCC-51365 w procesie pekiowania mięsa na wybrane cechy jakości modelowego produktu mięsnego	53
PIOTR ŻELAZOWSKI, MONIKA WSZOŁEK, MAGDA FILIPCZAK-FIUTAK: Jakość kumysu z mleka oślego.....	66
AGATA ZNAMIROWSKA, KATARZYNA SZAJNAR, MAŁGORZATA PAWŁOS, DOROTA KALICKA: Ocena możliwości zastosowania chelatu aminokwasowego magnezu do wzbogacania jogurtu	80
ALEKSANDRA CIOŁKOWSKA, WALDEMAR GUSTAW, KATARZYNA SKRZYPCZAK, BARTOSZ SOŁOWIEJ, ANETA SŁAWIŃSKA: Właściwości reologiczne modelowych napojów fermentowanych otrzymanych z wybranych preparatów białek serwatkowych z dodatkiem inuliny	92
KRZYSZTOF SURÓWKA, MAGDALENA RZEPKA, IRENEUSZ MACIEJASZEK, IWONA TESAROWICZ, AGNIESZKA ZAWIŚLAK, JOANNA BANAŚ: Jakość i bezpieczeństwo serków wędzonych wytwarzanych w regionie Podhala	102
KATARZYNA PARADOWSKA, MARTA CZERNIEJEWSKA, AGNIESZKA ZIELIŃSKA, JOANNA J. SĄKOWSKA-KOZIELEWICZ: Aktywność przeciwutleniająca ekstraktów z suszonych owoców Goji	115
ROBERT WITKOWICZ, ELŻBIETA PISULEWSKA, AGNIESZKA KIDACKA, BARBARA MICKOWSKA: Skład aminokwasowy oraz jakość białka ziarna żółto- i brązowoplewkowych form owsa siewnego (<i>Avena sativa</i>).....	125
JOANNA DANIELCZUK, AURELIA G. HAŁASIŃSKA, SYLWIA SKĄPSKA: Opracowanie i walidacja sensorycznej metody skalowania z elementami QDA do oceny jakości produktów owocowych i warzywnych oraz sterowanie jakością otrzymywanych wyników	141
HENRYK KOSTYRA, ELŻBIETA KOSTYRA, DAGMARA ŻŁOTKOWSKA: Chemia bionieorganiczna i bioorganiczna żywności.....	158
GRAŻYNA MORKIS: Problematyka żywnościowa w ustawodawstwie polskim i unijnym	162
LESŁAW JUSZCZAK: Nowe książki	166
Twórcy polskiej nauki o żywności: : Prof. dr hab. Jacek Kijowski (1948 - 2013)	169
Technolog Żywności.....	172

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 4 (107)

Kraków 2016

Vol. 23

CONTENTS

From the Editor.....	3
MAGDALENA GÓRSKA: Role of dystrophin in shaping quality of <i>post mortem</i> meat.....	5
URSZULA ŚWIERCZEK, ALICJA BOROWIECKA, JOANNA FEDER-KUBIS: Structure, properties, and examples of applying synthetic sweeteners	15
MARZENA KOWALSKA, BARBARA SOKOŁOWSKA: Utilisation of bacteriophages in the food chain	26
PIOTR DOMARADZKI, ZYGMUNT LITWIŃCZUK, ANNA LITWIŃCZUK, MARIUSZ FLOREK: Changes in texture and sensory properties of selected muscles of slaughter cattle of different categories during 12 days of vacuum aging	37
PIOTR SZYMAŃSKI, DANUTA KOŁOŻYN-KRAJEWSKA: Effect of <i>Staphylococcus carnosus</i> ATCC-51365 applied to meat curing process on quality features of model meat product	53
PIOTR ŻELAZOWSKI, MONIKA WSZOŁEK, MAGDA FILIPCZAK-FIUTAK: Quality of koumiss made from donkey's milk.....	66
AGATA ZNAMIROWSKA, KATARZYNA SZAJNAR, MAŁGORZATA PAWŁOS, DOROTA KALICKA: Assessing possible applications of magnesium amino acid chelate to enrich yoghurt.....	80
ALEKSANDRA CIOŁKOWSKA, WALDEMAR GUSTAW, KATARZYNA SKRZYPCZAK, BARTOSZ SOŁOWIEJ, ANETA SŁAWIŃSKA: Rheological properties of model fermented beverages produced from selected whey protein preparations with inulin added	92
KRZYSZTOF SURÓWKA, MAGDALENA RZEPKA, IRENEUSZ MACIEJASZEK, IWONA TESAROWICZ, AGNIESZKA ZAWIŚLAK, JOANNA BANAS: Quality and safety of smoked cheeses manufactured in the Podhale region	102
KATARZYNA PARADOWSKA, MARTA CZERNIEJEWSKA, AGNIESZKA ZIELIŃSKA, JOANNA J. SAJKOWSKA-KOZIELEWICZ: Antioxidative activity of dried <i>Lycium barbarum</i> Goji fruit extracts	115
ROBERT WITKOWICZ, ELŻBIETA PISULEWSKA, AGNIESZKA KIDACKA, BARBARA MICKOWSKA: Composition of amino acids and quality of proteins in grains of oats with yellow and brown glume (<i>Avena sativa</i>).....	125
JOANNA DANIELCZUK, AURELIA G. HAŁASIŃSKA, SYLWIA SKĄPSKA: Development and validation of sensory scaling method with qda elements to evaluate quality of fruit and vegetable products as well as quality control of results obtained	141
HENRYK KOSTYRA, ELŻBIETA KOSTYRA, DAGMARA ZŁOTKOWSKA: Bioinorganic and bioorganic chemistry of food	158
GRAŻYNA MORKIS: Food problems in Polish and EU legislation	162
LESŁAW JUSZCZAK: Book reviews.....	166
Creators of the Polish food science: Prof. dr hab. Jacek Kijowski (1948 - 2013)	169
The Food Technologist.....	172

Only reviewed papers are published

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

OD REDAKCJI

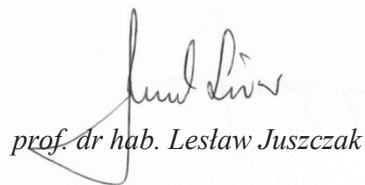
Szanowni Czytelnicy,

przekazujemy Państwu nr 4 (107) czasopisma Żywność. Nauka. Technologia. Jakość. Przedstawiamy w nim zróżnicowane tematycznie artykuły naukowe z kilku krajowych ośrodków badawczych zajmujących się szeroko pojętą nauką o żywności. Zapraszamy również do lektury materiałów zawartych w stałych działach.

Zapraszamy do odwiedzania strony internetowej czasopisma pod adresem: <http://wydawnictwo.pttz.org/>. Znajdą tam Państwo podstawowe informacje o czasopiśmie, wymagania dla autorów oraz archiwum wydań od 2004 roku zawierające zarówno pełne zeszyty czasopisma, jak i poszczególne artykuły w formacie PDF.

Kraków, sierpień 2016 r.

Redaktor Naczelny



prof. dr hab. Lesław Juszcak

MAGDALENA GÓRSKA

ROLA DYSTROFINY W KSZTAŁTOWANIU JAKOŚCI MIĘSA POST MORTEM

Streszczenie

Na jakość mięsa wpływa wiele czynników, do których zalicza się: cechy genetyczne (rasa, genotyp, płeć), uwarunkowania środowiskowe (system żywienia, wiek, masa ubojowa, warunki utrzymania) oraz wewnątrzkomórkowe procesy biologiczne zachodzące po uboju zwierzęcia. W wieloetapowym procesie konwersji mięśnia w mięso w tkance mięśniowej następują liczne modyfikacje strukturalne i biochemiczne, które umożliwiają uzyskanie określonych walorów smakowych i parametrów fizykochemicznych mięsa. Z uwagi na przydatność konsumpcyjną i technologiczną mięsa, jednym z najistotniejszych parametrów jego jakości są: kruchość oraz wyciek soku mięsnego. Do procesów o kluczowym znaczeniu w kształtowaniu cech jakościowych mięsa należy proteoliza białek cytoszkieletu, m.in. dystrofiny. Wchodzi ona w skład kostamerów, a jej funkcja związana jest także z kompleksem glikoproteinowym DAG (*dystrophin-associated-glycoprotein*). Pośmiertną degradację omawianego białka badano w mięśniach bydła, świń i owiec. Prowadzono także badania modelowe na myszach. W niniejszej pracy przedstawiono wyniki badań, zgodnie z którymi tempo degradacji dystrofiny jest przypuszczalnie związane z takimi parametrami fizykochemicznymi mięsa, jak: kruchość (siła cięcia) i wyciek soku mięsnego. W czasie przechowywania mięsa następuje obniżenie wartości pH oraz zmniejszenie poziomu natywnej dystrofiny, co prawdopodobnie może przyczynić się do wzrostu kruchości mięsa oraz wielkości wycieku soku mięsnego. Ilość wycieku soku mięsnego szczególnie w mięsie wieprzowym być może wskazuje, że jest on bardziej powiązany z degradacją integryny i formowaniem tzw. kanałów wycieku. Wpływ degradacji dystrofiny *post mortem* na jakość mięsa wymaga dalszych badań naukowych, głównie na poziomie molekularnym.

Słowa kluczowe: dystrofina, białka cytoszkieletu, kostamery, pośmiertna proteoliza, jakość mięsa

Wprowadzenie

Mięso charakteryzuje się bogatym składem chemicznym, a tym samym dużą wartością odżywczą, dzięki czemu możliwe jest dostarczenie organizmowi niezbędnych

*Mgr inż. M. Górską, Zakład Anatomii Zwierząt, Instytut Nauk Weterynaryjnych, Wydz. Hodowli i Biologii Zwierząt, Uniwersytet Rolniczy w Krakowie, al. Mickiewicza 24/28, 30-059 Kraków.
Kontakt: m.gorska@ur.krakow.pl*

składników budulcowych i energetycznych. Ważną cechą mięsa jest duża zawartość cennych białek, egzogennych aminokwasów, soli mineralnych oraz licznych witamin, szczególnie z grupy B [7, 24].

Jakość mięsa oznacza kompleks właściwości surowca decydujących o satysfakcji nabywcy, które tworzą się w czasie chowu zwierząt [45]. W wieloetapowym procesie konwersji mięśnia w mięso istotną fazą jest postępowanie poubojowe [10]. Wówczas w procesie przechowywania mięsa, obejmującym tenderyzację, następują pośmiertne modyfikacje strukturalne i biochemiczne. Zjawisko to jest niezbędne, aby mięso uzyskało oczekiwane walory smakowe i określone parametry fizykochemiczne [6, 24]. Na przebieg tenderyzacji w dużym stopniu składa się degradacja białek mięśniowych [5, 20], której czas trwania oraz efektywność zależą głównie od typu mięśnia, wieku, płci oraz rasy zwierząt. Niewątpliwie znaczenie ma dodatkowo profil genetyczny.

Do istotnych białek mięśniowych cytoszkieletu zalicza się cenne białka podporowe (zwnątrzsarkomerowe), takie jak: laminina, desmina oraz dystrofina. Pośmiertną degradację omawianego białka badano w mięśniach bydła, świń i owiec. Prowadzono także badania modelowe na myszach [15, 16, 27, 29, 43].

Celem niniejszej pracy było przedstawienie roli dystrofiny w kształtowaniu jakości mięsa *post mortem*.

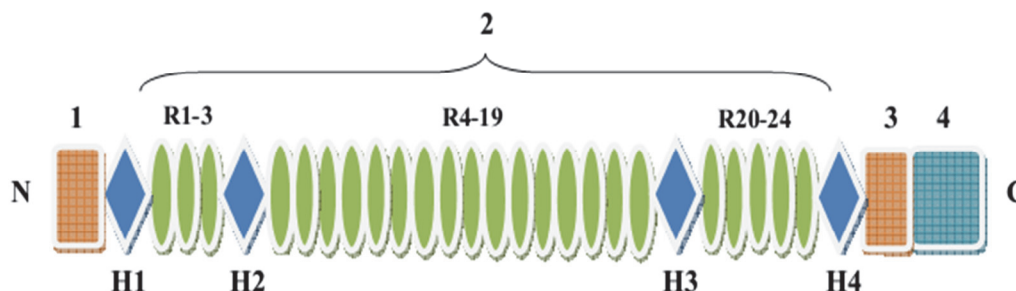
Lokalizacja, struktura i funkcja dystrofiny

Dystrofina jest dużą proteiną o masie cząsteczkowej $427 \cdot 10^3$ Da, zbudowaną z 3685 aminokwasów i kodowaną przez pojedynczy gen (DMD) [1]. Zlokalizowana jest głównie na wewnętrznej powierzchni błony komórkowej mięśni poprzecznie prążkowanych szkieletowych. Obecność tego białka wykazano również w mózgu, siatkówce oka, sercu i mięśniach gładkich [4]. Stanowi ona około 5 % puli białek cytoszkieletu, średnio 2 % białek sarkolemy i zaledwie 0,002 % całkowitej ilości białek mięśni poprzecznie prążkowanych szkieletowych [18, 36].

Omawiane białko ma cztery strukturalne domeny o zmiennej strukturze chemicznej i odmiennych funkcjach [26] – rys. 1. Pierwsza domena na N-końcu stanowi homologiczny region z wiążącymi aktyne sekwencjami w α -aktynie i β -spektrynie [11]. Domenę centralną, najdłuższą, stanowią 24 powtarzające się homologiczne odcinki oraz elastycznie rozłożone obszary bogate w prolinę (na rys. 1. zaznaczone literami H1 - H4) [8, 25]. Następną domenę cząsteczki dystrofiny stanowi odcinek o dużej zawartości cysteiny. Ostatnia C-końcowa domena cząsteczki zawiera kilka charakterystycznych elementów: domenę WW, motyw „EF hands”, domenę ZZ oraz dwie α -helisy [1].

Dystrofina spełnia różnorodne funkcje. Kwalifikowana jest do układu białek zwanego kostamerem, który stanowi istotny element strukturalny komórki mięśniowej [34]. Podstawową funkcją tego kompleksu jest utrzymanie stabilności i zachowanie selektywnej przepuszczalności błony komórkowej. Ponadto bierze udział w przekazy-

waniu sygnałów pomiędzy komórkami, pośredniczy w skurczu i rozkurczu włókien mięśniowych oraz w przenoszeniu sił mechanicznych poprzez sarkolemę poza włókno.



Objaśnienia / Explanatory notes:

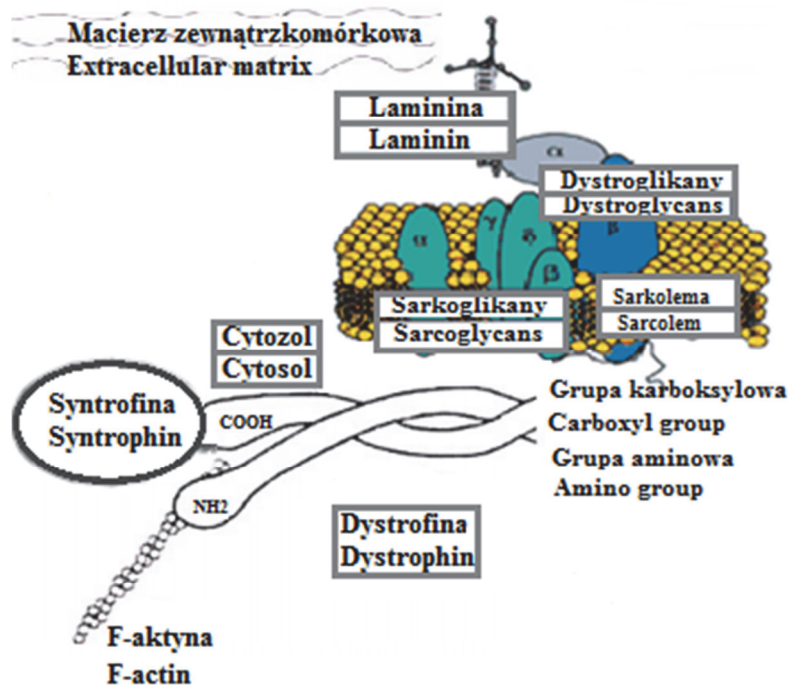
Domena wiążąca aktynę: 1 / Actin binding domain: 1; Domena centralna: 2 / Central domain: 2; Domena bogata w cysteinę: 3 / Cysteine-rich domain: 3; Domena C-końca: 4 / C-terminal domain: 4; Regiony bogate w prolinę: H1 - H4 / Proline-rich regions: H1 - H4; N-końiec: N / N-terminal; C-końiec: C / C-terminal; Homologiczne odcinki: R1 - R24 / Homologous segments: R1 - R24.

Rys. 1. Budowa cząsteczki dystrofiny

Fig. 1. Molecular structure of dystrophin

Źródło / Source: opracowanie własne / the author's own study

Z czynnością dystrofiny mięśniowej związany jest również kompleks glikoproteinowy DAG (*dystrophin-associated-glycoprotein*). Znajduje się on w błonie cytoplazmatycznej komórki mięśniowej i łączy się z ostatnią domeną omawianego białka, zawierającą koniec karboksylowy C (rys. 2). Na kompleks glikoproteinowy DAG składają się mniejsze podjednostki białek: kompleks dystroglikanów (α - i β -dystroglikan), kompleks sarkoglikanów (α -, β -, δ -, γ -sarkoglikan), dystrobrewin, a także kompleks syntrofina (α -, β -1 i β -2-syntrofina) [21, 40]. Dystroglikany łączą dystrofinę z lamininą, a sarkoglikany zbudowane są z czterech równomolarnych, transbłonowych glikoprotein o nieznanym celu. Białko, łącząc się z kompleksem glikoproteinowym, stanowi istotny element strukturalny komórki mięśniowej, który odpowiada m.in. za połączenie sarkolemy z filamentami aktynowymi. Nieprawidłowości w obrębie kompleksu są przyczyną zmniejszonej mechanicznej i osmotycznej odporności sarkolemy, co w efekcie może prowadzić do jej uszkodzenia oraz zwiększenia przepuszczalności [13].



Rys. 2. Schemat kompleksu glikoproteinowego DAG w połączeniu z dystrofiną i F-aktyną

Fig. 2. Scheme DAG glycoprotein complex in combination with dystrophin and F-actin

Źródło / Source: opracowanie własne na podstawie [13] / the author's own study based on [13]

Dystrofina a jakość mięsa

Badania ostatnich lat dowodzą, że tempo degradacji białek strukturalnych cytoszkieletu *post mortem*, w skład których wchodzi desmina, titina, troponina oraz dystrofina, mogą istotnie wpływać na parametry fizykochemiczne mięsa, takie jak kruchość (siła cięcia) czy wyciek soku mięsnego [2, 33, 46].

Jedną z najważniejszych cech jakościowych w organoleptycznej ocenie konsumentkiej jest kruchość mięsa. Na ten wyróżnik wpływa kilka składowych, wśród których uwzględnia się m.in. optymalną zawartość tłuszczu śródmięśniowego (IMF), skład i rozmieszczenie tkanki łącznej, indeks fragmentacji miofibrili (MFI), zmiany enzymatyczne przy dojrzewaniu mięsa, właściwości histochemiczne włókien mięśniowych czy też stopień proteolizy białek strukturalnych cytoszkieletu [23]. Kruchość kształtowana jest przede wszystkim podczas procesu tenderyzacji, który przebiega w czasie przechowywania mięsa *post mortem* przez okres od kilkunastu godzin do nawet kilku tygodni w temp. $3 \div 5$ °C. Zjawisko dojrzewania zależy od warunków

chłodzenia, rodzaju mięśnia oraz gatunku zwierzęcia. W przypadku wołowiny czas dojrzewania mięsa wynosi 2 - 4 tygodni, wieprzowiny – 6 - 10 dni, a drobiu – 0,5 - 1 dnia [19]. W czasie tych przemian dochodzi do wykształcenia pożądanej tekstury, a wzbogaceniu ulega profil smakowo-zapachowy.

Taylor i wsp. [43] analizowali tempo degradacji dystrofiny w *m. semimembranosus* i *m. biceps femoris* bydła w ciągu 144 h przechowywania mięsa w warunkach chłodniczych. Wykazali, że w obydwu analizowanych mięśniach w pierwszych 24 h *post mortem* degradacja dystrofiny przebiegała bardzo wolno. Największy ubytek poziomu dystrofiny autorzy wykazali w *m. semimembranosus* pomiędzy 24. a 72. godziną *post mortem*. Z kolei nieznaczna degradacja tego białka wystąpiła w *m. semimembranosus* po 144 h *post mortem*. W przypadku *m. biceps femoris* po 144 h przechowywaniu mięsa w warunkach chłodniczych *post mortem* niezdegradowanej dystrofiny stwierdzono mniej niż 50 %.

Z obserwacji Taylora i wsp. [41] wynika, że w czasie przechowywania mięsa *post mortem* degradacji podlegały struktury odpowiedzialne za mocowanie miofibryli do sarkolemy, noszące miano kostamerów. Do białek wchodzących w skład tego układu należą oprócz dystrofiny także nebulina, titina, winkulina i desmina. Taylor i wsp. [42] wykazali, że kostamery ulegają całkowitej degradacji w temp. 4 °C w ciągu 72 h *post mortem* i mogą wpływać na przyspieszenie procesu tenderyzacji mięsa [9]. W tym czasie dochodziło do destabilizacji włókien mięśniowych w wyniku destrukcji białek cytoszkieletu tworzących te struktury, jak również rozpadu innych połączeń cytoszkieletowych między sarkolemą a miofibrylami. Skutkiem tego był wzrost kruchości mięsa wołowego (65 ÷ 80 % zmian) w ciągu 4 - 6 dni po uboju zwierzęcia [41]. Potwierdzeniem tych wyników są badania, które przeprowadzili Melody i wsp. [33] na mięśniach świń. Wykazali oni, że szybka degradacja białek cytoszkieletu zwiększa kruchość mięsa.

Przebieg proteolizy dystrofiny *post mortem* został również opisany w badaniach przeprowadzonych na mięsie owczym [14]. Autorzy analizowali tempo degradacji dystrofiny w *m. biceps femoris* owiec normalnych oraz owiec objętych fenotypem callipyge, które charakteryzują się podwyższonym przyrostem masy mięśniowej w trakcie 56-dniowego przechowywania w warunkach chłodniczych. Wykazano znaczące różnice pod względem szybkości degradacji tego białka w mięśniach obu typów owiec. W normalnych mięśniach dystrofina była rozkładana w przeważającej części w ciągu 7 dni *post mortem*. W *m. biceps femoris* owiec callipyge Gessink i Koohmaraie [14] stwierdzili mniej rozległą proteolizę białek *post mortem* niż w normalnych mięśniach. Dystrofina nie została zdegradowana w tym mięśniu nawet w 21. dniu *post mortem*. Różnice proteolizy dystrofiny w mięśniach owiec normalnych i callipyge autorzy upatrują w zawartości kalpastatyny, która w mięśniach zwierząt nieobjętych fenotypem callipyge wynosiła około 60 %. Zdaniem Golla [17] podwyższona aktywność kalpasta-

tyny powodowała obniżenie aktywności kalpain, a tym samym przyczyniała się do zmniejszenia stopnia degradacji białek strukturalnych cytoszkieletu włókien mięśniowych.

Przykład badań mięśni owiec callipyge świadczy o tym, że prawdopodobnie istnieje wyraźna zależność pomiędzy podwyższonym przyrostem masy mięśniowej a jakością mięsa. Fenotyp callipyge umożliwia produkcję mięsa chudego, ale o mniejszej kruchości z tego względu, że degradacja białek *post mortem* przebiega w nieznacznym stopniu. Według Geesinka i Koohmaraie [14] proteoliza białek cytoszkieletu, w tym dystrofiny, w *m. biceps femoris* normalnych owiec zachodzi znacznie szybciej niż w mięśni owiec callipyge, powodując tym samym wzrost kruchości mięsa *post mortem*. Kruchość mięśnia normalnych owiec wynosiła 2,8 kg, a w przypadku owiec objętych fenotypem callipyge – 9,0 kg w 14. dniu *post mortem*.

Głównym magazynem wody w mięśni jest przestrzeń między filamentami aktynowymi a miozynowymi włókna mięśniowego, którą wypełnia aż 75 % wody [42, 44]. Po uboju zwierzęcia następuje skurcz mięśnia, który przyczynia się do zmian strukturalnych w obrębie białek włókna mięśniowego, w tym dystrofiny. Uszkodzenie błon komórkowych powoduje znaczący wypływ wody wewnątrzkomórkowej (wzrost wycieku soku mięsnego). Do czynników mających wpływ na wyciek soku mięsnego można zaliczyć: genotyp [31, 35], stres przedubojowy [35, 37], różnice w metodzie oszłamiania [30] oraz czynniki pośmiertne [28, 32, 43], takie jak: temperatura przechowywania mięsa po uboju [12] czy też szybkie obniżenie pH [22].

Badania Taylora i wsp. [41] oraz Schäfera i wsp. [38] wskazują, że w ciągu pierwszych 24 h *post mortem* pomiędzy poszczególnymi włóknami mięśniowymi zlokalizowane są kanały wycieku. Do ich powstania dochodzi wówczas, gdy włókna mięśniowe zwiększają swoją powierzchnię pod wpływem wody napływającej do struktur wewnątrzkomórkowych. Z kolei po oddzieleniu błony komórkowej od włókna mięśniowego następuje swobodny wyciek wody do przestrzeni pozakomórkowych [3].

Lawson [29] analizowała tempo degradacji dystrofiny *m. longissimus* świń w ciągu 24 h przechowywania mięsa *post mortem* w warunkach chłodniczych i wykazała związek pomiędzy szybkością otwierania się kanałów wycieku a ubytkiem swobodnym soku mięsnego. Autorka stwierdziła, że przy wycieku soku mięsnego równym 2,2 % kanały te widoczne są w 9. h *post mortem*, a duży wyciek swobodny, który wynosił 11,8 %, był warunkowany otwarciem kanałów już 3 h *post mortem*. Z kolei wraz z upływem czasu przechowywania *m. longissimus* przy wycieku swobodnym 12 %, intensywność fluorescencji degradowanej dystrofiny zmniejszyła się w ciągu 24 h *post mortem*. Lawson [29] wykazała, że wyższemu poziomowi zdegradowanej dystrofiny towarzyszył większy wyciek soku mięsnego. Z badań autorki wynika, że chociaż otwarcie kanałów wycieku może być powiązane z degradacją białek cytoszkieletu, powodując wzrost swobodnego wycieku soku mięsnego z tkanki mięśniowej, to jego

powstawanie i wielkość są jednak związane głównie z powstawaniem kanałów wycieku w mięsie wieprzowym i degradacją łańcucha β_1 integryny, a brak jest korelacji z degradacją dystrofiny. Powyższe obserwacje są zgodne z wynikami Taylora i wsp. [41], który wskazuje, że w pierwszej dobie degradacja dystrofiny jest niewielka i ulega spóźnieniu podczas dalszego przechowywania mięsa.

Podsumowanie

Na finalne parametry jakości mięsa bydła, owiec czy świń oraz jego profil mikro-strukturalny wpływa wiele czynników. Kształtowanie się końcowego modelu mięsa jest uzależnione od uwarunkowań genetycznych (rasa, genotyp, płeć), środowiskowych (system żywienia, wiek, masa ubojowa, warunki utrzymania) oraz wewnątrzkomórkowych procesów biologicznych zachodzących po uboju zwierzęcia. Do takich reakcji można zaliczyć proteolizę strukturalnych białek cytoszkieletu, w tym omówioną dystrofinę.

Dystrofina może odgrywać rolę w kształtowaniu jakości mięsa. Degradacji tego białka we włóknach mięśniowych *post mortem* towarzyszy obniżenie wartości pH mięsa, przy jednoczesnym wzroście wielkości wycieku swobodnego oraz wzroście wartości kruchości (siły cięcia), mimo że zależności te nie są ściśle skorelowane.

Praca została sfinansowana z dotacji na naukę przyznanej przez MNiSW w ramach tematu nr BM-4246/2015.

Literatura

- [1] Abmayr S., Chamberlain J.: The structure and function of dystrophin. In: Molecular mechanism of muscular dystrophies. Ed. Winder S.J., Georgetown: Landes Biosci., 2006, pp. 14-34.
- [2] Bee G., Anderson A.L., Lonergan S.M., Huff-Lonergan E.: Rate and extent of pH decline affect proteolysis of cytoskeletal proteins and water-holding capacity in pork. *Meat Sci.*, 2007, **76** (2), 359-365.
- [3] Bertram H.C., Purslow P.P., Andersen H.J.: Relationship between meat structure, water mobility, and distribution: A low-field nuclear magnetic resonance study. *J. Agric. Food Chem.*, 2002, **50** (4), 824-829.
- [4] Blake E.J., Weir A., Newey S.E., Davies K.E.: Function and genetics of dystrophin and dystrophin-related proteins in muscle. *Physiol. Rev.*, 2002, **82** (2), 291-329.
- [5] Bond J.J., Warner R.D.: Ion distribution and protein proteolysis affect water holding capacity of *longissimus thoracis et lumborum* in meat of lamb subjected to antemortem exercise. *Meat Sci.*, 2007, **75** (3), 406-414.
- [6] Cierach M., Modzelewska-Kapituła M., Szaciło K.: The influence of carrageenan on the properties of low-fat frankfurters. *Meat Sci.*, 2009, **82** (3), 295-299.
- [7] Czarniecka-Skubina E., Przybylski W., Jaworska D., Wachowicz I., Urbańska I., Niemyjski S.: Charakterystyka jakości mięsa wieprzowego o zróżnicowanej zawartości tłuszczu śródmięśniowego. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2007, **6** (55), 285-294.
- [8] Davison M.D., Critchley D.R.: α -Actinins and the DMD protein contain spectrin-like repeats. *J. Cell*, 1998, **52** (2), 159-160.

- [9] Delbarre-Ladrat C., Chéret R., Taylor R., Verrez-Bagnis V.: Trends in postmortem aging in fish: understanding of proteolysis and disorganization of the myofibrillar structure. *Crit. Rev. Food Sci., Nutr.* 2006, **46** (5), 409-421.
- [10] Dolatowski Z.J., Twarda J., Dudek M.: Zmiany uwodnienia mięsa podczas dojrzewania. *Annales UMCS Sec. E*, 2004, **59** (4), 1595-1606.
- [11] Fabbizio E., Pons F., Robert A., Hugon G., Bonet-Kerrache A., Mornet D.: The dystrophin superfamily: variability and complexity. *J. Muscle Res. Cell Motil.*, 1994, **15** (6), 595-606.
- [12] Fernandez X., Tornberg E.: The influence of high post-mortem temperature and differing ultimate pH on the course of rigor and aging in pig *longissimus dorsi* muscle. *Meat Sci.*, 1994, **36** (3), 345-363.
- [13] Franz W.M., Müller M., Müller O.J., Herrmann R., Rothmann T., Cremer M., Cohn R.D., Voit T., Katus H.A.: Association of nonsense mutation of dystrophin gene with disruption of sarcoglycan complex in X-linked dilated cardiomyopathy. *Lancet*, 2000, **355** (9217), 1781-1785.
- [14] Geesink G.H., Koohmaraie M.: *Postmortem* proteolysis and calpain/calpastatin activity in callipyge and normal lamb *biceps femoris* during extended *postmortem* storage. *J. Anim. Sci.*, 1999, **77** (6), 1490-1501.
- [15] Geesink G.H., Kuchay S., Chishti A.H., Koohmaraie M.: μ -Calpain is essential for *postmortem* proteolysis of muscle proteins. *J. Anim. Sci.*, 2006, **84** (10), 2834-2840.
- [16] Geesink G.H., Taylor R.G., Koohmaraie M.: Calpain 3/p94 is not involved in *postmortem* proteolysis. *J. Anim. Sci.*, 2005, **83** (7), 1646-1652.
- [17] Goll D.E., Dayton W.R., Singh I., Robson R.M.: Studies of thea-actinin interaction in the Z-disk by using calpain. *J. Biol. Chem.*, 1991, **266** (13), 8501-8510.
- [18] Hoffman E.P., Brown R.H., Kunkel L.M.: Dystrophin: The protein product of the Duchenne muscular dystrophy locus. *J. Cell*, 1987, **51** (6), 919-928.
- [19] Honikel K.O.: Vom Fleisch zum Produkt. *Fleischwirtschaft*, 2004, **5** (84), 228-234.
- [20] Hopkins D.L., Thompson J.N.: The degradation of myofibrillar proteins in beef and lamb using denaturing electrophoresis – An overview. *J. Muscle Foods*, 2002, **13** (2), 81-102.
- [21] Hoshino S., Ohkoshi N., Ishii A., Shoji S.: The expression of α -dystrobrevin and dystrophin during skeletal muscle regeneration. *J. Muscle Res. Cell Motil.*, 2002, **23** (2), 131-138.
- [22] Huff-Lonergan E., Baas T.J., Malek M., Dekkers J.C.M., Prusa K., Rothschild M.F.: Correlations among selected pork quality traits. *J. Anim. Sci.*, 2002, **80** (3), 617-627.
- [23] Huff-Lonergan E., Zhang W., Lonergan S.M.: Biochemistry of *postmortem* muscle – Lessons on mechanisms of meat tenderization. *Meat Sci.*, 2010, **86** (1), 184-195.
- [24] Jiménez-Colmenero F., Carballo J., Cofrades S.: Healthier meat and meat products: their role as functional foods. *Meat Sci.*, 2001, **59** (1), 5-13.
- [25] Koenig M., Kunkel L.M.: Detailed analysis of the repeat domain of dystrophin reveals four potential hinge segments that may confer flexibility. *J. Biol. Chem.*, 1999, **265** (8), 4560-4566.
- [26] Koenig M., Monaco A.P., Kunkel L.M.: The complete sequence of dystrophin predicts a rod-shaped cytoskeletal protein. *J. Cell*, 1988, **53** (2), 219-228.
- [27] Koohmaraie M., Geesink G.H.: Contribution of *postmortem* muscle biochemistry to the delivery of consistent meat quality with particular focus on the calpain system. *Meat Sci.*, 2006, **74** (1), 34-43.
- [28] Kristensen L., Purslow P.P.: The effect of ageing on the water-holding capacity of pork: Role of cytoskeletal proteins. *Meat Sci.*, 2001, **58** (1), 17-23.
- [29] Lawson M.A.: The role of integrin degradation in *post-mortem* drip loss in pork. *Meat Sci.*, 2004, **68** (4), 559-566.
- [30] Lister D., Gregory N.G., Warriss P.D.: Stress in meat animals. In: *Developments in Meat Science*. 2. Ed. Lawrie R.A., Applied Science Publishers, London, 1981, pp. 61-92.
- [31] Lundstrom K., Andersson A., Hansson I.: Effect of the RN gene on technological and sensory meat quality in crossbred pigs with Hampshire as terminal sire. *Meat Sci.*, 1996, **42** (2), 145-153.
- [32] Maribo H., Olseri E.V., Barton-Gade P., Moller A.J., Karlsson A.: Effect of early *post-mortem* cooling on temperature, pH fall and meat quality in pigs. *Meat Sci.*, 1998, **50** (1), 115-129.
- [33] Melody J.L., Lonergan S.M., Rowe L.J., Huiatt T.W., Mayes M.S., Huff-Lonergan E.: Early *post mortem* biochemical factors influence tenderness and water-holding capacity of three porcine muscles. *J. Anim. Sci.*, 2004, **82** (4), 1195-1205.

- [34] Minetti C., Beltrame F., Marcenaro G., Bonilla E.: Dystrophin at the plasma membrane of human muscle fibers shows a costameric localization. *Neuromuscul. Disord.*, 1992, **2** (2), 99-109.
- [35] Mitchell G., Heffron J.J.A.: Porcine stress syndromes. *Adv. Food Res.*, 1982, **28**, 167-230.
- [36] Ohlendieck K., Campbell K.P.: Dystrophin-associated proteins are greatly reduced in skeletal muscle from mdx mice. *J. Cell Biol.*, 1991, **115** (6), 1685-1694.
- [37] Rosenvold K., Andersen H.J.: The significance of pre-slaughter stress and diet on colour and colour stability of pork. *Meat Sci.*, 2003, **63** (2), 199-209.
- [38] 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** (4), 355-366.
- [39] Stoier S., Aaslyng M.D., Olsen E.V., Henckel P.: The effect of stress during lairage and stunning on muscle metabolism and drip loss in Danish pork. *Meat Sci.*, 2001, **59** (2), 127-131.
- [40] Sunada Y., Campbell K.P.: Dystrophin-glycoprotein complex: molecular organization and critical roles in skeletal muscle. *Curr. Opin. Neurol.*, 1995, **8** (5), 379-384.
- [41] Taylor R.G., Geesink G.H., Thompson V.F., Koohmaraie M., Goll D.E.: Z-Disk degradation Responsible for *Postmortem* Tenderization. *J. Anim. Sci.*, 1995, **73** (5), 1351-1367.
- [42] Taylor R.G., Goll D.E., Ouali A.: Enzyme localization during *postmortem* muscle tenderization. In: Expression on tissue proteinases and regulation of protein degradation as related to meat quality Eds. Quali A., Demeyer D., Sruulders F.J.M., ECCEAMST, Utrecht, Netherlands, 1995, pp. 347-358.
- [43] Taylor A.A., Dant S.J.: Influence of carcass cooling rate on drip loss in pigment. *J. Food Technol.*, 1971, **6** (2), 131-139.
- [44] Tornberg E., Andersson A., Goransson A., von Seth G.: Water and fat distribution in pork in relation to sensory properties. In: Pork quality: Genetic and metabolic factors. Eds. Poulanen E., Demeyer D.I., Ruusunen M., Ellis S., Wallingford UK: CAB Intl, 1993, pp. 239-258.
- [45] Wojtysiak D., Migdał W.: Differences of muscle fibre composition and tenderness of *m. longissimus lumborum* between heterozygous and homozygous negative Polish Landrace pigs of the *RYR1*. *Arch. Tierz. Dummerstorf*, 2007, **50**, special issue, 186-193.
- [46] Zhang W.G., Lonergan S.M., Gardner M.A., Huff-Lonergan E.: Contribution of *postmortem* changes of integrin, desmin and μ -calpain to variation in water holding capacity of pork. *Meat Sci.*, 2006, **74** (3), 578-585.

ROLE OF DYSTROPHIN IN SHAPING QUALITY OF *POST MORTEM* MEAT

S u m m a r y

Many factors affect the final quality of meat including the following: genetic background (breed, genotype, sex), environmental conditions (feeding system, age, slaughter weight, animal welfare), and intracellular biological processes, which occur in the slaughtered animal. During the multi-step process of converting the muscle to meat, many structural and biochemical modifications occur in the muscle tissue, which make it possible to obtain specific taste qualities and physical-chemical parameters of the meat. In view of the technological suitability of meat and its fitness for human consumption, one of the most important quality parameters of meat is its tenderness and drip loss. Proteolysis of cytoskeletal proteins, inter alia, dystrophin, is one of the processes of key importance in shaping meat quality characteristics. Dystrophin is part of costameres and its function also relates to the dystrophin-associated glycoprotein (DAG) complex. The *post mortem* degradation of the discussed protein was examined in the muscles of cattle, pigs, and sheep. Model tests were also performed on mice. In the present paper, there are presented results according to which the rate of dystrophin degradation is probably associated with some physical-chemical parameters of meat such as tenderness (shear force) and drip loss. During storage of meat, the pH value decreases as does the native dystrophin level, which can likely contribute to the increased meat tenderness and the amount of drip loss. The amount of drip loss could be, particularly as regards the pork meat, an

indicator of the fact that the drip loss is closer associated with the degradation of integrin and the formation of the so called drip channels. The effect of the *post mortem* degradation of dystrophin on the quality of meat requires further research, mainly at the molecular level.

Key words: dystrophin, cytoskeletal proteins, costameres, *post mortem* proteolysis, meat quality 

URSZULA ŚWIERCZEK, ALICJA BOROWIECKA, JOANNA FEDER-KUBIS

STRUKTURA, WŁAŚCIWOŚCI I PRZYKŁADY ZASTOSOWAŃ SYNTETYCZNYCH SUBSTANCJI SŁODZĄCYCH

Streszczenie

Substancje słodzące w przeciwieństwie do tradycyjnego cukru zasadniczo nie mają wartości odżywczej. Dzięki odpowiednim właściwościom smakowym i fizykochemicznym, m.in. odporności na wysokie temperatury, stabilności chemicznej oraz rozpuszczalności w wodzie i innych mediach są stosowane w przemyśle spożywczym. Związki te pozyskuje się z surowców roślinnych lub otrzymuje w wyniku reakcji chemicznych, a ich produkcja sięga tysięcy ton rocznie. Substancje intensywnie słodzące można podzielić ze względu na rodzaj elementu strukturalnego występującego w cząsteczce na: aromatyczne, cykliczne oraz heterocykliczne. Możliwa jest również klasyfikacja ze względu na obecność grup funkcyjnych: sulfonamidy (np. cyklaminian i sacharyna), dipeptydy (np. aspartam, alitam, neotam), pochodne sacharozy (np. sukraloza) czy też mniej znane pochodne guanidynowe (*Carrelame*, *Sucrononatei* *Lugduname*).

Substancje intensywnie słodzące charakteryzują się różną intensywnością odczucia smaku słodkiego. Najbardziej intensywne odczucie smaku słodkiego wywołuje neotam, następnie alitam i taumatyna, najslabsze natomiast – cyklaminian oraz jego sole: sodu, potasu czy wapnia. Poza silnymi walorami smakowymi substancje słodzące wykazują właściwości wspomagające żelowanie, nadają produktom odpowiednią trwałość, teksturę, pozwalają niwelować nieprzyjemne, gorzkie posmaki pozostałych dodatków do żywności lub wzmacniać w nich pożądany aromat.

Syntetyczne substancje słodzące są również stosowane w syntezie organicznej jako substraty do otrzymywania związków o interesujących właściwościach, np. antybakteryjnych cieczy jonowych oraz leków przeciwnowotworowych.

Słowa kluczowe: substancje intensywnie słodzące, dozwolone dodatki do żywności, ciecz jonowa, aktywność przeciwnowotworowa

Wprowadzenie

Słodki smak wielu produktów spożywczych warunkowany jest zawartością w nich cukrów, w tym sacharozy. Poza walorami smakowymi sacharoza pełni funkcję

Mgr inż. U. Świerczek, Zakład Chemii Bioorganicznej, inż. A. Borowiecka, dr J. Feder-Kubis, Zakład Inżynierii Chemicznej, Wydz. Chemiczny, Politechnika Wrocławska, ul. C.K. Norwida 4/6, 50-373 Wrocław. Kontakt: urszula.swierczek@pwr.edu.pl

wypełniacza nadającego strukturę produktom spożywczym, m.in. kształtuje odpowiednią lepkość, uczestniczy w procesie żelowania, a dodatkowo może konserwować produkt [3]. Jej powszechność w diecie wiąże się jednak z nadmiernym spożyciem cukrów, co przyczynia się do wzrostu zagrożenia chorobami układu sercowo-naczyniowego i sprzyja otyłości [14, 22]. Poszukuje się więc bezpiecznych zamienników sacharozy [3, 22].

Substancje słodzące, potocznie nazywane słodzikami, odgrywają w przemyśle spożywczym coraz większą rolę. W przeciwieństwie do tradycyjnych cukrów, takich jak glukoza, fruktoza czy sacharoza, należą do związków, które zasadniczo nie mają właściwości odżywczej (*ang. Nonnutritive Sweeteners – NNS*) [16, 25]. Słodki smak jest bez wątpienia największym walorem substancji słodzących, dlatego też pełnią funkcję dodatków do żywności [4, 12]. Na szeroką skalę stosowane są w przemyśle piekarniczym i cukierniczym do wyrobu pieczywa, ciast i ciastek [8, 10, 21], w przemyśle mleczarskim [25] oraz do produkcji napojów [1, 2, 4]. Stosuje się je także jako substancje słodzące w produktach specjalnego przeznaczenia, tj. w suplementach diety dla diabetyków i sportowców [18] oraz w lekarstwach [10].

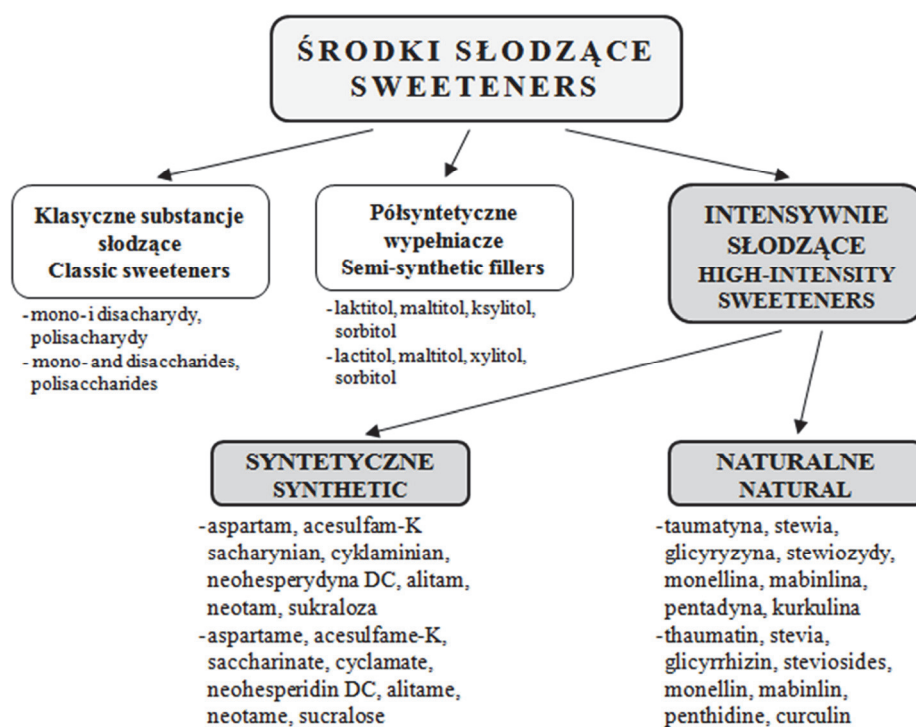
Do powszechnie stosowanych substancji słodzących należą: sole acesulfamowe, aspartamowe, cyklaminy, sacharyniany i sukraloza, czyli związki otrzymywane syntetycznie [3, 8, 23], oraz ksylitol [26], taumatyna [10] i stewia – substancje pochodzenia naturalnego [23].

Główne kryteria wyboru konkretnego preparatu słodzącego stanowią: intensywność odczucia smaku słodkiego, brak negatywnego wpływu na zdrowie, rozpuszczalność w środowisku wodnym, dostępność [10, 11, 23], stabilność termiczna i chemiczna, jak również koszty wytworzenia [4]. Istotnym czynnikiem wpływającym na wybór związków jest różnorodność ich struktury chemicznej. Obecność różnych grup funkcyjnych zawartych w cząsteczkach substancji intensywnie słodzących wpływa na możliwość syntezy związków o nowych właściwościach i zastosowaniu. Na uwagę zasługują słodkie ciecze jonowe (*ang. Sweet Ionic Liquids – SILs*) – organiczne sole wykazujące m.in. aktywność przeciwdrobnoustrojową [9]. Interesującym przykładem są ponadto związki będące prototypem przeciwnowotworowych leków nowej generacji, np. związki kompleksowe typu sacharynian-pallad(II) [24] oraz liczne „słodkie” pochodne stanowiące inhibitory działania enzymów [17].

Podział i właściwości substancji słodzących

Ze względu na intensywność odczucia smaku słodkiego wyróżnia się: substancje klasyczne, jak cukry, w tym sacharoza [2, 26], półsyntetyczne wypełniacze (*ang. semi-synthetic fillers*) – mniej słodkie od cukru buraczanego [2, 8] oraz intensywne środki słodzące (*ang. high-intensity sweeteners*), występujące w naturze oraz pozyskiwane drogą syntezy chemicznej, znacznie przewyższające (od kilkudziesięciu do kilku tysięcy

cy razy) intensywnością odczucia słodkiego smaku pozostałe grupy [10, 23, 26] – rys. 1.



Rys. 1. Klasyfikacja substancji słodzących

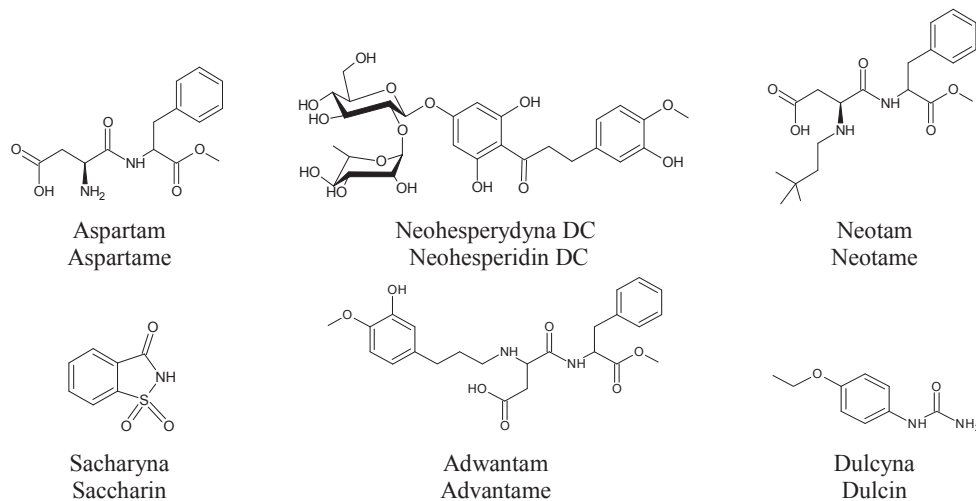
Fig. 1. Classification of the sweeteners

Pod względem strukturalnym wyróżnia się związki:

- 1) zawierające pierścienie aromatyczne: aspartam, neohesperydyna DC, neotam, sacharyna, adwantam, dulcyna (rys. 2);
- 2) cykliczne (w tym także heterocykliczne): cyklaminian sodu, alitam, sukraloza, acesulfam-K (rys. 3).

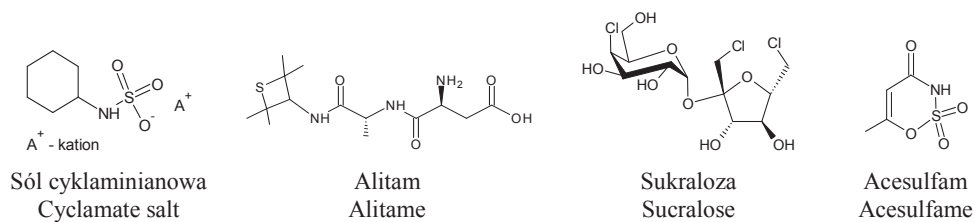
Ze względu na obecność grup funkcyjnych rozróżnia się:

- 1) sulfonamidy: sacharyna, sole cyklaminianowe, acesulfam-K [5];
- 2) dipeptydy: neotam, aspartam, alitam, [5];
- 3) pochodne sacharozy: sukraloza [5];
- 4) pochodne guanidyny: *Carrelame*, *Sucrononate* i *Lugduname* [11, 20] (rys. 4).



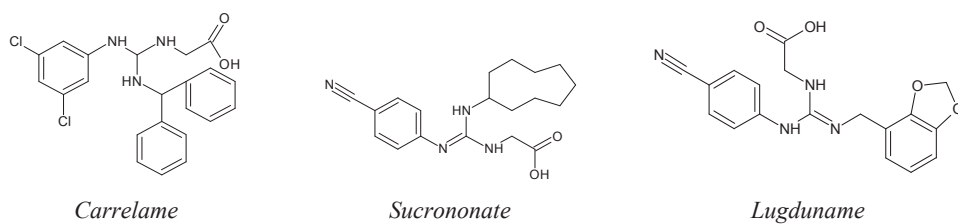
Rys. 2. Syntetyczne substancje słodzące zawierające pierścień aromatyczny

Fig. 2. Synthetic sweeteners containing aromatic ring



Rys. 3. Substancje słodzące cykliczne/heterocykliczne

Fig. 3. Cyclic/heterocyclic sweeteners



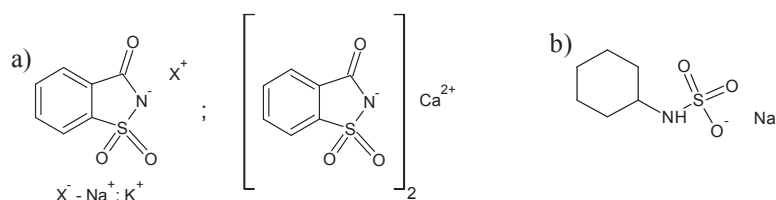
Rys. 4. Słodkie pochodne guanidyny

Fig. 4. Sweet derivatives of guanidine

W zależności od budowy środki intensywnie słodzące wykazują odmienne właściwości fizykochemiczne (tab. 1). Pierwszym związkiem stosowanym na skalę prze-

mysłową była sacharyna [11] (rys. 2). Jako jedna z lepiej przebadanych substancji intensywnie słodzących po wielu latach została uznana za nieszkodliwą dla człowieka w ponad 90 krajach świata [4, 5, 6, 16], w tym w Unii Europejskiej i w Polsce [19]. Jak podają źródła [7], sacharyna odznacza się intensywnością odczucia smaku słodkiego od 250 do nawet 500 razy większą od sacharozy, dzięki czemu możliwe jest obniżenie dawki substancji słodzącej wymaganej do osiągnięcia efektu smakowego. Jest wydalana z moczem w niezmienionej postaci. Dobrze nadaje się więc do maskowania niepożądanych smaków w produkcie spożywczym lub leku, nie zwiększając jego wartości energetycznej (0 kcal/g) [7, 18]. Związek ten występuje w stałej, termicznie stabilnej postaci, jest słabo rozpuszczalny w wodzie, dlatego częściej wykorzystuje się jego sole: sodu, potasu i wapnia (0,67 g/ml) [4, 12] – rys. 5. Wadą sacharyny jest nieprzyjemny, metaliczno-gorzki posmak. Wykazuje ona jednak dobrą synergii z solami cyklaminianowymi i dlatego stosowana jest głównie w ich mieszaninie [7] w stosunku 1 : 10 [15, 18]. Dopuszczalna dzienna dawka (ADI – *ang. Acceptable Daily Intake*) sacharyny dla osoby dorosłej wynosi 5 mg/kg masy ciała [12, 16].

Kolejną substancją intensywnie słodzącą jest cyklaminian sodu. Wśród syntetycznych substancji słodzących charakteryzuje się on jednak najniższą intensywnością odczucia smaku słodkiego. Wykazuje tylko 30 ÷ 40/50 [4, 7, 13, 18] razy intensywniejsze odczucie słodkiego smaku niż sacharoza. Warto jednak podkreślić wysoką termostabilność tego cyklaminianu przewyższającą pozostałe substancje słodzące [13, 15]. Dobrze maskuje goryczkowy posmak sacharyny, jednak w przeciwieństwie do niej jest częściowo wchłaniany przez organizm (ok. 40 %) i przypuszcza się, że jego metabolity mogą wykazywać działanie rakotwórcze [23]. Dlatego też w wielu krajach jego stosowanie było zakazane. Bezzapachowy cyklaminian sodu oraz pozostałe jego sole: potasu oraz wapnia (rys. 5) bardzo dobrze rozpuszczają się w wodzie [26], alkoholu i glikolu propylenowym [15]. ADI omawianej substancji intensywnie słodzącej wynosi 7 mg/kg m. c. [19, 23].

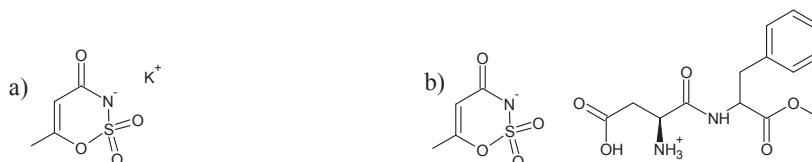


Rys. 5. Substancje intensywnie słodzące zawierające grupę sulfonamidową: a) sole sacharynianowe, b) cyklaminian sodu

Fig. 5. Sweeteners containing sulfonamide group: a) saccharinate salts, b) sodium cyclamate

Do grupy słodkich sulfonamidów należy acesulfam-K, stosowany przemysłowo w postaci soli potasu [6] – rys. 6. Intensywność odczucia smaku słodkiego określa się na poziomie 150 - 200 w stosunku do sacharozy, dla której wartość ta wynosi 1 [1, 7, 23, 25]. Acesulfam-K jest substancją krystaliczną [4] o niskiej wartości energetycznej – 4 kcal/g [23, 26], stabilną termicznie i bardzo dobrze rozpuszczalną w środowisku wodnym [13]. Wywołuje on szybkie odczucie smaku słodkiego, które utrzymuje się nawet w środowisku kwaśnym, występującym w napojach [21]. Jego właściwości słodzące maleją ze wzrostem stężenia w produkcie [26], dlatego też najczęściej sprzedawany jest w postaci mieszaniny z aspartamem [19], solami cyklaminyowymi lub sacharynianowymi i klasyfikuje się na drugim miejscu spożycia substancji intensywnie słodzących w Stanach Zjednoczonych [18].

Najpowszechniej stosowaną substancją słodzącą jest dipeptyd kwasu asparaginyowego i fenyloalaniny – aspartam [6, 11, 13] – rys. 2. Wykazuje on około 200 razy intensywniejszy smak słodki niż sacharoza [7, 18, 23, 26], a produkcja roczna wynosi około 16 tys. ton [21]. Aspartam odznacza się najczystszy smakiem i nie pozostawia gorzkawego posmaku [1]. Mimo niskiej wartości energetycznej – 4 kcal/g [4, 23, 26] oraz zdolności do wzmacniania innych smaków i aromatów cytrusowych brakuje mu cech idealnej substancji intensywnie słodzącej, m.in. dobrej rozpuszczalności w wodzie, trwałości termicznej i chemicznej [4]. Z upływem czasu traci intensywność słodzenia, stąd jego trwałość wynosi do 6 miesięcy [6, 23, 26]. Nie przeszkadza to jednak w jego stosowaniu w ponad 6000 różnego rodzaju produktach, także w formie soli z acesulfamem [18] – rys. 6.



Rys. 6. Struktura soli acesulfamowych: a) acesulfam-K, b) sól aspartamowo-acesulfamowa

Fig. 6. Structure of acesulfame salt: a) K-acesulfame, b) aspartame-acesulfame salt

Związkiem otrzymywanym w wyniku chemicznej syntezy jest neohesperydyna (rys. 2), występująca w postaci dihydrochalkonu (DC) [26]. Dopuszczona do spożycia przez kraje Unii Europejskiej [10], w tym także Polskę [18], wykazuje bardzo dużą intensywność smaku słodkiego: 1000 ÷ 2000/3000 razy wyższą od sacharozy [10, 18].

Tabela 1. Właściwości fizykochemiczne oraz przykłady zastosowań syntetycznych substancji słodzących
Table 1. Physical-chemical properties and examples of applying synthetic sweeteners

Substancja intensywnie słodząca High-intensity sweetener	Rok i wynalazca; źródło / Year and inventor; source	Masa molowa M. weight [g/mol]	Postać Form	Temp. top. Melting point [°C]	Zastosowanie Application
Sacharyna 1,1-diokso 1,2-benzotiazol-3-on ($C_7H_5NO_3S$)	1879 r. Remsen, Fahlberg [1, 2, 4, 18]	183,18	białe, krystaliczne ciało stałe	229,0	pasty do zębów, napoje, produkty dietetyczne, farmaceutyki [1]
Aspartam ester metylowy N-(L- α -aspartylo)-L-fenylalaniny ($C_{14}H_{18}N_2O_5$)	1965 r. Schlatter, Searle [2, 16, 18]	294,30	białe, krystaliczne ciało stałe	246,5	gumy do żucia [21], napoje [26], płatki śniadaniowe [4]
Acesulfam-K 6-metylo-2,2-dioksooksatiazyn-4-olan potasu ($C_4H_4KNO_4S$)	1967 r. Claus, Jansen [2, 6, 16, 21]	201,24	białe ciało stałe lub bezbabarwne kryształy	210,0	wyroby cukiernicze [8], pasty, płyny [6], mię- tówki, desery [21]
Cyklaminian sodu N-cykloheksylosulfaminian sodu($C_6H_{12}NNaO_3S$)	1937 r. Svena [2]	201,22	białe ciało stałe lub bezbabarwne kryształy	265,0	napoje [4], gumy, lody, desery [18]
Alitام L-aspartylo-D-alanylotetrametylotetanyloamid ($C_{14}H_{25}N_3O_4S$)	Lata 80. XX w. [11]	331,43	białe ciało stałe	136 ÷ 147	niedopuszczony w Unii Europejskiej [23]
Sukraloza 1,6-dichloro-1,6-dideoksy- β -D-fruktofuranozyl 4- chloro-4-deoksy-alfa-D-galaktoza ($C_{12}H_{19}Cl_3O_8$)	1976 r. [4, 16]	397,63	białe ciało stałe	180 ÷ 190	napoje orzeźwiające [18]
Neotam ester 1-metylowy N-(N-(3,3-dimetylobutylo)-L- α - aspartylo)-L-fenylalaniny ($C_{20}H_{30}N_2O_5$)	1965 r. [16]	378,46	białe lub białoszare ciało stałe	81 ÷ 84	napoje bezalkoholowe, produkty suche [4]
Neohesperydyna DC dihydrochalkon 2-O- α -L-ramnopiranozyl-4'- β - D-glukopiranozylu hesperytny ($C_{28}H_{36}O_{15}$)	1969 r. Horowitz, Gentili [2, 11]	612,58	ciało stałe	156 ÷ 158	gumy, cukierki, napoje mleczne, słodziki sto- łowe [18]

Neohesperydyna DC jest substancją o niskiej wartości energetycznej [23, 26], niwelującą gorzkawy posmak innych związków [23], a także odporną na wysoką temperaturę [26], dzięki czemu nadaje się do zastosowań, w których wykorzystuje się procesy wysokotemperaturowe, np. w piekarnictwie [18].

Do NNS (*ang. Nonnutrive Sweeteners*) o praktycznie zerowej wartości energetycznej należą także: neotam (0 kcal/g) [7, 23], alitam (1,4 kcal/g) [23] oraz sukraloza (0 kcal/g) [7, 18] – rys. 3. Dwa pierwsze to dipeptydy będące trwalszą wersją aspartamu [4, 11]. Wszystkie natomiast charakteryzują się wysoką odpornością termiczną i dużym stopniem czystości słodkiego smaku [11]. Najbardziej intensywny smak słodki wykazuje neotam: 13 000 razy większy niż sacharoza [11, 23], następnie alitam – 3 000 razy [25] oraz sukraloza będąca pochodną cukru buraczanego – do 800 razy [7, 12].

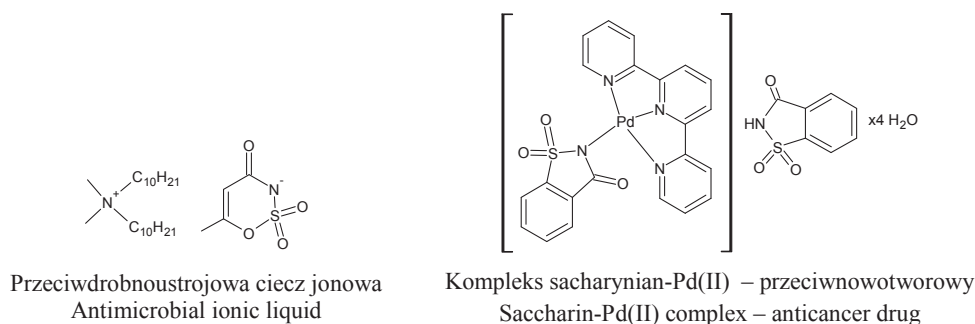
Zastosowanie substancji intensywnie słodzących

W większości przypadków stosowanie środków intensywnie słodzących ma na celu wywołanie odczucia słodkiego smaku. Ze względu na obniżoną wartość energetyczną substancje intensywnie słodzące stosowane są przez osoby cierpiące na choroby powodowane upośledzeniem metabolizmu związków cukrowych, np. na cukrzycę [10] czy otyłość, jak również przez konsumentów dbających o zdrowie i ograniczających spożycie cukrów (głównie sacharozy) w diecie [25].

Do powszechnego stosowania dopuszczono większość opisywanych syntetycznych substancji słodzących [10, 16]. Wiele z nich występuje pod nazwą handlową, np. Nutrasweet i Aminosweet w odniesieniu do aspartamu [11, 20], Splenda w odniesieniu do sukralozy [18, 20], Sun-Net – soli potasowej acesulfamu-K [26]. O ich zawartości w produktach spożywczych informuje trzycyfrowy numer identyfikacyjny „E” na etykiecie [26] np. neotam to E961, cyklaminy sodu – E 952 [23]. Największy udział w światowym rynku syntetycznych substancji intensywnie słodzących mają: sacharyna, sole cyklaminyowe oraz aspartam, łącznie około 60 ÷ 80 tys. ton rocznie [8].

Dostępność oraz opatentowane metody syntezy sprawiły, że opisywane związki o wysokiej intensywności smaku słodkiego znalazły szerokie zastosowanie (tab. 1). Zawierają je produkty spożywcze, m.in. orzeźwiające napoje bezalkoholowe oznaczane jako „light”, „dietetic” lub „sugar-free” [22], przetwory mleczne (jogurty, lody, zimne desery [1, 2], puddingi), dżemy i marmolady, słodczyce [21], słodziki do kawy i herbaty, majonezy [23], sałatki mięsne oraz rybne [2], płatki śniadaniowe [4] oraz gumy do żucia (słodka otoczka utrzymująca smak) [22]. NNS mogą pełnić także rolę dodatków do żywności dietetycznej i lekarstw, np. syropów, bezcukrowych kropli na kaszel czy tabletek [6, 25]. Używane są także w pastach do zębów i płynach do płukania jamy ustnej [23].

Syntetyczne substancje słodzące stały się również substratem w syntezie nowych związków o interesujących właściwościach cieczy jonowych (np. o aktywności antybakteryjnej), inhibitorów aktywności enzymów oraz kompleksów z jonami metali, badanych w kierunku zastosowań medycznych do leczenia nowotworów [9, 17, 24] – rys. 7.



Rys. 7. Związki otrzymane na bazie syntetycznych substancji słodzących.

Fig. 7. Compounds produced on the basis of synthetic sweeteners.

Podsumowanie

Dieta współczesnego człowieka bogata jest w różnego rodzaju substancje słodzące. Najpowszechniej stosowanym związkiem jest sacharoza, dostępna na rynku polskim jako cukier buraczany. Problemy z niezakaźnymi chorobami przewlekłymi, w tym z cukrzycą i otyłością, nasiliły badania w kierunku pozyskania bezpieczniejszych i zarazem wydajniejszych zamienników.

Substancje intensywnie słodzące pochodzenia naturalnego, takie jak: taumatyna i glicyryzyna oraz otrzymane w wyniku procesów chemicznych: neotam, alitam, związki cyklaminianowe i sacharynianowe, acesulfam-K, aspartam, jak również ich sole, przewyższają intensywnością smaku słodkiego cukier. W przeciwieństwie do sacharozy nie mają wartości odżywczej, ale są związkami o niskiej wartości energetycznej. Jest to szczególnie ważne dla diabetyków i osób dbających o zdrowy styl życia. Opisane substancje intensywnie słodzące są bardzo wydajne. Już niewielka ich ilość w produkcie wywołuje odczucie intensywnego słodkiego smaku, co zostało wykorzystane przy produkcji napojów orzeźwiających, słodzików stołowych, słodczy, dżemów, majonezów, przetworów mlecznych, gum do żucia, kosmetyków do higieny jamy ustnej oraz leków. Odporność na wysokie temperatury i zmienne pH pozwoliły na zastosowanie tych substancji także w piekarnictwie.

Substancje intensywnie słodzące są również atrakcyjne w syntezie organicznej nowych związków. Stanowią komponent strukturalny m.in. słodkich cieczy jonowych o aktywności antybakteryjnej oraz prototypu leków przeciwrakowych.

Praca finansowana z dotacji Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego na działalność statutową Wydziału Chemicznego Politechniki Wrocławskiej.

Literatura

- [1] Ansari A., Mulla S., Pramod G.: Artificial sweeteners used in formulation of sugar free syrups. *World J. Pharm.Res.*, 2015, **4** (7), 2203-2211.
- [2] Bogacz A., Lewczuk A.: Intensywne substancje słodzące – szansa dla polskiego producenta i konsumenta (1). *Przem. Ferm. Owoc. Warz.*, 2004, **4**, 15-16.
- [3] Bortkun O.: Sacharydy i substancje słodzące w produkcji żywności (1). *Przem. Ferm. Owoc. Warz.*, 2002, **3**, 41.
- [4] Chattopadhyay S., Raychaudhuri U., Chakraborty R.: Artificial sweeteners – a review. *J. Food Sci. Technol.*, 2014, **51** (4), 611-621.
- [5] Fernandes V., Fernandes L., Vasconcellos J., Jager A., Tonin F., Oliviera M.: Simultaneous analysis of aspartame, cyclamate, saccharin and acesulfame-K by CZE under UV detection. *Anal. Methods-UK*, 2013, **5**, 1524-1532.
- [6] Głowacki J.: Słodczyce a dieta. Czy cukier to „biała śmierć”? *Niedziałki*, 1999, **4** (32), 65-73.
- [7] Goldfein K., Slavin J.: Why sugar is added to food: Food Science 101. *Compr. Rev. Food Sci. F.*, 2015, **14** (5), 644-656.
- [8] Górecka D., Korczak J., Borowska-Parus A.: Zastosowanie substancji słodzących w wyrobach ciastkarskich. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2007, **6** (55), 210-218.
- [9] Hough-Troutman W., Śmiglak M., Griffin S., Matthew W., Mirska I., Jodynis-Libert J., Adamska T., Nawrot J., Stasiewicz M., Rogers R., Pernak J.: Ionic liquids with dual biological function: Sweet and anti-microbial, hydrophobic quaternary ammonium-based salts. *New J. Chem.*, 2009, **33** (1), 26-33.
- [10] Kolanowski W., Waszkiewicz-Robak B.: Taumatyna – środek intensywnie słodzący pochodzenia naturalnego. *Żywność, Żywnienie a Zdrowie*, 1998, **1**, 1-6.
- [11] Kołodziejczyk A.: *Naturalne związki organiczne*, Wyd. Nauk. PWN, Warszawa 2013.
- [12] Koszowska A., Dittfeld A., Nowak J., Brończyk-Puzoń A., Gwizdek K., Bucior J., Zubelewicz-Szkodzińska B.: Cukier – czy warto go zastąpić substancjami słodzącymi? *Nowa Medycyna*, 2014, **1**, 36-41.
- [13] Liu T., Jiang Z-T., Tan J.: Simultaneous Determination of Cyclamate Acesulfame and Aspartame in Beverages by Titania-Based RP-HPLC. *Food Anal. Methods*, 2014, **7** (7), 1400-1406.
- [14] Lowndes J., Sinnett S., Pardo S., Nguyen V., Melanson K., Yu Z., Lowther B., Rippe J.: The Effect of normally consumed amounts of sucrose or high fructose corn syrup in lipid profiles, body composition and related parameters in overweight/obese subject. *Nutrients*, 2014, **6** (3), 1128-1144.
- [15] Martins A., Azoubel R., Lopes R., Matteo M., Arruda J.: Effect of sodium cyclamate on the rat fetal liver: A karyometric and stereological study. *Int. J. Morphol.*, 2005, **23** (3), 221-226.
- [16] Mattes R., Popkin B.: Nonnutrative sweetener consumption in humans: effects on appetite and food intake and their putative mechanisms. *Am. J. Clin. Nutr.*, 2009, **89** (1), 1-14.
- [17] Monte C., Carradori S., Secci D., D'Ascenzio M., Vullo D., Ceruso M., Supuran C.: Cyclic tertiary sulfamates: Selective inhibition of the tumor-associated carbonic anhydrases IX and XII by N- and O-substituted acesulfame derivatives. *Eur. J. Med. Chem.*, 2014, **84**, 240-246.
- [18] Myszowska-Ryciak J., Harton A., Gajewska D., Bawa S.: Środki słodzące w profilaktyce i leczeniu otyłości. *Kosmos*, 2010, **59** (3-4), 365-374.

- [19] Olszanecka-Glinianowicz M., Czupryniak L.: Stanowisko Polskiego Towarzystwa Badań nad Otyłością i Polskiego Towarzystwa Diabetologicznego w sprawie stosowania niskokalorycznych substancji słodzących. *Diab. Klin. Aneks* 5., 2013, **2**, 63-64.
- [20] Ritter S.: The case against sugar. *Chem. Eng. News*, 2014, **92** (31), 11-17.
- [21] Saad A., Khan F., Hayee A., Nazir M.: A Review on potential toxicity of artificial sweeteners vs. safety of stevia: A natural bio-sweetener. *J. Biol. Agric. Healthc.*, 2014, **4** (15), 137-148.
- [22] Świąder K., Waszkiewicz-Robak B.: Intensywność słodczy wybranych substancji słodzących. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2006, **1** (46), 138-191.
- [23] Świąder K., Waszkiewicz-Robak B., Świdorski F.: Substancje intensywnie słodzące – korzyści i zagrożenia. *Probl. Hig. Epidemiol.*, 2011, **92** (3), 392-396.
- [24] Ulukaya E., Ari F., Dimas K., Ikitimur E., Guney E., Yilmaz V.: Anti-cancer activity of a novel palladium(II) complex on human breast cancer cells in vitro and in vivo. *Eur. J. Med. Chem.*, 2011, **46** (10), 4957-4963.
- [25] Waszkiewicz-Robak B., Świdorski F.: Wybrane właściwości funkcjonalne substancji intensywnie słodzących. *Przem. Spoż.*, 2000, **4**, 24-35.
- [26] Waszkiewicz-Robak B.: Słodczy pod kontrolą. *Przegl. Gastr.*, 2002, **1**, 10-11.

STRUCTURE, PROPERTIES, AND EXAMPLES OF APPLYING SYNTHETIC SWEETENERS

S u m m a r y

Contrary to traditional sugar, synthetic sweeteners provide essentially no nutritional value. Owing to their appropriate taste and physical-chemical properties, *inter alia*: resistance to high temperatures, chemical stability, and solubility in water and in other media, they are applied in the food industry. Those compounds are produced from plant materials or obtained in chemical reactions; the production thereof amounts to thousands of tons per annum. High-intensity sweeteners can be divided by the type of structural element present in the molecule into: aromatic, cyclic, and heterocyclic sweeteners. It is also possible to divide them by the presence of functional groups therein into: sulfonamides (*e.g.*: cyclamate and saccharin), dipeptides (*e.g.*: aspartame, alitame, neotame), sucrose derivatives (*e.g.*: sucralose), or guanidine derivatives that are less known (*Carrelame*, *Sucrononate* and *Lugduname*).

High-intensity sweeteners are characterized by varying intensity of their sweet taste. The strongest sweetener is neotame, next, alitame and thaumatin, while the weakest one is cyclamate and its salts: sodium, potassium, and calcium. In addition to their strong taste qualities, sweeteners exhibit gelling properties, they give the products suitable durability and texture; they help reduce unpleasant, bitter aftertastes caused by other food additives or reinforce the desired aroma.

Synthetic sweeteners are also used in the organic synthesis as starting materials to produce compounds with interesting features, for example antimicrobial ionic liquids or anticancer drugs.

Key words: high-intensity sweeteners, permitted food additive, ionic liquid, anticancer activity ☒

MARZENA KOWALSKA, BARBARA SOKOŁOWSKA

WYKORZYSTANIE BAKTERIOFAGÓW W ŁAŃCUCHU ŻYWNOŚCIOWYM

Streszczenie

Bakteriofagi są to wirusy bakteryjne odkryte na początku XX wieku. Niedostateczna wiedza na temat biologii fagów oraz intensywny rozwój antybiotykoterapii sprawiły, że tuż po ich odkryciu zainteresowanie naukowców bakteriofagami zmalało. Obecnie podejmowane są próby rozwiązania problemu bezpieczeństwa mikrobiologicznego żywności poprzez zastosowanie bakteriofagów w całym łańcuchu żywnościowym, w tym do bezpośredniej eliminacji bakterii z powierzchni żywności oraz powierzchni sprzętów mających kontakt z żywnością. Znaczącymi zaletami fagów, przemawiającymi za stosowaniem ich jako środków ochrony żywności, jest zdolność do infekowania wyłącznie specyficznych komórek bakteryjnych, brak wpływu na korozję sprzętów i powierzchni w zakładach przetwarzających żywność oraz brak oddziaływania na właściwości sensoryczne produktów spożywczych. Medycyna weterynaryjna zмага się z szeroko rozpowszechnionym problemem antybiooporności, stąd badany jest potencjał bakteriofagów jako środków wykorzystywanych do zapobiegania infekcjom bakteryjnym u zwierząt hodowlanych i leczenia ich. W tym celu bakteriofagi aplikowane są w postaci aerozoli lub umieszczane w kapsułkach mających zapewnić im ochronę przed inaktywacją w wyniku działania niskiego pH kwasu żołądkowego. Dotychczas przeprowadzone badania potwierdzają również, że bakteriofagi nie wykazują toksycznego wpływu na organizmy ludzi i zwierząt. Fagi stanowią atrakcyjną alternatywę dla dotychczas stosowanych antybiotyków i środków dezynfekcyjnych. Szerokie spektrum zastosowania fagów w łańcuchu żywnościowym umożliwia znaczącą redukcję liczby zatruc pokarmowych na świecie.

Celem niniejszej pracy było przybliżenie najnowszych danych literaturowych dotyczących zastosowania bakteriofagów na każdym etapie procesu powstawania produktów żywnościowych, zwanego powszechnie „od pola do stołu”, oraz przedstawienie najnowszych badań dotyczących stosowania bakteriofagów do szybkiego i łatwego wykrywania bakteryjnych patogenów znajdujących się w żywności.

Słowa kluczowe: bakteriofagi, patogeny, kapsułkowanie, biosensory

Wprowadzenie

Bakteriofagi to wirusy, których gospodarzami są wyłącznie wegetatywne komórki bakteryjne (nie wykazują zdolności do infekowania przetrwalników) [28]. Antybakteryjny potencjał bakteriofagów znany był już w latach 40. XX wieku, jednak intensywny rozwój antybiotykoterapii oraz niedostateczna wiedza dotycząca mechanizmu infekcji tych wirusów spowodowały marginalizację terapii fagowej [2]. Ograniczeniami ówczesnej fagoterapii były także:

- użycie jednego rodzaju faga do zakażenia wywołanego przez wiele gatunków bakterii,
- pojawienie się bakterii fagoopornych,
- inaktywacja fagów przez niskie pH w żołądku w przypadku aplikacji doustnej,
- niszczenie fagów przez układ odpornościowy człowieka,
- endotoksyny zawarte w mieszkankach bakteriofagów.

Powszechność i duża częstotliwość stosowania antybiotyków spowodowały, że obecnie dużym problemem jest wielolekooporność (MDR – *Multi Drug Resistance*) szczepów bakteryjnych [20]. Ponownie zainteresowano się więc bakteriofagami jako środkami mogącymi zastąpić klasyczne metody leczenia. Do wzrostu zainteresowania fagami przyczynił się również rozwój technik biologii molekularnej, umożliwiający znacznie lepsze poznanie mechanizmów ich infekcji i funkcjonowania. Bakteriofagi mogą być wykorzystywane również w łańcuchu żywnościowym, wpływając na zmniejszenie liczby zatruc wywołanych przez drobnoustroje chorobotwórcze przenoszone przez żywność.

Budowa i mechanizm infekcji bakteriofagami

Bakteriofagi zbudowane są z kwasu nukleinowego (dsDNA, ssDNA, dsRNA, ssRNA) otoczonego białkowym kapsydem. Zapewnia on ochronę przed niekorzystnymi czynnikami środowiskowymi, w tym przed działaniem enzymów niszczących DNA faga [13]. Kapsyd bakteriofagów może mieć kształt helikalny (pałeczkowaty), wielościenne (ikosaedry lub sześciiany), sferyczny, wrzecionowaty. Szacuje się, że ponad 96 % bakteriofagów charakteryzuje się strukturą złożoną, na którą składa się główka połączona przez białko łącznikowe z ogonkiem, od którego odchodzą wypustki. Rolą wypustek jest rozpoznawanie receptorów znajdujących się na komórkach gospodarzy. Ogonek może być krótki, długi kurczliwy lub długi niekurczliwy. Bakteriofagi o strukturze złożonej łączą w sobie cechy struktury helikalnej i kosaedralnej [6].

Bakteriofagi są wirusami, które we wstępnym etapie infekcji, zwanym adhezją, przyłączają się do powierzchni komórki bakteryjnej [6, 13]. Kolejny etap obejmuje penetrację materiału genetycznego wirusa do wnętrza komórki, w której następuje transkrypcja i translacja fagowych białek (wirionów potomnych) [13]. Nowo powstałe

cząstki faga są pakowane do białkowych kapsydów, a ich uwolnienie na zewnątrz prowadzi do śmierci komórki bakteryjnej. Taki cykl życiowy faga, który kończy się śmiercią gospodarza, nazywa się cyklem litycznym [22, 24]. Czas trwania całego cyklu, od momentu zainfekowania komórki bakteryjnej do jej lizy, wynosi ok. $1 \div 2$ h [6]. Obok fagów litycznych istnieją również fagi lizogeniczne (łagodne), których materiał genetyczny ma zdolność integracji z materiałem genetycznym gospodarza, a cykl życiowy takich fagów nie musi prowadzić do śmierci komórki [22]. Fag łagodny znajdujący się w komórce w postaci utajonej nazywany jest profagiem. Zintegrowany z chromosomem bakteryjnym profag jest replikowany i przekazywany potomnym komórkom bakteryjnym podczas podziałów [10, 13]. Może on również wejść w cykl lityczny w wyniku działania czynników środowiskowych, takich jak stres czy uszkodzenie DNA gospodarza [19]. W terapiach fagowych niewskazane jest używanie fagów o skłonnościach lizogenicznych ze względu na możliwość wystąpienia zjawiska transdukcji (horyzontalnego transferu genów w populacji bakterii) [10, 24]. W wyniku transdukcji może dochodzić do przeniesienia genów kodujących toksyny, np. toksyny Shiga, toksyny cholery oraz genów kodujących oporność na antybiotyki, pomiędzy szczepami patogennymi i niepatogennymi [13, 19, 24]. Ponadto obecność zintegrowanego profaga może warunkować oporność komórki gospodarza na zakażenie tym samym lub blisko spokrewnionym rodzajem faga [10].

Bezpieczeństwo fagoterapii

Bakteriofagi występują powszechnie w naturalnym środowisku. Prawdopodobnie stanowią najliczniejszą populację w ziemskim ekosystemie – ok. 10^{30} wirionów w biomie [2]. Potwierdzono również obecność bakteriofagów w łańcuchu pokarmowym [2, 20, 22]. Bakteriofagi wyizolowano z żywności świeżej i nieprzetworzonej: z mięsa, świeżych warzyw, owoców i grzybów oraz z żywności przetworzonej: sera, jogurtu, maślanki, groszku, a także z owoców morza [22, 26].

Za bezpieczeństwem stosowania bakteriofagów przemawia wyspecjalizowanie wirusów, które infekują tylko określone grupy bakterii. Dotychczas przeprowadzone badania dowodzą, że doustne podawanie fagów jest nieszkodliwe dla ludzi. Zbadano m.in. wpływ fagów specyficznych dla *Escherichia coli* w modelu mysim i ludzkim. Naukowcy nie zaobserwowali toksycznego wpływu fagów na funkcjonowanie obu tych organizmów [7].

Czynniki wpływające na skuteczność infekcji bakteriofagami

Wykazano, że bakteriofagi są wrażliwe na niskie pH, wysoką temperaturę, zasolenie, ciśnienie osmotyczne oraz rozpuszczalniki organiczne a także na małą wilgotność środowiska [8]. Przy tworzeniu preparatów fagowych należy wziąć pod uwagę środowisko, w jakim rozwijają się gospodarze bakteriofaga oraz jego oporność na wy-

żej wymienione czynniki limitujące. Przykładem zależności zdolności infekcyjnej bakteriofaga od temperatury są fagi zakażające *Listeria monocytogenes*. Aby dokonać adhezji muszą one rozpoznać receptor znajdujący się na wici. Fagi te wykazują słabą zdolność infekcji w temp. 37 °C, gdyż ekspresja genów odpowiadających za ruchliwość wici w tej temperaturze jest hamowana [9]. Według Wanga i Saboura [28] optymalne pH dla większości bakteriofagów zawiera się w zakresie 5 ÷ 8, natomiast obniżenie temperatury zwiększa zakres tolerancji pH do 4 ÷ 9 [28].

Równie ważnym czynnikiem wpływającym na skuteczność infekcji bakterii przez bakteriofaga jest fizjologia komórki gospodarza. Składniki ścian komórkowych bakterii, takie jak kwasy teichojowe (WTA – *Wall Teichoic Acids*) oraz grupy acetylowe peptydoglikanu są receptorami rozpoznawanymi przez większość bakteriofagów [9]. Zmiany w składzie oraz w strukturze WTA lub peptydoglikanu mogą skutkować zmniejszeniem podatności bakterii na infekcje fagami.

Drobnoustroje znajdujące się w żywności oraz na powierzchniach mających kontakt z żywnością są poddawane wielu stresom związanym z działaniem czynników antybakteryjnych. Powszechnie wiadomo, że stres wpływa na zmianę fizjologii komórek bakterii, co pośrednio wpływa na wydajność adsorpcji fagów. Stres wywołany niedoborem składników odżywczych może również negatywnie wpływać na proces adhezji fagów. Zjawisko to można łatwo zaobserwować w przypadku fagów infekujących komórki *E. coli*, które rozpoznają receptor TolC (białkowy transporter kolicyny) na powierzchni komórki gospodarza. Najwyższy stopień adhezji uzyskany będzie w środowisku bogatym w składniki odżywcze, gdyż poziom ekspresji genów kodujących TolC jest wówczas największy [9].

Potencjalne wykorzystanie bakteriofagów do biokontroli patogenów w środowisku naturalnym

Biokontrola to metoda polegająca na wprowadzeniu do środowiska specyficznych organizmów w celu zahamowania rozwoju populacji, które są szkodnikami upraw [13]. Naukowcy wyizolowali fagi z takich części roślin, jak: liście, łodygi, korzenie i nasiona. Według Gilla i Abedona [11] bakteriofagi znajdujące się w warstwie gleby bezpośrednio przylegającej do korzeni roślin, zwanej ryzosferą, charakteryzują się znacznie większą przeżywalnością niż fagi izolowane ze środowiska fyllosfery, czyli nadziemnych części roślin. Prawdopodobną przyczyną tego zjawiska jest znacznie większe narażenie fagów na stresy środowiskowe, takie jak wahania temperatury, wysychanie i promieniowanie UV w przypadku fyllosfery. Wymienieni autorzy sugerują równocześnie, że wykorzystanie fagów jako metody biokontroli znacznie gorzej sprawdzi się w przypadku aplikacji do ryzosfery ze względu na utrudnioną dyfuzję przez wysokoheterogenne środowisko, jakim jest gleba. Stosowanie fagów w otwartym środowisku, jakim są np. pola uprawne, stanowi wciąż wyzwanie dla naukowców ze względu na

brak możliwości całkowitej kontroli warunków środowiskowych, duże zróżnicowanie populacji bakteryjnych patogenów roślin oraz ograniczanie aktywności bakteriofagów przez substancje chemiczne będące pozostałościami po pestycydach [4].

Biokontrola patogenów w świeżych owocach i warzywach

Drobnoustroje (wirusy, bakterie, grzyby) atakujące rośliny uprawne powodują ogromne straty w rolnictwie. Dotychczasowe metody zwalczania fitopatogenów roślin uprawnych polegały na użyciu antybiotyków oraz chemicznych środków na bazie miedzi. Ze względu na szybkie tempo pojawiania się bakterii opornych na stosowane środki bakteriobójcze, prowadzone są badania nad wykorzystaniem koktajli fagowych do zapobiegania oraz zwalczania chorób roślin pochodzenia bakteryjnego. Balogh i wsp. [3, 4] badali efektywność koktajli fagowych w zwalczaniu popularnych w rolnictwie fitopatogenów z rodzaju *Xanthomonas*, w zróżnicowanych warunkach środowiskowych. Koktajle fagowe okazały się skuteczne m.in. w zwalczaniu raka bakteryjnego roślin cytrusowych wywołanego przez *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri* [4]. W doświadczeniach prowadzonych w szklarni, w której istnieje możliwość kontrolowania warunków, redukcja nasilenia choroby grejpfrutów odmiany 'Duncan' przy zastosowaniu mieszanki fagów wynosiła 59 %. W warunkach polowych użycie mieszanki bakteriofagów do umiarkowanie wrażliwych pomarańczy odmiany 'Valencia' skutkowało redukcją nasilenia choroby o ok. 48 %, lecz było nieefektywne w przypadku bardzo wrażliwych na ten rodzaj fitopatogenu grejpfrutów odmiany 'Duncan' [4]. Z uwagi na trudności stosowania fagów na otwartej przestrzeni oraz ich stosunkowo krótki czas przeżywalności na tkance roślinnej, Balogh i wsp. [3, 5] poszukiwali formuły ochronnej, która zwiększyłaby aktywność fagów oraz ich odporność na niekorzystne warunki środowiskowe. Pozytywne wyniki uzyskali po zawieszeniu fagów w 0,75-procentowym odtłuszczonej mleku oraz w mieszaninie preżelatynizowanej mąki kukurydzianej i sacharozy. Obie formuły znacząco wydłużały okres zachowywania aktywności fagów na tkance roślinnej, powodując jednocześnie zmniejszenie liczby zmian chorobowych (bakteryjnej plamistości pomidora) wywołanych przez *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*. Badacze wskazywali również na istotność doboru pory dnia podczas aplikacji bakteriofagów. Uznali, że najlepszym okresem jest wczesny ranek lub późny wieczór ze względu na ograniczenie promieni UV negatywnie wpływających na aktywność fagów [3, 4]. Leverenz i wsp. [16] dowodzą, że niezwykle ważny jest dobór bakteriofaga do danego gatunku owoców. Naukowcy przeprowadzili eksperyment, w którym na świeżo cięte melony i jabłka zaaplikowali mieszankę bakteriofagów specyficznych w stosunku do *Salmonella* spp. Przy przechowywaniu próbek melona w temp. 5 i 10 °C uzyskano redukcję bakterii o 3,5 log, a w temp. 20 °C – o 2,5 log. Na jabłkach redukcja bakterii była natomiast nieznaczna. Zdaniem wymienionych autorów prawdopodobną przyczyną niskiej aktywności mieszanki fagów na

jabłkach było zbyt kwaśne środowisko (pH) owocu, które wpływało hamująco na aktywność tego rodzaju bakteriofagów. W innym doświadczeniu Leverenz i wsp. [17] sprawdzili również skuteczność połączenia bakteriofagów z powszechnie stosowaną w produkcji serów niziną (konserwant o symbolu E234). Badacze zaobserwowali synergistyczny efekt po zaaplikowaniu fagów i nizyny w postaci oprysków na jabłka i melony.

Terapia fagowa w leczeniu zwierząt hodowlanych

Do patogenów powszechnie występujących w żywności pochodzenia zwierzęcego należą m.in. gatunki *Salmonella enterica* subsp. *enterica*, *Escherichia coli* oraz *Campylobacter jejuni* [22].

Gram ujemna bakteria *E. coli* jest częstą przyczyną zatruc pokarmowych. Zakażenie może nastąpić wskutek spożycia już dziesięciu komórek tej bakterii, znajdujących się w niedogotowanym mięsie lub w mleku mającym kontakt z odchodami zwierząt [22]. Dotychczasowe badania skupiały się na dopracowywaniu efektywności terapii fagowej stosowanej głównie w leczeniu drobiu hodowlanego, gdyż duża gęstość osobników na stosunkowo niewielkiej powierzchni sprzyja szybkiemu rozprzestrzenianiu się infekcji powodowanej przez tę bakterię. Xie i wsp. [29] porównali efektywność bakteriofagów Esc-A przeciwko szczepom *E. coli* z efektywnością chloromycetyny (handlowa nazwa antybiotyku – chloramfenikol). Kurczęta traktowane preparatem fagowym charakteryzowały się mniejszą częstotliwością występowania objawów zakażenia (jedynie 26 % populacji stanowiły kurczęta zakażone) w porównaniu z ptakami leczonymi chloromycetyną (36 % populacji stanowiły kurczęta zakażone) oraz w odniesieniu do nieleczzonej grupy kontrolnej (51,6 % populacji stanowiły kurczęta zakażone). Ponadto preparat fagowy ograniczył śmiertelność drobiu o ok. 12,8 % w porównaniu z grupą kontrolną. Stosowanie antybiotyków pozwoliło natomiast na ograniczenie śmiertelności drobiu tylko o 8 % w porównaniu z grupą kontrolną. Wyniki te potwierdzają możliwość wykorzystania bakteriofagów do zmniejszenia częstotliwości zakażeń wywołanych przez *E. coli*. Huff i wsp. [15] również potwierdzili skuteczność bakteriofagów w zwalczaniu infekcji *E. coli* drobiu, jednak badacze skupili się na określeniu najskuteczniejszej metody aplikacji koktajli fagowych. Dowiedli oni, że najskuteczniejszym sposobem aplikacji jest podawanie fagów w postaci rozpylanego w powietrzu sprayu. Nieefektywne okazało się podawanie fagów z karmą i wodą do picia. Komercyjnie dostępnym na rynku preparatem zawierającym bakteriofagi przeciwko *E. coli* jest EcoShieldTM wyprodukowany przez firmę Intralytix, który został dopuszczony przez FDA (*American Food and Drug Administration*) do użytku w 2011 roku i uzyskał status GRAS (*Generally Recognized As Safe*). Eliminuje on 95 ÷ 100 % komórek *E. coli* [22].

Do patogenów równie często wywołujących epidemie wśród drobiu zaliczane są serotypy *Salmonella enterica*: Typhimurium oraz Enteritidis [22]. Wyniki doświadczeń Atterburego i wsp. [1] potwierdzają skuteczność podawanej kurczętom doustnie mieszanki specyficznych fagów przeciwko serotypom Enteritidis i Typhimurium. Koktajl fagowy rozpuszczony w zbuforowanym roztworze soli fizjologicznej (PBS) z dodatkiem 30 % CaCO_3 redukował kolonizację jelit kurcząt przez *S. Enteritidis* o 4,2 log jtk w ciągu 24 h w porównaniu z kontrolną grupą kurcząt nietraktowanej fagami. Zmniejszenie kolonizacji w przypadku *S. Typhimurium* wynosiło 2,19 log jtk w ciągu 24 h w odniesieniu do grupy kontrolnej.

Dostępne na rynku preparaty bakteriofagowe przeciwko serotypom *Salmonella* to m.in. [22]:

- BacWash (OmniLytics Inc.), który w 2007 r. dopuszczono do stosowania w postaci sprayu do odkażania zwierząt przed ubojem,
- BIOTECTOR® S1 (CheilJedang Co.), który może być stosowany w celu biokontroli szczepów *Salmonella* u drobiu. Rekomenduje się zaaplikowanie go w postaci składnika paszy dla zwierząt.

Najczęstszą przyczyną zatruc pokarmowych na świecie jest Gram ujemna, spiralna bakteria *Campylobacter jejuni*. Jej źródłem jest bydło oraz drób [22]. Wagenaar i wsp. [27] badali możliwości wykorzystania bakteriofagów specyficznych dla *C. jejuni* do zapobiegania zakażeniom oraz leczenia istniejącej już infekcji. Prewencyjne stosowanie mieszanki fagów opóźniało kolonizację jelita kurcząt przez chorobotwórczą bakterię, natomiast leczenie wywołanej uprzednio infekcji zmniejszyło liczbę bakterii *C. jejuni* o 3 log w porównaniu z nieleczoną grupą kontrolną. Po tygodniu leczenia różnica poziomu występowania w jelitach *C. jejuni* między grupą poddaną fagoterapii a grupą kurcząt nietraktowanych fagami wynosiła tylko 1 log.

Kapsułkowanie

Powszechnie stosowaną metodą chroniącą bakteriofagi przed niekorzystnymi warunkami panującymi w żołądku (niskie pH, obecność enzymów trawiennych) jest kapsułkowanie. Enkapsulacja mikroorganizmów polega na powlekanii komórek odpowiednią powłoką (hydrokoloidami), która pozwala na uwolnienie zawartości z kontrolowaną szybkością i pod wpływem odpowiednich czynników. Kapsułka stwarza mikrośrodowisko chroniące bakteriofagi nie tylko przed warunkami panującymi w przewodzie pokarmowym, ale również pozwala przetrwać warunki przechowywania, osuszania, i przetwarzania produktów spożywczych. Metodą często wykorzystywaną w kapsułkowaniu mikroorganizmów jest emulsyfikacja [8]. Polega ona na rozproszeniu fazy nieciągłej składającej się z mikroorganizmów i polimeru w fazie ciągłej, którą stanowi olej roślinny. Jest to metoda wykorzystywana do enkapsulacji bakterii probiotycznych. Metodę tę zastosowano do bakteriofagów. Murthy i Engel-

hardt [21] opatentowali metodę kapsułkowania, w której fagi immobilizowali na odtłuszczonym mleku w proszku i zamykali w kapsułkach składających się z kwasu palmitynowego oraz stearynowego. Preparat wytrzymywał dłuższe okresy ekspozycji na pH o wartości 2,15 niż preparaty niekapsułkowane. Wskazuje to na możliwość stosowania preparatu bezpośrednio dla zwierząt lub jako dodatku do pasz.

Potencjalne zalety wykorzystania fagów w przemyśle spożywczym

W celu zlikwidowania w żywności potencjalnie patogennych mikroorganizmów, w zakładach przetwórstwa spożywczego stosuje się metody chemiczne i fizyczne, w tym promieniowanie UV [26]. Metody te nie zapewniają jednak 100-procentowej skuteczności.

Preparaty bakteriofagowe w przemyśle spożywczym można wykorzystywać do zapobiegania i eliminowania skażeń produktów pochodzących od zwierząt hodowlanych, zwalczania drobnoustrojów występujących na sprzętach i powierzchniach mających kontakt z żywnością w czasie jej obróbki lub do bezpośredniej inaktywacji drobnoustrojów w żywności [10, 22, 25].

Wśród zalet preparatów bakteriofagowych można wymienić to, że:

- jako wirusy specyficzne nie niszczą naturalnej i pożądanej mikroflory żywności oraz bioty komensalnej przewodu pokarmowego ludzi i zwierząt [12, 22, 25],
- można je stosować w małych dawkach ze względu na zdolność namnażania się fagów w komórkach gospodarzy [12, 22],
- nie wykazują toksyczności wobec organizmów ludzi i zwierząt [22],
- nie zmieniają właściwości sensorycznych produktów spożywczych [22],
- wytrzymują stres środowiskowy podczas obróbki żywności [22, 25].

Coraz częściej fagi wykorzystuje się do inaktywacji bakterii występujących na powierzchniach sprzętu w zakładach przetwarzających żywność. Preparaty bakteriofagowe w przeciwieństwie do standardowych chemicznych środków bakteriobójczych nie powodują korozji sprzętu, a skuteczność ich działania przeciwko np. *L. monocytogenes* i *E. coli* O157:H7 została doświadczalnie potwierdzona na powierzchniach twardych, takich jak stal nierdzewna czy szkło [23]. Przy stosowaniu zarówno chemicznych środków biobójczych, jak i preparatów fagowych, należy zwrócić uwagę na czas odstępu pomiędzy zastosowaniem obu tych czynników, gdyż wiele środków dezynfekujących, w tym alkohol etylowy i podchloryn sodu, hamuje aktywność bakteriofagów [24, 26].

Aktywność bakteriofagów przeciwko biofilmowi

Częstym problemem w przemyśle spożywczym jest tworzenie biofilmu przez komórki bakteryjne na powierzchni maszyn i urządzeń. Biofilm tworzy wielowarstwowe skupisko komórek bakteryjnych lub bakteryjnych i grzybiczych, otoczonych

polisacharydową substancją pozakomórkową EPS (*Extracellular Polymeric Substances*). Taka struktura umożliwia komórkom bakteryjnym przetrwanie trudnych warunków i wytworzenie oporności na substancje dezynfekujące. Kelly i wsp. [22] zbadali zdolność hamowania rozwoju biofilmu przez bakteriofagi. W doświadczeniu użyli mieszanki bakteriofagów przeciwko bakteriom *Staphylococcus aureus*. Najwyższy stopień hamowania tworzenia się biofilmu zaobserwowano po 48 h, natomiast największą redukcję biomasy utworzonego biofilmu – po 72 h. Wymienieni autorzy wykazali, że czas ekspozycji biofilmu na działanie bakteriofaga ma kluczowe znaczenie w jego redukcji. Sprawdzona została również zdolność fagów P100 (preparat Listex P100) w redukcji biofilmu formowanego przez *L. monocytogenes* [23]. Testowano aktywność bakteriofagów na biofilmie znajdującym się na powierzchni stali nierdzewnej. Redukcja *L. monocytogenes* z użyciem bakteriofagów specyficznych do tej bakterii wynosiła $3,5 \div 5,4 \log/\text{cm}^2$ w porównaniu z powierzchnią kontrolną, nietraktowaną fagami.

Biosensory

Równie istotne jak kontrola i zwalczanie patogenów w żywności jest ich szybkie i wczesne wykrywanie. Tradycyjne metody mikrobiologiczne, choć dokładne, są czasochłonne i niemożliwe do przeprowadzenia w miejscu produkcji ze względu na potrzebę izolacji i inkubacji bakterii [10]. Zdaniem Goodridge'a i wsp. [14], dzięki degradacji komórek bakteryjnych przez lizyny bakteriofagów, wydostający się na zewnątrz materiał komórki może być wychwytywany i oznaczany za pomocą kilku technik. Najczęściej jest to technika wychwytyjąca ATP przy użyciu układu enzymatycznego lucyferaza/lucyferyna. Stężenie uwalnianego ATP jest wprost proporcjonalne do intensywności bioluminescencji uzyskanej w wyniku reakcji lucyferaza/lucyferyna. Kolejną metodą wykrywania m.in. *E. coli* 0157:H7 jest znakowanie barwnikiem fluorescencyjnym kwasu nukleinowego bakteriofaga. Znakowane fagi infekują specyficzne dla siebie komórki bakteryjne, a następnie mogą być wykryte przy użyciu metod mikroskopii konfokalnej, epifluorescencyjnej oraz cytometrii przepływowej.

Podsumowanie

Bakteriofagi wywierają zarówno pozytywny (środki ochrony żywności, terapia fagowa), jak i negatywny (niszczenie kultur starterowych używanych w produkcji przetworów mleczarskich) wpływ na żywność. Szeroki zakres zastosowań bakteriofagów w łańcuchu żywnościowym może istotnie zredukować liczbę zatruc pokarmowych, co wiąże się również ze znacznym obniżeniem kosztów związanych z leczeniem i stratami w produkcji żywności. W obecnych czasach, gdy naukowcy zmagają się z narastającym problemem antybiotykooporności, bakteriofagi mogą zostać uznane za jedną z ważniejszych alternatyw dla medycyny weterynaryjnej.

Literatura

- [1] Atterbury R.J., van Bergen M.A.P., Ortiz F., Lovell M.A., Harris J.A., De Boer A., Wagenaar J.A., Allen V.M., Barrow P.A.: Bacteriophage therapy to reduce *Salmonella* colonization of broiler chickens. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2007, **73** (14), 4543-4549.
- [2] Atterbury R.J.: Bacteriophage biocontrol in animals and meat products. *Microb. Biotechnol.*, 2009, **2** (6), 601-612.
- [3] Balogh B., Jones J.B., Momol M.T., Olson S.M., Obradovic A., King P., Jackson L.E.: Improved efficacy of newly formulated bacteriophages for management of bacterial spot on tomato. *Plant Dis.*, 2003, **87** (8), 949-954.
- [4] Balogh B., Canteros B.I., Stall R.E., Jones J.B.: Control of citrus canker and citrus bacterial spot with bacteriophages. *Plant Dis.*, 2008, **92** (7), 1048-1052.
- [5] Balogh B., Jones J.B., Iriarte F.B., Momol M.T.: Phage therapy for plant disease control. *Curr. Pharm. Biotechnol.*, 2010, **11** (1), 48-57.
- [6] Brovko L.Y., Anany H., Griffiths M.W.: Bacteriophages for detection and control of bacterial pathogens in food and food – processing environment. *Adv. Food Nutr. Res.*, 2012, **67**, 241-288.
- [7] Bruttin A., Brussow H.: Human volunteers receiving *Escherichia coli* phage T4 orally: A safety test of phage therapy. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2005, **48** (7), 2874-2878.
- [8] Choińska-Pulit A., Mituła B., Śliwka P., Łaba W., Skaradzińska A.: Bacteriophage encapsulation: Trends and potential applications. *Trends Food Sci. Technol.*, 2015, **45**, 212-221.
- [9] Denes T., Wiedmann M.: Environmental responses and phage susceptibility in foodborne pathogens: Implications for improving applications in food safety. *Curr. Opin. Biotechnol.*, 2014, **26**, 45-49.
- [10] Endersen L., O'Mahony J., Hill C., Ross R.P., McAuliffe O., Coffey A.: Phage therapy in the food industry. *Ann. Rev. Food Sci. Technol.*, 2014, **5**, 327-349.
- [11] Gill J., Abedon S.T.: Bacteriophage Ecology and Plants., APSnet Feature., 2003. Dostęp w Internecie [30.12.1015.]: <http://www.apsnet.org/online/feature/phages/>.
- [12] Gilmore B.: Bacteriophages as anti-infective agents: recent developments and regulatory challenges. *Expert Rev. Anti Infect. Ther.*, 2012, **10** (5), 533-535.
- [13] Goodridge L.D.: Bacteriophage biocontrol of plant pathogens: Fact or fiction. *Trends Biotechnol.*, 2004, **22** (8), 384-385.
- [14] Goodridge L., Abedon T.: Bacteriophage biocontrol and bioprocessing: Application of phage therapy to industry. *SIM News.*, 2003, **53**, 254-262.
- [15] Huff W.E., Huff G.R., Rath N.C., Balog J.M., Xie H., Moore P.A., Jr., Donoghue A.M.: Prevention of *Escherichia coli* respiratory infection in broiler chickens with bacteriophage (SPR02). *Polutry Sci.*, 2002, **1**, 437-441.
- [16] Leverentz B., Conway W.S., Alavidze Z., Janisiewicz W.J., Fuchs Y., Camp J.M., Chighladze E., Sulakvelidze A.: Examination of bacteriophage as a biocontrol method for *Salmonella* on fresh-cut fruit: A model study. *J. Food Prot.*, 2001, **64** (8), 1116-1121.
- [17] Leverentz B., Conway W.S., Camp M.J., Janisiewicz W.J., Abuladze T., Yang M., Saftner R., Sulakvelidze A.: Biocontrol of *Listeria monocytogenes* on fresh-cut produce by treatment with lytic bacteriophages and a bacteriocin. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2003, **69** (8), 4519-4526.
- [18] Kelly D., McAuliffe O., Ross R.P., Coffey A.: Prevention of *Staphylococcus aureus* biofilm formation and reduction in established biofilm density using a combination of phage K and modified derivatives. *Lett. Appl. Microbiol.*, 2012, **54**, 286-291.
- [19] Knoll B.M., Mylonakis E.: Antibacterial bioagents based on principles of bacteriophage biology: An Overview. *Clin. Infect. Dis.*, 2014, **58** (4), 528-534.
- [20] Mahony J., McAuliffe O., Ross R.P., van Sinderen D.: Bacteriophages as biocontrol agents of food pathogens. *Curr. Opin. Biotechnol.*, 2010, **22**, 1-7.
- [21] Murthy K., Engelhardt R.: Encapsulated bacteriophage formulation. International Patent, US 2012/0258175 A1.

- [22] Sillankorva S.M., Oliveira H., Azeredo J.: Bacteriophages and their role in food safety. Int. J. Microbiol., 2012, article ID 863945.
- [23] Soni K.A., Nannapaneni R.: Removal of *Listeria monocytogenes* biofilms with bacteriophage P100. J. Food Protect., 2010, **73** (8), 1519-1524.
- [24] Starostka S., Olejnik-Schmidt A., Schmidt M.: Zastosowanie bakteriofagów jako środków ochrony żywności. Cz. 1. Przem. Spoż., 2014, **68** (2), 30-32.
- [25] Starostka S., Olejnik-Schmidt A., Schmidt M.: Zastosowanie bakteriofagów jako środków ochrony żywności. Cz. 2. Przem. Spoż., 2014, **68** (3), 16-17.
- [26] Sulakvelidze A.: Using lytic bacteriophages to eliminate or significantly reduce contamination of food by foodborne bacterial pathogens. J. Sci. Food Agric., 2013, **93**, 3137-3146.
- [27] Wagenaar J., van Bergen M.A.P., Mueller M.A., Wassenaar T.M., Carlton R.M.: Phage therapy reduces *Campylobacter jejuni* colonization in broilers. Vet. Microbiol., 2005, **109**, 275-283.
- [28] Wang Q., Sabour P.M.: Encapsulation and controlled release of bacteriophages. In: Bacteriophages in the control of food and waterborne pathogens. Eds.: P. M. Sabour, M. M. W. Griffiths. ASM Press. Washington 2010, pp. 237-255.
- [29] Xie H., Zhuang X., Kong J., Ma G., Zhang H.: Bacteriophage Esc-A is an efficient therapy for *Escherichia coli* 3-1 caused diarrhea in chickens. J. Gen. Appl. Microbiol., 2005, **51**, 159-163.

UTILISATION OF BACTERIOPHAGES IN THE FOOD CHAIN

S u m m a r y

Bacteriophages are bacterial viruses discovered at the beginning of the 20th century. Insufficient knowledge of the biology of phages and the intense development of antibiotic therapy caused the interest of scientists in bacteriophages to decline right away after the discovery thereof. Attempts are now being made to solve the problem of microbiological safety of food through the use of bacteriophages in the whole food chain including the direct elimination of bacteria from the surface of food and of the surface of equipment contacting food. The ability to infect exclusively specific bacterial cells, no impact on the corrosion of equipment and surfaces in food processing plants, and no effects on the sensory characteristics of food products are those significant advantages of phages, which call for applying them as food protecting means. Veterinary medicine struggles with a very widespread problem of antibiotic resistance; therefore, the potential is explored of bacteriophages used as agents in preventing and treating bacterial infections in breeding animals. To this purpose, the phages are applied in the form of aerosols or they are placed in capsules designed to ensure protection against inactivation by the low pH of gastric acid. The hitherto conducted studies also confirm that bacteriophages do not have any significant toxic effect on organisms of people and animals. The phages are an attractive alternative to the up to now applied antibiotics and disinfectants. Based on a wide range of applications of phages in the food chain, it is possible to significantly reduce the number of food poisoning in the world.

The objective of this study was to present the most recent literature data on the application of bacteriophages at each stage of the food production chain commonly called "from farm to table" and to introduce the latest research on the use of bacteriophages to quickly and easily detect bacterial pathogens in food.

Key words: bacteriophages, pathogens, encapsulation, biosensors ☒

PIOTR DOMARADZKI, ZYGMUNT LITWIŃCZUK, ANNA LITWIŃCZUK,
MARIUSZ FLOREK

ZMIANY TEKSTURY I WŁAŚCIWOŚCI SENSORYCZNYCH WYBRANYCH MIĘŚNI SZKIELETOWYCH RÓŻNYCH KATEGORII BYDŁA RZEŻNEGO W OKRESIE 12-DNIOWEGO DOJRZEWANIA PRÓŻNIOWEGO

Streszczenie

Celem pracy było określenie zmian parametrów tekstury i cech sensorycznych mięśni szkieletowych: *m. longissimus lumborum* (ML) i *m. semitendinosus* (ST), pozyskanych z tusz czterech kategorii bydła, tj. cieląt mlecznych ($n = 20$), cieląt ciężkich ($n = 20$), młodego bydła ($n = 71$) i krów ($n = 10$) w okresie 12-dniowego dojrzewania. W 2., 7. i 12. dniu *post mortem* wykonano pomiary siły i energii cięcia, indeksu fragmentacji miofibryli (MFI) mięśni oraz przeprowadzono ich ocenę sensoryczną w skali 5-punktowej. W 2. dniu od uboju w mięśniach oznaczono podstawowy skład chemiczny i zawartość barwników hemowych. Mięśnie zwierząt młodych, tj. cieląt mlecznych i cieląt ciężkich, w porównaniu z mięśniami zwierząt dojrzałych, tj. młodego bydła rzeźnego oraz krów, zawierały: mniej tłuszczu (średnio o 1,25 % w ML i 0,98 % w ST) i barwników hemowych (o 97 ppm w ML i 67 ppm w ST), a więcej związków mineralnych w postaci popiołu (o 0,20 % w ML i 0,23 % w ST) i wody (o 0,94 % w ML i 0,28 % w ST). W kolejnych dniach dojrzewania najmniejsze wartości siły i energii cięcia oraz najwyższe wartości MFI wykazano w mięśniach cieląt mlecznych (odpowiednio: 70,59 N, 0,31 J, 105,84 w ML oraz 44,27 N, 0,19 J, 113,70 w ST). Odmienne wartości dotyczyły mięśni krów (odpowiednio: 109,37 N, 0,46 J, 91,19 w ML oraz 93,73 N, 0,39 J, 99,61 w ST). W okresie 12-dniowego chłodniczego przechowywania stwierdzono istotną poprawę tekstury, cech sensorycznych oraz wzrost MFI w mięśniach wszystkich czterech kategorii bydła. Zmniejszenie siły cięcia w największym stopniu dotyczyło obu mięśni cieląt ciężkich (55,99 % w ML i 40,62 % w ST), a w najmniejszym – krów (odpowiednio 39,62 % i 27,04 %). W przypadku zmian MFI najwyższy względny wzrost wartości indeksu uzyskano w mięśniu ML krów (60,99 %) i ST młodego bydła rzeźnego (50,46 %), a najniższy – w obu mięśniach cieląt mlecznych (odpowiednio: 38,85 i 27,11 %). Cechy sensoryczne: kruchość, soczystość i smakowitość w 12. dniu *post mortem* oceniono najwyżej w próbkach mięśni cieląt mlecznych (średnio $4,68 \div 4,83$ pkt), następnie cieląt ciężkich ($4,25 \div$

Dr inż. P. Domaradzki, prof. dr hab. A. Litwińczuk, dr hab. inż. M. Florek, 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

4,51 pkt) i młodego bydła rzeźnego ($4,18 \div 4,40$ pkt), a najniżej – w próbkach mięśni krów ($3,90 \div 3,98$ pkt).

Słowa kluczowe: wołowina, dojrzewanie, skład chemiczny, siła cięcia, indeks fragmentacji miofibryli

Wprowadzenie

Krajowa konsumpcja mięsa wołowego (pomimo jego wielu właściwości prozdrowotnych i walorów sensorycznych) wynosi niecałe 1,5 kg na jednego mieszkańca. Wartość ta jest dziewięciokrotnie niższa od przeciętnego spożycia wołowiny przez pozostałych mieszkańców Unii Europejskiej [21]. Zwiększenie spożycia wołowiny przy dużej dostępności mięsa innych gatunków zwierząt, niejednokrotnie cenowo atrakcyjniejszych, będzie w dużej mierze zależało od poprawy jej jakości sensorycznej, a zwłaszcza tekstury [17, 19].

Przy pozyskiwaniu wołowiny kulinarnej istotnym elementem jest odpowiednio długi okres dojrzewania mięsa. Wpływa on znacząco na poprawę cech jakościowych, zwłaszcza kruchości i smakowitości, a zarazem jest jednym z najmniej skomplikowanych zabiegów prowadzących do wzrostu przydatności konsumpcyjnej i technologicznej mięsa wołowego.

Cechy tekstury żywności oceniane są metodami instrumentalnymi, których dużą zaletą jest niski koszt pomiaru/analizy (nie wymagają organizowania zespołu oceniającego), łatwość wykonania i obiektywizm pomiarów (nie zależą one od stanu psychofizjologicznego oceniających). Metody te jednak nie gwarantują pełnej charakterystyki tekstury żywności. Ocena sensoryczna dokonywana za pomocą zmysłów człowieka jest procesem złożonym, uwarunkowanym szeregiem różnych czynników. Dotychczas żadne urządzenie wykorzystywane do oceny instrumentalnej żywności nie potrafiło odwzorować rzeczywistych zmian tekstury występujących podczas jedzenia. W związku z powyższym metody instrumentalne stanowią zazwyczaj uzupełnienie oceny sensorycznej żywności i przyczyniają się do jej pełniejszej charakterystyki [1, 2, 29].

Ważnym zjawiskiem występującym w tkance mięśniowej podczas dojrzewania jest łatwość fragmentacji (w kontrolowanych warunkach homogenizacji) miofibryli na krótkie segmenty, która nie występuje w mięsie tuż po uboju. Stopień zaawansowania procesu rozpadu miofibryli wykorzystuje się do określania tzw. Indeksu Fragmentacji Miofibryli (MFI). Wskaźnik ten, będący miarą średniej długości miofibryli, jest silnie skorelowany z kruchością mięsa. Im wyższa wartość MFI, tym krótsze są miofibryle, a tym samym większa jest kruchość [18, 24, 34].

Celem pracy było określenie zmian parametrów tekstury i właściwości sensorycznych dwóch mięśni szkieletowych pozyskanych z tusz czterech kategorii bydła w okresie 12-dniowego dojrzewania.

Material i metody badań

Material doświadczalny stanowiły próbki z dwóch mięśni szkieletowych, tj. najdłuższego grzbietu z odcinka lędźwiowego – ML (*m. longissimus lumborum*) i półścięgnistego – ST (*m. semitendinosus*), pobrane ze 121 tusz bydła z produkcji towarowej, w tym:

- 20 cieląt mlecznych (w wieku 8 - 12 tygodni, żywionych mlekiem lub preparatami mlekozastępczymi, o średniej masie przed ubojem – $92,3 \pm 10,6$ kg),
- 20 cieląt ciężkich (odchowiwanych przy matkach na pastwisku do wieku 7 - 8 miesięcy, o średniej masie przed ubojem – $285,6 \pm 41,2$ kg),
- 71 sztuk młodego bydła rzeźnego (w wieku 18 - 24 miesięcy, opasanych w systemie półintensywnym, o średniej masie przed ubojem – $537,6 \pm 56,2$ kg),
- 10 krów (powyżej 5 lat, o średniej masie przed ubojem – $503,6 \pm 21,4$ kg).

Ubój i obróbkę poubojową bydła przeprowadzono w ubojni zgodnie z przepisami obowiązującymi w przemyśle mięsnym i pod nadzorem inspekcji weterynaryjnej. Po 24-godzinnym wychłodzeniu, podczas rozbioru technologicznego prawych półtuszy pobierano próbki mięśni ML i ST (każda o masie ok. 500 g), które ważono (z dokładnością do 1 g) i pakowano w woreczki z folii PA/PE o wysokiej barierowości dla gazów i przy zastosowaniu 98-procentowego poziomu próżni. Do momentu wykonywania analiz próbki przechowywano w warunkach chłodniczych (4 ± 1 °C) przez 2, 7 i 12 dni.

W 2. dniu *post mortem* w próbkach mięśni oznaczano zawartość wody metodą suszenia (103 °C) według PN-ISO 1442:2000 [35], związków mineralnych (w postaci popiołu) metodą spalania według PN-ISO 936:2000 [38], białka ogółem metodą Kjeldahla przy użyciu aparatu Büchi B-324 [36], tłuszczu wolnego metodą Soxhleta przy użyciu aparatu Büchi B-811 według PN-ISO 1444:2000 [39] oraz ogólną zawartość barwników hemowych metodą Hornseya [9] przy użyciu spektrofotometru Varian Cary BIO (Agilent Technologies, Palo Alto, USA). Pomiar wykonywano przy $\lambda = 640$ nm.

Cechy sensoryczne i parametry tekstury mięśni szkieletowych oznaczano w 2., 7. i 12. dniu *post mortem*. Próbki mięśni (o masie 100 - 120 g) poddawano obróbce termicznej w łaźni wodnej w szczelnie zamkniętych woreczkach foliowych w temp. 70 °C przez 60 min. Ocenę sensoryczną przeprowadzał 5-osobowy zespół. Kruchosc, soczystość i smakowitość mięsa oceniano w skali 5-punktowej (5 – bardzo kruche, bardzo soczyste, smakowitość bardzo pożądana; 1 – bardzo twarde, bardzo suche, smakowitość niepożądana) z możliwością przyznawania ocen połowkowych. Przy użyciu maszyny Zwick/Roell Proline B0.5 (Zwick GmbH & Co. KG, Ulm, Niemcy) określano maksymalną siłę cięcia ($F_{\max}$ w N) i energię cięcia ($W/F_{\max}$ w J), wykorzystując nóż szerometryczny (V-blade) Warner-Bratzler (Zwick GmbH & Co. KG) przy prędkości przesuwu głowicy 150 mm/min. Cięciu poddawano słupki mięśni o powierzchni prze-

kroju 100 mm² i długości 50 mm (minimum 5 z każdej próby), wycinane równolegle do kierunku włókien mięśniowych. Wyniki pomiarów opracowano z wykorzystaniem programu TestXpert II (Zwick GmbH & Co. KG). Temperatura próbek w czasie wykonywania oznaczeń tekstury i cech sensorycznych wynosiła 20 ± 1 °C. Indeks fragmentacji miofibryli (MFI) oznaczano według metody opisanej przez Hopkinsa i wsp. [8] przy wykorzystaniu: homogenizatora nożowego firmy Büchler HO-4A (Niemcy) o prędkości homogenizacji 15000 rpm, wirówki Universal 320R Hettich Zentrifugen (Niemcy) o prędkości wirowania 1000 g w ciągu 15 min i w temp. 2 °C oraz spektrofotometru Varian Cary 300 BIO (Agilent Technologies, USA). Pomiar spektrofotometryczny wykonywano przy $\lambda = 540$ nm. Do obliczenia MFI stosowano współczynnik przeliczeniowy 150. Oznaczenie zawartości białka w mieszaninie przeprowadzono metodą biuretową.

Uzyskane wyniki opracowano statystycznie za pomocą programu SAS Enterprise Guide 6.1 software (SAS, 2013). Obliczono wartości średnie poszczególnych cech oraz odchylenia standardowe. Do określenia wpływu kategorii bydła (wieku) na skład chemiczny mięśni ML i ST zastosowano jednoczynnikową analizę wariancji. Istotność różnic między wartościami średnimi określono za pomocą testu Tukeya ($p \leq 0,05$ i $p \leq 0,01$). Właściwości sensoryczne, siłę i energię cięcia oraz MFI (oddzielnie mięśni ML i ST) rozpatrywano w układzie dwuczynnikowej analizy wariancji z interakcją, uwzględniając wpływ kategorii i czasu dojrzewania.

Wyniki i dyskusja

Na podstawie wyników składu chemicznego (tab. 1) stwierdzono dużą zawartość białka w obu mięśniach szkieletowych wszystkich czterech analizowanych kategorii bydła, tzn. od 21,58 % – w mięśni ST krów do 22,90 % – w mięśni ST cieląt ciężkich, a wykazane różnice były statystycznie istotne ($p \leq 0,05$). Mięśnie zwierząt młodych, tj. cieląt ciężkich i cieląt mlecznych, zawierały istotnie (ML – $p \leq 0,05$ i ST – $p \leq 0,01$) mniej tłuszczu w porównaniu z mięśniami zwierząt dojrzałych – młodego bydła rzeźnego i krów. W przypadku związków mineralnych (w postaci popiołu) i wody wykazano odwrotną tendencję, tzn. więcej tych składników zawierały mięśnie zwierząt najmłodszych. Podobne tendencje w zakresie kształtowania się składu chemicznego mięśni różnych kategorii wiekowych bydła wykazali Iwanowska i wsp. [11].

Lin-qiang i wsp. [20] przeanalizowali jakość mięsa wołowego pozyskanego z bydła w wieku od 3 do 15 miesięcy i stwierdzili, że wraz z dojrzałością fizjologiczną zwierząt ich mięso zawierało mniej wody, zwiększała się natomiast zawartość tłuszczu śródmięśniowego i białka. W mięśni *longissimus thoracis* cieląt żywionych mlekiem i ubijanych przy masie ciała 215 ÷ 230 kg Vieira i wsp. [35] wykazali zawartość wody w zakresie 75,7 ÷ 76,6 %, białka – 21,27 ÷ 22,02 %, tłuszczu – 1,31 ÷ 1,38 % oraz popiołu – 1,08 ÷ 1,12 %.

Tabela 1. Zawartość podstawowych składników chemicznych [%] i barwników hemowych [ppm] w mięśniach bydlęcych

Table 1. Content of basic chemical components [%] and haem pigments [ppm] in cattle muscles

Składniki Components	Kategoria bydła (K) / Category of cattle			
	Cielęta mleczne Dairy calves	Cielęta ciężkie Heavy calves	Młode bydło rzeźne Young slaughter cattle	Krowy Cows
	$\bar{x} \pm s / SD$	$\bar{x} \pm s / SD$	$\bar{x} \pm s / SD$	$\bar{x} \pm s / SD$
<i>m. longissimus lumborum</i> (ML)				
Woda / Water	75,01 ^b ± 0,93	75,00 ^b ± 0,71	74,29 ^{ab} ± 1,29	73,84 ^a ± 1,29
Białko / Protein	22,53 ± 0,77	22,65 ± 0,84	22,52 ± 1,06	22,30 ± 0,81
Tłuszcz / Fat	1,23 ^a ± 0,36	0,87 ^a ± 0,39	1,92 ^b ± 1,16	2,60 ^b ± 1,2
Popiół / Ash	1,16 ^{AB} ± 0,30	1,22 ^B ± 0,07	1,03 ^A ± 0,25	0,95 ^A ± 0,08
Barwniki hemowe Haem pigments	105 ^A ± 17,6	149 ^B ± 24,4	186 ^C ± 29,4	261 ^D ± 27,6
<i>m. semitendinosus</i> (ST)				
Woda / Water	75,61 ± 0,69	75,01 ± 0,95	75,14 ± 1,07	74,92 ± 0,77
Białko / Protein	21,91 ^{ab} ± 0,40	22,90 ^c ± 0,86	22,41 ^b ± 0,89	21,58 ^a ± 0,75
Tłuszcz / Fat	1,02 ^A ± 0,50	0,59 ^A ± 0,37	1,35 ^B ± 0,39	2,23 ^C ± 1,15
Popiół / Ash	1,22 ^b ± 0,13	1,23 ^b ± 0,05	1,05 ^a ± 0,28	0,94 ^a ± 0,10
Barwniki hemowe Haem pigments	104 ^A ± 18,1	149 ^B ± 31,0	164 ^B ± 34,7	223 ^C ± 21,3

Objaśnienia / Explanatory notes:

$\bar{x}$ – wartość średnia / mean value; s – odchylenie standardowe / SD – standard deviation. Wartości średnie oznaczone różnymi literami w wierszach różnią się statystycznie istotnie: a, b, c – $p \leq 0,05$; A, B, C – $p \leq 0,01$ / Mean values in rows and denoted by different letters differ statistically significantly: a, b, c – $p \leq 0,05$; A, B, C – $p \leq 0,01$.

Istotnie ($p \leq 0,01$) największą zawartość barwników hemowych stwierdzono w mięśniach krów (261 ppm w ML i 223 ppm w ST), a najmniejszą – w mięśniach cieląt mlecznych (105 i 104 ppm). Podobną zależność, tj. wzrost zawartości barwników mięśniowych wraz z wiekiem zwierząt wykazał Moon i wsp. [23]. Zdaniem Grodzickiego [5] zawartość podstawowych składników chemicznych w mięśniach determinowana jest przede wszystkim kategorią bydła, natomiast rodzaj mięśnia jest czynnikiem mniej różnicującym.

Wykazano istotny ($p \leq 0,01$) wpływ kategorii i czasu dojrzewania na siłę i energię cięcia oraz indeks fragmentacji miofibryli (MFI) analizowanych mięśni (tab. 2). W trakcie dojrzewania w mięśniach wszystkich ocenianych kategorii bydła obserwowano obniżenie wartości siły i energii cięcia oraz wzrost wartości MFI (tzn. polepszenie kruchości). Podobne zależności obserwowano wcześniej w wielu innych badaniach, w których wskazywano na istotny wpływ procesu dojrzewania na wzrost kruchości mięsa [10, 14, 15, 24, 25, 33]. Najmniejsze wartości testu szerometrycznego

stwierdzono w mięśniach cieląt mlecznych. Średnie wartości siły i energii cięcia mięśnia ML wynosiły odpowiednio: 70,59 N i 0,31J, a ST – 44,27 N i 0,19 J. Wyższe wartości tych parametrów (w porównaniu z cielętami mlecznymi) stwierdzono w mięśniach cieląt ciężkich, a następnie młodego bydła rzeźnego. Istotnie ($p \leq 0,01$) najtwardsze były mięśnie krów. Wartości siły cięcia tych mięśni wyniosły odpowiednio: ML – 109,37 N, ST – 93,73 N. Na podobne zależności związane ze wzrostem siły cięcia mięsa (obniżeniem kruchości) wraz z postępującą dojrzałością fizjologiczną bydła wskazują Kołczak i wsp. [15, 16] oraz Moon i wsp. [23]. Lin-qiang i wsp. [20] wykazali w 12. dniu chłodniczego dojrzewania mięśnia ML 3-miesięcznych cieląt siłę cięcia na poziomie 28,9 N, 9-miesięcznych buhajków – 34,7 N, natomiast bydła w wieku 15 miesięcy – 52,4 N. Jelínková i wsp. [12] podają natomiast, że mięsień ML krów charakteryzował się niższą wartością (ocenianą po 48 h) siły cięcia niż taki mięsień buhajków. Wyniki odmienne, od uzyskiwanych w innych badaniach, autorzy wiążą z wyższą podatnością buhajków na stres w trackie obrotu przedubojowego.

Spośród dwóch rodzajów ocenianych mięśni niższe wartości siły i energii cięcia oraz wyższe wartości MFI (tzn. lepszą kruchość) stwierdzono niezależnie od kategorii bydła w przypadku mięśnia ST. Podobne zależności stwierdzono wcześniej w mięsie cieląt [3] i młodego bydła rzeźnego [4, 30]. Kołczak i wsp. [16] podają, że mięsień ST cieląt w 6. dniu chłodniczego przechowywania charakteryzował się kruchością ($F_{\max.}$) zbliżoną do mięśnia lędźwiowego większego (*psaos major*), który uważany jest za najdelikatniejszy mięsień szkieletowy ssaków.

Jak podają Kim i Lee [14], na podstawie wartości wskaźnika MFI określanego w mięsie surowym można z dużą dokładnością przewidywać kruchość mięsa po jego obróbce termicznej. Wartość wskaźnika MFI zwiększa się wraz z wydłużaniem okresu dojrzewania mięsa, a wyższe wartości MFI odnotowywane są z reguły w mięsie zwierząt młodszych niż starszych. Znalazło to potwierdzenie w badaniach własnych, gdyż zarówno w przypadku mięśnia ML, jak i ST najwyższe średnie wartości MFI dotyczyły cieląt mlecznych (odpowiednio: 105,84 i 113,70), następnie cieląt ciężkich (odpowiednio: 102,87 i 108,33) i młodego bydła rzeźnego (odpowiednio: 101,30 i 102,53), a najniższe – krów (odpowiednio: 91,19 i 99,61).

Największe obniżenie wartości siły cięcia w okresie 12-dniowego dojrzewania zaobserwowano w obu mięśniach cieląt ciężkich – 55,99 % w ML i 40,62 % w ST, najmniejsze natomiast w mięśniach krów, tj. 39,62 % i 27,04 % (rys. 1). Kołczak i wsp. [16] stwierdzili między 1. a 12. dniem dojrzewania mięśni *psaos major* i *semitendinosus* 25- i 39-procentowe obniżenie wartości siły cięcia w grupie cieląt, 15- i 25-procentowe – w mięśniach jałówek oraz 9- i 22-procentowe w mięśniach krów. Z kolei Niedźwiedz i wsp. [24] w okresie 14-dniowego dojrzewania próżniowego mięśnia ML młodego bydła rzeźnego wykazali obniżenie wartości siły cięcia o 53 %.

Tabela 2. Wartości siły i energii cięcia oraz MF1 mięśni bydlęcych w okresie 12-dniowego dojrzewania
Table 2. Values of shear force and shear energy and MF1 of cattle muscles during 12 days of aging

Wyszczególnienie Specification	Kategoria bydła (K) Category of cattle	Czas dojrzewania (C) [dni] / Aging time [days]			$\bar{x} \pm s$ / SD	Wpływ/ Influence	
		2.	7.	12.		K	C Interakcja Interaction K × C
<i>m. longissimus lumborum</i> (ML)							
Siła cięcia (F _{max.}) Shear force [N]	Cielęta mleczne / Dairy calves	93,91 ± 31,10	66,31 ± 25,89	49,66 ± 22,31	70,59 ± 31,84		
	Cielęta ciężkie / Heavy calves	118,86 ± 37,86	74,87 ± 29,50	52,31 ± 17,86	81,45 ± 40,05		
	Młode bydło rzeźne Young slaughter cattle	114,52 ± 38,61	77,69 ± 32,57	61,40 ± 24,81	85,37 ± 39,46	**	ns
	Krowy / Cows	140,04 ± 36,46	103,51 ± 64,01	84,56 ± 36,37	109,37 ± 50,81		
	Średnio / Average	114,91 ± 38,34	77,63 ± 34,42	59,88 ± 25,17	-		
Energia cięcia Shear energy [J]	Cielęta mleczne / Dairy calves	0,39 ± 0,11	0,30 ± 0,14	0,24 ± 0,10	0,31 ± 0,13		
	Cielęta ciężkie / Heavy calves	0,42 ± 0,15	0,33 ± 0,14	0,28 ± 0,12	0,34 ± 0,15		
	Młode bydło rzeźne Young slaughter cattle	0,43 ± 0,16	0,32 ± 0,13	0,29 ± 0,12	0,35 ± 0,15	**	ns
	Krowy / Cows	0,49 ± 0,18	0,50 ± 0,35	0,39 ± 0,13	0,46 ± 0,23		
	Średnio / Average	0,43 ± 0,15	0,33 ± 0,16	0,29 ± 0,12	-		
Indeks fragmentacji miofibryli (MFI) Myofibrillar frag- mentation index	Cielęta mleczne / Dairy calves	85,74 ± 25,07	112,73 ± 11,32	119,05 ± 11,01	105,84 ± 21,89		
	Cielęta ciężkie / Heavy calves	78,95 ± 4,00	111,24 ± 5,01	118,41 ± 4,64	102,87 ± 17,95		
	Młode bydło rzeźne Young slaughter cattle	78,69 ±18,05	106,23 ±11,99	118,97 ± 8,54	101,30 ± 21,51	**	ns
	Krowy / Cows	67,34 ± 4,75	97,81 ± 9,63	108,41 ± 20,55	91,19 ± 21,89		
	Średnio / Average	78,35 ± 16,43	107,04 ± 11,17	117,91 ± 9,99	-		

c.d. Tab. 2.

<i>m. semitendinosus</i> (ST)									
Siła cięcia (F_{max}) Shear force [N]	Cielęta mleczne / Dairy calves	58,72 ± 20,24	37,90 ± 6,32	37,51 ± 9,06	44,27 ± 16,01				
	Cielęta ciężkie / Heavy calves	85,81 ± 26,45	63,13 ± 18,57	50,95 ± 15,18	66,34 ± 24,84				
	Młode bydło rzeźne Young slaughter cattle	96,06 ± 24,16	69,58 ± 16,43	58,41 ± 12,02	74,72 ± 23,97	**	**	**	ns
	Krowy / Cows	111,21 ± 20,60	88,03 ± 19,35	81,14 ± 19,52	93,73 ± 23,11				
	Średnio / Average	91,37 ± 26,77	66,06 ± 19,60	56,17 ± 15,79	-				
Energia cięcia Shear energy [J]	Cielęta mleczne / Dairy calves	0,24 ± 0,09	0,19 ± 0,08	0,16 ± 0,03	0,19 ± 0,08				
	Cielęta ciężkie / Heavy calves	0,31 ± 0,09	0,29 ± 0,12	0,23 ± 0,07	0,27 ± 0,10				
	Młode bydło rzeźne Young slaughter cattle	0,35 ± 0,11	0,30 ± 0,08	0,28 ± 0,08	0,31 ± 0,10	**	**	**	ns
	Krowy / Cows	0,41 ± 0,10	0,39 ± 0,05	0,36 ± 0,13	0,39 ± 0,09				
	Średnio / Average	0,34 ± 0,11	0,29 ± 0,10	0,26 ± 0,09	-				
Indeks fragmentacji miofibrili (MFI) Myofibrillar fragmentation index	Cielęta mleczne / Dairy calves	97,92 ± 21,94	118,71 ± 14,19	124,47 ± 11,66	113,70 ± 19,45				
	Cielęta ciężkie / Heavy calves	88,41 ± 3,60	114,92 ± 2,98	121,66 ± 3,23	108,33 ± 14,89				
	Młode bydło rzeźne Young slaughter cattle	79,87 ± 19,11	107,54 ± 14,21	120,17 ± 6,26	102,53 ± 22,01	**	**	**	ns
	Krowy / Cows	84,24 ± 7,87	102,42 ± 5,45	112,18 ± 13,71	99,61 ± 14,97				
	Średnio / Average	83,59 ± 17,36	109,54 ± 12,82	120,13 ± 7,68	-				

* – $p \leq 0,05$; ** – $p \leq 0,01$; ns – nie stwierdzono / not fund. Pozostałe objaśnienia jak pod tab. 1 / Other explanatory notes as in Tab. 1.

Tabela 3. Wyniki oceny sensorycznej mięśni bydlęcych w okresie 12 -dniowego dojrzewania
Table 3. Results of sensory evaluation of cattle muscles during 12 days of aging

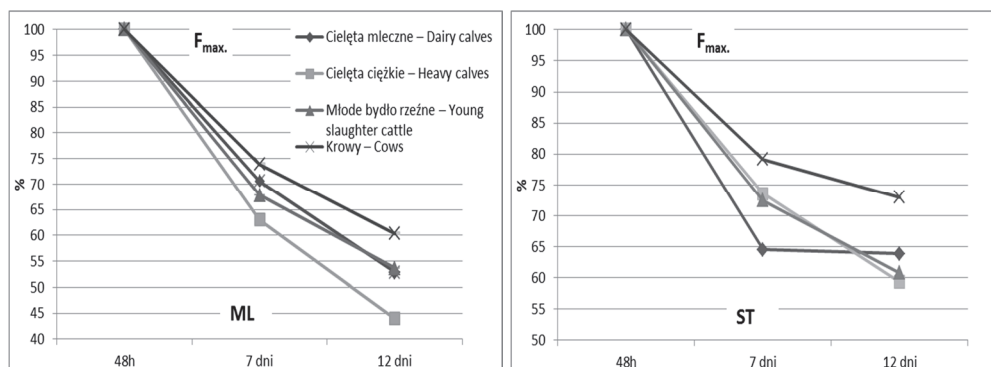
Cechy Properties	Kategoria bydła (K) Category of cattle	Czas dojrzewania (C) [dni] / Aging time [days]			$\bar{x} \pm s$ / SD	Wpływ / Influence		
		2.	7.	12.		K	C	Interakcja Interaction K × C
<i>m. longissimus lumborum</i> (ML)								
Kruchość Tenderness [pkt / points]	Cielęta mleczne / Dairy calves	3,81 ± 0,43	4,70 ± 0,34	4,71 ± 0,25	4,42 ± 0,41			
	Cielęta ciężkie / Heavy calves	3,35 ± 0,64	4,20 ± 0,56	4,50 ± 0,34	4,04 ± 0,57			
	Młode bydło rzeźne Young slaughter cattle	2,98 ± 0,51	3,68 ± 0,45	4,30 ± 0,41	3,66 ± 0,64	**	**	ns
	Krowy / Cows	2,60 ± 0,73	3,01 ± 0,43	3,91 ± 0,56	3,18 ± 0,65			
	Średnio / Average	3,12 ± 0,55	3,88 ± 0,48	4,37 ± 0,38	-			
Soczystość Juiciness [pkt / points]	Cielęta mleczne / Dairy calves	3,48 ± 0,46	4,78 ± 0,40	4,72 ± 0,33	4,34 ± 0,61			
	Cielęta ciężkie / Heavy calves	3,18 ± 0,34	4,30 ± 0,42	4,35 ± 0,22	3,95 ± 0,49			
	Młode bydło rzeźne Young slaughter cattle	3,01 ± 0,57	3,71 ± 0,39	4,28 ± 0,45	3,68 ± 0,53	**	**	ns
	Krowy / Cows	2,78 ± 0,65	3,27 ± 0,42	3,98 ± 0,49	3,35 ± 0,56			
	Średnio / Average	3,01 ± 0,51	3,95 ± 0,45	4,39 ± 0,46	-			
Smakowitość Palatability [pkt / points]	Cielęta mleczne / Dairy calves	3,75 ± 0,33	4,63 ± 0,39	4,71 ± 0,25	4,37 ± 0,39			
	Cielęta ciężkie / Heavy calves	4,02 ± 0,47	4,35 ± 0,42	4,45 ± 0,16	4,27 ± 0,32			
	Młode bydło rzeźne Young slaughter cattle	2,74 ± 0,44	3,45 ± 0,40	4,37 ± 0,19	3,52 ± 0,67	**	**	ns
	Krowy / Cows	2,40 ± 0,56	3,02 ± 0,45	3,96 ± 0,33	3,11 ± 0,56			
	Średnio / Average	3,12 ± 0,49	3,79 ± 0,42	4,41 ± 0,18	-			

c.d. Tab. 3.

<i>m. semitendinosus</i> (ST)										
Kruchość Tenderness [pkt / points]	Cielęta mleczne / Dairy calves	4,01 ± 0,44	4,80 ± 0,41	4,83 ± 0,43	4,56 ± 0,47	**	**	ns		
	Cielęta ciężkie / Heavy calves	3,75 ± 0,56	4,40 ± 0,32	4,51 ± 0,26	4,23 ± 0,42					
	Młode bydło rzeźne Young slaughter cattle	3,08 ± 0,34	3,98 ± 0,30	4,40 ± 0,36	3,81 ± 0,44					
	Krowy / Cows	2,70 ± 0,45	3,11 ± 0,27	3,97 ± 0,45	3,25 ± 0,51					
	Średnio / Average	3,33 ± 0,41	4,10 ± 0,29	4,47 ± 0,37	-					
Soczystość Juiciness [pkt / points]	Cielęta mleczne / Dairy calves	3,37 ± 0,46	4,68 ± 0,44	4,68 ± 0,30	4,24 ± 0,43	**	**	ns		
	Cielęta ciężkie / Heavy calves	3,03 ± 0,57	4,15 ± 0,53	4,25 ± 0,28	3,80 ± 0,59					
	Młode bydło rzeźne Young slaughter cattle	2,79 ± 0,58	3,71 ± 0,45	4,18 ± 0,19	3,56 ± 0,51					
	Krowy / Cows	2,78 ± 0,65	3,27 ± 0,43	3,90 ± 0,39	3,31 ± 0,56					
	Średnio / Average	2,94 ± 0,59	3,92 ± 0,50	4,23 ± 0,36	-					
Smakowitość Palatability [pkt / points]	Cielęta mleczne / Dairy calves	3,66 ± 0,64	4,66 ± 0,45	4,68 ± 0,15	4,30 ± 0,49	**	**	ns		
	Cielęta ciężkie / Heavy calves	3,57 ± 0,56	4,25 ± 0,50	4,39 ± 0,36	4,07 ± 0,52					
	Młode bydło rzeźne Young slaughter cattle	2,64 ± 0,79	3,55 ± 0,45	4,28 ± 0,59	3,48 ± 0,71					
	Krowy / Cows	2,20 ± 0,67	2,90 ± 0,58	3,91 ± 0,43	3,01 ± 0,66					
	Średnio / Average	2,90 ± 0,67	3,81 ± 0,46	4,30 ± 0,61	-					

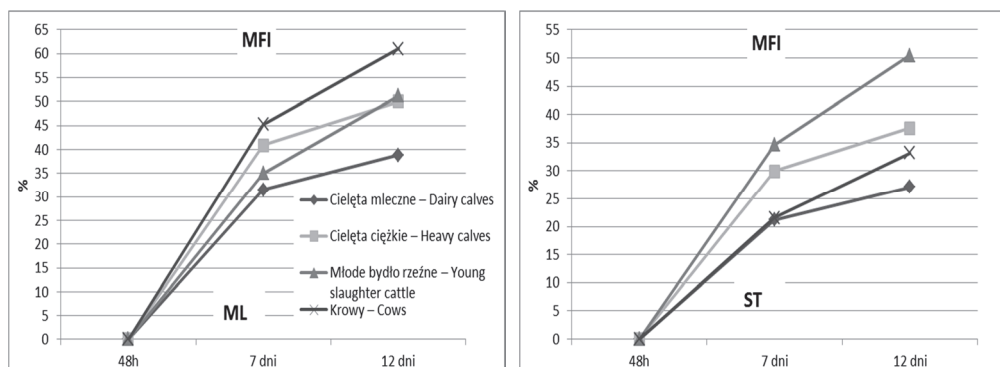
* - $p \leq 0,05$; ** - $p \leq 0,01$; ns – nie stwierdzono / not found. Pozostałe objaśnienia jak pod tab. 1 / Other explanatory notes as in Tab. 1.

Po przeanalizowaniu względnych zmian MFI najwyższy wzrost tego indeksu stwierdzono w mięśniu ML krów (60,99 %) i ST młodego bydła rzeźnego (50,46 %), najniższy natomiast w obu mięśniach cieląt mlecznych (odpowiednio: 38,85 i 27,11%) – rys. 2.



Rys. 1. Zmiany siły cięcia (F_{max}) [%] mięśni bydlęcych w okresie 12-dniowego dojrzewania próżniowego

Fig. 1. Changes in shear force (F_{max}) [%] of cattle muscles during 12 days of vacuum aging



Rys. 2. Zmiany MFI [%] mięśni bydlęcych w okresie 12 -dniowego dojrzewania próżniowego

Fig. 2. Changes in MFI [%] of cattle muscles during 12 days of vacuum aging

Kruchość mięsa jest bezpośrednio uzależniona od struktury dwóch podstawowych składników białkowych tkanki mięśniowej, tj. miofibrili i śródmięśniowej tkanki łącznej (*intramuscular connective tissue* – IMCT). Znaczenie IMCT jest istotne zwłaszcza w przypadku mięśni z dużą zawartością kolagenu i pozyskanych ze zwierząt dojrzających (np. krów), u których wraz z wiekiem obserwuje się wzrost mechanicznej i termicznej stabilności włókien kolagenowych [28]. Pomiary kruchości określone na podstawie siły cięcia charakteryzują oba komponenty mięśnia [6], natomiast wartość indeksu MFI wskazuje poziom degradacji białek miofibrilarnych – przy jego oznaczaniu

niu usuwana jest tkanka łączna [8, 24, 34]. Przeprowadzone badania w pewnym zakresie potwierdzają takie zależności, np. w mięśniu ML krów w trakcie całego okresu dojrzewania obserwowano najwyższy procentowy wzrost MFI. Jednakże już w przypadku względnego wzrostu siły cięcia, jak i absolutnych wartości $F_{\max}$, stwierdzono najniższe wyniki spośród ocenianych kategorii bydła (rys. 1 i 2, tab. 2).

Wzrost kruchości mięsa, zwłaszcza w pierwszej fazie dojrzewania (tzw. szybkiej – do 10 dni), zależy od stopnia degradacji białek miofibrylarnych. W przypadku śródmięśniowej tkanki łącznej nie jest to już tak jednoznaczne, bowiem większość autorów uważa, że IMCT w trakcie poubojowego dojrzewania ulega tylko nieznacznym zmianom, które nie mają większego wpływu na kruchość mięsa po obróbce termicznej [27, 31]. Niektórzy sugerują jednak, że o ile znaczenie IMCT w pierwszej fazie kruszenia mięsa jest niewielkie, to w kolejnej (tzw. powolnej – po 10 dniach) jej udział może być już znaczący. Zmianie ulegają bowiem struktura i właściwości mechaniczne IMCT, co spowodowane jest m.in. rozdzieleniem się fibryli i włókien kolagenowych, degradacją proteoglikanów oraz wzrostem ilości kolagenu rozpuszczalnego [26, 27].

Wykazano istotny wpływ kategorii bydła i czasu dojrzewania na wszystkie oceniane cechy sensoryczne, zarówno mięśnia ML, jak i ST. Nie stwierdzono natomiast interakcji między tymi czynnikami (tab. 3). Pod względem kruchości, soczystości i smakowitości najwyżej oceniono mięśnie cieląt mlecznych, najniżej natomiast – mięśnie krów. Z badań innych autorów wynika, że polscy konsumenci spośród wielu cech sensorycznych wołowiny za najważniejsze uznają smak i zapach, następnie wygląd ogólny, a w dalszej kolejności kruchość oraz soczystość. Z kolei w opinii Australijczyków za najważniejszą cechę jakościową wołowiny uznawana jest kruchość, stanowiąca 40 % jakości mięsa, następnie smakowitość, a na końcu soczystość oraz wygląd ogólny [7].

Podczas chłodniczego przechowywania mięsa zaobserwowano istotną poprawę wszystkich cech sensorycznych (tab. 3). Podobnie Niedźwiedź i wsp. [25] wskazują na istotny wpływ czasu dojrzewania na cechy mięśnia ML młodego bydła rzeźnego ocenianego sensorycznie (w skali 9-punktowej). W badaniach tych autorów w 14. dniu dojrzewania kruchość, smak i zapach mięśnia oceniono na poziomie 8,7 pkt, a soczystość – na 8,5 pkt i w porównaniu z notami przyznanymi 2. dnia dojrzewania były one wyższe odpowiednio o: 3,8, 2,1, 1,9 i 2,6 pkt.

Jak twierdzą Monsón i wsp. [22] oraz Sañudo i wsp. [32], dojrzewanie istotnie przyczynia się do eliminowania różnic w teksturze mięsa, zarówno pomiędzy rasami bydła, jak i poszczególnymi osobnikami w obrębie tej samej rasy. Proces ten pozwala na uzyskanie bardziej jednorodnego surowca odpowiadającego wysokim wymaganiom konsumenta, co sprawia, że mięso nabiera nowej, wyższej wartości rynkowej.

Największą poprawę cech sensorycznych wykazano między 2. a 7. dniem dojrzewania (tab. 3). Generalnie mięso cieląt mlecznych już w 7. dniu chłodniczego doj-

rzewania wykazywało bardzo korzystne cechy, przede wszystkim w zakresie kruchości i soczystości. Przeprowadzona ocena sensoryczna wskazuje, że mięśnie ST wszystkich ocenianych kategorii bydła były bardziej kruche (średnio od 4,56 do 3,25 pkt) niż ML (średnio od 4,42 do 3,18 pkt), które jednak wraz z wydłużaniem czasu chłodniczego przechowywania stawały się bardziej soczyste i smakowite.

Kandeean i wsp. [13, po uwzględnieniu takich cech jakości tkanki mięśniowej, jak: rodzaj włókien mięśniowych, właściwości tkanki łącznej oraz cechy sensoryczne pozostające w ścisłym związku ze składem chemicznym i kruchością twierdzą, że mięso pozyskiwane z młodego bydła rzeźnego (w szczególności z chowu intensywnego) jest predestynowane do wykorzystania jako mięso kulinarne. Surowiec otrzymany ze starszych zwierząt jest natomiast bardziej przydatny dla przetwórstwa, głównie do produkcji wędlin lub przetworów z mięsa mielonego.

Wnioski

1. Kategoria bydła w istotny sposób determinowała podstawowy skład chemiczny mięśni, z wyjątkiem zawartości białka w *m. longissimus lumborum* (ML) i wody – w *m. semitendinosus* (ST).
2. Wykazano istotny ($p \leq 0,01$) wpływ kategorii bydła na siłę i energię cięcia, wartość MFI oraz wyróżniki sensoryczne analizowanych mięśni.
3. Wraz z wiekiem (dojrzałością) zwierząt ich mięśnie były mniej kruche, co wpłynęło na wyższą siłę i energię cięcia oraz niższą wartość MFI, jak również na niższe noty oceny sensorycznej.
4. W okresie 12-dniowego dojrzewania poubojowego w mięśniach ML i ST wszystkich analizowanych kategorii bydła obserwowano istotne ($p \leq 0,01$) obniżenie siły i energii cięcia oraz wzrost wartości wskaźnika MFI.
5. Czas dojrzewania wpłynął istotnie ($p \leq 0,01$) na poprawę cech sensorycznych ocenianych mięśni.
6. Mięśnie ST wszystkich ocenianych kategorii bydła odznaczały się niższą siłą i energią cięcia oraz wyższymi wartościami MFI w porównaniu z ML. Ich większa kruchość potwierdzona została również w ocenie sensorycznej. Wyżej oceniono natomiast mięśnie ML za soczystość i smakowitość.

Literatura

- [1] Bourne M.C.: Food texture and viscosity: Concept and measurement. 2nd ed. Food Sci. Technol., Inter. Series, Acad. Press, New York 2002.
- [2] Destefanis G., Brugiapaglia A., Barge M.T., Dal Molin E.: Relationship between beef consumer tenderness perception and Warner-Bratzler shear force. Meat Sci., 2008, **78**, 153-156.
- [3] Domaradzki P., Skąlecki P., Florek M., Litwińczuk Z.: Związek kolagenu z wybranymi parametrami technologicznymi mięsa cielęcego. Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 2010, **71** (4), 50-62.

- [4] Florek M., Litwińczuk M., Skąlecki P., Ryszkowska-Siwko M.: Changes of physicochemical properties of bullocks and heifers meat during 14 days of ageing under vacuum. *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, 2007, **3** (57), 281-288.
- [5] Grodzicki T.: Skład chemiczny i właściwości fizykochemiczne mięśni szkieletowych czterech kategorii bydła rzeźnego. *Rocz. Nauk. PTZ*, 2009, **4** (5), 167-180.
- [6] Harris P.V., Shorthose W.R.: Meat texture. In.: *Developments in Meat Science*. Ed. R. Lawrie. Elsevier UK, London 1988, pp. 245-296.
- [7] Hocquette J.F., van Wezemael L., Chriki S., Legrand I., Verbeke W., Farmer L., Scollan N.D., Polkinghorne R., Rødbotten R., Allen P., Pethick D.W.: Modelling of beef sensory quality for a better prediction of palatability. *Meat Sci.*, 2014, **97**, 316-322.
- [8] Hopkins D.L., Littlefield P.J., Thompson J.M.: A research note on factors affecting the determination of myofibrillar fragmentation. *Meat Sci.*, 2000, **56**, 19-22.
- [9] Hornsey H.C.: The colour of cooked cured pork I. estimation of the nitroxide haem pigments. *J. Sci. Food Agric.*, 1956, **7**, 534-540.
- [10] Hou X., Liang R., Mao Y., Zhang Y., Niu L., Wang R., Liu C., Liu Y., Luo X.: Effect of suspension method and aging time on meat quality of Chinese fattened cattle *M. Longissimus dorsi*. *Meat Sci.*, 2014, **96**, 640-645.
- [11] Iwanowska A., Pospiech E., Łyczynski A., Rosochacki S., Grześ B., Mikołajczak B., Iwańska E., Rzosińska E., Czyżak-Runowska G.: Evaluation of variations in principal indices of the culinary meat quality obtained from young bulls of various breeds. *Acta Sci. Pol., Technol. Aliment.*, 2010, **9** (2), 133-149.
- [12] Jeleníková J., Pipek P., Staruch L.: The influence of ante-mortem treatment on relationship between pH and tenderness of beef. *Meat Sci.*, 2008, **80**, 870-874.
- [13] Kandeepan G., Anjaneyulu A.S.R., Kondaiah N., Mendiratta S.K., Lakshmanan V.: Effect of age and gender on the processing characteristics of buffalo meat. *Meat Sci.*, 2009, **83**, 10-14.
- [14] Kim C.J., Lee E.S.: Effects of quality grade on the chemical, physical and sensory characteristics of Hanwoo (Korean native cattle) beef. *Meat Sci.*, 2003, **63**, 397-405.
- [15] Kołczak T., Palka K., Łącki J.: Water retention, shear force and texture parameters of cattle psoas and semitendinosus muscles unfrozen and frozen during post-mortem ageing. *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, 2005, **1** (55), 17-26.
- [16] Kołczak T., Pospiech E., Palka K., Łącki J.: Changes of myofibrillar and centrifugal drip proteins and shear force of psoas major and minor and semitendinosus muscles from calves, heifers and cows during post-mortem ageing. *Meat Sci.*, 2003, **64**, 69-75.
- [17] Konarska M., Guzek D., Głąbska D., Wierzbicka A.: Systemy klasyfikacji mięsa wołowego a jego realna jakość. *Zesz. Nauk. SGGW. Problemy Rolnictwa Światowego*, 2012, **27** (1), 94-104.
- [18] Koohmaraie M.: Muscle proteinases and meat aging. *Meat Sci.*, 1994, **36**, 93-10.
- [19] Kosicka-Gębska M., Przeździecka N., Gębski J.: Tendencje zmian w spożyciu mięsa wołowego w Polsce w latach 2000 - 2009. *Zesz. Nauk. SGGW. Problemy Rolnictwa Światowego*, 2010, **10** (25), 49-59.
- [20] Lin-qiang L., Wan-qiang T., Lin-sen Z.: Effects of age on quality of beef from Qinchuan cattle carcass. *Agric. Sci. China*, 2011, **10** (11), 1765-1771.
- [21] Małkowski J.: Rynek mięsa – stan i perspektywy. IERiGŻ-PIB, Warszawa 2013.
- [22] Monsón F., Sañudo C., Sierra I.: Influence of cattle breed and ageing time on textural meat quality. *Meat Sci.*, 2004, **68**, 595-602.
- [23] Moon S.S., Yang H.S., Park G.B., Joo S.T.: The relationship of physiological maturity and marbling judged according to Korean grading system to meat quality traits of Hanwoo beef females. *Meat Sci.*, 2006, **74**, 516-521.
- [24] Niedźwiedz J., Ostojka H., Cierach M.: Instrumentalny pomiar parametrów tekstury i ocena organoleptyczna kruchości wołowego mięsa kulinarnego. *Inż. Ap. Chem.* 2013, **52** (2), 62-64.
- [25] Niedźwiedz J., Ostojka H., Cierach M.: Tekstura mięśnia *longissimus thoracis et lumborum*, mieszańców bydła ras mięsnych, poddawanego dojrzewaniu metodą moką. *Acta Agrophisica*, 2012, **19** (3), 631-640.

- [26] Nishimura T., Hattori A., Takahashi K.: Structural weakening of intramuscular connective tissue during conditioning of beef. *Meat Sci.*, 1995, **39**, 127-133.
- [27] Nishimura T.: Role of extracellular matrix in development of skeletal muscle and *postmortem* aging of meat. *Meat Sci.*, 2015, **109**, 48-55.
- [28] Nishimura T.: The role of intramuscular connective tissue in meat texture. *Anim. Sci. J.*, 2010, **81**, 21-27.
- [29] Palka K.: Zmiany w mikrostrukturze i teksturze mięśni bydlęcych podczas dojrzewania poubojowego i ogrzewania. *Zesz. Nauk. AR, Kraków*, 2000, **nr 270**.
- [30] Pogorzelska J., Miciński J., Ostojka H., Kowalski I.M., Szarek J., Strzyżewska E.: Quality traits of meat from young Limousin, Charolais and Hereford bulls. *Pak. Vet. J.*, 2013, **33** (1), 65-68.
- [31] Purslow, P.P.: New developments on the role of intramuscular connective tissue in meat toughness. *Annu. Rev. Food Sci. Technol.*, 2014, **5**, 133-153.
- [32] Sañudo C., Macie E.S., Olleta J.L., Villarroel M., Panea B., Albertí P.: The effects of slaughter weight, breed type and ageing time on beef meat quality using two different texture devices. *Meat Sci.*, 2004, **66**, 925-932.
- [33] Sobczak M., Lachowicz K., Kamieniecki H., Wójcik J., Gajowiecki L., Żochowska J., Żych A., Kotowicz M., Sablik P., Rzewucka E.: The effect of cattle genotype on texture of selected muscles during post-mortem ageing. *Electr. J. Pol. Agric. Univ.*, 2005, **3** (8), 1-9.
- [34] Taylor R.G., Geesing G.H., Thompson V.F., Koohmaraie M., Goll D.E.: Is Z-disk degradation responsible for *post mortem* tenderization? *J. Anim. Sci.*, 1995, **73**, 1351-1367.
- [35] Vieira C., Diaz M.T., Martínez B., García-Cachán M.D.: Effect of frozen storage conditions (temperature and length of storage) on microbiological and sensory quality of rustic crossbred beef at different states of ageing. *Meat Sci.*, 2009, **83**, 398-404.
- [36] Piśula A., Pospiech E. (Red.): *Mięso – podstawy nauki i technologii*. Wydawnictwo SGGW, Warszawa 2011.
- [37] PN-ISO 1442:2000. Mięso i przetwory mięsne. Oznaczanie zawartości wody (metoda odwoławcza).
- [38] PN-ISO 936:2000. Mięso i przetwory mięsne. Oznaczanie popiołu całkowitego.
- [39] PN-ISO 1444:2000. Mięso i przetwory mięsne. Oznaczanie zawartości tłuszczu wolnego.

CHANGES IN TEXTURE AND SENSORY PROPERTIES OF SELECTED MUSCLES OF SLAUGHTER CATTLE OF DIFFERENT CATEGORIES DURING 12 DAYS OF VACUUM AGING

S u m m a r y

The objective of the research study was to determine the changes in the texture parameters and sensory properties of the skeleton *longissimus lumborum* (ML) and *semitendinosus* (ST) muscles obtained from the carcasses of four cattle categories, i.e. dairy calves (n = 20), heavy calves (n = 20), young cattle (n = 71), and cows (n = 10) during a 12-day aging period. In the post-mortem meat samples collected on the 2nd, 7th, and 12th day after slaughter, the shear force, shear energy, and myofibrillar fragmentation index (MFI) were measured as well as an organoleptic evaluation on a 5-point scale was performed. In addition, on the 2nd day after slaughter the basic chemical composition and the content of haem pigments were determined.

The muscles of young animals, i.e. heavy calves and dairy calves, contained less fat (on average, 1.25 % less in ML and 0.98 % less in ST) and less haem pigments (97 ppm less in ML and 67 ppm less in ST). Also, those muscles contained more mineral compounds in the form of ash (0.20 % in ML and 0.23 % in ST) and more water (0.94 % in ML and 0.28 % in ST) in comparison to the mature animals, i.e. young slaughter cattle and cows. On the subsequent days of aging, the lowest values of shear force and shear energy, and the highest values of MFI were reported in the muscles of dairy calves (on average,

70.59 N, 0.31 J, 105.84 in ML and 44.27 N, 0.19 J, 113.70 in ST). Different values were reported as regards the muscles of cows, respectively: (109.37 N, 0.46 J, 91.19 in ML and 93.73 N, 0.39 J, 99.61 in ST). During the 12-day cold storage period, a significant improvement was found in the texture and sensory properties of the meat of all four categories of cattle, as was an increase in MFI thereof. The highest decrease in the shear force was reported in the two types of muscles of heavy calves (55.99 % in ML and 40.62 % in ST), and the lowest in those of the cows (39.62 % and 27.04 %, respectively). In the case of changes in MFI, the highest relative increase was found in the ML muscle of the cows (60.99 %) and in ST of the young slaughter cattle (50.46 %), whereas the lowest in the two muscles of the dairy calves (38.85 % and 27.11 %, respectively). The highest ratings were given to the sensory properties: tenderness, juiciness, and palatability of the meat samples from the dairy calves on the 12th day after slaughter (on average, 4.68 - 4.83 pts.) followed by heavy calves (4.25 - 4.51 pts.) and young slaughter cattle (4.18 - 4.40 pts.). Those properties of the muscle samples from cows were rated the lowest (3.90 - 3.98 pts.).

Key words: beef, aging, chemical composition, shear force, myofibrillar fragmentation index ☒

PIOTR SZYMAŃSKI, DANUTA KOŁOŻYN-KRAJEWSKA

WPLYW ZASTOSOWANIA *STAPHYLOCOCCUS CARNOSUS* ATCC-51365 W PROCESIE PEKLOWANIA MIĘSA NA WYBRANE CECHY JAKOŚCI MODELOWEGO PRODUKTU MIĘSNEGO

Streszczenie

Celem pracy było zastosowanie bakterii denitryfikujących *S. carnosus* ATCC-51365 do poprawy efektywności procesu peklowania mięsa azotanem(III) sodu i określenie ich wpływu na wybrane cechy jakości modelowego produktu mięsnego poddanego obróbce cieplnej. Materiałem doświadczalnym był drobno rozdrobniony wieprzowy produkt mięsny wytworzony z mięsa peklowanego azotanem(III) sodu i poddany obróbce cieplnej. Liczba początkowa bakterii *S. carnosus* ATCC-51365 w farszu mięsnym wynosiła 10^7 jtk/g, natomiast wariant kontrolny nie zawierał dodatku szczepu bakteryjnego. Zastosowanie bakterii *Staphylococcus carnosus* ATCC-51365 do peklowania mięsa wpłynęło na istotne ($p \leq 0,05$) zmniejszenie zawartości azotanów(V) w modelowym wyrobie mięsnym bezpośrednio po wyprodukowaniu w porównaniu z wariantem kontrolnym. Spowodowało również zmniejszenie zawartości azotanów(V) i (III) po 8-tygodniowym okresie przechowywania. Pod wpływem bakterii *S. carnosus* ATCC-51365 w procesie peklowania zaobserwowano istotne ($p \leq 0,05$) obniżenie wartości potencjału oksydacyjno-redukcyjnego środowiska mięsnego i niewielki wzrost jego kwasowości, co w konsekwencji stworzyło takie warunki biochemiczne farszu mięsnego, które umożliwiły powstanie nitrozylobarwników w ilości istotnie większej niż w przypadku produktu mięsnego otrzymanego bez zastosowanej kultury bakteryjnej. Produkty modelowe wytworzone z udziałem *S. carnosus* ATCC-51365 odznaczały się statystycznie istotnie ($p \leq 0,05$) wyższą wartością składowej barwy a^* . Zastosowanie kultury bakteryjnej do peklowania wpłynęło korzystnie na odczuwalność smaku i zapachu mięsa peklowanego i ocenę ogólną produktów modelowych. Nie wykazano istotnych różnic pod względem trwałości mikrobiologicznej produktów wytworzonych z zastosowaną kulturą bakteryjną do peklowania mięsa i bez niej.

Słowa kluczowe: produkty mięsne, peklowanie, *Staphylococcus carnosus* ATCC-51365, jakość, zawartość azotanów(III) i (V)

Dr inż. P. Szymański, Zakład Technologii Mięsa i Tłuszczu, Instytut Biotechnologii Przemysłu Rolno-Spożywczego im. prof. Wacława Dąbrowskiego, ul. Jubilerska 4, 04-190 Warszawa, prof. dr hab. D. Kołożyn-Krajewska, Katedra Technologii Żywności i Higieny Produkcji, Wydz. Nauk o Żywieniu Człowieka i Konsumpcji, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, ul. Nowoursynowska 159 C, 02-776 Warszawa. Kontakt: piotr.szumanski@ibpr.pl

Wprowadzenie

Poprawa poziomu higieny pozyskiwania i przetwarzania mięsa wpływa pozytywnie na jakość mikrobiologiczną surowca i produktów, ale przypuszcza się, że może mieć niekorzystny wpływ na przebieg procesu technologicznego, głównie peklowania mięsa [22, 23, 24]. Problem dotyczy zwłaszcza produktów peklowanych przy użyciu azotanów(III) i poddawanych obróbce cieplnej. Wskazywać na to może stosunkowo duża zawartość azotanów(V) w rynkowych produktach peklowanych ww. sposobem [23].

W Instytucie Biotechnologii Przemysłu Rolno-Spożywczego w Warszawie podjęto prace dotyczące określenia, czy wzbogacenie naturalnej mikroflory mięsa w wybrane szczepy bakterii denitryfikujących będzie miało istotny wpływ na efektywność procesu peklowania mięsa azotanami(III). Użyto szczepu bakterii *Staphylococcus carnosus* ATCC-51365. W pierwszym etapie badań określono właściwości biochemiczne szczepu i jego zdolność do redukcji azotanów(V) i (III). Stwierdzono, że szczep *S. carnosus* ATCC-51365 redukuje azotany(V) i (III) w układzie modelowym w szerokim zakresie temperatury ($15 \div 40$ °C), wykazuje zdolność do redukcji azotanów(V) w środowisku mięsnym oraz wpływa na obniżenie potencjału oksydacyjno-redukcyjnego farszu mięsnego [23, 24]. Kolejnym etapem pracy będzie przeprowadzenie badań aplikacyjnych z zastosowaniem *S. carnosus* ATCC-51365 do peklowania mięsa.

Celem pracy było zastosowanie szczepu bakterii denitryfikujących *Staphylococcus carnosus* ATCC-51365 do poprawy efektywności procesu peklowania mięsa przy użyciu azotanu(III) sodu i określenie jego wpływu na wybrane cechy jakości modelowego produktu mięsnego poddanego obróbce cieplnej.

Material i metody badań

Badania przeprowadzono na modelowym, drobno rozdrobnionym farszu mięsnym o następującym składzie: mięsień półbłoniasty (*m. semimembranosus*) z szynki wieprzowej – 100,0 kg, woda/lód – 67,5 kg, białko sojowe (Solae, Belgia) – 2,0 kg, skrobia ziemniaczana (PPS Łomża, Polska) – 5,0 kg, glukoza (Cargill, UE) – 0,45 kg, trifosforan sodu (57 % P_2O_5 , BK Giulini, UE) – 0,50 kg, askorbinian sodu (Hebei, Chiny) – 0,09 kg, NaCl (Kłodowa, Polska) – 3,2 kg; $NaNO_2$ (Chempur, Polska) – 0,018 kg. Zastosowany dodatek azotanu(III) sodu i pozostałych substancji dodatkowych do farszu mięsnego ustalony został na podstawie badań wstępnych [23].

Mięso do badań pozyskano z rozbioru przemysłowego tusz wieprzowych przeprowadzanego w Zakładach Mięsnych "STANISŁAWÓW" Polish Farm Meat w Stanisławowie. Surowiec pochodził z półtuszy wychłodzonych 48 h od uboju i był wolny od

wad jakościowych. Produkcję doświadczalną prowadzono w hali półtechnicznej Zakładu Technologii Mięsa i Tłuszczu IBPRS w Warszawie.

W doświadczeniu zastosowano szczep bakterii denitryfikujących *Staphylococcus carnosus* ATCC-51365 wyizolowany z kiełbasy suszonej, pochodzący z kolekcji kultur bakteryjnych *The American Type Culture Collection*. Szczep namnażano na podłożu TSB, stosując stymulację komórek bakterii azotanem(V) sodu [24]. Otrzymaną biomasę bakteryjną zawieszano w roztworze soli fizjologicznej i w takiej formie wprowadzano do farszu. Liczba początkowa bakterii *S. carnosus* ATCC-51365 w farszu mięsnym wynosiła 10^7 jtk/g. Wariant kontrolny nie zawierał dodatku szczepu bakteryjnego. Wytworzono równolegle po pięć serii farszów z każdego wariantu doświadczenia.

Farsz zamykano w puszkach i przetrzymywano w temp. 4 °C przez 24 h. Następnie puszki poddawano obróbce cieplnej prowadzonej etapami, aby temperatura w centrum konserwy była na poziomie 20, 40 i 45 °C przez dwie godziny, a następnie do uzyskania wewnątrz produktu temp. 70 °C. Obróbka cieplna konserw prowadzona była w kotle warzelnym (Brokelmann, Niemcy). Temperatura środowiska (wody) i wewnątrz konserw mierzona była w sposób ciągły przy użyciu termopar zespolonych z panelem sterującym typu ctf84 (Ellab, Dania). Zastosowane parametry obróbki cieplnej farszu ustalono na podstawie wcześniejszych badań [23].

Próbki do badań pobierano po zakończonej obróbce cieplnej i wychłodzeniu produktu oraz po 3 i 8 tygodniach przechowywania w temp. 4 °C. W próbkach konserw mięsnych oznaczano:

- zawartość azotanów(V) i (III) [19] z modyfikacją [21],
- liczbę bakterii *Staphylococcus* (podłoże medium 110), liczbę bakterii kwasu mlekowego (podłoże MRS) i ogólną liczbę drobnoustrojów tlenowych (podłoże TSA), stosując metodę płytkową,
- pH [20] i potencjał redox (aparat Mettler Delta 350 z elektrodą InLab Redox Pro, Mettler Toledo, Anglia) – pomiar wykonywano w roztworze przygotowanym przez zhomogenizowanie 10 g farszu mięsnego z 50 ml wody destylowanej. Czas homogenizacji – 1 min, prędkość obrotowa noży – 14000 obr./min,
- zawartość nitrozylobarwników metodą Horsneya [10],
- składowe barwy w systemie CIE $L^*a^*b^*$ przy użyciu spektrofotometru odbiciowego Minolta CR-300 (Minolta, Japonia). Przy pomiarze zastosowano obserwator standardowy CIE: 2°, illuminant D65, obszar pomiaru 8 mm, kalibrację przeprowadzono za pomocą wzorca bieli (L^* 99,18, a^* -0,07, b^* -0,05). Pomiar wykonywano pięciokrotnie bezpośrednio po przekrojeniu bloku konserwy. Na podstawie uzyskanych wyników obliczano całkowitą zmianę barwy ΔE [11].

Ocenę sensoryczną oraz pomiar wycieku soku mięsnego w produktach doświadczalnych wykonywano po 3 dniach przechowywania. Ocenę sensoryczną przeprowa-

dział zespół 10-osobowy, w dwóch powtórzeniach, metodą ilościowej analizy opisowej QDA [18]. Zastosowano 13 wyróżników i nieustrukturyowaną skalę graficzną: 0 – 10 j.u.

Do statystycznego opracowania wyników zastosowano program Statgraphics Plus 4.1. Przeprowadzono jednoczynnikową analizę wariancji, a istotność różnic między wartościami średnimi analizowano testem Fishera. Testowanie prowadzono na poziomie istotności $p = 0,05$.

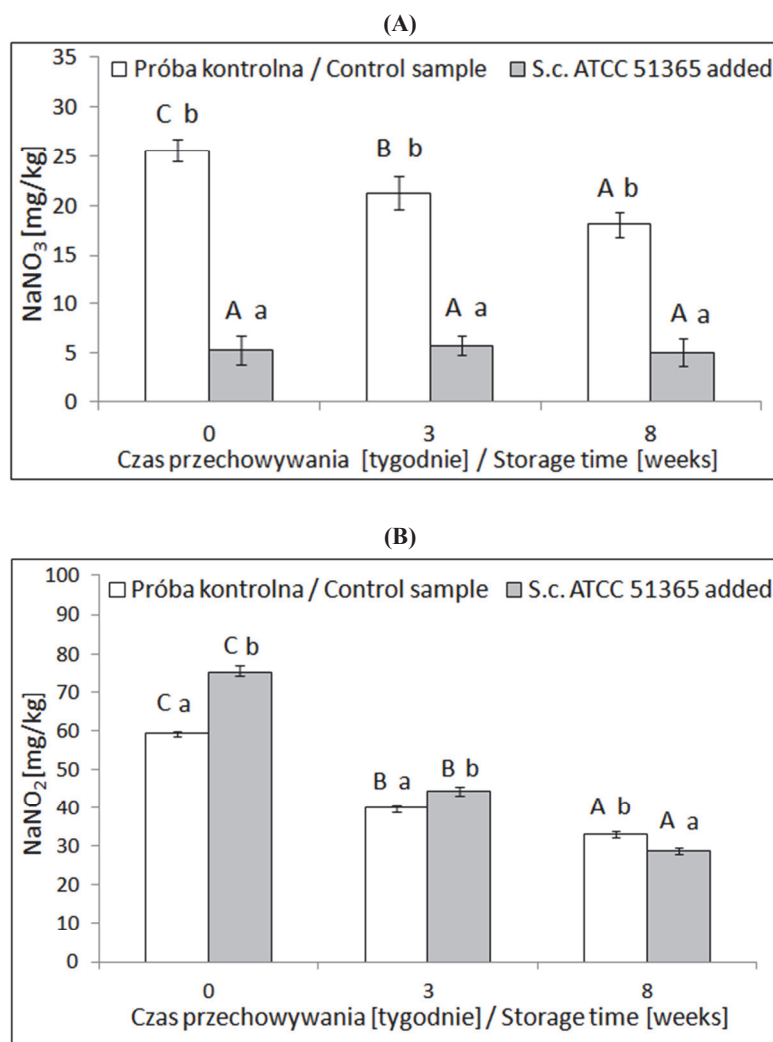
Wyniki i dyskusja

W badaniach wykazano, że zastosowanie bakterii *Staphylococcus carnosus* ATCC-51365 podczas peklowania mięsa wpłynęło istotnie ($p \leq 0,05$) na zmniejszenie zawartości azotanów(V) w wyrobie bezpośrednio po wyprodukowaniu w porównaniu z wariantem kontrolnym. Podczas przechowywania zawartość azotanów(V) w tym wariantcie była zbliżona do poziomu w wyrobie po wyprodukowaniu i w trzech terminach badań (0, 3, 8) mieściła się w zakresie $5,1 \div 5,8$ mg/kg. Z kolei w próbie kontrolnej zawartość azotanów(V) zmniejszała się istotnie ($p \leq 0,05$) wraz z upływem czasu przechowywania, jednak w każdym z terminów badań była kilkakrotnie większa niż w próbkach z udziałem szczepu *S. carnosus* ATCC-51365 (rys. 1A).

Stwierdzono, że wyroby, w których zastosowano bakterie denitryfikujące charakteryzowały się statystycznie istotnie ($p \leq 0,05$) większą zawartością azotanów(III) w stosunku do wariantu kontrolnego (rys. 1B). Zjawisko to można tłumaczyć stosunkowo dużą ilością azotanów(V) zredukowanych przez bakterie. Zawartość azotanów(III) statystycznie istotnie ($p \leq 0,05$) zmniejszała się w obu próbach doświadczalnych w trakcie przechowywania. Dynamika tych zmian była większa w przypadku wariantu z zastosowaną kulturą bakteryjną.

Po 8-tygodniowym okresie przechowywania stwierdzono, że zarówno zawartość azotanów(III), jak i (V) w produktach z zastosowaną kulturą bakteryjną była istotnie ($p \leq 0,05$) mniejsza niż w produktach bez dodanego szczepu (rys. 1).

Azotany(III) podczas peklowania biorą udział w wielu konkurencyjnych reakcjach w mięsie, podczas których ulegają przemianom. Cassens i wsp. [5, 6], w badaniach nad bilansem azotanów(III) dodanych do mięsa w procesie peklowania, dowiedli, że $5 \div 15$ % azotanów(III) wiąże się z mioglobina i hemoglobina, $1 \div 10$ % przekształca się w azotany(V), $5 \div 20$ % pozostaje w postaci wolnej, $1 \div 5$ % wydzielają się w postaci gazu, $1 \div 15$ % wiąże się z grupami -SH, $1 \div 15$ % – z białkami, a $1 \div 15$ % – z tłuszczami. Honikel [11] uważa, że ilość azotanów(III) przekształcających się w azotany(V) podczas peklowania może być większa i wynosić $10 \div 40$ %.



Objaśnienia / Explanatory notes:

Na rysunku przedstawiono wartości średnie (w postaci słupków) i odchylenia standardowe (w postaci odcinków) / Figure shows mean values (bars) and standard deviations (line segments). Wartości średnie oznaczone różnymi wielkimi literami (A, B, C) w obrębie tej samej próby i małymi literami (a, b) pomiędzy różnymi próbami różnią się statystycznie istotnie ($p \leq 0,05$) / Mean values denoted by different capital letters (A, B, C) within the same sample and by small letters (a, b) among different samples differ statistically significantly ($p \leq 0,05$).

Rys. 1. Wpływ bakterii *Staphylococcus carnosus* ATCC-51365 zastosowanych w procesie peklowania mięsa na zawartość: (A) – azotanów(V) i (B) – azotanów(III) w produkcie modelowym podczas przechowywania

Fig. 1. Effect of *Staphylococcus carnosus* ATCC-51365 bacteria applied to meat curing process on the content of (A) nitrates (V) and (B) nitrates (III) in model product during storage

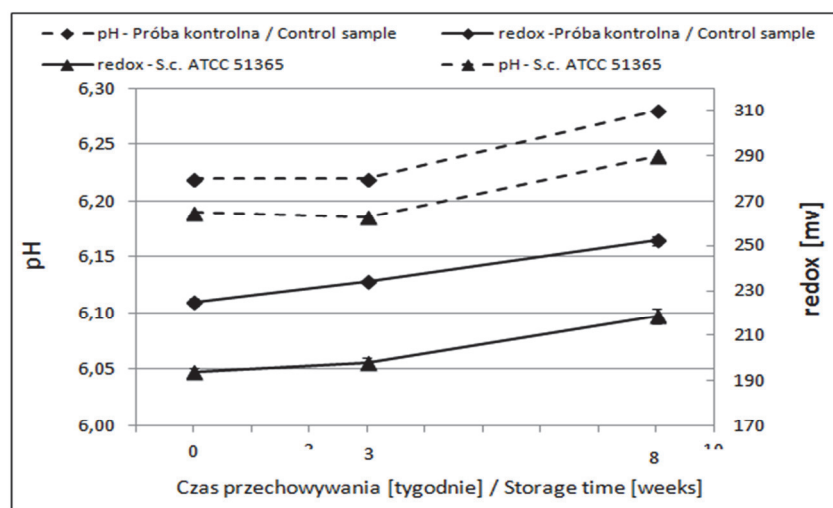
Stwierdzono, że w przypadku wariantu kontrolnego około 25 % dodanych do mięsa azotanów(III) uległo utlenieniu do azotanów(V). W próbie, w której zastosowano szczep *S. carnosus* ATCC-51365 ilość utlenionych azotanów(III) była blisko pięciokrotnie mniejsza. Redukcja azotanów(V) przez bakterie zwiększyła ilość azotanów(III) dostępnych w procesie peklowania mięsa.

Trudno porównać zawartość azotanów (V) i (III) w produktach modelowych z wędlinami rynkowymi, gdyż ogólny bilans dodanych azotanów(III) do mięsa podczas procesu peklowania może być różny i zależny od wielu czynników, tj. właściwości biochemicznych poszczególnych mięśni, warunków przeprowadzanego procesu technologicznego, mikroflory mięsa czy zastosowania substancji wspomagających ten proces [1, 2, 4, 5, 6, 9, 16, 17]. Azotany (V) i (III) występujące w produktach mięsnych mogą również stanowić zanieczyszczenie wnoszone z surowcami roślinnymi, zwierzęcymi i wodą [9, 14]. Istotny wpływ na resztkowy poziom azotanów (V) i (III) w produktach mięsnych ma również czas przechowywania tych wyrobów.

Wprowadzenie szczepu bakteryjnego *S. carnosus* ATCC-51365 do mięsa wpłynęło istotnie ($p \leq 0,05$) na obniżenie potencjału redox wyrobu gotowego (rys. 2). Obniżenie wartości potencjału oksydacyjno-redukcyjnego spowodowane aktywnością bakterii denitryfikujących podczas peklowania mięsa ma wpływ na zawartość resztkowych azotanów (V) i (III).

Podczas całego okresu przechowywania produktów doświadczalnych stwierdzono wzrost potencjału redox: w przypadku wariantu kontrolnego z wartości 224,9 mV do 252,2 mV, a w przypadku wariantu z kulturą bakteryjną ze 193,9 mV do 218,5 mV (rys. 2). Wzrost wartości potencjału redox podczas chłodniczego przechowywania produktów mięsnych o różnym składzie recepturowym, poddanych obróbce cieplnej, obserwowany był również przez innych autorów [12, 26].

Wykazano wpływ zastosowanych bakterii *S. carnosus* ATCC-51365 na poziom kwasowości produktu modelowego (rys. 3). Obniżenie pH produktu z udziałem bakterii było niewielkie, ale statystycznie istotne ($p \leq 0,05$). Zjawisko to obserwowano we wcześniejszych badaniach [24]. Można przypuszczać, że obniżenie pH środowiska mięsnego jest skutkiem fermentacji cukrów zawartych w produkcie do kwasu mlekowego lub innych kwasów organicznych przez szczep *S. carnosus* ATCC-51365. Podczas całego okresu przechowywania stwierdzono wzrost pH produktów z wartości 6,22 do 6,28 w wariancie kontrolnym oraz z 6,18 do 6,24 w wariancie z kulturą bakteryjną.



Na rysunku przedstawiono wartości średnie i odchylenia standardowe / Figure shows mean values and standard deviations.

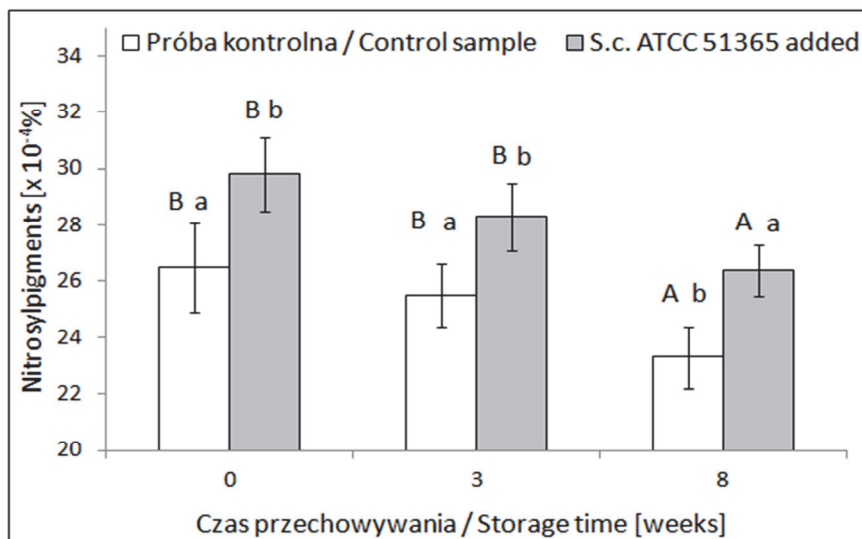
Rys. 2. Wpływ bakterii *Staphylococcus carnosus* ATCC-51365 zastosowanych w procesie peklowania mięsa na zmiany potencjału redox i pH produktu modelowego podczas przechowywania

Fig. 2. Effect of bacteria *Staphylococcus carnosus* ATCC-51365 bacteria applied to meat curing process on changes in redox potential and pH of model product during storage

W produkcie modelowym nie stwierdzono wycieku termicznego, co dowodzi, że obserwowany wzrost kwasowości nie naruszył naturalnych limitów pojemności buforowej mięsa. W konsekwencji nie spowodowało to obniżenia jego wodochłonności. Ma to szczególne znaczenie w przypadku wytwarzania produktów wysokowydajnych.

W produkcie modelowym, w którym zastosowano bakterie *S. carnosus* ATCC-51365 do peklowania mięsa, stwierdzono istotnie ($p \leq 0,05$) większą zawartość nitrozylobarwników w porównaniu z produktami bez tej kultury (rys. 3). Zaobserwowana tendencja może być wynikiem obniżenia wartości potencjału oksydacyjno-redukcyjnego środowiska mięsnego oraz wzrostem jego kwasowości, spowodowanym aktywnością metaboliczną wprowadzonych do farszu bakterii.

Stężenie jonów wodorowych (pH) jest czynnikiem decydującym o szybkości i wydajności procesu peklowania. Jak podają Mroczek i Piotrowska [16], obniżenie pH farszów mięsa z ud kurcząt z 6,50 do 6,20 i z 6,20 do 5,90 podczas peklowania wpływało pozytywnie na przereagowanie barwników hemowych i stabilność barwy po obróbce cieplnej.



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

Rys. 3. Wpływ bakterii *Staphylococcus carnosus* ATCC-51365 zastosowanych w procesie peklowania mięsa na zawartość nitrozylobarwników w produkcie modelowym podczas przechowywania

Fig. 3. Effect of *Staphylococcus carnosus* ATCC-51365 bacteria applied to meat curing process on the content of nitrosyl pigments in model product during storage

Zdolność redukcyjna środowiska mięsnego odgrywa również istotną rolę w osiągnięciu pożądanych efektów peklowania. Obniżenie potencjału redox farszu mięsnego przyspiesza reakcję nitrozylowania barwników hemowych [9]. Jak podają Neubauer i Gotz [17], prawdopodobne jest, że wykorzystywanie azotanów (V) i (III) przez bakterie z rodzaju *Staphylococcus* jako akceptorów elektronów w łańcuchu oddechowym prowadzi do generowania tlenku azotu (NO). Tlenek ten może wchodzić w reakcje z dezoksymioglobina (MbFe^{2+}) i w efekcie powstaje nitrozylomioglobina. Możliwa jest również reakcja NO z metmioglobina (MbFe^{3+}), w wyniku której powstaje nitrozylometmioglobina [9]. Powstały kompleks redukowany jest do nitrozylomioglobiny przez NADH [4] lub chemicznie – przez wprowadzenie do mięsa substancji redukujących [1].

W obu próbach doświadczalnych zaobserwowano istotne ($p \leq 0,05$) zmniejszenie zawartości nitrozylobarwników po 8 tygodniach przechowywania. Redukcja ilości nitrozylobarwników w wędlinach podczas przechowywania jest zjawiskiem znanym i związana jest z utlenianiem nitrozomiochromogenu [3]. Po 8 tygodniach przechowywania stwierdzono istotnie ($p \leq 0,05$) większą zawartość nitrozylobarwników w wariantach z zastosowaną kulturą bakteryjną.

Zawartość nitrozylobarwników w produkcie mięsnym wpływa na wartości parametru barwy a^* , charakteryzującego udział barwy czerwonej w wyrobie [8]. Zastosowanie szczepu *S. carnosus* ATCC-51365 wpłynęło istotnie ($p \leq 0,05$) na wartości składowych barwy L^* a^* b^* modelowego produktu mięsnego mierzone bezpośrednio po wyprodukowaniu i po przechowywaniu (tab. 1). Istotnie ($p \leq 0,05$) wyższą wartością parametru barwy a^* oraz istotnie niższą wartością parametru barwy b^* (charakteryzującego udział barwy żółtej) i wartością parametru barwy L^* (charakteryzującego jasność wyrobu) cechował się produkt modelowy wytworzony z zastosowaniem bakterii denitryfikujących (tab. 1). Nie stwierdzono natomiast statystycznie istotnych różnic pod względem całkowitej zmiany barwy (ΔE) produktów przed 8-tygodniowym okresem przechowywania i po nim (tab. 1). Oznacza to, że zastosowanie w procesie peklowania szczepu bakterii *S. carnosus* ATCC-51365 nie miało wpływu na dynamikę zmian barwy produktu modelowego podczas przechowywania. Po 8 tygodniach przechowywania w obu próbach doświadczalnych stwierdzono znaczne obniżenie wartości

Tabela 1. Wyniki pomiarów parametrów barwy L^* a^* b^* produktu modelowego determinowane wpływem bakterii *Staphylococcus carnosus* ATCC-51365 zastosowanych w procesie peklowania mięsa

Table 1. Measurement results of L^* a^* b^* colour parameters of model product as determined by the impact of *Staphylococcus carnosus* ATCC-51365 bacteria applied to meat curing process

Próba Sample	Współrzędne barwy / Colour parameters			Δ E
	L*	a*	b*	
Bezpośrednio po wyprodukowaniu / Immediately after production				
K	64,25 ^b ± 0,45	7,01 ^a ± 0,51	6,78 ^b ± 0,32	-
S	63,78 ^a ± 0,59	7,33 ^b ± 0,61	6,18 ^a ± 0,73	-
Po 3 tygodniach przechowywania / After 6 weeks of storage				
K	64,18 ^b ± 0,51	8,18 ^a ± 0,32	5,47 ^b ± 0,20	-
S	63,03 ^a ± 0,38	8,50 ^b ± 0,30	5,06 ^a ± 0,25	-
Po 8 tygodniach przechowywania / After 6 weeks of storage				
K	64,13 ^b ± 0,53	4,03 ^a ± 0,24	9,32 ^b ± 0,23	3,99 ^a ± 0,66
S	63,08 ^a ± 0,52	4,58 ^b ± 0,36	8,34 ^a ± 0,24	3,70 ^a ± 0,73

Objaśnienia / Explanatory notes:

K – próba kontrolna bez dodatku szczepu *S. carnosus* ATCC-51365 / control sample without *S. carnosus* ATCC-51365 strain added; S – próba z dodatkiem szczepu *S. carnosus* ATCC-51365 / sample with *S. carnosus* ATCC-51365 strain added.

W tabeli przedstawiono wartości średnie $\pm$ odchylenia standardowe / Table shows mean values $\pm$ standard deviations; a, b – wartości średnie oznaczone różnymi literami różną się statystycznie istotnie ($p \leq 0,05$) / mean values denoted by different letters differ statistically significantly ($p \leq 0.05$); n = 25.

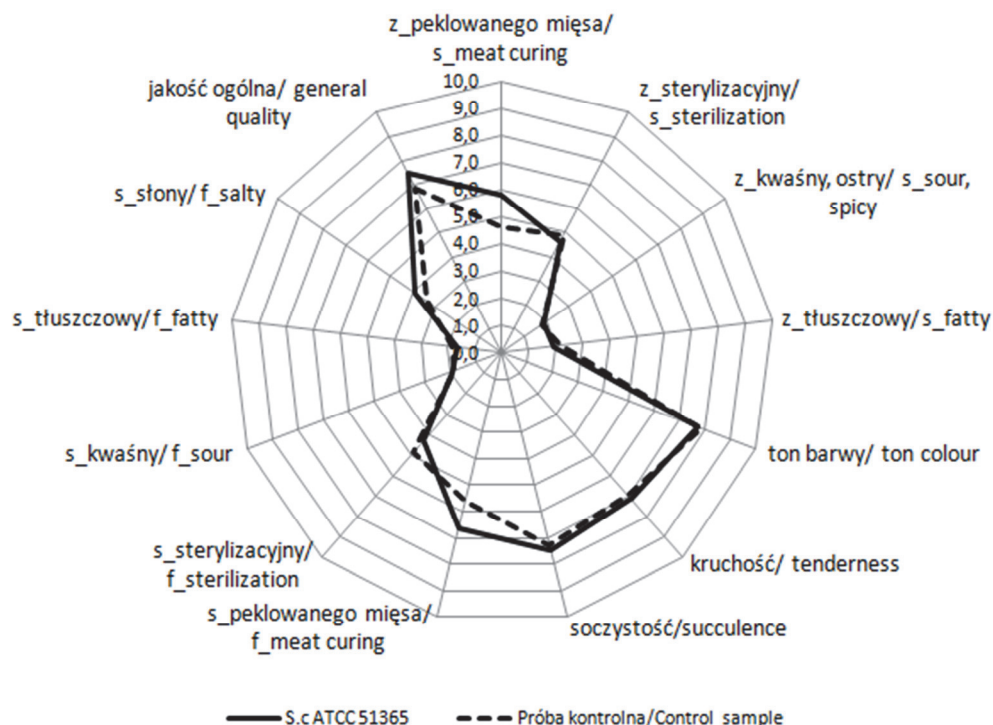
parametru a^* i wzrost wartości parametru b^* (tab. 1). Najwyższą wartością współczynnika a^* (4,58) charakteryzowała się próba, w której zastosowano szczep *S. carnosus* ATCC-51365.

Przeprowadzone badania nie wykazały istotnego wpływu zastosowanego szczepu bakteryjnego na jakość mikrobiologiczną produktu modelowego (wyniki badań mikrobiologicznych nie zostały przedstawione w formie tabeli). Ogólna liczba drobnoustrojów (OLD) w obu wariantach doświadczalnych kształtowała się na zbliżonym poziomie $2,36 \div 2,79 \log \text{ jtk/g}$ w całym okresie przechowywania. Migowska-Calik i wsp. [15] uzyskali wyniki OLD w wybranych parzonych produktach mięsnych na poziomie $2,96 \div 4,92 \log \text{ jtk/g}$.

Liczba bakterii kwasu mlekowego w produkcie modelowym kształtowała się poniżej $1,47 \log \text{ jtk/g}$, a bakterii z rodzaju *Staphylococcus* – poniżej $1,30 \log \text{ jtk/g}$ w trakcie całego okresu przechowywania. Leszczyńska-Fik i Fik [13] oznaczyli w mielonce wieprzowej bakterie mlekowe na poziomie 10^5 jtk/g po 15 dniach przechowywania w temp. 2°C , a po 21 dniach ich liczba wzrosła do 10^7 jtk/g . Stwierdzona stosunkowo mała liczba bakterii kwasu mlekowego w badaniach własnych może wynikać z użycia w składzie recepturowym całych mięśni szynkowych, które generalnie charakteryzują się niższym stopniem zanieczyszczenia mikrobiologicznego niż drobne mięso przerobowe.

Zastosowany w doświadczeniu farsz mięsny charakteryzował się stosunkowo małą zawartością tłuszczu (średnio 4,0 %) i dużą zawartością wody (średnio 78,5 %), co mogło być przyczyną wysokiej efektywności niszczącego działania ciepła na komórki bakterii z rodzaju *Staphylococcus* i w konsekwencji doprowadziło do małej ich przeżywalności w farszu w trakcie obróbki cieplnej.

Produkt wytworzony z zastosowaniem kultury bakteryjnej został wyżej oceniony przez zespół sensoryczny niż wyrób bez dodatku szczepu, zarówno pod względem smaku i zapachu peklowanego mięsa, jak i oceny ogólnej. Stwierdzone różnice ocen za zapach peklowanego mięsa były statystycznie istotne ($p \leq 0,05$). Przyczyną wytworzenia pożądanego aromatu produktu modelowego była prawdopodobnie aktywność enzymatyczna lipaz, proteaz i peptydaz, pochodzących z dodanego do farszu szczepu bakterii *S. carnosus*. Aktywność tych enzymów prowadzi do powstawania ketonów i innych lotnych związków, które kształtują pożądaną aromat kielbas surowych dojrzewających [7, 25].



Rys. 4. Wpływ bakterii *Staphylococcus carnosus* ATCC-51365 zastosowanych w procesie peklowania mięsa na wybrane wyróżniki jakości sensorycznej produktu modelowego

Fig. 4. Effect of *Staphylococcus carnosus* ATCC-51365 bacteria applied to meat curing process on selected sensory quality marks of model product

Wnioski

1. Zastosowanie bakterii *Staphylococcus carnosus* ATCC-51365 podczas peklowania mięsa wpłynęło na istotne ($p \leq 0,05$) zmniejszenie zawartości azotanów(V) w modelowym produkcie poddanym obróbce cieplnej w porównaniu z wariantem kontrolnym bezpośrednio po wyprodukowaniu oraz azotanów (V) i (III) po 8-tygodniowym okresie przechowywania.
2. Zastosowanie bakterii *Staphylococcus carnosus* ATCC-51365 podczas peklowania wpłynęło istotnie ($p \leq 0,05$) na obniżenie wartości potencjału oksydacyjno-redukcyjnego środowiska mięsnego i na niewielki wzrost jego kwasowości, co stworzyło odpowiednie warunki biochemiczne farszu mięsnego do powstania nitrozylobarwników w ilości istotnie ($p \leq 0,05$) większej niż w produkcie mięsnym otrzymanym bez zastosowanej kultury bakteryjnej.

3. Dodatek kultury bakteryjnej do peklowania wpłynął pozytywnie na odczuwalność cech smaku i zapachu mięsa peklowanego i ocenę ogólną produktu modelowego oraz na wzrost udziału barwy czerwonej w wyrobie.
4. Przeprowadzone badania wskazują na praktyczną możliwość zastosowania szczepu *Staphylococcus carnosus* ATCC-51365 do poprawy efektywności procesu peklowania mięsa azotanem(III) sodu, szczególnie w przypadku produktów mięsnych poddawanych obróbce cieplnej i o stosunkowo długim okresie przydatności do spożycia.

Praca jest współfinansowana ze środków Unii Europejskiej w ramach Europejskiego Funduszu Społecznego.

Literatura

- [1] Arneth W.: Chemische Grundlagen der Umrötung. Fleischwirtschaft, 1998, **8**, 868-874.
- [2] Barbieri G., Bergamaschi M., Barbieri G., Franceschini M.: Kinetics of nitrite evaluated in a meat product. Meat Sci., 2013, **93**, 282-28.
- [3] Benjamin N., Collins J.: Nitrites as coloring fixatives in cured meats. In: Food Preservatives. Eds. N.J. Russell, G.W. Gould. Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York 2003, pp. 102-118.
- [4] Brooke N., McClure N., Sebranek G.J., Kim Y.H., Sullivan G.A.: The effects of lactate on nitrosyl myoglobin formation from nitrite and metmyoglobin in a cured meat system. Food Chem., 2011, **129**, 1072-1079.
- [5] Cassens R.G., Ito I., Lee M., Buege D.: The use of nitrite in meat. Biosci., 1978, **28** (10), 633-637.
- [6] Cassens R.G.: Use of sodium nitrite in cured meats today. Food Technol., 1995, **49** (7), 72-80.
- [7] Essid I., Ben Ismail H., Bel Hadj Ahmed S., Ghedamsi R., Hassouna M.: Characterization and technological properties of *Staphylococcus xylosum* strains isolated from a Tunisian traditional salted meat. Meat Sci., 2007, **77**, 204-212.
- [8] Fernandez-Gines J.M., Fernandez-Lopez J., Sayas-Barbera E., Sendra E., Perez-Alvarez A.: Effect of storage conditions on quality characteristics of Bologna Sausage made with citrus fiber. Food Sci., 2003, **68** (2), 710-716.
- [9] Honikel K.O.: The use and control of nitrate and nitrite for the processing of meat products. Meat Sci., 2008, **78**, 68-76.
- [10] Hornsey M.: The colour of cooked cured pork. J. Sci. Agric., 1956, **9** (7), 534.
- [11] Instruction manual. Minolta CR-300, 1991, pp. 78-79.
- [12] Karwowska M., Dolatowski J.Z.: The effect of natural antioxidants on the oxidative processes in beef. Acta Sci. Pol., Technol. Aliment., 2007, **6** (1), 17-25.
- [13] Leszczyńska-Fik A., Fik M.: Wpływ chłodniczego przechowywania na jakość mikrobiologiczną pakowanej próżniowo mielonki wieprzowej. Przem. Spoż., 1997, **10**, 40-42.
- [14] Łozowicka B.: Zanieczyszczenia chemiczne w żywności pochodzenia roślinnego. Progress in Plant Protection, 2009, **49** (4), 2071-2079.
- [15] Migowska-Calik A., Gomółka-Pawlicka M., Uradzinska J., Lachowicz T.: Jakość mikrobiologiczna tradycyjnych polskich wędzonek parzonych. Med. Weter., 2014, **70** (1), 50-53.
- [16] Mroczek J., Piotrowska J.: Wpływ pH farszu i dodatku askorbinianu sodu na efektywność peklowania i trwałość barwy po obróbce termicznej. Post. Techn. Przetw. Spoż., 2009, **1**, 29-33.
- [17] Neubauer H., Götz F.: Physiology and interaction of nitrate and nitrite reduction in *Staphylococcus carnosus*. J. Bacteriol., 1996, **178**, 2005-2009.
- [18] ISO 13299:2003. Analiza sensoryczna. Metodologia. Ogólne wytyczne ustalania profilu sensorycznego.

- [19] PN-EN ISO 12014:2006. Artykuły żywnościowe. Oznaczanie zawartości azotanów i/lub azotynów.
- [20] PN-ISO 2917:2001. Mięso i przetwory mięsne. Pomiar pH. Metoda odwoławcza.
- [21] Siu D., Henshall A.: Ion chromatographic determination of nitrate and nitrite in meat products. *J. Chromatog.*, 1998, **804**, 156-160.
- [22] Szymański P.: Badania dotyczące poziomu występowania azotynów i azotanów w wybranych rynkowych produktach mięsnych poddanych obróbce cieplnej – niepublikowane wyniki badań. Oddział Technologii Mięsa i Tłuszczu IBPRS. Warszawa 2010-2011.
- [23] Szymański P., Kołożyn-Krajewska D.: Ocena możliwości zastosowania szczepu bakterii *Staphylococcus carnosus* ATCC-51365 w procesie peklowania mięsa. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2013, **3 (88)**, 61-72.
- [24] Szymański P., Kołożyn-Krajewska D.: Efektywność szczepu bakterii *Staphylococcus carnosus* ATCC-51365 w zakresie redukcji azotanów(V) w środowisku mięsnym. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*. 2014, **4 (95)**, 148-159.
- [25] Talon R., Walter D., Chartier S., Barriere C., Montel M.C.: Effect of nitrate and incubation conditions on the production of catalase and nitrate reductase by staphylococci. *Inter. J. Food Microbiol.*, 1999, **52**, 47-56.
- [26] Wójciak K.M., Dolatowski J.Z., Okoń A.: The effect of water plant extracts addition on the oxidative stability of meat products. *Acta Sci. Pol., Technol. Aliment.*, 2011, **10 (2)**, 175-188.

EFFECT OF *STAPHYLOCOCCUS CARNOSUS* ATCC-51365 APPLIED TO MEAT CURING PROCESS ON QUALITY FEATURES OF MODEL MEAT PRODUCT

S u m m a r y

The objective of the research study was to apply the *S. carnosus* of ATCC-51365 denitrifying bacteria to improve the effectiveness of meat curing process with the use of sodium nitrate (III) and to determine the effect they had on some selected quality features of a model meat product subjected to thermal treatment. The experimental material was a finely disintegrated pork-meat product made of meat cured using sodium nitrate (III) and subjected to thermal treatment. The initial count of *S. carnosus* ATCC-51365 bacteria in the meat batter amounted to 10^7 CFU/g; the control variant did not have that bacterial strain. The effect of applying *S. carnosus* ATCC-51365 bacteria to the meat curing process caused the content of nitrates(V) to become significantly ($p \leq 0.05$) reduced in the model product immediately after being produced compared to the control variant. What is more, this caused the content of nitrates (V) and (III) to decrease after a period of 8 weeks of storage. It was found that the *S. carnosus* ATCC-51365 bacteria added to the curing process caused the value of oxidation-reduction potential of the meat environment to significantly ($p \leq 0.05$) decrease and the acidity of that environment to slightly increase; as a consequence, biochemical conditions of the meat batter were created that made it possible for nitrosyl pigments to emerge in the amount significantly higher than that in the case of meat product produced without the application of bacterial culture. The model products produced with the participation of *S. carnosus* ATCC-51365 were characterized by a statistically significantly ($p \leq 0.05$) higher value of a^* colour component. The application of the bacterial culture to the curing process positively impacted the experiencing of aroma and flavour of cured meat and the general assessment of model products. No significant differences were found between the microbiological stability of the products manufactured with the bacterial culture added to the curing process of meat and that of the products produced without it.

Key words: meat products, curing, *Staphylococcus carnosus* ATCC-51365, quality, content of nitrates (V) and nitrates (III) 

PIOTR ŻELAZOWSKI, MONIKA WSZOŁEK, MAGDA FILIPCZAK-FIUTAK

JAKOŚĆ KUMYSU Z MLEKA OŚLEGO

Streszczenie

Niniejsza praca miała na celu wyprodukowanie i ocenę jakości kumysu z mleka oślego. Przed przystąpieniem do produkcji oznaczono podstawowy skład surowca, czyli zawartość białka, tłuszczu i laktozy, zmierzono pH i kwasowość potencjalną mleka oraz oznaczono ogólną liczbę drobnoustrojów, liczbę psychrotrofów i drożdży w mleku surowym. W kumysie zmierzono pH i oznaczono kwasowość, zawartość laktozy i alkoholu. Oznaczono także liczbę *Lb. delbrueckii* ssp. *bulgaricus*, *Lb. acidophilus* oraz drożdży podczas dojrzewania kumysu. Wykonano rozdział elektroforetyczny białek surowca i kumysu w celu oceny proteolizy białek mleka podczas fermentacji i w czasie dojrzewania.

Mleko ośle charakteryzowało się zawartością białka na poziomie 1,29 %, tłuszczu – 1,17 % oraz laktozy – 7,20 %. Ogólna liczba drobnoustrojów w mleku surowym wynosiła $5,6 \times 10^2$ jtk/ml. Wyniki analiz wskazywały na wysoką jakość kumysu. Podczas fermentacji i dojrzewania 30 % laktozy zostało przefermentowane przez użytą do procesu mikroflorę. W 14. dniu dojrzewania liczba *L. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* wynosiła $2,29 \times 10^7$ jtk/ml, *L. acidophilus* – $4,37 \times 10^7$ jtk/ml, natomiast drożdży – $1,12 \times 10^7$ jtk/ml. Zawartość etanolu w produkcie nie osiągnęła rekomendowanej przez Codex Alimentarius zawartości (nie mniej niż 0,5 %). Kumys charakteryzował się wysoką jakością mikrobiologiczną. Wyniki badań elektroforetycznych pozwoliły na oszacowanie zawartości lizozymu w mleku oślim oraz zmian frakcji kazeinowych podczas dojrzewania. Stwierdzono zmniejszenie udziału białek kazeinowych w ogólnej zawartości białek. Mała zawartość alkoholu etylowego w kumysie z mleka oślego mogła być spowodowana obecnością tylko jednego gatunku drożdży. Na podstawie uzyskanych wyników stwierdzono, że mleko ośle może stanowić dobry surowiec do produkcji napojów fermentowanych o cechach funkcjonalnych.

Słowa kluczowe: kumys, mleko ośle, jakość, elektroforeza SDS-PAGE

Wprowadzenie

Kumys (zwany winem mlecznym) to tradycyjny, fermentowany napój mleczny pochodzący z terenów Centralnej Azji i Rosji. Znany jest na terenach Kazachstanu, jak również Kirgistanu. Według tradycyjnej receptury do jego produkcji stosowano mleko

Mgr inż. P. Żelazowski, dr hab. inż. M. Wszolek, prof. nadzw., mgr inż. M. Filipczak-Fiutak, Katedra Przetwórstwa Produktów Zwierzęcych, Wydz. Technologii Żywności, Uniwersytet Rolniczy w Krakowie, ul. Balicka 122, 30-149 Kraków. Kontakt: zelazowski@poczta.umk.pl

klaczy zaszczepiane kumysem. Ostateczny skład, a także charakterystyczny smak tego napoju kształtował się na skutek działalności bakterii fermentacji mlekowej i drożdży. Spożycie kumysu jest w znacznej mierze ograniczone przez czynniki geograficzne i nie zostało spopularyzowane w Europie. W regionie Azji Środkowej kumysowi przypisuje się właściwości prozdrowotne, poprawiające metabolizm, usprawniające prace systemu nerwowego i nerek. Ze względu na surowiec (mleko klaczy), z którego jest produkowany, kumys o małej zawartości alkoholu stanowi bezpieczny produkt spożywczy dla dzieci obarczonych alergiami pokarmowymi. Istnieje możliwość wykorzystania do produkcji kumysu mleka oślego i wielbłądziego, jak również mleka krowiego o zmodyfikowanym składzie [10].

Kumys to rodzaj mleka fermentowanego, którego walory sensoryczne, skład chemiczny i właściwości są wynikiem działania bakterii fermentacji mlekowej oraz prowadzonej przez drożdże fermentacji alkoholowej [4]. Według Codex Alimentarius [29] mleko fermentowane powinno zawierać nie więcej niż 10 % tłuszczu mlecznego, minimum 0,7 % kwasu mlekowego oraz, tylko w odniesieniu do kumysu, 0,5 % (v/m) etanolu. Standard ten wskazuje również, że w składzie charakterystycznej mikroflory kumysu powinny znajdować się pałeczki *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* oraz drożdże *Kluyveromyces marxianus*. Inni autorzy [26, 31] podają szerszą grupę drobnoustrojów wchodzących w skład tego napoju:

- bakterie z rodzaju *Lactobacillus* (*Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Lb. acidophilus*),
- drożdże fermentujące laktozę z rodzaju *Saccharomyces* spp., *Kluyveromyces marxianus* var. *marxianus* i *Candida koumiss*,
- drożdże niefermentujące laktozy, m.in. z gatunku *Saccharomyces cartilaginosus*,
- drożdże niefermentujące cukrów z rodzaju *Mycoderma* spp.

W ciągu ostatnich lat wzrosło zainteresowanie poszukiwaniem mleka, które mogłoby stanowić alternatywę dla mleka krowiego, a jednocześnie charakteryzowałoby się podobnym składem chemicznym i właściwościami. Spośród różnych gatunków mleka duże zainteresowanie wzbudza mleko ośle ze względu na wyjątkowe właściwości immunologiczne oraz skład chemiczny najbardziej zbliżony do mleka krowiego. Skład mleka oślego znacząco odbiega od mleka krowiego. Mleko to zawiera mniej suchej masy, białka i tłuszczu. Ponadto charakteryzuje się większą zawartością laktozy. Cechy tego mleka wpływają na jego właściwości i zastosowanie [30].

Niniejsza praca miała na celu wyprodukowanie i ocenę jakości kumysu z mleka oślego.

Material i metody badań

Material doświadczalny stanowiło mleko ośle pochodzące od oślic z hodowli z okolic Wrocławia. Do produkcji kumysu przeznaczono mleko pasteryzowane w temp. 72 °C przez 15 s, które schładzano i zaszczepiano trzema gatunkami drobnoustrojów: drożdżami *Kluyveromyces marxianus*, kulturą liofilizowaną LaF 4, zgodnie z zaleceniami producenta (10 U na 1000 litrów mleka), pałeczkami mlekowymi *Lactobacillus acidophilus* z termofilnej szczepionki LA-5, w której liczba komórek odpowiadała 1×10^{12} jtk/g (obie z firmy Christian Hansen, Polska) oraz *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* (mrożona kultura firmy Danisco, Dania), z której sporządzano zakwas roboczy i dodawano w ilości 3 % do mleka przerobowego. Fermentacja kumysu przebiegała w temp. 25 °C do osiągnięcia pH poniżej 4,6, co trwało 3 doby. Dojrzewanie kumysu prowadzono w temp. 10 °C przez 14 dni.

W surowym mleku oślim przeznaczonym do produkcji oznaczano za pomocą aparatu MilcoScanTM FT 120 (firmy Foss, Dania) zawartość białka, tłuszczu i laktozy, jak również pH i kwasowość miareczkową. Charakterystykę mikrobiologiczną z wykorzystaniem metod posiewów wgłębnych przeprowadzano w kierunku ogólnej liczby drobnoustrojów wg PN-EN ISO 4833-1:2013-12 [19], liczby drożdży i pleśni wg PN-EN ISO 6611:2007 [20] oraz bakterii psychrotrofowych wg normy PN-ISO 6730:2008 [21]. Kumys analizowano w 1., 7. i 14. dniu dojrzewania. W napoju oznaczano: kwasowość czynną (przy użyciu pH-metru firmy Elmetron CP-411, Polska) i miareczkową, zawartość laktozy – metodą polarymetryczną (przy użyciu polarymetru półcieniowego Polax-2L firmy Atago, Japonia), alkoholu – testem enzymatycznym Boehringer Mannheim (firmy R-Biopharm, Niemcy). Wykonywano również posiewy mikrobiologiczne w celu określenia liczby drożdży i pleśni [19], pałeczek mlekowych z gatunku *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* wg PN-EN 7889:2007 [18] i pałeczek *Lb. acidophilus* zgodnie ze standardem FIL- IDF 149A:1997 [6] na podłożu MRS (BIOCORP, Polska) z maltozą zamiast glukozy [25]. W celu oceny proteolizy białek po procesie fermentacji i w czasie dojrzewania dokonywano rozdziału białek mleka oślego i kumysu na żelu poliakrylamidowym techniką SDS-PAGE wg metodyki podanej przez Laemmliego [13]. W celu porównania wykonywano elektroforetyczny rozdział białek mleka krowiego.

Doświadczenie wykonano w trzech niezależnych powtórzeniach. Otrzymane wyniki opracowano statystycznie w programie Statistica 10. Przeprowadzono jednoczynnikową analizę wariancji. Istotność różnic między wartościami średnimi szacowano testem Duncana ($p \leq 0,05$ i $p \leq 0,01$).

Wyniki i dyskusja

Skład i właściwości mleka oślego

Skład i właściwości fizykochemiczne mleka oślego przedstawiono w tab. 1.

Tabela 1. Skład i właściwości fizykochemiczne mleka oślego

Table 1. Composition and physical-chemical properties of donkey's milk

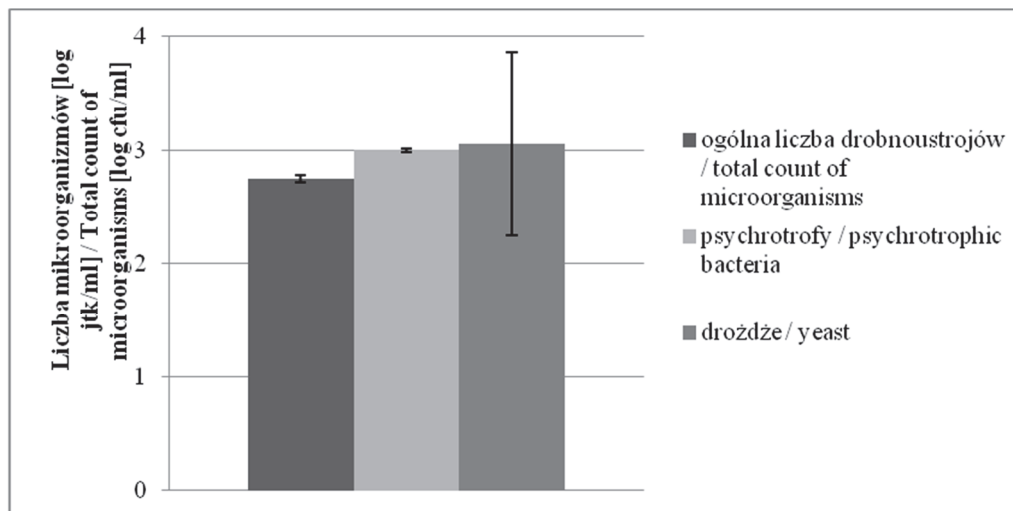
Składnik lub cecha Component or feature	$\bar{x} \pm SE$
Gęstość / Density [g/cm ³]	1,037 $\pm$ 0,33
Zawartość białka / Protein content [%]	1,29 $\pm$ 0,02
Zawartość tłuszczu / Fat content [%]	1,17 $\pm$ 0,07
Zawartość suchej masy / Dry matter content [%]	10,13 $\pm$ 0,15
Zawartość laktozy / Lactose content [%]	7,20 $\pm$ 0,02
pH / pH	7,39 $\pm$ 0,08
Kwasowość / Acidity [°SH]	1,27 $\pm$ 0,18

Objaśnienia / Explanatory notes:

$\bar{x}$ – wartość średnia / mean value; SE – błąd standardowy / standard error; n = 3.

Zawartość poszczególnych składników suchej masy mleka oślego była zgodna z wartościami, które podają Guo i wsp. [9]. Różnią się one jednak od uzyskanych przez innych autorów. Mleko ośle, które analizowali Salimei i Fantuz [23] charakteryzowało się mniejszą zawartością laktozy, a większą ilością białka i tłuszczu. Podobnie podają Chiavari i wsp. [1]. Różnice te mogą wynikać ze specyfiki regionu, w którym chowane były zwierzęta, rasy, a także z odmiennego sposobu żywienia oraz fazy laktacji. Oznaczone średnie wartości kwasowości czynnej (pH = 7,39) i miareczkowej (1,27 $\pm$ 0,18 °SH) porównano z danymi literaturowymi. Salimei i wsp. [23] oznaczyli pH mleka oślego na poziomie 7,18 i kwasowość – 2,72 °SH. Wysokie pH i niska kwasowość miareczkowa mleka surowego tego gatunku zwierząt mogą wynikać z małej zawartości frakcji kazeiny, a tym samym z ilości grup fosforanowych [28].

Jakość mikrobiologiczną mleka oślego przedstawiono na rys. 1. Ogólna liczba drobnoustrojów w mleku wynosiła 5,6 $\times$ 10² jtk/ml. Za niską liczbę drobnoustrojów mógł odpowiadać obecny w mleku oślim lizozym, który charakteryzuje się właściwościami bakteriobójczymi i bakteriostatycznymi. Wielu autorów prowadzących badania dotyczące mleka oślego zwraca uwagę na inhibicyjne właściwości lizozymu [2, 23, 24, 32]. Zhang i wsp. [32] potwierdzają, że duża zawartość tego enzymu w mleku oślim ogranicza rozwój wielu patogenów, w tym *Salmonella choleraesuis* czy *Shigella dysenteriae*. Duże odchylenie standardowe dotyczące liczby drożdży w surowcu świadczy o zróżnicowanej jakości surowca, jak i o małej wrażliwości drożdży na lizozym.



Objaśnienia / Explanatory notes:

Na rysunku przedstawiono wartości średnie (w postaci słupków) i błędy standardowe (w postaci odcinków) / Figure shows mean values (bars) and standard errors (line segments); $n = 3$.

Rys. 1. Jakość mikrobiologiczna surowego mleka oślego

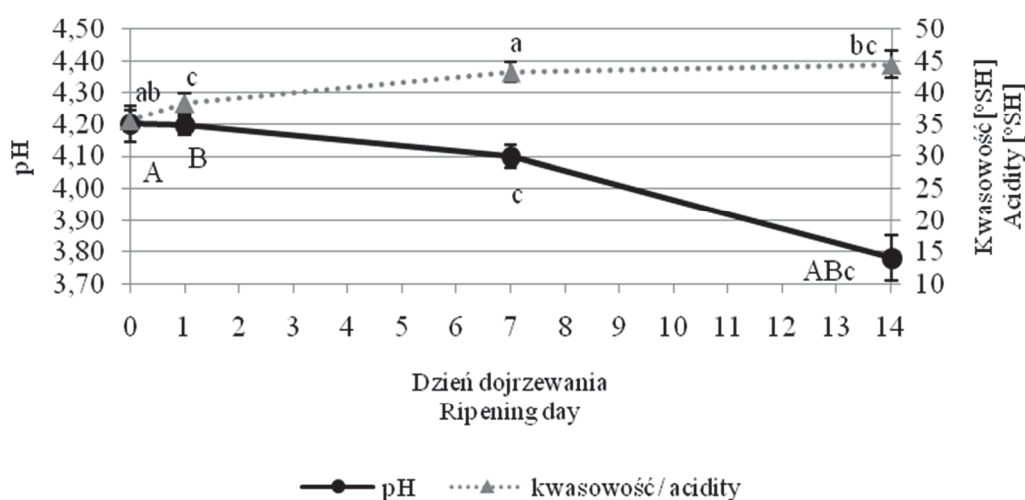
Fig. 1. Microbiological quality of raw donkey's milk

Cechy fizykochemiczne i mikrobiologiczne kumysu

Na rys. 2. przedstawiono wartości pH i kwasowość miareczkową kumysu z mleka oślego oznaczone po ukończeniu procesu ukwaszania, czyli po osiągnięciu $\text{pH} < 4,6$ oraz podczas dojrzewania w temp. 10°C .

Mleko ośle zaszczone kulturą kumysową uzyskało wymagane pH dopiero po 72 h fermentacji (początek dojrzewania – dzień 0). W mleku tym obserwowano znacznie dłuższą trwającą lag fazę niż w mleku krowim. Danków i wsp. [4] w badaniach nad kumysem z mleka kobyłego zauważyli również, że produkt ten wymaga dłuższego czasu fermentacji w porównaniu z fermentowanym modyfikowanym mlekiem krowim. Różnice te mogą wynikać z nieporównywalnie większej zawartości lizozymu w mleku kłaczy i oślic, jak również z dużych różnic pod względem zawartości i struktury białek w tych surowcach. Podczas dojrzewania kumysu z mleka oślego następowało stopniowe obniżanie pH produktu i statystycznie istotny ($p \leq 0,05$) wzrost kwasowości na skutek aktywnie rozwijającej się mikroflory kumysu. W wyniku działania mikroflory obecnej w szczepionce kumysowej (*Lb. acidophilus*, *Lb. delbrueckii* ssp. *bulgaricus*, *Kluyveromyces marxianus*) laktoza została częściowo przefermentowana do kwasu mlekowego, na co wskazuje wzrastająca kwasowość produktu podczas dojrzewania.

Bakterie fermentacji mlekowej prowadzą hydrolizę laktozy do glukozy i galaktozy. Następnie wskutek homofermentacji powstała glukoza jest przekształcana do kwasu mlekowego zgodnie ze szlakiem EMP (Embdena-Meyerhofa-Parnasa), tak samo jak powstała galaktoza po przekształceniu w formę ufosforylowanej glukozy – w szlaku Leloir'a. Mikroflora zawarta w kulturze kumysowej jest zdolna do produkcji maksymalnie 1,5 % kwasu mlekowego, podczas gdy gatunki termofilne, takie jak *Lb. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* – nawet do 3 % [14]. Badania dotyczące zdolności ukwaszających bakterii mlekowych prowadzone są do maksymalnego poziomu tego metabolitu, natomiast w produkcji mleka fermentowanego – do poziomu akceptowalnego do spożycia, stąd wyniki niniejszych badań są niższe i wynoszą w przeliczeniu na kwas mlekowy około 1 %.



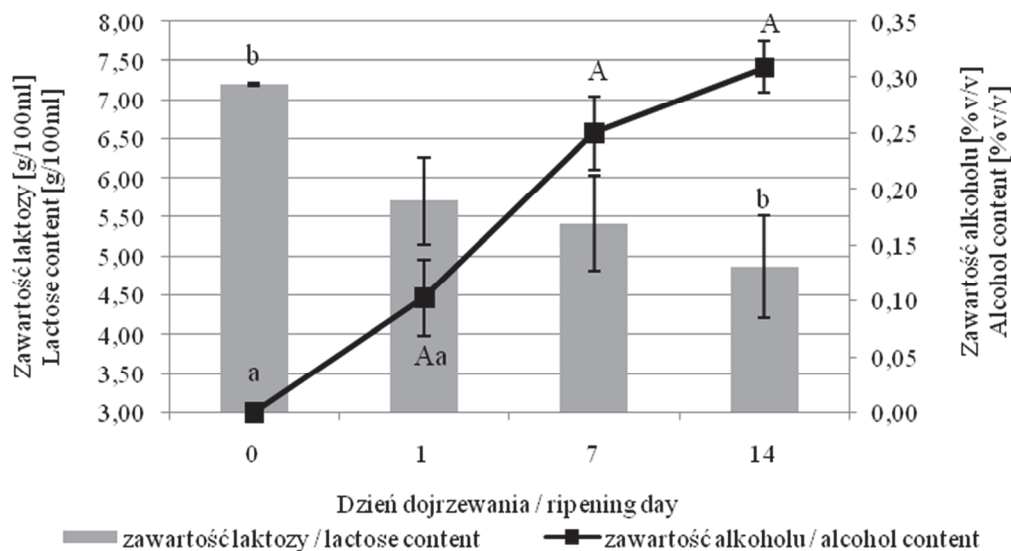
Objaśnienia / Explanatory notes:

A, B, C – wartości średnie oznaczone takimi samymi literami, w obrębie jednego parametru, różnią się statystycznie istotnie na poziomie $p \leq 0,01$ / mean values within one parameter and denoted by the same letters differ statistically significantly at $p \leq 0.01$;

a, b, c – wartości średnie oznaczone takimi samymi literami, w obrębie jednego parametru, różnią się statystycznie istotnie na poziomie $p \leq 0,05$ / mean values within one parameter and denoted by the same letters differ statistically significantly at $p \leq 0.05$;

Rys. 2. Kwasowość czynna (pH) i miareczkowa kumysu przed dojrzewaniem oraz w 1., 7. i 14. dniu dojrzewania w temp. 10 °C

Fig. 2. Active acidity and pH of koumiss prior to ripening and on the 1st, 7th, and 14th day of ripening at 10 °C



Objaśnienia / Explanatory notes:

Na rysunku przedstawiono wartości średnie (w postaci słupków) i odchylenia standardowe (w postaci odcinków) / Figure shows mean values (bars) and standard deviations (line segments); $n = 3$.

A – wartości średnie oznaczone taką samą literą, w obrębie jednego parametru, różnią się statystycznie istotnie na poziomie $p \leq 0,01$ / mean values within one parameter and denoted by the same letter differ statistically significantly at $p \leq 0.01$;

a, b, – wartości średnie oznaczone takimi samymi literami, w obrębie jednego parametru, różnią się statystycznie istotnie na poziomie $p \leq 0,05$ / mean values within one parameter and denoted by the same letter differ statistically significantly at $p \leq 0.05$.

Rys. 3. Zawartość laktozy i alkoholu etylowego w kumysie przed dojrzewaniem i w 1., 7. i 14. dniu dojrzewania w temp. 10 °C

Fig. 3. Contents of lactose and ethyl alcohol in koumiss prior to ripening and on the 1st, 7th, and 14th day of ripening at 10 °C

Kúčúkcetin i wsp. [12], w badaniach nad upodobnieniem mleka krowiego do mleka kobyłego i produkcji kumysu z tak przygotowanego surowca, wykazali wpływ aktywności drożdży i pałeczek mlekowych na zawartość laktozy w mleku. Wymienieni autorzy stwierdzili zmniejszenie stężenia laktozy w mleku kobyłym z 6,7 do 4,98 % podczas 15 dni przechowywania kumysu w temp. 4 °C. Wyniki uzyskane w badaniach własnych również potwierdziły wysoką aktywność bakterii obecnych w kumysie. Na skutek metabolizmu drobnoustrojów podczas 14 dni dojrzewania ponad 30 % laktozy zostało przefermentowane, czyli o ponad 5 % więcej niż w cytowanych badaniach, co może wynikać z wyższej temperatury dojrzewania (rys. 3).

Obecność alkoholu etylowego w kumysie związana jest z działaniem drożdży, które w warunkach względnie beztlenowych i w sprzyjającej temperaturze zdolne są

do wytwarzania tego związku. Zgodnie ze standardem Codex Alimentarius FAO/WHO [29] kumys powinien zawierać minimum 0,5 % (v/m) etanolu. Wyprodukowany w badaniach własnych napój charakteryzował się mniejszym stężeniem tego związku (rys. 3). Podobną tendencję można zauważyć w badaniach Kűcűkćetina i wsp. [12], w których pomimo 15 dni przechowywania kumysu z mleka kobyłego również nie stwierdzono rekomendowanej zawartości tego alkoholu. Jego obecność w kumysie jest wynikiem beztlenowej fermentacji prowadzonej przez drożdże. W aspekcie fermentacji alkoholowej drożdże dzielą się na bezwzględne tlenowce, do których należą drożdże niezdolne do fermentacji alkoholowej oraz względne tlenowce, zdolne do tej fermentacji. W grupie tej występują drożdże Crabtree-dodatnie, np. niektóre szczepy *Saccharomyces cerevisiae* prowadzące proces fermentacji alkoholowej w warunkach tlenowych przy dużych stężeniach glukozy, ponieważ to stężenie hamuje aktywność enzymów oddechowych i w związku z tym zachodzi fermentacja alkoholowa. Zjawisko to wykorzystywane jest przez Mongołów przy produkcji kumysu z mleka kobyłego poprzez napowietrzanie mieszadłem ukwaszanego w drewnianym naczyniu mleka kobyłego, aby w jak największym stopniu zaszła fermentacja alkoholowa. Drugą grupą drożdży zdolnych do fermentacji alkoholowej są drożdże Crabtree-ujemne o niskiej aktywności fermentacyjnej, które metabolizują sacharydy do etanolu w warunkach ograniczonego dostępu tlenu [11, 31]. W kulturach stosowanych do produkcji kumysu obecne były drożdże z gatunku *Kluyveromyces marxianus* fermentujące laktozę, o małych uzdolnieniach do fermentacji alkoholowej [11]. Przypuszczalnie było to główną przyczyną małej zawartości alkoholu etylowego.

Tabela 2. Liczba drobnoustrojów w kumysie po zaszczepieniu i podczas dojrzewania
Table 2. Count of microorganisms in koumiss after inoculation and during ripening

Dzień dojrzewania Day of ripening	Liczba poszczególnych rodzajów drobnoustrojów [log jtk/ml] Count of individual microbes [log cfu/ml]		
	drożdże yeast	<i>L. delbrueckii</i> ssp. <i>bulgaricus</i>	<i>L. acidophilus</i>
0*	5,32 ^{ABC} ± 0,30	5,43 ^{ABC} ± 0,24	5,70 ^{ABC} ± 0,33
1.	6,85 ^A ± 0,18	7,02 ^A ± 0,27	6,84 ^{Aa} ± 0,17
7.	6,92 ^B ± 0,14	6,95 ^B ± 0,06	6,93 ^B ± 0,42
14.	7,05 ^C ± 0,11	7,36 ^C ± 0,12	7,64 ^{Ca} ± 0,04

Objaśnienia / Explanatory notes:

W tabeli przedstawiono wartości średnie ± odchylenia standardowe / Table shows mean values and standard deviations; n = 3; 0* – po zaszczepieniu / after inoculation

A, B, C – wartości średnie oznaczone takimi samymi literami w kolumnie różnią się statystycznie istotnie na poziomie $p \leq 0,01$ / mean values in column and denoted by the same letters differ statistically significantly at $p \leq 0.01$;

a – wartości średnie oznaczone taką samą literą w kolumnie różnią się statystycznie istotnie na poziomie $p \leq 0,05$ / mean values in column and denoted by this letter differ statistically significantly at $p \leq 0.05$.

Charakterystykę mikrobiologiczną kumysu z mleka oślego podczas dojrzewania przedstawiono w tab. 2. Wyniki analizy statystycznej wskazują, że pod względem populacji mikroflory kumysowej, do której w głównej mierze należą drożdże oraz bakterie fermentacji mlekowej, w mleku oślim pomimo obecności lizozymu nie stwierdzono negatywnego wpływu tego surowca na rozwój drobnoustrojów. Wprawdzie czas fermentacji był znacznie dłuższy niż w mleku krowim (dane niepublikowane), ale po przystosowaniu się do środowiska wszystkie drobnoustroje osiągnęły liczbę powyżej 10^6 jtk/ml już w pierwszym dniu po fermentacji, co zgodnie z Codex Alimentarius [29] świadczy o prawidłowej jakości mikrobiologicznej. Standard ten określa zawartość drożdży w produkcie na minimum 10^4 jtk/ml, co również stwierdzono w badaniach własnych.

Obecność drożdży w kumysie warunkuje odpowiednie walory sensoryczne oraz jakość fizykochemiczną tego produktu. Ponadto wpływa na odpowiednie pH poprzez katabolizm kwasów organicznych oraz przekształcanie ich w wyniku procesów metabolicznych do tlenku węgla(IV) [16]. Dodatkowo w wyniku metabolizmu i fermentacji laktozy drożdże zdolne są przekształcać ten disacharyd do etanolu, którego obecność poprzez tworzenie z kwasami organicznymi estrów kształtuje profil smakowy kumysu. W doświadczeniu użyto drożdży z gatunku *K. marxianus*.

Oprócz drożdży, do produkcji kumysu zastosowano bakterie z gatunku *Lb. delbrueckii* ssp. *bulgaricus*. Gatunek ten jest charakterystyczny dla mikroflory jogurtowej, jednak jego obecność stwierdzono również w kumysie [14, 31]. Podczas procesu fermentacji szczep ten jest odpowiedzialny za obniżanie pH i wzrost kwasowości w produkcie [7]. Podczas 14 dni dojrzewania liczba tych bakterii wzrosła o prawie 2 cykle logarytmiczne. Ze względu na swoją wysoką tolerancję na alkohol etylowy w środowisku bakterie te są zdolne do namnażania się w produktach zawierających ten związek. Powyższa zależność została stwierdzona w badaniach Mena i Aryana [15], które dotyczyły wpływu etanolu na bakterie z gatunku *L. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* oraz *Streptococcus thermophilus*.

Drugim gatunkiem z rodzaju *Lactobacillus* zastosowanym w doświadczalnej produkcji kumysu był *Lb. acidophilus*. Według badań, które prowadzili Gandhi i Shah [8], gatunek ten należy do grupy bakterii probiotycznych i wykazuje zmienny charakter rozwoju w zależności od pH i stężenia soli w środowisku. Najlepiej rozwija się w środowisku o pH = 6, zakwaszając przy tym środowisko do pH $4,61 \pm 0,11$ podczas 24-godzinnego okresu fermentacji. Wyniki badań cytowanych autorów dowodzą również, że największą aktywnością proteolityczną charakteryzuje się szczep hodowany w środowisku o pH = 4.

Elektroforetyczny rozdział białek mleka i kumysu

Przemiany proteolityczne będące wynikiem działania aktywnej mikroflory zawartej w mlecznych napojach fermentowanych mają kluczowe znaczenie w tworzeniu charakteru tych napojów. Stopień proteolizy zależy od rodzaju mikroflory i stężenia wolnych związków azotowych w mleku. Elektroforeza żelowa jest jedną z powszechnie stosowanych metod jakościowych, pozwalających scharakteryzować frakcje białkowe w różnych produktach. Nie jest wprawdzie metodą ilościową, ale ma zastosowanie do pełniejszej charakterystyki białek. Nie tylko obecność poszczególnych frakcji jest istotna, lecz także wzajemne proporcje między nimi, które można obliczyć dzięki analizie uzyskanych densytogramów (tab. 3). Na skutek proteolitycznego rozkładu białek frakcje kazeiny oraz białek serwatkowych zostają zhydrolizowane i wykorzystane w metabolizmie bakterii i drożdży.

Tabela 3. Udział frakcji białkowych w mleku krowim, oślim i w kumysie z mleka oślego podczas dojrzewania

Table 3. Percentage content of protein fractions in cow's milk, donkey's milk, and in koumiss from donkey's milk during ripening

Frakcja białkowa Protein fraction [%]	Produkt / Product				
	Mleko krowie Cow's milk	Mleko ośle Donkey's milk	Kumys ośli w 1. dniu dojrzewania Donkey's koumiss on the 1 st day of ripening	Kumys ośli w 7. dniu dojrzewania Donkey's koumiss on the 7 th day of ripening	Kumys ośli w 14. dniu dojrzewania Donkey's koumiss on the 14 th day of ripening
Immunoglobuliny Immunoglobulins	0,80 ^{DE} ± 0,00	1,49 ^{ABCD} ± 0,11	0,77 ^{BC} ± 0,06	0,25 ^{BD} ± 0,02	0,25 ^{CE} ± 0,02
Laktoferryina Lactoferrin	2,35 ^{ABCD} ± 0,17	1,29 ^{BE} ± 0,09	1,70 ^A ± 0,12	1,55 ^{Ca} ± 0,11	2,08 ^{DaE} ± 0,15
Albumina serum Serum albumin	1,39 ^A ± 0,10	1,07 ^A ± 0,08	—	—	—
Kazeiny (bez κ) Caseins (without κ)	54,22 ^{ABC} ± 4,01	37,61 ^{ADE} ± 0,45	15,27 ^{Aa} ± 1,13	16,19 ^{BDb} ± 1,20	7,60 ^{CEab} ± 0,56
κ-kazeina κ-casein	15,95 [?] ± 0,14	—	—	—	—
β-laktoglobuliny β-lactoglobulin	19,06 ^{ABC} ± 1,36	24,32 ^a ± 1,74	30,30 ^A ± 2,17	29,07 ^B ± 2,08	32,55 ^{Ca} ± 2,33
Lizozym Lysozyme	—	16,94 ^{ABa} ± 1,25	23,88 ^A ± 1,76	23,96 ^a ± 1,77	26,16 ^B ± 1,93
α-laktoalbumina α-lactoalbumin	5,71 ^{ABC} ± 0,41	17,76 ^{ABC} ± 1,27	28,40 ^A ± 2,03	29,28 ^B ± 2,09	30,88 ^C ± 1,42

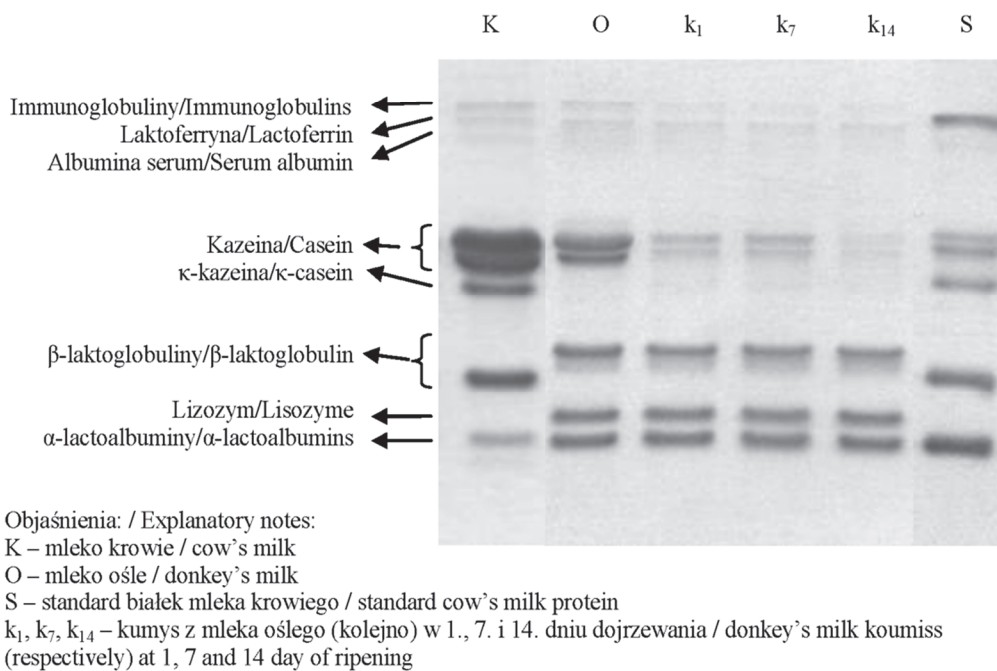
Objaśnienia: / Explanatory notes:

W tabeli przedstawiono wartości średnie $\pm$ błędy standardowe / Table shows mean values and standard errors ; $n = 3$

A, B, C, D, E – wartości średnie oznaczone takimi samymi literami w wierszach różnią się statystycznie istotnie na poziomie $p \leq 0,01$ / mean values in rows and denoted by the same letters differ statistically significantly at $p \leq 0.01$;

a, b – wartości średnie oznaczone takimi samymi literami w wierszach różnią się statystycznie istotnie na poziomie $p \leq 0,05$ / mean values in rows and denoted by the same letters differ statistically significantly at $p \leq 0.05$.

Na rys. 4. przedstawiono elektroforetyczny rozdział białek mleka oślego i kumysu w 1., 7. i 14. dniu dojrzewania. Na podstawie użytych standardów białek mleka określono masy cząsteczkowe poszczególnych białek, a ich charakterystykę opracowano na podstawie metody Cunsolo i wsp. [3] oraz Fantuz i wsp. [5].



Rys. 4. Elektroforetyczny rozdział białek mleka krowiego i oślego oraz kumysu w 1., 7. i 14. dniu dojrzewania

Fig. 4. Electropherogram of cow's and donkey's milk and koumiss on the 1st, 7th, and 14th day of ripening

Obecność frakcji lizozymu w profilu białek mleka oślego jest charakterystyczną cechą tego gatunku mleka, stwierdzoną również przez wielu autorów w badaniach elektroforetycznych [3, 5, 28]. Dzięki stosunkowo dużej zawartości tego enzymu mle-

ko to jest zabezpieczone przed rozwojem szkodliwej mikroflory. Badania Tidona i wsp. [27] potwierdzają znaczące właściwości inhibicyjne tego enzymu w stosunku do bakterii z rodzaju *Listeria*, natomiast analizy mleka oślego wskazują na jego właściwości bakteriostatyczne w stosunku do *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis* i *Escherichia coli* [17]. Salimei i wsp. [23] podają, że lizozym stanowi około 21 % wszystkich białek mleka oślego, a zawartość lizozymu zależy od okresu laktacji. W badaniach własnych stwierdzono, że zawartość tej frakcji w mleku wynosiła około 17 %.

Na podstawie obrazu rozdziału elektroforetycznego białek (rys. 4) można zauważyć zmniejszający się udział frakcji kazeinowych (około $33 \div 35$ kDa) podczas dojrzewania kumysu z mleka oślego. W surowym mleku oślim stwierdzono obecność białek o masach odpowiadających immunoglobulinom, laktoferryinie i albuminie serum w ilościach odpowiednio: 1,49, 1,29 oraz 1,07 %. Zawartość frakcji kazeinowych wynosiła około 38 %, a białek serwatkowych – 62 %, co zasadniczo różni proporcje tych białek od mleka przeżuwaczy. Zawartość β -laktoglobuliny i α -laktoalbuminy wynosiła odpowiednio: 24,32 i 17,76 %. Białka o masach cząsteczkowych charakterystycznych dla białek serwatkowych (β -laktoglobulina, lizozym i α -laktoalbumina) występowały w próbkach kumysu w zbliżonych ilościach, niezależnie od długości okresu dojrzewania, a ich udział w stosunku do wszystkich białek zwiększał się. Na tej podstawie można stwierdzić, że bardzo cenny pod względem swoich właściwości lizozym nie uległ rozkładowi podczas procesu fermentacji. Zjawisko to zostało zaobserwowane również w innych badaniach, w których poddanie hydrolizie enzymatycznej (pepsyną) i chemicznej (kwasem solnym) mleka oślego również nie wpłynęło negatywnie na stężenie lizozymu [17].

Wnioski

1. Ze względu na unikatowy charakter białek, dużą zawartość laktozy i obecność lizozymu mleko ośle stanowi dobry surowiec do produkcji napojów fermentowanych o cechach funkcjonalnych.
2. Mała zawartość alkoholu etylowego w kumysie z mleka oślego mogła wynikać ze słabych właściwości drożdży *Kluyveromyces marxianus* do fermentacji alkoholowej.
3. Obecne w kumysie mikroorganizmy świadczyły o dobrej jakości mikrobiologicznej napoju.
4. Białka mleka oślego ulegają znacznej hydrolizie podczas fermentacji i dojrzewania.

Badania zrealizowano i sfinansowano z dotacji przyznanej przez MNiSW na działalność statutową – DS/3700/WTŻ w latach 2014 - 2015.

Literatura

- [1] Chiavari C., Coloretto F., Nanni M., Sorrentino E., Grazia L.: Use of donkey's milk for a fermented beverage with lactobacilli. EDP Sci., 2005, **85**, 481-490.
- [2] Coppola R., Salimei E., Succì M., Sorrentino E., Nanni M., Ranieri P., Belli Blanes R., Grazia L.: Behaviour of *Lactobacillus rhamnosus* strains in ass's milk. Ann. Microbiol., 2002, **52**, 55-60.
- [3] Cunsolo V., Muccilli V., Fasoli E., Saletti R., Righetti P.G., Foti S.: Poppea's bath liquor: The secret proteome of she-donkey's milk. J. Proteomics, 2011, **74**, 2083-2099.
- [4] Danków R., Pikul J., Teichert J., Osten-Sacken N.: Charakterystyka i właściwości kumysu. Nauka Przyr. Technol., 2013, **7(3)**, #35.
- [5] Fantuz F., Vincenzetti S., Polidori P., Vita A., Polidori F., Salimei E.: Study on the protein fractions of donkey milk. Proc. XIV Congr. Ital. Soc. Anim. Prod. (ASPA), Firenze 2001, pp. 635-637.
- [6] FIL-IDF Standard 149 A:1997. Dairy Starter cultures of lactic acid bacteria (LAB). Standard of identity.
- [7] Gajewska J., Błaszczak M.: Probiotyczne bakterie fermentacji mlekowej (LAB). Post. Mikrobiol., 2012, **51(1)**, 55-65.
- [8] Gandhi A., Shah N.P.: Effect of salt concentration and pH on structural functional properties of *Lactobacillus acidophilus*: FT-IR spectroscopic analysis. Int. J. Food Microbiol., 2014, **173**, 41-47.
- [9] Guo H.Y., Pang K., Zhang X.Y., Zhao L., Chen S.W., Dong M.L., Ren F.Z.: Composition, physicochemical properties, nitrogen fraction distribution, and amino acid profile of donkey milk. J. Dairy Sci., 2007, **90 (4)**, 1635-1643.
- [10] Guzel-Seydim Z., Kok-Tas T., Greene A.: Kefir and Koumiss: Microbiology and Technology. In.: Development and Manufacture of Yogurt. Eds. F. Yildiz, CRC Press, Boca Raton 2009, pp. 156-159.
- [11] Kręgiel D., Kunicka-Styczyńska A., Czyżowska A.: Drożdże. W: Mikrobiologia techniczna. Red. Z. Libudysz, K. Kowal, Z. Żakowska, Wyd. Nauk. PWN, tom 2, Warszawa 2013, ss. 119-149.
- [12] Küçükçetin A., Yaygin H., Hinrichs J., Kulozik U.: Adaptation of bovine milk towards mares' milk composition by means of membrane technology for koumiss manufacture. Int. Dairy J., 2003, **13**, 945-951.
- [13] Laemmli U.K.: Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. Nature, 1970, **227 (5259)**, 680-685.
- [14] Libudysz Z., Bakterie fermentacji mlekowej. W: Mikrobiologia techniczna. Red. Z. Libudysz, K. Kowal, Z. Żakowska, Wyd. Nauk. PWN, tom 2, Warszawa 2013, ss. 25-58.
- [15] Mena B., Aryana K. J.: Influence of ethanol on probiotic and culture bacteria *Lactobacillus bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus* within a therapeutic product. Open J. Med. Microbiol., 2012, **2**, 70-76.
- [16] Mu Z., Yang X., Yuan H.: Detection and identification of wild yeast in Koumiss. Food Microbiol., 2012, **31**, 301-308.
- [17] Nazzaro F., Orlando P., Fratianni F., Coppola R.: Isolation of components with antimicrobial property from the donkey milk: A preliminary study. Open Food Sci. J., 2010, **4**, 43-47.
- [18] PN-ISO 7889:2007. Jogurt. Oznaczanie liczby charakterystycznych drobnoustrojów. Metoda liczenia kolonii w temperaturze 37 °C.
- [19] PN-EN ISO 4833-1:2013-12. Mikrobiologia łańcucha żywnościowego. Horyzontalna metoda oznaczania liczby drobnoustrojów. Część 1: Oznaczanie liczby metodą posiewu zalewowego w temperaturze 30 stopni C
- [20] PN-ISO 6611:2007. Mleko i przetwory mleczne. Oznaczanie liczby jednostek tworzących kolonie drożdży i/lub pleśni. Metoda płytkowa w temperaturze 25 °C.
- [21] PN-ISO 6730:2008. Mleko. Oznaczanie liczby jednostek tworzących kolonie drobnoustrojów psychrotrofowych. Metoda liczenia kolonii w temperaturze 6,5 °C.
- [22] Raimondi S., Zanni E., Amaretti A., Palleschi C., Uccelletti D., Rossi M.: Thermal adaptability of *Kluyveromyces marxianus* in recombinant protein production. Microb. Cell Fact., 2013, **12**, 34.
- [23] Salimei E., Fantuz F., Coppola R., Chiofalo B., Polidori P., Varisco G.: Composition and characteristics of ass's milk. Anim. Res., EDP Sci., 2004, **53**, 67-78.

- [24] Sarno E., Santoro A., Di Palo R., Costanzo N.: Microbiological quality of raw donkey milk from Campania Region. Ital. J. Animal Sci., 2012, **11** (49), 266-269.
- [25] Shah N.P.: Probiotic bacteria: Selective enumeration and survival in dairy foods. J. Dairy Sci., 2000, **83** (4), 900-905.
- [26] Tamime A.Y., Muir D.D., Wszolek M.: Kefir, Koumiss and Kishk. Dairy Ind. Int., 1991, **64** (5), 32-33.
- [27] Tidona F., Sekse C., Criscione A., Jacobsen M., Bordonaro S., Marletta D., Vegarud G.: Antimicrobial effect of donkeys' milk digested *in vitro* with human gastrointestinal enzymes. Int. Dairy J., 2011, **21**, 158-165.
- [28] Vincenzetti S., Polidori P., Mariani P., Cammertoni N., Fantuz F., Vita A.: Donkey's milk protein fraction characterisation. Food Chem., 2008, **106**, 640-649.
- [29] WHO/FAO: Codex standard for fermented milks, FAO&WHO, Rome 2011.
- [30] Wszolek M., Filipczak-Fiutak M., Domagała J.: Skład i właściwości mleka oślego. Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 2014, **1** (92), 29-40.
- [31] Wszolek M., Kupiec-Teahan B., Skov Guldager H., Tamime A. Y.: Production of kefir, koumiss and other related products. In: Fermented Milks. Eds. Adnan Y. Tamime, Oxford 2006, pp. 174-216.
- [32] Zhang X., Zhao L., Jiang L., Dong M., Ren F.: The antimicrobial activity of donkey milk and its microflora changes during storage. Food Cont., 2008, **19**, 1191-1195.

QUALITY OF KOUMISS MADE FROM DONKEY'S MILK

S u m m a r y

The objective of the research study was to produce and assess the quality of koumiss made from donkey's milk. Prior to the production, the basic composition of raw material was determined, i.e. the content of protein, fat, and lactose; also, the pH value and titratable acidity of milk were measured, and the total count of microbes was determined as were the counts of psychrotrophs and yeasts in raw milk. As for the koumiss, its pH value was measured, the acidity as well as the content of lactose and alcohol therein were determined. Also, the counts of *Lb. delbrueckii* ssp. *bulgaricus*, *Lb. acidophilus*, and of yeast during the ripening of koumiss were assayed. An electrophoretic separation was performed of proteins in the raw material and in the koumiss to assess the proteolysis of milk proteins during the fermentation and ripening.

The donkey's milk was characterized by the following percent levels: the content of proteins: 1.29 %; the content of fat: 0.17 %; and the content of lactose: 7.20 %. The total count of microbes in raw milk was 5.6×10^2 CFU/ml. The results of the analysis confirmed the high quality of the koumiss analyzed. During the fermentation and ripening, 30% of lactose was fermented by the microflora used in the process. On the 14th day of ripening, the count of *Lb. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* was 2.29×10^7 CFU/ml, the count of *Lb. acidophilus*: 4.37×10^7 CFU/ml, and that of yeast: 1.12×10^7 CFU/ml. The content of ethanol in the product did not reach the content level as recommended by the Codex Alimentarius (not less than 0.5 %). The koumiss analyzed was characterized by a high microbiological quality. Based on the results of electrophoresis it was possible to estimate the content of lysozyme in the donkey's milk and the changes in the fractions of casein during ripening. A decrease was found in the content of casein proteins in the total proteins contained in the koumiss. A low content of ethanol in the studied koumiss from donkey's milk could be contributed to the fact that only one species of yeasts was present therein. Based on the results of the research, it was concluded that donkey's milk can be a good raw material to produce fermented beverages with functional features.

Key words: koumiss, donkey's milk, quality, SDS-PAGE electrophoresis 

AGATA ZNAMIROWSKA, KATARZYNA SZAJNAR, MAŁGORZATA PAWŁOS,
DOROTA KALICKA

OCENA MOŻLIWOŚCI ZASTOSOWANIA CHELATU AMINOKWASOWEGO MAGNEZU DO WZBOGACANIA JOGURTU

Streszczenie

Wśród związków magnezu wymienionych w wykazie zawartym w Rozporządzeniu Komisji (WE) nr 1170/2009 znajduje się diglicynian magnezu, czyli chelat aminokwasowy magnezu. Składa się on z glicyny i magnezu elementarnego. Stosunek jonowy metalu do aminokwasu w chelacie wynosi 1 : 2. Chelaty aminokwasowe stanowią nową grupę związków dopuszczonych do suplementacji diety człowieka, stąd też w dostępnej literaturze brak jest wyników badań dotyczących oceny możliwości ich wykorzystania do fortyfikacji mleka i przetworów. Celem pracy było określenie możliwości zastosowania chelatu aminokwasowego magnezu (diglicynianu) do wzbogacania jogurtu. Analizowano wpływ następujących dawek magnezu do mleka przerobowego [mg/100 g mleka]: 0 (próba kontrolna), 5, 10, 15, 20, 25 i 30 na stabilność termiczną białek podczas pasteryzacji oraz jakość jogurtu w czasie chłodniczego przechowywania. Fortyfikacja diglicynianem magnezu nie zmieniła istotnie cech sensorycznych jogurtów, a nawet zapobiegła zjawisku przekwaszania, które często występuje wraz z wydłużaniem czasu przechowywania. Dowiedziono, że zwiększenie zawartości magnezu (nawet o 30 mg w 100 g produktu) w jogurtach za pomocą diglicynianu magnezu jest możliwe przed procesem pasteryzacji mleka przerobowego. Wzbogacanie jogurtów diglicynianem magnezu nie spowodowało istotnego pociemnienia produktu. Wzbogacenie magnezem zmieniło istotnie adhezyjność jogurtów, natomiast nie wpłynęło na twardość i kohezję tych napojów w ciągu 21 dni chłodniczego przechowywania w temp. 5 °C.

Słowa kluczowe: jogurt, fortyfikacja, diglicynian magnezu, tekstura

Wprowadzenie

Magnez pełni wiele ważnych funkcji w organizmie: umożliwia właściwą mineralizację kości oraz stabilizację błon komórkowych, koordynuje skurcz i rozkurcz mięśni, odpowiada za prawidłowy przebieg prawie wszystkich procesów zachodzących

Dr hab. inż. A. Znamiorska, prof. nadzw., mgr inż. K. Szajnar, mgr inż. M. Pawłos, dr inż. D. Kalicka, Zakład Technologii Mleczarstwa, Wydz. Biologiczno-Rolniczy, Uniwersytet Rzeszowski, ul. Ćwiklińskiej 2d, 35-601 Rzeszów. Kontakt: aznam@univ.rzeszow.pl

w ustroju [1, 4, 13]. Prawidłowe stężenie magnezu w surowicy krwi człowieka powinno zawierać się w granicach $0,75 \div 0,95$ mmol/l ($1,8 \div 2,3$ mg/dl). Średnie dzienne spożycie magnezu przez Polaków jest mniejsze niż zapotrzebowanie organizmu na ten pierwiastek, wynoszące $300 \div 400$ mg na dobę [6, 25]. Średnie wykorzystanie magnezu z diety przez organizm człowieka wynosi $40 \div 50$ %, a jego wchłanianie zwiększa się w obecności laktozy i białka. Mleko i jego przetwory fortyfikowane magnezem mogłyby więc spełniać funkcję transporterów magnezu do organizmu. Istnieje pewna obawa, że w przypadku spożywania żywności bogatej w wapń, do której należy mleko, może zachodzić interakcja między wchłanianiem wapnia i magnezu [9, 10, 23, 27]. W badaniach nie wykazano jednak zależności pomiędzy zawartością wapnia w pokarmie i wchłanianiem magnezu pod warunkiem, że nie zostanie przekroczona dawka 2000 mg wapnia na dobę [1, 15, 23].

W badaniach biodostępności magnezu zawartego w dziesięciu organicznych i nieorganicznych związkach dowiedziono, że sole organiczne, takie jak: glukonian, mleczan i asparaginian cechują się dobrą biodostępnością. Natomiast związki nieorganiczne magnezu są mniej biodostępne dla organizmu [8]. Związek magnezu, który ma być zastosowany do wzbogacania produktów mleczarskich, powinien być bezpieczny w stosowaniu, a rozpuszczony w mleku nie powinien obniżać stabilności cieplnej mleka ani skracać czasu przydatności do spożycia gotowego produktu. Ponadto związek magnezu nie powinien niekorzystnie wpływać na cechy sensoryczne fortyfikowanych produktów mleczarskich, zwłaszcza że niektóre związki dwuwartościowego magnezu charakteryzują się gorzkim i słonym smakiem i w mniejszym stopniu – posmakiem metalicznym [18].

W Rozporządzeniu Komisji (WE) nr 1170/2009 [21], zmieniającym Dyrektywę 2002/46/WE Parlamentu Europejskiego i Rady oraz w Rozporządzeniu (WE) 1925/2006 Parlamentu Europejskiego i Rady [20] podano wykaz związków magnezu, które mogą być stosowane do produkcji żywności fortyfikowanej. Wśród wielu związków wymienionych w tym wykazie znajduje się diglicynian magnezu, czyli chelat aminokwasowy magnezu. Składa się on z glicyny (aminokwasu biorącego udział m.in. w syntezie białek, cyklu metabolicznym kwasów nukleinowych czy neurotransformacji) i magnezu elementarnego. Stosunek jonowy metalu (Mg) do aminokwasu (glicyny) w chelacie wynosi 1 : 2 [12]. Chelaty aminokwasowe stanowią nową grupę związków dopuszczonych do fortyfikowania żywności, stąd też w dostępnej literaturze brak jest wyników badań dotyczących oceny możliwości ich wykorzystania do wzbogacania mleka i przetworów. W badaniach *in vitro* wykazano natomiast, że chelat aminokwasowy magnezu jest lepiej przyswajalny niż tlenek magnezu (8,9 razy), siarczan(VI) magnezu (3,6 razy) i węglan magnezu (2,3 razy) [8, 16].

Celem pracy było określenie wpływu wzbogacania mleka diglicynianem magnezu na jego stabilność termiczną podczas obróbki cieplnej oraz na jakość wyprodukowanych z niego jogurtów podczas 21 dni chłodniczego przechowywania.

Materiał i metody badań

Materiałem do badań było mleko krowie pasteryzowane o zawartości tłuszczu 2 % (OSM „Resmlecz”, Trzebownik), odtłuszczone mleko w proszku (SM Gostyń), szczepy starterowe YC-X16 (Chr. Hansen, Dania) oraz diglicynian magnezu (OlimpLabs, Polska). Doświadczenie przeprowadzono w dwóch etapach. W pierwszym etapie określano dawkę magnezu, która nie powodowała denaturacji termicznej białek w trakcie repasteryzacji mleka (w temp. 72 °C przez 15 s). Dawkę magnezu obliczano na podstawie masy cząsteczkowej diglicynianu. Doświadczenie rozpoczęto od 1 mg magnezu i kontynuowano do 30 mg magnezu w 100 g mleka. Wykonano również próbę kontrolną bez dodatku diglicynianu magnezu. Po ochłodzeniu próbek określano pH i kwasowość ogólną (miareczkową) mleka.

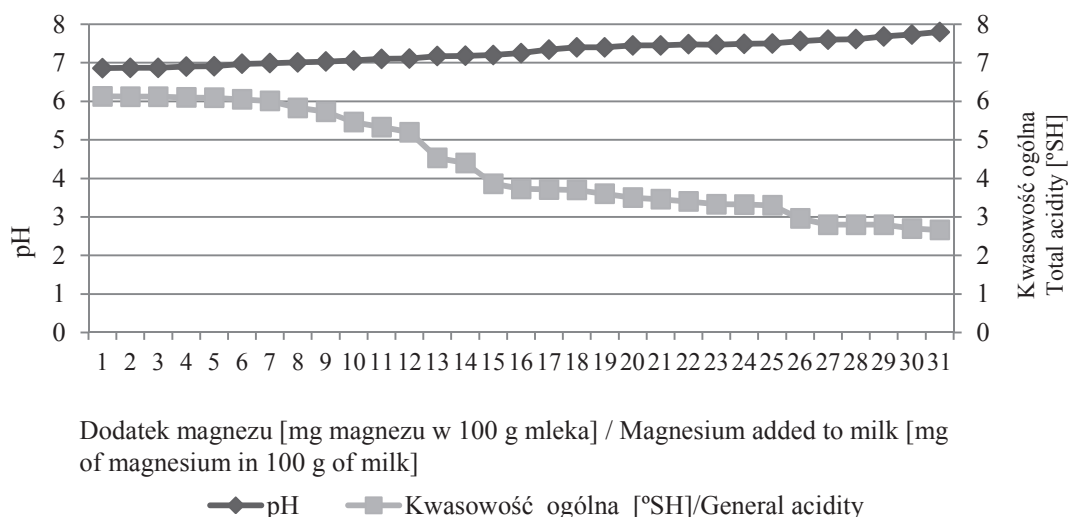
W drugim etapie badań zwiększono zawartość suchej masy przez 3-procentowy dodatek odtłuszczonego mleka w proszku i wzbogacano magnezem w ilościach [mg Mg/100 g mleka]: 0 (próba kontrolna), 5, 10, 15, 20, 25 i 30. Następnie próbki mleka repasteryzowano (72 °C przez 15 s), schładzano i homogenizowano (65 °C, 20 MPa). Po schłodzeniu próbek do temp. 43 °C dodawano szczepionkę FD – DVS YC-X 16 – Yo - Flex® (Chr. Hansen, Dania). Mleko rozlewano do opakowań o pojemności 100 ml z pokrywką i kodowano. Inkubację prowadzono w temp. 43 °C przez 4,5 h, następnie uzyskany jogurt schładzano do 5 °C i przechowywano w tej temperaturze przez 21 dni. Próbki do analiz pobierano po 24 h oraz w 7., 14. i 21. dniu. W jogurtach oznaczano: pH przy użyciu pH-metru Elmetron CPC-411 (Elmetron, Polska), synerezę (procentowy wyciek serwatki z 25 g napoju po 120 min, w temp. 5 °C, podciek serwatki oznaczano wagowo), teksturę testem TPA (teksturometrem Brookfield CT3, Brookfield AMETEK, USA) – wykonywano dwukrotny test kompresyjny przy ustawieniach: siła 0,1 N, prędkość głowicy 1 mm/s, średnica próbki 35 mm, sonda TA3/100, średnica elementu pomiarowego 25,4mm (Brookfield AMETEK, USA). Określano następujące składowe tekstury: twardość, adhezyjność, kleistość, kohezyjność, sprężystość. Kleistość według definicji podanej przez producenta teksturometru oznacza odległość na jaką żywność była odciągana od powierzchni, z którą miała kontakt. Ocenę sensoryczną metodą profilowania przeprowadził przeszkolony 9-osobowy zespół. Oceniano próbki w skali 9-stopniowej ze skalą liniową ustrukturuowaną i z określeniami brzegowymi: lewy koniec skali oznaczał cechę najmniej wyczuwalną, najmniej charakterystyczną, a prawy – cechę najintensywniejszą, najbardziej charakterystyczną [3]. Oceniano konsystencję, smak mleczno-kremowy, smak kwaśny, smak i zapach obcy, zapach kwaśny. Barwę jogurtów mierzono instrumentalnie (Chroma

Meter CR-400, Konica Minolta, Japonia) w systemie CIE LAB ($L^*a^*b^*$) po 24 h chłodniczego ich przechowywania, według standardu CIE DS 014-4.3/E:2007 [7], illuminant C, D_{65} , system oświetlenia/pomiaru d:0 (oświetlenie rozproszone/kąt pomiaru 0).

Doświadczenie powtórzono trzykrotnie, a każdy parametr oznaczano pięciokrotnie. Obliczono wartości średnie i odchylenia standardowe analizowanych wyróżników oraz współczynniki korelacji prostoliniowej (r) w programie Statistica v. 10. Wykonano analizę wariancji ANOVA dotyczącą wpływu dawki magnezu i czasu przechowywania na badane zmienne. Istotność różnic pomiędzy wartościami średnimi grup szacowano testem Tukeya przy $p \leq 0,05$.

Wyniki i dyskusja

Wpływ wzbogacania mleka diglicynianem magnezu na wartości pH i kwasowość ogólną po repasteryzacji mleka przedstawiono na rys. 1. Fortyfikacja mleka coraz większymi dawkami magnezu powodowała podwyższanie wartości pH i systematyczne obniżanie jego kwasowości miareczkowej. Mleko uzyskiwało odczyn obojętny, a nawet zasadowy – przy dużych dawkach wzbogacających. Zdolność diglicynianu do zobojętniania mleka można wykorzystać w celu zwiększania dawek wzbogacających przy udziale innych związków, które w większości nadają mleku odczyn kwaśny. Właściwe proporcje np. pomiędzy zasadotwórczym diglicynianem magnezu a zwiększającym kwasowość np. D-glukonianem magnezu mogą skutkować pożądanym zwiększeniem ilości wprowadzanego pierwiastka [26].



Rys. 1. Wpływ zastosowanej dawki magnezu na pH i kwasowość ogólną [°SH] mleka po pasteryzacji

Fig 1. Impact of applied dose of magnesium on pH and total acidity [°SH] of milk after pasteurization

W przeprowadzonym doświadczeniu najwyższa dawka wzbogacająca, tj. 30 mg magnezu w 100 g mleka, nie powodowała koagulacji białek mleka podczas obróbki termicznej (72 °C przez 15 s).

Uzyskane wyniki pomiarów pH, kwasowości miareczkowej i synerozy w jogurtach podczas 21-dniowego przechowywania przedstawiono w tab. 1. W pierwszym dniu oceny pH było wyższe w jogurtach fortyfikowanych 20 mg Mg/100 g i dawkami większymi w porównaniu z jogurtami kontrolnymi i wzbogaconymi mniejszymi dawkami tego pierwiastka (5, 10 i 15 mg/100 g), jednak stwierdzone różnice nie były statystycznie istotne ($p \leq 0,05$). W kolejnych terminach oznaczeń wpływ dawki magnezu na pH jogurtów okazał się również nieistotny. Współczynnik korelacji pomiędzy dawką wzbogacającą i pH wyniósł tylko $r = 0,30$. Ważnym czynnikiem wpływającym na kwasowość czynną jogurtów okazał się czas przechowywania, gdyż pH jogurtów wraz z wydłużaniem czasu przechowywania systematycznie malało, a wykazane różnice były istotne ($p \leq 0,05$). Zależność tę potwierdził współczynnik korelacji $r = -0,83$ ($p \leq 0,05$) pomiędzy czasem przechowywania i pH.

Na ogół zwiększenie zawartości magnezu w jogurcie powodowało obniżenie jego kwasowości miareczkowej, a wykazane różnice pod względem kwasowości ogólnej pomiędzy jogurtami kontrolnymi i fortyfikowanymi 30 mg magnezu były istotne ($p \leq 0,05$) w 14. dniu przechowywania. Współczynnik korelacji określający zależność pomiędzy dawką magnezu wzbogacającą jogurty i kwasowością miareczkową wynosił $r = -0,61$ ($p \leq 0,05$). W 14. dniu przechowywania oznaczono również istotnie ($p \leq 0,05$) niższą kwasowość w jogurtach fortyfikowanych magnezem w ilości 20, 25 i 30 mg w porównaniu z kwasowością jogurtów kontrolnych. W 21. dniu przechowywania kwasowość miareczkowa jogurtów, niezależnie od poziomu fortyfikacji, była niższa w porównaniu z kwasowością oznaczoną w 7. i 14. dniu przechowywania.

Wraz z wydłużaniem czasu chłodniczego przechowywania badane jogurty charakteryzowały się coraz mniejszym wyciekaniem serwatki ($r = -0,71$, $p \leq 0,05$). Na wielkość synerozy wpływ miała również zastosowana dawka magnezu. W 21. dniu badań próbki jogurtów wzbogacone w 30 mg magnezu charakteryzowały się o 3,93 % mniejszym wyciekaniem serwatki w porównaniu z próbkami kontrolnymi.

Baranowska i wsp. [2] wykazali różną podatność jogurtu o zawartości 14,00 % s.m. na synerozę w zależności od metody jego produkcji: tradycyjną – 8,30 %, a przyspieszoną – 5,00 %. Przy zawartości 16,00 % s.m. jogurtu wartości te wynosiły odpowiednio: 6,90 i 1,70 %. W badaniach tych w czasie przechowywania stwierdzono zwiększenie podatności jogurtów na podciek serwatki. W 14. dniu przechowywania synerozę w jogurtach (14,00 % s.m.) produkowanych metodą tradycyjną wynosiła 16,30 i 12,70 % w jogurtach o zawartości suchej masy do 16,00 %. W jogurtach produkowanych metodą przyspieszoną synerozę po przechowywaniu wynosiła odpowiednio: 13,30 i 6,30 %.

Tabela 1. Wyniki pomiarów pH, kwasowości ogólnej, barwy i synerazy determinowane wielkością dodatku magnezu do mleka, podczas przechowywania
Table 1. Results of measuring pH, total acidity, colour, and syneresis of yoghurts as determined by the dose of magnesium added to milk, during cold storage

Właściwości Characteristics	Dzień przechowywania Day of storage	Dodatek magnezu [mg magnezu w 100 g mleka] Dose of magnesium added [mg of magnesium in 100 g of milk]							
		0	5	10	15	20	25	30	
pH	1.	4,63 ^{Aa} ± 0,14	4,63 ^{Aa} ± 0,12	4,62 ^{Aa} ± 0,10	4,64 ^{Aa} ± 0,13	4,71 ^{Aa} ± 0,16	4,75 ^{Aa} ± 0,19	4,75 ^{Aa} ± 0,12	
	7.	4,48 ^{Aa} ± 0,15	4,49 ^{Aa} ± 0,14	4,50 ^{Aa} ± 0,10	4,50 ^{Aa} ± 0,12	4,51 ^{Aa} ± 0,10	4,54 ^{Aa} ± 0,06	4,53 ^{Aa} ± 0,09	
	14.	4,42 ^{Aa} ± 0,12	4,46 ^{Aa} ± 0,07	4,46 ^{Aa} ± 0,07	4,47 ^{Aa} ± 0,07	4,51 ^{Aa} ± 0,06	4,51 ^{Aa} ± 0,04	4,51 ^{Aa} ± 0,05	
	21.	4,37 ^{Aa} ± 0,17	4,37 ^{Aa} ± 0,16	4,38 ^{Aa} ± 0,14	4,35 ^{Aa} ± 0,14	4,38 ^{Aa} ± 0,15	4,39 ^{Aa} ± 0,14	4,39 ^{Aa} ± 0,17	
Kwasowość ogólna Total acidity [°SH]	1.	36,18 ^{Aa} ± 2,58	35,87 ^{Aa} ± 1,08	34,60 ^{ABab} ± 1,50	34,66 ^{ABab} ± 1,31	32,95 ^{ABab} ± 2,18	32,22 ^{ABb} ± 2,55	31,19 ^{Bb} ± 2,15	
	7.	41,58 ^{Aa} ± 2,32	41,66 ^{Aa} ± 1,20	41,50 ^{Aa} ± 0,97	40,80 ^{Aa} ± 1,20	37,50 ^{Bb} ± 0,98	36,70 ^{Bb} ± 1,09	36,02 ^{Bb} ± 1,48	
	14.	42,76 ^{Aa} ± 2,88	40,74 ^{ABab} ± 2,18	41,78 ^{ABab} ± 0,97	40,14 ^{ABab} ± 0,53	38,86 ^{Ab} ± 1,87	37,46 ^{Bb} ± 1,28	37,54 ^{Bb} ± 0,65	
	21.	37,06 ^{Aa} ± 0,66	36,38 ^{Aa} ± 0,54	36,72 ^{Aa} ± 0,86	37,36 ^{Aa} ± 1,49	37,34 ^{Aa} ± 0,63	36,20 ^{Aa} ± 1,61	37,18 ^{Aa} ± 1,12	
Syneraza Syneresis [%]	1.	39,29 ^{Aa} ± 0,29	39,48 ^{Aa} ± 0,55	38,02 ^{Aa} ± 0,17	38,90 ^{Aa} ± 0,09	39,19 ^{Aa} ± 2,20	49,64 ^{Aa} ± 0,24	38,96 ^{Aa} ± 0,22	
	7.	39,42 ^{Aa} ± 1,14	38,04 ^{Aa} ± 0,70	39,07 ^{Aa} ± 0,41	37,03 ^{Aa} ± 0,29	37,62 ^{Aa} ± 0,78	37,24 ^{Aa} ± 0,39	38,94 ^{Aa} ± 0,45	
	14.	37,34 ^{ABab} ± 0,28	37,43 ^{ABab} ± 0,45	37,95 ^{ABab} ± 0,13	38,58 ^{ABab} ± 0,21	39,07 ^{Aa} ± 1,32	36,25 ^{Ab} ± 0,74	37,08 ^{ABab} ± 0,55	
	21.	37,87 ^{Aa} ± 1,02	36,66 ^{ABab} ± 0,07	35,83 ^{ABab} ± 0,77	36,45 ^{ABab} ± 1,06	36,57 ^{ABab} ± 0,25	35,57 ^{ABab} ± 0,43	33,94 ^{Bb} ± 0,51	
L*		98,47 ^a ± 1,28	97,83 ^a ± 1,36	96,60 ^a ± 1,03	96,54 ^a ± 1,40	95,99 ^a ± 1,45	95,99 ^a ± 1,04	95,82 ^a ± 0,56	
a*		-4,33 ^a ± 0,13	-4,32 ^a ± 0,03	-4,30 ^a ± 0,05	-4,20 ^b ± 0,08	-4,05 ^b ± 0,08	-4,04 ^b ± 0,03	-4,04 ^b ± 0,16	
b*		14,71 ^a ± 0,34	14,56 ^a ± 0,29	14,41 ^{ab} ± 0,11	14,37 ^{ab} ± 0,30	14,33 ^b ± 0,18	14,40 ^{ab} ± 0,17	14,41 ^{ab} ± 0,11	

Objaśnienia / Explanatory notes:

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

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

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

Tabela 2. Wyniki oceny sensorycznej jogurtów determinowane wielkością dodatku magnezu do mleka, podczas przechowywania [pkt]
Table 2. Results of sensory assessment of yoghurts as determined by the dose of magnesium added to milk, during cold storage [points]

Cecha Feature	Dzień przechowywania Day of storage	Dodatek magnezu [mg magnezu w 100 g mleka] Dose of magnesium added [mg of magnesium in 100 g of milk]						
		0	5	10	15	20	25	30
Konsystencja Consistency	1.	9,00 ^{Aa} ± 0,00	8,40 ^{Aa} ± 0,55	8,40 ^{Aa} ± 0,89	8,20 ^{Aa} ± 0,84	8,20 ^{Aa} ± 0,55	8,20 ^{Aa} ± 0,71	8,20 ^{Aa} ± 0,84
	7.	9,00 ^{Aa} ± 0,00	9,00 ^{Aa} ± 0,00	9,00 ^{Aa} ± 0,00	9,00 ^{Aa} ± 0,00	9,00 ^{Aa} ± 0,00	9,00 ^{Aa} ± 0,00	9,00 ^{Aa} ± 0,00
	14.	9,00 ^{Aa} ± 0,00	9,00 ^{Aa} ± 0,00	9,00 ^{Aa} ± 0,00	9,00 ^{Aa} ± 0,00	9,00 ^{Aa} ± 0,00	9,00 ^{Aa} ± 0,00	9,00 ^{Aa} ± 0,00
	21.	8,80 ^{Aa} ± 0,45	8,60 ^{Aa} ± 0,89	8,60 ^{Aa} ± 0,89	8,60 ^{Aa} ± 0,89	8,60 ^{Aa} ± 0,89	8,60 ^{Aa} ± 0,89	8,60 ^{Aa} ± 0,89
Smak mleczno- kremowy Milky-creamy taste	1.	5,40 ^{Aa} ± 0,75	5,40 ^{Aa} ± 0,35	5,40 ^{Aa} ± 1,02	5,80 ^{Aa} ± 1,08	5,40 ^{Aa} ± 0,41	5,40 ^{Aa} ± 1,02	5,20 ^{Aa} ± 0,30
	7.	5,50 ^{Aa} ± 0,72	5,55 ^{Aa} ± 0,50	5,60 ^{Aa} ± 0,74	5,65 ^{Aa} ± 0,50	6,00 ^{Aab} ± 0,20	6,00 ^{Aab} ± 0,22	6,55 ^{Ab} ± 0,27
	14.	5,50 ^{Aa} ± 0,12	5,50 ^{Aa} ± 0,12	5,50 ^{Aa} ± 0,50	5,50 ^{Aa} ± 0,47	6,00 ^{Aa} ± 0,10	6,50 ^{Aa} ± 0,29	6,75 ^{Aa} ± 0,92
	21.	4,80 ^{Aa} ± 0,25	5,20 ^{Aa} ± 0,68	5,20 ^{Aa} ± 0,17	5,20 ^{Aa} ± 0,59	5,20 ^{Aa} ± 0,59	5,20 ^{Aa} ± 0,11	5,20 ^{Aa} ± 0,87
Smak kwaśny Sour taste	1.	5,60 ^{Aa} ± 0,84	5,20 ^{Aa} ± 0,89	5,00 ^{Aa} ± 1,00	5,20 ^{Aa} ± 0,84	5,00 ^{Aa} ± 0,71	5,00 ^{Aa} ± 1,22	4,80 ^{Aa} ± 1,30
	7.	5,75 ^{Aa} ± 0,76	5,10 ^{Aa} ± 0,12	4,50 ^{Aab} ± 1,12	4,50 ^{Aab} ± 0,87	4,50 ^{Aab} ± 0,87	4,25 ^{Ab} ± 0,90	4,25 ^{Bb} ± 0,71
	14.	5,50 ^{Aa} ± 0,71	5,00 ^{Aa} ± 1,00	4,75 ^{Aa} ± 0,83	4,75 ^{Aa} ± 0,43	4,75 ^{Aa} ± 0,43	4,50 ^{Aa} ± 1,12	4,25 ^{Ba} ± 0,83
	21.	6,00 ^{Aa} ± 1,92	5,80 ^{Aa} ± 1,11	5,80 ^{Aa} ± 1,18	5,80 ^{Aa} ± 0,17	5,80 ^{Ba} ± 0,17	5,60 ^{Ba} ± 1,18	5,60 ^{Aa} ± 1,51
Smak i zapach obcy Foreign taste and smell	1.	1,00 ^{Aa} ± 0,00	1,00 ^{Aa} ± 0,00	1,00 ^{Aa} ± 0,00	1,00 ^{Aa} ± 0,00	1,00 ^{Aa} ± 0,00	1,00 ^{Aa} ± 0,00	1,00 ^{Aa} ± 0,00
	7.	1,00 ^{Aa} ± 0,00	1,00 ^{Aa} ± 0,00	1,00 ^{Aa} ± 0,00	1,00 ^{Aa} ± 0,00	1,00 ^{Aa} ± 0,00	1,00 ^{Aa} ± 0,00	1,00 ^{Aa} ± 0,00
	14.	1,00 ^{Aa} ± 0,00	1,00 ^{Aa} ± 0,00	1,00 ^{Aa} ± 0,00	1,00 ^{Aa} ± 0,00	1,00 ^{Aa} ± 0,00	1,00 ^{Aa} ± 0,00	1,00 ^{Aa} ± 0,00
	21.	1,00 ^{Aa} ± 0,00	1,00 ^{Aa} ± 0,00	1,00 ^{Aa} ± 0,00	1,00 ^{Aa} ± 0,00	1,00 ^{Aa} ± 0,00	1,00 ^{Aa} ± 0,00	1,00 ^{Aa} ± 0,00
Zapach kwaśny Sour smell	1.	4,20 ^{Aa} ± 0,64	3,60 ^{Aa} ± 0,14	3,60 ^{Aa} ± 0,55	4,20 ^{Aa} ± 0,84	4,20 ^{Aa} ± 0,84	4,60 ^{Aa} ± 0,14	4,00 ^{Aa} ± 0,71
	7.	4,00 ^{Aa} ± 0,50	4,00 ^{Aa} ± 0,50	4,00 ^{Aa} ± 0,50	4,00 ^{Aa} ± 0,00	4,00 ^{Aa} ± 0,00	3,50 ^{Ba} ± 0,50	3,00 ^{Ba} ± 0,00
	14.	4,20 ^{Aa} ± 0,87	4,00 ^{Aa} ± 0,30	4,00 ^{Aa} ± 0,87	3,80 ^{Aa} ± 0,12	3,80 ^{Aa} ± 0,71	3,50 ^{Ba} ± 0,43	3,00 ^{Ba} ± 0,71
	21.	4,80 ^{Ba} ± 0,79	3,80 ^{Aa} ± 0,39	3,80 ^{Aa} ± 0,39	3,80 ^{Aa} ± 0,39	3,80 ^{Aa} ± 0,79	3,55 ^{Ba} ± 0,39	3,00 ^{Ba} ± 0,70

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

Tabela 3. Wyniki pomiarów teksturometrycznych jogurtów determinowane wielkością dodatku magnezu do mleka, podczas przechowywania
Table 3. Measurement results of texture parameters of yoghurts as determined by the dose of magnesium added to milk, during the cold storage

Wyróżnik Parameter	Dzień przechowywania Day of storage	Dodatek magnezu [mg magnezu w 100 g mleka] The dose of magnesium enrichment [mg magnesium for 100 g of milk]							
		0	5	10	15	20	25	30	
Twardość Hardness [N]	1.	2,89 ^{Aa} ± 0,61	3,00 ^{Aa} ± 0,69	2,92 ^{Aa} ± 0,64	2,78 ^{Aa} ± 0,49	2,74 ^{Aa} ± 0,50	2,72 ^{Aa} ± 0,59	2,70 ^{Aa} ± 0,52	
	7.	3,09 ^{Aa} ± 0,70	3,06 ^{Aa} ± 0,64	3,02 ^{Aa} ± 0,72	2,97 ^{Aa} ± 0,59	2,99 ^{Aa} ± 0,57	2,95 ^{Aa} ± 0,64	2,78 ^{Aa} ± 0,56	
	14.	3,22 ^{Aa} ± 0,78	3,28 ^{Aa} ± 0,79	3,26 ^{Aa} ± 0,67	3,18 ^{Aa} ± 0,82	3,20 ^{Aa} ± 0,62	3,05 ^{Aa} ± 0,63	3,19 ^{Aa} ± 0,69	
	21.	3,26 ^{Aa} ± 0,78	3,25 ^{Aa} ± 0,85	3,32 ^{Aa} ± 0,70	3,05 ^{Aa} ± 0,67	3,09 ^{Aa} ± 0,63	3,19 ^{Aa} ± 0,70	3,10 ^{Aa} ± 0,80	
Adhezyjność Adhesiveness [mJ]	1.	9,86 ^{Aa} ± 2,75	9,56 ^{Aa} ± 2,21	8,96 ^{Aab} ± 1,75	8,85 ^{Aab} ± 0,93	9,84 ^{Aa} ± 1,35	9,06 ^{Aa} ± 3,22	4,54 ^{Ab} ± 1,70	
	7.	5,96 ^{Ba} ± 1,55	9,04 ^{Bb} ± 0,68	9,22 ^{Ab} ± 1,85	8,60 ^{Ab} ± 1,40	8,72 ^{Ab} ± 1,41	7,64 ^{Bb} ± 1,34	6,44 ^{Bb} ± 1,34	
	14.	8,14 ^{Aa} ± 1,73	9,70 ^{Bb} ± 1,17	9,62 ^{Ab} ± 1,91	9,52 ^{Ab} ± 1,33	9,32 ^{Ab} ± 1,59	7,94 ^{Ba} ± 1,30	7,86 ^{Ba} ± 1,07	
	21.	9,18 ^{Aa} ± 1,70	9,28 ^{Ba} ± 0,77	9,66 ^{Aa} ± 0,98	9,14 ^{Aa} ± 0,20	8,74 ^{ABa} ± 0,51	7,80 ^{Bb} ± 0,41	5,46 ^{Bb} ± 0,86	
Kleistość Stringiness length [mm]	1.	12,69 ^{Aa} ± 0,77	10,46 ^{Aa} ± 0,59	8,97 ^{Ab} ± 0,82	9,70 ^{Ab} ± 0,34	8,88 ^{Ac} ± 0,16	5,50 ^{Ad} ± 0,12	5,11 ^{Ad} ± 0,20	
	7.	7,97 ^{Ba} ± 1,57	8,17 ^{Ba} ± 1,89	6,16 ^{Bab} ± 1,45	5,51 ^{Bb} ± 1,92	3,44 ^{Ab} ± 0,67	5,33 ^{Ab} ± 0,86	5,28 ^{Ab} ± 1,17	
	14.	7,40 ^{Ba} ± 1,18	4,88 ^{Cb} ± 0,54	5,25 ^{Bb} ± 1,12	5,50 ^{Bb} ± 2,78	4,91 ^{Bb} ± 1,79	5,94 ^{Ac} ± 2,06	5,48 ^{Ac} ± 1,90	
	21.	7,64 ^{Ba} ± 0,94	4,85 ^{Ca} ± 0,80	6,06 ^{Ba} ± 2,28	6,42 ^{Ba} ± 0,74	7,44 ^{Ba} ± 2,25	5,30 ^{Ab} ± 1,20	4,06 ^{Ac} ± 0,80	
Kohezyjność Cohesiveness	1.	0,41 ^{Aa} ± 0,01	0,40 ^{Aa} ± 0,04	0,40 ^{Aa} ± 0,01	0,41 ^{Aa} ± 0,03	0,41 ^{Aa} ± 0,01	0,40 ^{Aa} ± 0,05	0,36 ^{Aa} ± 0,05	
	7.	0,37 ^{Aa} ± 0,08	0,40 ^{Aa} ± 0,02	0,31 ^{Aa} ± 0,18	0,40 ^{Aa} ± 0,04	0,41 ^{Aa} ± 0,02	0,39 ^{Aa} ± 0,06	0,37 ^{Aa} ± 0,02	
	14.	0,40 ^{Aa} ± 0,03	0,43 ^{Aa} ± 0,04	0,44 ^{Aa} ± 0,07	0,37 ^{Aa} ± 0,05	0,34 ^{Aa} ± 0,19	0,39 ^{Aa} ± 0,06	0,32 ^{Aa} ± 0,18	
	21.	0,41 ^{Aa} ± 0,08	0,41 ^{Aa} ± 0,03	0,40 ^{Aa} ± 0,03	0,41 ^{Aa} ± 0,03	0,41 ^{Aa} ± 0,02	0,40 ^{Aa} ± 0,03	0,35 ^{Aa} ± 0,06	
Sprężystość Springiness [mm]	1.	14,63 ^{Aa} ± 0,23	14,07 ^{ABa} ± 0,40	13,97 ^{Aa} ± 0,84	14,39 ^{Aa} ± 0,22	13,67 ^{Aa} ± 0,60	13,53 ^{Aa} ± 0,19	11,25 ^{Ab} ± 0,62	
	7.	14,34 ^{Aa} ± 1,34	13,81 ^{Ba} ± 0,70	13,97 ^{Aa} ± 0,62	13,64 ^{Aa} ± 1,01	14,47 ^{Aa} ± 0,45	14,62 ^{Ba} ± 1,55	12,01 ^{Aa} ± 1,94	
	14.	14,83 ^{Aa} ± 1,66	14,80 ^{Aa} ± 0,80	15,66 ^{Aa} ± 1,40	15,29 ^{Aa} ± 1,94	15,20 ^{Aa} ± 1,04	14,74 ^{Ba} ± 0,96	14,90 ^{Ba} ± 1,22	
	21.	14,73 ^{Aa} ± 1,22	14,29 ^{ABa} ± 0,74	14,32 ^{Aa} ± 0,46	14,19 ^{Ab} ± 0,16	14,18 ^{Aa} ± 0,58	13,65 ^{ABa} ± 0,99	14,13 ^{Ba} ± 1,19	

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

Różnice barwy jogurtów mogą być zauważalne przez konsumenta, przez co mogą stanowić jedno z kryteriów sensorycznej oceny jakości i wyboru jogurtów [22]. Parametr L^* określający jasność w badanych próbkach jogurtów oznaczono w przedziale wartości od 98,47 (jogurty niefortyfikowane) do 95,82 (jogurty wzbogacone 30 mg Mg). Składowe barwy jogurtów przyjmowały wartości ujemne a^* (bardziej zielone niż czerwone) oraz dodatnie b^* (bardziej żółte niż niebieskie) we wszystkich jogurtach niezależnie od ilości wprowadzonego magnezu. Stwierdzono istotną korelację ($r = 0,66$, $p \leq 0,05$) pomiędzy ilością wprowadzonego magnezu i składową barwą a^* .

Rój i Przybyłowski [22] przeprowadzili doświadczenie obejmujące pomiar barwy jogurtów naturalnych i uzyskali wartości z zakresów: parametr L^* – $87,00 \div 92,58$, parametr a^* – $-3,49 \div -4,82$ oraz parametr b^* – $7,18 \div 10,08$. W badaniach własnych stwierdzono wyższą wartość parametru L^* (większą jasność) zarówno jogurtów niewzbogaconych, jak i wzbogaconych diglicynianem. Wyższe wartości parametru b^* świadczą o większym nasyceniu jogurtów odcieniem żółtym. Natomiast ujemne wartości parametru a^* informujące o większym udziale barwy zielonej niż czerwonej są porównywalne z wynikami Roja i Przybyłowskiego [22].

W opinii zespołu oceniającego w jogurtach fortifikowanych magnezem nie stwierdzono obcego smaku i zapachu. Zarówno jogurty kontrolne, jak i wzbogacone w magnez charakteryzowały się właściwą, gładką konsystencją i intensywnym smakiem mleczno-kremowym. Intensywność smaku kwaśnego jogurtów w 21. dniu przechowywania wzrosła o $0,4 \div 0,8$ pkt w porównaniu z 1. dniem badań. Stwierdzono istotną korelację pomiędzy intensywnością smaku kwaśnego jogurtów a czasem przechowywania ($r = 0,71$, $p \leq 0,05$). W jogurtach niefortyfikowanych w 21. dniu przechowywania pogorszeniu uległy: konsystencja i smak mleczno-kremowy. Wraz ze wzrostem dawki magnezu w jogurtach zmniejszała się jednak intensywność smaku i zapachu kwaśnego na korzyść zwiększenia odczucia smaku mleczno-kremowego (tab. 2). Wichrowska i Wojdyła [24] stwierdzili również, że wraz ze wzrostem czasu przechowywania jogurtów w warunkach chłodniczych istotnie pogarsza się konsystencja i wygląd, a w mniejszym stopniu barwa, smak i zapach.

W tab. 3. zamieszczono wyniki oznaczeń profilu teksturometrycznego jogurtów w zależności od ilości wprowadzonego magnezu. Na twardość i kohezję jogurtów w 21. dniu przechowywania chłodniczego nie wpłynęła istotnie ilość wprowadzonego magnezu w postaci diglicynianu. Twardość badanych jogurtów mieściła się w przedziale $2,70 \div 3,32$ N, a kohezja – $0,32 \div 0,44$. Jak podają Nastaj i Gustaw [19], wyniki twardości skrzepów mogą być znacznie niższe, np. $0,23$ N lub kilkakrotnie wyższe, tj. $10,08$ N [11]. Rozbieżność w przytoczonych badaniach twardości spowodowana była zastosowaniem różnych dawek prebiotyków oraz ich mieszanin np. jedni autorzy podają, że po dodaniu inuliny żel jogurtowy był słabszy, a inni – że twardość skrzepu jogurtowego wzrastała [5, 14]. Ponadto dodatek odtłuszczonego mleka

w proszku, białek serwatkowych i substancji stabilizujących zwiększa twardość jogurtów [17]. Analizowane jogurty niefortyfikowane charakteryzowały się istotnie wyższą kleistością i adhezyjnością w każdym terminie badań oraz większą sprężystością w 1., 7. i 21. dniu oznaczeń w porównaniu z napojami kontrolnymi.

Wnioski

1. Wzbogacanie mleka przeznaczonego do produkcji jogurtów diglicynianem magnezu nie zmienia istotnie ($p \leq 0,05$) cech sensorycznych, a dodatkowo zapobiega zjawisku przekwaszania, które często występuje wraz z wydłużaniem czasu przechowywania.
2. Zwiększenie zawartości magnezu (nawet o 30 mg w 100 g) w postaci diglicynianu magnezu w jogurtach jest możliwe przed procesem pasteryzacji mleka przerobowego.
3. Dodatek diglicynianu magnezu w jogurtach nie powoduje istotnego ($p \leq 0,05$) pociemnienia produktu.
4. Dodatek diglicynianu magnezu w jogurtach zmienia istotnie ($p \leq 0,05$) adhezyjność jogurtów, natomiast nie wpływa na twardość i kohezyjność tych napojów podczas 21 dni przechowywania.

Autorzy publikacji dziękują OLIMP LABORATORIES Sp. z o.o. z Nagawczyny za wsparcie udzielone podczas prowadzenia badań.

Literatura

- [1] Bancerz B., Duś-Żuchowska M., Cichy W., Matusiewicz H.: Wpływ magnezu na zdrowie człowieka. Przegl. Gastroenterol., 2012, **7** (6), 359-366.
- [2] Baranowska M., Żbikowska A., Żbikowski Z.: Porównanie cech jakościowych bio-jogurtu produkowanego metodą przyspieszoną i tradycyjną. Inż. Ap. Chem., 2009, **48** (2), 23-24.
- [3] Barylko-Pikielna N., Matuszewska I.: Sensoryczne badania żywności. Podstawy. Metody. Zastosowania. Wyd. II. Wyd. Nauk. PTTŻ, Kraków 2014.
- [4] Błach J., Nowacki W., Mazur A.: Wpływ magnezu na reakcje alergiczne skóry. Postępy Hig. Med. Dośw., 2007, **61**, 548-554.
- [5] Bozanic R., Rogelj I., Tratnik L.: Fermentation and storage of probiotic yogurt from goat milk. Mlijekarstvo, 2002, **52** (2), 93-111.
- [6] Bułhak-Jachymczyk B., Jarosz M.: Normy żywienia człowieka. Podstawy prewencji otyłości i chorób niezakaźnych. Wprowadzenie. Red. M. Jarosz, B. Bułhak-Jachymczyk. Wyd. Lek. PZWL, Warszawa 2008, ss. 15-31.
- [7] CIE DS 014-4.3/E:2007. Colorimetry – Part 4: CIE 1976 L*a*b* Colour Space.
- [8] Coudray C., Rambeau M., Feillet-Coudray C., Gueux E., Tressol J.C., Mazur A., Rayssiguier Y.: Study of magnesium bioavailability from ten organic and inorganic Mg salts in Mg- depleted rats using a stable isotope approach. Magnes. Res., 2005, **18** (4), 215-223.
- [9] Gahrue H.H., Eskandari M.H., Mesbahi G., Hanifpour M.A.: Scientific and technical aspect of yogurt fortification: A review. Food Sci. Human Wellness, 2015, **4**, 1-8.

- [10] Gerhart M., Schottenheimer M.: Mineral fortification in dairy. Wellness Foods, Nuremberg, Germany, 2013.
- [11] Hanif M.S., Zahoor T., Iqbal Z., Ihsan-ul-haq, Arif A.M.: Effect of storage on the rheological and sensory characteristics of cow and buffalo milk yogurt. Pakistan J. Food Sci., 2012, **22** (2), 61-70.
- [12] Hartle J.: Bonds important for amino acid chelates. Feedstuffs, 2006, **39**, 87.
- [13] Herroeder S., Schönherr M.E., De Hert S., Hollman M.W.: Magnesium – essentials for anesthesiologists. Anesthesiology, 2011, **114** (4), 971-993.
- [14] Ipsen R., Otte J., Lozahic G., Qvist K.B.: Microstructure and viscosity of yoghurt with inulin added as a fat replacer. Ann. Trans. Nord. Rheol. Soc., 2000-2001, (8/9), 59-62.
- [15] Ireland P., Fordtran J.S.: Effect of dietart calcium and age on jejunal calcium absorption in humans studied by intestinal perfusion. J. Clin. Invest., 1973, **52**, 2672-2681.
- [16] Karowicz-Bilińska A., Kotarski J., Nowak-Markwitz E., Poręba R., Spaczyński M., Oszukowski P.: Stanowisko Zespołu Ekspertów Polskiego Towarzystwa Ginekologicznego w zakresie stosowania preparatu *Chela – Mag B6® Mama* w położnictwie i ginekologii. Ginekol. Pol., 2011, **82**, 792-794.
- [17] Kumar P., Mishra H.N.: Mango soy fortified set yoghurt: Effect of stabilizer addition on physico-chemical, sensory and textural properties. Food Chem., 2004, **87** (4), 501-507.
- [18] Lawless H.T., Rapacki F., Horne J., Hayes A.: The taste of calcium and magnesium salts and anionic modifications. Food Qual. Pref., 2003, **14** (4), 319-325.
- [19] Nastaj M., Gustaw W.: Wpływ wybranych prebiotyków na właściwości reologiczne jogurtu stałego. Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 2008, **5** (60), 217-225.
- [20] Rozporządzenie (WE) NR 1925/2006 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 20 grudnia 2006 r. w sprawie dodawania do żywności witamin i składników mineralnych oraz niektórych innych substancji. Dz. Urz. UE. L.06.404.26.
- [21] Rozporządzenie Komisji (WE) NR 1170/2009 z dnia 30 listopada 2009 r. zmieniające dyrektywę 2002/46/WE Parlamentu Europejskiego i Rady oraz rozporządzenie (WE) nr 1925/2006 Parlamentu Europejskiego i Rady w odniesieniu do wykazów witamin i składników mineralnych oraz ich form chemicznych, które można dodawać do żywności, w tym do suplementów żywnościowych. Dz. Urz. UE L 314/36 z dn. 1.12.2009.
- [22] Rój A., Przybyłowski P.: Ocena barwy jogurtów naturalnych. Brom. Chem Toksykol., 2012, **XLV** (3), 813-816.
- [23] Szeleszczuk Ł., Kuras M.: Znaczenie wapnia w metabolizmie człowieka i czynniki wpływające na jego biodostępność w diecie. Biul. Wydz. Farm. WUM, 2014, **3**, 16-22.
- [24] Wichrowska D., Wojdyła T.: Ocena sensoryczna i fizykochemiczna wybranych jogurtów naturalnych i ekologicznych. Inż. Ap. Chem., 2014, **53** (6), 421-423.
- [25] Ziarno M., Nowak A., Pluta A.: Możliwość zastosowania soli wapniowych do wzbogacania cottage cheese w wapń. Acta. Sci. Pol. Technol. Aliment, 2004, **3** (1), 103-112.
- [26] Ziarno M., Zaręba D., Piskorz J.: Wzbogacanie maślanki w wapń, magnez oraz białka serwatkowe. Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 2009, **2** (63), 14-27.
- [27] Ziarno M.: Wzbogacanie mleka spożywczego solami wapnia i magnezu. Przem. Mlecz., 2008, **2**, 4-10.

ASSESSING POSSIBLE APPLICATIONS OF MAGNESIUM AMINO ACID CHELATE TO ENRICH YOGHURT

S u m m a r y

Among the magnesium compounds, magnesium bisglycinate, i.e. a magnesium amino acid chelate, is listed in the Regulation of the EC Commission No. 1170/2009. It is composed of glycine and elemental magnesium. The ratio between the metal ions and amino acid ions is 1 : 2. Amino acids are a new group of compounds permitted to be used as dietary supplements for people; therefore, in the available reference

literature there are no results of studies that deal with assessing the possibilities of applying them to fortify milk and milk products. The objective of the paper was to determine the possibility of applying magnesium amino acid chelate (magnesium bisglycinate) to enrich yoghurt. The impact was analyzed of the following magnesium doses added to milk being processed [mg/100 g of milk]: 0 mg (control sample); 5 mg; 10 mg; 15 mg; 20 mg; 25 mg; and 30 mg, on the thermal stability of proteins during pasteurization as well as on the quality of yoghurts during refrigerated storage. Fortifying yogurts with magnesium bisglycinate did not significantly change the sensory characteristics of yoghurts; what's more, it prevented the phenomenon of excessive souring of the yoghurts that often occurred while increasing the time of storing them. It was also proven that it was possible to increase the content of magnesium (even up to 30 mg per 100 g of product) through adding magnesium bisglycinate prior to the process of pasteurization of milk being processed. Enriching yoghurts with magnesium bisglycinate did not cause the product to become significantly darker. The enrichment with magnesium significantly changed the adhesiveness of yoghurts; however, it did not impact the hardness and cohesiveness of those beverages during a 21-day period of storing them.

Key words: yogurt, fortification, magnesium bisglycinate, texture 

ALEKSANDRA CIOŁKOWSKA, WALDEMAR GUSTAW,
KATARZYNA SKRZYPCZAK, BARTOSZ SOŁOWIEJ, ANETA SŁAWIŃSKA

**WŁAŚCIWOŚCI REOLOGICZNE MODELOWYCH NAPOJÓW
FERMENTOWANYCH OTRZYMANYCH Z WYBRANYCH
PREPARATÓW BIAŁEK SERWATKOWYCH
Z DODATKIEM INULINY**

Streszczenie

Celem pracy było otrzymanie oraz określenie właściwości reologicznych modelowych napojów fermentowanych na bazie wybranych preparatów białek serwatkowych z dodatkiem 7 % sacharozy i inuliny w ilości: 2, 3 i 4 %. Jako kultury starterowe stosowano bakterie fermentacji mlekowej zdolne do syntezy egzopolisacharydów. Wyznaczano krzywe płynięcia przy użyciu reometru Haake RS300, a po ich analizie obliczono współczynnik konsystencji (K) oraz wskaźnik płynięcia (n) badanych próbek. Wraz ze wzrostem stężenia serwatki w proszku (SP), serwatki o zmniejszonej zawartości laktozy (SZZL) i koncentratu białek serwatkowych (WPC 65) w otrzymanych napojach malała wartość współczynnika konsystencji, natomiast przy wyższym stężeniu koncentratu białek serwatkowych (WPC 35) i izolatu białek serwatkowych (WPI) wartość ta wzrastała. Spośród wszystkich badanych próbek najwyższą wartością K charakteryzowały się napoje fermentowane na bazie WPC 35. Dodatek sacharozy i inuliny wpłynął na poprawę konsystencji napojów. Wartości wskaźnika płynięcia wszystkich badanych próbek były mniejsze od jedności, co świadczy o ich pseudoplastycznym charakterze. Najniższe, zbliżone wartości współczynnika konsystencji zaobserwowano w przypadku układów na bazie serwatki w proszku (SP) i serwatki zdemineralizowanej (SZ) z dodatkiem sacharozy i inuliny w różnych stężeniach. Natomiast najwyższymi wartościami parametrów reologicznych charakteryzowały się te na bazie WPC 35 z dodatkiem sacharozy i 4 % inuliny. W tym przypadku wartości współczynnika konsystencji wyniosły: $10,5 \text{ Pa} \cdot \text{s}^n$ (MYE 95) i $10,2 \text{ Pa} \cdot \text{s}^n$ (MYE 96).

Słowa kluczowe: napoje fermentowane, preparaty białek serwatkowych, inulina, reologia

Mgr inż. A. Ciołkowska, prof. dr hab. W. Gustaw, mgr inż. K. Skrzypczak, dr A. Sławińska, Katedra Technologii Owoców, Warzyw i Grzybów, dr hab. B. Sołowiej, Katedra Biotechnologii, Żywnienia Człowieka i Towaroznawstwa Żywności, Wydz. Nauk o Żywności i Biotechnologii, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, ul. Skromna 8, 20-704 Lublin. Kontakt: aleksandra.ciolkowska@gmail.com

Wprowadzenie

Serwatka jest produktem ubocznym przemysłu mleczarskiego. Wzrastający popyt na żywność funkcjonalną sprawia, że coraz częściej wykorzystuje się serwatkę i jej preparaty do produkcji funkcjonalnych napojów fermentowanych. Napoje te zawierają białka serwatkowe o dużej wartości biologicznej. Technologia produkcji funkcjonalnych napojów serwatkowych jest stosunkowo prosta, a fermentowane produkty uznawane są za żywność o właściwościach prozdrowotnych [9, 15].

Białka z serwatki odzyskuje się głównie przy zastosowaniu technik membranowych i chromatografii jonowymiennej. Podczas procesu ultrafiltracji białka, ze względu na ich rozmiary, zostają oddzielone od laktozy i związków mineralnych, które przechodzą przez membranę jako permeat. Wysuszony na suszarkach rozpyłowych retentat zawierający od 35 do 80 % białka nazywany jest koncentratem białek serwatkowych [16, 19]. Zastosowanie chromatografii jonowymiennej pozwala na otrzymanie izolatów białek serwatkowych o zawartości białka powyżej 90 % oraz wyizolowanie poszczególnych białek serwatki i ich fragmentów jak np. kazeinomakropetydu [8].

Bakterie fermentacji mlekowej (LAB) są wykorzystywane m.in. do produkcji mlecznych napojów fermentowanych. Do wzrostu LAB wymagają podłoża bogatego w peptydy, aminokwasy, kwasy tłuszczowe, węglowodany oraz witaminy. Wykazują one zdolność do hydrolizowania tłuszczów i białek mleka. Poszczególne białka mleka, jak i preparaty białek mleka stymulują wzrost LAB [1, 9, 13].

Inulina jest naturalnie występującym polisacharydem stanowiącym materiał zapasowy niektórych roślin, gromadzonym w wakuolach. W przemyśle spożywczym wykorzystywana jest ze względu na swoje właściwości prebiotyczne oraz funkcjonalne. Inulina wykazuje zdolność do pochłaniania wody i tworzenia żeli. W środowisku o pH poniżej 4,5 dochodzi do hydrolizy inuliny do fruktozy [7].

Egzopolisacharydy (EPS) to wielkocząsteczkowe polimery wydzielane przez mikroorganizmy na zewnątrz komórki. Wpływają one na właściwości reologiczne fermentowanych produktów na bazie mleka, zwiększając ich lepkość, dlatego też bakterie fermentacji mlekowej zdolne do wytwarzania egzopolisacharydów odgrywają istotną rolę w przemyśle mleczarskim. Ponadto niektóre EPS wykazują działanie przeciwnowotworowe oraz immunomodulujące [17].

Celem pracy było otrzymanie oraz określenie właściwości reologicznych fermentowanych napojów na bazie wybranych preparatów białek serwatkowych z dodatkiem inuliny. Jako kultury starterowe stosowano bakterie fermentacji mlekowej zdolne do syntezy egzopolisacharydów.

Material i metody badań

Do badań zastosowano: serwatkę w proszku (SP) (Spomlek, Radzyń Podlaski, Polska), serwatkę o zmniejszonej zawartości laktozy (SZZL) (Foremost Farms, USA), serwatkę zdemineralizowaną (SZ) (Euroserum, Port-Sur-Saone, Francja), koncentraty białek serwatkowych: WPC-35 (Laktopol, Warszawa, Polska), WPC-65 i WPC-80 (Milei GmbH, Allgau, Niemcy), izolat białek serwatkowych WPI (Milei GmbH, Allgau, Niemcy), inulinę (Frutafit, Sensus, Holandia), odtłuszczone mleko w proszku (OSM Krasnystaw) oraz sacharozę spożywczą. W celu ujednolicenia pH roztworów mleka w proszku przeznaczonego do otrzymania inokulum doprowadzano je do wartości pH = 6,0. Do regulacji pH wykorzystano kwas octowy i NaOH (POCH Gliwice).

W celu otrzymania napojów fermentowanych użyto szczepionek MYE 95 i MYE 96 (Danisco, Poznań, Polska), w skład których wchodziły szczepy *Streptococcus thermophilus* i *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus*.

Przygotowanie inokulum

Do 50 ml spasteryzowanego 10-procentowego roztworu odtłuszczonego proszku mlecznego dodano 4 mg szczepionki i inkubowano w cieplarni w temp. 42 °C do momentu uzyskania pH na poziomie 4,8 co trwało 4 h. Hodowlę prowadzono w zlewkach o pojemności 100 ml zakrytych folią aluminiową.

Otrzymywanie modelowych napojów fermentowanych

Przygotowywano roztwory preparatów białek serwatkowych o stężeniu 5, 6 i 7 % w wodzie destylowanej poprzez mieszanie w temp. 20 ± 2 °C mieszadłem magnetycznym MR 3002S (Heidolph, Niemcy) przez 30 min. W drugim etapie badań do 7-procentowych roztworów preparatów białek serwatkowych, wybranych na podstawie ich konsystencji, dodawano 7 % sacharozy oraz 2, 3 lub 4 % inuliny. Po dokładnym wymieszaniu próbki pasteryzowano w temp. 90 °C przez 15 min w łaźni wodnej. Otrzymane roztwory schładzano do ok. 42 °C i zaszczepiano 2 % inokulum, a następnie fermentowano do uzyskania pH na poziomie 4,8. Napoje fermentowane schładzano, następnie przez 24 h przechowywano w temp. ok. 4 °C.

Reometria rotacyjna

Pomiary wykonywano przy użyciu reometru RS 300 (Haake, Niemcy) z zastosowaniem układu pomiarowego cylindrów współosiowych Z41. Wyznaczano krzywe płynięcia w zakresie szybkości ścinania od 0,1 do 100 1/s w ciągu 60 s i w temp. 20 °C. Otrzymane krzywe płynięcia analizowano z wykorzystaniem równania Ostwalda - de Waele'a. Oznaczano również właściwości tiksotropowe otrzymanych napojów fermentowanych, wyznaczając pętlę histerezy w zakresie szybkości ścinania od 0,1 do 200 1/s, a następnie od 200 do 0,1 1/s w ciągu 180 s w temp. 20 °C. Pola powierzchni

histerezy tiksotropii wyliczano przy zastosowaniu oprogramowania RheoWin. Wszystkie oznaczenia wykonano w trzech powtórzeniach po 5 prób.

Analiza statystyczna

Analizę statystyczną wykonano przy użyciu programu Statistica 8.0 (StatSoft, Polska). Zastosowano wieloczynnikową analizę wariancji (ANOVA). Do opracowania wyników przedstawionych w tab. 1., 2. i 4. zastosowano trójczynnikową analizę wariancji, natomiast wyniki przedstawione w tab. 3. opracowano za pomocą dwuczynnikowej analizy wariancji. Do oceny istotności różnic pomiędzy wartościami średnimi zastosowano test Tukeya ($p \leq 0,05$).

Wyniki i dyskusja

W tab. 1. przedstawiono wartości współczynnika konsystencji (K) oraz wskaźnika płynięcia (n) napojów fermentowanych na bazie różnych preparatów białek serwatkowych o stężeniu 5, 6 i 7 %. Wzrost stężenia stosowanych preparatów serwatkowych nie wpływał istotnie na wartości współczynnika konsystencji. Jedynie w przypadku WPC 35 zaobserwowano znaczny wzrost wartości K przy stężeniu 6 %. Dalszy wzrost stężenia koncentratu nie powodował wyraźnych zmian konsystencji. Najwyższą wartość współczynnika konsystencji, która wynosiła $8,1 \text{ Pa}\cdot\text{s}^n$, osiągnięto przy 7-procentowym stężeniu WPC 35 z zastosowaniem szczepionki MYE 96.

We wcześniejszych badaniach [6] również stwierdzono, że w większości przypadków wzrost stężenia dodawanych preparatów serwatkowych (SP, SZ, SZZL) powodował pogorszenie właściwości reologicznych napojów fermentowanych. Inni autorzy otrzymali napój fermentowany z wykorzystaniem WPC 35 o stężeniu 10 %, co zapewniało odpowiednią konsystencję produktu zbliżoną do produktów otrzymanych z mleka [12]. Sodini i wsp. [15] wykazali, że niektóre jogurty z dodatkiem WPC charakteryzowały się lepkością zbliżoną do lepkości jogurtów z dodatkiem odtłuszczonego mleka w proszku, natomiast w większości przypadków jogurty z WPC charakteryzowały się mniejszą lepkością pozorną. Właściwości reologiczne jogurtów zależały prawdopodobnie od zawartości niebiałkowych składników, takich jak laktoza i tłuszcz w koncentratkach oraz od stopnia denaturacji białek.

Deep i wsp. [3] badali wpływ egzopolisacharydów wytwarzanych przez LAB na rozpuszczalność, właściwości emulgujące i zdolność do żelowania WPC produkowanych z serwatki zaszczipionej kulturami wytwarzającymi EPS. Próba kontrolna nie zawierała kultur wytwarzających EPS. Serwatkę tę następnie pasteryzowano, zagęszczano metodą ultrafiltracji i suszono metodą rozpyłową. W obecności EPS w uzyskanych WPC wzrastała rozpuszczalność białek serwatkowych, zmniejszał się stopień denaturacji białek i polepszały się właściwości emulgujące. Dodatek EPS poprawiał teksturę żeli WPC. Obecność EPS w mlecznych produktach fermentowanych może

wpływać również na interakcje pomiędzy kazeiną a białkami serwatkowymi, które kształtują właściwości reologiczne produktów mleczarskich [5].

Tabela 1. Wartości współczynnika konsystencji (K) i wskaźnika płynięcia (n) serwatkowych napojów fermentowanych za pomocą szczepionek MYE 95 i MYE 96, na podstawie krzywych płynięcia

Table 1. Values of consistency coefficient (K) and flow behaviour index (n) determined based on flow curves of whey beverages fermented by MYE 95 and MYE 96 inoculants

Rodzaj i stężenie preparatu [%] Type and concentration of preparation [%]		MYE 95		MYE 96	
		K [Pa·s ⁿ]	n	K [Pa·s ⁿ]	n
SP	5	0,01 ^a ± 0,00	0,63 ^{abcdefg} ± 0,02	0,07 ^a ± 0,01	0,74 ^{abcdef} ± 0,03
	6	0,01 ^a ± 0,00	0,66 ^{abcdefg} ± 0,01	0,04 ^a ± 0,01	0,84 ^{abcd} ± 0,03
	7	0,01 ^a ± 0,00	0,69 ^{abcdefg} ± 0,22	0,03 ^a ± 0,01	0,87 ^{ab} ± 0,38
SZ	5	0,07 ^a ± 0,00	0,59 ^{abcdefghi} ± 0,11	0,65 ^a ± 0,04	0,86 ^{abc} ± 0,14
	6	0,01 ^a ± 0,00	0,63 ^{abcdefg} ± 0,16	0,83 ^a ± 0,01	0,78 ^{abcde} ± 0,03
	7	0,01 ^a ± 0,00	0,58 ^{abcdefghij} ± 0,09	0,71 ^a ± 0,04	0,82 ^{abcd} ± 0,11
SZZL	5	0,02 ^a ± 0,01	0,77 ^{abcdef} ± 0,25	0,07 ^a ± 0,05	0,96 ^a ± 0,26
	6	0,01 ^a ± 0,00	0,58 ^{abcdefghij} ± 0,26	0,07 ^a ± 0,01	0,68 ^{abcdefg} ± 0,35
	7	0,01 ^a ± 0,00	0,52 ^{abcdefghijk} ± 0,04	0,06 ^a ± 0,00	0,77 ^{abcdef} ± 0,27
WPC 35	5	0,16 ^a ± 0,04	0,42 ^{abcdefghij} ± 0,08	0,18 ^a ± 0,05	0,36 ^{abcdefg} ± 0,03
	6	6,60 ^b ± 3,20	0,13 ^{ab} ± 0,01	7,20 ^b ± 0,17	0,15 ^{abcd} ± 0,04
	7	7,20 ^b ± 4,00	0,03 ^a ± 0,01	8,10 ^b ± 0,56	0,14 ^{abc} ± 0,03
WPC 65	5	0,80 ^a ± 0,41	0,37 ^{cdefghijkl} ± 0,11	1,30 ^a ± 0,35	0,28 ^{abcdef} ± 0,02
	6	0,14 ^a ± 0,01	0,42 ^{abcdefghij} ± 0,02	0,81 ^a ± 0,00	0,61 ^{abcdefg} ± 0,06
	7	0,02 ^a ± 0,01	0,62 ^{abcdefg} ± 0,02	0,04 ^a ± 0,00	0,91 ^{ab} ± 0,11
WPC 80	5	0,91 ^a ± 0,26	0,10 ^{ab} ± 0,03	0,90 ^a ± 0,09	0,21 ^{abcde} ± 0,04
	6	0,98 ^a ± 0,00	0,33 ^{abcdefg} ± 0,04	0,13 ^a ± 0,09	0,51 ^{bcdefghijk} ± 0,02
	7	0,14 ^a ± 0,03	0,64 ^{abcdefg} ± 0,03	0,09 ^a ± 0,00	0,75 ^{abcdef} ± 0,04
WPI	5	0,01 ^a ± 0,00	0,75 ^{abcdef} ± 0,11	0,08 ^a ± 0,00	0,65 ^{abcdefg} ± 0,10
	6	0,02 ^a ± 0,00	0,80 ^{abcde} ± 0,07	0,09 ^a ± 0,00	0,66 ^{abcdefg} ± 0,08
	7	0,16 ^a ± 0,08	0,40 ^{abcdefghi} ± 0,05	0,16 ^a ± 0,01	0,04 ^a ± 0,01

Objaśnienia / Explanatory notes:

SP – serwatka w proszku / whey powder; SZ – serwatka zdemineralizowana / demineralised whey; SZZL – serwatka o zmniejszonej zawartości laktozy / whey with reduced content of lactose; WPC 35, WPC 65, WPC 80 – koncentraty białek serwatkowych / whey protein concentrates; WPI – izolat białek serwatkowych / whey protein isolate. W tabeli przedstawiono wartości średnie ± odchylenia standardowe / Table shows mean values ± standard deviations; n = 5; a - l – wartości średnie oznaczone różnymi literami różnią się statystycznie istotnie (p < 0,05) / mean values denoted by different letters differ statistically significantly (p < 0.05).

Dimitreli i wsp. [4] zaobserwowali, że wyższe stężenie WPC prowadziło do skrócenia czasu fermentacji oraz wzrostu wartości współczynnika konsystencji, a tym samym lepkości pozornej. Wykazali znaczne różnice pomiędzy wartością K kefirów wyprodukowanych z dodatkiem WPC do mleka przerobowego przed obróbką cieplną i po niej. Zdenaturowane białka powodowały dużo większy wzrost wartości współczynnika konsystencji w porównaniu z białkami natywnymi. Na podstawie wyników stwierdzono, że poszczególne preparaty serwatkowe wykazują odmienne właściwości, gdy stosowane są w różnych stężeniach. Dodatek większej ilości danego preparatu nie zawsze wpływa korzystnie na konsystencję próbki, gdyż zależy to od składu zastosowanego preparatu białek serwatkowych.

Wyznaczone wartości wskaźnika płynięcia (n) (tab. 1) były mniejsze od jedności, co oznacza, że wszystkie otrzymane napoje miały charakter pseudoplastyczny, a ich lepkość zmniejszała się wraz ze wzrostem prędkości ścinania.

Tabela 2. Wartości pola powierzchni histerezy tiksotropii (S_T) serwatkowych napojów fermentowanych za pomocą szczepionek MYE 95 i MYE 96

Table 2. Values of hysteresis area loop (S_T) of whey beverages fermented by MYE 95 and MYE 96 inoculants

Rodzaj i stężenie preparatu [%] Type and concentration of preparation [%]		MYE 95	MYE 96
		S_T	S_T
SP	5	214,80 ^{hijk} ± 11,03	270,40 ^{kl} ± 32,17
	6	104,40 ^{bcdetgh} ± 7,63	97,50 ^{abcdegh} ± 6,20
	7	127,40 ^{defghij} ± 49,60	13,20 ^{abcd} ± 2,30
SZ	5	-20,20 ^a ± 5,60	-17,40 ^{ab} ± 8,93
	6	-1,70 ^{abc} ± 0,10	9,70 ^{abcd} ± 3,10
	7	-3,10 ^{abc} ± 0,30	7,50 ^{abcd} ± 1,40
SZZL	5	232,10 ^{ijk} ± 14,90	380,30 ^l ± 86,34
	6	53,80 ^{abcde} ± 4,95	112,80 ^{cdefghi} ± 3,90
	7	18,10 ^{abcd} ± 2,10	71,60 ^{abcde} ± 18,00
WPC 35	5	16,80 ^{abcd} ± 2,30	43,80 ^{abcde} ± 18,34
	6	167,10 ^{fghijk} ± 5,70	531,70 ^l ± 174,00
	7	193,90 ^{ghijk} ± 13,70	570,60 ^l ± 84,80
WPC 65	5	82,10 ^{abcde} ± 1,20	43,40 ^{abcde} ± 5,90
	6	30,10 ^{abcd} ± 3,10	36,70 ^{abcde} ± 11,00
	7	174,10 ^{fghijk} ± 54,70	40,30 ^{abcde} ± 7,60
WPC 80	5	209,40 ^{hijk} ± 31,40	154,10 ^{efghijk} ± 9,19
	6	273,40 ^{kl} ± 17,80	182,40 ^{ghijk} ± 3,70
	7	18,10 ^{abcd} ± 14,00	246,70 ^{jk} ± 54,80
WPI	5	39,00 ^{abcde} ± 2,90	3,70 ^{abc} ± 1,02
	6	8,10 ^{abcd} ± 2,48	5,20 ^{abcd} ± 0,40
	7	4,30 ^{abc} ± 1,10	12,90 ^{abcd} ± 4,70

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

Najwyższą wartość pola powierzchni histerezy tiksotropii (S_T) (tab. 2), świadczącą o silnych właściwościach tiksotropowych, zaobserwowano w przypadku napojów otrzymanych z dodatkiem 7 % WPC 35 i z zastosowaniem szczepionki MYE 96. Natomiast ujemne wartości S_T napojów serwatkowych na bazie SZ świadczą o ich anty-tiksotropowych właściwościach. W takim przypadku lepkość układu wzrasta wraz ze wzrostem szybkości ścinania.

W tab. 3. przedstawiono wartości współczynników K i n mlecznych napojów fermentowanych, otrzymanych z 7-procentowych preparatów białek serwatkowych z dodatkiem 7 % sacharozy. W przypadku próbek z SP nie zaobserwowano poprawy konsystencji, a wartość K napojów z SZ nieznacznie zmniejszyła się. Dodatek sacharozy powodował niewielki wzrost wartości współczynnika konsystencji produktów z SZZL, WPC 35, WPC 60 i WPC 80, natomiast najbardziej widoczny wzrost wartości K nastąpił w przypadku napojów serwatkowych na bazie WPI. Najwyższą wartość współczynnika konsystencji uzyskano przy zastosowaniu WPC 35 i szczepionki MYE 96.

Tabela 3. Wartości współczynnika konsystencji (K) i wskaźnika płynięcia (n) serwatkowych napojów z dodatkiem sacharozy, fermentowanych za pomocą szczepionek MYE 95 i MYE 96, na podstawie krzywych płynięcia

Table 3. Values of consistency coefficient (K) and flow behaviour index (n) determined based on flow curves of whey beverages with saccharose added and fermented by MYE 95 and MYE 96 inoculants

Rodzaj preparatu Type of preparation	MYE 95		MYE 96	
	$K [Pa \cdot s^n]$	N	$K [Pa \cdot s^n]$	n
SP	$0,01^a \pm 0,00$	$0,93^f \pm 0,13$	$0,03^a \pm 0,01$	$0,85^{ef} \pm 0,38$
SZ	$0,01^a \pm 0,00$	$0,95^f \pm 0,01$	$0,24^a \pm 0,03$	$0,58^{cdef} \pm 0,09$
SZZL	$0,02^a \pm 0,01$	$0,79^{ef} \pm 0,04$	$0,11^a \pm 0,01$	$0,49^{bcde} \pm 0,14$
WPC35	$8,16^c \pm 1,77$	$0,12^{ab} \pm 0,01$	$12,80^d \pm 3,9$	$0,13^{ab} \pm 0,03$
WPC65	$0,05^a \pm 0,01$	$0,60^{def} \pm 0,02$	$0,01^a \pm 0,00$	$0,93^a \pm 0,18$
WPC 80	$0,44^a \pm 0,02$	$0,33^{abcd} \pm 0,02$	$2,53^{ab} \pm 0,25$	$0,21^{abc} \pm 0,03$
WPI	$1,65^a \pm 0,50$	$0,12^{ab} \pm 0,01$	$5,64^{bc} \pm 0,93$	$0,05^a \pm 0,01$

Objaśnienia / Explanatory notes:

a - f – wartości średnie oznaczone różnymi literami różną się statystycznie istotnie ($p < 0,05$) / mean values denoted by different letters differ statistically significantly ($p < 0.05$). Pozostałe objaśnienia jak pod tab. 1. / Other explanatory notes as in Tab. 1.

Według Nastaja i wsp. [11], dodatek sacharozy do roztworów WPI i WPC 80 powodował zmniejszenie wartości granicy płynięcia, a jednocześnie następował wzrost lepkości badanych układów. Podobne wyniki otrzymali Davis i Foegeding [2], którzy

stwierdzili, że dodatek sacharozy do roztworów WPI oraz spolimeryzowanego WPI powoduje poprawę lepkości fazy ciągłej próbek.

Zmiany wartości współczynników K i n na skutek dodatku inuliny w różnych stężeniach do otrzymanych napojów serwatkowych na bazie SP, SZ, WPC 30 i WPC 80 przedstawiono w tab. 4. Zastosowanie inuliny w ilości 2 % powodowało pogorszenie konsystencji większości badanych próbek w porównaniu z próbkami z dodatkiem samej sacharozy. Zwiększenie stężenia inuliny wpływało na wzrost współczynnika K, chociaż w przypadku SP i SZ różnice pomiędzy poszczególnymi stężeniami inuliny były nieznaczne. W napojach z WPC 80, fermentowanych za pomocą szczepionki MYE 95, zaobserwowano niewielkie zmniejszenie wartości współczynnika K wraz ze wzrostem stężenia dodawanej inuliny. Najwyższą wartość współczynnika konsystencji osiągnięto w przypadku napojów otrzymanych z WPC 35.

Tabela 4. Wartości współczynnika konsystencji (K) i wskaźnika płynięcia (n) serwatkowych napojów z dodatkiem sacharozy i inuliny, fermentowanych za pomocą szczepionek MYE 95 i MYE 96, na podstawie krzywych płynięcia

Table 4. Values of consistency coefficient (K) and flow behavior index (n) determined based on flow curves of whey beverages with saccharose and inulin added and fermented by MYE 95 and MYE 96 inoculants

Rodzaj preparatu i stężenie inuliny [%] Type of preparation and concentration of inulin [%]		MYE 95		MYE 96	
		K [Pa·s ⁿ]	n	K [Pa·s ⁿ]	n
SP	2	0,01 ^a ± 0,00	0,92 ^d ± 0,01	0,04 ^a ± 0,01	0,92 ^d ± 0,05
	3	0,01 ^a ± 0,00	0,97 ^d ± 0,01	0,04 ^a ± 0,01	0,63 ^c ± 0,04
	4	0,02 ^a ± 0,00	0,75 ^{cd} ± 0,18	0,05 ^a ± 0,00	0,31 ^{ab} ± 0,04
SZ	2	0,01 ^a ± 0,00	0,86 ^{cd} ± 0,25	0,01 ^a ± 0,00	0,81 ^{cd} ± 0,01
	3	0,01 ^a ± 0,00	0,83 ^{cd} ± 0,02	0,01 ^a ± 0,00	0,79 ^{cd} ± 0,02
	4	0,04 ^a ± 0,00	0,82 ^{cd} ± 0,06	0,02 ^a ± 0,00	0,80 ^{cd} ± 0,03
WPC35	2	7,90 ^b ± 0,90	0,14 ^{ab} ± 0,03	8,23 ^b ± 0,23	0,19 ^{ab} ± 0,03
	3	8,52 ^{bc} ± 0,30	0,13 ^{ab} ± 0,01	9,42 ^{cd} ± 0,77	0,18 ^{ab} ± 0,07
	4	10,5 ^c ± 0,30	0,09 ^a ± 0,03	10,2 ^{de} ± 0,90	0,13 ^{ab} ± 0,03
WPC80	2	0,38 ^a ± 0,11	0,36 ^b ± 0,09	0,12 ^a ± 0,05	0,34 ^b ± 0,06
	3	0,31 ^a ± 0,01	0,27 ^{ab} ± 0,02	0,27 ^a ± 0,06	0,32 ^{ab} ± 0,05
	4	0,30 ^a ± 0,01	0,27 ^{ab} ± 0,03	0,37 ^a ± 0,02	0,27 ^{ab} ± 0,06

Objaśnienia / Explanatory notes:

a - d – wartości średnie oznaczone różnymi literami różną się statystycznie istotnie ($p < 0,05$) / mean values denoted by different letters differ statistically significantly ($p < 0,05$). Pozostałe objaśnienia jak pod tab. 1. / Other explanatory notes as in Tab. 1.

Glibowski i Bochyńska [6] badali wpływ dodatku inuliny na właściwości reologiczne roztworów izolatu białek serwatkowych (WPI). Na podstawie otrzymanych

wyników stwierdzili, że zarówno zwiększenie stężenia dodawanej inuliny, jak i stężenia WPI, powodowały wzrost wartości naprężenia ścinającego, a przy dodatku inuliny na poziomie 15 % powstawały żele o słabej konsystencji. Poprawę właściwości reologicznych roztworów tłumaczono oddziaływaniami pomiędzy inuliną a białkami serwatkowymi, zaś istotnym czynnikiem odpowiedzialnym za wzrost lepkości badanych mieszanin była zawartość białek serwatkowych. Podobne wyniki uzyskano w badaniach dodatku inuliny do jogurtów otrzymywanych metodą termostatową. Zwiększenie dodatku inuliny powodowało wzrost lepkości pozornej otrzymanych jogurtów oraz ograniczało wielkość synerezy [10].

Wnioski

1. Napoje serwatkowe fermentowane otrzymane z WPC 35 charakteryzowały się najwyższymi wartościami parametrów reologicznych spośród wszystkich próbek, zarówno w przypadku napojów bez dodatków, jak i z dodatkiem sacharozy i inuliny.
2. Dodatek sacharozy wpływał na poprawę konsystencji większości napojów fermentowanych.
3. Zastosowanie inuliny pogorszyło konsystencję napojów, miały one mniejszą lepkość od napojów z dodatkiem samej sacharozy. Jednak wraz ze wzrostem stężenia inuliny wartości współczynnika konsystencji zwiększały się.
4. Przez odpowiednie połączenie preparatów białek serwatkowych z inuliną możliwe jest otrzymanie napojów o odpowiednich właściwościach jakościowych i funkcjonalnych.

Literatura

- [1] Bury D., Jelen P., Kimura K.: Whey protein concentrate as a nutrient supplement for lactic acid bacteria. *Int. Dairy J.*, 1998, **8** (2), 149-151.
- [2] Davis J.P., Foegeding E.A.: Foaming and interfacial properties of polymerized whey protein isolate. *J. Food Sci.*, 2004, **69** (5), 404-410.
- [3] Deep G., Hassan A.N., Metzger L.: Exopolysaccharides modify functional properties of whey protein concentrate. *J Dairy Sci.* 2012, **95** (11), 6332-6338.
- [4] Dimitreli G., Gregoriou E.A., Kalantzidis G., Antoniou K.D.: Rheological properties of kefir as affected by heat treatment and whey protein addition. *J. Textures Stud.*, 2013, **6** (44), 418-423.
- [5] Gentès M.C., St-Gelais D., Turgeon S.L.: Exopolysaccharide-milk protein interactions in a dairy model system simulating yoghurt conditions. *Dairy Sci. Technol.*, 2013, **93** (3), 255-271.
- [6] Glibowski P., Bochyńska R.: Wpływ inuliny na właściwości reologiczne roztworów białek serwatkowych. *Acta Agrophysica*, 2006, **8** (2), 337-345.
- [7] Gramza-Michałowska A., Górecka D.: Wykorzystanie inuliny jako dodatku funkcjonalnego w technologii produkcji potraw. *Bromat. Chem. Toksykol.*, 2009, XLII, **3**, 324-328.
- [8] Koziół, J., Gustaw, W.: Kazeinomakropeptyd – właściwości technologiczne i żywieniowe. *Przem. Spoż.*, 2011, **4**, 34-36.

- [9] Kozioł J., Skrzypczak K., Gustaw W., Waśko A.: Wpływ preparatów białek mleka na wzrost bakterii z rodzaju *Bifidobacterium*. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2013, **3 (88)**, 83-98.
- [10] Nastaj M., Gustaw W.: Wpływ wybranych prebiotyków na właściwości reologiczne jogurtu stałego. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2008, **5 (60)**, 217-225.
- [11] Nastaj M., Sołowiej B., Gustaw W.: Właściwości fizykochemiczne bez wysokobiałkowych otrzymanych z różnych preparatów białek serwatkowych. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2014, **2 (93)**, 33-47.
- [12] Pescuma M., Hébert E.M., Mozzi F., Font de Valdez G.: Functional fermented whey-based beverage using lactic acid bacteria. *Int. J. Food Microbiol.*, 2010, **141 (1-2)**, 73-81.
- [13] Pescuma M., Hébert E.M., Mozzi F., Font de Valdez G.: Whey fermentation by thermophilic lactic acid bacteria: Evolution of carbohydrates and protein content. *Food Microbiology* 2008, **25**, 442-451.
- [14] Ruas-Madiedo P., Hugenholtz J., Zoon P.: An overview of the functionality of exopolysaccharides produced by lactic acid bacteria. *Int. Dairy J.*, 2002, **12**, 163-171.
- [15] Sodini I., Montella J., Tong P.S.: Physical properties of yogurt fortified with various commercial whey protein concentrates. *J. Sci. Food Agric.*, 2005, **5 (85)**, 852-859.
- [16] Sołowiej B., Mleko S., Gustaw W., Udeh K.: Effect of whey protein concentrates on texture, meltability and microstructure of acid casein processed cheese analogs. *Milchwissenschaft*, 2010, **65 (2)**, 169-173.
- [17] Welman A.D., Maddox I.S.: Exopolysaccharides from lactic acid bacteria: Perspectives and challenges. *Trends in Biotechnology*, 2003, **21 (6)**, 269-274.
- [18] Yang T., Wu K., Wang F., Liang X., Liu Q., Li G., Li Q.: Effect of exopolysaccharides from lactic acid bacteria on the texture and microstructure of buffalo yoghurt. *Int. Dairy J.*, 2014, **34**, 252-256.
- [19] Yee K.W.K., Wiley D.E., Bao J.: Whey protein concentrate production by continuous ultrafiltration: Operability under constant operating conditions. *J. Membrane Sci.*, 2007, **290**, 125-137.

RHEOLOGICAL PROPERTIES OF MODEL FERMENTED BEVERAGES PRODUCED FROM SELECTED WHEY PROTEIN PREPARATIONS WITH INULIN ADDED

S u m m a r y

The objective of the research study was to obtain and determine the rheological properties of model fermented beverages produced from selected whey protein preparations with 7 % saccharose and inulin added in the amounts of 2, 3 and 4 %. As starter cultures were used two lactic acid bacteria capable of synthesizing exopolysaccharides. With the use of a Haake RS300 dynamic rheometer, flow curves were determined, and, upon the analysis thereof, there were computed a consistency index (K) and a flow behaviour index (n) of the samples studied. Along with the increasing concentration of whey powder (SP), whey with reduced lactose (SZZL), and whey protein concentrate (WPC 65), the value of the consistency index decreased, but it increased at higher concentration levels of whey protein concentrate (WPC 35) and whey protein isolate (WPI). Of all the samples analyzed, the products fermented on the basis of WPC 35 were characterized by the highest K value. The adding of saccharose and inulin caused the consistency of the beverages to improve. The flow behaviour index values were less than one for all the samples studied and this fact reflected their pseudo-plastic character. The lowest, similar values of consistency index were reported in the case of the samples made on the basis of whey powder (SP) and demineralised whey (SZ) with saccharose and inulin added at various concentration rates. However, the samples made on the basis of WP 3 with added sucrose and 4 % of inulin were characterized by the highest values of rheological properties. In the latter case, the consistency index values were 10.5 Pa·sⁿ (MYE 95) and 10.2 Pa·sⁿ (MYE 96).

Key words: fermented milk beverages, whey protein preparations, inulin, rheology ☒

KRZYSZTOF SURÓWKA, MAGDALENA RZEPKA, IRENEUSZ MACIEJASZEK,
IWONA TESAROWICZ, AGNIESZKA ZAWIŚLAK, JOANNA BANAŚ

JAKOŚĆ I BEZPIECZEŃSTWO SERKÓW WĘDZONYCH WYTWARZANYCH W REGIONIE PODHAŁA

Streszczenie

Oscypek jest jednym z najlepiej rozpoznawalnych produktów regionalnych. Wraz z innymi wytwarzanymi na Podhalu produktami mleczarskimi z mleka owczego stanowi o specyfice tego regionu. Z uwagi na ograniczoną podaż mleka owczego i jego brak w okresie zimowym wielu gazdów zastępuje go mlekiem krowim. Na miejscowym rynku znajdują się zatem różnego rodzaju serki podobne do oscypków, czyli *scypki*, *łoscypki* czy *golki*. Celem pracy była charakterystyka wybranych cech jakościowych serków dostępnych w sprzedaży bezpośredniej w regionie Podhala oraz odniesienie tej charakterystyki do właściwości klasycznego oscypka, ponadto określenie, w jakim stopniu opinia o jakości oscypków może być kształtowana przez podobne do nich serki z mleka krowiego. Oprócz oceny sensorycznej przeprowadzono charakterystykę chemiczną i mikrobiologiczną. Przeanalizowano frakcje białkowe serków z wykorzystaniem chromatografii i elektroforezy oraz określono w nich zawartość amin biogennych.

Badane produkty różniły się od klasycznego oscypka, ale także wśród nich występowało duże zróżnicowanie w zakresie składu chemicznego i cech jakościowych. Może to być przyczyną braku możliwości odróżnienia prawdziwego oscypka od niektórych innych podobnych mu wyrobów wędzonych z mleka krowiego przez przeciętnego konsumenta. W opisywanych serkach poziom amin biogennych był na ogół zbliżony do dostępnych w handlu serów podpuszczkowych, ale obecność w nich bakterii z rodziny *Enterobacteriaceae* świadczyła o braku higieny produkcji.

Słowa kluczowe: oscypek, wędzone serki regionalne, bezpieczeństwo żywności, tekstura, frakcje białkowe, aminy biogenne

Wprowadzenie

Problematyka regionalnych i tradycyjnych produktów spożywczych dotyczy głównie zagadnień identyfikacji, oznaczania, rejestracji, promocji czy też korzyści

Prof. dr hab. K. Surówka, dr inż. M. Rzepka, dr inż. I. Maciejaszek, dr I. Tesarowicz, dr inż. A. Zawiaślak, dr J. Banaś, Katedra Chłodnictwa i Koncentratów Spożywczych, Wydz. Technologii Żywności, Uniwersytet Rolniczy w Krakowie, ul. Balicka 122, 30-149 Kraków. Kontakt: rtsurowk@cyf-kr.edu.pl

finansowych dla gospodarki regionu, natomiast w mniejszym stopniu rozważa się kwestie związane z jakością i bezpieczeństwem tych wyrobów. Wbrew powszechnie panującym opiniom w wyrobach takich możliwe jest występowanie licznych wad jakościowych, a nawet zagrożeń dla zdrowia konsumentów. W warunkach ich wytwarzania często trudniejsze jest spełnienie wymogów higienicznych i zachowanie właściwych parametrów technologicznych niż przy zastosowaniu nowoczesnych technologii [10]. Jednocześnie pojawiają się opinie, że dostosowanie produkcji takich wyrobów do wszystkich wymagań prawa żywnościowego może mieć ujemny wpływ na ich lokalny, specyficzny charakter [8]. Dlatego w ramach polityki rolnej Unii Europejskiej podjęto działania, których efektem jest ochrona pochodzenia i nazw produktów spożywczych w celu zagwarantowania ich jakości i oryginalnego charakteru oraz nadania im ochrony prawnej. W naszym kraju jednym z najlepiej rozpoznawalnych produktów regionalnych jest oscypek [9]. Wraz z innymi wytwarzanymi na Podhalu produktami mleczarskimi z mleka owczego stanowi on o specyfice tego regionu. Z uwagi jednak na ograniczoną podaż tego mleka i jego brak w okresie zimowym wielu gazdów zastępuje go mlekiem krowim. Powszechnie spotykane są zatem różnego rodzaju serki nazywane *scypkami*, *łoscypkami* czy *gołkami*, które przez przeciętnego konsumenta często uważane są za tradycyjne podhalańskie oscypki. Produkty te wytwarzane są wprawdzie na Podhalu, lecz regulacje unijne ich nie dotyczą. Gazdowie zaś zmieniają receptury i upraszczają tradycyjną technologię, czego efektem jest wprawdzie obniżenie kosztów produkcji, ale i nieokreślona ich jakość, co może prowadzić do zagrożenia zdrowia konsumentów.

Celem pracy była charakterystyka wybranych cech jakościowych wędzonych serków wytwarzanych na Podhalu przez lokalnych gospodarzy, dostępnych w sprzedaży bezpośredniej przez cały rok oraz odniesienie tej charakterystyki do właściwości typowego oryginalnego oscypka, a ponadto określenie, w jakim stopniu opinia o jakości oscypków może być kształtowana przez podobne do nich serki z mleka krowiego.

Materiał i metody badań

Przedmiotem badań było 20 próbek serków wędzonych z mleka krowiego wytwarzanych na Podhalu przez różnych lokalnych producentów. Jako materiał odniesienia zastosowano typowy oscypek owczo-krowi – produkt regionalny wytworzony w baczówce na obrzeżach Tatrzańskiego Parku Narodowego i spełniający wszystkie parametry określone we wniosku o rejestrację Chronionej Nazwy Pochodzenia (ChNP). Bezpośrednio po wytworzeniu serki (4 ÷ 6 sztuk z każdej próby) przechowywano w temp. 10 ± 1 °C do 2 tygodni, a przed ich analizowaniem doprowadzano do temp 20 ± 1 °C, część rozdrabniano i mieszano w celu uzyskania prób reprezentatywnych.

Podstawowy skład chemiczny, kwasowość czynną i miareczkową oraz zawartość NaCl oznaczano zgodnie ze standardowymi procedurami [2]. Stopień zjełczenia tłuszczu

czów określano testem TBA [18]. Przeprowadzono również analizę sensoryczną uwzględniającą zapach, smak, konsystencję oraz wygląd ogólny i barwę [29].

Analizę frakcji białkowych wykonywano metodą stałoprądowej elektroforezy SDS-PAGE na żelu 12,5-procentowym zgodnie z procedurą Laemmliego [11] przy użyciu zestawu Hoefer Mighty Small SE 260 połączonego z jednostką zasilającą 301 EPS (Amersham Pharmacia Biotech, Uppsala, Szwecja). Przygotowanie próbek do badań polegało na homogenizacji z wodą dejonizowaną (1 : 20), a następnie rozcieńczeniu homogenatu w stosunku 1 : 1 (v/v) roztworem denaturującym (bufor Tris-Cl 0,125 mol/l o pH 6,8, 4 % – SDS, 20 % – gliceryna, 2 % – 2-merkaptanol, 0,02 % – błękit bromofenolowy) i 90-sekundowym ogrzewaniu we wrzącej łaźni wodnej oraz odwirowaniu ($3000 \times g$, 5 min). Otrzymane elektroforegramy analizowano przy użyciu oprogramowania Image Master TotalLab (Amersham Pharmacia Biotech, Uppsala, Szwecja).

Stosunki ilościowe wolnych aminokwasów, peptydów i polipeptydów określano metodą wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC). Próbki zmieszane w stosunku 1 : 10 z wodą destylowaną homogenizowano, wirowano ($3000 \times g$, 10 min), a następnie rozcieńczano w stosunku 1 : 1 (v/v) 0,1-procentowym kwasem trifluorooctowym (TFA). Po ponownym wirowaniu ($3000 \times g$, 10 min) supernatant filtrowano przez membranowy filtr strzykawkowy MilleX-LCR13 0,5 μm (Millipore) i 50 μl filtratu wstrzykiwano na szczyt kolumny chromatograficznej. Stosowano chromatograf LaChrom (Merck-Hitachi, Darmstadt, Niemcy) składający się z interfejsu (Model D-7000), pompy gradientowej (L-7000), termostatu (L-7350), autosamplera (L-7250) oraz detektora diodowego (L-7450). Używano kolumny WP 300 RP-18 LiChroCART 250-4 (Merck, Darmstadt, Niemcy) pracującej w temp. 30 °C. Eluent A stanowił 0,1-procentowy roztwór TFA w wodzie, a eluent B – 0,07-procentowy roztwór TFA w wodzie i acetonitrylu (100 : 900). Czasowa zmiana gradientu przebiegała następująco: 100 % A przez 10 min i 100 $\rightarrow$ 34 % A przez 105 min. Detekcję prowadzono przy $\lambda = 220$ nm. Poszczególne frakcje aminokwasowe, peptydowe i polipeptydowe identyfikowano na podstawie wzorców i danych literaturowych [6]. Większość wolnych aminokwasów i innych substancji niskocząsteczkowych była eluowana w ciągu $2,7 \div 8,0$ min, peptydów (< 3000 Da) – w ciągu $8 \div 85$ min, natomiast polipeptydów (> 3000 Da) – po 85 min. Czasy retencji tyrozyny, fenyloalaniny i tryptofanu wynosiły odpowiednio [min]: 9,8, 18,3 i 28,3.

Oznaczanie amin biogennych prowadzono metodą HPLC. Próbki sera homogenizowano z 6-procentowym kwasem trichlorooctowym (TCA) (1 : 4), a następnie wirowano ($3000 \times g$, 15 min), supernatant sączone i pobierano do derywatyzacji, która polegała na przekształceniu w środowisku zasadowym amin biogennych znajdujących się w próbce w N-benzamidy zgodnie z reakcją Schottena-Baumann, według procedury opisaną przez Özoğul i wsp. [17]. Rozdziały prowadzono przy użyciu kolumny

ACE 3 C18, 150 × 4,6 w temp. 30 °C z detekcją przy $\lambda = 254$ nm, posługując się chromatografem Merck-Hitachi LaChrom (Darmstadt, Niemcy) w konfiguracji opisanej powyżej.

Ogólną liczbę bakterii mezofilnych oznaczano na podłożu PCA. Próbkę inkubowano w temp. 30 °C przez 72 h [21]. Liczbę mezofilnych bakterii fermentacji mlekowej określano metodą płytkową na podłożu MRS po 72-godzinnej inkubacji w 30 °C [25]. Drobnoustroje psychrotrofowe oznaczano na podłożu PCA metodą płytkową na podstawie liczenia kolonii, które wyrosły w temp. 7 °C po 10 dniach [26]. Drożdże i pleśnie izolowano po posiewach na podłożu agarowym z chloramfenikolem i 5 dniach inkubacji w temp. 25 °C [22]. Bakterie z rodziny *Enterobacteriaceae* oznaczano metodą płytkową na podłożu VRBG po inkubacji w temp. 37 °C trwającej 24 h [20]. Obecność *Listeria monocytogenes* i *Salmonella* badano według procedur zawartych w odpowiednich normach [23, 24]. Odczynniki i podłoża do badań mikrobiologicznych pochodziły z firmy BIOCORP Polska Sp. z o.o.

Analizy wykonano w trzech powtórzeniach. Obliczenia statystyczne uzyskanych danych, obejmujące podstawowe statystyki opisowe i korelacje, przeprowadzono przy użyciu programu CSS. Statistica wersja 9,1, Statsoft, Inc.

Wyniki i dyskusja

Serki wędzone pochodzące z regionu Podhala charakteryzowały się zróżnicowanym kształtem, wymiarami i składem (tab. 1). Były one walcowate z zaokrąglonymi końcami, a także jednostronnie lub dwustronnie stożkowe, podobnie jak tradycyjne oscypki. Ich cechą charakterystyczną były zdobienia powierzchni bocznej będące efektem stosowania form. Typowy oscypek powinien mieć masę w zakresie od 600 do 800 g i długość 17 ÷ 23 cm [4]. Średnie wartości tych parametrów w przypadku serków były znacznie mniejsze, a jedynie 4 spośród badanych próbek zawierały się w powyższych zakresach. Również 1/3 z nich nie spełniała standardów sera gazdowskiego (długość 6 ÷ 15 cm, masa 300 ÷ 600 g) [12]. W badaniach własnych stwierdzono korelację pomiędzy masą a długością i średnicą serków ($r = 0,87$ i $r = 0,83$, $p < 0,05$). Ich cechą charakterystyczną była większa niż w oscypkach zawartość wody, a mniejsza – białka i tłuszczu, chociaż zawartość tego ostatniego w suchej masie próbek była podobna i wynosiła ok. 49 %. Tłuszcz ten nie wykazywał oznak zjełczenia, co stwierdzono na podstawie testu z kwasem 2-tiobarbiturowym (TBA). Znamienne było występowanie dużego zróżnicowania w podstawowym składzie chemicznym poszczególnych próbek, a różnice pomiędzy wartościami maksymalnymi i minimalnymi przekraczały 20 % wartości średnich. Stwierdzono istotne korelacje pomiędzy zawartością wody oraz białka i tłuszczu ($r = -0,69$ i $r = -0,78$, $p < 0,05$), a także chlorku sodu i związków mineralnych w postaci popiołu ($r = 0,92$, $p < 0,05$).

Wszolek i Bonczar badały wskaźniki jakościowe oscypków pochodzących z różnych bacołek i stwierdziły, że produkty te zawierały średnio ok. 2,5 % soli [29]. W badaniach własnych prawie wszystkie serki zawierały średnio o ok. 0,6 % NaCl więcej od wyników uzyskanych przez wymienione autorki (tab. 1). Zaobserwowano jednocześnie znaczne różnice pod względem zawartości soli pomiędzy badanymi produktami, wyrażające się współczynnikiem zmienności wynoszącym 20 %. Nadmierna zawartość soli, jak również zróżnicowane wartości pH oraz kwasowości istotnie wpływały na smak serków. W profilu smakowym dominowały nuty słona oraz w większości przypadków – kwaśna. W ośmiu próbkach ta ostatnia cecha była tak nasilona, że mogła być przyczyną obniżenia akceptacji konsumenckiej, a dodatkowo w przypadku dwóch odnotowano zdecydowanie niedopuszczalny gorzki smak. Serki te charakteryzowały się też drażniącym zapachem. W większości pozostałych próbek zapach był do zaakceptowania, ale tylko w przypadku pięciu mógł być uznany za atrakcyjny. Jak wykazali Majcher i wsp. [14] na aromat wędzonego oscypka składają się 54 lotne związki chemiczne pochodzące z mleka, powstające w wyniku procesów biochemicznych i będące efektem wędzenia. Inne sery wędzone mają tych związków mniej. Wszystkie analizowane serki charakteryzowały się barwą żółtą, ale z bardzo zróżnicowanymi odcieniami od białozółtego do pomarańczowobrazowego. Trzy spośród nich były zabrudzone z zewnątrz, co świadczy negatywnie o warunkach ich wytwarzania.

Tabela 1. Podstawowa fizyczna i chemiczna charakterystyka serków wędzonych z regionu Podhala oraz oscypka

Table 1. Basic physical and chemical profile of smoked cheeses from the Podhale region and of oscypek

Produkt Product		Długość Length [cm]	Średnica Diameter [cm]	Masa Weight [g]	Woda Water [%]	Białko Protein [%]	Tłuszcz Fat [%]	Popiół Ash [%]	NaCl	pH	Kwasowość Acidity [°SH]	TBA [mg MDA/kg]
Serki Cheeses	$\bar{x}$	12,3	6,55	395,9	43,90	23,87	27,81	4,82	3,11	5,35	56,8	0,86
	s/SD	3,17	1,09	134,7	3,26	1,94	2,96	0,42	0,62	0,43	28,7	0,36
	Min	10,0	5,0	273	38,10	21,16	23,80	4,34	2,34	4,81	12,7	0,25
	Max	21,0	8,5	729	48,22	27,34	32,77	5,19	4,23	6,16	109,3	1,27
Oscypek		22,0	9,0	750	31,2	30,1	33,6	5,6	3,17	5,16	89,3	0,58

Objaśnienia: / Explanatory notes:

$\bar{x}$ – wartość średnia / mean value; s – odchylenie standardowe / SD – standard deviation; n = 20

Białka i przemiany frakcji białkowych w decydującym stopniu wpływają na charakterystykę serów. Na elektroforegramach SDS-PAGE białek serków i oscypka stwierdzono obecność 14 frakcji, które bardzo nieznacznie różniły się masami cząsteczkowymi, ale ich względny udział wyrażony jako stosunek powierzchni pod danym pikiem do powierzchni pod wszystkimi był bardziej zróżnicowany (tab. 2).

Szczególnie dotyczyło to frakcji kazeinowych α -s-1, α -s-2 i β oraz β -laktoglobuliny, w mniejszym stopniu α -laktoalbuminy. Może to wynikać z indywidualnych różnic w technice wytwarzania serków i oscypka, ale znaczenie ma zapewne także niejednakowy pod względem ilościowym skład mleka krowiego i owczego [15]. Na etapie pozyskiwania mleka, jego przygotowywania do produkcji, a także podczas wytwarzania serów i późniejszego składowania zachodzą procesy proteolityczne, których efektem jest powstawanie peptydów i wolnych aminokwasów o istotnym znaczeniu dla

Tabela 2. Udział frakcji białkowych w serkach wędzonych z regionu Podhala i w oscypku

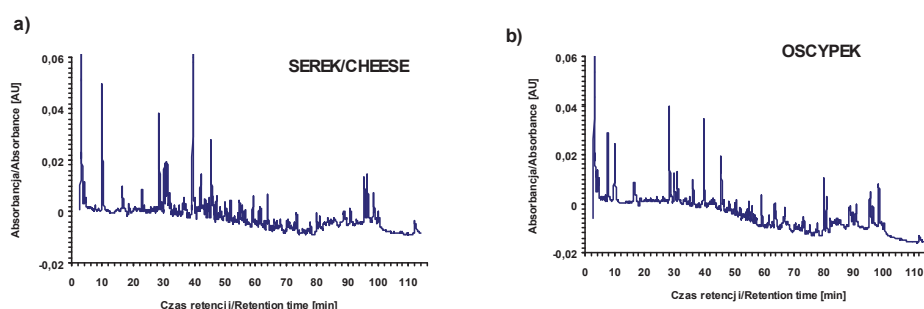
Table 2. Percent content of protein fractions in smoked cheeses from the Podhale region and in oscypek

Białko Protein	Serki wędzone / Smoked cheeses		Oscypek	
	Masa cząsteczkowa Molecular weight [kDa]	Udział frakcji białkowych Percent content of protein frac- tions [%]	Masa cząsteczkowa Molecular Weight $\times 10^3$ [Da]	Udział frakcji białkowych Percent content of protein fractions [%]
Laktoferyna Lactoferrin	73,5	0,34	78,1	0,19
α -s-2-kazeina α -s-2-casein	32,5	1,20	33,2	4,37
α -s-1-kazeina α -s-1-casein	31,4	21,13	32,1	28,9
β -kazeina β -casein	28,6	43,79	29,8	36,2
Pasmo niezidentyfikowane Unidentified band	24,8	2,30	26,4	3,35
κ -kazeina κ -casein	22,0	2,38	22,8	1,72
Pasmo niezidentyfikowane Unidentified band	20,9	2,19	21,1	1,41
γ -kazeina γ -casein	20,5	1,68	20,4	0,94
Pasmo niezidentyfikowane Unidentified band	20,2	1,30	20,2	0,35
β -laktoglobulina β -lactoglobulin	18,7	1,08	18,9	2,49
Pasmo niezidentyfikowane Unidentified band	15,1	9,39	15,9	11,18
α -laktoalbumina α -lactoalbumin	14,0	4,44	14,3	3,52
Pasmo niezidentyfikowane Unidentified band	13,4	5,49	13,6	3,25
Pasmo niezidentyfikowane Unidentified band	13,0	3,30	13,1	2,13

smaku. W celu ich scharakteryzowania przeprowadzono rozdziały metodą HPLC. Typowe chromatogramy substancji pochodzenia białkowego z serków i oscypka przedstawiono na rys. 1., a ich charakterystykę – w tab. 3. Najliczniejszą (liczba pików) i występującą w największej ilości (powierzchnia pod pikami) grupą związków były peptydy (m.c. $< 3 \times 10^3$ Da). Ich liczba w badanych serkach zawierała się w przedziale $41 \div 51$ i była wyraźnie większa niż w przypadku typowego oscypka. Powierzchnia na chromatogramach zajęta przez te piki również była większa w przypadku serków. W odróżnieniu od tego średnia liczba pików reprezentujących polipeptydy (m.c. $> 3 \times 10^3$ Da) w obu rodzajach sera okazała się jednakowa, a średnie powierzchnie były zbliżone do siebie, chociaż rozrzut w przypadku serków był znaczny (wsp. zmienności = 0,37). Z kolei względny udział wolnych aminokwasów oprócz tyrozyny i fenyloalaniny w oscypku był większy. Związki te, będące prekursorami amin biogennych, mogą występować w niektórych serach nawet na poziomie przekraczającym 5000 mg/kg s.m. [19]. W środowisku lekko kwaśnym, typowym dla serków podhalańskich, szczególnie łatwo mogą one ulegać enzymatycznej dekarboksylacji do amin biogennych [13]. Ogólnie można stwierdzić, że kształty chromatogramów wędzonych serków podhalańskich dość znacznie różniły się między sobą, szczególnie w zakresie odpowiadającym peptydom (< 3000 Da) i zawierały one więcej pików niż typowy oscypek. Ze względu na znaczną aktywność niskocząsteczkowych substancji pochodzenia białkowego w kształtowaniu cech sensorycznych ich zawartość i wzajemne relacje mogą mieć istotne znaczenie dla smaku badanych produktów.

Doceniając korzyści dla lokalnych społeczności wynikające z promowania typowej dla nich żywności, nie należy pomijać zagadnień związanych z bezpieczeństwem produktów. Priorytetem jest bezpieczeństwo mikrobiologiczne żywności, które w przypadku serów, głównie spożywanych z pominięciem obróbki termicznej, jest szczególnie ważne. Na podstawie analiz mikrobiologicznych (tab. 4) wykazano, że badane serki spełniają podstawowe wymagania prawne [31], gdyż nie występują w nich *Listeria monocytogenes* i *Salmonella*. W produkcie o najniższym stopniu zanieczyszczenia mikrobiologicznego stwierdzono ogółem $5,3 \cdot 10^7$ jtk/g, a maksymalna liczba bakterii w badanych serkach była stukrotnie wyższa. Są to wartości zbliżone do stwierdzonych przez Wszolek i Bonczar [30] w oscypkach. Znaczącą grupę drobnoustrojów w badanych serkach, jak i w oscypku, stanowiły bakterie kwasu mlekowego, których liczba korelowała z ogólną liczbą bakterii ($r = 0,63$, $p < 0,05$). W badanych produktach zaobserwowano o pięć rzędów mniejszą populację psychrotrofów. Na podobnym poziomie kształtowała się średnia liczba bakterii z rodziny *Enterobacteriaceae*. W tym przypadku wystąpiła jednak duża różnica (o cztery cykle logarytmiczne) pomiędzy produktem o największym i najmniejszym zanieczyszczeniu tymi bakteriami. Alegria i wsp. [1] wykazali, że zanieczyszczenie tym typem bakterii w oscypkach mieściło się w podobnym zakresie jak w niniejszej pracy. Inni autorzy [7] informują,

że w serach pasterskich wytwarzanych we włoskich Alpach zanieczyszczenie mikrobiologiczne bakteriami z grupy coli wynosi aż $7,0 \cdot 10^7$ jtk/g, a *Escherichia coli* do $1,7 \cdot 10^6$ jtk/g. Liczba drożdży w badanych serkach była bardzo niska w porównaniu z danymi uzyskanymi przez Wszolek i Bonczar [30], ale zawierały one wyraźnie więcej pleśni.



Rys. 1. Chromatogramy HPLC ekstraktów trifluorooctowych substancji pochodzenia białkowego z serków wędzonych z regionu Podhala i z oscypeków

Fig. 1. HPLC chromatograms of extracts of TFA soluble proteinaceous substances from smoked cheeses from Podhale region and from oscypek

Tabela 3. Charakterystyka chromatogramów HPLC ekstraktów substancji pochodzenia białkowego z serków wędzonych z regionu Podhala i z oscypeków

Table 3. Profile of HPLC chromatograms of extracts of proteinaceous substances from smoked cheeses from Podhale region and from oscypek

Produkt Product		Powierzchnia / Area [%]				Peptydy / Peptides (<3000 Da)		Polipeptydy Polypeptides (>3000 Da)	
		Aminokwasy Amino acids	Tyrozyna Tyrosine	Fenyl- alanina Phenyl- alanine	Tryptofan Tryptophan	Liczba pików Number of peaks	Powierzchnia względna Relative area [%]	Liczba pików Number of peaks	Powierzchnia względna Relative area [%]
Serk Cheeses	$\bar{X}$	10,3	11,3	1,0	5,6	45	56,1	8	15,7
	s/SD	4,4	7,0	1,0	2,7	3,2	7,4	1,4	5,8
	Min	7,9	6,0	0	1,9	41	50,8	6	9,1
	Max	21,4	25,2	3,1	9,4	51	63,1	9	22,0
Oscypek		18,3	5,9	0,6	7,3	34	50,9	8	17,0

Wprawdzie średnie zanieczyszczenie mikroflorą serków podhalańskich nie odbiegało znacząco od stwierdzonego w oscypku (tab. 4), jednak niepokój może budzić

duże zróżnicowanie liczby drobnoustrojów wśród badanych próbek i obecność na dość wysokim poziomie bakterii z rodziny *Enterobacteriaceae* w wielu z nich.

Tabela 4. Zanieczyszczenie mikrobiologiczne [jtk/g] wędzonych serków z regionu Podhala i oscypeka
Table 4. Microbial contamination [CFU/g] of smoked cheeses from Podhale region and of oscypek

Produkt Product		Ogólna liczba bakterii Total aerobic colony count	Bakterie kwasu mlekowego Lactic acid bacteria	Bakterie psychrotrofowe Psychrotrophic bacteria	<i>Enterobacteriaceae</i>	Drożdże Yeast	Pleśnie Moulds
Serki Cheeses	$\bar{x}$	$5,1 \cdot 10^8$	$1,7 \cdot 10^8$	$8,3 \cdot 10^3$	$2,0 \cdot 10^4$	$2,0 \cdot 10^3$	$4,2 \cdot 10^5$
	s/SD	$4,0 \cdot 10^8$	$1,8 \cdot 10^8$	$2,9 \cdot 10^3$	$2,3 \cdot 10^4$	$4,5 \cdot 10^3$	$6,4 \cdot 10^5$
	Min	$5,3 \cdot 10^7$	$1,6 \cdot 10^7$	$4,4 \cdot 10^2$	$4,1 \cdot 10^1$	0	$2,8 \cdot 10^3$
	Max	$1,2 \cdot 10^9$	$5,9 \cdot 10^8$	$3,7 \cdot 10^4$	$8,7 \cdot 10^5$	$1,4 \cdot 10^4$	$1,9 \cdot 10^6$
Oscypek		$1,8 \cdot 10^8$	$2,2 \cdot 10^7$	$5,0 \cdot 10^3$	$1,5 \cdot 10^3$	$1,4 \cdot 10^2$	$9,8 \cdot 10^4$

Niektóre gatunki bakterii, w tym *Enterobacteriaceae* i bakterie mlekowe, wykazują zdolność dekarboksylacji aminokwasów i oprócz innych czynników mogą powodować gromadzenie się w serach amin biogennych [13, 19]. W innych badaniach naukowych wykazano obecność tych związków w serach [13, 16, 27], a z uwagi na to, że są one substancjami o szkodliwym działaniu dla zdrowia człowieka w niniejszej pracy określono ich poziom w serkach podhalańskich (tab. 5). Spośród 8 oznaczanych amin w niektórych próbkach nie wykryto tryptaminy, fenyloalaniny i histaminy. Średni poziom tej ostatniej wynosił ok. 25 mg/kg, a w żadnym z serków jej zawartość nie przekraczała 50 mg/kg. Przy typowej porcji spożywanego serka, nieprzekraczającej zwykle 100 g, nie istnieje więc niebezpieczeństwa przekroczenia spożycia wraz z tym serem histaminy w ilości większej niż 50 mg/osobę/posiłek, która uznawana jest przez Europejski Urząd ds. Bezpieczeństwa Żywności (EFSA) za niemającą szkodliwego wpływu na zdrowych ludzi [5]. Jednakże wśród osób wykazujących nietolerancję histaminy nawet małe jej ilości mogą wywoływać poważne problemy zdrowotne. Jest to szczególnie niebezpieczne, jeśli histaminie towarzyszą inne aminy, a szczególnie putrescyna, kadaweryna i tyramina [3]. Taki przypadek dotyczy badanych serków. Średnie zawartości wyżej wymienionych amin są wyraźnie większe od pozostałych, a ponadto w niektórych produktach indywidualna zawartość amin była szczególnie duża. Pinho i wsp. [19] w tradycyjnym portugalskim serze Terrincho z mleka owczego stwierdzili wprawdzie małą zawartość histaminy, ale wykazali, że dominującymi aminami były putrescyna, kadaweryna i tyramina, których ilość wzrastała w miarę dojrzewania sera. EFSA [5] podaje, że dla osób leczonych inhibitorami monoaminooksydazy (MAOI) 3.

generacji zawartość tyraminy na poziomie 50 mg/kg może już mieć szkodliwy wpływ na zdrowie.

Tabela 5. Zawartość amin biogennych w serkach wędzonych z regionu Podhala i w oscypekach [mg/kg]
Table 5. Content of biogenic amines in smoked cheeses from Podhale region and in oscypek [mg/kg]

Produkt Product		Putrescyna Putrescine	Kadaweryna Cadaverine	Tyramina Tyramine	Tryptamina Tryptamine	Fenyletylo- amina Phenylethyl- amine	Histamina Histamine	Spermina Spermine	Spermidyna Spermidine
Serki Cheeses	$\bar{x}$	170	36,4	104	1,4	6,6	23,3	13,2	1,4
	s/SD	42,8	11,4	83	1,3	4,8	17,1	3,7	0,9
	Min	2	1,6	21	nd	nd	nd	6,4	0,6
	Max	298	78,0	402	4,4	16,1	49,3	17,2	3,4
Oscypek		42	12,2	49	1,2	2,7	2,7	4,2	2,8

nd – nie wykryto / not detected

Wszystkie badane serki podhalańskie zawierały ilości amin biogennych typowe dla tego rodzaju produktów. Średnia sumaryczna ich zawartość wyniosła 356,3 mg/kg, a sumy wartości minimalnych i maksymalnych były równe odpowiednio: 31,6 oraz 868,4 mg/kg. W dojrzewających serach z mleka owczego niepasteryzowanego pochodzących z Toskanii stwierdzono obecność amin biogennych na poziomie przekraczającym nawet 1000 mg/kg [28]. Warto także nadmienić, że rozmieszczenie amin biogennych w serach nie jest równomierne i więcej jest ich na ogół w części centralnej niż przy powierzchni [30].

Wnioski

1. Serki wędzone z mleka krowiego produkowane na Podhalu i dostępne w sprzedaży bezpośredniej charakteryzują się dużym zróżnicowaniem składu chemicznego i cech jakościowych. Chociaż liczba drobnoustrojów w tych produktach nie przekracza poziomu normatywnego, to jednak obecność bakterii z rodziny *Enterobacteriaceae* świadczy o braku higieny wytwarzania.
2. Frakcje białkowe podhalańskich serków wędzonych i typowego oscypka tylko nieznacznie różnią się masami cząsteczkowymi, ale ich proporcje są odmienne. Inna też, wyraźnie większa w serkach, jest liczba peptydów o m.cz. < 3000 Da.
3. Opisywane produkty nie stanowią zagrożenia dla zdrowych konsumentów ze względu na stwierdzoną obecność w nich amin biogennych, ale niektóre z nich mogą być niebezpieczne dla osób wykazujących nietolerancje tyraminy i histaminy lub przyjmujących określone grupy leków.

4. W powszechnej świadomości turystów odwiedzających Podhale wytwarzane tam serki wędzone często postrzegane są jako oscypki. Jak jednak wykazano w badaniach, serki te znacząco różnią się od oscypków, stąd opinia konsumentów o klasycznych oscypkach może być niekiedy zniekształcana przez te produkty.

Literatura

- [1] Alegria A., Szczesny P., Mayo B., Bardowski J., Kowalczyk M.: Biodiversity in oscypek, a traditional Polish cheese, determined by culture-dependent and -independent approaches. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2012, **78** (6), 1890-1899.
- [2] Association of Official Analytical Chemists (AOAC). *Official Methods of Analysis* (15th Ed.). Arlington, VA, 1990.
- [3] Chu C.H., Bjeldanes L.F.: Effect of diamines, polyamines and tuna fish extracts on the binding of histamine to mucin *in vitro*. *J. Food Sci.*, 1981, **47**, 79-88.
- [4] EC. Commission Regulation No 127/2008 of 13 February 2008 entering a designation in the register of protected designations of origin and protected geographical indications (Oscypek (PDO)) OJ L 40, 14.2.2008, p. 5.
- [5] EFSA. Panel on Biological Hazards (BIOHAZ). Scientific opinion on risk based control of biogenic amine formation in fermented foods. *EFSA J.*, 2011, **9**, 2393.
- [6] Fik M., Surówka K., Firek B.: Properties of refrigerated ground beef treated with potassium lactate and sodium diacetate. *J. Sci. Food Agric.*, 2008, **88**, 91-99.
- [7] Innocente N., D'Agostin P., Corradini C.: Presence of biogenic amines in cheese produced in the mountains. *Scienza e Tecnica Lattiero-Casearia*, 2001, **52** (5), 325-332.
- [8] Jordana J.: Traditional foods: Challenges facing the European food industry. *Food Res. Int.*, 2000, **33**, 147-152.
- [9] Kędzierska-Matysek M., Florek M., Skalecki P., Litwińczuk A., Chruścicki A.: A comparison of the physicochemical characteristics of the regional cheese Oscypek and the traditional cheese Gazdowski from the Polish Podhale. *Int. J. Dairy Technol.*, 2014, **67** (2), 283-289.
- [10] Kołożyn-Krajewska D.: Bezpieczeństwo zdrowotne produktów tradycyjnych. W: *Tradycyjne i regionalne technologie oraz produkty w żywieniu człowieka*. Red. Z.J. Dolatowski i D. Kołożyn-Krajewska. Wyd. Nauk. PTTŻ, Kraków 2008, ss. 59-72.
- [11] Laemmli U.K.: Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T₄. *Nature*, 1970, **227**, 680-685.
- [12] Lista Produktów Tradycyjnych. [online]. MRiRW. Dostęp w Internecie [24.09.2015]. <http://www.minrol.gov.pl/pol/Jakosc-zywnosci/Produkty-regionalne-i-tradycyjne/Lista-produktow-tradycyjnych/woj.-malopolskie/Ser-gazdowski-golka-pucok-kara>
- [13] Loizzo M.R., Menichini F., Picci N., Puoci F., Spizzirri U.G., Restuccia D.: Technological aspects and analytical determination of biogenic amines in cheese. *Trends Food Sci. Technol.*, 2013, **30**, 38-55.
- [14] Majcher M.A., Goderska K., Pikul J., Jeleń H.H.: Changes in volatile, sensory and microbial profiles during preparation of smoked ewe cheese. *J. Sci. Food Agric.*, 2011, **91** (8), 1416-1423.
- [15] Martín T.M., Caballer B.H., Lizana F.M., Mendiola R.G., Montaña P.P., Cano M.S.: Selective allergy to sheep's and goat's milk proteins. *Allergol. Immunopathol.*, 2004, **32** (1), 39-42.
- [16] Novella-Rodríguez S., Veciana-Nogués M.T., Izquierdo-Pulido M., Vidal-Carou M.C.: Distribution of biogenic amines and polyamines in cheese. *J. Food Sci.* 2003, **68** (3), 750-755.

- [17] Özoğul F., Taylor K.D.A., Quantick P., Özoğul J.: Biogenic amines formation in Atlantic herring (*Clupea harengus*) stored under modified atmosphere packaging using a rapid HPLC method. *Int. J. Food Sci. Technol.*, 2002, **37**, 515-522.
- [18] Pikul J., Leszczyński D.E., Kummerow F.A.: Evaluation of three modified TBA methods for measuring lipid oxidation in chicken meat. *J. Agric. Food Chem.*, 1989, **37** (5), 1309-1313.
- [19] Pinho O., Pintado A.I.E., Gomes A.M.P., Pintado M.M.E., Malcata F.X., Ferreira I.M.P.: Interrelationships among microbiological, physicochemical, and biochemical properties of Terrincho cheese, with emphasis on biogenic amines. *J. Food Prot.*, 2004, **67** (12), 2779-2785.
- [20] PN-A-04023:2001. Mikrobiologia żywności. Wykrywanie i identyfikacja drobnoustrojów z rodziny *Enterobacteriaceae*.
- [21] PN-EN ISO 4833-1:2013-12. Mikrobiologia łańcucha żywnościowego. Horyzontalna metoda oznaczania liczby drobnoustrojów. Część 1: Oznaczanie liczby metodą posiewu zalewowego w temperaturze 30 stopni C.
- [22] PN-ISO 6611:2007. Mleko i przetwory mleczne. Oznaczanie liczby jednostek tworzących kolonie drożdży i/lub pleśni. Metoda płytkowa w temperaturze 25 stopni C.
- [23] PN-EN ISO 6579:2003/A1:2007. Mikrobiologia żywności i pasz. Horyzontalna metoda wykrywania *Salmonella* spp.
- [24] PN-EN ISO 11290-2:2000/A1:2005 Mikrobiologia żywności i pasz. Horyzontalna metoda wykrywania obecności i oznaczania liczby *Listeria monocytogenes*. Metoda oznaczania liczby.
- [25] PN-ISO 15214:2002. Mikrobiologia żywności i pasz. Horyzontalna metoda oznaczania liczby mezofilnych bakterii fermentacji mlekowej. Metoda płytkowa w temperaturze 30 stopni C.
- [26] PN-ISO 17410:2004. Mikrobiologia żywności i pasz. Horyzontalna metoda oznaczania liczby drobnoustrojów psychrotrofowych.
- [27] Reps A., Wiśniewska K., Grześkiewicz A., Jankowska A.: Aminy biogenne w serach dojrzewających. *Przem. Spoż.*, 2011, **65** (10), 38-42.
- [28] Torracca B., Nuvoloni R., Ducci M., Bacci C., Pedonese F.: Biogenic amines content of four types of „pecorino” cheese manufactured in Tuscany. *Int. J. Food Prop.*, 2015, **18** (5), 999-1005.
- [29] Wszolek M., Bonczar G.: Właściwości oszczypków z mleka owczego, krowiego i mieszaniny mleka krowio-owczego. *Przem. Spoż.*, 2002, **56** (9), 14-16, 18-19.
- [30] Wszolek M., Bonczar G.: Jakość mikrobiologiczna oscypków z mleka owczego, owczo-krowiego i krowiego. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2003, **3** (36) Supl., 103-117.
- [31] Załącznik do rozporządzenia Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 18 maja 2005 r. nt. „Wymagania mikrobiologiczne dla mleka pitnego i produktów mlecznych”. *Dz. U.* 2005 r. Nr 96, poz. 819.

QUALITY AND SAFETY OF SMOKED CHEESES MANUFACTURED IN THE PODHALE REGION

S u m m a r y

Oscypek cheese is one of the most recognizable regional products in Poland. Together with other ewe's milk products manufactured in the Podhale region, it determines the specific character of this region. Because of limited supply of ewe's milk and the lack thereof during the winter season, many farmers replaces it with cow's milk. Thus, various types of cheeses similar to oscypek, such as scypek, łoscypek, gołka etc., are found in the local market. The objective of the research study was to characterize some selected quality features of cheeses available via direct sales in the region of Podhale, to compare them with the features of traditional oscypek, and to determine how much the cheeses from cow's milk, which are similar to oscypek, impact the opinion on the quality of oscypek. Further to sensory evaluation, a basic

chemical and microbiological profile was performed. The protein fractions of cheeses were analyzed using chromatography and electrophoresis, and the content of biogenic amines was determined therein.

The products tested differed from the traditional oscypek cheeses, but there was also a great variability among them as regards their chemical composition and quality features. This can be a reason why it is not possible for a common consumer to distinguish a real traditional oscypek from some other similar smoked products produced from cow's milk. In the cheeses described, the level of biogenic amines was, generally, similar to the level thereof found in the commercially available rennet cheeses; however, the presence of *Enterobacteriaceae* microflora therein proved poor hygiene during production.

Key words: oscypek, smoked regional cheeses, food safety, texture, protein fractions, biogenic amines ☒

KATARZYNA PARADOWSKA, MARTA CZERNIEJEWSKA,
AGNIESZKA ZIELIŃSKA, JOANNA J. SAJKOWSKA-KOZIELEWICZ

AKTYWNOŚĆ PRZECIWUTLENIAJĄCA EKSTRAKTÓW Z SUSZONYCH OWOCÓW GOJI

Streszczenie

Owoce Goji (kolcowoju) są produktem spożywczym zawierającym m.in. polifenole, aminokwasy, polisacharydy, karotenoidy, nienasycone kwasy tłuszczowe. Celem pracy było określenie właściwości przeciwutleniających ekstraktów etanolowych i wodnych otrzymanych z liofilizowanych jagód Goji oraz oznaczenie zawartości grup związków odpowiedzialnych za te właściwości. Surowce do badań pochodziły z Chin i Uzbekistanu. Oznaczono całkowitą zawartość polifenoli, flawonoidów, witaminy C, karotenoidów i cukrów. Właściwości przeciwutleniające określono metodami FRAP (*Ferric reducing ability*), DDPH[•] (rodnik 1,1-difenylo-2-pikrylohydrazylu) i ORAC (*Oxygen-radical absorbance capacity*). Wszystkie próbki charakteryzowały się dużą zawartością kwasu askorbinowego ($2 \div 3$ mg/g) i karotenoidów ($1 \div 2,6$ mg/g). Zawartość polifenoli (ok. 11 mg GAE/g) i flawonoidów (ok. 2,5 mg CE/g) była duża, choć w ekstraktach wodnych oznaczono mniej tych związków niż w ekstraktach etanolowych. Wszystkie próbki charakteryzowały się wysoką aktywnością przeciwutleniającą. Wyniki pomiarów metodą ORAC wykazały największe zróżnicowanie ekstraktów. W przypadku ekstraktów etanolowych oznaczono ok. 1 mmol Troloxu/g, a wodnych – $0,03 \div 0,1$ mmol Troloxu/g. Wyniki testu DPPH również były niższe w przypadku ekstraktów wodnych. Analiza metodą FRAP nie wykazała dużych różnic między próbkami. Wyniki badań wskazują, że owoce Goji mogą stanowić uzupełnienie diety w związki bioaktywne o działaniu przeciwutleniającym, mające wpływ na prawidłowe funkcjonowanie organizmu.

Słowa kluczowe: jagody Goji, *Lycium barbarum*, kwas askorbinowy, przeciwutleniacze, flawonoidy

Wprowadzenie

„Owoc długowieczności” – tak w tradycyjnej medycynie chińskiej i tybetańskiej określane są jagody Goji. Pochodzą one z dwóch blisko spokrewnionych gatunków

Dr n. farm. K. Paradowska, mgr farm. M. Czerniejewska, dr n. farm. A. Zielińska, mgr farm. J. J. Sajkowska-Kozielewicz, Zakład Chemii Fizycznej, Wydz. Farmaceutyczny z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej, Warszawski Uniwersytet Medyczny, ul. Banacha 1, 02-097 Warszawa.
Kontakt: katarzyna.paradowska@wum.edu.pl

roślin z rodziny *Solanaceae*: *Lycium barbarum* (kolcowój pospolity) i *Lycium chinense* (kolcowój chiński) [2]. Ojczyzną *L. barbarum* i *L. chinense* jest Azja – północno-wschodnie Chiny aż do Tybetu. Rośliny te należą do rodzaju *Lycium* L. Gatunki *Solanaceae*, z których pochodzą jagody Goji, są odporne na niskie temperatury i wytrzymują dzienne jej wahania nawet do 20 °C [11].

Do Europy owoce Goji wprowadzono stosunkowo niedawno, szybko też zwróciły uwagę naukowców i konsumentów, szczególnie ze względu na doniesienia o ich wyjątkowych właściwościach prozdrowotnych, zgodnie z tendencją do zachowania zdrowego stylu życia i właściwego odżywiania. Wielokierunkowe działanie owoców Goji jest związane nie tylko z obecnością witamin, ale także wielu innych związków bioaktywnych. Do najważniejszych należą: polisacharydy [2, 5, 27], nienasycone kwasy tłuszczowe, aminokwasy (głównie izoleucyna i tryptofan), karotenoidy (β -karoten, zeaksantyna, luteina, likopen) [19, 24], betaina, fialina, witaminy (C, E, B₁, B₂, B₆) oraz składniki mineralne (m.in. żelazo, wapń, cynk, selen) [21]. Owoce te są bogatym źródłem przeciwutleniaczy, do których należą m.in. polifenole, w tym flawonoidy [6, 7, 15, 24]. Ważnym składnikiem są również fitosterole (β -sitosterol) [26]. W Polsce gatunek *L. barbarum* jest zaliczany do roślin trujących ze względu na zawartość atropiny, szczególnie w niedojrzałych owocach. W suchych, dojrzałych owocach zawartość atropiny wynosi maksymalnie 0,019 mg/kg [1]. Jest to ilość o wiele mniejsza niż poziom toksyczny dla człowieka (dawka śmiertelna 60 ÷ 100 mg).

Najlepiej poznanym bioaktywnym składnikiem owoców *Lycium* sp. jest kompleks polisacharydowy (LBP, ang. *Lycium barbarum polysascharides*). Jego zawartość szacowana jest na 5 ÷ 8 % suchej masy owoców. Jest to grupa rozpuszczalnych w wodzie glikokoniugatów charakteryzujących się masą cząsteczkową $24 \times 10^3 \div 241 \times 10^3$ Da [5, 27]. W ich skład wchodzi sześć monosacharydów: glukoza, arabinoza, galaktoza, ksyliza, mannoza i ramnoza oraz osiemnaście aminokwasów. Frakcję polisacharydową tworzą rozgałęzione polisacharydy oraz proteoglikany [5]. Część glikozydowa stanowi 90 ÷ 95 % masy kompleksu. Występuje w nim również kwas galakturonowy należący do kwasów uronowych, mający prawdopodobnie największy wpływ na aktywność biologiczną kompleksu. Uważa się, że kompleks polisacharydów *Lycium barbarum* może być najważniejszym składnikiem odpowiadającym za działanie prozdrowotne owoców Goji. Wyodrębnione z niego frakcje mają różną aktywność biologiczną, m.in. przeciwdziałają procesom starzenia i oksydacji, zwiększają odporność organizmu czy oddziałują przeciwnowotworowo. Wykazano działanie hipoglikemiczne i hipolipemiczne LBP, a także korzystny wpływ tego kompleksu w przypadku uszkodzenia wątroby [12, 28]. Prowadzone są badania przedkliniczne i kliniczne z wykorzystaniem kompleksu polisacharydowego *Lycium* w celu określenia jego terapeutycznego działania [14].

Bioaktywnymi składnikami owoców Goji o znacznej aktywności przeciwutleniającej są związki polifenolowe. Ich zawartość wynosi 22,7 mg GAE w 1 g ekstraktu. Dominującymi związkami są: diglikozyd kwercetyny, rutyna, kempferol-3-*O*-rutynozyd, kwas chlorogenowy i kawowy, a w niewielkich ilościach występują kwasy kawoilochinowy i *p*-kumarowy [8, 24].

Jagody Goji sprzedawane są w formie żywności i suplementów diety. W Polsce można je kupić w postaci suszonych owoców oraz przetworów, głównie soków.

Celem pracy było określenie właściwości przeciwutleniających wodnych i etanolowych ekstraktów z owoców Goji (kolcowoju) oraz oznaczenie głównych grup związków obecnych w materiale.

Materiał i metody badań

Materiałem doświadczalnym były suszone jagody Goji (*Lycium barbarum*) dostępne w polskim handlu. Dwie próbki (1 i 2) pochodziły z Chin, trzecia (3) – z Uzbekistanu. Według deklaracji na opakowaniach (znak produkcji ekologicznej) jagody pochodziły z rolnictwa ekologicznego. Dodatkowo na opakowaniu 3. produktu umieszczony był napis „raw”, co oznacza, że jagody nie były poddawane obróbce termicznej w temperaturze wyższej niż 42 °C.

W doświadczeniach stosowano odczynniki: Folina-Ciocalteu’a, kwas galusowy, uraninę (sól sodowa fluoresceiny), (+)-katechinę, TPTZ (kompleks żelazowo-2,4,6-tripirydylo-S-tiazyny), Trolox, DPPH (1,1-difenylo-2-pikrylohydrazyl), AAPH (dichlorowodorek 2,2'-azobis(2-amidynopropanu), które pochodziły z firmy Sigma-Aldrich (USA). Pozostałe odczynniki zakupiono w firmie Avantor Performance Materials Poland S.A. Rozpuszczalniki do HPLC były czystości gradientowej (tzn. o małych zanieczyszczeniach fluoroscencyjnych, niskim dryfcie i minimalnym pikie zanieczyszczeń).

Jagody Goji poddawano procesowi liofilizacji (w temp. -30 °C i 0,37 atm, w ciągu 48 h), a następnie mielono. Próbkę liofilizatu o masie 1 g ekstrahowano z użyciem dwóch rozpuszczalników: 50 ml gorącej (ok. 100 °C) wody demineralizowanej oraz 50 ml 70-procentowego etanolu. Mieszaninę poddawano działaniu ultradźwięków przez 15 min i sączono. Dobór rozpuszczalnika do ekstrakcji, jego stężenia czy temperatura miały na celu uzyskanie jak największej ilości różnorodnych składników o właściwościach przeciwutleniających. Dla sprawdzenia jak temperatura ekstrakcji wodnej wpłynie na zawartość związków o charakterze polifenolowym, ekstrakty sporządzano także w temp. 50 °C (jako kontrolne). Zawartość tych związków w ekstraktach kontrolnych z owoców Goji była mniejsza niż w ekstraktach uzyskanych w temp. 100 °C.

Oznaczenia spektrofotometryczne wykonywano przy użyciu spektrofotometru UV-VIS Evolution 60S (Thermo Scientific, USA) w temp. 20 ± 2 °C. Długości fal

podano w opisach metod. Wyniki analiz przeliczano na 1 gram liofilizatu (suchej masy) owoców.

Oznaczanie zawartości polifenoli ogółem wykonywano metodą Folina-Ciocalteu'a [16]. Wyniki wyrażano jako ekwiwalent kwasu galusowego w 1 g owoców liofilizowanych [mg GAE/g]) na podstawie krzywej wzorcowej: $y = 1,059x + 0,004$, $r^2 = 0,998$, gdzie y – wartość absorbancji, x – stężenie kwasu galusowego [mg/g]. Oznaczanie zawartości flawonoidów wykonywano według Kima i wsp. [10]. Wartości obliczano na podstawie krzywej wzorcowej: $y = 1,408x - 0,003$, $r^2 = 0,989$, gdzie y – wartość absorbancji, x – stężenie katechiny [mg/ml] i wyrażano jako ekwiwalent (+)katechiny (CE) w 1 g owoców liofilizowanych [mg/g]. Wykonano po trzy oznaczenia z każdego ekstraktu.

Zawartość karotenoidów oznaczano według Carvalhia i wsp. [4]. Próbkę liofilizatu o masie 1 g ekstrahowano dwukrotnie mieszaniną n-heksanu i acetonu (2×25 ml) przygotowaną w stosunku 6 : 4. Po przesączeniu mierzono absorbancję ekstraktu przy $\lambda = 450$ nm wobec próby zerowej (mieszanina n-heksanu i acetonu). Wykonano po trzy pomiary absorbancji otrzymanego ekstraktu. Zawartość karotenoidów obliczano na podstawie równań podanych przez Nagatę i wsp. [18] i wyrażano jako mg karotenoidów w 1 g owoców.

Zawartość witaminy C oznaczano metodą HPLC przy użyciu chromatografu Merck-Hitachi LaChrom L-7100 (Merck, Niemcy), z detektorem UV L-7400, kolumna ACE, RP-18, 5 μ m, temp. 30 °C, detekcja przy $\lambda = 254$ nm. Eluenty: 0,5-procentowy kwas mrówkowy i acetonitryl ACN. Przebieg gradientu: 1 ÷ 5 min – 0 % ACN, 5 ÷ 25 min – 0 ÷ 70 % ACN, 25 ÷ 40 min – 70 % ACN. Zawartość witaminy C obliczano na podstawie krzywej wzorcowej: $y = 456933 \cdot 10^2 x - 234861$, gdzie y – powierzchnia piku, x – stężenie kwasu askorbinowego w mg/ml.

Zawartość cukrów redukujących i ogółem oznaczano metodą Fehlinga [22]. Jako substancji odniesienia używano sacharozy. Wyniki przedstawiono w mg sacharozy w 1 g owoców.

Właściwości przeciwutleniające oznaczano spektrofotometrycznie według Sanny i wsp. [23]. W oznaczeniu stosowano rodnik DPPH (1,1-difenylo-2-pikrylohydrazyl). Analizę *Ferric Reducing Ability* (FRAP) wykonywano zgodnie z procedurą, którą opisali Benzie i Strain [3]. Oznaczenie ORAC (*Oxygen – Radical Absorbance Capacity*) wykonywano według Ou'a i wsp. [17] w spektrofлуorymetrze z przystawką do pomiarów na mikroplówkach Hitachi F-7000. Wszystkie wyniki wyrażano w ekwiwalentach Troloxu – μ mol Troloxu/g liofilizowanych owoców.

Do statystycznego opracowania wyników zastosowano jednoczynnikową analizę wariancji ANOVA. Istotność różnic między wartościami średnimi weryfikowano testem Tukeya na poziomie istotności $p < 0,05$. Obliczenia wykonano przy uży-

ciu programu GraphPad Prism 6 dla Windows (GraphPad Software Inc., wersja 6.01, San Diego, USA) oraz Microsoft Excel™ 2010.

Wyniki i dyskusja

Zawartość polifenoli ogółem i flawonoidów w 1g liofilizowanych owoców ekstrahowanych etanolem była podobna, choć najwyższe wyniki uzyskano w jagodach pochodzących z Uzbekistanu (tab. 1). Ekstrakty wodne były bardziej zróżnicowane, np. największą zawartość flawonoidów oznaczono w próbie 1. Ogólnie zawartość polifenoli w owocach liofilizowanych wynosiła $0,76 \div 1,24$ %, a flawonoidów: $0,10 \div 0,27$ %.

Tabela 1. Zawartość polifenoli ogółem i flawonoidów w etanolowych i wodnych ekstraktach z suszonych owoców Goji, w przeliczeniu na 1 g jagód liofilizowanych

Table 1. Content of polyphenols and flavonoids in ethanol and water extracts made of dried Goji fruit, per 1 g of freeze-dried berries

Próbka Sample	Polifenole / Polyphenols [mg GAE/g]		Flawonoidy / Flavonoids [mg CE/g]	
	EtOH 70 %	Woda / Water	EtOH 70 %	Woda / Water
1	$12,12^a \pm 0,67$	$9,89^a \pm 0,62$	$2,21^a \pm 0,12$	$1,66^a \pm 0,06$
2	$10,02^b \pm 0,74$	$7,61^b \pm 0,17$	$2,32^b \pm 0,17$	$1,02^a \pm 0,04$
3	$12,47^a \pm 0,26$	$10,57^a \pm 0,54$	$2,70^b \pm 0,14$	$1,18^a \pm 0,15$

Objaśnienia / Explanatory notes:

1 i 2 – owoce Goji pochodzące z Chin / Goji fruit from China; 3 – owoce Goji pochodzące z Uzbekistanu / Goji fruit from Uzbekistan. W tabeli przedstawiono wartości średnie $\pm$ odchylenia standardowe / Table shows mean values $\pm$ standard deviations; a, b – wartości średnie w kolumnach oznaczone różnymi literami różnią się statystycznie istotnie ($p < 0,05$) / mean values in columns and denoted by different letters differ statistically significantly ($p < 0,05$).

Zawartość flawonoidów w stosunku do całkowitej zawartości polifenoli wahała się w granicach $11 \div 23$ %. Spektrofotometryczna metoda oznaczania flawonoidów uwzględnia tylko związki w formie aglikonów, a w roślinach flawonoidy występują tylko w postaci glikozydów. Stąd otrzymane wyniki mogą być zaniżone w stosunku do rzeczywistej zawartości flawonoidów w owocach Goji.

Ważną grupą związków biologicznie czynnych warunkujących właściwości prozdrowotne owoców Goji są karotenoidy. Związki te są odpowiedzialne za pomarańczowo-czerwony kolor jagód. Stanowią one ok. $0,03 \div 0,5$ % suchej masy owoców [19]. Zeaksantyna, obecna w postaci dipalmitynianu zeaksantyny, może stanowić nawet $31 \div 56$ % całkowitej zawartości karotenoidów. Uważa się, że jagody Goji są najlepszym dotychczas poznany naturalnym źródłem tego karotenoidu. W mniejszych ilościach występują: β -karoten, neoksantyna i kryptoksantyna [19, 24]. W badaniach własnych

suszone owoce Goji zawierały dość dużo karotenoidów (ok. $1 \div 2$ mg/g), choć wyniki poszczególnych próbek różniły się znacznie (tab. 2). Dane literaturowe dotyczące zawartości karotenoidów w jagodach Goji są jeszcze bardziej rozbieżne i obejmują przedział $0,03 \div 0,5$ % [19]. Wpływ na te wyniki mogło mieć wiele czynników, w tym także warunki suszenia i przechowywania.

Tabela 2. Zawartość karotenoidów, witaminy C oraz cukrów w ekstraktach z suszonych owoców Goji, w przeliczeniu na 1 g jagód liofilizowanych

Table 2. Content of carotenoids, vitamin C, and sugars in extracts of dried Goji fruit, per 1 g of freeze-dried berries

Próbka Sample	Karotenoidy Carotenoids [mg/g]	Witamina C / Vitamin C [mg/g]		Cukry / Sugars [mg/g]	
		EtOH 70 %	*Woda / Water	Redukujące Reducing	Ogółem Total
1	$2,60^a \pm 0,01$	$3,71^a \pm 0,10$	$2,12 \pm 0,04$	$18,8^a \pm 0,2$	$27,1^a \pm 0,4$
2	$1,19^a \pm 0,04$	$3,12^b \pm 0,09$	$2,32 \pm 0,09$	$24,1^a \pm 0,4$	$33,4^a \pm 0,7$
3	$0,81^a \pm 0,02$	$3,38^b \pm 0,09$	$2,32 \pm 0,07$	$25,5^a \pm 0,7$	$35,2^b \pm 0,7$

Objaśnienia: / Explanatory notes:

a, b – wartości średnie w kolumnach oznaczone różnymi literami różnią się (z wyjątkiem oznaczonych*) statystycznie istotnie ($p < 0,05$) / mean values in columns and denoted by different letters differ (excluding those denoted by *) statistically significantly ($p < 0.05$).

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

Owoce Goji zawierają także witaminy, przede wszystkim: tiaminę, ryboflawinę oraz kwas askorbinowy wraz z jego glikozylowanym prekursorem (2-*O*- β -D-glukopiranozylem). Zawartość witaminy C w jagodach wynosiła powyżej 3 mg w 1 g suchych owoców, podczas gdy Potterat [21] oznaczył jej 0,4 mg/g jagód. Podobnie Kulczyński i wsp. [11] określili zawartość witaminy C w jagodach Goji na poziomie 42 mg w 100 g [11].

Zawartość cukrów redukujących w liofilizowanych owocach Goji wahała się w zakresie $18 \div 25$ mg/g (ok. 2 %), a cukrów ogółem – $27 \div 35$ mg/g (ok. 3 %) – tab. 2. Największą zawartością cukrów charakteryzowała się próbka 3., najmniejszą – próbka 1. Różnice pomiędzy poszczególnymi rodzajami jagód były dość znaczące. Według danych literaturowych [5] cukry stanowią fragment kompleksu polisacharydowo-białkowego. Jego zawartość szacowana jest na $5 \div 8$ % suchej masy owoców. Zatem różnice w uzyskanych wynikach w porównaniu z danymi literaturowymi mogą wynikać z tego, że cukry występują tu zarówno w postaci wolnej, jak również w formie różnych połączeń (glikozydów, koenzymów, kwasów nukleinowych), których metoda Fehlinga prawdopodobnie nie uwzględnia.

W celu ilościowego opisu aktywności przeciwutleniającej próbek żywnościowych operuje się terminem całkowitego potencjału antyoksydacyjnego (TAP), który określa

zdolność neutralizacji rodników przez mieszaninę antyoksydantów. Do najczęściej stosowanych metod oznaczania TAP należą: FRAP, DPPH i ORAC, przy czym metoda ORAC uważana jest za najbardziej wiarygodną.

Wyniki uzyskane podczas badania właściwości przeciwutleniających ekstraktów z jagód Goji z zastosowaniem trzech różnych testów przedstawiono w tab. 3. Ekstrakty etanolowe zawierały więcej polifenoli, stąd ich wyższa aktywność przeciwutleniająca, z wyjątkiem oznaczeń metodą FRAP, w której wyniki są bardzo zbliżone. Oznaczenia z użyciem rodnika DPPH wykazały większe zróżnicowanie szczególnie wodnych ekstraktów z jagód 2 i 3.

Tabela 3. Aktywność przeciwutleniająca ekstraktów z suszonych owoców Goji

Table 3. Antioxidant activity of dried Goji fruit extracts

Nr	FRAP [$\mu\text{mol Trolox/g}$]		DPPH [$\mu\text{mol Trolox/g}$]		ORAC [$\mu\text{mol Trolox/g}$]	
	EtOH 70 %	Woda / Water	*EtOH 70 %	Woda / Water	EtOH 70 %	Woda / Water
1.	$2,73^a \pm 0,02$	$2,71^a \pm 0,01$	$17,9 \pm 0,8$	$14,1^a \pm 1,1$	$908,3^a \pm 4,2$	$101,3^a \pm 1,4$
2.	$2,73^b \pm 0,01$	$2,70^a \pm 0,01$	$18,9 \pm 0,5$	$5,7^a \pm 0,6$	$896,0^a \pm 2,5$	$33,4^a \pm 0,6$
3.	$2,73^a \pm 0,03$	$2,71^a \pm 0,01$	$18,6 \pm 0,9$	$7,6^a \pm 0,8$	$912,5^b \pm 7,0$	$104,7^a \pm 1,3$

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

Właściwości przeciwutleniające owoców Goji przypisuje się zawartym w nich flawonoidom, barwnikom karotenoidowym i kompleksom polisacharydowym [8, 13, 24, 25] oraz analogowi witaminy C – 2-O- β -D-glukopiranozylo-L-kwasowi askorbinowemu [29]. Aktywność przeciwutleniająca surowych jagód Goji mierzona testem ORAC wynosi 3290 $\mu\text{mol TE}$ w 100 g i jest porównywalna z aktywnością wiśni (3747 $\mu\text{mol TE}$ w 100 g) oraz czerwonej porzeczki (3387 $\mu\text{mol TE}$ w 100 g) [9].

Aktywność przeciwutleniająca suszonych owoców Goji, mierzona metodą ORAC, była bardzo wysoka, osiągała prawie 1 mmol na gram ekstraktów etanolowych. Roztwory wodne zawierają znacznie mniej polifenoli i witaminy C, zatem wyniki uzyskane metodą ORAC są niższe około 10-krotnie. Obróbka termiczna owoców znacznie obniża wartości ORAC, dlatego najwyższymi wartościami charakteryzują się surowce świeże i prawidłowo suszone. Jednak w przypadku owoców Goji, analizowanych metodą ORAC, możliwe są interferencje ze strony innych składników, np. cukrów czy aminokwasów. [20].

Wnioski

1. Suszone owoce Goji dostępne na polskim rynku cechowała zróżnicowana zawartość składników aktywnych, w tym polifenoli ogółem, flawonoidów i karotenoidów.

2. Suszone owoce Goji charakteryzowały się właściwościami przeciwutleniającymi, wynikającymi z zawartości w nich związków polifenolowych, w tym flawonoidów, a także witaminy C i karotenoidów.
3. Pomimo poddania procesom suszenia, a następnie dosuszania w procesie liofilizacji, zawartość witaminy C i karotenoidów w jagodach Goji pozostała na wysokim poziomie.
4. Zarówno ekstrakty wodne, jak i ekstrakty etanolowe charakteryzowały się wysoką aktywnością przeciwutleniającą, określoną w trzech testach (FRAP, DPPH i ORAC).
5. Ekstrakty wodne badanych produktów wykazywały niższą aktywność przeciwutleniającą w dwóch testach niż ekstrakty etanolowe. Jedynie analiza metodą FRAP nie wykazała dużych różnic pomiędzy próbkami.
6. Wyniki badań wskazują, że owoce Goji mogą stanowić uzupełnienie diety w bioaktywne związki o działaniu przeciwutleniającym, mające wpływ na prawidłowe funkcjonowanie organizmu.

Literatura

- [1] Adams M., Wiedenmann M., Tittel G., Bauer R.: HPLC-MS trace analysis of atropine in *Lycium barbarum* berries. *Phytochem Anal.*, 2006, **17** (5), 279-283.
- [2] Amagase H., Farnsworth N.: A review of botanical characteristics, phytochemistry, clinical relevance in efficacy and safety of *Lycium barbarum* fruit (Goji). *Food Res. Int.*, 2011, **44**, 1702-1717.
- [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** (1), 70-76.
- [4] Carvalho L.M.J., Gomes P.B., de Oliveira Godoy R.L., Pacheco S., do Monte P.H.F., de Carvalho J.L.V., Ramos S.R.R.: Total carotenoid content, α -carotene and β -carotene, of landrace pumpkins (*Cucurbita moschata* Duch): A preliminary study. *Food Res. Int.*, 2012, **47** (2), 337-340.
- [5] Cheng J.: An evidence-based update on the pharmacological activities and possible molecular targets of *Lycium barbarum* polysaccharides. *Drug Des. Devel. Ther.*, 2015, **9**, 33-78.
- [6] Cheng C., Chung W., Szeto Y., Benzie I.: Fasting plasma zeaxanthin response to *Fructus barbarum* L. (wolfberry; Kei Tze) in a food-based human supplementation trial. *Brit. J. Nutr.*, 2005, **93** (93), 123-130.
- [7] Donno D., Beccaro G.L., Mellano M.G., Cerutti A.K., Bounous G.: Goji berry fruit (*Lycium* spp.): Antioxidant compound fingerprint and bioactivity evaluation. *J. Func. Foods*, 2015, **18**, 1070-1085.
- [8] Guo D.J., Cheng H.L., Chan S.W., Yu P.H.F.: Antioxidative activities and the total phenolic contents of tonic Chinese medicinal herbs. *Inflammopharmacology*, 2008, **16** (5), 201-207.
- [9] Haytowitz D.B., Bhagwat S.: USDA Database for the Oxygen Radical Absorbance Capacity (ORAC) of selected foods. II ed. USDA, Beltsville, MD, 2010.
- [10] Kim D.O., Jeong S.W., Lee C.Y.: Antioxidant capacity of phenolic phytochemicals from various cultivars of plums. *Food Chem.*, 2003, **81** (3), 321-326.
- [11] Kulczyński B., Groszczyk B., Cerba A., Gramza-Michałowska A.: Owoce Goji (*Lycium barbarum*) jako źródło związków bioaktywnych w żywności - przegląd literatury. *Nauka Przyr. Technol.*, 2014, **8** (2), 19-30.
- [12] Kulczyński B., Gramza-Michałowska A.: Goji Berry (*Lycium barbarum*): Composition and health effects – a review. *Po. J. Food Nutr. Sci.*, 2016, **66** (2), 67-75.

- [13] Li X.M.: Protective effect of *Lycium barbarum* polysaccharides on streptozotocin-induced oxidative stress in rats. *Int. J. Biol. Macromol.*, 2007, **40** (5), 461-465.
- [14] Lu J., Srinivasan N., Chen Z.: Polysaccharide-protein complex from *Lycium barbarum* L. is a novel stimulus of dendritic cell immunogenicity. *J. Immunol.*, 2009, **182**, 3503-3509.
- [15] Majewska M., Czacot H.: Flawonoidy w profilaktyce i terapii. *Terapia i Leki*, 2009, **65** (5), 369-377.
- [16] Meda A., Lamien C.E., Romito M., Millogo J., Nacoulma O.G.: Determination of the total phenolic, flavonoid and proline contents in Burkina Fasan honey, as well as their radical scavenging activity. *Food Chem.*, 2005, **91** (3), 571-577.
- [17] Ou B., Hampsch-Woodill M., Prior R.L.: Development and validation of an improved oxygen radical absorbance capacity assay using fluorescein as the fluorescent probe. *J. Agric. Food Chem.*, 2001, **49** (10), 4619-4626.
- [18] Nagata M.: Yamashita I.: Simple method for simultaneous determination of chlorophyll and carotenoids in tomato fruit. *J. Japan. Soc. Food Sci. Technol.*, 1992, **39** (10), 925-928.
- [19] Peng Y., Ma Ch., Li Y., Leung K.S.Y., Jiang Z.H., Zhao Z.: Quantification of zeaxanthin dipalmitate and total carotenoids in *Lycium* fruits (*Fructus Lycii*). *Plant Foods Hum. Nutr.*, 2005, **60** (4), 161-164.
- [20] Pérez-Jiménez J., Saura-Calixto F.: Effect of solvent and certain food constituents on different antioxidant capacity assays. *Food Res. Intern.*, 2006, **39** (7), 791-800.
- [21] Potterat O.: Goji (*Lycium barbarum* and *L. chinense*): Phytochemistry, pharmacology and safety in the perspective of traditional uses and recent popularity (Review). *Planta Med.*, 2010, **76**, 7-19.
- [22] Ranganna S.: *Handbook of Analysis and Quality Control for Fruit and Vegetable Products*. II ed. Tata McGraw-Hill Publishing Company Ltd., New Delhi 2001.
- [23] Sanna D., Delogu G., Mulas M., Schirra M., Fadda A.: Determination of free radical scavenging activity of plant extracts through DPPH assay: an EPR and UV-Vis study. *Food Anal. Method.*, 2012, **5** (4), 759-766.
- [24] Wang C., Chang S., Inbaraj B., Chen B.: Isolation of carotenoids, flavonoids and polysaccharides from *Lycium barbarum* L. and evaluation of antioxidant activity. *Food Chem.*, 2010, **1** (120), 184-192.
- [25] Wang C., Chang S.: Antioxidative activity of polysaccharide fractions isolated from *Lycium barbarum* Linnaeus. *Int. J. Biol. Macromol.*, 2009, **45** (2), 146-151.
- [26] Waszkiewicz-Robak B.: Goji - jagoda licyjska, owoc długowieczności. *Medycyna i Zdrowie*, 2010, **1**, 9-15.
- [27] Yang R., Chao Z., Chen Z., Chan S., Wu J.: Chemical properties and bioactivities of Goji (*Lycium barbarum*) polysaccharides extracted by different methods. *J. Func. Foods*, 2015, **17**, 903-909.
- [28] Zhang R., Piao M. J., Kang K.A.: Cytoprotective effect of the fruits of *Lycium chinense* Miller against oxidative stress-induced hepatotoxicity. *J. Ethnopharmacol.*, 2010, **130** (2), 299-306.
- [29] Zhang Z., Liu X., Zhang X., Liu J., Hao Y.: Comparative evaluation of the antioxidant effects of the natural vitamin C analog 2-O-β-D-glucopyranosyl-L-ascorbic acid isolated from Goji berry fruit. *Arch. Pharm. Res.*, 2011, **34** (5), 801-810.

ANTIOXIDATIVE ACTIVITY OF DRIED *LYCIUM BARBARUM* GOJI FRUIT EXTRACTS

S u m m a r y

Goji berries (wolfberry) are a food product that contains many bioactive compounds, including polyphenols, amino acids, polysaccharides, carotenoids, and polyunsaturated fatty acids. The objective of the research study was to determine the antioxidative properties of ethanol and water extracts of freeze-dried Goji berries as well as the content of groups of compounds accounting for those properties. The raw materials used in the research study came from China and Uzbekistan. There were determined the contents of polyphenols, flavonoids, vitamin C, carotenoids, and sugars. The antioxidative properties were assessed

using FRAP (*Ferric Reducing ability*), DDPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical), and ORAC (*oxygen-radical absorbance capacity*) methods. All the samples were characterized by a high content of ascorbic acid ($2 \div 3$ mg/g) and carotenoids ($1 \div 2.6$ mg/g). The content of polyphenols (ca. 11 mg GAE/g) and flavonoids (ca. 2.5 mg CAE/g) was high; however, their content as determined in the aqueous extracts was lower than in the ethanol extracts. All the samples were characterized by a high antioxidative activity. The results of measurements performed using the ORAC method showed the highest differences among the extracts. As for the ethanol extracts, the amount of Trolox assayed was about 1 mmol /g, and as for the aqueous extracts, it was $0.03 \div 0.1$ mmol. The results of DPPH test also were also lower in the case of the aqueous extracts. The analysis made by the FRAP method showed no high differences among the samples. The analysis results demonstrate that the Goji fruit can be a dietary supplement to provide bioactive, antioxidatively acting compounds that have an effect on the proper functioning of the body.

Key words: Goji berry, *Lycium barbarum*, ascorbic acid, antioxidants, flavonoids ☒

ROBERT WITKOWICZ, ELŻBIETA PISULEWSKA, AGNIESZKA KIDACKA,
BARBARA MICKOWSKA

SKŁAD AMINOKWASOWY ORAZ JAKOŚĆ BIAŁKA ZIARNA ŻÓŁTO- I BRĄZOWOPLEWKOWYCH FORM OWSA SIEWNEGO (*AVENA SATIVA*)

Streszczenie

Materiał doświadczalny stanowiło ziarno sześciu genotypów owsa siewnego (*Avena sativa*). Trzy z nich ('Gniady', 'CHD 2875', 'CHD 2833') to formy o brązowej plewce, a trzy pozostałe – o żółtej ('Bohun', 'Deresz', 'Cwał'). Oceniono wpływ genotypu, sezonu wegetacyjnego, ich interakcji oraz kontrastu ortogonalnego (forma brązowoplewkowa : forma żółtoplewkowa) na zawartość aminokwasów i jakość białka w obłuszczonego ziarna owsa.

Wykazano istotne ($p = 0,05$) zróżnicowanie zawartości poszczególnych aminokwasów w obłuszczonego ziarna owsa w zależności od genotypu, sezonu wegetacyjnego, interakcji tych czynników oraz koloru plewki (brązowa, żółta). Bez względu na wzorzec białka MH (dorosłego człowieka) czy WE (jaja kurzego) aminokwasem limitującym jakość białka ziarna owsa była lizyna. Wartość wskaźnika aminokwasu ograniczającego (CS) w przypadku lizyny podlegała statystycznej zmianie przez wszystkie testowane czynniki, jak i wyznaczony kontrast. Wartości wskaźnika aminokwasu ograniczającego oraz wyniki zawartości poszczególnych aminokwasów wskazują na formę żółtoplewkową jako cenniejszą pod względem jakości białka. W analizie profilowej, wykorzystującej współczynnik podobieństwa Cohena, dowiedziono wysokiego podobieństwa większości profili aminokwasowych oznaczanych prób. Pewną odrębnością cechował się profil aminokwasowy ziarna rodzaju 'CHD 2875', dzięki czemu ta forma owsa może zainteresować hodowców, a w perspektywie producentów ziarna o dobrej jakości białka.

Słowa kluczowe: owies żółtoplewkowy, owies brązowoplewkowy, aminokwasy, jakość białka

Dr hab. inż. R. Witkowiec, prof. dr hab. inż. E. Pisulewska, Zakład Szczegółowej Uprawy Roślin, Instytut Produkcji Roślinnej, Wydz. Rolniczo-Ekonomiczny, Uniwersytet Rolniczy im. Hugona Kołłątaja w Krakowie, al. Mickiewicza 21, 31-120 Kraków, dr inż. A. Kidacka, Małopolska Hodowla Roślin Sp. z o.o., Oddział w Krakowie, Zakład Hodowli i Produkcji Polanowice, 32-090 Słomniki, dr B. Mickowska, Katedra Technologii Gastronomicznej i Konsumpcji, Wydz. Technologii Żywności, Uniwersytet Rolniczy im. Hugona Kołłątaja w Krakowie, ul. Balicka 122, 30-149 Kraków. Kontakt: rrwitkow@cyf-kr.edu.pl

Wprowadzenie

Jakość surowców roślinnych to efekt złożonego współdziałania właściwości siedliska oraz wartości somatycznej i genetycznej roślin. O ile możliwości czynnego kształtowania środowiska, szczególnie opadów i temperatury powietrza, są mocno ograniczone, o tyle wpływ pozostałych elementów można znacząco modyfikować poprzez dobór genotypu wykorzystywanego do produkcji surowca. Interakcja genotypowo - siedliskowa powinna być stale badana, bowiem obserwowana zmiana klimatu na terytorium Polski, objawiająca się wzrostem temperatury powietrza bez wyraźnie ukie-runkowanych zmian opadowych, może skutkować zmianą jakości surowca [24, 27]. Zmienność składu może wynikać m.in. z zaburzeń w gromadzeniu w danych warunkach składników odżywczych, takich jak skrobia i białko. Genetycznie uwarunkowane cechy ziarna owsa to nie tylko obecność lub brak plewki, ale również jej barwa. W ostatnich latach pojawiły się formy o brązowej plewce, charakteryzujące się korzystnym udziałem składników odżywczych. Ciołek i wsp. [8] porównali zawartość skrobi, włókna, pentozanów, β -glukanów i fitynianów w ziarnie pięciu genotypów owsa (w tym trzech brązowoplewkowych) i wykazali pewne zróżnicowanie pomiędzy formami. Natomiast Biel i wsp. [6], oprócz podstawowego składu chemicznego i zawartości frakcji włókna, wykonali także analizy zawartości aminokwasów białkowych. Potwierdzili statystycznie istotne zróżnicowanie podstawowego składu chemicznego przy porównywalnej zawartości poszczególnych aminokwasów w białku ziarna obydwu form. Zmienność zawartości aminokwasów białkowych w ziarnie pszenicy w zależności od roku uprawy wykazali natomiast Kowieska i wsp. [16]. Skład aminokwasowy różnych form owsa jest stały i stabilny, ale istnieje potrzeba dalszej wnikliwej analizy tego składu po uwzględnieniu wpływu różnych czynników lub ich wzajemnych interakcji. Potrzeba takich badań jest wzmacniana twierdzeniami, że wśród zbóż owies jest gatunkiem wykazującym największą zmienność składu powodowaną zmiennymi warunkami siedliskowymi [1, 21].

Celem pracy było porównanie składu aminokwasowego białka ziarna genotypów żółto- i brązowoplewkowych owsa siewnego pochodzącego z różnych sezonów wegetacyjnych przy hipotezie badawczej zakładającej możliwość wpływu tych źródeł zmienności na profil aminokwasowy surowca.

Material i metody badań

Materiał doświadczalny stanowiło ziarno sześciu genotypów owsa siewnego, wśród których znajdowały się cztery odmiany ('Bohun', 'Cwał', 'Deresz', 'Gniady') oraz dwa rody ('CHD 2875' i 'CHD 2833'). Odmiana 'Gniady' oraz obydwa rody są formami brązowoplewkowymi, a pozostałe odmiany są formami żółtoplewkowymi. Doświadczenie polowe prowadzono w Stacji Małopolskiej Hodowli Roślin w Polano-

wicach w latach 2008 - 2010. Materiał doświadczalny pochodził więc z trzyletniego, dwuczynnikowego eksperymentu polowego, w którym źródłami zmienności były genotyp i gęstość siewu.

Ziarno owsa ręcznie pozbawiano plewki, a następnie rozdrabniano w młynku laboratoryjnym Knifetek 1095 (TECATOR, Szwecja). W tak przygotowanym materiale oznaczano zawartość białka, zgodnie z procedurą AOAC, metodą nr 950.36 i jego skład aminokwasowy [3]. Próbki zmielonego materiału poddawano hydrolizie w fazie ciekłej (6 M HCl + 0,5 % fenol w temp. 110 °C przez 24 h), a następnie oznaczano udział poszczególnych aminokwasów metodą chromatografii jonowymiennej w analizatorze typu AAA 400, Ingos s.r.o. (Praga, Czechy). Podczas kwaśnej hydrolizy następuje konwersja asparaginy do kwasu asparaginowego oraz glutaminy do kwasu glutaminowego, stąd zawartość Asp = Asp + Asn, a Glu = Glu + Gln. Z powodów technicznych nie oznaczano zawartości aminokwasów siarkowych oraz tryptofanu, co można uznać za istotny brak w ocenie jakości, ale z danych literaturowych wynika, że żaden z tych aminokwasów nie limituje jakości białek roślin zbożowych [5, 20, 24]. Całkowitą zawartość aminokwasów egzogennych (EAA) podano w $\text{g} \cdot (16 \text{ g N})^{-1}$ jako sumę oznaczonych zawartości poszczególnych aminokwasów. Na podstawie zawartości poszczególnych aminokwasów w białku wyznaczano wskaźnik aminokwasu ograniczającego (CS – *Chemical Score*) według dwóch standardów białka: dla człowieka dorosłego (MH – *mature human*) [11, 12] oraz jaja kurzego (WE – *whole egg*) [22]. Aminokwasem ograniczającym według obydwu wyżej wymienionych standardów okazała się lizyna, dlatego w tab. 2. zamieszczono tylko wartości $\text{CS}_{(\text{Lys})}$. Obliczenia wykonywano z równania: $\text{CS} = \text{ab}/\text{as} \cdot 100$, gdzie ab – zawartość aminokwasu egzogenego w badanym białku, as – zawartość tego samego aminokwasu w białku standardowym.

Wyniki opracowano statystycznie z wykorzystaniem procedury analizy wariancji w postaci syntezy układu losowanych bloków. Nie dysponowano powtórzeniami polowymi, ale był to eksperyment dwuczynnikowy, w którym jeden z czynników (gęstość siewu) nie różnicował statystycznie składu aminokwasowego. Brak statystycznego wpływu jednego z czynników pozwolił na określenie błędu eksperymentalnego na podstawie zmienności tego czynnika oraz jego wybranych interakcji [26]. Do oceny istotności różnic (najmniejszej istotnej różnicy) pomiędzy wartościami średnimi zastosowano test Tukeya.

Do porównania profili aminokwasowych poszczególnych genotypów zastosowano współczynnik podobieństwa r_c -Cohena (analiza interprofilowa). Przed przystąpieniem do analizy dokonano unitaryzacji danych wszystkich cech do wspólnej skali dziewięciostopniowej [7, 14].

Wyniki i dyskusja

Wśród składników odżywczych białka są odpowiedzialne za wiele procesów w organizmie, a ich właściwości wynikają m.in. z budowy łańcuchów bocznych reszt aminokwasowych wchodzących w ich skład. Żywnościowa kwalifikacja aminokwasów pozwala przybliżyć jakość białka poprzez odrębną ocenę zawartości dwóch podstawowych grup aminokwasów: endo- i egzogennych. Wyniki przedstawione w tab. 1. i 2. wskazują na statystycznie istotne ($p = 0,05$) zróżnicowanie jakości surowca ze względu na genotyp, jak i okres wegetacyjny. Zdecydowanie największą zawartością aminokwasów zarówno endo-, jak i egzogennych cechował się surowiec pochodzący z pierwszego sezonu (roku) prowadzenia doświadczenia. W roku tym otrzymano największy średni plon ziarna ($7,28 \text{ t} \cdot \text{ha}^{-1}$) i plon białka (w ziarnie obłuszczonej – $706 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1}$), ale zarazem o mniejszej zawartości białka w ziarnie (tab. 1). Trzeci rok badań charakteryzował się pośrednimi wartościami plonu ziarna i plonu białka w ziarnie obłuszczonej odpowiednio: $6,18 \text{ t} \cdot \text{ha}^{-1}$ i $656 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1}$. W ocenie zawartości białka w ziarnie badanych genotypów wydzielono trzy grupy jednorodne. Pierwszą grupę, o najmniejszej zawartości białka, stanowiły odmiany żółtoplewkowe ('Bohun', 'Deresz', 'Cwał'), drugą, o nieznacznie większej zawartości białka – ród brązowoplewkowy 'CHD 2833' i odmiana 'Gniady'. Zdecydowanie największą zawartość białka oznaczono w ziarnie rodu 'CHD 2875' ($14,7 \%$). W grupie ocenianych genotypów największe różnice pod względem zawartości aminokwasów endogennych wystąpiły między odmianami 'Bohun' i 'Gniady' (tab. 1). Kryterium dobrze opisującym zawartość aminokwasów endogennych w ziarnie ocenianych genotypów była barwa plewki. Uzyskano statystyczne potwierdzenie, poprzez kontrast ortogonalny (forma brązowoplewkowa : forma żółtoplewkowa), mniejszych zawartości aminokwasów endogennych w ziarnie form brązowoplewkowych (tab. 1).

Wyniki przedstawione w tab. 1. wskazują na znaczący wpływ środowiska i genotypu na zawartość białka i aminokwasów endogennych w ziarnie. Jedynym aminokwasem endogennym, którego zawartość w ziarnie owsa odmiany 'Gniady' (tab. 1) była nieznacznie większa niż w badaniach Biel i wsp. [6] była prolina ($0,13 \text{ g} \cdot (16 \text{ g N})^{-1}$). Zawartość wszystkich pozostałych aminokwasów endogennych w badaniach własnych była mniejsza niż w badaniach wymienionych autorów. Największą bezwzględną różnicę stwierdzono w przypadku glutaminy. Wynosiła ona $7,01 \text{ g} \cdot (16 \text{ g N})^{-1}$. Druga co do wielkości różnica – $3,11 \text{ g} \cdot (16 \text{ g N})^{-1}$ dotyczyła asparaginy. Ziarno rodu 'CHD 2875' zawierało także mniej aminokwasów endogennych niż ziarno tego samego rodu przebadane przez Biel i wsp. [6]. Porównanie odmian tradycyjnych ('Bohun' i 'Deresz') z wynikami Biel i wsp. [6] potwierdziło mniejszą zawartość wszystkich aminokwasów endogennych w ziarnie odmiany 'Deresz', pochodzącym z badań własnych, a w przypadku odmiany 'Bohun' – z wyłączeniem glicyny i proliny.

Tabela 1. Plon ziarna i białka oraz zawartość białka i aminokwasów endogennych w obłusczonym ziarnie żółto- i brązowopłewkowych form owsa pochodzących z różnych sezonów wegetacyjnych
 Table 1. Yield of grain and protein, and content of protein and non-essential amino acids in decorticated grains with yellow and brown glume, derived from different vegetation seasons

Czynnik Factor	Plon / Yield		Zawartość białka Content of protein [%]	Zawartość aminokwasów / Content of amino acids [g·(16 g N) ⁻¹]						
	Ziarno Grain [Mg·ha ⁻¹]	Białko Protein [kg·ha ⁻¹]		Arg	Ala	Gly	Pro	Glu	Ser	Asp
	Rok / Year ¹									
2008	7,28 ^a ± 0,07	706 ^a ± 7,90	12,6 ^b ± 0,15	8,25 ^a ± 0,11	4,61 ^a ± 0,05	4,86 ^a ± 0,05	5,50 ^a ± 0,07	19,07 ^a ± 0,24	4,45 ^a ± 0,05	7,79 ^a ± 0,09
2009	5,58 ^c ± 0,11	580 ^c ± 40,49	13,4 ^a ± 0,17	6,44 ^b ± 0,10	3,78 ^b ± 0,05	3,96 ^b ± 0,06	4,31 ^b ± 0,06	15,06 ^b ± 0,20	3,57 ^b ± 0,06	6,41 ^b ± 0,11
2010	6,18 ^b ± 0,09	656 ^b ± 26,43	13,5 ^a ± 0,16	4,79 ^c ± 0,07	2,91 ^c ± 0,04	3,08 ^c ± 0,04	3,04 ^c ± 0,07	10,90 ^c ± 0,15	2,76 ^c ± 0,04	4,74 ^c ± 0,07
Genotyp / Genotype ²										
‘Gniady’	6,01 ^b ± 0,19	573 ^b ± 39,98	13,7 ^b ± 0,07	6,02 ^c ± 0,30	3,55 ^b ± 0,15	3,70 ^b ± 0,16	4,09 ^c ± 0,24	13,99 ^d ± 0,75	3,37 ^c ± 0,16	5,90 ^e ± 0,27
‘CHD 2875’	5,88 ^b ± 0,13	636 ^a ± 47,55	14,7 ^a ± 0,09	6,35 ^b ± 0,39	3,60 ^b ± 0,19	3,79 ^b ± 0,20	4,07 ^c ± 0,27	14,76 ^{bc} ± 0,89	3,49 ^c ± 0,19	6,20 ^{cd} ± 0,35
‘CHD 2833’	6,86 ^a ± 0,14	697 ^a ± 14,52	13,6 ^b ± 0,22	6,12 ^{bc} ± 0,40	3,66 ^b ± 0,20	3,79 ^b ± 0,21	4,15 ^{bc} ± 0,30	14,42 ^{cd} ± 0,95	3,41 ^c ± 0,21	5,92 ^{de} ± 0,36
‘Bohun’	6,60 ^a ± 0,18	615 ^a ± 63,33	12,7 ^c ± 0,05	6,91 ^a ± 0,27	3,97 ^a ± 0,13	4,24 ^a ± 0,14	4,48 ^a ± 0,17	15,74 ^a ± 0,64	3,84 ^a ± 0,13	6,82 ^a ± 0,26
‘Deresz’	6,32 ^a ± 0,17	597 ^b ± 30,48	12,1 ^c ± 0,12	6,72 ^a ± 0,43	3,87 ^a ± 0,21	4,10 ^a ± 0,22	4,36 ^{ab} ± 0,31	15,54 ^a ± 1,01	3,69 ^b ± 0,21	6,45 ^{bc} ± 0,38
‘Cwał’	5,99 ^b ± 0,16	573 ^b ± 63,54	12,5 ^c ± 0,02	6,83 ^a ± 0,33	3,96 ^a ± 0,16	4,17 ^a ± 0,16	4,55 ^a ± 0,23	15,64 ^a ± 0,78	3,76 ^{ab} ± 0,15	6,57 ^{ab} ± 0,29

cd. Tab. 1.

Kontrast / Contrast ³											
Bp	6,25 ^a ± 0,11	635 ^a ± 26,95	14,0 ^a ± 0,11	6,17 ^b ± 0,21	3,60 ^b ± 0,11	3,76 ^b ± 0,11	4,10 ^b ± 0,15	14,39 ^b ± 0,49	3,42 ^b ± 0,10	6,01 ^b ± 0,19	
Zp	6,45 ^a ± 0,14	595 ^b ± 28,38	12,4 ^b ± 0,06	6,82 ^a ± 0,20	3,93 ^a ± 0,10	4,17 ^a ± 0,10	4,47 ^a ± 0,14	15,64 ^a ± 0,46	3,76 ^a ± 0,10	6,62 ^a ± 0,18	

Objaśnienia / Explanatory notes:

Bp – brązowa plewka / brown glume; Zp – żółta plewka / yellow glume;

W tabeli przedstawiono wartości średnie ± błąd standardowy średnich / Table shows mean values ± standard error of mean;

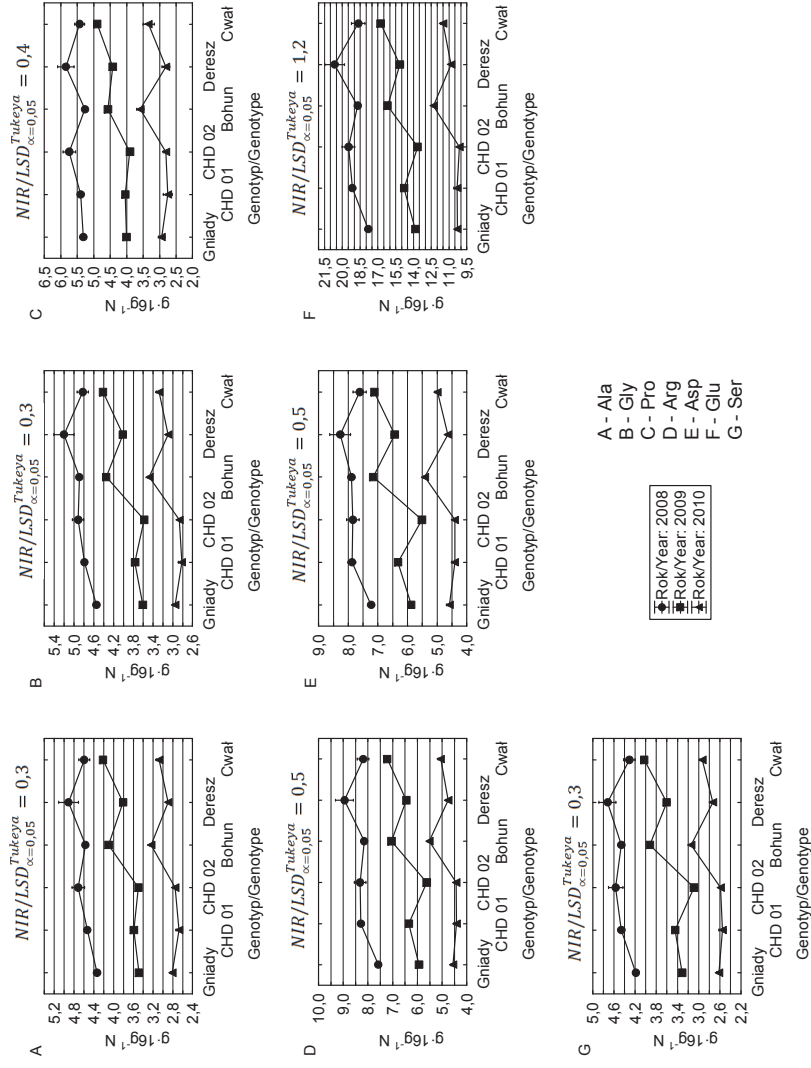
¹ – wartości średnie dla sezonów wegetacyjnych oznaczone różnymi literami różnią się statystycznie istotnie na poziomie $p = 0,05$ / mean values ref. to individual vegetation season and denoted by different letters differ statistically significantly at $p = 0,05$.

² – wartości średnie dla genotypów oznaczone różnymi literami różnią się statystycznie istotnie na poziomie $p = 0,05$ / mean values ref. to genotypes and denoted by different letters differ statistically significantly at $p = 0,05$;

³ – średnie dla kontrastu oznaczone różnymi literami różnią się statystycznie istotnie na poziomie $p = 0,05$ / mean values ref. to contrasts and denoted by different letters differ statistically significantly at $p = 0,05$.

W oznaczonych całkowitych zawartościach poszczególnych aminokwasów białkowych pewna ich część to frakcja niezwiązana z białkami. Mustafa i wsp. [18] wykazali znaczne różnice ich zawartości nie tylko w zależności od gatunku zboża, ale przede wszystkim – frakcji młynarskich. Wahaniom zmian zawartości wolnych aminokwasów często towarzyszą zmiany w udziale aminokwasów białkowych, np. lizyny. Szacuje się, że wolne aminokwasy stanowią ok. 5 % lub mniej całkowitej zawartości azotu w ziarnie zbóż [17]. Kamara i wsp. [15] oznaczyli zawartość wolnych aminokwasów w mące z włośnicy ber (rośliny należącej, podobnie jak owies, do wiechlinowatych) i wykazali, że było ich 4,02 g w 100 g białka w mące, a zawartość wolnej asparaginy i kwasu asparaginowego wynosiła 0,9 g w 100 g białka. Wśród aminokwasów endogennych asparagina, obok glutaminy, najłatwiej wchodzi w reakcję z cukrami redukującymi, rozpoczynając cykl przemian kończący się powstaniem melanoidów, a wśród nich akrylamidu [2, 9, 13]. Wydaje się więc, że ograniczenie zawartości wolnej asparaginy jest najefektywniejszym sposobem ograniczenia ryzyka syntezy akrylamidu podczas hydrotermicznych procesów przetwórczych [19]. Poszukiwanie ziarna zbóż o małej zawartości asparaginy i glutaminy jest zatem ważne z uwagi na bezpieczeństwo żywności. W związku z tym, że zawartość wolnych aminokwasów jest w dużym stopniu warunkowana czynnikami genetycznymi, środowiskowymi, jak i ich wzajemną interakcją [4, 9, 10, 17] ryzyko powstawania akrylamidu podczas hydrotermicznej obróbki ziarna owsa można ograniczyć, korzystając z osiągnięć hodowli oraz wpływając na proces alokacji tego aminokwasu działaniami agrotechnicznymi, ograniczającymi stresy biotyczne, jak i abiotyczne. W badaniach własnych zawartość asparaginy w ziarnie owsa wahała się w okresach wegetacyjnych od 4,74 w roku 2010 do 7,79 g·(16 g N)⁻¹ w roku 2008. Stwierdzono także statystyczne zróżnicowanie zawartości tego aminokwasu w ziarnie badanych genotypów, a wynik testowanego kontrastu pozwala stwierdzić, że ilość asparaginy gromadzona w ziarnie form żółtoplewkowych jest statystycznie istotnie ($p = 0,05$) większa niż w brązowoplewkowych. Powyższe spostrzeżenie dotyczy także glutaminy (tab. 1).

Wykazano statystycznie istotny ($p = 0,05$) wpływ interakcji badanych czynników (genotypu i sezonu wegetacyjnego) na indywidualną zawartość aminokwasów endogennych w ziarnie (rys. 1). Stwierdzono, że układ wartości średnich wszystkich aminokwasów był bardzo podobny oraz że statystyczna istotność wpływu tego źródła zmienności wynikała z zawartości aminokwasów w ziarnie odmian ‘Bohun’ i ‘Cwał’, a szczególnie zawartości aminokwasów endogennych zgromadzonych w ziarnie w pierwszym roku prowadzenia eksperymentu.



Rys. 1. Wpływ interakcji genotypu i sezonu wegetacyjnego na zawartość aminokwasów endogennych $[g \cdot (16 g N)^{-1}]$ w obłusczonym ziarnie owsa
 Fig. 1. Impact of interactions between genotype and vegetation season on content of non-essential amino acids $[g \cdot (16 g N)^{-1}]$ in decorticated oat grains

Oceny wartości odżywczej białek zgromadzonych w surowcach roślinnych dokonuje się głównie na podstawie zawartości aminokwasów egzogennych. Podobnie jak w przypadku analizowanych wcześniej aminokwasów endogennych, największą zawartością aminokwasów egzogennych charakteryzował się surowiec pochodzący z pierwszego sezonu wegetacyjnego (tab. 2). W kolejnych sezonach zawartość wszystkich aminokwasów egzogennych sukcesywnie zmniejszała się. Ze względu na genotyp największą zawartość tej grupy aminokwasów wykazano w ziarnie odmian 'Bohun' i 'Cwał' (tab. 2). Znacznie mniej aminokwasów egzogennych było w ziarnie odmiany 'Gniady'. Stwierdzona w badaniach własnych zawartość aminokwasów egzogennych, takich jak: lizyna, izoleucyna, walina, histydyna i tyrozyna w ziarnie odmian 'Bohun' i 'Deresz' była większa (tab. 2) w porównaniu z wartościami uzyskanymi przez Biel i wsp. [6]. W przypadku treoniny, leucyny i fenyloalaniny – była natomiast mniejsza. Oznacza to, że skład aminokwasowy białka ziarna owsa podlega zróżnicowaniu w wyniku działań agrotechnicznych, pomimo uznawania go za stabilny.

Mosse i Huet [cyt. za 24] postrzegają owies jako jeden z gatunków zbóż gromadzących w białkach ziarna szczególnie dużo lizyny. Ponadto owies, co jest szczególnie istotne, nie reaguje zmniejszeniem zawartości tego cennego aminokwasu w efekcie wzrostu zawartości azotu w ziarnie. Jak wskazują badania własne, zmiany genetyczne skutkujące zmianą barwy plewki z żółtej na brązową wpłynęły statystycznie istotnie ($p = 0,05$) na zmniejszenie zawartości lizyny w ziarnie owsa (tab. 2). Forma żółtoplewkowa zgromadziła $3,38 \text{ g lizyny} \cdot (16 \text{ g N})^{-1}$, a brązowoplewkowa – $3,06 \text{ g} \cdot (16 \text{ g N})^{-1}$. Mniejsza ilość tego aminokwasu w ziarnie form brązowoplewkowych może być skutkiem pogorszenia składu frakcyjnego białka, jak i wzrostu zawartości wolnej lizyny. Biel i wsp. [5] określili średnią zawartość lizyny w ziarnie form nagoziarnistych na $2,76 \text{ g} \cdot (16 \text{ g N})^{-1}$, a w ziarnie form tradycyjnych (z plewką) – na $2,73 \text{ g} \cdot (16 \text{ g N})^{-1}$. Wśród genotypów tradycyjnych badanych przez wymienionych autorów znajdował się również ród 'STH 729' o dużej zawartości lizyny ($3,19 \text{ g} \cdot (16 \text{ g N})^{-1}$). W innych badaniach dotyczących zawartości aminokwasów Biel i wsp. [6] nie wykazali statystycznie istotnego zróżnicowania w zależności od formy owsa. Natomiast w badaniach własnych formy żółto- i brązowoplewkowa różniły się statystycznie istotnie ($p = 0,05$) zawartością wszystkich analizowanych aminokwasów, jednak na korzyść formy żółtoplewkowej (tab. 1 i 2).

Pedo i wsp. [20] wskazują na lizynę jako aminokwas limitujący jakość białek czterech brazylijskich form owsa. Zawartość lizyny w ziarnie tych genotypów stanowiła $60,7 \div 70,7 \%$ zawartości w białku wzorcowym. Ocena zawartości lizyny jako aminokwasu ograniczającego jest jednoznaczna, ale należy także zwrócić uwagę na zmiany składu aminokwasowego ziarna form tzw. wysokolizynowych. W ziarnie takich mieszańców zmniejsza się zawartość frakcji białkowych ubogich w lizynę (np. prolamin), a następuje wzrost zawartości innych frakcji oraz szczególnie duży wzrost za-

wartości wolnych aminokwasów (z kilku do kilkunastu procent) [17]. Oznacza to większą zawartość aminokwasów tworzących związki szkodliwe z cukrami redukującymi. Lea i wsp. [17] dowiedli, że wysokolizynowe mieszańce jęczmienia zawierały trzykrotnie więcej wolnych aminokwasów i dwukrotnie więcej azotu niebiałkowego niż formy tradycyjne.

Podobnie jak w przypadku aminokwasów endogennych stwierdzono, że na zawartość aminokwasów egzogennych w obłuszczonej ziarnie owsa statystycznie istotny ($p = 0,05$) wpływ miała interakcja badanych czynników (genotyp $\times$ sezon wegetacyjny). Zróżnicowanie to przedstawiono na rys. 2. Na podkreślenie zasługują dwie zaobserwowane prawidłowości dotyczące interakcji wszystkich aminokwasów egzogennych. W drugim roku trwania eksperymentu obserwowano największe różnice zawartości poszczególnych aminokwasów pomiędzy odmianami, a najmniejsze – w trzecim roku. Ponadto w pierwszym roku badań stwierdzono odmienny, wzajemny układ zawartości aminokwasów egzogennych w ziarnie odmian ‘Bohun’ i ‘Cwał’. W drugim i trzecim sezonie uprawy zawartość poszczególnych aminokwasów w ziarnie tych odmian była większa niż w pozostałych genotypach, a mniejsza niż ich zawartość w ziarnie pozostałych genotypów w pierwszym roku badań.

Zróżnicowanie zawartości aminokwasów egzogennych powodowane badanymi czynnikami wywołało także zróżnicowanie wskaźnika aminokwasu ograniczającego (CS) (tab. 2). Aminokwasem ograniczającym jakość białka była lizyna, bez względu na przyjęty wzorzec białka: dorosłego człowieka (MH) czy też jaja kurzego (WE), a wartości CS znacząco różnicował sezon wegetacyjny. Największe wartości wskaźnika w odniesieniu do obydwu wzorców obserwowano w pierwszym roku, a najmniejsze – w trzecim roku badań. Najmniejszą wartością CS_{Lys} cechowała się brązowoplewkowa odmiana ‘Gniady’ (43,32 – WE i 55,14 – MH), a największą – odmiana ‘Cwał’ (49,06 – WE i 62,44 – MH). Biel i wsp. [5] badali formy nagoziarniste owsa i również wykazali, że aminokwasem najczęściej limitującym jakość białka form nagoziarnistych jest lizyna, z wyjątkiem odmiany ‘Polar’, w ziarnie której takim aminokwasem była izoleucyna. Wartość $CS_{WE(LYS)}$ w zależności od genotypu wahała się od 34,35 (‘STH 7256’) do 41,90 (‘STH 7146’) i były to wartości znacząco niższe niż określone w badaniach własnych (od 43,32 – ‘Bohun’ do 49,06 – ‘Cwał’) (tab. 2). Odmienność wyników własnych i przedstawionych przez Biel i wsp. [5] wykazano także w odniesieniu do $CS_{MH(LYS)}$. W badaniach własnych stwierdzono statystycznie istotne ($p = 0,05$) zróżnicowanie wielkości CS (bez względu na wzorzec) pomiędzy formami (żółto- i brązowoplewkowymi) na korzyść form o plewce żółtej (tab. 2).

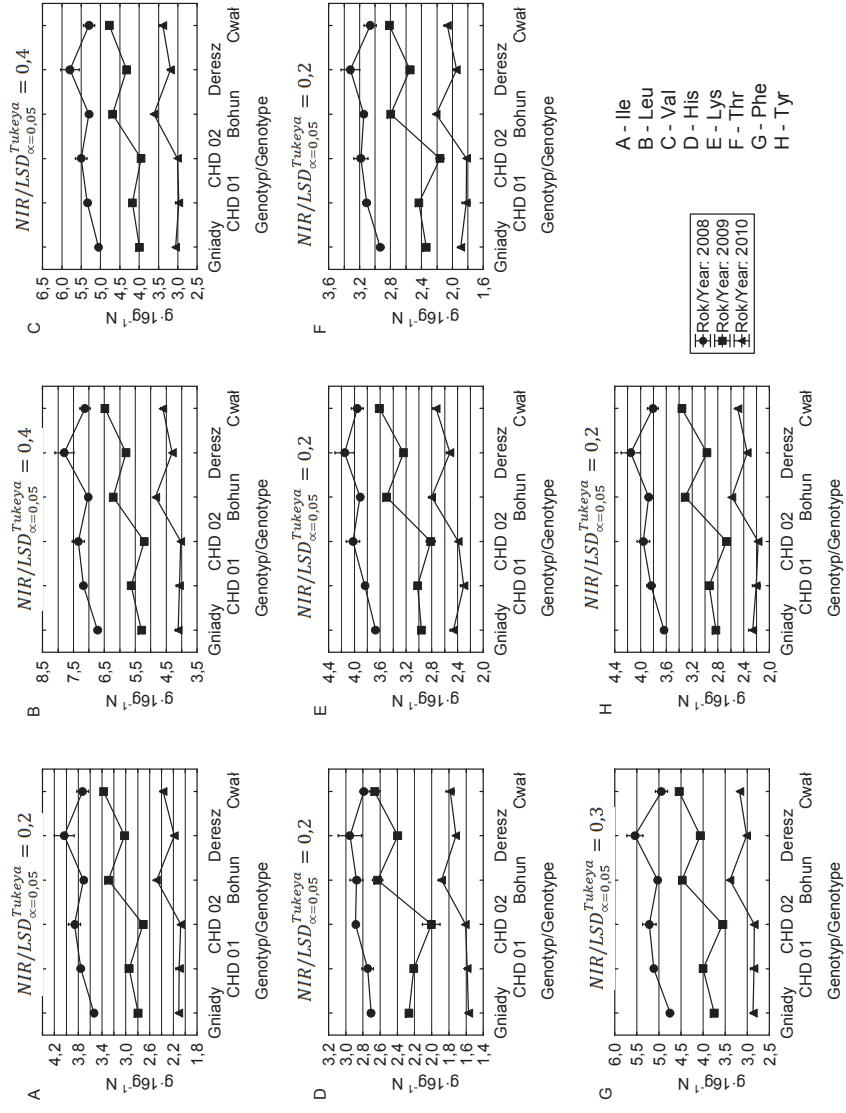
Tabela 2. Zawartość aminokwasów egzogennych w ziarnie obłusczonym żółto- i brązowopłewkowych form owsa pochodzących z różnych sezonów wegetacyjnych
Table 2. Content of essential amino acids in decorticated oat grains with yellow and brown glume, derived from different vegetation seasons

Czynnik Factor	Zawartość aminokwasów / Content of amino acids [g·(16 g N) ⁻¹]								EAA [g·(16 g N) ⁻¹]	CS _{WE(Lys)}	CS _{MH(Lys)}
	Lys	His	Phe	Tyr	Leu	Ile	Val	Thr			
Rok / Year ¹											
2008	3,93 ^a ± 0,04	2,83 ^a ± 0,03	5,10 ^a ± 0,06	3,88 ^a ± 0,04	7,20 ^a ± 0,09	3,77 ^a ± 0,05	5,38 ^a ± 0,07	3,13 ^a ± 0,04	31,43 ^a ± 0,36	56,08 ^a ± 0,60	71,38 ^a ± 0,76
2009	3,19 ^b ± 0,05	2,36 ^b ± 0,05	4,07 ^b ± 0,06	3,01 ^b ± 0,05	5,77 ^b ± 0,08	3,02 ^b ± 0,04	4,32 ^b ± 0,06	2,52 ^b ± 0,04	25,24 ^b ± 0,37	45,61 ^b ± 0,73	58,05 ^b ± 0,94
2010	2,54 ^c ± 0,04	1,69 ^c ± 0,02	3,03 ^c ± 0,04	2,35 ^c ± 0,03	4,33 ^c ± 0,06	2,22 ^c ± 0,03	3,20 ^c ± 0,05	1,96 ^c ± 0,03	19,10 ^c ± 0,25	36,23 ^c ± 0,50	46,11 ^c ± 0,63
Genotyp / Genotype ²											
‘Gniady’	3,03 ^b ± 0,12	2,18 ^b ± 0,12	3,79 ^c ± 0,19	2,91 ^b ± 0,14	5,38 ^b ± 0,26	2,81 ^b ± 0,14	4,03 ^b ± 0,20	2,39 ^c ± 0,11	23,71 ^b ± 1,13	43,32 ^b ± 1,75	55,14 ^b ± 2,23
‘CHD 2875’	3,05 ^b ± 0,15	2,18 ^b ± 0,12	3,99 ^b ± 0,23	2,99 ^b ± 0,17	5,63 ^b ± 0,31	2,93 ^b ± 0,17	4,16 ^b ± 0,24	2,46 ^c ± 0,13	24,47 ^b ± 1,34	43,64 ^b ± 2,20	55,54 ^b ± 2,80
‘CHD 2833’	3,08 ^b ± 0,17	2,17 ^b ± 0,13	3,87 ^{bc} ± 0,25	2,93 ^b ± 0,19	5,53 ^b ± 0,34	2,88 ^b ± 0,18	4,16 ^b ± 0,25	2,39 ^c ± 0,15	24,12 ^b ± 1,47	43,96 ^b ± 2,47	55,94 ^b ± 3,14
‘Bohun’	3,41 ^a ± 0,11	2,46 ^a ± 0,11	4,30 ^a ± 0,17	3,25 ^a ± 0,13	6,03 ^a ± 0,22	3,16 ^a ± 0,13	4,53 ^a ± 0,17	2,72 ^a ± 0,10	26,71 ^a ± 0,99	48,66 ^a ± 1,60	61,92 ^a ± 2,04
‘Deresz’	3,30 ^a ± 0,17	2,36 ^a ± 0,13	4,21 ^a ± 0,26	3,16 ^a ± 0,19	5,97 ^a ± 0,36	3,08 ^a ± 0,19	4,43 ^a ± 0,27	2,60 ^b ± 0,14	26,03 ^a ± 1,52	47,19 ^a ± 2,43	60,06 ^a ± 3,09
‘Cwał’	3,43 ^a ± 0,13	2,42 ^a ± 0,11	4,22 ^a ± 0,19	3,22 ^a ± 0,14	6,07 ^a ± 0,27	3,16 ^a ± 0,14	4,49 ^a ± 0,20	2,65 ^{ab} ± 0,11	26,50 ^a ± 1,14	49,06 ^a ± 1,85	62,44 ^a ± 2,36
Kontrast / Contrast ³											
Bp	3,06 ^b ± 0,09	2,18 ^b ± 0,07	3,88 ^b ± 0,13	2,95 ^b ± 0,10	5,51 ^b ± 0,17	2,88 ^b ± 0,10	4,12 ^b ± 0,13	2,41 ^b ± 0,07	24,10 ^b ± 0,75	43,64 ^b ± 1,22	55,54 ^b ± 1,56
Zp	3,38 ^a ± 0,08	2,41 ^a ± 0,07	4,24 ^a ± 0,12	3,21 ^a ± 0,09	6,02 ^a ± 0,16	3,13 ^a ± 0,09	4,48 ^a ± 0,12	2,66 ^a ± 0,07	26,41 ^a ± 0,70	48,30 ^a ± 1,13	61,47 ^a ± 1,44

Objaśnienia / Explanatory notes:

CS – wskaźnik aminokwasu ograniczającego / Chemical Score; EAA – aminokwasy egzogenne / Essential Amino Acids

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



Rys. 2. Wpływ interakcji genotypu i sezonu wegetacyjnego na zawartość aminokwasów egzogennych $[g \cdot (16 g N)^{-1}]$ w obłusczonym ziarnie owsa
 Fig. 2. Impact of interactions between genotype and vegetation season on content of essential amino acids $[g \cdot (16 g N)^{-1}]$ in decorticated oat grains

Shewry [24] tłumaczy zmienny udział EAA w ziarnie zbóż odmiennym składem frakcyjnym (bardzo zmienny udział prolamin), ale i dorodnością ziarniaków, bowiem główną frakcją białek bielma są prolaminy, z wyjątkiem owsa i ryżu [25]. Mniej dorodne nasiona zawierają mniej bielma, co na ogół wpływa na zwiększenie wartości biologicznej białka. Zawartość EAA (z pominięciem aminokwasów siarkowych i tryptofanu) wahała się od $23,71 \text{ g} \cdot (16 \text{ g N})^{-1}$ w ziarnie odmiany 'Gniady' do $26,71 \text{ g} \cdot (16 \text{ g N})^{-1}$ w ziarnie odmiany 'Bohun' (tab. 2). Z powodu pominięcia aminokwasów siarkowych i tryptofanu wartości te są niższe od przedstawionych przez Biel i wsp. [5], ale po uwzględnieniu tego wykluczenia można je uznać za porównywalne. Ralcewicz i Knapkowski [23] ocenili zawartość EAA przy wyłączeniu z tej grupy cystyny, tyrozyny i tryptofanu oraz argininy, która tylko w przypadku ptaków i ryb traktowana jest jako EAA. Ponadto potwierdzili wpływ nawożenia na zawartość niektórych aminokwasów, zarówno egzo-, jak i endogennych. W badaniach własnych zawartość poszczególnych aminokwasów egzogennych, sumaryczna ich zawartość, jak i kontrast były różnicowane przez badane czynniki (sezon, genotyp).

Tabela 3. Współczynniki podobieństwa Cohena (r_c) porównywanych profili aminokwasów egzogennych różnych genotypów owsa

Table 3. Cohen's profile similarity coefficients (r_c) ref. to compared essential amino acids profiles of different oat genotypes

Genotyp Genotype	'Gniady'	'CHD 2875'	'CHD 2833'	'Bohun'	'Deresz'	'Cwał'	Brązowo- plewkowe With brown- glume
'CHD 2875'	0,734	x	-	-	-	-	-
'CHD 2833'	0,857	0,943	X	-	-	-	-
'Bohun'	-0,998	-0,735	-0,86	x	-	-	-
'Deresz'	-0,942	-0,494	-0,653	0,936	x	-	-
'Cwał'	-0,988	-0,712	-0,816	0,981	0,954	x	-
Brązoplewkowe With brown-glume	0,937	0,919	0,978	-0,938	-0,778	-0,913	x
Żółtoplewkowe With yellow-glume	-0,994	-0,68	-0,808	0,991	0,97	0,994	-0,904

Ocenę porównawczą profili aminokwasowych białek zawartych w ziarnie owsa, pochodzących z różnych prób doświadczalnych, wykonano za pomocą wielozmiennej analizy profilowej. Stwierdzono, że profile aminokwasowe poszczególnych prób są do siebie bardzo podobne, gdyż wartości współczynnika podobieństwa Cohena dla większości porównań były bliskie jedności (tab. 3). Odnotowano pewną odrębność profilu

aminokwasowego rodzaju 'CHD 2875' od profilu aminokwasowego form żółtoplewkowych, a zwłaszcza od odmiany 'Deresz' ($r_c = 0,494$).

Wnioski

1. Wykazano statystycznie istotne ($p = 0,05$) zróżnicowanie zawartości poszczególnych aminokwasów w obłuszczonej ziarnie owsa w zależności od genotypu, sezonu wegetacyjnego, interakcji tych czynników, jak i barwy plewki.
2. Bez względu na wzorzec białka (MH, WE) aminokwasem limitującym jakość białka ziarna owsa była lizyna. Wartość wskaźnika aminokwasu ograniczającego (CS) w przypadku lizyny podlegała statystycznej modyfikacji przez wszystkie testowane czynniki.
3. Wartości CS oraz analiza zawartości poszczególnych aminokwasów wskazały formę żółtoplewkową jako cenniejszą ze względu na jakość białka. W obrębie tej grupy form nie stwierdzono dużej zmienności wyżej wymienionych parametrów, gdyż dotyczyła ona tylko zawartości seryny, asparaginy i treoniny. W obrębie grupy odmian o plewce brązowej korzystną zawartością aminokwasów charakteryzowało się ziarno rodzaju 'CHD 2875' w porównaniu z pozostałymi formami.
4. Na podstawie analizy profilowej, uwzględniającej współczynnik podobieństwa Cohena, dowiedziono wysokiego podobieństwa większości profili aminokwasowych badanych prób. Pewną odrębnością cechował się profil aminokwasowy ziarna rodzaju 'CHD 2875', dzięki czemu ta forma owsa może zyskać uwagę hodowców, a w perspektywie producentów surowca o dobrej jakości białka.

Wyniki badań zrealizowane w ramach tematu nr DS-3115/IPR zostały sfinansowane z dotacji na naukę przyznanej przez MNiSW.

Literatura

- [1] Aman P.: The variation in chemical composition of Swedish oats. *Acta Agric. Scand.*, 1987, **37**, 347-352.
- [2] Anonim.: The CIAA Acrylamide „Toolbox”, 2009. [online]. Dostęp w Internecie [30.03.2014]: http://www.fooddrinkeurope.eu/documents/brochures/ac_toolbox_20090216.pdf
- [3] AOAC. Official methods of analysis, 18th ed. Gaithersburg Association of Official Analytical Chemists International, 2006.
- [4] Baker J.M., Howkins N.D., Ward J.L., Lovegrove A., Napier J.A., Shevry P.R., Beale M.H.: A metabolic study of substantial equivalence of field-grown genetically modified wheat. *Plant Biotech. J.*, 2006, **4**, 381-392.
- [5] Biel W., Bobko K., Maciorowski R.: Chemical composition and nutritive value of husked and naked oats grain. *J. Cereal Sci.*, 2009, **49**, 413-418.
- [6] Biel W., Szolowska A., Bobko K., Jaskowska I.: Skład chemiczny i jakość białka ziarna owsa brązowo- i żółtoplewkowego. *Folia Pomer. Univ. Technol. Stetin, Agric., Aliment., Pisc., Zootech.*, 2010, **278 (14)**, 39-48.

- [7] Brzeziński J.: Analiza interprofilowa. W: Metodologia badań psychologicznych. Wyd. Nauk. PWN, Warszawa 2002, ss. 559-574.
- [8] Ciołek A., Makarska E., Makarski B.: Zawartość wybranych składników żywieniowych w ziarnie owsa czarnego i żółtoplewkowego. Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 2008, **3 (58)**, 80-88.
- [9] Curtis T.Y., Muttucumaru N., Shevry P.R., Parry M.A., Powers S.J., Elmore J.S. Mottram D.S., Hook S., Halford N.G.: Evidence for genotype and environment on free amino acid levels in wheat grain: Implication for acrylamide formation during processing. J. Agric. Food Chem., 2009, **57**, 1013-1021.
- [10] Emebiri L.C.: Genetic variation and possible SNP markers for breeding wheat with low-grain asparagine, the major precursor for acrylamide formation in heat-processed products. J. Sci. Food Agric., 2014, **94**, 1422-1429.
- [11] FAO/WHO: Protein quality evaluation. Report of a joint FAO-WHO expert consultation. Rome, FAO, Food Nutr. 1991, 51.
- [12] FAO/WHO/UNU: Energy and protein requirements. Report of joint FAO-WHO nutritional meeting. Geneva, Tech. Rep., 1985, Series 273.
- [13] Halford N.G., Curtis T.Y., Muttucumaru N., Postles J., Mottram D.S.: Sugar in crop plants. Ann. Appl. Biol., 2010, **158**, 1-25.
- [14] Jędrzejczak E.: Wpływ warunków pogodowych w drugim roku uprawy bezwysadkowej na kwitnienie i plony nasion cykorii korzeniowej w świetle wielozmiennej analizy interprofilowej. An. UMC-S, 2003, **XIII sec. EEE**, 235-241.
- [15] Kamara M.T., Amadou I., Tarawalie F., Huiming Z.: Effect of enzymatic hydrolysis on the functional properties of foxtail millet (*Setaria italic* L.) proteins. Intern. J. Food Sci. Technol., 2010, **45**, 1175-1183.
- [16] Kowieska A., Jaskowska I., Lipiński P.: Zawartość frakcji węglowodanowych i aminokwasów w ziarnie pszenicy wyprodukowanym w dwóch następujących po sobie latach. Acta Sci. Pol., Zoo-techn., 2010, **9 (4)**, 135-146.
- [17] Lea P.J., Sodek L., Parry M.A.J., Shevry P.R., Halford N.G.: Asparagine in plants. Ann. Appl. Biol., 2006, **150**, 1-26.
- [18] Mustafa A., Aman P., Andersson R., Kamal-Eldin A.: Analysis of free amino acids in cereal product. Food Chem., 2006, **105**, 317-324.
- [19] Muttucumaru N., Halford N.G., Elmore J.S., Dodson A.T., Parry M.A.J., Shevry P.R. Mottram D.S.: The formation of high levels of acrylamide during the processing of flour derived from sulfate-deprived wheat. J. Agric. Food Chem., 2006, **54 (23)**, 8951-8955.
- [20] Pedo I., Sgarbieri V.C., Gutkowski L.C.: Protein evaluation of four oat (*Avena sativa* L.) cultivars adapted for cultivation in the south of Brazil. Plant Foods Hum. Nutr., 1999, **53**, 297-304.
- [21] Petterson A., Lindberg J.E., Thomke S., Eggum B.O.: Nutrient digestibility and protein quality of oats differing in chemical composition evaluated in rats and by an in vitro technique. Animal Feed Sci. Technol., 1996, **62**, 203-213.
- [22] Rakowska M., Szkiłłądziowa W., Kunachowicz H.: Biologiczna wartość białka żywności. WNT, Warszawa 1978.
- [23] Ralcewicz M., Knapkowski T.: Ocena oddziaływania wybranych czynników agrotechnicznych na wielkość plonu ziarna i skład aminokwasowy białka owsa. Biuletyn IHAR, 2006, **239**, 193-204.
- [24] Shevry P.R.: Improving the protein content and composition of cereal grain. J. Cereal Sci., 2007, **46**, 239-250.
- [25] Shevry P.R., Halford N.G.: Cereal seed storage proteins: structure, properties and role in grain utilization. J. Exp. Bot., 2002, **53 (370)**, 947-958.
- [26] Trętowski J., Wójcik A.R.: Metodyka doświadczeń rolniczych. WSRP, Siedlce 1991.
- [27] Żmudzka E.: O zmienności opadów atmosferycznych na obszarze Polski nizinnej w drugiej połowie XX wieku. Wiad. IMGW, 2002, **25 (4)**, 23-38.

COMPOSITION OF AMINO ACIDS AND QUALITY OF PROTEINS IN GRAINS OF OATS WITH YELLOW AND BROWN GLUME (*AVENA SATIVA*)

S u m m a r y

The research material consisted of grains of six genotypes of oats (*Avena sativa*). The grains of three of them had a brown glume ('Gniady', 'CHD 2875', 'CHD 2833') and the grains of other three genotypes had a yellow one ('Bohun', 'Deresz', 'Cwał'). The impact was assessed of their genotype, interactions, orthogonal contrast (oat with yellow glume : oat with brown glume), and vegetation season on the content of amino acids and the quality of proteins in decorticated oat grains.

It was proven that the contents of individual amino acids in the decorticated oat grains varied significantly depending on the genotype, vegetation season, interactions between those factors, and colour of the glume. Irrespective of the (Mature Human) or WE (Whole Egg) protein standards, the lysine was an amino acid to limit the quality of the protein in the oat grain. As for the lysine, the value of this limiting amino acid index (CS) was statistically modified by all the factors tested as well as by the orthogonal contrast selected. Values of the CS index of the limited amino acid and the resulting contents of individual amino acids confirmed that the grains with yellow glume were more valuable in terms of the quality of their protein than the grains with brown glume. Based on the profile analysis performed using r_c , a Cohen's profile similarity coefficient, it was proven that the majority of amino acid profiles of the samples under analyses were highly similar. The amino acid profile of the grain of 'CHD 2875' line was characterized by some specific differences; therefore, the oat of this line can be recommended for cultivation as a material containing grains with good quality proteins.

Key words: oat with yellow glume, oat with brown, amino acids, quality of protein ☒

JOANNA DANIELCZUK, AURELIA G. HAŁASIŃSKA, SYLWIA SKĄPSKA

OPRACOWANIE I WALIDACJA SENSORYCZNEJ METODY SKALOWANIA Z ELEMENTAMI QDA DO OCENY JAKOŚCI PRODUKTÓW OWOCOWYCH I WARZYWNYCH ORAZ STEROWANIE JAKOŚCIĄ OTRZYMANYCH WYNIKÓW

Streszczenie

Opracowano metodę określania jakości sensorycznej produktów owocowych i warzywnych, należącą do metod skalowania z elementami QDA (*Quality Data Analysis*), spełniającą założenia SQCCP (*Sensory Quality Critical Control Point*) i przydatną w systemie punktowym. Materiałem użytym do opracowania metody były produkty owocowe i warzywne pochodzące od producentów oraz zakupione w handlu detalicznym, poddane analizie w ciągu jednego roku.

Podstawowymi elementami opracowanej metody są: ocena cech szczegółowych produktu, wyznaczona na ich podstawie wartość cech ogólnych oraz ogólna ocena jakości obliczona z zastosowaniem współczynników ważkości. Opisano tryb postępowania podczas analizy, walidację metody i sterowanie jakością wyników badań w ramach zarządzania powtarzalnością wewnątrzlaboratoryjną. Wynik oceny sensorycznej uzyskany tą metodą składa się z liczbowych ocen cech ogólnych z opisanymi słownie i skwantyfikowanymi cechami szczegółowymi, z podanymi rozkładami liczbowymi ocen cech szczegółowych w zespole oraz średniej ważonej ocen cech ogólnych, czyli ogólnej oceny jakości produktu. Sterowanie jakością wyników badań polegało na monitorowaniu powtarzalności wyników analizy wobec ustalonej granicy powtarzalności równej 1,5 pkt. Opracowana metoda charakteryzowała się powtarzalnością w granicach $0,08 \div 0,66$ pkt w przypadku wyższego poziomu wartości ocen cech ogólnych i $0,00 \div 0,76$ pkt – w odniesieniu do niższego poziomu wartości.

Słowa kluczowe: produkty owocowe i warzywne, ocena sensoryczna, ogólna ocena jakości, współczynniki ważkości, kontrola jakości wyników, granice powtarzalności

Wprowadzenie

Nieodzownym instrumentem zarządzania jakością oraz ulepszania już znanych i projektowania nowych produktów spożywczych są metody analizy sensorycznej [1].

*Mgr inż. J. Danielczuk, mgr A. G. Hałasińska, dr inż. S. Skąpska, Zakład Technologii Przetworów Owo-
cowych i Warzywnych, Instytut Biotechnologii Przemysłu Rolno-Spożywczego im. prof. Wacława Dą-
browskiego, ul. Rakowiecka 36, 02-532 Warszawa. Kontakt: joanna.danielczuk@ibprs.pl*

Stosowanie odpowiednich procedur oceny, udział zespołu o sprawdzonej, wysokiej wrażliwości sensorycznej, potwierdzanej poprzez okresowe wykonywanie testów [7, 10, 15, 16, 17, 18] i w badaniach biegłości [19] oraz zachowanie określonych warunków zewnętrznych podczas oceny [11] powinny gwarantować odpowiednią powtarzalność i odtwarzalność wyników metody [2, 3, 12].

Jednym z systemów zarządzania jakością w przedsiębiorstwach, nawiązującym do HACCP, mającym na celu utrzymanie jakości sensorycznej produktu, jest SQCCP (ang. *Sensory Quality Critical Control Point*). Został on opracowany przez Baryłko-Pikielną [4]. System zakłada kontrolowanie czynników surowcowych, recepturowych i technologicznych, mających wpływ na jakość sensoryczną gotowego produktu. Główne założenia tego systemu to:

1. określenie preferowanego przez konsumenta profilu sensorycznego produktu na podstawie badań konsumenckich i analizy profilowej produktu,
2. określenie cech sensorycznych decydujących o preferencji i akceptacji produktu,
3. zbudowanie, przygotowanie i przeszkolenie zespołu sensorycznego, który będzie przeprowadzał badania.

Metoda QDA (ang. *Quantitative Descriptive Analysis*), czyli Ilościowa Analiza Opisowa [2], polega na ilościowej ocenie cech szczegółowych, takich jak: barwa, wygląd, smak, zapach, konsystencja, składających się na cechy ogólne produktu. Wynikiem analizy jest szczegółowa ilościowo-jakościowa charakterystyka sensoryczna produktu.

Celem podjętych badań było opracowanie metody oceny sensorycznej (w skali 6-punktowej) z elementami QDA, obejmującej przeprowadzenie walidacji polegającej na oszacowaniu jej parametrów charakterystycznych, dotyczących powtarzalności i niepewności wyniku oraz ustalenie trybu sterowania jakością wyników.

Materiał i metody badań

Materiał do opracowania metody stanowiły produkty owocowe i warzywne pochodzące od producentów i dystrybutorów oraz nabywane w handlu detalicznym, które zebrano w ciągu jednego roku. Produkty, dla których opracowano metodę, podzielono na cztery grupy ze względu na charakterystykę wyglądu:

1. Owocowe produkty płynne – soki, nektary, napoje i syropy,
2. Produkty warzywne o małych wymiarach w zalewie – fasolka konserwowa, pomidory krojone w puszkach, kukurydza konserwowa, groszek konserwowy, mieszanki warzywne, oliwki, pieczarki marynowane, sałatki octowe warzywne, buraczki tarte wiórki, kapusta czerwona krojona, kapary, jabłuszka kaparowe, papryczki jalapeño,

3. Produkty warzywne lub owocowe o dużych wymiarach w zalewie – ananasy w plastrach, brzoskwinie połówki, pomidory całe w puszcze, ogórki konserwowe, korniszony konserwowe, papryki konserwowe,
4. Produkty gęste lub półgęste owocowe lub warzywne – dżemy, konfitury, marmolady, powidła śliwkowe, koncentraty pomidorowe, przeciery pomidorowe, chrzany tarte, soki i nektary przecierowe, buraczki zasmażane, marchewka zasmażana, jabłka prażone, sosy.

Przy opracowywaniu metody oceny sensorycznej uwzględniono elementy metod skalowania i metod opisowych QDA.

W metodach skalowania stosuje się specjalnie opracowane skale i systemy punktowe [2, 9, 12]. Skalowanie polega na ilościowym wyrażeniu jakościowych charakterystyk ocenianego produktu według tzw. skal kategorii. Są to uszeregowane hierarchicznie terminy słowne i liczby określające umownie różne poziomy jakości ocenianej cechy. Dla dobrej porównywalności ocen konieczne jest identyczne rozumienie terminów skali przez oceniających. Posługując się skalą kategorii, oceniający ma przypisać jakość cechy do odpowiedniej kategorii i nadać jej odpowiednią liczbę punktów.

W 6-punktowej metodzie skalowania jakości według ISO 4121:2003 [9] wartości punktowe ocen zostały zdefiniowane w następujący sposób:

6 pkt – idealna, typowa,

5 pkt – typowa z niewielkimi odchyleniami – określana jako lekka zmiana jakości,

4 pkt – słabo zauważalne odchylenia i małe defekty – określana jako średnia zmiana jakości,

3 pkt – zauważalne odchylenia i defekty – określana jako wyraźna zmiana jakości,

2 pkt – defekty silne do bardzo silnych – określana jako silna zmiana jakości,

1 pkt – jakość całkowicie zmieniona – określana jako bardzo silna zmiana jakości.

W opracowywanej metodzie oceniano w skali 6-punktowej cechy szczegółowe produktów. Oceny te miały przełożenie na wartości ocen cech ogólnych – barwy, wyglądu, smaku zapachu, konsystencji. Do obliczeń wartości ogólnej oceny jakości zastosowano współczynniki ważkości cech ogólnych. Mnożniki te odzwierciedlały ważkość każdej ocenionej cechy w całkowitej ocenie produktu. Zostały one przyjęte na podstawie długoletniego doświadczenia autorów w analizach sensorycznych produktów owocowych i warzywnych.

Metody opisowe, inaczej profilowania lub QDA [4, 6, 13], określają jakościowo i ilościowo charakterystykę sensoryczną produktu. Dostarczają kompleksowych informacji sensorycznych, często w postaci graficznej, pozwalają na szybkie wnioskowanie przy opracowywaniu nowych produktów. Wskazują nawet na małe zmiany jakości cech produktów. Ogólne cechy sensoryczne produktu są w niej traktowane jako zbiór elementarnych cech jednostkowych. Można je rozróżnić, zidentyfikować i określić

intensywność. Do metod tych należy również metoda profilowania różnicowego. Uwzględnia się w niej różnicę cech ocenianego produktu i produktu uznanego za wzorcowy. Przykładem jest metoda profilowej analizy Spectrum, której autorem jest Civile [6, 14].

Przy obliczaniu wyników opracowaną metodą odrzucano jednostkowe punktowe oceny odstające przy użyciu testu Q-Dixona [22]. Oceny odrzucano razem z opisami słownymi tej cechy szczegółowej, która wpływała na wysokość oceny cechy ogólnej.

Dla celów walidacji metody powtarzalność wyników analizowano bez odrzucania ocen odstających, jako granicy powtarzalności. Obliczano jej wartości osobno dla cech ogólnych i ogólnej oceny jakości produktów każdej z przyjętych czterech grup zgodnie z równaniem:

$$r = 2 \times s_r \times \sqrt{2} \text{ (co w przybliżeniu wynosi: } r = 2,8 \times s_r \text{ [20])},$$

gdzie r – granica powtarzalności, s_r – odchylenie standardowe powtarzalności wyników.

Omawiana metoda, gwarantująca odpowiednią powtarzalność i odtwarzalność wyników, została objęta zakresem akredytacji Polskiego Centrum Akredytacji Nr AB 452 [8].

Wyniki i dyskusja

Podstawy teoretyczne metody

Przy opracowywaniu metody uwzględniono, że oceniane cechy ogólne, takie jak barwa, wygląd, smak, zapach czy konsystencja nie są pojedynczymi cechami jakości produktu, lecz kompleksami jakości wielu cech szczegółowych [2]. Podobnie jak np. w metodzie Spectrum [6, 14], przyjęto, że w analizie produktu jednego rodzaju za każdym razem bierze się pod uwagę i ocenia te same cechy szczegółowe, co umożliwia uzyskanie dobrej powtarzalności ocen [2, 4]. Jakość cech szczegółowych, również jak w metodzie Spectrum, była oceniana w odniesieniu do jakości cech szczegółowych w produktach wzorcowych. Do oceny ilościowej jakości cech szczegółowych zastosowano 6-punktową metodę skalowania. Poziom jakości cech szczegółowych wpływał na ocenę jakości związanej cechy ogólnej produktu, a następnie samego produktu, co jest podstawą metody QDA.

Nowymi elementami opracowanej metody są: indywidualna punktacja cech szczegółowych w skali 6-punktowej z przewidzianego dla tej cechy zakresu, przełożenie ilościowych ocen cech szczegółowych na ilościową ocenę cechy ogólnej, przełożenie ocen cech ogólnych na ogólną ocenę jakości.

Wynik oceny sensorycznej uzyskany tą metodą był więc wieloelementowy. Składał się z liczbowych ocen cech ogólnych, do których przypisane były opisane słownie i ocenione ilościowo cechy szczegółowe z rozkładami punktacji w zespole. Podsumo-

waniem była średnia ważona ocen cech ogólnych, czyli ogólna ocena jakości produktu. Niewiele jest metod, w wyniku których uzyskuje się tak dużo elementów jakości sensorycznej produktu. Przyjęto założenie, że wyniki żadnej z zastosowanych metod przedstawionych powyżej (opisy słowne, ilościowa ocena cech ogólnych i szczegółowych, ogólna ocena jakości, rozkłady ocen szczegółowych w zespole) nie umożliwią scharakteryzowania produktu z taką dokładnością i powtarzalnością jak wyniki prezentowanej metody, opracowanej z wykorzystaniem różnych ich elementów i z zachowaniem odpowiedniej kontroli.

Zasada opracowanej metody

Analiza sensoryczna produktu opracowaną metodą polegała na ocenie w skali 6-punktowej opisanych słownie cech szczegółowych, przypisanych do cech ogólnych. Przyjęto dla nich różne zakresy punktacji z zakresu 1 ÷ 6 pkt. Najniższa ocena za cechę szczegółową była oceną za cechę ogólną tej cechy szczegółowej. Z ocen ogólnych wynikała ogólna ocena jakości, jako średnia ważona ocen cech ogólnych z zastosowaniem współczynników ważkości.

Cechy szczegółowe i ich oceny w skali 6-punktowej

Cechy szczegółowe przypisane do cech ogólnych ustalono indywidualnie dla każdego rodzaju produktu i zamieszczono w kartach opisu cech szczegółowych. Ze względu na różnorodność matrycy metodykę przedstawiono na przykładzie jednego produktu: mieszanka warzywna w zalewie z 2. grupy. W przypadku pozostałych produktów analiza przebiegała analogicznie.

Do oceny każdej cechy szczegółowej przewidziano, na podstawie doświadczenia autorów, zakresy punktacji z maksymalnego zakresu 1 ÷ 6 pkt, w zależności od wpływu tej cechy na jakość cechy ogólnej (tab. 1). Możliwe do zastosowania zakresy punktacji np. smaku: charakterystyczny: 4 ÷ 6 pkt, bez smaku obcego: 1 ÷ 3 pkt, właściwie intensywny: 4 ÷ 6 pkt. Brano pod uwagę, że pogorszenie jakości poszczególnych cech szczegółowych w nierównym stopniu wpływało na obniżenie jakości cechy ogólnej. Na przykład wystąpienie lekkiego smaku obcego (zmienionego np. przez psucie) powodowało obniżenie oceny cechy ogólnej do 3 pkt. Wystąpienie natomiast smaku lekko niecharakterystycznego (zmienionego np. przez niedojrzałe warzywa czy owoce) powodowało obniżenie oceny jedynie do 5 pkt, bez możliwości obniżania punktacji do ocen niższych niż 4 pkt. Ocenę jakości cech szczegółowych wykonywano, uwzględniając obniżanie jakości według zasady przedstawionej na następującym przykładzie: określenie szczegółowej cechy smaku jako „lekko za mało zharmonizowany” oznacza stwierdzenie lekkiego obniżenia jakości cechy szczegółowej „zharmonizowany” z 6 pkt do 5 pkt. Odniesieniem przy ocenie jakości cech szczegółowych były charakte-

rystyki tych cech w produktach ustalonych jako wzorcowe. Były one okresowo wybierane jako najwyższej ocenione próbki handlowe.

Tabela 1. Przykładowe cechy szczegółowe mieszanki wielowarzywnej w zalewie i ich punktacja w odniesieniu do cechy ogólnej „smak”

Table 1. Example of particular characteristics of vegetable mix in brine and their scores as regards general characteristic of “taste”

Cecha ogólna General feature	Cechy szczegółowe Specific features
Smak / Taste	- charakterystyczny (4 - 6 pkt) / characteristic (4 - 6 p.) - posmak charakterystyczny (3 - 6 pkt) / characteristic aftertaste (3 - 6 p.) - zharmonizowany (1 - 6 pkt) / harmonized (1 - 6 p.) - bez smaku obcego (1 - 3 pkt) / no foreign taste (1 - 3 p.) - właściwie intensywny (4 - 6 pkt) / properly intense (4 - 6 p.) - bez wyczuwalnych zanieczyszczeń mineralnych (1 - 4 pkt) / no noticeable mineral impurities (1 - 4 p.) - wyczuwalne wszystkie składniki (3 - 6 pkt) / all ingredients noticeable (3 - 6 p.) - wyczuwalne wszystkie przyprawy (4 - 6 pkt) / all spices perceptible (4 - 6 p.) - niemączysty* (4 - 6 pkt) / non-floury (4 - 6 p.)

*np. w przypadku nasion kukurydzy / eg. maize seeds

Cechy ogólne i ogólna ocena jakości

W grupie 1. obejmującej produkty płynne oceniano takie cechy ogólne, jak: barwa, wygląd, zapach i smak, natomiast w grupach 2., 3. i 4. dodatkowo konsystencję. Ocena za cechę ogólną była najniższą oceną w skali 6-punktowej za cechę szczegółową tej cechy ogólnej.

Ogólna ocena jakości produktu była średnią ważoną zespołu ze średnich ocen cech ogólnych. Ogólną ocenę jakości oraz oceny cech ogólnych produktu można było zakwalifikować do klas jakości:

- 1) jakość bardzo dobra: 6,00 ÷ 5,00 pkt,
- 2) jakość dobra: 4,99 ÷ 4,00 pkt,
- 3) jakość dostateczna: 3,99 ÷ 3,00 pkt,
- 4) jakość niedostateczna: 2,99 ÷ 2,00 pkt,
- 5) jakość zła: poniżej 2,00 pkt.

Bez względu na wartość ogólnej oceny jakości przyjęto, że jakość produktu uznaje się za niedostateczną, jeśli chociaż jedna z cech ogólnych uzyska ocenę poniżej 3 pkt w skali 6-punktowej.

Współczynniki ważkości cech ogólnych

Istnieją dwa sposoby ustalania współczynników ważkości cech: arbitralne – wynikające z doświadczenia i wiedzy zespołu albo wykorzystujące metody matematyczne [5]. Wartości współczynników ważkości w opracowanej metodzie przyjęto arbitralnie, zgodnie z doświadczeniem autorów, zależnie od zakładanego stopnia, w jakim dana cecha ogólna determinuje ogólną ocenę jakości danego rodzaju produktu (tab. 2).

Tabela 2. Współczynniki ważkości cech ogólnych produktu: mieszanka wielowarzywna w zalewie
Table 2. The examples of weighting factors for general attributes of product vegetable mix in brine

Rodzaj produktu Type of product	Cechy ogólne General features	Współczynnik ważkości Weighting factor
Mieszanka wielowarzywna w zalewie Vegetable mix in brine	barwa / colour	0,10
	zapach / smell	0,10
	smak / taste	0,30
	wygląd / appearance	0,20
	konsystencja / consistency	0,30

Tryb przeprowadzania i dokumentowania oceny

Przy użyciu opracowanej metody oceny i opisu wad cech szczegółowych analizowanego produktu (tab. 1) osoby z zespołu wypełniały karty ocen w skali 6-punktowej (tab. 3). W kolejnej kolumnie podawano oceny cech ogólnych w skali 6-punktowej, stanowiące najniższe wartości ocen cech szczegółowych.

W omawianym przykładzie mieszanki warzywnej w zalewie ocena za zapach wynosiła 4 pkt i była najniższą z wartości ocen jakości cech szczegółowych tej cechy. Przyznano ją za średnio za niską intensywność zapachu i średnio za niską specyficzność zapachu. Ocena za smak wynosiła 5 pkt i była oceną za lekko za niską specyficzność smaku, a ocena za konsystencję wynosiła 5 pkt i była oceną za lekko zbyt dużą twardość. Pozostałe cechy nie miały obniżonej jakości, więc barwa i wygląd zostały ocenione na poziomie 6 pkt. W kartach umieszcza się opisy wad cech szczegółowych z punktacją tylko w przypadku obniżenia ocen poniżej 6 pkt.

Wyniki ocen zespołu dotyczące próbki gromadzone były w jednej karcie podsumowania ocen (tab. 4). W kartach podsumowań podawano średnie oceny ważone za cechy i ogólną ocenę jakości wyznaczoną za pomocą współczynników ważkości.

Tabela 3. Przykładowa karta oceny produktu: mieszanka warzywna w zalewie

Table 3. The example of products score card: vegetable mix in brine

Matryca/badana próbka Matrix/analyzed sample		Rodzaj próbki: mieszanka warzywna w zalewie Type of product: vegetable mix in brine	
Metoda badania Method of analysis		Metoda punktowa [1 - 6 pkt] Scoring method [1 - 6 p.]	
Imię i nazwisko oceniającego Full name of panellist		X	
Cecha ogólna General feature	Opis cechy szczegółowej z oceną jakości Description of specific feature incl. quality score		Ocena cechy ogólnej [pkt] General feature score [p.]
Barwa / Colour	-		6
Wygląd / Appearance	-		6
Zapach / Smell	lekko niecharakterystyczny (5) slightly non-characteristic (5) średnio niecharakterystyczny (4) medium non-characteristic (4) średnio za mało intensywny (4) medium too little intensive (4)		4
Smak / Taste	lekko niecharakterystyczny (5) slightly non-characteristic (5)		5
Konsystencja Consistency	lekko zbyt twarda (5) slightly too hard (5)		5

Analiza takiej karty polegała m.in. na odrzuceniu punktowych, jednostkowych ocen ogólnych odstających według testu Q-Dixona [22], razem z opisami słownymi i oceną tej cechy szczegółowej, która wpływała na wysokość odrzucanej oceny cechy ogólnej.

Efektem oceny była ogólna ocena jakości produktu obliczona jako średnia z ogólnych ocen jakości wystawionych przez każdego członka zespołu (w przykładzie tab. 4 – 5,26 pkt). Kolejnym elementem wyniku oceny były wartości średnie ocen cech ogólnych. Ponadto każda cecha ogólna produktu, jak również ogólna ocena jakości produktu, mogły zostać przypisane do odpowiedniej klasy jakości. Można było również stwierdzić, że w skali 6-punktowej żadna cecha ogólna nie uzyskała oceny poniżej 3 pkt, czyli produkt nie został zdyskwalifikowany za niedostateczną jakość.

Tabela 4. Przykładowa karta podsumowania oceny produktu: mieszanka warzywna w zalewie

Table 4. Example of recapitulation score card of product: vegetable mix in brine

Karta podsumowania oceny sensorycznej / Recapitulation score card						
Oceniający Panellist	Mieszanka warzywna w zalewie Vegetable mix in brine					Date: Date:
	Badana cecha ogólna / General feature analyzed					Ogólna ocena jako- ści (ważona) Overall quality score (weighted)
	Barwa Colour	Wygląd Appearance	Zapach Smell	Smak Taste	Konsystencja Consistency	
1	5	6	4	4	6	4,80
2	6	5	5	5	6	5,45
3	6	6	5	5	6	5,55
4	6	6	5	4	5	5,15
5	6	5	4	5	5	5,10
6	6	6	5	5	6	5,55
7	5	6	5	5	6	5,25
Ocena średnia za cechę ogólną Average score assigned to general feature	5,71	5,71	4,71	4,71	5,71	5,26
Współczynnik ważkości Weighting factor	0,30	0,10	0,20	0,25	0,15	
Oceny ważone za cechę ogólną Weighted scores assigned to general feature weighted	1,71	0,57	0,94	1,18	0,86	
Opis jakości cech szczegółowych (podawany w przypadku obniżonej jakości) i ich punktacje Description of quality of specific features (given in case of decreased quality) and their scores						
Barwa Colour	lekko zbyt ciemna ^a (5) ^b (2/7) ^c slightly too dark ^a (5) ^b (2/7) ^c					
Wygląd Appearance	lekko niecharakterystyczny (5) (2/7) slightly non-characteristic (5) (2/7)					
Zapach Smell	lekko niecharakterystyczny (5) (5/7), średnio niecharakterystyczny (4) (2/7) slightly non-characteristic (5) (5/7), medium non-characteristic (4) (2/7)					
Smak Taste	lekko niezharmonizowany (5) (5/7), średnio niezcharakterystyczny (4) (2/7) slightly non-harmonized (5) (5/7), medium non-characteristic (4) (2/7)					
Konsystencja Consistency	lekko za twarda (5) (2/7) slightly too hard (5) (2/7)					

Objaśnienia / Explanatory notes:

a – opis słowny cechy szczegółowej „barwa” / description in words of “colour” specific feature;

b – punktacja za cechę szczegółową „barwa” / scores assigned to “colour” specific feature;

c – rozkład oceny cechy szczegółowej w zespole: 2 osoby na 7 oceniły barwę jako lekko zbyt ciemną, pozostałe osoby – 6 pkt / distribution of scores assigned to specific feature within panel: 2 out of 7 panel-lists assessed colour as slightly too dark.

Przy wartościach ocen cech ogólnych podawano dodatkowo liczbę osób z zespołu stwierdzających określone poziomy jakości wszystkich cech szczegółowych tej cechy ogólnej, który można nazwać rozkładem poziomu jakości cech ogólnych w zespole. Np. na podstawie tab. 4: ocena zapachu – wartość średnia w skali 6-punktowej zespołu wynosiła 4,71 pkt, z następującymi ocenami jakości cech szczegółowych: lekko za mało intensywny (5/7), średnio niecharakterystyczny (2/7). Taka ocena oznaczała, że 5 na 7 osób w zespole oceniło jakość cechy szczegółowej zapachu „odpowiednio intensywny”, jako lekko zmienioną, a 2 osoby oceniły cechę szczegółową „charakterystyczny” jako średnio zmienioną. Taki wynik wskazywał, że zespół był prawie jednomyślny przy wystawianiu oceny za zapach, jako lekko za mało intensywny. Niższą wagę miała ocena „średnio niecharakterystyczny”, którą wystawiły tylko 2 na 7 osób w zespole. Jednostkowe oceny były odrzucane jako odstające, gdy np. jedna osoba oceniła zapach jako średnio zmieniony. W taki sam sposób podawano rozkłady punktacji w skali 6-punktowej w odniesieniu do pozostałych cech ogólnych. Przedstawiały one, za jakie cechy szczegółowe cecha ogólna otrzymała określoną punktację i jaka była zgodność zespołu co do tej oceny. Wynikiem oceny produktu były wartości średnie zespołu ocen cech ogólnych i wartość średnia ogólnej oceny jakości produktu. Wartości te podawano z wartościami niepewności z dokładnością do części setnych. Przy odnośnikach do cech ogólnych wymieniano cechy szczegółowe, które spowodowały obniżenie oceny ogólnej za cechę.

Przy kolejnej ocenie tego produktu (mieszanek warzywna w zalewie) analiza przebiegała identycznie, gdyż zawsze zwracano uwagę na te same cechy szczegółowe, które są wymienione w kartach opisu cech szczegółowych. Był to element oceny skutkujący utrzymaniem właściwej powtarzalności ocen.

Sterowanie jakością wyników

Metodą sterowania jakością wyników było monitorowanie ich powtarzalności w opracowanych kartach (tab. 5). Można było za ich pomocą przedstawiać, porównywać i śledzić parametry zmienności wewnątrzlaboratoryjnej wyników metody. W celu sprawdzenia, czy granice powtarzalności wartości wyników nie przekraczały ustalonej wartości 1,5 pkt, przeprowadzana była analiza zebranych w ciągu roku wyników ocen, bez odrzucania wyników odstających według testu Q Dixona. Granicę powtarzalności obliczano osobno dla produktów każdej z przyjętych czterech grup analizowanych w ciągu roku. Dla wartości ocen każdej cechy, jak również ogólnej oceny jakości każdego produktu w każdej sesji obliczano odchylenia standardowe powtarzalności s_r , między ocenami jednostkowymi, czyli każdego oceniającego w zespole. Następnie z tych wartości obliczano wartości średnie odchyleń standardowych powtarzalności s_r ocen cech ogólnych i ogólnej oceny jakości z całego roku. Odchylenia standardowe powtarzalności były równocześnie liczbową miarą niepewności wyniku. Następnie

obliczano granice powtarzalności (r) każdej sesji między ocenającymi i średnie roczne granice powtarzalności. Przykładową analizę powtarzalności ocen sensorycznych barwy produktów warzywnych (również mieszanek warzywnych w zalewie) grupy 2. przedstawiono w tab. 5. Wartości powtarzalności każdej cechy ogólnej i ogólnej oceny jakości w odniesieniu do każdego produktu i każdej grupy były nanoszone na karty powtarzalności zespołu. Służyły one do sterowania jakością i analizy trendów powtarzalności wyników w każdej grupie produktów.

Taki sposób postępowania przy ocenie powtarzalności był prostszy i mniej czasochłonny w wykonaniu w laboratorium ocenającym rutynowo dużą liczbę produktów w stosunku do najczęściej stosowanego przeprowadzania dodatkowych wielokrotnych ocen jednego produktu, co wiązałoby się z dużymi kosztami i byłoby czasochłonne.

Produkty oceniane rutynowo były produktami rynkowymi i zazwyczaj charakteryzowały się dobrą lub bardzo dobrą klasą jakości. W celu sprawdzenia metody w dolnym zakresie punktacji wykonano 5-krotne analizy produktów z jednej partii produkcyjnej, o sztucznie obniżonej jakości cech ogólnych: od 3 do 1 pkt. Odchylenia standardowe powtarzalności i granice powtarzalności (r) między ocenami członków zespołu wyznaczane były analogicznie, jak opisano wyżej. W trakcie sterowania jakością tych wyników wartości granic powtarzalności również nie mogły przekroczyć ustalonego kryterium 1,5 pkt. Uzyskiwane trendy wyników były analizowane, a szczególniej analizie poddawano wyniki niezadowalające, niespełniające kryterium powtarzalności.

Tabela 5. Przykładowa analiza powtarzalności wewnątrzlaboratoryjnej w ramach sterowania jakością ocen sensorycznych barwy produktów warzywnych grupy 2: Produkty o małych wymiarach z zalewą

Table 5. Example of intra-laboratory replicability analysis under quality control monitoring of sensory analysis of colour of vegetable products from Group 2: Small-sized products with brine

Lp. No.	Kod próbki Code of sample	Badana próbka Analyzed sample	Ocena barwy Colour scores													Średni poziom Average level	S _r	r = 2,8*S _r
			Oceniający Panelist										Liczba oceniających Number of panellists					
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10						
1.	abc	Mieszanka warzywna w zalewie Vegetable mix in brine	6		6	6	6	6	6			6	7	6,00	0,00	0,00		
2.	abb	Groszek zielony w zalewie Green peas in brine	5		5	5	5	5	5			5	7	5,00	0,00	0,00		
3.	cba	Kukurydza konserwo- wa w zalewie Canned sweet maize in brine	6		6	6	6	6	6			6	7	6,00	0,00	0,00		

cd. Tab. 5.

[...]

42.	cca	Kapary w zalewie Capers in brine	6	6	6	6		6	6				6	6,00	0,00	0,00
43.	ccc	Mieszanka warzywna w zalewie Vegetable mix in brine	4	5	5	5		5	5				6	4,83	0,41	1,15
44.	aaa	Oliwki zielone w zalewie Green olives in brine	5	4	5	5		5	5				6	4,83	0,41	1,15

$r_{\text{sr}} / r_{\text{avg}}$	0,21
$s_r \text{ sr} / s_r \text{ avg}$	0,07

Parametry charakterystyczne metody ustalone w procesie walidacji

Nieznormalizowana metoda badawcza wymaga przeprowadzenia walidacji, czyli ustalenia charakterystyki metody i sprawdzenia, czy metoda jest przydatna do określonych celów [21, 23]. Elementem walidacji jest szacowanie wartości niepewności pomiaru. Jest to parametr charakteryzujący rozrzut wartości, czyli powtarzalność wyników, który można w uzasadniony sposób przypisać wielkości mierzonej. Niepewność standardową wyraża się jako odchylenie standardowe powtarzalności [21]. Do szacowania niepewności wartości wyników ocen cech ogólnych i ogólnej oceny jakości powyżej 3 pkt posłużyły zebrane w ciągu roku wyniki analiz. Niepewność i powtarzalność metody wyznaczono na podstawie wyników analiz następujących produktów: z grupy 1. – 46 próbek, z grupy 2. – 44 próbki (między innymi mieszanki warzywnej w zalewie), z grupy 3. – 39 próbek i z grupy 4. – 57 próbek – razem 186 próbek. W przypadku wartości wyników na niższym poziomie (≤ 3 pkt) niepewność i powtarzalność wyznaczono na podstawie wyników 5-krotnie powtórzonych analiz jednej próbki o sztucznie obniżonej jakości cech. Ocenie poddano: nektar z czarnych porzeczek (grupa 1), groszek w puszcze (grupa 2), paprykę konserwową (grupa 3) i chrzan w occie (grupa 4). W kolejnym roku wartości niepewności i granic powtarzalności na wyższym i niższym poziomie wartości były analizowane na innych produktach i uległy zmianie w granicach dopuszczalnych kryteriów.

Jako miarę niepewności przyjęto wartości odchyłeń standardowych ocen za cechy ogólne i za ogólne oceny jakości [23]. W przypadku ocen o wartościach powyżej 3 pkt przyjęto odchylenia standardowe powtarzalności między oceniającymi, a dla próbek o poziomie jakości cech i ogólnej oceny jakości niższych i równych 3 pkt – wyniki odchyłeń standardowych ocen cech ogólnych i ogólnej oceny jakości z 5-krotnych

Tabela 6. Niepewności – jako odchylenia standardowe powtarzalności (sr) i granice powtarzalności (r) wyników analizy sensorycznej

Table 6. Uncertainties - as (sr) standard replicability deviations and (r) limits of replicability for sensory analysis results

Grupa Group		Wysoki poziom ocen: > 3 pkt High score level: > 3 p.		Niski poziom ocen: ≤ 3 pkt Low score level: ≤ 3 p.	
Grupa 1. Produkty płynne Group 1. Liquid products	Cecha ogólna General feature	46 próbek 46 samples		1 próbka nektaru z czarnej porzeczki – 5 powtórzeń 1 sample of black currant nectar – 5 replicates	
		sr	r	sr	r
	Barwa / Colour	0,11	0,31	0,05	0,14
	Zapach / Smell	0,22	0,62	0,24	0,67
	Smak / Taste	0,23	0,64	0,09	0,25
	Wygląd / Appearance	0,03	0,08	0,09	0,25
	Ogólna ocena jakości Overall quality score	0,25	0,69	0,16	0,45
Grupa 2. Produkty o małych wymiarach z zalewą Group 2. Small-sized products with brine	Cecha ogólna General feature	44 próbki 44 samples		1 próbka groszku w puszcze – 5 powtórzeń 1 sample of canned been – 5 replicates	
		sr	r	sr	r
	Barwa / Colour	0,07	0,21	0,09	0,25
	Zapach / Smell	0,14	0,39	0,00	0,00
	Smak / Taste	0,19	0,54	0,09	0,25
	Wygląd / Appearance	0,14	0,38	0,00	0,00
	Konsystencja Consistency	0,23	0,63	0,00	0,00
	Ogólna ocena jakości Overall quality score	0,27	0,75	0,09	0,25
Grupa 3. Produkty o dużych wymiarach z zalewą Group 3. Big-sized products with brine	Cecha ogólna General feature	Wysoki poziom ocen: > 3 pkt High score level: > 3 p.		Niski poziom ocen: ≤ 3 pkt Low score level: ≤ 3 pkt	
		39 próbek 39 samples		1 próbka papryki konserwowej – 5 powtórzeń 1 sample of canned sweet pepper in brine – 5 replicates	
		sr	r	sr	r
	Barwa / Colour	0,16	0,45	0,20	0,56
	Zapach / Smell	0,15	0,41	0,20	0,56
	Smak / Taste	0,22	0,61	0,00	0,00
	Wygląd / Appearance	0,15	0,43	0,13	0,36
	Konsystencja Consistency	0,24	0,66	0,12	0,34
	Ogólna ocena jakości Overall quality score	0,10	0,28	0,04	0,11

cd. Tab. 6.

Grupa 4. Produkty przecierowe Group 4. Puree products	Cecha ogólna General feature	57 próbek 57 samples		1 próbka chrzanu w occie – 5 powtórzeń 1 sample of horseradish – 5 replicates	
		sr	r	sr	r
	Barwa / Colour	0,09	0,24	0,25	0,70
	Zapach / Smell	0,20	0,55	0,10	0,28
	Smak / Taste	0,19	0,54	0,27	0,76
	Wygląd / Appearance	0,11	0,31	0,00	0,00
	Konsystencja Consistency	0,16	0,46	0,09	0,25
	Ogólna ocena jakości Overall quality score	0,07	0,19	0,18	0,50

analiz jednego produktu, wykonywanych co kilka dni przez cały zespół o zmieniającym się składzie. Niepewności te i wynikające wartości granic powtarzalności podano w tab. 6.

Uzyskano zadowalające wartości niepewności, jako odchylenia standardowe powtarzalności (s_r), we wszystkich grupach produktów, na wyższym i niższym poziomie ocen. Nie przekraczały one przyjętej granicy powtarzalności $r = 1,5$ pkt (czyli $s_r \leq 0,54$ pkt).

Na wyższym poziomie ocen (> 3 pkt) najwyższe, ale zadowalające (przy założonym kryterium) wartości odchylenia standardowych powtarzalności cech uzyskano w grupach: 1. – zapach (0,22 pkt) i smak (0,23 pkt), 2. – smak (0,19 pkt) i konsystencja (0,23 pkt), 3. – smak (0,22 pkt) i konsystencja (0,24 pkt), a w 4. – zapach (0,20 pkt). Dość wysoką niepewnością obarczone były wyniki ocen smaku i konsystencji. W przypadku ocen smaku można to wyjaśnić tak, że cecha ta miała najbardziej zróżnicowane cechy szczegółowe spośród cech ogólnych i ich największą liczbę, co mogło stanowić trudność przy uzyskaniu zbieżnych wartości wyników powtarzanej oceny. Wysokie niepewności w przypadku konsystencji w grupach 2. i 3. mogły wynikać z tego, że ocena zależała od konsystencji każdego składnika produktu lub elementów produktu w tych grupach i dlatego była trudniejsza. Najniższą wartość niepewności stwierdzono w wynikach oceny wyglądu w grupie 1. Była to cecha stosunkowo łatwa do oceny, z małą liczbą cech szczegółowych.

Wyższe wartości niepewności ogólnej oceny jakości, również nieprzekraczające przyjętego kryterium, uzyskano w grupach 1. i 2. odpowiednio: 0,25 pkt i 0,27 pkt. Niepewności wyników cech ogólnych w grupach nie wynikały bezpośrednio z wartości niepewności ocen ogólnych w tych grupach. Było to związane ze sposobem ich obliczania.

Przy niższym poziomie ocen, w przypadku wielu cech ogólnych odchylenia standardowe były równe 0,00 pkt, np. w grupie 2. – zapach, wygląd i konsystencja, w grupie 3. – smak i w grupie 4. – wygląd. Mogło to wynikać z inaczej przeprowadzanego szacowania niepewności na niższym poziomie, czyli z dużo niższej liczby powtórzeń. Mimo rzadziej wykonywanych ocen, przy tym zakresie punktacji, poziom niepewności ocen był zbliżony do niepewności ocen o wyższych wartościach. Najwyższa niepewność wyników dotyczyła smaku w grupie 4. – 0,27 pkt.

Podsumowanie walidacji metody na podstawie oszacowanych wartości granic powtarzalności wyników

Wartości granic powtarzalności, jako pochodne wartości odchyłeń standardowych powtarzalności ($r = 2,8 \times s_r$) czterech grup produktów, każdej cechy ogólnej i ogólnej oceny jakości produktu opracowanej metody nie przekraczały przyjętej granicy powtarzalności (1,5 pkt.). Metoda spełniła założenie walidacyjne. W przypadku cech ogólnych i przy wyższym poziomie ocen wartości powtarzalności zawierały się w granicach od 0,08 pkt (grupa 1. – wygląd) do 0,66 pkt (grupa 3. – konsystencja). W niższym poziomie ocen zakres granic powtarzalności był zbliżony. Wynosił od 0,00 pkt (kilka cech wymienionych wyżej) do 0,76 pkt (grupa 4. – smak).

Wnioski

1. Opracowana metoda sensoryczna, gwarantująca powtarzalność i odtwarzalność wyników, może być przydatna do oceny jakości różnych grup produktów owocowych i warzywnych.
2. Przy użyciu zaproponowanej metody można przedstawić kompleksowo sensoryczną jakość produktu, zarówno pod względem rozkładu jakości między cechami, jak również w obrębie jakości cech ogólnych za pomocą cech szczegółowych. Można przedstawić również zgodność zespołu co do oceny cech szczegółowych.
3. Powtarzalność wyników można osiągnąć dzięki rygorystycznemu przestrzeganiu procedur dotyczących postępowania w trakcie analizy, warunków środowiskowych w trakcie analizy i szkoleniom zespołu sensorycznego.

Literatura

- [1] Babicz-Zielińska E., Rybowska A., Obińska W.: *Sensoryczna ocena jakości żywności*. Wyd. AM w Gdyni, Gdynia 2009.
- [2] Barylko-Pikielna N., Matuszewska I.: *Sensoryczne badania żywności. Podstawy. Metody. Zastosowania*. Wyd. II. Wyd. Nauk. PTTŻ, Kraków 2014.
- [3] Barylko-Pikielna N., Gawęcki J.: *Zmysły a jakość żywności i żywienia*. Wyd. AR, Poznań 2007.
- [4] Barylko-Pikielna N.: *Sensoryczna analiza profilowa i ocena konsumencka w opracowaniu nowych produktów żywnościowych*. Food product development – opracowywanie nowych produktów żywnościowych. Wyd. AR, Poznań 1995.

- [5] Barylko-Pikielna N., Metelski K.: Determination of contribution coefficients in sensory scoring of over-all quality. *J. Food Sci.*, 1964, **29** (1), 109-111.
- [6] Civille G.V.: Descriptive analysis. Course notes for IFT short course in sensory analysis. Chap. 6. Ed. Institute of Food Technology, Chicago, USA, 1979.
- [7] Danielczuk J, Skąpska S., Hałasińska A.G: Metody szkolenia zespołu analizy sensorycznej w aspekcie spełnienia wymogów akredytacji. *PNiTPRS*, 2015, **70** (3), 99-113.
- [8] EA-4/09. Akredytacja laboratoriów badań sensorycznych.
- [9] ISO 4121:2003 Sensory Analysis. Guidelines for the use of quantitative response scales.
- [10] ISO 8586:2012. Sensory Analysis. General guidelines for the selection, training and monitoring of selected assessors and expert sensory.
- [11] ISO 8589:2007. Sensory Analysis. General guidance for the design of test rooms.
- [12] Jędryka T.: Metody sensoryczne. Wyd. AE w Krakowie, Kraków 2001.
- [13] Małecka M.: Wybrane metody analizy żywności. Wyd. AE w Poznaniu, Poznań 2003.
- [14] Meilgaard M.C., Civille, G.V., Carr B.T.: Sensory evaluation techniques, 4th ed. CRC Press, Boca Raton 2006.
- [15] PN-ISO 5496:1997. Analiza sensoryczna. Metodologia. Wprowadzenie i szkolenie oceniających w wykrywaniu i rozpoznawaniu zapachów.
- [16] ISO 3972:2011. Sensory analysis. Methodology. Method of investigating sensitivity of taste.
- [17] ISO 6658:2005. Sensory analysis. Methodology. General guidance.
- [18] PN-EN ISO 4120:2007. Analiza sensoryczna. Metodologia. Metoda trójkątowa.
- [19] PN-EN ISO/IEC 17043:2011. Ocena zgodności. Ogólne wymagania dotyczące badania biegłości.
- [20] PN-ISO 5725-6:2002. Dokładność (poprawność i precyzja) metod pomiarowych i wyników pomiarów. Cz. 6. Stosowanie w praktyce wartości określających dokładność.
- [21] Przydatność metod analitycznych do określonych celów. Red. K. Krzyśko, Z. Dobkowski. *Biul. Inf. Klub POLLAB*, 2000, **2** (30).
- [22] Rorabacher D.B.: Statistical treatment for rejection of deviant values: Critical values of Dixon's "Q" parameter and related subrange ratios at the 95 % confidence level. *Anal. Chem.*, 1991, **63** (2), 139-146.
- [23] Wyrażanie niepewności pomiaru. Przewodnik. GUM, Warszawa 1999.

DEVELOPMENT AND VALIDATION OF SENSORY SCALING METHOD WITH QDA ELEMENTS TO EVALUATE QUALITY OF FRUIT AND VEGETABLE PRODUCTS AS WELL AS QUALITY CONTROL OF RESULTS OBTAINED

S u m m a r y

A method has been developed to evaluate sensory quality of fruit and vegetable products; the method developed belongs to a group of scaling methods with QDA (Quality Data Analysis) elements, it fulfils the assumptions of the SQCCP (Sensory Quality Critical Control Point) system and it is proven useful for this system. A material used to develop the method were fruit and vegetable products provided by producers or purchased in retail stores; those products were analyzed during a one year period.

Basic elements of the method developed are as follows: evaluation (by scores) of specific features of the product, value of its general features to be determined based of those features, and the overall quality score to be calculated using weighting factors. The procedure used during analysis was described as were the validation of the method and quality control of the analysis results under the intra-laboratory replicability monitoring. The result of the sensory analysis obtained using this method consists of numerical scores assigned to general features with specific features that are described in words and quantified as well as with quantitative distribution of scores of specific features within the panel, and of the weighted score of general features, i.e. the overall quality score of the product. The quality control of the results obtained using this method consisted in monitoring the replicability of the analysis results with regard to the set

replicability limit, which was 1.5 point. The method developed was characterized by replicability ranging between 0.08 and 0.66 point in the case of the higher value of scores assigned to general features and between 0.00 and 0.76 points in the case of lower values of those scores.

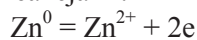
Key words: fruit and vegetable products, sensory analysis, overall quality score, weighting factors, quality control of results, limits of replicability ☒

HENRYK KOSTYRA, ELŻBIETA KOSTYRA, DAGMARA ŻŁOTKOWSKA

CHEMIA BIONIEORGANICZNA I BIOORGANICZNA ŻYWNOSCI

Przedstawiamy 4. część cyklu nt. „Chemia bionieorganiczna i bioorganiczna żywności”. Druk materiałów z tego cyklu rozpoczęliśmy w Żywności nr 1 (104), 2016.

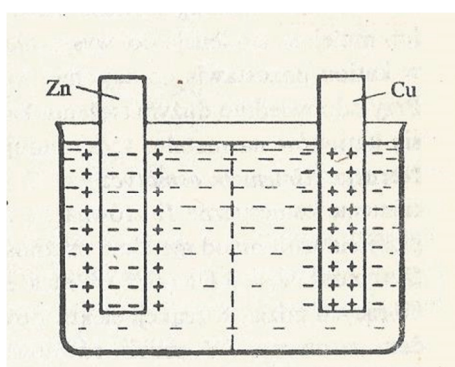
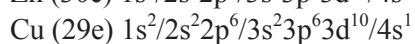
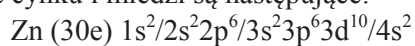
Podstawą zrozumienia natury procesu utleniania biologicznego są reakcje utleniania i redukcji. Pomimo powszechnego występowania tych reakcji w organizmach żywych oraz w żywności znajomość tego procesu jest niewystarczająca. Chcąc głębiej poznać istotę tych reakcji, konieczne jest przypomnienie niektórych zagadnień budowy atomów wraz z elementami chemii bionieorganicznej i bioorganicznej. Rozpocznijmy od wyjaśnienia istoty tworzenia się warstw podwójnych przy elektrodzie cynkowej i miedziowej (rys. 1). Atomy cynku na powierzchni metalu zanurzonego w jego soli mają tendencję do samorzutnego przechodzenia do roztworu w postaci kationów Zn^{2+} , przy czym każdy nowo utworzony kation pozostawia w metalu dwa wolne elektrony. W miarę wzrostu stężenia elektronów w metalu przybiera na sile proces odwrotny – przyciąganie dodatnich kationów do elektrody. Po zrównaniu się szybkości obu procesów elektroda osiąga stan równowagi z roztworem, a na jej powierzchni tworzy się *podwójna warstwa elektryczna*. Odwrotny proces ma miejsce przy elektrodzie miedziowej. Procesy te można zapisać reakcjami:



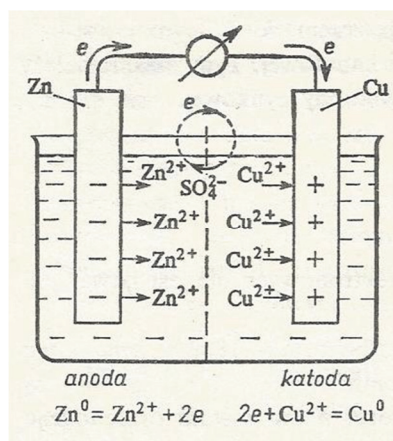
Potwierdzeniem istnienia stanu dynamicznej równowagi między jonami przechodzącymi od metalu przez warstwę podwójną do roztworu i od roztworu do metalu jest doświadczalnie zmierzony tzw. prąd wymiany, który dla układu Zn/Zn^{2+} wynosi

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.

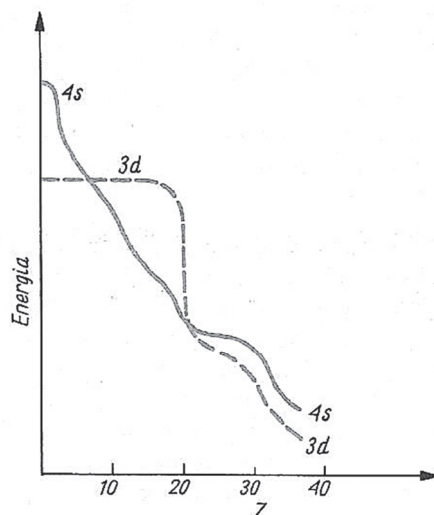
10^1 A/m^2 , a dla układu $\text{Cu/Cu}^{2+} - 10^{-6} \text{ A/m}^2$. Innym dowodem jest połączenie obu elektrod prętem drucianym, co prowadzi do przepływu prądu i powstania ogniwa Daniella (rys. 2). Warto zaznaczyć, że w metalach przejściowych dążenie do tworzenia kationów jest zaznaczone znacznie słabiej i metale te uzyskują względem roztworu przeważnie ładunek dodatni. Powstaje pytanie, jak wyjaśnić to zjawisko? Rozpocznijmy od rozmieszczenia elektronów na powłokach elektronowych obu pierwiastków. Konfiguracje elektronowe cynku i miedzi są następujące:



Rys. 1. Tworzenie się warstw podwójnych przy elektrodzie cynkowej i miedziowej



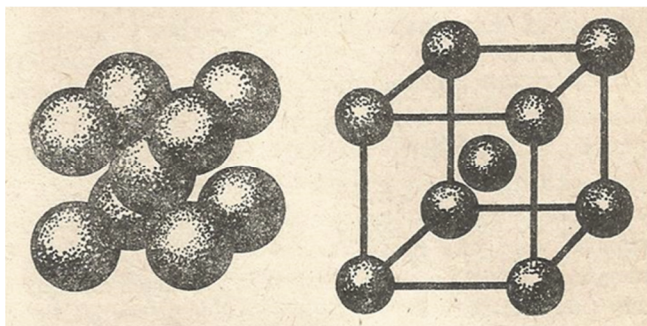
Rys. 2. Ogniwo Daniella (anoda – ujemna elektroda cynkowa, katoda – dodatnia elektroda miedziowa; elektrolit anodowy – ZnSO_4 , elektrolit katodowy – CuSO_4)



Rys. 3. Energie względne orbitali 3d i 4s

Według przyjętej zasady obsadzania powłok elektronowych miedź powinna mieć następującą konfigurację: Cu (29e) $1s^2/2s^22p^6/3s^23p^63d^9/4s^2$. Ta odmienność konfiguracji elektronowych wynika z faktu, że różnica poziomów energetycznych 3d i 4s w atomach pierwiastków oskandum do miedzi jest bardzo niewielka, wskutek czego przejściu elektronu z jednego z tych poziomów na drugi towarzyszy pochłanianie lub wydzielanie niezbyt dużych ilości energii (rys. 3). Warto również zauważyć, że energia zmniejsza się, gdy jeden z elektronów pary 4s powoduje zmniejszenie odpychania się elektron-elektron przez przejście na orbital 3d. W przypadku miedzi (Cu) przesunięcie elektronu 4s na poziom 3d nie wywołuje zmniejszenia energii odpychania elektron-elektron, co oznacza, że podpoziom 3d znajduje się niżej niż 4s (rys. 3). W przypadku usuwania elektronów z atomów pierwiastków przejściowych nie zawsze jasno wynika z konfiguracji elektronowej, które poziomy elektronowe będą opóźniane. Z tego powodu nie należy przywiązywać zbyt wielkiej wagi do tendencji zmian stopnia utlenienia, ponieważ koncepcja stopni utlenienia jest w dużej mierze sztuczna i polega raczej na dowolnym przypisywaniu wspólnych elektronów bardziej elektroujemnym atomom. Dla lepszego zrozumienia stopni utlenienia pierwiastków przejściowych, do których należą Zn i Cu, warto sięgnąć do teorii wiązania metalicznego, która pozwala również zrozumieć zachowanie się wymienionych pierwiastków w roztworach ich soli. Atomy pierwiastków metalicznych ze względu na niski potencjał jonizacyjny i związaną z tym niewielką siłę wiązania elektronów walencyjnych nie wykazują tendencji do tworzenia między sobą wiązań walencyjnych. Oznacza to, że elektrony walencyjne mogą się swobodnie przemieszczać w metalu, tworząc tzw. morze elektronowe, w którym są

zanurzone dodatnio naładowane jony metalu. Elektrony walencyjne wewnątrz metalu poruszają się ruchem bezładnym wskutek zderzeń między sobą. Na powierzchni metalu jednostronne, skierowane do wewnątrz, przyciągające działanie jonów metali uniemożliwia elektronom opuszczenie metalu. Przy podwyższeniu temperatury lub działania ładunków jonów uzyskuje się na tyle dużą energię kinetyczną, że elektron może wyrwać się z powierzchni metalu. Należy pamiętać, że z atomu może być usunięty więcej niż jeden elektron, co oznacza, że pierwiastek może mieć różne stopnie utlenienia (wartościowości). W metalach w stanie stałym istnieje wiązanie metaliczne. Właściwości metalu zależą zarówno od wiązania między atomami utworzonego przez zde-lokalizowane elektrony, jak i od sieci krystalicznej metalu. Przykładową sieć krystaliczną dla litu przedstawiono na rys. 4.



Rys. 4. Siatka krystaliczna litu

Konfiguracja elektronowa w powiązaniu z jego siecią krystaliczną pozwalają łatwiej zrozumieć zachowania się różnych pierwiastków przejściowych. Omówione zagadnienia pozwolą łatwiej zrozumieć przeciw- i prooksydacyjne zachowania różnych związków obecnych w organizmach żywych i żywności, co będzie tematem kolejnych odcinków. ☒

GRAŻYNA MORKIS

PROBLEMATYKA ŻYWNOŚCIOWA W USTAWODAWSTWIE POLSKIM I UNIJNYM

Publikujemy kolejny przegląd aktów prawnych, które ukazały się w Dzienniku Ustaw RP oraz Dzienniku Urzędowym UE. Poniższe zestawienie zawiera akty prawne dotyczące szeroko omawianej problematyki żywnościowej wg stanu na dzień 30 lipca 2016 r.

Polskie akty prawne

1. Ustawa z dn. 18 października 2006 r. o wyrobie napojów spirytusowych oraz o rejestracji i ochronie oznaczeń geograficznych napojów spirytusowych (tekst jednolity) (Dz. U. 2016 r., poz. 822).

Został ogłoszony jednolity tekst ustawy z dn. 18 października 2006 r. o wyrobie napojów spirytusowych oraz o rejestracji i ochronie oznaczeń geograficznych napojów spirytusowych.

Ustawa określa:

- zasady wykonywania działalności gospodarczej w zakresie wyrobu lub rozlewu napojów spirytusowych oraz obrotu tymi napojami,
- warunki ochrony na terytorium Rzeczypospolitej Polskiej oznaczeń geograficznych napojów spirytusowych zgodnie z wymaganiami określonymi w rozporządzeniu Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 110/2008 z dnia 15 stycznia 2008 r. w sprawie definicji, opisu, prezentacji, etykietowania i ochrony oznaczeń geograficznych napojów spirytusowych oraz uchylającym rozporządzenie Rady (EWG) nr 1576/89 (Dz. Urz. WE L 39 z 13.02.2008, str. 16),
- wymagania dotyczące napojów spirytusowych w zakresie nieuregulowanym w rozporządzeniu nr 110/2008 oraz w przepisach wydanych w trybie tego rozporządzenia.

Przepisów ustawy nie stosuje się do napojów spirytusowych wytworzonych domowym sposobem, na własny użytek i nieprzeznaczonych do obrotu.

2. Ustawa z dn. 12 maja 2011 r. o wyrobie i rozlewie wyrobów winiarskich, obrocie tymi wyrobami i organizacji rynku wina (tekst jednolity) (Dz. U. 2016 r., poz. 859).

Ogłoszony akt prawny zawiera jednolity tekst ustawy z dn. 12 maja 2011 r. o wyrobie i rozlewie wyrobów winiarskich, obrocie tymi wyrobami i organizacji rynku wina.

Ustawa reguluje:

- zasady wyrobu fermentowanych napojów winiarskich oraz obrotu wyrobami winiarskimi,
- zasady wykonywania działalności gospodarczej w zakresie wyrobu i rozlewu wyrobów winiarskich,
- organizację rynku wina,
- zasady i tryb rejestracji nazw pochodzenia oraz oznaczeń geograficznych wyrobów winiarskich pozyskanych z winogron pochodzących z upraw winorośli położonych na terytorium Rzeczypospolitej Polskiej.

Przepisów ustawy nie stosuje się do wyrobów winiarskich wyrobionych domowym sposobem na użytek własny i nieprzeznaczonych do wprowadzenia do obrotu.

Ustawa nie narusza przepisów o bezpieczeństwie żywności i żywienia.

Zasady znakowania wyrobów winiarskich są określone w przepisach o jakości handlowej artykułów rolno-spożywczych.

3. Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dn. 21 października 2010 r. w sprawie wymagań weterynaryjnych przy produkcji mięsa przeznaczonego na użytek własny (tekst jednolity) (Dz. U. 2016 r., poz. 885).

Został ogłoszony jednolity tekst ustawy w sprawie wymagań weterynaryjnych przy produkcji mięsa przeznaczonego na użytek własny.

Rozporządzenie określa wymagania weterynaryjne przy produkcji mięsa przeznaczonego na użytek własny, w tym:

- wymagania dotyczące zdrowia zwierząt, z których pozyskuje się mięso,
- wymagania, jakie powinny być spełnione przy uboju na terenie gospodarstwa,
- wymagania dotyczące badania poubojowego mięsa, w tym mięsa pozyskanego w wyniku odstrzału zwierząt łownych,
- sposób znakowania mięsa.

4. Ustawa z dn. 15 grudnia 2000 r. o Inspekcji Handlowej (tekst jednolity) (Dz. U. 2016 r., poz. 1059).

Został ogłoszony jednolity tekst ustawy o Inspekcji Handlowej.

Inspekcja Handlowa jest wyspecjalizowanym organem kontroli powołanym do ochrony interesów i praw konsumentów oraz interesów gospodarczych państwa.

Ustawa reguluje zadania i organizację Inspekcji, prawa i obowiązki przedsiębiorców, zasady postępowania organów Inspekcji oraz prawa i obowiązki pracowników Inspekcji.

5. Ustawa z dn. 29 stycznia 2004 r. o Inspekcji Weterynaryjnej (tekst jednolity) (Dz. U. 2077 r., poz. 1059).

Został ogłoszony jednolity tekst ustawy o Inspekcji Weterynaryjnej.

Ustawa określa:

- zadania, organizację, tryb działania oraz zasady finansowania Inspekcji Weterynaryjnej,
 - zasady współpracy organów Inspekcji z organami centralnymi państw członkowskich Unii Europejskiej odpowiedzialnymi za przestrzeganie stosowania prawodawstwa weterynaryjnego lub organami, którym takie kompetencje zostały przekazane (właściwą władzą), oraz Komisją Europejską w zakresie realizacji zadań Inspekcji,
 - zasady wystawiania świadectw zdrowia, w tym określone w przepisach zawartych w aktach prawnych wymienionych w załącznikach nr 1 i 2 do ustawy z dnia 10 grudnia 2003 r. o kontroli weterynaryjnej w handlu (Dz. U. z 2015 r. poz. 519).
6. Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dn. 15 czerwca 2016 r. zmieniające rozporządzenie w sprawie laboratoriów urzędowych i referencyjnych oraz zakresu analiz wykonywanych przez te laboratoria (Dz. U. 2016 r., poz. 914). Zmiana dotyczy dwóch laboratoriów, tj. UO – Technologia Sp. z o.o. w Grójcu i Agrolab Polska Sp. z o.o. w Dęblinie.
 7. Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dn. 28 czerwca 2016 r. zmieniające rozporządzenie w sprawie wymagań weterynaryjnych przy produkcji produktów mlecznych o tradycyjnym charakterze (Dz. U. 2016 r., poz. 1002). Wprowadzona zmiana w sprawie wymagań weterynaryjnych przy produkcji produktów mlecznych o tradycyjnym charakterze dotyczy takich wyrobów, jak „żentycyca” i „bundz”.

Unijne akty prawne

1. Rozporządzenie Wykonawcze Komisji (UE) 2016/984 z dn. 7 czerwca 2016 r. rejestrujące w rejestrze chronionych nazw pochodzenia i chronionych oznaczeń

geograficznych nazwę [Krupnioki śląskie (ChOG)] (Dz. Urz. UE L 2016 r., Nr 162, s.3).

Została zarejestrowana nazwa „Krupnioki śląskie” (ChOG). Nazwa ta określa produkt należący do klasy 1.2. Produkty wytworzone na bazie mięsa (podgotowanego, solonego, wędzonego itd.), zgodnie z załącznikiem XI do rozporządzenia wykonawczego Komisji (UE) nr 668/2014. ☒

NOWE KSIĄŻKI

Chocolate Science and Technology

[Czekolada – nauka i technologia]

Emmanuel Ohene Afoakwa

Wydawnictwo: Wiley-Blackwell 2016, Wyd. II, ISBN 978-1-118-91378-9, stron 536, cena 178,00 EUR

Zamówienia: <http://eu.wiley.com>

Drugie wydanie przedstawianej pozycji zawiera informacje na temat najnowszych osiągnięć w dziedzinie nauki i technologii produkcji czekolady oraz międzynarodowego przemysłu kakaowego. Autor opisał: otrzymywanie kakao, operacje i procesy w produkcji kakao oraz czekolady, sensoryczne postrzeganie jakości czekolady, uwalnianie smaku i jego percepcję, substancje zastępujące cukier w produkcji czekolady, przemysłową produkcję bezcukrowych czekolad oraz korzyści żywieniowe i zdrowotne wynikające ze spożycia kakao oraz czekolady. Szczegółowa tematyka opracowania obejmuje nowoczesne metody uprawy kakao ze szczególnym uwzględnieniem składu ziarna kakaowego, jego genotypowego zróżnicowania, pozbiornicze zabiegi wstępne, proces fermentacji i suszenia, a także biochemiczne podstawy zachodzących procesów. Wyczerpująco przedstawiono również naukowe i technologiczne aspekty przemysłowych metod stosowanych w produkcji czekolady. Pozostała tematyka obejmuje m.in. chemię powstawania i rozwoju smaku kakaowego podczas przetwarzania i produkcji czekolady, lotne związki zapachowe i ich charakterystykę, identyfikację oraz uwalnianie smaku czekolady i jego percepcję. Omówiono także stosowanie systemu HACCP i innych systemów zarządzania bezpieczeństwem żywności, takich jak ISO 22000 w przemysłowej produkcji czekolady.

Wine Production and Quality

[Produkcja wina i jego jakość]

Keith Grainger, Hazel Tattersall

Wydawnictwo: Wiley-Blackwell 2016, Wyd. II, ISBN 978-1-118-93455-5, stron 328, cena 88,00 EUR

Zamówienia: <http://eu.wiley.com>

W tym kompleksowym przewodniku przedstawiono techniki produkcji wina i charakterystykę ich wpływu na smak, specyfikę i jakość otrzymywanego produktu. W pierwszej części opracowania w sposób uporządkowany przedstawiono technologię produkcji wina „od winorośli do butelki”. Scharakteryzowano wpływ czynników naturalnych, w tym klimatu i gleby, oraz procesów i operacji odbywających się w winnicy i winiarni na jakość produktu końcowego. W części drugiej opracowania skupiono się na jakości wina. Opisano szczegółowo koncepcje oraz techniki degustacji, jak również przeanalizowano wyzwania w zakresie rozpoznawania i oceny jakości. Książka jest cenną pozycją dla profesjonalistów z branży winiarskiej, wykładowców i studentów, restauratorów i sommelierów oraz wszystkich miłośników wina.

Advances in technologies for producing food-relevant polyphenols

[Postępy w technologii otrzymywania polifenoli istotnych dla żywności]

Jose Cuevas Valenzuela, Jose Rodrigo Vergara-Salinas, Jose Ricardo Perez-Correa

Wydawnictwo: CRC Press 2016, ISBN 9781498714976, stron 335, cena 140,00 £

Zamówienia: www.crcpress.com

Książka zawiera podstawowe informacje dotyczące opracowywania i optymalizacji procesów mających na celu uzyskanie substancji polifenolowych oraz otrzymywania żywności bogatej w te składniki. Opisano w niej metody i urządzenia stosowane do ekstrakcji, izolowania i oczyszczania polifenoli z takich surowców, jak: rośliny, w tym zioła oraz glony i odpady rolno-przemysłowe. Przedstawiono ponadto zagadnienia dotyczące identyfikacji i charakterystyki kilku klas polifenoli, przeanalizowano ich właściwości bioaktywne, w tym: przeciwutleniające, przeciwbakteryjne, przeciwwirusowe, przeciwnowotworowe oraz omówiono ich biodostępność. Przedstawiono technologie wykorzystywane do uzyskiwania ekstraktów polifenoli z różnych źródeł, w tym: ekstrakcję rozpuszczalnikową, pod ciśnieniem i w stanie nadkrytycznym oraz opisano procesy i technologie stosowane w celu wzbogacania matryc żywnościowych w polifenole.

Sweeteners - Pharmacology, Biotechnology, and Applications

[Substancje słodzące – farmakologia, biotechnologia i zastosowanie]

Mérillon Jean-Michel, Ramawat Kishan Gopal (Eds.)

Wydawnictwo: Springer 2017, ISBN 978-3-319-27027-2, stron 550, cena 193,00 £

Zamówienia: www.springer.com

W podręczniku przekazano wyczerpujące informacje dotyczące substancji słodzących. Omówiono zarówno naturalne, jak i syntetyczne produkty, biorąc pod uwagę aspekty zdrowotne i ekonomiczne. Autorzy poszczególnych rozdziałów podsumowują infor-

macje na temat właściwości chemicznych, aspektów biologicznych i farmakologicznych oraz biodostępności i zastosowań substancji słodzących. Scharakteryzowano różne klasy naturalnych substancji słodzących, głównie pochodzenia roślinnego, w tym glikozydów i terpenoidów słodzących, substancji peptydowych oraz białek o słodkim smaku. Informacje zawarte w książce dotyczą także zagadnień związanych z izolowaniem i oczyszczaniem tych związków, ich właściwościami fizycznymi, chemicznymi i biologicznymi, działaniem farmakologicznym. Omówiono także aspekty zdrowotne i toksykologiczne związane z substancjami słodzącymi. Szczególną uwagę zwrócono na substancje intensywnie słodzące ze względu na wzrastające na nie zapotrzebowanie.

Opracował: Lesław Juszcak

TWÓRCY POLSKIEJ NAUKI O ŻYWNOSCI

PROF. DR HAB. JACEK KIJOWSKI (1948 - 2013)



Prof. dr hab. Jacek Kijowski urodził się 5 kwietnia 1948 r. w Poznaniu. W roku 1966 ukończył Liceum Ogólnokształcące, a w 1971 – studia wyższe na Wydziale Technologii Rolno-Spożywczej Wyższej Szkoły Rolniczej w Poznaniu. Stopień doktora nauk technicznych z zakresu nauk rolniczych uzyskał w roku 1978. Pracę realizował pod kierunkiem wybitnego uczonego – profesora Adama Niewiarowicza, który wywarł ogromny wpływ na rozwój naukowy i osobowościowy młodego naukowca.

Główne zainteresowania naukowe Jacka Kijowskiego skupiały się wokół problematyki technologii mięsa drobiowego i jaj. Te zagadnienia były przedmiotem rozprawy habilitacyjnej, na podstawie której na Wydziale Technologii Żywności Akademii Rolniczej (obecnie Uniwersytetu Przyrodniczego) w Poznaniu uzyskał tytuł doktora habilitowanego nauk technicznych w 1978 r. W roku 1996 uzyskał tytuł profesora nauk rolniczych, a od 2006 pracował na stanowisku profesora zwyczajnego w naszej uczelni.

Profesor Kijowski odbył wiele staży naukowych w zagranicznych ośrodkach naukowo-badawczych: w niemieckim Bundesanstalt für Fleischforschung w Kulmbach (1978), Pennsylvania State University w USA (1984-1986), University of Bristol w Wielkiej Brytanii (1991) oraz Poultry Research Center w Spelderholt w Holandii (1995), podczas których miał okazję zapoznać się z nowoczesnymi szkołami badawczymi oraz nawiązać współpracę z wybitnymi specjalistami zajmującymi się szeroko rozumianą problematyką technologii drobiu i jaj.

Wśród licznych zainteresowań naukowych Profesora Jacka Kijowskiego można wymienić: jakość drobiu i mięsa drobiowe go z uwzględnieniem mięsa PSE kurcząt,

technologię mięsa niewychłodzonego (ciepłego), chłodzenie i mrożenie mięsa drobiu, właściwości i rola technologiczna białek miofibrylarnych, właściwości białek cytoszkieletowych, mięso drobiowe odzyskiwane mechanicznie (MDOM), otrzymywanie i właściwości wysoko funkcjonalnych preparatów miofibryli, termodynamiczne właściwości białek mięśniowych, izolacja i właściwości wartościowych składników jaj, w szczególności lizozymu, utrwalanie mięsa drobiowego i jaj z wykorzystaniem nowych nietermicznych metod, doskonalenie i integracja systemowego zarządzania bezpieczeństwem zdrowotnym oraz jakością żywności, łącznie z metodami analizy ryzyka.

Opublikowany dorobek Profesora obejmuje 335 pozycji, w tym 89 oryginalnych prac twórczych, 3 patenty, autorstwo i współautorstwo 30 książek i podręczników, 50 artykułów naukowych, 42 artykuły popularno naukowe, wiele referatów i streszczeń opublikowanych w materiałach konferencji międzynarodowych, liczne recenzje książek, artykułów naukowych, zagranicznych i krajowych wniosków o profesurę, habilitacji i prac doktorskich. Ponad 40% dorobku opublikowano w prestiżowych czasopiśmie zagranicznych.

Profesor kilkakrotnie wygłaszał referaty plenarne na konferencjach międzynarodowych, szczególnie World's Poultry Science Association (Światowe Stowarzyszenie Nauki o Drobiu), wielokrotnie przewodniczył obradom sesji międzynarodowych, był współinicjatorem i organizatorem wielu przedsięwzięć związanych z rozwojem branży drobiarskiej w Polsce i poza nią. Dzięki tej działalności wzrastała pozycja uczelni i katedry jako ośrodka badań w zakresie technologii drobiarstwa, a w późniejszym okresie także systemowych rozwiązań zapewniania jakości i bezpieczeństwa żywności, zwłaszcza pochodzenia zwierzęcego.

Znaczący udział Profesora Kijowskiego w polskim życiu naukowym przejawiał się zwłaszcza w Komitecie Technologii i Chemii Żywności PAN (obecnie Nauk o Żywności). Uczestniczył w pracach redakcyjnych „Polish Journal of Food and Nutrition Sciences” (1994-2010) oraz działał w Radach Programowych czasopism: „Żywność. Nauka. Technologia. Jakość” „Polskie Drobiarstwo” i „Przemysł Spożywczy”. Był członkiem Polskiego Towarzystwa Technologów Żywności oraz wielu zagranicznych towarzystw naukowych: World Poultry Science Association, European Federation (WPSA-EF), Working Group IV – Egg and Egg Products Quality, Working Group V – Poultry Meat Quality, Institute of Food Technologists, Chicago, USA, American Poultry Science Association.

Profesor Kijowski uczestniczył w licznych kursach doszkaleniowych z zakresu zarządzania jakością i bezpieczeństwem żywności. W 1985 roku w Stanach Zjednoczonych odbył kurs z zakresu dobrych praktyk produkcyjnych i higienicznych (GMP/GHP) w przemyśle spożywczym. W 1997 roku ukończył kurs systemu HACCP w Państwowym Instytucie Weterynarii. W roku 2002 po zdaniu egzaminów uzyskał certyfikat audytora systemu jakości TÜV Akademie GmbH, Unternehmensgruppe

TÜV Süddeutschland, a w 2004 – systemu HACCP. Audytowanie zakładów przemysłu spożywczego, wdrożenia i konsultacje z tego zakresu stanowiły dla Profesora sprawdzian nie tylko własnej wiedzy, ale również praktycznych umiejętności. Umożliwiało to częsty kontakt z zakładami spożywczymi i przysparzało dodatkowej wiedzy, głęboko osadzonej w praktyce przemysłowej, niezwykle istotnej dla nauczania studentów technologii oraz systemów zarządzania jakością.

W roku 2002 z Jego inicjatywy z dwóch jednostek, tj. z Katedry Technologii Produktów Drobiarskich i z Katedry Techniki Jądrowej w Rolnictwie, powstała Katedra Zarządzania Jakością Żywności. Rozumiejąc wyzwania czasu wynikające ze zbliżającej się akcesji Polski do Unii Europejskiej, Profesor Jacek Kijowski utworzył nowoczesną jednostkę badawczą w zakresie zarządzania jakością i bezpieczeństwem żywności i nią kierował, nie rezygnując z drobiarstwa jako podmiotu badań szczegółowych. Profesor Kijowski szybko i umiejętnie doprowadził do integracji obydwu zespołów oraz precyzyjnie określił kierunki badawcze i dydaktyczne. Jednocześnie pod Jego kierownictwem merytorycznym utworzone zostało wydziałowe Studium Podyplomowe Zarządzania Jakością i Bezpieczeństwem Żywności. W ciągu 11 lat studia te ukończyło prawie 600 absolwentów. Profesor w znaczący sposób przyczynił się do uruchomienia na wydziale kierunku Towaroznawstwo ze specjalnością „zarządzanie jakością żywności”.

Profesor Kijowski łączył umiejętnie pracę naukową z dydaktyką i wychowaniem młodej kadry. Był cenionym nauczycielem akademickim i dydaktykiem. Pod Jego opieką zrealizowano cztery prace habilitacyjne. Był promotorem sześciu prac doktorskich. Wypromował ponad 200 magistrów i inżynierów.

Za wybitne zasługi uzyskał szereg nagród, wyróżnień i odznaczeń, m.in. nagrodę zespołową I stopnia Ministra Nauki, Szkolnictwa Wyższego i Techniki za osiągnięcia w dziedzinie badań naukowych z zakresu biofizykochemii i technologii mięsa brojlerów z objawami zmian PSE i DFD; nagrodę zespołową Ministra Edukacji Narodowej za osiągnięcia w dziedzinie technologii produktów drobiarskich; indywidualne i zespołowe nagrody Rektora AR i UP w Poznaniu, Złoty Krzyż Zasługi, odznaczenie Zasłużony dla Politechniki Łódzkiej, Medal Komisji Edukacji Narodowej.

Profesor Jacek Kijowski zmarł 23 lipca 2013 roku, ale pozostawił po sobie dokonania, które będą służyły następnym pokoleniom studentów i badaczy.

*Prof. nadzw. dr hab. Jan Zabielski, Prof. dr hab. Piotr Konieczny
Katedra Zarządzania Jakością Żywności UP w Poznaniu*

Główna część materiału zawartego w artykule jest przedrukiem z Wieści Akademickich, 2013, 7-8, 10-11

(<http://puls.edu.pl/sites/default/files/Numer7-8,lipiec-sierpień2013.pdf>)

TECHNOLOG ŻYWNOŚCI

INFORMATOR POLSKIEGO TOWARZYSTWA TECHNOLOGÓW ŻYWNOŚCI

Rok 26 Nr 4

sierpień 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 ŻYWNOSTCI

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

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

Materiał zawarty w Nr 4(107)/2016 Biuletynu podano według stanu informacji do 15 sierpnia 2016 r. Materiały do Nr 5(108)/2016 prosimy nadsyłać do 15 października 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	PŁ, ul. Stefanowskiego 4/10, 90-924 ŁÓDŹ e-mail: joanna.leszczynska@p.lodz.pl
Prof. dr hab. 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 Dmytrów 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 Gołachowski 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