

**POLSKIE TOWARZYSTWO TECHNOLOGÓW ŻYWNOŚCI
ODDZIAŁ MAŁOPOLSKI**

**WYDZIAŁ TECHNOLOGII ŻYWNOŚCI
UNIWERSYTET ROLNICZY IM. HUGONA KOLŁĄTAJA
W KRAKOWIE**

KOMITET NAUK O ŻYWNOŚCI PAN

**WŁAŚCIWOŚCI PRODUKTÓW
I SUROWCÓW ŻYWNOŚCIOWYCH.
WYBRANE ZAGADNIENIA**

**Tomasz Tarko, Aleksandra Duda-Chodak
Mariusz Witczak, Dorota Najgebauer-Lejko
(redaktorzy)**

Recenzenci Naukowi

Dr inż. Emilia Bernaś, Prof. dr hab. inż. Ewa Cieślik, Prof. dr hab. inż. Jacek Domagała, Dr Iwona Drożdż, Dr hab. inż. Agnieszka Filipiak-Florkiewicz, Dr inż. Adam Florkiewicz, Prof. Dr hab. Teresa Fortuna, Dr inż. Dorota Gałkowska, Prof. dr hab. inż. Halina Gambuś, Dr hab. inż. Piotr Gębczyński, Dr Maja Grabacka, Prof. dr hab. inż. Grażyna Jaworska, Dr hab. inż. Lesław Juszczak, Dr hab. inż. Aneta Kopeć, Dr hab. inż. Jarosław Korus, Prof. dr hab. inż. Zofia Lisiewska, Dr hab. inż. Ryszard Macura, Dr Jagoda Majcherczyk, Dr Małgorzata Makarewicz, Prof. Dr hab. inż. Władysław Migdał, Dr hab. Magdalena Mika, Dr inż. Dorota Najgebauer-Lejko, Dr inż. Paulina Pająk, Dr hab. inż. Sławomir Pietrzyk, Dr inż. Izabela Przetaczek-Rożnowska, Dr Jacek Rożnowski, Dr Sadowska-Rociek, Dr inż. Marek Sady, Dr hab. inż. Paweł Satora, Prof. dr hab. inż. Elżbieta Sikora, Dr Łukasz Skoczylas, Dr Marta Skoczylas-Liszka, Dr Joanna Sobolewska-Zielińska, Dr Robert Socha, Dr Paweł Sroka, Dr inż. Anna Starzyńska-Janiszewska, Prof. dr hab. inż. Krzysztof Surówka, Dr inż. Tomasz Tarko, Dr Kinga Topolska, Dr inż. Maria Walczycka, Dr Ewelina Węsierska, Dr hab. inż. Mariusz Witczak, Dr inż. Teresa Witczak, Dr inż. Marzena Zając, Dr inż. Rafał Ziobro, Dr inż. Daniel Żmudziński

Redakcja

Dr inż. Tomasz Tarko
Dr Aleksandra Duda-Chodak
Dr hab. inż. Mariusz Witczak
Dr inż. Dorota Najgebauer-Lejko

Projekt okładki

Dr Łukasz Byczyński

Wydawca

Oddział Małopolski Polskiego Towarzystwa Technologów Żywności
31-149 Kraków, ul. Balicka 122

© *Copyright by Polskie Towarzystwo Technologów Żywności, Kraków 2014*

Wydawnictwo finansowane przez
Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego

ISBN 978-83-937001-2-7

Za treść zamieszczonych materiałów odpowiadają ich autorzy

SPIS TREŚCI

<i>Aneta BRODZIAK, Jolanta KRÓL, Zygmunt LITWIŃCZUK</i>	
Ocena zawartości składników frakcji białkowej w różnych rodzajach mleka spożywczego	4
<i>Małgorzata PAWŁOS, Agata ZNAMIROWSKA, Dorota KALICKA, Katarzyna SZAJNAR</i>	
Wpływ czasu przechowywania i rodzaju szczepionki na teksturę i jakość sensoryczną jogurtów otrzymanych metodą termostatową	15
<i>Agata ZNAMIROWSKA, Małgorzata PAWŁOS, Dorota KALICKA, Katarzyna SZAJNAR</i>	
Jakość kefirów fortyfikowanych cytrynianem wapnia	26
<i>Anita KUKUŁOWICZ</i>	
Aspekty zdrowotne związane ze spożywaniem wędzonych łososi	37
<i>Bogusław PAWLIKOWSKI, Olga SZULECKA</i>	
Wpływ skrobi modyfikowanej na stabilność i właściwości reologiczne farszów rybnych z udziałem MOM z ryb	46
<i>Marcel MATI, Ladislav STARUCH, Marta STARUCHOVÁ</i>	
The analysis of the soya content in seasonings used in meat processing	55
<i>Joanna STADNIK</i>	
Aminy biogenne jako markery bezpieczeństwa zdrowotnego wyrobów mięsnych surowo dojrzewających .	61
<i>Ladislav STARUCH, Marcel MATI, Marta STARUCHOVÁ</i>	
The analysis of net muscle protein content in selected meat products	71
<i>Władysław MIGDAŁ, Roman DUDEK, Fryderyk KAPINOS, Waldemar KLUSKA</i>	
Wędliny wędzone tradycyjnie – zawartość wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych (WWA).	75
<i>Maria WALCZYCKA, Ewelina WĘSIERSKA, Mariola MŁYNARSKA, Justyna WAKULIŃSKA</i>	
Ocena jakości dwóch popularnych rodzajów kielbas w zależności od sposobu ich pakowania	88
<i>Halina MAKAŁA</i>	
Zagrożenia i zafałszowania mięsa i produkowanych z niego wyrobów	105
<i>Halina MAKAŁA</i>	
Zastosowanie olejów roślinnych w modyfikowaniu profilu kwasów tłuszczowych tłuszczu mięsa i przetworów mięsnych	115
<i>Bogusław DROBA, Maria DROBA, Larisa SIBIRNAJA</i>	
Enzymy hydrolityczne z grupy kwaśnych glikozydaz występujących w mleczku pszczelim	125
<i>Marek GIBIŃSKI, Halina GAMBUŚ, Gabriela ZIĘĆ, Dorota LITWINEK, Wiktor BERSKI, Renata SABAT, Anna MIKULEC</i>	
Wykorzystanie mąki owsianej resztkowej do wypieku pieczywa przekąskowego: drożdżowych rogalików nadziewanych i kruchych paluszków	136
<i>Aneta KOPEĆ, Agnieszka SYSKA, Teresa LESZCZYŃSKA, Ewa PIĄTKOWSKA</i>	
Skład chemiczny i aktywność antyoksydacyjna biszkoptów i ciastek bezglutenowych	153
<i>Wiktor BERSKI, Marek GIBIŃSKI, Halina GAMBUŚ, Aneta SKÓRA, Anna GAŁUSZKA</i>	
Możliwość wykorzystania resztkowej mąki owsianej do wyrobu deserów i kremów typu budyniowego	164
<i>Halina GAMBUŚ, Florian GAMBUŚ, Małgorzata MAKAREWICZ, Gabriela ZIĘĆ, Dorota LITWINEK, Katarzyna SZARY-SWORST, Renata SABATA</i>	
Próby zagospodarowania pieczywa ze zwrotów do ponownego wypieku	175
<i>Sabina LACHOWICZ, Rafał WIŚNIEWSKI, Joanna KASZUBA, Ireneusz KAPUSTA</i>	
Próba oszacowania zawartości związków polifenolowych w grejpfrutach i dżemach grejpfrutowych	193
<i>Kinga TOPOLSKA, Agnieszka FILIPIAK-FLORKIEWICZ, Ewa CIEŚLIK, Adam FLORKIEWICZ, Ireneusz MACIEJASZEK</i>	
Wpływ dodatku BULW topinamburu (<i>Helianthus tuberosus</i> L.) na jakość mikrobiologiczną sorbetów owocowych	205
<i>Paulina PAJĄK, Piotr ŻELAZOWSKI, Joanna SOBOLEWSKA-ZIELIŃSKA, Teresa FORTUNA</i>	
Właściwości powłok skrobiowych i ich wpływ na jakość modelowych owoców podczas przechowywania	216
<i>Ewa REGULSKA, Mariola SAMSONOWICZ</i>	
Ekstrakty ziołowe w aspekcie zawartości związków polifenolowych i aktywności przeciwutleniającej	227
<i>Mariola SAMSONOWICZ</i>	
Ocena wpływu wybranych kationów metali na aktywność przeciwrodnikową etanolowych i wodnych ekstraktów tymianku i oregano	238
<i>Małgorzata DŻUGAN, Rafał KORDIAKA, Mirosława KACÁŃIOVÁ, Monika WESOŁOWSKA</i>	
Czosnek niedźwiedzi <i>Allium ursinum</i> jako uzupełnienie wiosennej diety	248
<i>Jolanta PIEKUT, Mariola SAMSONOWICZ, Mirosław ANGIELCZYK</i>	
Ocena zmian wyznaczników potencjału przeciwutleniającego wybranych ziół poddanych suszeniu	259

ANETA BRODZIAK¹, JOLANTA KRÓL²
ZYGMUNT LITWIŃCZUK¹

¹*Katedra Hodowli i Ochrony Zasobów Genetycznych Bydła*

²*Katedra Towaroznawstwa i Przetwórstwa Surowców Zwierzęcych*
Wydział Biologii i Hodowli Zwierząt
Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie

**OCENA ZAWARTOŚCI SKŁADNIKÓW FRAKCJI BIAŁKOWEJ
W RÓŻNYCH RODZAJACH MLEKA SPOŻYWCZEGO**

Mleko stanowi pierwszy spożywany przez człowieka pokarm, stąd też zawiera wszystkie składniki potrzebne do prawidłowego wzrostu i rozwoju organizmu. Surowiec ten charakteryzuje się wysoką wartością odżywczą oraz biologiczną, i jest strawny niemalże w 100% [Pikul i in., 2006; Siemianowski i Szpendowski, 2010]. Mleko jest surowcem bazowym w przemyśle mleczarskim, wykorzystywanym do produkcji mleka spożywczego, serów, mlecznych napojów fermentowanych czy masła i śmietany. Od wielu lat szczególną popularnością cieszy się mleko spożywcze. Należy do szczególnych produktów ze względu na znaczenie w diecie i preferencje konsumentów. Ponadto stanowi atrakcyjny produkt w strategii marketingowej producenta z uwagi na stosunkowo prostą technologię produkcji i wykorzystanie wszystkich składników surowca.

W miarę rozwoju potrzeb konsumentów, mleko w normalnej postaci nie wystarcza do zaspokajania wymagań, dlatego na rynku pojawiają się nowe produkty mleczne o nietypowych smakach czy dodatkach [Jaworska i Grega, 2010]. Przykładem może być mleko UHT o smaku aloesowym i kokosowym produkowane w Chinach, napój mleczny z dodatkiem czarnej fasoli w Seulu czy mleko UHT z zieloną herbata w Niemczech. Dla grupy konsumentów o szczególnych wymaganiach ze względów zdrowotnych, np. z nietolerancją laktozy, oferowane jest mleko o obniżonej zawartości (zazwyczaj o około 80%, np. Mleko lekkostrawne 2% UHT, Warmia) lub pozbawione laktozy, przykładowo Délactolait, Candia. Coraz częściej stosowane jest również wzbogacenie mleka spożywczego białkami mleka, solami mineralnymi czy witaminami (Viva+, Candia czy Supermleko, SM Gostyń).

Na przestrzeni lat jakość mleka spożywczego uległa znacznej poprawie. Związane jest to z poprawą jakości surowca, udoskonaleniem procesu technologicznego oraz wprowadzeniem nowoczesnych opakowań i metod pakowania [Śmietana i in., 2007]. W zakładach przetwórczych, w celu uzyskania produktu bezpiecznego dla konsumenta oraz odpowiednio trwałego, mleko surowe poddawane jest obróbce cieplnej (pasteryzacji lub sterylizacji). Procesy termiczne stosowane przy produkcji mleka spożywczego zapewniają przede wszystkim uzyskanie określonego stopnia redukcji ilości drobnoustrojów i inaktywacji enzymów, jednocześnie prowadząc do zmian właściwości

fizykochemicznych, organoleptycznych i wartości odżywczej mleka [Wróblewska i Jędrychowski, 2003].

Rodzaje mleka spożywczego ze względu na zastosowaną obróbkę cieplną

Mleko spożywcze, pod względem udziału procentowego, zajmuje pierwsze miejsce w ogólnej produkcji mleczarskiej [IERiGŻ-PIB, 2013]. Jest produktem uzyskanym zwłaszcza z mleka krowiego, po dokonaniu odpowiednich zabiegów technologicznych, mających na celu nadanie odpowiedniego składu chemicznego oraz zabezpieczenie jego wartości odżywczej, wysokiej jakości higienicznej i trwałości. Mleko surowe pozyskane od zdrowych zwierząt użytkowanych mlecznie wyróżnia się wprawdzie wysoką wartością odżywczą, lecz ze względu na zazwyczaj niezadowalającą jakość mikrobiologiczną, powstałą podczas udoju, transportu czy wynikającą, np. ze skażenia chemicznego paszy, nie zaleca się jego spożywania. W przetwórstwie mleczarskim poddaje się je więc zabiegom mającym na celu inaktywację mikroflory chorobotwórczej oraz utrwalenie [Ziajka, 2008; Litwińczuk, 2012]. Wymogi dotyczące obróbki cieplnej określa Rozporządzenie Komisji (WE) Nr 1662 z dnia 6 listopada 2006 r. zmieniające rozporządzenie (WE) nr 853/2004 Parlamentu Europejskiego i Rady ustanawiające szczególne przepisy dotyczące higieny w odniesieniu do żywności pochodzenia zwierzęcego. W zależności od rodzaju zastosowanej obróbki oferowane jest konsumentom jako:

- mleko UHT (ang. Ultra High Temperature) – jest to produkt spożywczy uzyskany przez obróbkę cieplną mleka surowego, w temperaturze co najmniej 135 °C, w czasie nie krótszym niż 1 sekunda. Produkt ten jest pakowany aseptycznie. Przechowywane w lodówce zachowuje świeżość ok. 6 miesięcy, w temperaturze pokojowej – 2 miesiące. Po otwarciu nadaje się do spożycia przez 3 dni, przez pierwsze 12 godzin można je pić bez gotowania. Pod wpływem obróbki, mleko otrzymuje charakterystyczny posmak, ale nie zmienia się wartość odżywcza frakcji tłuszczowej mleka czy zawartość witamin rozpuszczalnych w tłuszczach. Zwiększa się natomiast wartość biologiczna białek, które stają się łatwiej przyswajalne [Pikul i in., 2006; Litwińczuk, 2012];

- Mleko pasteryzowane – jest to produkt spożywczy uzyskany przez obróbkę cieplną mleka surowego, w temperaturze co najmniej 71,7°C, w czasie przynajmniej 15 sekund. Najczęściej mleko poddawane jest temperaturze 83±3°C, w czasie 20±5 sekund. Proces pasteryzacji przeprowadzany jest zazwyczaj w płytowych wymiennikach ciepła. Pasteryzacja ma na celu zniszczenie drobnoustrojów chorobotwórczych i saprofitycznych, pozostają jednak formy przetrwalnikowe bakterii [Pikul i in., 2006; Litwińczuk, 2012];

- mleko pasteryzowane o przedłużonej trwałości – jest utrwalane za pomocą pary, która w czasie krótszym niż 1 sekunda, ogrzewa mleko do temperatury 130-145°C.

Następnie mleko poddawane jest odparowaniu części wody w komorze próżniowej, w celu natychmiastowego ochłodzenia [Pikul i in., 2006];

- mleko ESL (ang. Extended Shelf Life) – jest to produkt spożywczy otrzymany w efekcie mikrofiltracji, czyli procesu filtracji membranowej, podczas której eliminowane są bakterie chorobotwórcze i odpowiedzialne za psucie produktu. Dokonuje się tego przy użyciu membran ceramicznych, umożliwiających niemal całkowite usunięcie tych mikroorganizmów. Dodatkowo po mikrofiltracji przeprowadza się pasteryzację w temp. max 75°C, która pozwala na zachowanie cech organoleptycznych mleka. Niezmienione pozostają również właściwości odżywcze produktu, a jego trwałość przedłużona jest do ok. 21 dni. Mleko mikrofiltrowane dłużej zachowuje smak i świeżość w porównaniu z mlekiem pasteryzowanym. Wyróżnia się najbardziej zbliżonym smakiem do mleka surowego [Śmietana i in., 2007].

Wymagania dla mleka spożywczego

Wymagania jakościowe dla mleka spożywczego określone zostały w Rozporządzeniu Rady (WE) nr 1234/2007 z dnia 22 października 2007 r., ustanawiającym wspólną organizację rynków rolnych oraz przepisy dotyczące niektórych produktów rolnych. Mleko spożywcze powinno charakteryzować się:

- temperaturą zamrażania bliską średniej temperaturze zamrażania mleka surowego odnotowanej na obszarze pochodzenia odbieranego mleka;
- gęstością nie mniejszą niż 1,028 g/cm³ w przypadku mleka zawierającego 3,5% tłuszczu w temperaturze 20°C lub równoważną masę na litr w przypadku mleka mającego inną zawartość tłuszczu;
- zawierać co najmniej 2,9% białka w przypadku mleka zawierającego 3,5% tłuszczu lub równoważną zawartość w przypadku mleka o innej zawartości tłuszczu.

Rynek mleka spożywczego w Polsce

Polska jest czołowym producentem mleka w Unii Europejskiej, zajmując 4 miejsce wśród 28 krajów [FAO, 2014]. Średnia produkcja w 2012 r. wyniosła 12,7 mln ton, zaś w 2013 r. – 12,5 [GUS, 2013; IERiGŻ-PIB, 2013]. Skupowane mleko w przemyśle mleczarskim służy jako surowiec do produkcji zwłaszcza mleka płynnego przetworzonego, w tym spożywczego, a także napojów mlecznych fermentowanych czy serów. W ostatnich latach w naszym kraju notowany jest wzrost produkcji mleka spożywczego. W 2012 r. wyprodukowano 1511 tys. ton mleka spożywczego, zaś w 2013 r. więcej o 4,9% (1585 tys. ton) [IERiGŻ-PIB, 2013].

Przeciętne miesięczne spożycie mleka w przeliczeniu na 1 osobę w gospodarstwach domowych w 2012 r. wynosiło 3,41 l i było nieznacznie, bo o ok. 1,0% mniejsze niż przed rokiem. Zdecydował o tym spadek konsumpcji mleka

spożywczego (o 0,9%), w tym głównie pełnotłustego (o 1,9%). Konsumpcja artykułów mleczarskich spadła we wszystkich grupach gospodarstw domowych, w tym najbardziej w gospodarstwach emerytów i rencistów (o 2,0%), a najmniej w gospodarstwach rolników (o 0,4%). Gospodarstwa emerytów i rencistów istotnie, bo o ok. 3,0% ograniczyły spożycie mleka spożywczego i napojów mlecznych. W gospodarstwach rolników redukcji spożycia mleka pitnego, mleka w proszku, jogurtów i śmietany towarzyszył wzrost konsumpcji serów dojrzewających, twarogów i napojów mlecznych [IERiGŻ-PIB, 2013; Rykaczewski, 2013].

Białka mleka

Wyróżnia się dwie grupy białek mleka. Pierwszą jest frakcja kazeinowa, której udział w mleku waha się w granicach 2,2-2,8%, co stanowi około 78% ogólnej ilości białek. Kazeina występuje zazwyczaj w postaci miceli tworzących roztwór koloidalny. Wyróżnia się cztery frakcje kazeiny: α_1 , α_2 , β i κ , charakteryzujące się tym, że nie ulegają denaturacji [Pikul i in., 2006; Pikul, 2004]. Kazeina stanowi najbardziej przydatne białko budulcowe, wykorzystywane przez organizm do syntezy hemoglobiny oraz białek osocza krwi [Litwińczuk, 2012]. Kazeina jest także doskonale przystosowana do koncentrowania, stabilizowania i dostarczania pierwiastków (wapnia, fosforu) oraz białek nowonarodzonym ssakom z organizmu matki [Ziajka, 2008; Bonnet i in., 2009].

Niemniej ważną frakcję stanowią białka serwatkowe (tabela 1). Są białkami globularnymi, o specyficznej aktywności biologicznej. Charakteryzują się strukturą trzeciorzędową. Występują w ilości 0,6-0,7% ogólnego składu mleka. Białka te są rozproszone w mleku i trudno je wytrącić [Siemianowski i Szpendowski, 2010; Brodziak i in., 2012].

Tabela 1. Zawartość oraz znaczenie biologiczne wybranych białek serwatkowych [Chatterton i in., 2006; Król i in., 2011; Brodziak i Król, 2014]

Białko	Zawartość	Znaczenie biologiczne
β -laktoglobulina	2-4 g/l	uczestnictwo w wiązaniu, przenoszeniu i akumulacji związków rozpuszczalnych w tłuszczach, np.: retinoidów, wolnych kwasów tłuszczowych czy witaminy D; zdolność przyłączania i transportu jonów sodu, wapnia i rtęci; aktywność przeciwutleniająca; właściwości antykancerogenne, przeciwwirusowe i przeciwbakteryjne; uczestnictwo w kształtowaniu odporności biernej
α -laktoalbumina	1,0-1,5 g/l	udział w kontroli laktacji i sekrecji mleka; modelowe białko przyłączające jony Ca^{2+} ; powinowactwo do kationów, tj.: Na^+ , K^+ , Zn^{2+} czy Mg^{2+} ; aktywność antykancerogenna i antybakteryjna; działanie przeciwwirusowe; czynnik immunologiczny
krowia albumina serum	0,1-0,6 g/l	uczestnictwo w metabolizmie, wiązaniu i transporcie kwasów tłuszczowych i innych małych cząsteczek, w tym jonów metali (np. wapnia); działanie przeciwnowotworowe; zapobieganie peroksydacji kwasów tłuszczowych; wskaźnik przepuszczalności bariery krew-mleko w gruczole mlekowym
laktoferyna	20-200 mg/l	wiązanie jonów żelaza, wapnia, miedzi, glinu i manganu; komponent narządowej odporności nieswoistej; warunkowanie dojrzewania komórek układu immunologicznego; działanie bakteriobójcze i bakteriostatyczne, przeciwutleniające, przeciwgrzybiczne, przeciwwirusowe, przeciwpasożytnicze i przeciwnowotworowe
lizozym	0,07-0,60 mg/l	komponent nieswoistych humoralnych mechanizmów immunologicznych; działanie bakteriobójcze, przeciwgrzybiczne, przeciwzapalne i przeciwbólowe; modelowa substancja białkowa w badaniach chemicznych, biochemicznych i analitycznych
immunoglobuliny	IgG – 590 mg/l, IgM – 50 mg/l, IgA – 140 mg/l (średnio)	warunkowanie swoistej odporności humoralnej organizmu
laktoperoksydaza	20 mg/l (średnio)	istotna rola w niespecyficznym odporności komórkowej; naturalny czynnik bakteriostatyczny i bakteriobójczy

Celem badań była ocena zawartości składników frakcji białkowej w różnych rodzajach mleka spożywczego (UHT, pasteryzowane i mikrofiltrowane) oraz w mleku surowym pobranym z mlekmatu.

Material i metody badań

Badania przeprowadzono w I kwartale 2014 r. Przedmiotem było mleko spożywcze utrwalone różnymi metodami obróbki cieplnej, pochodzące z sieci sklepów zlokalizowanych na terenie miasta Lublin, a także mleko surowe z mlekomatu jako odniesienie. Ogółem badaniami objęto 32 próbki mleka, tj. 24 próbki mleka spożywczego o 2% zawartości tłuszczu (pasteryzowane, ESL (mikrofiltrowane) i UHT) oraz 8 próbek mleka surowego z mlekomatu.

W każdej próbie mleka oznaczono:

- kwasowość czynną, przy użyciu pH-metru (Elmetron CP-401, Polska),
- kwasowość potencjalną (wrażaną w °SH), metodą miareczkową,
- podstawowy skład chemiczny, tj. procentową zawartość tłuszczu, białka, laktozy i suchej masy (aparatem Infrared Milk Analyzer, Bentley Instruments, USA),
- zawartość kazeiny, zgodnie z AOAC [2000],
- stężenie wybranych białek serwatkowych, tj. α -laktoalbuminy (α -LA), β -laktoglobuliny (β -LG), krowiej albuminy serum, laktoferyny oraz lizozymu, przy zastosowaniu wysokosprawnej chromatografii cieczowej w odwróconym układzie faz (RP-HPLC). Wszystkie próbki analizowano w oparciu o metodę opracowaną przez Romero i in. [1996] z modyfikacjami [Brodziak i in. 2012]. Rozdział białek przeprowadzono przy zastosowaniu chromatografu cieczowego ProStar 210 wyposażonego w kolumnę NUCLEOSIL 300-5 C18 i detektor UV-Vis ProStar 325 (Varian, USA). Na podstawie analizy czasów retencji odczytanych z poszczególnych chromatogramów, przy zastosowaniu programu Star 6.2 Chromatography Workstation (Varian, USA), dokonano identyfikacji jakościowej poszczególnych substancji. Analizę ilościową wykonano metodą wzorca zewnętrznego.

Wszystkie oznaczenia zostały przeprowadzone w mleku spożywczym bezpośrednio po otwarciu kartonu, a w przypadku mleka z mlekomatu – w dniu zakupu. Każda próba analizowana była trzykrotnie. Badania przeprowadzono w Katedrze Towaroznawstwa i Przetwórstwa Surowców Zwierzęcych.

Wyniki opracowano statystycznie za pomocą programu StatSoft Inc. Statistica ver. 9 [StatSoft Inc. 2009], wykorzystując jednoczynnikową analizę wariancji, wyróżniając jako źródło zmienności rodzaj mleka. Istotność różnic pomiędzy średnimi wartościami dla poszczególnych czynników wyznaczono testem NIR Fischera.

Wyniki i dyskusja

W tabeli 2 przedstawiono wyniki z oceny kwasowości mleka i jego podstawowego składu chemicznego w odniesieniu do rodzaju analizowanego mleka. Kwasowość czynna (pH) mleka świeżego powinna wynosić od 6,60 do 6,80, zaś miareczkowa (inaczej potencjalna, wyrażona w °SH) od 6,00 do 7,50°SH. Parametry te

stanowią podstawę oceny świeżości mleka. Należy zwrócić uwagę, że w przypadku mleka surowego z mlekوماتu otrzymane wartości mieściły się w górnej granicy tolerancji, tj. kwasowość czynna – 6,80, a potencjalna – 7,20°SH. Mleko spożywcze charakteryzowało się natomiast nieznacznie niższą kwasowością, tj. czynna – wartość pH od 6,84 w przypadku mleka mikrofiltrowanego do 6,86 dla mleka UHT, zaś potencjalna – od 6,80 dla mleka UHT i pasteryzowanego do 7,00 dla mikrofiltrowanego. Wartości te były prawidłowe w świetle polskiej normy, w której zamieszczono wymagania dla mleka spożywczego PN-A-86003/A1:1998. Zdaniem Ziajki [2008] pod wpływem działania ciepła zachodzi ulatnianie dwutlenku węgla, co powoduje nieznaczne obniżenie kwasowości potencjalnej mleka, natomiast zmiana równowagi form związków mineralnych przyczynia się do wzrostu wartości pH mleka z powodu uwalnianych jonów wodorowych H⁺.

Uzyskane wyniki dotyczące podstawowego składu chemicznego wskazują, iż zawartość białka ogółem wynosiła od 3,34 % (mleko mikrofiltrowane) do 3,42% (mleko poddane pasteryzacji), laktozy – odpowiednio od 4,72% do 4,87% oraz suchej masy – odpowiednio od 10,93% do 11,10% (tabela 2). Z kolei w mleku zakupionym w mlekomaticie białko ogółem stanowiło 3,31%, laktoza – 4,78%, a sucha masa – 10,52%. W przypadku kazeiny największą jej zawartość uzyskano w mleku UHT i pasteryzowanym (2,55 %). Szczególną uwagę należy zwrócić na zawartość tłuszczu. Dokonując zakupu mleka spożywczego, wybierano mleko o 2% zawartości tłuszczu, opierając się na deklaracji producenta. Tymczasem, przeprowadzane badania wykazały, iż zawartość tego składnika w każdym przypadku była wyższa, nawet o 0,41%, wynosząc 2,41% dla mleka poddanego mikrofiltracji i pasteryzacji w niskich temperaturach, tj. ESL. Świadczy to o uczciwości producentów. Zastanawiająca jest jednak najniższa (2,05%) zawartość tłuszczu w mleku z mlekوماتu. Mleko to, jako mleko surowe, nie poddane obróbce termicznej, powinno zawierać przynajmniej o 1,5% tłuszczu więcej, a nawet producent deklaruje, że dostarczany surowiec zawiera około 4% tłuszczu. Może to być spowodowane odtłuszczeniem mleka w gospodarstwie przed dostarczeniem do mlekوماتu lub nie wymieszaniem mleka w gospodarstwie w zbiorniku lub mlekomaticie przed zadozowaniem.

Pod względem zawartości białek serwatkowych, które są bardzo pożądane ze względu na swoje właściwości prozdrowotne, najlepsze okazało się mleko mikrofiltrowane – 0,91% ($p \leq 0,05$) – tabela 3. Najmniej białek serwatkowych zawierało natomiast mleko UHT – 0,81% ($p \leq 0,05$). Udział tych białek w białku ogólnym wynosił 26%. Białkami serwatkowymi najbardziej wrażliwymi na obróbkę cieplną okazały się laktoferyna oraz β -LG. Mleko UHT zawierało ponad trzydziestokrotnie mniej laktoferyny (2,66 mg/l, $p \leq 0,01$) oraz prawie pięciokrotnie mniej β -LG (0,63g/l, $p \leq 0,01$) w porównaniu do mleka pochodzącego z mlekوماتu (odpowiednio: 92,19 mg/l i 2,67 g/l,

$p \leq 0,01$). Należy zwrócić uwagę, że najmniejsze różnice uzyskano w stężeniu BSA, co świadczy o odporności tego białka na wysoką temperaturę. Najbardziej zbliżonym składem ilościowym poszczególnych białek serwatkowych do mleka zakupionego w mlekomacie okazało się mleko poddane mikrofiltracji. Według Międzynarodowej Federacji Mleczarskiej zawartość β -LG może być wskaźnikiem stopnia ogrzewania mleka. W zależności od zastosowanej obróbki cieplnej poziom tego białka powinien wynosić dla mleka pasteryzowanego > 2600 mg/l, a UHT > 50 mg/l [Heeschen, 1996]. Zmiany w zawartości białek serwatkowych pod wpływem obróbki cieplnej nie wpływają jednak na wartość biologiczną produktu, gdyż białka serwatkowe nie wytrącają się z mleka, lecz wchodzi w interakcje z micelami kazeiny, pozostając w nim [Vasbinder i in., 2003; Garbowska i Kuncewicz, 2008]. Moatsou [2010] stwierdził z kolei, że zarówno proces pasteryzacji, jak i wysoka temperatura, częściowo obniżają aktywność lizozymu mleka krowiego, czego nie uzyskał w przypadku lizozymu z mleka bawolego.

Podsumowanie

Podsumowując należy stwierdzić, że rodzaj zastosowanej obróbki cieplnej istotnie ($p \leq 0,05$ i $p \leq 0,01$) wpływał zwłaszcza na zawartość białek serwatkowych w analizowanym mleku spożywczym. Najcenniejszym źródłem wszystkich białek serwatkowych uwzględnionych w badaniach okazało się mleko mikrofiltrowane. Szczególną uwagę należy zwrócić zwłaszcza na zawartość laktoferyny i lizozymu, białek w wyjątkowych właściwościach antybakteryjnych, których stężenie w tym mleku wynosiło odpowiednio: 35,16 mg/l i 2,89 μ g/l, przy $p \leq 0,01$.

Tabela 2. Kwasowość i podstawowy skład chemiczny mleka spożywczego oraz surowego z mlekomatu

Rodzaj mleka spożywczego	N	pH	°SH	Tłuszcz (%)	Białko ogółem (%)	Kazeina (%)	Laktoza (%)	Sucha masa (%)
UHT	8	6,86±0,03	6,80±0,01	2,37±0,01	3,36±0,02	2,55±0,02	4,79±0,01	10,97±0,02
Pasteryzowane	8	6,85±0,01	6,80±0,01	2,34±0,01	3,42±0,01	2,55±0,01	4,87±0,01	11,10±0,02
Mikrofiltrowane	8	6,84±0,02	7,00±0,01	2,41±0,02	3,34±0,01	2,43±0,01	4,72±0,01	10,93±0,02
Mleko surowe z mlekomatu	8	6,80±0,08	7,20±0,03	2,02±0,01	3,31±0,01	2,43±0,01	4,78±0,01	10,52±0,02
Ogółem	32	6,84±0,03	6,95±0,19	2,29±0,18	3,36±0,05	2,48±0,01	4,79±0,06	10,88±0,25

Tabela 3. Zawartość wybranych białek serwatkowych w mleku spożywczym oraz surowym z mlekomatu

Rodzaj mleka spożywczego	Białka serwatkowe (%)	β-laktoglobulina (g/l)	α-laktoalbumina (g/l)	BSA (g/l)	Laktoferyna (mg/l)	Lizozym (μg/l)
UHT	0,81 ^a ±0,01	0,63 ^A ±0,02	0,38 ^A ±0,02	0,27 ^A ±0,01	2,66 ^A ±0,04	1,57 ^a ±0,07
Pasteryzowane	0,87 ^b ±0,01	0,56 ^A ±0,03	0,64 ^{AB} ±0,02	0,25 ^A ±0,02	21,88 ^B ±0,06	2,69 ^b ±0,08
Mikrofiltrowane	0,91 ^b ±0,02	2,12 ^B ±0,03	0,89 ^B ±0,01	0,40 ^B ±0,02	35,16 ^B ±0,09	2,89 ^b ±0,10
Mleko surowe z mlekomatu	0,88 ^b ±0,01	2,67 ^C ±0,05	1,28 ^C ±0,01	0,33 ^B ±0,02	94,53 ^C ±0,17	3,74 ^c ±0,06
Ogółem	0,88±0,01	1,49±1,06	0,80±0,38	0,31±0,07	38,56±39,63	2,72±0,89

a, b – różnice istotne przy $p \leq 0,05$; A, B – różnice istotne przy $p \leq 0,01$

Literatura

1. AOAC. Official Methods of Analysis. Casein Nitrogen Content of Milk. 998.06. AOAC International, 2000, 32, s. 52.
2. Bonnet M., Cansell M., Berkaoui A., Ropers M.H., Anton M., Leal-Calderon F. Release rate profiles of magnesium from multiple W/O/W emulsions. Food Hydrocolloids, 2000, 23, 92-101.
3. Brodziak A., Król J., Litwińczuk Z. Białka serwatkowe właściwości funkcjonalne i zastosowanie. Przemysł Spożywczy, 2012, 3, 35-37.
4. Brodziak A., Król J. Właściwości prozdrowotne mleka. Cz. II. Białka mleka. Journal of NutriLife, 2014, 01, ISSN:2300-8938, url:<http://www.NutriLife.pl/index.php?art=138>
5. Chatterton D.E.W., Smithers G., Roupas P., Brodkorb A. Bioactivity of α -lactoglobulin and β -lactalbumin – technological implications for processing. International Dairy Journal, 2006, 16, 1229-1240.
6. FAO. Statistics Division [Internet]. Food and Agriculture Organization of the United Nations. 2014, <http://faostat.fao.org/>
7. Garbowska B., Kuncewicz A. Ocena wybranych wyróżników jakości mleka UHT. [w:] Jakość i bezpieczeństwo produktów w zrównoważonym rozwoju. (red.) Żuchowski J., Radom 2008, s. 136-142.
8. GUS. Rocznik Statystyczny Rzeczypospolitej Polskiej 2013.
9. IERiGŻ-PIB Analizy rynkowe. Rynek mleka – stan i perspektywy, wrzesień 2013.
10. Jaworska G., Grega T. Napoje mleczne – kierunki ich rozwoju. Przemysł Spożywczy, 2010, 10, 20-23.
11. Heesch W.H. Wartość odżywcza mleka UHT. Sympozjum „Żywnościowe, higieniczne i technologiczne aspekty mleka UHT”, Warszawa 1996.
12. Król J., Brodziak A., Litwińczuk Z., Sz wajkowska M. Wykorzystanie białek serwatkowych w promocji zdrowia. Żywnienie Człowieka i Metabolizm, 2011, XXXVIII, 1, 36-45.
13. Litwińczuk Z. (red.) Towaroznawstwo surowców i produktów zwierzęcych z podstawami przetwórstwa. Wyd. PWRiL, Warszawa 2012.
14. Moatsou G. Indigenous enzymatic activities in ovine and caprine milks. International Journal of Dairy Technology, 2010, 63, 1, 16-31.
15. Pikul J. Czynniki wpływające na trwałość mleka i produktów mlecznych. Chłodnictwo, 2004, 9, 38-43.
16. Pikul J., Górecka D., Flaczyk E., Cais-Sokolińska D. Towaroznawstwo produktów spożywczych. Wyd. Akademii Rolniczej im. Augusta Cieszkowskiego w Poznaniu, Poznań 2006.
17. PN-A-86003/A1:1998. Mleko i przetwory mleczne – Mleko spożywcze – (zmiana A1).

18. Romero C., Perez-Andujar O., Jimenes S. Detection of cow's milk in ewe's or goat's milk by HPLC. *Chromatographia*, 1996, 42, 181-184.
19. Ryczkowski G. *Forum Mleczarskie. Biznes*, 2013, 3, 14-15.
20. Siemianowski K., Szpendowski J. Wartość żywieniowa białek serwatkowych. *Przegląd Mleczarski*, 2010, 11, 4-6.
21. Śmietana Z., Krajewska-Kamińska E., Bohdziewicz K., Nalepa K. Porównanie jakości mikrobiologicznej mleka pasteryzowanego, mikrofiltrowanego i UHT. *Żywność.Nauka.Technologia.Jakość*, 2007, 2, 51, 29-39.
22. Vasbinder A.J., Altling A.C., de Kruijff K.G. Quantification of heat-induced casein-whey protein interactions in milk and its relation to gelation kinetics. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 2003, 31, 115-123.
23. Wróblewska B., Jędrychowski L. Wpływ modyfikacji technologicznych na zmianę właściwości immunoreaktywnych białek mleka krowiego. *Alergia Astma Immunologia*, 2003, 8, 4, 157-164.
24. Ziajka S. *Mleczarstwo. Zagadnienia wybrane. Tom I. Wyd. UWM, Olsztyn 2008.*

WPLYW CZASU PRZECHOWYWANIA I RODZAJU SZCZEPIONKI NA TEKSTURĘ I JAKOŚĆ SENSORYCZNĄ JOGURTÓW OTRZYMANÝCH METODĄ TERMOSTATOWĄ

Wprowadzenie

Jogurt należy do najchętniej spożywanych mlecznych napojów fermentowanych, a jego walory i wartość odżywcza wynikają z obecności żywych mikroorganizmów oraz zawartości i biodostępności podstawowych składników odżywczych, dzięki którym ma on korzystny wpływ na zdrowie człowieka [Glibowski i Krępacka, 2006; Sady i in., 2007]. Właściwości tego napoju fermentowanego, m.in. kwasowość miareczkowa, pH, jakość sensoryczna i odżywcza oraz wygląd i tekstura zależą od jakości mleka, technologii produkcji, dodatków, a także rodzaju kultur starterowych i ich aktywności [Bonczar i Reguła, 2003; Domagała i Wszolek, 2008; Gustaw i Nastaj, 2007; Zare i in., 2011].

Cechy sensoryczne, takie jak tekstura i smakowość, w dużym stopniu wpływają na jakość napojów mlecznych fermentowanych, jednocześnie odgrywając wiodącą rolę w wyborze produktu przez konsumentów [Jaworska i Hejduk, 2008]. Do najczęściej występujących wad tekstury jogurtu zaliczyć można zbyt luźną, płynną konsystencję. Jednym z etapów przemysłowej produkcji jogurtów jest zwiększanie zawartości suchej masy mleka, co może być sposobem na wykluczenie występowania tych wad. Profil teksturometryczny jogurtów naturalnych kreuje się również poprzez dobór odpowiednich kultur starterowych. Poprawę stabilności fizycznej fermentowanych napojów mlecznych można również uzyskać poprzez zastosowanie bakterii mających zdolność produkowania zewnątrzkomórkowych polisacharydów [Domagała i Wszolek, 2008; Gustaw i Nastaj, 2007].

Celem niniejszej pracy było określenie wpływu rodzaju szczepionki na właściwości fizykochemiczne, teksturę oraz jakość sensoryczną jogurtów otrzymanych metodą termostatową podczas trzytygodniowego przechowywania chłodniczego.

Material i metody badań

Do produkcji jogurtów użyto mleka pasteryzowanego o zawartości tłuszczu 2% (OSM Bochnia), odtłuszczonego mleka w proszku (SM Gostyń) oraz kultur

starterowych Lyofast Y 450 B (Sacco), YC–X11 (Chr. Hansen), YC–X16 (Chr. Hansen) zawierających bakterie *Streptococcus thermophilus* i *Lactobacillus delbruecki* ssp. *bulgaricus* oraz szczepionki YO MIX 215 (Danisco), w skład której wchodziły bakterie *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbruecki* ssp. *bulgaricus*, *Lactobacillus acidophilus* oraz *Bifidobacterium lactis*.

W mleku przeprowadzano normalizację suchej masy poprzez dodatek 1% mleka w proszku. Znormalizowane mleko poddawano homogenizacji (65°C), repasteryzacji (75°C, 15 min), a po ochłodzeniu do temp. 43°C zaszczepiano kulturami bakterii i rozlewano do opakowań jednostkowych (plastikowych pojemników z wieczkiem, o pojemności 100 ml). Fermentację prowadzono w temp. 43°C przez 4,5 h. Po zakończeniu inkubacji jogurt przechowywano w temp. 5°C do czasu wykonania analizy.

Właściwości fizykochemiczne, sensoryczne i teksturę oznaczano w trzech terminach, tj. w 7, 14 oraz 21 dniu przechowywania chłodniczego. Analiza fizykochemiczna napojów obejmowała oznaczanie kwasowości czynnej przy użyciu pH-metru (CPC – 505, Elmetron) oraz kwasowości potencjalnej metodą miareczkową [PN-A-86061:2002]. Analizę profilu tekstury przeprowadzono analizatorem tekstury Brookfileld CT3, wyposażonym w program Brookfield Texture Pro CT. Do oznaczenia wybrano typ testu TPA. Próbkę napojów fermentowanych penetrowano sondą akrylową TA 3/100, wprowadzając ustawienia: dystans 15 mm, obciążenie kontaktowe 0,1 N, prędkość pomiaru 1 mm/s. W trakcie testu temperatura próbek wynosiła 8°C±1°C. Doświadczenie wykonano w 3 niezależnych powtórzeniach. Ocena sensoryczną, metodą profilowania sensorycznego, przeprowadził przeszkolony zespół składający się z pięciu osób. Badający oceniali próbki w skali 9-punktowej, ze skalą liniową 9 cm, niestrukturowaną, z oznaczeniami na obu jej końcach, gdzie „1” oznaczało cechę najmniej wyczuwalną, najmniej charakterystyczną, zaś „9” określało cechę najintensywniejszą, najbardziej charakterystyczną. Do oceny jogurtów naturalnych wybrano siedem deskryptorów, w tym cztery wyróżniki smaku, dwa zapachu oraz konsystencję [PN-ISO 11035:1999].

Wyniki analiz opracowano statystycznie w programie Statistica v. 10, a istotność między średnimi szacowano testem Tukeya ($p \leq 0,05$).

Wyniki i dyskusja

Bakterie jogurtowe, charakteryzujące się różną aktywnością kwaszącą, proteolityczną i lipolityczną, wpływają na zmiany kwasowości jogurtu w trakcie dojrzewania i przechowywania tego produktu [Cais – Sokolińska i in., 2004].

Jogurty wyprodukowane przy użyciu kultur starterowych YO MIX 215 miały wyższe pH od pozostałych grup napojów, w ciągu całego okresu przechowywania

chłodniczego, a różnice te były statystycznie istotne ($p \leq 0,05$) (tab. 1). We wszystkich grupach jogurtów odnotowano spadek kwasowości czynnej w 21 dniu w porównaniu do kwasowości oznaczonej w 7 i 14 dniu przechowywania. Podobne tendencje, związane z obniżaniem wartości kwasowości czynnej w trakcie przechowywania chłodniczego jogurtów zaobserwowali Najgebauer-Lejko i in. [20014], Sady i in. [2007], Yazici i Akoun [2004].

Tabela 1. Kwasowość czynna i miareczkowa [$^{\circ}\text{SH}$] jogurtów podczas przechowywania chłodniczego determinowana rodzajem szczepionki ($\bar{x} \pm S$)

Parametr	Czas przechowywania (dni)	Rodzaj szczepionki			
		Y 450 B	YC - X11	YC - X16	YO MIX 215
pH	7	4,50a $\pm 0,05$	4,51a $\pm 0,05$	4,51a $\pm 0,06$	4,68b $\pm 0,15$
	14	4,41a $\pm 0,03$	4,46a $\pm 0,03$	4,44a $\pm 0,05$	4,61b $\pm 0,06$
	21	4,36a $\pm 0,07$	4,42a $\pm 0,05$	4,39a $\pm 0,013$	4,52b $\pm 0,02$
Kwasowość miareczkowa [$^{\circ}\text{SH}$]	7	33,87a $\pm 0,60$	33,27ab $\pm 1,25$	33,93a $\pm 0,99$	32,07b $\pm 1,28$
	14	37,47a $\pm 2,37$	37,87a $\pm 0,33$	36,06a $\pm 1,82$	30,67b $\pm 0,55$
	21	38,09a $\pm 0,24$	39,23b $\pm 0,92$	38,53a $\pm 0,47$	35,30c $\pm 0,30$

x – wartość średnia, S – odchylenie standardowe

a,b - wartości średnie oznaczone różnymi literami w wierszach różnią się statystycznie w obrębie tego samego parametru przy $p \leq 0,05$

Kwasowość potencjalna jogurtów fermentowanych przez YO MIX 215 przyjmowała najniższe wartości w ciągu całego okresu przechowywania. Po tygodniu przechowywania wykazano $32,07^{\circ}\text{SH}$, natomiast po trzech tygodniach kwasowość w tych napojach wzrosła do $35,30^{\circ}\text{SH}$. W ciągu trzech tygodni chłodniczego przechowywania zaobserwowano istotne statystycznie różnice w kwasowości potencjalnej pomiędzy produktami wyprodukowanymi przy udziale YO MIX 215, a pozostałymi napojami. Ponadto, w trzecim tygodniu przechowywania stwierdzono również istotne różnice pomiędzy kwasowością ogólną napojów fermentowanych z użyciem kultur YC-X11, a kwasowością pozostałych jogurtów. W 21 dniu przechowywania stwierdzono wzrost kwasowości miareczkowej we wszystkich analizowanych grupach jogurtów w porównaniu do kwasowości oznaczonej po tygodniu przechowywania. Wzrost kwasowości ogólnej w trakcie przechowywania chłodniczego jogurtów stwierdzili również Cais – Sokolińska i in. [2009]. Autorzy ci oznaczyli

kwasowość potencjalną w jogurtach naturalnych, fermentowanych przez YC-X11, od $47,4 \pm 2,3^{\circ}\text{SH}$ w 7 dniu do $65,2 \pm 1,4^{\circ}\text{SH}$ w 21 dniu przechowywania chłodniczego.

Domagała i Wszolek [2008] porównywali kwasowość jogurtów z mleka koziego otrzymanych przy użyciu różnych kultur starterowych – YC 180 oraz ABY 2 i ABT 1. Autorzy nie odnotowali żadnych istotnych zmian kwasowości pomiędzy analizowanymi próbkami napojów.

Tekstura mlecznych napojów fermentowanych, obok smaku i zapachu, stanowi ważny wyróżnik jakości [Becker i Puhan, 1989; Lankes i in., 1988; Savello i Dargan, 1955]. Siemanowski i wsp. [2011] twierdzą, iż właściwości reologiczne mogą być determinowane także aktywnością metaboliczną zastosowanych bakterii fermentacji mlekowej.

Tabela 2. Tekstura jogurtów naturalnych podczas przechowywania chłodniczego determinowana rodzajem szczepionki ($\bar{x}\pm S$)

Parametr	Czas przechowywania (dni)	Rodzaj szczepionki			
		Y 450 B	YC - X11	YC - X16	YO MIX 215
Twardość [N]	7	2,17ab $\pm 0,20$	2,30ab $\pm 0,26$	2,34a $\pm 0,191$	2,10b $\pm 0,13$
	14	2,19a $\pm 0,14$	2,39a $\pm 0,39$	2,38a $\pm 0,368$	2,27a $\pm 0,22$
	21	2,29a $\pm 0,15$	2,48a $\pm 0,36$	2,42a $\pm 0,26$	2,30a $\pm 0,15$
Adhezyjność [mJ]	7	5,58ab $\pm 0,95$	5,77a $\pm 0,81$	5,57ab $\pm 1,20$	4,32b $\pm 1,05$
	14	5,71a $\pm 1,12$	4,93a $\pm 1,03$	4,70a $\pm 2,07$	4,17a $\pm 2,09$
	21	5,32ab $\pm 0,89$	6,33a $\pm 1,18$	5,10ab $\pm 0,99$	4,65b $\pm 1,11$
Odkształcalność	7	0,02a $\pm 0,00$	0,00a $\pm 0,00$	0,02a $\pm 0,00$	0,02a $\pm 0,00$
	14	0,02a $\pm 0,00$	0,02a $\pm 0,00$	0,02a $\pm 0,00$	0,02a $\pm 0,00$
	21	0,02a $\pm 0,00$	0,02a $\pm 0,00$	0,02a $\pm 0,00$	0,02a $\pm 0,00$
Kohezja	7	0,43a $\pm 0,03$	0,41ab $\pm 0,02$	0,397b $\pm 0,012$	0,403ab $\pm 0,023$
	14	0,352a $\pm 0,173$	0,388a $\pm 0,034$	0,33a $\pm 0,16$	0,34a $\pm 0,17$
	21	0,35a $\pm 0,17$	0,40a $\pm 0,03$	0,39a $\pm 0,02$	0,40a $\pm 0,03$
Gumowatość [N]	7	0,93ab $\pm 0,11$	0,94a $\pm 0,08$	0,93ab $\pm 0,08$	0,85b $\pm 0,05$
	14	0,78a $\pm 0,39$	0,92a $\pm 0,10$	0,77a $\pm 0,42$	0,78a $\pm 0,39$
	21	0,82a $\pm 0,41$	0,97a $\pm 0,09$	0,93a $\pm 0,12$	0,92a $\pm 0,05$
Sprężystość [mm]	7	14,52a $\pm 2,78$	13,89a $\pm 0,38$	14,15a $\pm 0,40$	13,92a $\pm 1,08$
	14	14,32a $\pm 2,14$	13,39a $\pm 1,00$	12,04a $\pm 4,11$	14,91a $\pm 2,60$
	21	14,73a $\pm 0,44$	13,72a $\pm 0,86$	13,45a $\pm 0,28$	13,97a $\pm 0,73$

\bar{x} – wartość średnia, S – odchylenie standardowe

a,b - wartości średnie oznaczone różnymi literami w wierszach różnią się statystycznie w obrębie tego samego parametru przy $p \leq 0,05$

Najwyższą twardością po 7 dniach przechowywania charakteryzowały się napoje ukwaszone przez YC-X16, natomiast najniższą twardość stwierdzono w jogurtach fermentowanych przez YO MIX 215, a wykazane różnice były statystycznie istotne ($p \leq 0,05$) (tab. 2). Wraz z wydłużaniem czasu przechowywania zwiększała się twardość

wszystkich jogurtów. Na przykład w jogurtach fermentowanych przez YC-X11 twardość wzrosła z 2,30 N po 7 dniach do 2,48 N po 21 dniach, lecz w 3 tygodniu przechowywania nie stwierdzono pomiędzy twardością napojów istotnych różnic.

Rohm i Kovac [1994] analizowali wpływ różnych szczepionek jogurtowych na lepkość i parametry fizyczne jogurtów. Autorzy zauważyli, że jogurt wyprodukowany przy użyciu kultur starterowych, w skład których wchodziły bakterie *S. thermophilus*, *L. acidophilus* oraz *Bifidobacterium*, charakteryzował się małą twardością skrzepu i stosunkowo wysoką synerezą. Podobne wyniki otrzymali również Domagała i Wszolek [2008], badając napoje z mleka koziego. Według Skrzypczak i Gustaw [2012] na twardość jogurtów wpływa wielkość dodatku odtłuszczonego mleka w proszku. Przy 1,5% dodatku OMP twardość jogurtów wzrosła z ok. 0,48 N do ok. 0,60 N.

Najwyższą adhezyjność stwierdzono w 7 i 21 dniu przechowywania w napoju ukwaszonym przez YC-X11, najniższą zaś w jogurcie z udziałem szczepionki YO MIX 215 i różnice te były statystycznie istotne ($p \leq 0,05$). Również w 7 dniu przechowywania najniższą kohezję oznaczono w napoju fermentowanym przez YC-X16, a po 3 tygodniach w jogurcie ukwaszonym przez Y 450 B.

Najwyższą gumowatość w 7 dniu przechowywania zmierzono w napoju ukwaszonym YC-X11, najniższą zaś w jogurcie fermentowanym kulturami YO MIX 215 i różnice te były statystycznie istotne ($p \leq 0,05$). W późniejszych terminach nie stwierdzono wpływu zastosowanych kultur bakterii na gumowatość jogurtów.

Użycie do produkcji jogurtów różnych kultur starterowych nie wpłynęło istotnie na ich odkształcalność i sprężystość, a wartości badanych parametrów dla wszystkich grup napojów fermentowanych były zbliżone.

Domagała i Juszcak [2004] oraz Domagała [2005] badali wpływ rodzaju szczepionki na teksturę jogurtów i biojogurtów wyprodukowanych z mleka koziego. Autorzy ci stwierdzili, że rodzaj kultur starterowych nie miał wpływu na zmiany parametrów tekstury w obrębie samych jogurtów, czy biojogurtów. Natomiast istotne różnice wystąpiły pomiędzy jogurtami i biojogurtami.

Tabela 3. Jakość sensoryczna jogurtów naturalnych podczas przechowywania chłodniczego determinowana rodzajem szczepionki (1 – 9 pkt)

Parametr	Czas przechowywania (dni)	Rodzaj szczepionki			
		Y 450 B	YC - X11	YC - X16	YO MIX 215
Konsystencja	7	6,00a ±1,67	8,67b ±0,52	8,83b ±0,41	5,83a ±1,72
	14	6,50a ±1,05	8,83b ±0,41	8,67b ±0,52	5,17a ±1,60
	21	7,33ab ±1,86	8,50a ±0,84	8,50a ±0,84	6,67b ±1,03
Smak jogurtowy	7	6,67a ±1,63	7,50a ±1,38	7,17a ±1,72	3,17b ±0,75
	14	5,83a ±1,47	7,83b ±0,75	7,83b ±0,75	2,83c ±0,75
	21	5,83a ±1,17	6,500a ±1,378	7,00a ±1,414	2,83b ±1,169
Smak mleczno-kremowy	7	4,17a ±1,47	5,50a ±1,76	5,67a ±1,86	4,50a ±1,049
	14	5,33ab ±1,63	6,50a ±1,87	6,33a ±1,21	4,17b ±1,17
	21	5,83a ±1,33	6,33a ±0,82	6,67a ±1,21	3,83b ±1,17
Smak kwaśny	7	4,83a ±1,17	4,83a ±0,983	5,00a ±1,27	3,83a ±0,75
	14	5,83a ±1,94	5,00a ±1,10	4,83a ±1,72	3,67a ±1,63
	21	6,00a ±1,79	5,67a ±1,033	5,83a ±0,98	3,88b ±0,75
Smak obcy	7	1,00a ±0,00	1,00a ±0,00	1,00a ±0,00	1,67b ±0,516
	14	1,00a ±0,00	1,00a ±0,00	1,00a ±0,00	2,667b ±1,37
	21	1,00a ±0,00	1,00a ±0,00	1,00a ±0,00	2,67b ±1,03
Zapach kwaśny	7	4,17a ±0,98	3,83a ±1,72	3,67a ±1,37	3,50a ±1,38
	14	5,33a ±1,63	4,83a ±0,75	5,00a ±1,41	3,33b ±1,03
	21	5,33a ±2,25	5,00a ±0,894	4,67a ±1,86	2,67b ±1,63
Zapach obcy	7	1,00a ±0,00	1,00a ±0,00	1,00a ±0,00	1,17a ±0,41
	14	1,00a ±0,00	1,00a ±0,00	1,00a ±0,00	1,50a ±0,837
	21	1,00a ±0,00	1,00a ±0,00	1,00a ±0,00	3,33b ±1,63

x – wartość średnia, S – odchylenie standardowe

a,b - wartości średnie oznaczone różnymi literami w wierszach różnią się statystycznie w obrębie tego samego parametru przy $p \leq 0,05$

Jednym z ważniejszych parametrów oceny sensorycznej jogurtów jest konsystencja. Konsumenci zwracają na nią szczególną uwagę podczas zakupu produktu [Skrzypczak i Gustaw, 2012]. Barylko – Pikielna i Matuszewska [2009] definiują pojęcie konsystencji jako stopień gęstości, lepkości i zwartości produktu lub jego określonego składnika charakteryzujący pewne cechy tekstury. Na stopień formowania konsystencji jogurtów ma wpływ wprowadzenie dodatków stabilizująco-zagęszczających [Dzwolak i in., 2006]. Gustaw i Nastaj [2007] twierdzą, iż na jakość konsystencji jogurtu ma wpływ zawartość składników suchej masy.

Najlepiej ocenionymi jogurtami pod względem jakości sensorycznej w trakcie 21 dni przechowywania chłodniczego były napoje fermentowane przez YC-X11 oraz YC-X16 (tab. 3) i pomiędzy tymi napojami nie stwierdzono istotnych różnic zarówno w 7, 14 jak i 21 dniu przechowywania. Najgorzej ocenioną konsystencją charakteryzowały się jogurty fermentowane szczepionkami YO MIX 215 przez cały okres przechowywania. Nieco lepiej zaklasyfikowano napoje z udziałem Y 450 B, które w 1 tygodniu przechowywania cechowały się dobrą konsystencją (6,00 pkt), zaś w ostatnim tygodniu konsystencja stała się bardziej zwięzła (7,33 pkt), co potwierdzają również wyniki pomiarów twardości jogurtów.

Zespół o sprawdzonej wrażliwości sensorycznej ocenił deskryptory smaku, tj. jogurtowy, mleczno – kremowy i kwaśny. Wyniki przeprowadzonej analizy statystycznej nie wykazały istotnych różnic pomiędzy smakiem jogurtowym i mleczno – kremowym jogurtów ukwaszonych przez YC-X16 a tymi deskryptorami w napojach YC-X11 w trakcie całego okresu przechowywania chłodniczego. Jogurty te cechowały się intensywnym smakiem jogurtowym utrzymującym się na poziomie od 6,50 pkt do 7,83 pkt dla napoju z udziałem YC-X11 oraz od 7,00 pkt do 7,83 pkt dla jogurtu fermentowanego przy użyciu YC-X16 w ciągu całego okresu przechowywania chłodniczego. Najmniej atrakcyjnym smakiem jogurtowym charakteryzował się napój ukwaszony przez YO MIX 215. Zespół ocenił ten parametr na 2,83 pkt, zarówno w 14 jak i w 21 dniu przechowywania, a stwierdzone różnice były statystycznie istotne ($p \leq 0,05$). Podobne zależności wykazano w przypadku smaku mleczno – kremowego wszystkich grup doświadczalnych jogurtów.

Dalszą część eksperymentu stanowiła ocena smaku i zapachu kwaśnego badanych napojów. Intensywność smaku kwaśnego wzrastała wraz z wydłużeniem czasu przechowywania chłodniczego dla wszystkich grup jogurtów. Wykazano statystycznie istotne różnice pomiędzy intensywnością smaku kwaśnego jogurtu fermentowanego przez YO MIX 215 w 21 dniu przechowywania chłodniczego a smakiem kwaśnym ocenionym w pozostałych grupach doświadczalnych. Wyniki oceny atrakcyjności sensorycznej badanych napojów fermentowanych wykazały, iż jogurt fermentowany z użyciem Y 450 B charakteryzował się najintensywniejszym zapachem kwaśnym.

Ponadto, wyniki przeprowadzonej analizy statystycznej wykazały istotne różnice w intensywności zapachu kwaśnego w 2 i 3 tygodniu przechowywania pomiędzy napojem z udziałem YO MIX 215 a pozostałymi grupami jogurtów ($p \leq 0,05$).

Cais – Sokolińska i in. [2009] twierdzą, że jakość jogurtu i jego akceptowalność przez konsumentów ma przede wszystkim związek ze stopniem ukwaszenia skrzepu. Nieprawidłowe warunki przechowywania mogą prowadzić do przekwaszenia skrzepu, pogorszenia się jego struktury, zmniejszenia lepkości i zwiększenia synerezy.

W jogurtach z udziałem kultur YC-X16, YC-X11 oraz Y450 B nie odnotowano smaku oraz zapachu obcego. Cechy te wyczuwalne były zaś w jogurtach YO MIX 215, a ich intensywność wzrosła około 3-krotnie wraz z wydłużeniem czasu przechowywania chłodniczego, a różnice były statystycznie istotne ($p \leq 0,05$).

Domagała i Wszolek [2008] udowodnili, że rodzaj zastosowanej przez nich szczepionki istotnie wpływał na wyniki oceny organoleptycznej ocenianego przez nich jogurtu i biojogurtów z mleka koziego. Badania Domagały [2005] wskazują z kolei na brak statystycznie istotnych różnic w wynikach oceny sensorycznej jogurtów z niezagęszczonego mleka koziego wyprodukowanych z zastosowaniem różnych kultur starterowych.

Wnioski

1. Jogurty fermentowane przez kultury YO MIX 215 miały wyższe pH i niższą kwasowość ogólną od pozostałych grup napojów.
2. Po 7 dniach przechowywania jogurty fermentowane z użyciem kultur YO MIX 215 charakteryzowały się niższą twardością i adhezyjnością w porównaniu do pozostałych grup napojów doświadczalnych. Wraz z wydłużeniem czasu przechowywania do 21 dni różnice w tych parametrach tekstury stały się nieistotne.
3. Najlepszą jakością sensoryczną w trakcie 21 dni przechowywania chłodniczego charakteryzowały się jogurty ukwaszone kulturami starterowymi YC-X11 oraz YC-X16, najniżej zaś oceniane były jogurty wyprodukowane z udziałem YO MIX 215.

Literatura

1. Baryłko – Pikielna N., Matuszewska I. Sensoryczne badania żywności. Podstawy. Metody. Zastosowania, Wyd. Naukowe PTTŻ, Kraków, 2009.
2. Becker T., Puhan Z. Effect of different processes to increase the milk solids non-fat content on the rheological properties of yoghurt. *Milchwiss.*, 1989, 44, (10), 626-629.

3. Bonczar G., Reguła A. The influence of different amount of starter culture on the properties of yogurts obtained from ewe's milk. *EJPAU, Food Science and Technology*, 2003, 6 (2).
4. Cais-Sokolińska D., Michalski M.M., Pikul J. Role of the proportion of yoghurt bacterial strains in milk souring and the formation of curd qualitative characteristics. *Bull. Vet. Inst. Puławy*, 2004, 48, 4, 437-441.
5. Cais-Sokolińska D., Danków R., Pikul J.: Dynamika zmian kwasowości jogurtu z dodatkiem produktów zbożowych podczas chłodniczego przechowywania. *Nauka Przyroda Technologie*, 2009, 3, 4, 1-7.
6. Domagała J. Texture of yoghurts and bio-yoghurts from goat's milk depending on starter culture type. *Milchwiss.*, 2005, 60 (3), 289-292.
7. Domagała J., Juszczak L. Flow behavior of goat's milk yoghurts and bio-yoghurts. *EJPAU. Food Sci. Technol.*, 2004, 7 (2).
8. Domagała J., Wszolek M. Wpływ sposobu zagęszczania oraz rodzaju szczepionki na teksturę i podatność na synerzę jogurtu i biojogurtów z mleka koziego. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2008, 6 (61), 118-126.
9. Dzwolak I., Żuraw J., Jankowski P., Przybylski R. Wady mlecznych napojów fermentowanych. *Przegląd Mleczarski*, 2006, 4, 10-13.
10. Glibowski P., Krępacka A. Wpływ dodatku preparatów serwatki na właściwości reologiczne jogurtów. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2006, 1 (46), 74-82.
11. Gustaw W., Nastaj M. Wpływ dodatku wybranych koncentratów białek serwatkowych (WPC) na właściwości reologiczne jogurtów otrzymanych metodą termostatową. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2007, 1 (50), 56-63.
12. Jaworska D., Hejduk L. Instrumentalna metoda oceny gładkości jogurtu naturalnego. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2008, 4 (59), 26-34.
13. Lankes H., Ozer H.B., Robinson R.K. The effect of elevated milk solids and incubation temperature on the physical properties of natural yoghurt, *Milchwiss.*, 1998, 53 (9), 510-513.
14. Najgebauer-Lejko D., Grega T., Tabaszewska M. Yoghurts with addition of selected vegetables: acidity, antioxidant properties and sensory quality. *Acta Sci. Pol., Technol Aliment.*, 2014, 13 (1), 35-42.
15. PN-A-86061:2002. Mleko i przetwory mleczne – Mleko fermentowane.
16. PN-ISO 11035:1999. Analiza sensoryczna. Identyfikacja i wybór deskryptorów do ustalania profilu sensorycznego z użyciem metod wielowymiarowych.
17. Rohm H., Kovac A. Effects of starter cultures on linear viscoelastic and physical properties of yoghurt gels. *J. Texture Studies*, 1994, 25, 311-325.

18. Sady M., Domagała J., Grega T., Kalicka D. Wpływ czasu przechowywania na mikroflorę jogurtów z dodatkiem nasion amarantusa i ziaren owsa. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2007, 6 (55), 242-250.
19. Savello P.A., Dargan R.A. Improved yoghurt physical properties using ultrafiltration and very-high temperature heating. *Milchwiss.*, 1995, 50 (2), 86-90.
20. Siemanowski K., Detman K., Staniewski B., Baranowska M. Porównanie profilu tekstury jogurtów naturalnych dostępnych w handlu. *Przemysł Mleczarski*, 2011, 10, 14-18.
21. Skrzypczak K., Gustaw W. Wpływ dodatku prebiotyków i białek serwatkowych na właściwości fizykochemiczne bio-jogurtów. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2012, 5 (84), 155-165.
22. Yazici F., Akoun A. Effect of some protein based fat replacers on physical, chemical, textural and sensory properties of strained yoghurt. *J. Food Engin.*, 2004, 62, 245-254.
23. Zare, F., Boye, J.I., Orsat, V., Champagne, C.P., Simpson, B.K. Microbial, physical and sensory properties of yogurt supplemented with lentil flour. *Food Research International*, 2011, 44 (8), 2482-2488.

JAKOŚĆ KEFIRÓW FORTYFIKOWANYCH CYTRYNIANEM WAPNIA

Wprowadzenie

Spożywanie wzbogaconych produktów mlecznych pozwala zbilansować naszą dietę w składniki deficytowe [Zaręba i Ziarno, 2012]. Jak pisze Kowalska i in. [2012] technologia fortyfikacji produktów mleczarskich zarówno wapniem, jak i magnezem musi wziąć pod uwagę odpowiedni dobór soli wapniowej lub magnezowej, której rozprowadzenie w produkcie nie wpłynie na zmianę cech organoleptycznych, sensorycznych końcowego produktu w całym okresie jego przechowywania. Zwraca się także uwagę, na to aby stosowany dodatek nie stanowił zagrożenia dla konsumenta po jego spożyciu. Dodatkowo warto zauważyć, że obróbka termiczna - pasteryzacja, która stosowana jest podczas produkcji mlecznych napojów fermentowanych z dodatkiem soli wapniowych przyczynia się od powstawania nierozpuszczalnego fosforanu trójwapniowego, co może powodować stratę nawet 50% wapnia w produkcie [Żbikowska i Żbikowski, 2003; Zaręba i Ziarno, 2012]. Z badań przeprowadzonych przez Zarębę i in. [2012] wynika jednak, że często podczas produkcji fortyfikowanych produktów mlecznych w mikroelementy producenci napotykają na niekorzystne reakcje zastosowanych dodatków ze składnikiem produktu do którego dana sól została wprowadzona.

Jedną z soli wapniowych, którą mogą być fortyfikowane mleczne napoje fermentowane jest cytrynian wapnia (Rozporządzenie 1170/2009 zmieniające Dyrektywę 2002/46/WE Parlamentu Europejskiego i Rady oraz rozporządzenie (WE) 1925/2006 Parlamentu Europejskiego i Rady). Cytrynian wapnia nie rozpuszcza się w wodzie a jego zbyt duży dodatek do mleka może zmieniać smak i wpływać na konsystencję finalnego produktu [Ziarno i in., 2004, 2009].

Celem pracy była ocena jakości kefirów wzbogaconych różnymi dawkami wapnia w czasie 21-dniowego przechowywania chłodniczego. Określono wpływ zastosowania cytrynianu trójwapniowego na właściwości fizykochemiczne, organoleptyczne i teksturę kefirów. Ponadto zbadano zmiany parametrów jakościowych kefirów w czasie 21-dniowego przechowywania.

Material i metody badań

Materiałem do badań było mleko krowie pasteryzowane o zawartości tłuszczu 2% (OSM „Resmlecz” Trzebowniko), mleko w proszku odtłuszczone, granulowane (SM Gostyń) oraz szczepy starterowe kefir VITAL (Danisco, Polska). Mleko fortyfikowano cytrynianem trójwapniowym (Brentag, Polska).

Układ doświadczenia obejmował produkcję kefirów wzbogaconych w wapń w ilości: 0mg, 10mg, 20mg, 30mg, 40mg, 50mg, 60mg, 70 mg, 80mg na 100g mleka. Mleko spasteryzowano doprowadzając do temperatury 72°C. Po schłodzeniu do 26°C dodano kultury starterowe kefir VITAL (Danisco Polska) i rozlano do opakowań o poj. 100 ml z pokrywką i termostatowano w temperaturze 26°C przez 16 godzin w inkubatorze, schłodzono do 5°C i przechowywano w tej temperaturze przez 21 dni.

Ocenę jakości kefirów przeprowadzono w 3 powtórzeniach w czterech terminach tj. 1 dzień, 7 dni, 14 dni, 21 dni. W każdym terminie do oceny wybierano losowo po 5 prób z każdej grupy doświadczalnej w których oznaczono pH (mikrokomputerowym pH-metrem Elmetron CPC-411), kwasowość ogólną (metoda miareczkowa) i synerezę (jako procentowy wyciek serwatki z 25 g napoju po 120 minutach, w temp. 5°C). Teksturę oznaczono teksturometrem Brookfield CT3 z wykorzystaniem testu TPA, wprowadzając ustawienia: siła 0,1N, prędkość głowicy 1 mm/s, sonda TA3/100. Ocenę sensoryczną, metodą profilowania sensorycznego, przeprowadził przeszkolony zespół składający się z dziewięciu osób. Badający oceniali próbki w skali 9-punktowej, ze skalą liniową 9 cm, niestrukturowaną, z oznaczeniami na obu jej końcach, gdzie „1” oznaczało cechę najmniej wyczuwalną, najmniej charakterystyczną, zaś „9” określało cechę najintensywniejszą, najbardziej charakterystyczną [PN-ISO 11035:1999].

Z uzyskanych danych obliczono średnią i odchylenie standardowe oraz współczynniki korelacji prostej (r). Wykorzystano program Statistica ver. 10. Istotność różnic pomiędzy grupami oznaczono testem NIR przy poziomie istotności ($p \leq 0,05$).

Analiza i dyskusja wyników

W tabeli 1 zamieszczono wyniki badań kwasowości czynnej kefirów w zależności od zastosowanego dodatku wapnia i czasu przechowywania. Cytrynian wapnia posiada pH 5-6,5 i jest słabo rozpuszczalny w wodzie, stąd też w niewielkim stopniu może powodować spadek wartości pH. Potwierdzają to badania innych autorów [Ziarno 2004, Flinger i wsp. 1998]. Uwzględniając kwasowość cytrynianu wapnia, która jest niższa niż kwasowość mleka oraz ilość Ca wprowadzoną do mleka, wykazano że wraz ze wzrostem dawki wapnia w postaci cytrynianu wapnia kwasowość czynna badanych kefirów malała. Coraz wyższe dawki fortyfikacji wapniem kefirów powodowały w pierwszym dniu przechowywania nieznaczny lecz systematyczny spadek wartości pH, a różnice okazały się statystycznie istotne ($p \leq 0,05$). Spadek wartości pH

wynikać może z interakcji, jakie następują pomiędzy wapniem a białkiem mleka [Kowalska i in., 2012]. Podobne wyniki kwasowości czynnej kefirów po 24 godzinach uzyskali Baranowska [2009] i Kök-Tas i in. [2013] podczas badania właściwości fizykochemicznych kefirów. Ponadto w badaniach Baranowskiej [2009] pH kefirów sukcesywnie malało od 4,40 w pierwszej dobie przechowywania do 4,28 po 28 dniach przechowywania.

W przeprowadzonym doświadczeniu spadek wartości pH w ciągu całego okresu przechowywania nastąpił średnio o 0,1 jednostki pH we wszystkich grupach, niezależnie od ilości dodatku wapnia w postaci cytrynianu wapnia. Najwyższą kwasowość czynną pierwszego dnia badań oznaczono w kefirach bez dodatku cytrynianu wapnia, zaś najniższą w kefirach z dodatkiem 60 i 70 mg Ca (4,45). Badania przeprowadzone przez Skrzypczak i Gustaw [2012] oraz Gustaw i in. [2007] dowodzą, że dodatek do napojów mlecznych prebiotyków i białek serwatkowych powoduje wzrost wartości pH. Zastosowanie tych dodatków może zneutralizować spadek pH wywołany dodatkiem cytrynianu.

Tabela 1. Wpływ zastosowanej dawki cytrynianu wapnia (mg Ca/100g) na pH kefirów podczas przechowywania

Lp.	Dodatek Ca [mg/100 g kefiru]	pH kefirów			
		1 dzień	7 dzień	14 dni	21 dni
1	0	4,48 ± 0,01a	4,51 ± 0,00a	4,60 ± 0,00a	4,61 ± 0,00a
2	10	4,47 ± 0,01ab	4,52 ± 0,00b	4,58 ± 0,00b	4,62 ± 0,01ab
3	20	4,45 ± 0,00b	4,53 ± 0,01b	4,59 ± 0,01ab	4,60 ± 0,00b
4	30	4,47 ± 0,00ab	4,56 ± 0,01b	4,60 ± 0,01ab	4,60 ± 0,00ab
5	40	4,46 ± 0,01b	4,52 ± 0,00b	4,59 ± 0,01ab	4,59 ± 0,00b
6	50	4,47 ± 0,00ab	4,53 ± 0,00b	4,59 ± 0,01ab	4,59 ± 0,01b
7	60	4,45 ± 0,00b	4,52 ± 0,00b	4,56 ± 0,00b	4,59 ± 0,00b
8	70	4,45 ± 0,00b	4,49 ± 0,00ab	4,57 ± 0,01b	4,59 ± 0,01b
9	80	4,47 ± 0,00ab	4,51 ± 0,00ab	4,56 ± 0,00b	4,58 ± 0,01ab
	r	-0,2560	-0,1971	-0,7282	-0,7811

a,b,c - wartości średnie oznaczone różnymi literami w kolumnach różnią się statystycznie w obrębie tego samego parametru, przy $p \leq 0,05$

W poszczególnych dniach oznaczeń również zaobserwowano niższe pH w kefirach fortyfikowanych cytrynianem wapnia, w porównaniu do kefirów kontrolnych. Potwierdzeniem zależności pomiędzy dawką wzbogacenia w wapń, a pH kefirów są wykazane silne zależności korelacyjne ($r > -0,7$; $p \leq 0,05$) występujące w 14 i 21 dniu przechowywania

Tabela 2. Wpływ zastosowanej dawki cytrynianu wapnia (mg Ca/100g) na kwasowość potencjalną kefirów podczas przechowywania

Lp.	Dodatek Ca [mg/100 g kefiru]	Kwasowość ogólna kefirów [°SH]			
		1 dzień	7 dzień	14 dni	21 dni
1	0	29,73 ± 1,50a	32,50 ± 0,71a	35,20 ± 0,87a	33,30 ± 1,39a
2	10	33,50 ± 1,48ab	34,30 ± 1,58b	34,80 ± 1,07b	32,40 ± 2,02a
3	20	33,30 ± 1,17ab	34,80 ± 1,16ab	35,10 ± 1,03ab	30,50 ± 1,24ab
4	30	33,20 ± 1,32ab	31,40 ± 1,00ab	34,50 ± 0,43b	30,70 ± 1,45b
5	40	34,80 ± 0,84b	30,90 ± 1,39b	34,50 ± 0,71b	29,50 ± 0,91b
6	50	34,80 ± 0,84b	30,80 ± 0,98b	34,90 ± 1,10ab	31,60 ± 0,91ab
7	60	34,80 ± 0,86b	30,40 ± 0,74b	34,10 ± 0,65b	30,70 ± 3,11b
8	70	33,50 ± 0,52ab	32,30 ± 1,36ab	34,40 ± 0,44b	30,60 ± 1,56b
9	80	33,30 ± 1,48ab	31,60 ± 0,63ab	33,50 ± 0,52b	30,30 ± 1,58b
r		0,1359	-0,4088	-0,5039	-0,5100

a,b,c - wartości średnie oznaczone różnymi literami w kolumnach różnią się statystycznie w obrębie tego samego parametru, przy $p \leq 0,05$

Kwasowość ogólna kefirów w pierwszym dniu przechowywania chłodniczego kształtowała się w przedziale od 29,73°SH do 34,8°SH (tab.2). Kefiry kontrolne charakteryzowały się najniższą kwasowością wynoszącą 29,73 °SH, natomiast kefiry z dodatkiem 40 mg, 50 mg i 60 mg wapnia najwyższą kwasowością tj. 34,8°SH, a różnice te były statystycznie istotne ($p \leq 0,05$). W 7 dniu przechowywania kefiry nie wzbogacone w Ca posiadały istotnie niższą kwasowość ogólną niż kefiry wzbogacone 10mg, 40 mg, 50 mg i 60 mg wapnia. Po 7 dniach przechowywania zaobserwowano umiarkowaną zależność korelacyjną pomiędzy dawką zastosowanego wapnia, a kwasowością ogólną kefirów ($r = -0,4088$, $p \leq 0,05$), która pozwala na stwierdzenie, że wraz ze zwiększaniem dawki fortyfikacji kwasowość kefirów maleje. W kolejnych terminach przechowywania (14 i 21 dni) pomiędzy tymi cechami stwierdzono jeszcze silniejsze zależności korelacyjne ($r > -0,5$ $p \leq 0,05$). Taki rozkład wyników badań tłumaczy Aljewicz i in. [2012] pisząc, że wzbogacanie w wapń mleczarskich produktów fermentowanych zwiększa pojemność buforową, co zapobiega przekwaszeniu oraz zwiększa przeżywalność bakterii mlekowych. Wzrost kwasowości podczas przechowywania uzyskali Montanuci i in. [2012], którzy badali różnice w kwasowości kefirów produkowanych z ziaren kefirowych oraz z kultur starterowych. W trakcie przechowywania kwasowość kefirów z ziaren wzrosła, natomiast kwasowość kefirów z kultur starterowych pozostała niemal na tym samym poziomie.

Na jakość końcową kefirów w dużym stopniu wpływa stopień synerezy, czyli procentowy udział serwatki w stosunku do masy próbki badanego produktu. Z badań przeprowadzonych przez Baranowską [2009] wynika, że na stopień synerezy wpływ ma zarówno dodatek do kefiru proszku mlecznego, jak i zawartość tłuszczu. Im więcej

proszku mlecznego i tłuszczu tym wyciek serwatki jest mniejszy. Z danych przedstawionych w tabeli 3 wynika, że procentowy wyciek serwatki mieścił się w przedziale od 31,27% do 37,30%. W większości badanych grup kefirów przy tej samej dawce Ca odnotowano spadek synerezy w ciągu 14 dni, by w ostatnim dniu badań odnotować niewielki wzrost wycieku serwatki o ok. 1-4%. W 1 i 7 dniu przechowywania chłodniczego stwierdzono istotną ujemną korelację ($r=-0,4397$, $r=-0,6617$; $p\leq 0,05$) informującą, że wraz ze zwiększaniem ilości zastosowanego wapnia maleje ilość wydzielonej serwatki. W kolejnych terminach przechowywania siła zależności korelacyjnych maleje co oznacza, że dawka fortyfikacji wapniem nie miała już istotnego wpływu na wyciek serwatki.

Z obserwacji Aljewicza i in. [2012] wynika, że dodatek soli wapnia, które rozpuszczają się w wodzie pogarsza zwięzłość skrzepu oraz zwiększa podciek serwatki (synerezę). Z kolei badania Baranowskiej [2009] mogą pomóc tłumaczyć mniejszy poziom podcieku serwatki w przypadku kefirów z dodatkiem wapnia. Dodatek, choć w bardzo niewielkiej ilości, ale jednak zwiększył zawartość suchej masy, co pomogło zachować większą zwięzłość produktu. Także wyższa zawartość tłuszczu ograniczała wydzielanie serwatki, ponieważ kefiry o zawartości tłuszczu 4% charakteryzowały się mniejszym podciekiem serwatki niż te o obniżonej zawartości tłuszczu [Baranowska, 2009].

Jimborean i in. [2011] badali także wpływ dodatku miodu akacjowego na synerezę kefiru. Dodatki w ilościach 2,5% oraz 4% widocznie zmniejszały wyciek serwatki. Montanuci i in. [2012] twierdzą, iż kefiry produkowane z kultur starterowych wykazują się mniejszą podatnością na synerezę niż produkowane z ziaren kefirowych. Ponadto kefiry, do których dodano inulinę miały wyższe wartości synerezy niż te bez jej dodatku.

W ocenie jakości mlecznych napojów fermentowanych ważnym parametrem jest tekstura, która zależy od zagęszczenia mleka, rodzaju zastosowanych kultur bakteryjnych oraz rodzaju i ilości wprowadzonych dodatków. O końcowym profilu teksturometrycznym decyduje również zawartość wody w produkcie finalnym [Żbikowski i Żbikowska, 2003].

Tabela 3. Wpływ zastosowanej dawki cytrynianu wapnia (mg Ca/100g) na synerezę (%) kefirów podczas przechowywania

Lp.	Dodatek Ca [mg/100 g kefiru]	Synereza kefirów [%]			
		1 dzień	7 dzień	14 dni	21 dni
1	0	36,12 ± 1,13a	37,30 ± 0,91a	33,24 ± 0,34a	34,74 ± 1,02afg
2	10	32,97 ± 0,04be	35,04 ± 0,94b	31,44 ± 3,01ab	33,15 ± 0,23cf
3	20	36,12 ± 0,70ac	34,89 ± 0,11c	30,39 ± 1,16b	34,34 ± 0,48dch
4	30	35,42 ± 1,96ac	32,46 ± 1,00d	31,43 ± 0,80ab	33,68 ± 1,89ec
5	40	36,96 ± 0,31a	34,25 ± 0,97e	32,45 ± 0,67ab	33,12 ± 1,10f
6	50	35,83 ± 0,66a	34,09 ± 0,49e	32,69 ± 0,37ab	34,97 ± 0,49g
7	60	34,02 ± 1,44b	32,00 ± 1,36f	32,31 ± 0,68ab	35,68 ± 0,28h
8	70	33,73 ± 0,88d	33,58 ± 0,43g	32,49 ± 0,55ab	32,06 ± 1,29bf
9	80	31,27 ± 0,44e	33,20 ± 0,16defg	32,48 ± 2,13ab	32,78 ± 1,10bf
r		-0,4397	-0,6617	0,1538	-0,1748

a,b,c - wartości średnie oznaczone różnymi literami w kolumnach różnią się statystycznie w obrębie tego samego parametru, przy $p \leq 0,05$

Analizując wyniki twardości zamieszczone w tabeli 4 zaobserwowano, że twardość fortyfikowanych wapniem kefirów w pierwszym dniu badań była zbliżona i mieściła się w przedziale od 1,63N do 1,83N. W 14 dniu badań kefirów fortyfikowanych 20 mg wapnia wykazały najniższą wartość twardości (1,643N), natomiast kefirów wzbogacone 50 mg wapnia od 7 do 21 dnia badań charakteryzowały się najwyższą twardością. W 14 dniu przechowywania współczynnik korelacji pomiędzy dawką wapnia a twardością kefiru wynosił $r=0,4222$ ($p \leq 0,05$). W pozostałych terminach wykazano niskie zależności korelacyjne, świadczące o słabym wpływie dawki fortyfikacji Ca na twardość kefirów.

Poprawę zwięzłości skrzepów można uzyskać stosując do napojów fermentowanych izolat białek serwatkowych oraz prebiotyków. [Skrzypczak i Gustaw, 2012; Gustaw i in. 2007]

Przylegalność czyli adhezyjność to według Sołowaja [2011] praca niezbędna do zwalczania sił przyciągania pomiędzy powierzchnią produktu a innym ciałem, z którym ma styczność (język, podniebienie, zęby). Dane przedstawione w tabeli 5 danych wskazują, że adhezyjność kefirów waha się od 2,96 mJ do 4,83 mJ w czasie 21-dniowego przechowywania. Jediną istotną współzależność korelacyjną pomiędzy dawką wzbogacenia w wapń, a adhezyjnością kefirów stwierdzono w 21 dniu przechowywania chłodniczego ($r = -0,4643$, $p \leq 0,05$).

Tabela 4. Wpływ zastosowanej dawki cytrynianu wapnia (mg Ca/100g) na twardość kefirów podczas przechowywania

Lp.	Dodatek Ca [mg/100 g kefiru]	Twardość kefirów [N]			
		1 dzień	7 dzień	14 dni	21 dni
1	0	1,63 ± 0,04a	1,80 ± 0,02a	1,74 ± 0,05ac	1,87 ± 0,09a
2	10	1,70 ± 0,06a	1,86 ± 0,04a	1,81 ± 0,43ac	2,05 ± 0,09b
3	20	1,68 ± 0,08ab	1,79 ± 0,06b	1,64 ± 0,15c	1,94 ± 0,02ab
4	30	1,74 ± 0,09b	1,81 ± 0,07b	1,92 ± 0,10d	1,98 ± 0,12ab
5	40	1,83 ± 0,09c	1,95 ± 0,12c	1,90 ± 0,15d	1,96 ± 0,19ab
6	50	1,76 ± 0,02cb	2,03 ± 0,04c	2,13 ± 0,00b	2,08 ± 0,09b
7	60	1,67 ± 0,00b	1,89 ± 0,06c	2,09 ± 0,14b	1,99 ± 0,07ab
8	70	1,69 ± 0,04ab	1,81 ± 0,10ab	1,88 ± 0,01c	1,82 ± 0,11a
9	80	1,73 ± 0,03b	1,88 ± 0,02ab	1,95 ± 0,00d	1,88 ± 0,03a
r		0,2458	0,3051	0,4222	0,09

a,b,c - wartości średnie oznaczone różnymi literami w kolumnach różnią się statystycznie w obrębie tego samego parametru, przy $p \leq 0,05$

Dzięki ocenie organoleptycznej można przewidzieć reakcję nabywców na dany produkt oraz ograniczyć ryzyko niepowodzenia związane z wprowadzeniem na rynek produktu, który nie znajdzie akceptacji [Czajkowska i in., 2013]. Za taki produkt, nieznanym jeszcze na rynku można uznać kefir wzbogacony cytrynianem wapnia, którego wyniki oceny sensorycznej metodą profilowania sensorycznego przedstawiono w tabelach 6-7.

Tabela 5. Wpływ dodatku cytrynianu wapnia (mg Ca/100g) na adhezyjność kefirów podczas przechowywania

Lp.	Dodatek Ca [mg/100 g kefiru]	Adhezyjność kefirów [mJ]			
		1 dzień	7 dzień	14 dni	21 dni
1	0	3,70 ± 0,32a	3,60 ± 0,32a	4,06 ± 0,18a	4,26 ± 0,04ab
2	10	3,60 ± 0,49a	4,73 ± 0,85a	2,96 ± 0,34c	4,53 ± 0,61a
3	20	3,20 ± 0,32b	3,93 ± 0,04a	3,60 ± 1,10ac	4,13 ± 0,09ab
4	30	3,90 ± 0,21ab	3,73 ± 0,83a	3,86 ± 0,47ac	3,50 ± 0,65b
5	40	4,13 ± 0,04ab	3,96 ± 0,36a	4,83 ± 0,74b	3,56 ± 1,34b
6	50	4,70 ± 1,27c	3,60 ± 2,69a	4,40 ± 0,53b	3,73 ± 0,53ab
7	60	4,23 ± 0,75c	3,63 ± 0,41a	3,90 ± 0,08a	3,56 ± 0,24b
8	70	4,03 ± 0,61c	4,30 ± 0,92a	2,96 ± 0,47ac	3,50 ± 0,86b
9	80	3,36 ± 0,61ab	4,60 ± 0,45a	2,56 ± 2,08c	3,50 ± 0,37b
r		0,1819	0,0972	-0,1763	-0,4643

a,b,c - wartości średnie oznaczone różnymi literami w kolumnach różnią się statystycznie w obrębie tego samego parametru, przy $p \leq 0,05$

Konsystencja wszystkich kefirów, zarówno tych bez dodatku wapnia, jak i z najwyższym dodatkiem 80 mg została oceniona bardzo wysoko tj. 8,83 pkt. w pierwszym dniu przechowywania. W 7 dniu przechowywania bardziej pożądaną konsystencją charakteryzowały się kefiry fortyfikowane dawką 30mg Ca i 40mg Ca. Z kolei w 21 dniu składowania chłodniczego korzystniejszą konsystencję stwierdzono w kefirach wzbogaconych w 40mg Ca i mniej. Niskie, nieistotne współczynniki korelacji sugerują, że wielkość dawki wzbogacenia Ca nie wpływa na konsystencję. Według obserwacji poczynionych przez Ziarno [2004] sole wapnia rozpuszczalne w wodzie użyte do wzbogacania produktów mleczarskich w nadmiarze wpływają na upłynnienie konsystencji. Użyty w doświadczeniu cytrynian triwapniowy jest słabo rozpuszczalny w wodzie w związku tym nie wpływa na konsystencję, jak i również twardość kefirów.

Analizując natomiast wpływ czasu przechowywania kefirów fortyfikowanych cytrynianem wapnia na barwę produktu, można zauważyć, że przez okres 21 dni barwa wszystkich grup była typowa dla kefiru i pożądana. Zespół oceniający przyznał średnio od 7,50 pkt. do 8,83 pkt. za barwę otrzymanych kefirów doświadczalnych. Wartości współczynników korelacji były zbyt niskie, by można było wnioskować o zależności pomiędzy barwą kefirów a dodatkiem wzbogacenia wapniem.

Tabela 6. Wpływ zastosowanej dawki cytrynianu wapnia (mg Ca/100) na konsystencję kefirów podczas przechowywania

Lp.	Dodatek Ca [mg/100 g kefiru]	Konsystencja kefirów [pkt]			
		1 dzień	7 dzień	14 dni	21 dni
1	0	8,83 ± 0,40a	8,00 ± 2,44a	8,33 ± 1,21a	8,00 ± 1,67a
2	10	8,83 ± 0,40a	8,00 ± 2,44a	8,66 ± 0,51a	8,16 ± 1,32a
3	20	8,83 ± 0,40a	8,00 ± 2,44a	8,66 ± 0,51a	8,16 ± 1,32a
4	30	8,83 ± 0,40a	8,66 ± 0,81a	8,66 ± 0,51a	8,16 ± 1,32a
5	40	8,83 ± 0,40a	8,66 ± 0,81a	8,83 ± 0,40a	8,16 ± 1,32a
6	50	8,83 ± 0,40a	8,83 ± 0,40a	8,83 ± 0,40a	7,83 ± 2,04a
7	60	8,83 ± 0,40a	8,83 ± 0,40a	8,83 ± 0,40a	7,83 ± 2,04a
8	70	8,83 ± 0,40a	8,83 ± 0,40a	8,83 ± 0,40a	7,83 ± 2,04a
9	80	8,83 ± 0,40a	8,83 ± 0,40a	8,83 ± 0,40a	7,83 ± 2,04a
r		0,0000	0,3395	0,0000	0,0676

a,b,c - wartości średnie oznaczone różnymi literami w kolumnach różnią się statystycznie w obrębie tego samego parametru, przy $p \leq 0,05$

Tabela 7. Wpływ dodatku cytrynianu wapnia (mg Ca/100g) na smak kwaśny kefirów podczas przechowywania

Lp.	Dodatek Ca [mg/100 g kefiru]	Smak kwaśny kefirów [pkt.]			
		1 dzień	7 dzień	14 dni	21 dni
1	0	4,16 ± 1,47a	4,33 ± 1,03a	4,33 ± 1,03a	4,33 ± 0,51a
2	10	4,50 ± 1,37a	4,16 ± 1,16a	4,33 ± 1,21a	4,16 ± 0,75a
3	20	4,50 ± 1,37a	4,00 ± 1,41a	5,00 ± 1,78a	4,00 ± 0,62a
4	30	4,66 ± 1,36a	4,66 ± 1,96a	5,16 ± 1,72a	4,00 ± 0,62a
5	40	4,33 ± 1,50a	4,83 ± 1,72a	5,00 ± 1,67a	4,16 ± 0,98a
6	50	4,83 ± 1,72a	4,83 ± 1,32a	4,83 ± 1,83a	4,00 ± 1,26a
7	60	4,66 ± 1,86a	4,66 ± 1,50a	5,16 ± 1,72a	4,66 ± 1,03a
8	70	5,00 ± 2,28a	5,16 ± 2,22a	5,16 ± 2,22a	4,83 ± 1,32a
9	80	4,66 ± 2,42a	5,16 ± 2,22a	5,16 ± 2,22a	4,83 ± 1,32a
r		-0,2429	0,3444	0,0694	0,3510

a,b,c - wartości średnie oznaczone różnymi literami w kolumnach różnią się statystycznie w obrębie tego samego parametru, przy $p \leq 0,05$

Kefir charakteryzuje się specyficznym bukietem smakowo-zapachowym z uwagi na obecność węglowodanów, kwasów jak również drożdży [Żbikowski, Żbikowska, 2003; Farnworth, 2005; Gronnevik i in., 2011].

Analizując średnie noty przedstawione w tabeli 7 należy zauważyć, że ilość wapnia wprowadzonego do mleka przerobowego użytego do produkcji kefirów w niewielkim stopniu decydowała o intensywności smaku kwaśnego kefirów. Wykazane niskie wartości współczynników korelacji dają podstawę do stwierdzenia, że dodatek wapnia nie wpływa na intensywność smaku kwaśnego kefirów. Podobnie cytrynian wapnia nie zmienia zapachu kefirów i zwiększanie dawek wapnia nie ma wpływu na intensywność zarówno zapachu obcego, jak i kwaśnego.

Podsumowanie

Coraz wyższe dawki fortyfikacji wapniem kefirów powodowały systematyczny spadek wartości pH, a różnice te potwierdzają silne zależności korelacyjne w 14 i 21 dniu przechowywania.

Również wykazano umiarkowaną zależność korelacyjną pomiędzy dawką zastosowanego wapnia a kwasowością ogólną kefirów, która wskazuje, że wraz ze zwiększaniem dawki fortyfikacji kwasowość kefirów maleje.

Wyciek serwatki wszystkich grup doświadczalnych mieścił się w przedziale od 31,27% do 37,30%. W 1 i 7 dniu przechowywania chłodniczego stwierdzono istotną ujemną korelację ($r=-0,4397$, $r=-0,6617$; $p \leq 0,05$), która pozwala na stwierdzenie, że wraz ze zwiększaniem ilości zastosowanego wapnia maleje ilość wydzielonej serwatki. W kolejnych terminach przechowywania siła tych zależności korelacyjnych maleje.

Dodatek cytrynianu wapnia do mleka przerobowego w produkcji kefirów nie wpływa istotnie na konsystencję, barwę oraz intensywność smaku kwaśnego, jak i również twardość kefirów. Podobnie cytrynian wapnia nie zmienia zapachu kefirów i zwiększanie dawek wapnia nie ma wpływu na intensywność zarówno zapachu obcego, jak i kwaśnego.

Literatura

1. Aljewicz M., Ambroziak A., Cichosz G., Kowalska M. Wzbogacone w wapń i magnez produkty mleczarskie. Postępy techniki przetwórstwa spożywczego, WSM, Warszawa 2012, 96.
2. Baranowska M. Właściwości fizykochemiczne kefiru i biokefiru. Inżynieria i Aparatura Chemiczna, 2009, 2, 18-20.
3. Czajkowska K., Kowalska H., Piotrowski D. Rola konsumenta w procesie projektowania nowych produktów spożywczych. Zeszyty Problemowe Postępów Nauk Rolniczych, 2013, 575, 23-32.
4. Farnworth E.R. Kefir-a complex probiotic. Food Science and Technology Bulletin: Functional Food, 2005, 2 (1), 1-17.
5. Flinger K., Lindamood J.B., Hansen P.M.T. Fortification of low-fat plain yogurt with calcium gluconate. Cult. Dairy Prod. J., 1998, 1, 5-9.
6. Gronnevik H., Falstad M., Narvhus J. A., Microbiological and chemical properties of Norwegian kefir during storage. International Dairy Journal, 2011, 21, 9, 601-606.
7. Gustaw W., Nastaj M., Sołowiej B. Wpływ dodatku wybranych koncentratów białek serwatkowych (WPC) na właściwości reologiczne jogurtów otrzymanych metodą termostatową. Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 2007, 1, 56-63
8. Jimborean M.A.M., Man S., Mudura E., Păucean A. The Influence of Honey Addition on Microbiological, Physicochemical and Sensory Characteristics of a Kefir- Type Product During Shelf-Life. Bulletin University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine, Faculty of Agriculture, 2011, 68(2), 393-399.
9. Kök-Tas T, Seydim A.C., Özer B., Guzel-Seydim Z.B. Effects of different fermentation parameters on quality characteristics of kefir. Journal of Dairy Science, 2013, 96, 2, 780-789.
10. Kowalska M., Ambroziak A., Aljewicz M., Cichosz G. Wzbogacone w wapń i magnez produkty mleczarskie. Postępy Techniki Przetwórstwa Spożywczego, 2012, 1, 93-98.
11. Montanuci F.D., Pimentel T.C., Garcia S., Prudencio S.H. Effect of starter culture and inulin addition on microbial viability, texture, and chemical characteristics of

whole or skim milk Kefir, *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 2012, 32 (4), 850-861.

12. Skrzypeczak K., Gustaw W. Wpływ dodatku prebiotyków i białek serwatkowych na właściwości fizykochemiczne biojogurtów. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2012, 5, 155-165.
13. Sołowej B. Wpływ skrobi modyfikowanych na właściwości teksturalne, reologiczne i topliwość analogów serów topionych o obniżonej zawartości tłuszczu, PTTŻ, Uniwersytet Rolniczy, Kraków 2011, 72-86.
14. Zaręba D., Trebnie E., Ziarno M. Składniki mineralne mleka i jego przetworów. *Przemysł spożywczy*, 2012, 4, 30-34.
15. Zaręba D., Ziarno M. Dodatki: Wzbogacanie produktów mlecznych w mikroelementy a biodostępność. *Forum Mleczarskie Biznes* 2012, 2, 14.
16. Ziarno M. Wzbogacanie produktów mleczarskich w wapń. *Przegląd mleczarski*, 2004, 9, 4-9.
17. Ziarno M., Zaręba D., Piskorz J. Wzbogacanie maślanki w wapń, magnez oraz białka serwatkowe. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2009, 2 (63), 14-27.
18. Żbikowski Z., Żbikowska A. Nowe procesy technologiczne w kreowaniu produktów mlecznych. *Przegląd mleczarski*, 2003, 4, 130-133.

ANITA KUKUŁOWICZ

Akademia Morska w Gdyni
Katedra Towaroznawstwa i Zarządzania Jakością
Morska 81-87, 81-225 Gdynia
a.kukulowicz@wpit.am.gdynia.pl, tel.: (058) 6901674, fax: (058) 6901576

ASPEKTY ZDROWOTNE ZWIĄZANE ZE SPOŻYWIANIEM WĘDZONYCH ŁOSOSI

Streszczenie

Pomimo licznych właściwości korzystnie oddziałujących na organizm człowieka, mięso ryb zawierać może substancje niepożądane tj.: metale ciężkie (np. rtęć) i pestycydy, pasożyty oraz drobnoustroje chorobotwórcze. W celu wyeliminowania zagrożenia wynikającego ze spożywania ryb, zaleca się konsumpcję tych, które charakteryzują się niskim poziomem rtęci w organizmie, a mianowicie łosoś, mintaj, sum oraz czystością mikrobiologiczną.

Celem przeprowadzonych badań była ocena jakości mikrobiologicznej wędzonych łososi (na zimno i na gorąco).

Materiał badany stanowiły łososie wędzone na zimno i gorąco, pakowane: próżniowo, na tackach styropianowych owijanych folią PE oraz zakupione na wagę. W produktach poddanych analizie oznaczano liczbę *Staphylococcus aureus*, liczbę drożdży i grzybów strzępkowych, liczbę *Escherichia coli*, obecność pałeczek *Salmonella* i *Listeria monocytogenes* oraz przecinkowców *Vibrio parahaemolyticus*.

Na podstawie przeprowadzonych badań stwierdzono najwyższy poziom zanieczyszczenia bakteriami *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* oraz grzybami strzępkowymi w wędzonych łososiach na zimno sprzedawanych luzem, natomiast najwyższą liczbę drożdży w rybach wędzonych na gorąco. Pałeczek *Salmonella* i *E. coli* nie stwierdzono w łososiach wędzonych na gorąco. Obecność przecinkowców *Vibrio parahaemolyticus* obserwowano w 50% badanych prób, natomiast pałeczki *Listeria monocytogenes* stwierdzono w ponad 13% wędzonych ryb.

Łososie wędzone na gorąco charakteryzowały się większą czystością mikrobiologiczną niż wędzone na zimno. Najlepszą jakością charakteryzowały się łososie wędzone na gorąco i pakowane próżniowo. Stwierdzona obecność *L.monocytogenes*, *Salmonella* oraz *Vibrio parahaemolyticus* w badanych produktach, sugeruje konieczność stałego monitorowania wszystkich etapów produkcji łososi wędzonych pod względem obecności tych bakterii. Korzystne oddziaływanie ryb na organizm człowieka uzależnione jest od rodzaju oraz ilości konsumowanej ryby, jak również stanu zdrowia potencjalnego nabywcy.

Wprowadzenie

Ryby, z uwagi na zawartość składników odżywczych, pełnowartościowego białka charakteryzującego się wysoką strawnością (93-97%), obecność długołańcuchowych polienowych kwasów tłuszczowych omega-3, w szczególności kwasu eikozapentaenowego (EPA) i dokozaheksaenowego (DHA) oraz niską zawartość nasyconych kwasów tłuszczowych, jak również bardzo małą ilość węglowodorów, stanowią ważny element zdrowej diety. Ryby bogate są także w mikroelementy (jod i fluor) oraz witaminy z grupy A, B, D. Związki te, a przede wszystkim kwasy tłuszczowe z rodziny omega-3, wykazują właściwości prozdrowotne, dzięki którym poprzez konsumpcję mięsa ryb można zapobiegać oraz wpływać profilaktycznie na występowanie wielu chorób, m.in.: układu krążenia, miażdżycy, nowotworów, zespołu nadpobudliwości psychoruchowej (ADHD), reakcji zapalnych oraz alergicznych [Arens, 1997; Hughner i in., 2009; Kubiński, 2010; Lebiedzińska, 2006; Usydus i in., 2009]. Należy jednak wziąć pod uwagę sposób przygotowania ryb do konsumpcji, gdyż niektóre z metod np. smażenie, może wpływać na zmianę profilu lipidowego, prowadzić do powstawania kwasów tłuszczowych typu trans czy też produktów utleniania lipidów, a w konsekwencji przyczynić się do zwiększenia ryzyka choroby niedokrwiennej serca i negacji naczyniowych korzyści związanych ze spożyciem ryb [He, 2009].

Dla osiągnięcia korzyści zdrowotnych, powinno spożywać się do dwóch porcji rybnych tygodniowo, jednak zgodnie z danymi literaturowymi, niepokój może budzić wzrost zanieczyszczeń gromadzących się w rybach [He 2009]. Pomimo swoich licznych właściwości korzystnie oddziałujących na organizm człowieka, ryby mogą zawierać substancje niepożądane pochodzenia chemicznego, tj.: metale ciężkie (np. rtęć, arsen, ołów), polichlorowane bifenylole (PCB), pestycydy chlorowcoorganiczne, węglowodory aromatyczne, jak również zanieczyszczenia biologiczne, m.in.: drobnoustroje chorobotwórcze i pasożyty [Usydus i in., 2008; Novotny i in., 2004]. W celu wyeliminowania zagrożenia wynikającego ze spożywania ryb, zaleca się konsumpcję tych, które charakteryzują się niskim poziomem rtęci oraz czystością mikrobiologiczną, np. łososia, mintaja, suma [Hughner i in., 2009].

W Polsce najchętniej konsumowane są ryby morskie (69 %), m.in.: mintaje, śledzie, jednak coraz częściej konsumenci sięgają po łososie i makrele. Łosoś należy do najczęściej importowanej do naszego kraju ryby morskiej, która sprzedawana jest w stanie świeżym, mrożonym oraz wędzonym [www.eGospodarka.pl, 2010].

Wędzenie jest jedną z metod utrwalania surowca rybnego, które ma istotne znaczenie gospodarcze. Dym wytwarzany jest w procesie spalania drewna, a jego skład chemiczny uzależniony jest m.in.: od rodzaju wykorzystanego drewna oraz zastosowanej temperatury. Podczas spalania powstaje wiele związków tj.: aldehydy, ketony, estry, fenole, alkohole, węglowodory posiadające prócz właściwości bakteriobójczych również

rakotwórcze. Wędzenie przedłuża okres przydatności do spożycia, a także nadaje rybom charakterystyczny smak i barwę. Dodatkowym czynnikiem konserwującym jest wstępny proces solankowania. Solenie powoduje spadek aktywności wodnej, a tym samym zapobiega wzrostowi wielu mikroorganizmów odpowiedzialnych za psucie się produktu [Goulas i Kontominas, 2005].

Łosoś można wędzić na zimno w temp. $<30^{\circ}\text{C}$ oraz na gorąco w temp. $>60^{\circ}\text{C}$. Łosoś wędzony na zimno oraz na gorąco należy do żywności gotowej do bezpośredniego spożycia, który zapakowany próżniowo może być przechowywany kilka tygodni w warunkach chłodniczych. Jakość końcowa wędzonych ryb uzależniona jest od wielu czynników, m.in.: jakości wyjściowej surowca, temperatury i czasu wędzenia, składu dymu, zawartości soli w produkcie, sposobu pakowania oraz przechowywania [Goulas i Kontominas, 2005; Rørvik, 2000; Tokarczyk i in., 2011].

Celem przeprowadzonych badań była ocena jakości mikrobiologicznej wędzonych łososi.

Słowa kluczowe: łosoś, proces wędzenia, bezpieczeństwo, bakterie

Material i metody

Materiał badany stanowiły łososie wędzone na zimno i gorąco, pakowane: próżniowo, na tackach styropianowych, owijanych folią PE oraz zakupione na wagę. Próby do badań zakupiono w dużych sieciach handlowych na terenie Trójmiasta w okresie wiosenno-letnim. Łącznie przebadano 30 prób (po 15 łososi wędzonych na zimno i na gorąco).

W produktach poddanych analizie oznaczano liczbę *Staphylococcus aureus* na podłożu selektywnym Baird-Parker RPF, liczbę drożdży i grzybów strzępkowych na podłożu wybiórczym YGC z chloramfenikolem, liczbę *Escherichia coli* na podłożu selektywnym Coli ID oraz obecność pałeczek *Salmonella* na podłożu chromogennym *Salmonella* Agar, pałeczek *Listeria monocytogenes* na podłożu chromogennym Rapid' *L.Mono* i przecinkowców *Vibrio parahaemolyticus* na podłożu selektywnym TCBS. Analizy mikrobiologiczne wykonywano metodą rozcieńczeń, zgodnie z odpowiednimi normami metodycznymi [PN-EN-ISO-6887-3:2005, PN-EN ISO 6888-1:2001/A1:2004, PN-ISO 21527-1:2009, PN-ISO 4832:2007, PN-EN ISO 6579:2003, PN-EN ISO 11290-1:1999/A1:2005, PN-ISO 8914].

Wyniki i dyskusja

Bakterie patogenne, które powszechnie występują w rybach i owocach morza klasyfikuje się w trzech grupach, a mianowicie te, których naturalnym siedliskiem jest woda morska lub odcinki ujściowe m.in.: *Vibrio* spp., *Listeria monocytogenes*, następnie bakterie pochodzenia kałowego tj.: *Salmonella*, *Escherichia coli* oraz zanieczyszczenia

bakteryjne pochodzące z procesu produkcyjnego np. *Staphylococcus aureus* [Jakšić i in., 2002].

Drobnoustroje patogenne dla człowieka, tj.: *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* i *Escherichia coli* należą do kryteriów mikrobiologicznych wykorzystywanych jako parametr bezpieczeństwa żywności, a prócz tego pałeczki *Salmonella* i *Escherichia coli* wraz z koagulazo-dodatnimi *Staphylococcus aureus* zaliczają się do kryteriów mikrobiologicznych określających poziom higieny [Kwiatek i in., 2014].

Bakterie *Staphylococcus aureus* postrzegane są jako jedna z najważniejszych przyczyn zatruc pokarmowych wywołanych spożyciem zanieczyszczonej żywności [Normanno i in., 2005]. Spośród badanych łososi, wędzone na zimno charakteryzowały się wyższą liczbą komórek *Staphylococcus aureus* wynoszących średnio 1,81 z \log_{10} jtk/g, niż wędzone na gorąco (Tab.1). Najbardziej zanieczyszczone tymi bakteriami były ryby pakowane luzem (2,88 z \log_{10} jtk/g), natomiast w pakowanych próżniowo obserwowany poziom był niższy o ponad 2 cykle logarytmiczne (Tab.1), co potwierdzają dane piśmiennictwa, wskazujące na możliwość występowania bakterii z rodzaju *Staphylococcus* w rybach wędzonych [Vescovo i in., 2006].

Tabela 1. Liczba drobnoustrojów obecnych w przetworach rybnych

Rodzaj opakowania	Wartości średnie \bar{X} (log jtk/g)			
	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>	Grzyby strzępkowe	Drożdże
Łosoś wędzony na zimno				
tacka styropianowa z folią PE	1,88	-	1,53	2,80
próżniowo	0,37	-	-	1,91
luzem	2,88	0,40	2,72	3,52
Razem	1,81	0,13	1,52	2,80
Łosoś wędzony na gorąco				
tacka styropianowa z folią PE	1,52	-	2,15	3,32
próżniowo	0,63	-	0,38	1,30
luzem	1,92	-	2,33	4,14
Razem	1,27	-	1,49	2,73

Z uwagi na optymalną temperaturę wzrostu gronkowców, wędzenie na zimno, w temp. <30°C jest bardziej sprzyjające dla ich rozwoju niż wędzenie w >60°C [Rørvik, 2000; Ziarno i Jamiołkowska, 2010]. Ze względu na proces solankowania, któremu poddawane są ryby przed procesem wędzenia, produkt końcowy, może wykazywać obecność bakterii *Staphylococcus aureus* tolerujących stężenie NaCl nawet powyżej 15% [Ziarno i Jamiołkowska, 2010].

Obecność pałeczek *Escherichia coli* na poziomie 0,4 z \log_{10} jtk/g stwierdzono jedynie w łososiach wędzonych na zimno i sprzedawanych luzem. Z danych literaturowych wynika, iż zastosowanie temp. 60°C przez 20 min może skutecznie wyeliminować bakterie coli z żywności [Satora, 2007], co potwierdzają uzyskane wyniki dla łososi wędzonych na gorąco. Występowanie pałeczek coli w produktach świadczyć może o braku higieny oraz o niewłaściwym obchodzeniu się z rybami podczas procesu produkcji [Novotny i in., 2004].

Z uwagi na oporność grzybów strzępkowych na działanie dymu wędzarniczego, obserwować można ich wzrost w rybach wędzonych, co wpływa na pleśnienie produktu [Dłużewski, 2001]. W badanych łososiach stwierdzono obecność grzybów na poziomie około 1,5 cyklu logarytmicznego (Tab.1). Pakowanie próżniowe okazało się skuteczną formą eliminacji tych drobnoustrojów.

Ryby wędzone, wykazywać mogą obecność grzybów drożdżopodobnych posiadających zdolność do zasiedlania produktów o niskiej aktywności wody (a_w) [Steinka, 2011], co obserwowano w niniejszych badaniach. Ryby sprzedawane luzem, wykazywały wyższy o około 0,7 cyklu logarytmicznego poziom zanieczyszczenia drożdżami niż ryby pakowane na tackach styropianowych i owijanych folią (Tab.1). Wzrost drożdży możliwy jest podczas braku obecności tlenu [Steinka, 2011], co potwierdzają wyniki uzyskane dla łososi pakowanych próżniowo. Obecność tych drobnoustrojów powodować może pojawienie się białawego, bezwonnego nalotu na produkcie [Drożdż i Makarewicz, 2008].

Po przebadaniu wszystkich łososi, obecność pałeczek *Listeria monocytogenes* wykryto w 4 próbkach, co stanowiło ponad 13% (Tab.2). Novotny podaje, że aż 10% produktów pakowanych próżniowo dostępnych w sprzedaży detalicznej zawiera *L. monocytogenes* [Novotny i in., 2004]. Pałeczki *Listeria monocytogenes* zdolne są przeżywać i wzrastać w niskich temperaturach, w szerokim zakresie pH (4,5-9,5) oraz przy wysokim stężeniu soli >10% [Huss i in., 2000]. Najczęstszą przyczyną zatruc jest spożywanie przez człowieka zanieczyszczonych serów, jaj, świeżych warzyw oraz ryb wędzonych [Dmowska i Osek, 2010]. Bardziej zanieczyszczone tymi bakteriami były łososie wędzone na zimno i pakowane próżniowo, które należą do produktów wykazujących powszechne występowania *Listeria monocytogenes* [Espea i in., 2004].

Tabela 2. Występowanie pałeczek *Listeria*, *Salmonella* oraz przecinkowców *Vibrio parahaemolyticus* w wędzonych łososiach. Liczba próbek zbadanych / liczba próbek dodatnich

Rodzaj opakowania	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Salmonella</i>	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>
Łosoś wędzony na zimno			
tacka styropianowa z folią PE	6/1	6/0	6/2
próżniowo	4/2	4/2	4/3
luzem	5/0	5/0	5/1
Razem	15/3	15/2	15/6
Łosoś wędzony na gorąco			
tacka styropianowa z folią PE	5/0	5/0	5/3
próżniowo	6/0	6/0	6/4
luzem	4/1	4/0	4/2
Razem	15/1	15/0	15/9

Naturalnym siedliskiem pałeczek *Salmonella* jest przewód pokarmowy ssaków, ptaków i gadów. Bakterie te, mogą dotrzeć do środowisk wodnych przez zanieczyszczenia pochodzenia kałowego, co przyczynia się do przypadkowego wykrywania pałeczek *Salmonella* w rybach i produktach rybnych [Kumar i in., 2003]. W badanych łososiach obecność tych bakterii stwierdzono jedynie w dwóch próbach wędzonych na zimno. Stanowiło to niecałe 7% ogółu analizowanych łososi (Tab. 2). Wynikać to może z tolerancji *Salmonella* spp. na wysokie stężenia soli. Prócz zanieczyszczonej wody, niewłaściwe warunki przechowywania i przetwarzania mogą być przyczyną występowania w rybach pałeczek *Salmonella* stanowiących poważny problem zdrowotny [Amagliani i in., 2012; Kumar i in., 2003].

Bakterie z rodzaju *Vibrio* powszechnie występujące w rybach i owocach morza, mogą doprowadzić do wystąpienia zatruc pokarmowych [Jakšić i in., 2002]. *Vibrio parahaemolyticus* obecne były w 50% badanych łososi. Większą, o 20% ilość zanieczyszczonych ryb obserwowano wśród wędzonych na gorąco, na co wpływ mogło mieć stężenie soli (1-4%) wykorzystane podczas procesu solankowania [Świdorski, 1999]. Zawartość NaCl występująca w łososiach wędzonych na gorąco stanowi optymalny poziom (1,5 - 3%), sprzyjający rozwojowi *Vibrio parahaemolyticus*, jednakże bakterie te występować mogą także w wędzonych na zimno rybach, gdyż charakteryzują się tolerancją NaCl w zakresie 0,5 - 10% [Microbiological Risk Assessment, 2011]. Uzyskane wyniki badań, wskazują na brak wpływu pakowania hermetycznego oraz przechowywania na tackach owijanych folią PE na zahamowanie wzrostu *Vibrio*

parahaemolyticus, co wiąże się z właściwościami przecinkowców oraz możliwością ich rozwoju w warunkach beztlenowych.

Uzyskane wyniki badań przeprowadzone dla wędzonych łososi wskazują na niską jakość mikrobiologiczną produktów sprzedawanych luzem oraz na tackach styropianowych owijanych folią PE. Mogło to być spowodowane niską jakością wyjściową surowców wykorzystanych podczas procesu wytwarzania, temperaturą przechowywania, warunkami higienicznymi panującymi w punktach sprzedaży oraz trwałością ryb, która dla wędzonych na gorąco wynosi do 4 dni a na zimno do 10 dni [Świdorski, 1999]. Czas przechowywania może zostać skutecznie przedłużony przez zastosowanie odpowiedniej metody pakowania.

Wnioski

1. Łososie wędzone na gorąco charakteryzowały się większą czystością mikrobiologiczną niż wędzone na zimno.
2. Najlepszą jakością charakteryzowały się łososie wędzone na gorąco i pakowane próżniowo.
3. Stwierdzona obecność *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* oraz *Vibrio parahaemolyticus* w badanych produktach, sugeruje konieczność stałego monitorowania wszystkich etapów produkcji łososi wędzonych pod względem obecności tych bakterii.

Literatura

1. Amagliani G., Brandi G., Schiavano G.F. Incidence and role of *Salmonella* in seafood safety. *Food Res. Int.*, 2012, 45, 780–788.
2. Arens U. Fish and heart disease – short review. *Coronary Health Care*, 1997, 1, 79-82.
3. Dłużewski M. *Technologia żywności: podręcznik dla technikum: praca zbiorowa cz. 4*, Wydawnictwo SiP, Warszawa 2001, s.120-121.
4. Dmowska K., Osek J. Molekularne aspekty chorobotwórczości *Listeria monocytogenes*. *Medycyna Wet.*, 2010, 66(4), 236-241.
5. Drożdż I., Makarewicz M. Zakażenia mikrobiologiczne w przemyśle spożywczym. *Laboratorium*, 2008, 5, 24-27.
6. Espea M., Kiessling A., Lunestada B.T., Torrissenc O. J., Røra A. M. B. Quality of cold smoked salmon collected in one French hypermarket during a period of 1 year. *Lebensm.-Wiss. u.-Technol.*, 2004, 37, 627–638.
7. Goulas A. E., Kontominas M. G. Effect of salting and smoking-method on the keeping quality of chub mackerel (*Scomberjaponicus*): biochemical and sensory attributes, *Food Chem.*, 2005, 93, 511-520.

8. He K. Fish, Long-Chain Omega-3 Polyunsaturated Fatty Acids and Prevention of Cardiovascular Disease—Eat Fish or Take Fish Oil Supplement? *Prog. Cardiovasc. Dis.*, 2009, 52, 95-114.
9. Hughner R. S., Maher J. K., Childs N.M., Nganje W. E. Fish: Friend or foe? Food policy and subpopulation warnings for consumers. *Food Policy*, 2009, 34, 185-197.
10. Huss H.H., Jørgensen L. V., Vogel B. F. Control options for *Listeria monocytogenes* in seafoods. *Int. J. Food Microbiol.*, 2000, 62, 267-274.
11. Jakšić S., Uhitil S, Petrak T., Bažulić D., Karolyi L. G. Occurrence of *Vibrio* spp. in sea fish, shrimps and bivalve molluscs harvested from Adriatic sea. *Food Control*, 2002, 13, 491–493.
12. Kubiński T. Żywność funkcjonalna. *Życie Wet.*, 2010, 85 (11), 932-935.
13. Kumar H. S., Sunil R., Venugopal M.N., Karunasagar I., Karunasagar I. Detection of *Salmonella* spp. in tropical seafood by polymerase chain reaction. *Int. J. Food Microbiol.*, 2003, 88, 91-95.
14. Kwiatek K., Kukier E., Goldsztejn M. Normy metodyczne w badaniach mikrobiologicznych łańcucha żywnościowego. *Życie Wet.*, 2014, 89(6), 519-523.
15. Lebedzińska A. Łososie wędzone cennym źródłem składników odżywczych. *Mag. Przem. Rybnego*, 2006, 2 (50), 33-36.
16. Microbiological Risk Assessment. Risk assessment of *Vibrio parahaemolyticus* in seafood. Interpretative Summary and Technical Report. Microbiological Risk Assessment Series, 2011, 16.
17. Normanno G., Firinu A., Virgilio S., Mula G., Dambrosio A., Poggiu A., Decastelli L., Mioni R., Scuota S., Bolzoni G., Di Giannatale E., Salinetti A.P., La Salandra G., Bartoli M., Zuccon F., Pirino T., Sias S., Parisi A., Quaglia N.C., Celano G.V. Coagulase-positive *Staphylococci* and *Staphylococcus aureus* in food products marketed in Italy. *Int. J. Food Microbiol.*, 2005, 98, 73-79.
18. Novotny L., Dvorska L., Lorencova A., Beran V., Pavlik I. Fish: a potential source of bacterial pathogens for human beings. *Vet. Med. – Czech.*, 2004, 49(9), 343-358.
19. PN-EN ISO 11290–1:1999/A1:2005, Mikrobiologia żywności i pasz. Horyzontalna metoda wykrywania obecności i oznaczania liczby *Listeria monocytogenes*. Metoda wykrywania obecności.
20. PN-EN ISO 6579:2003, Mikrobiologia żywności i pasz. Horyzontalna metoda wykrywania *Salmonella* spp.
21. PN-EN ISO 6887–3:2005. Mikrobiologia żywności i pasz. Przygotowanie próbek, zawiesiny wyjściowej i rozcieńczeń dziesięciokrotnych do badań mikrobiologicznych.

22. PN-EN ISO 6888–1:2001/A1:2004, Mikrobiologia żywności i pasz. Horyzontalna metoda oznaczania liczby gronkowców koagulazo-dodatnich *Staphylococcus aureus* i innych gatunków.
23. PN-ISO 21527–1:2009, Mikrobiologia żywności i pasz. Horyzontalna metoda oznaczania liczby drożdży i pleśni.
24. PN-ISO 4832:2007, Mikrobiologia żywności i pasz. Horyzontalna metoda oznaczania liczby bakterii z grupy coli. Metoda płytkowa.
25. PN-ISO 8914:2002, Ogólne zasady wykrywania *Vibrio parahaemolyticus*
26. Rørvik L.M. *Listeria monocytogenes* in the smoked salmon industry. Int. J. Food Microbiol., 2000, 62, 183-190.
27. Satora P. *Escherichia coli* – charakterystyka i wykrywanie w żywności cz.I. Laboratorium, 2007, 11, 20-23.
28. Steinka I. Mikrobiologia żywności i materiałów przemysłowych. Wydawnictwo Akademii Morskiej w Gdyni, Gdynia 2011, 55-57.
29. Świdorski F. Towaroznawstwo żywności przetworzonej, Wydawnictwo SGGW, Warszawa 1999, 252.
30. Tokarczyk G., Szymczak B., Szymczak M., Domiszewski Z. Zmiany wybranych wskaźników chemicznych i mikrobiologicznych w procesie ciepłego wędzenia rozmrożonej siei (*coregonisclupeaformis*). Żywność. Nauka. Technologia. Jakość., 2011, 5 (78), 119-131.
31. Usydus Z., Szlinder-Richert J., Polak-Juszczak L., Kanderska J., Adamczyk M., Malesa-Cieciewicz M., Ruczynska W. Food of marine origin: Between benefits and potential risks. Part I. Canned fish on the Polish market. Food Chem., 2008, 111, 556-563.
32. Usydus Z., Szlinder-Richert J. Jod i fluor w produktach rybnych. Bromat. Chem. Toksykol., 2009, XLII, 3, 822-826.
33. Vescovo M., Scolari G., Zacconi C. Inhibition of *Listeria innocua* growth by antimicrobial-producing lactic acid cultures in vacuum-packed cold-smoked salmon. Food Microbiol., 2006, 23, 689-693.
34. www.eGospodarka.pl, Rośnie spożycie ryb i owoców morza. 2010.12.13
35. Ziarno M., Jamiołkowska D. Występowanie i znaczenie bakterii gatunku *Staphylococcus aureus* w przetwórstwie mleka. Przegl. Mlecz., 2010, 4, 10-14.

WPŁYW SKROBI MODYFIKOWANEJ NA STABILNOŚĆ I WŁAŚCIWOŚCI REOLOGICZNE FARSZÓW RYBNYCH Z UDZIAŁEM MOM Z RYB

Streszczenie

W pracy zbadano wpływ dodatku skrobi modyfikowanej na stabilność cieplną i właściwości reologiczne farszu rybnego z udziałem MOM z kręgosłupów po filetowaniu ryb. Materiałem do badań były próby farszu wytworzone ze szprota bałtyckiego z udziałem MOM z dorsza i/lub z łososia, z dodatkiem 1% modyfikowanej skrobi kukurydzianej Resistamyl 347 i 1% chlorku sodu, przechowywane w warunkach chłodniczych i zamrażalniczych. Badania wykazały, że dodatek skrobi modyfikowanej do prób farszu ze szprota z udziałem MOM z dorsza i/lub z łososia w zróżnicowany sposób wpływał na ich stabilność cieplną oraz właściwości reologiczne (teksturę). Obecność skrobi modyfikowanej w próbach farszu ze szprota z udziałem MOM z łososia, przechowywanych w warunkach chłodniczych i zamrażalniczych, korzystnie wpłynęła, w przeciwieństwie do prób farszu ze szprota z udziałem MOM z dorsza, na zapewnienie jego wysokiej stabilności cieplnej oraz zachowanie właściwej twardości. Analiza statystyczna wykazała, że w większości prób farszu ze szprota z udziałem MOM z łososia i/lub z dorsza, przechowywanych w warunkach chłodniczych i zamrażalniczych, występują statystycznie istotne różnice w ich twardości.

Wstęp

W przetwórstwie rybnym, do wytwarzania wyrobów formowanych z farszu, stosowane jest głównie mięso ryb białych oraz mięso odseparowane mechanicznie MOM z odpadów po filetowaniu różnych gatunków ryb. Niewykorzystywanymi dotąd surowcami do produkcji tych wyrobów były drobne ryby pelagiczne, np. szprotki lub śledzie bałtyckie, o obniżonej przydatności technologicznej, ze względu na parametry morfometryczne, teksturę tkanki lub uszkodzenia mechaniczne [Pawlikowski i Szulecka, 2011].

Szprotki bałtyckie charakteryzują się wysoką wartością odżywczą oraz korzystnymi cechami smakowo-zapachowymi, natomiast głównymi wadami jakościowymi, ograniczającymi możliwości stosowania ich do produkcji farszu, jest niekorzystna, ciemno-beżowa barwa oraz luźna, mało spoista tekstura ich mięsa. Z tego względu w procesie produkcji wyrobów formowanych z rozdrobnionego mięsa szprotów bałtyckich wymagany jest dodatek innych surowców rybnych, np. MOM z innych

gatunków ryb, oraz substancji pomocniczych kształtujących właściwe cechy sensoryczne, w tym ich teksturę i barwę [Pawlikowski, 2006; Pawlikowski, 2011].

Miarą stabilności wyrobów formowanych z farszu rybnego jest wielkość wycieku termicznego, powstającego wskutek cieplnej denaturacji białek tkanki mięśniowej i białek tkanki łącznej. Nadmierny wyciek termiczny może być przyczyną zbyt twardej i spoistej tekstury wyrobów wytwarzanych z farszów rybnych [Kołakowski, 2006].

Dla zapewnienia właściwej tekstury rybnych wyrobów formowanych stosowane są m.in. hydrokoloidy polisacharydowe - wielkocząsteczkowe związki rozpuszczalne w wodzie i tworzące roztwory lepkie lub układy dyspersyjne [Świdorski i in., 1999; Fortuna i Gałkowska, 2006; Leszczyński, 2006]. Powszechne stosowanie polisacharydów wynika głównie z jego funkcji podstawowych, mających duże znaczenie technologiczne, jak kleikowanie, wiązanie wody i rozpuszczonych w niej substancji, zdolność do emulgowania oraz stabilizowania emulsji [Dzieszuk i in., 2005]. Do związków tych należą stabilizowane skrobie sieciowane (E 1410, E 1422, E 1442) wytwarzające żele o stabilnej teksturze, zapobiegające wyciekowi cieplnemu, a także niekorzystnym zmianom tekstury wyrobów wskutek zamrażania i rozmrażania wyrobów formowanych [Juszczak, 2011].

Celem badań było określenie wpływu dodatku modyfikowanej skrobi na stabilność cieplną oraz właściwości reologiczne farszu wytworzonego ze szprota bałtyckiego z udziałem MOM z dorsza i/lub z łososia.

Materialy i metody

Materialami do badań były próby farszu wytworzone ze szprota z udziałem MOM z dorsza i/lub z łososia, z dodatkiem 1% modyfikowanej skrobi kukurydzianej Resistamyl 347 i 1% chlorku sodu. Próbą odniesienia była próba farszu ze szprota bez udziału MOM z dorsza i z łososia, zawierająca 1% NaCl.

Składy surowcowe prób farszu rybnego zamieszczono w tabeli 1.

Tabela 1. Skład surowcowy (%) prób farszu rybnego

Składniki	Wyszczególnienie	Próba farszu*			
		S	S-D	S-D-Ł	S-Ł
Surowce rybne	Szprot (tuszki)	99	49	32,7	49
	MOM z dorsza	-	49	32,7	-
	MOM z łososia	-	-	32,7	49
Substancje dodatkowe	Skrobia modyfikowana	-	1	1	1
	Chlorek sodu	1	1	1	1

* S – szprot, D – dorsz, Ł – łosoś

W użytych surowcach rybnych oznaczano zawartości: suchej masy metodą suszenia, do stałej masy w temperaturze $105\pm 2^{\circ}\text{C}$; białka ogółem ($\text{N}\cdot 6,25$) metodą Kjeldahla poprzez destylację w aparacie Kjeltex System; tłuszczu metodą Soxhleta za pomocą aparatu Soxtec i popiołu całkowitego metodą wagową.

Sposób wykonania prób farszu był następujący: rozmrożone surowce rybne rozdrabniano na wilku, następnie kutrowano w kutrze masarskim przez 2 minuty przy obrotach miski kutra 12 n/min i obrotach wału nożowego 900 n/min oraz przez 3 minuty, przy obrotach miski kutra 30 n/min i wału nożowego 2400 n/min. Podczas kutrowania surowców dodawano skrobię modyfikowaną i chlorek sodu. Końcowa temperatura kutrowania prób farszu wynosiła $4\div 5^{\circ}\text{C}$.

Uzyskaną próbę farszu dzielono na 2 równe części i pakowano do próbek z polipropylenu, o średnicy 26 mm, w porcjach o masie po ok. 50 g każda. Zastosowano dwa warianty przechowywania prób: w temperaturze $2\div 4^{\circ}\text{C}$, przez 24 godz., oraz w temperaturze $-18^{\circ}\text{C} \div -20^{\circ}\text{C}$, przez 7 dni.

Następnie próbki farszu poddano parowaniu w temperaturze 100°C przez 15 minut, usuwano z nich wyciek termiczny, którego wielkość oznaczano wagowo.

W próbkach farszu oznaczano wybrany parametr reologiczny (twardość) metodą profilowania tekstury *Texture Profile Analysis* (TPA) w wersji instrumentalnej [Bourne 1978], za pomocą jednokolumnowej maszyny wytrzymałościowej INSTRON 3345 z głowicą pomiarową siły 100 N. Metoda ta polegała na dwukrotnym ścisnieniu, za pomocą tarcz o średnicy 150 mm, próbek farszu, o średnicy 25 mm i wysokości 20 mm, przy prędkości przesuwu głowicy 2 mm/s i czasie relaksacji 20 s. Pomiary twardości wykonano dla $n=10$ próbek farszu, a dla uzyskanych wyników obliczano średnie wartości wraz z odchyleniem standardowym.

Do analizy statystycznej twardości próbek farszu zastosowano jednoczynnikową analizę wariancji (ANOVA), dla $p\leq 0,05$, poprzedzoną analizą rozkładu normalnego testem Shapiro-Wilka oraz analizą jednorodności wariancji testem Browna-Forsythe'a. W przypadku gdy próbki w grupach nie miały rozkładu normalnego lub nie charakteryzowały się jednorodną wariancją stosowano nieparametryczny test Kruskala-Wallisa.

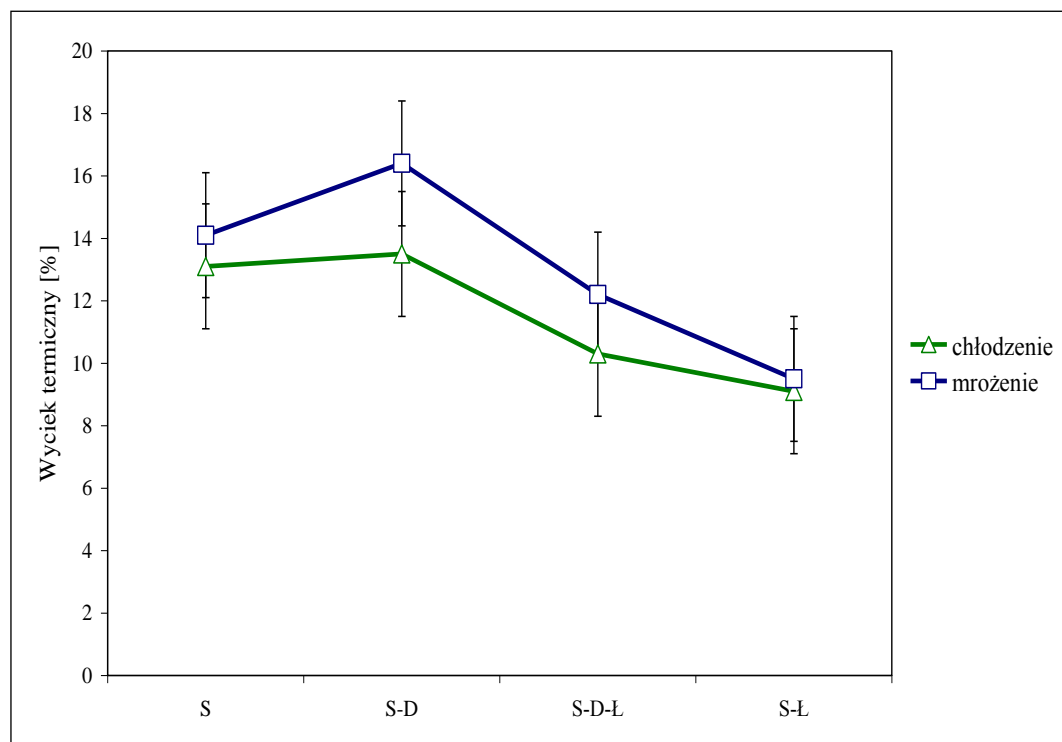
Wyniki i dyskusja

Podstawy skład chemiczny surowców rybnych użytych do wytworzenia prób farszu zamieszczono w tabeli 2.

Tabela 2. Podstawowy skład chemiczny użytych surowców rybnych

Wskaźnik	Szprot (tuszki)	MOM	
		dorsz	łosoś
Białko, N*6,25, [%]	16,3 ± 0,0	19,4 ± 0,1	17,9 ± 0,0
Tłuszcz [%]	5,5 ± 0,1	0,2 ± 0,1	17,6 ± 0,3
Woda [%]	77,1 ± 0,1	80,0 ± 0,1	63,3 ± 0,3
Popiół [%]	1,6 ± 0,1	0,9 ± 0,1	1,2 ± 0,1
pH [-]	6,7 ± 0,0	6,6 ± 0,0	6,3 ± 0,1

Zgodnie z wymaganiami normy PN-A-86770:1999P *Ryby i przetwory rybne. Terminologia*, ze względu na zawartość tłuszczu, mięso dorsza należy do surowców chudych (0,2% tłuszczu), szprotu do surowców średnio tłustych (5,5%) a łososia do surowców bardzo tłustych (17,6%). Według Kołakowskiego [1986] i Sikorskiego [1980] skład chemiczny mięsa ryb, w tym zawartość tłuszczu i białka, mają istotny wpływ na właściwości fizykochemiczne wytwarzanych z nich farszów. Wielkości wycieku termicznego z prób farszu po obróbce cieplnej przedstawiano na rys. 1.



S – szprot, D – dorsz, Ł – łosoś

Rys. 1. Wielkości wycieku termicznego w próbach farszu rybnego

Badania wykazały, że wielkość wycieku termicznego z prób farszu zależała od ich składu, dodatku skrobi modyfikowanej oraz od warunków przechowywania (rys. 1).

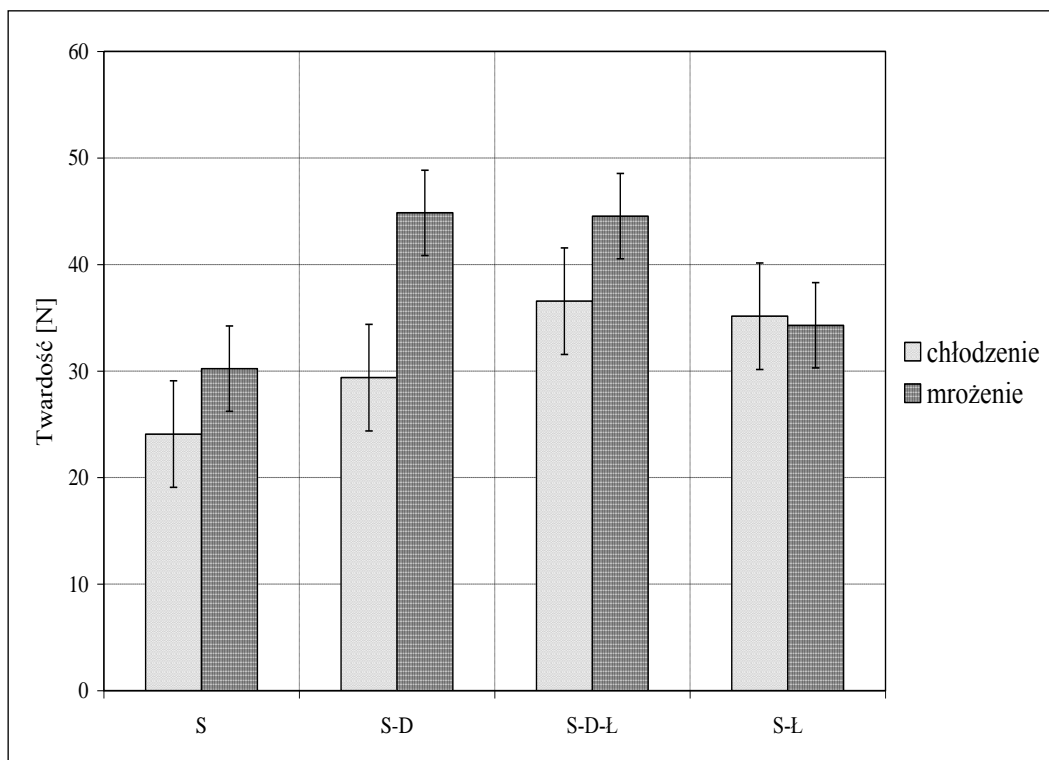
W próbach farszu, przechowywanych w warunkach chłodniczych, dodatek skrobi modyfikowanej, w zróżnicowany sposób wpłynął na wielkość wycieku termicznego. W porównaniu z próbą farszu (S) bez dodatku skrobi modyfikowanej, w próbie farszu (S-Ł), z udziałem 49% MOM z łososia, wyciek termiczny zmniejszył o 4%, w próbie (S-D-Ł), z udziałem MOM z łososia i z dorsza po ok. 33%, wyciek termiczny obniżył się o 2,8%, natomiast w próbie (S-D), z udziałem 49% MOM z dorsza, wyciek termiczny wzrósł o 0,4%.

W próbach farszu, przechowywanych w warunkach zamrażalniczych, wzrost wielkości wycieku termicznego wynikał z denaturacji białek tkanki mięsnej wskutek zamrożenia do temperatury poniżej -18°C [Sikorski i in., 1975]. W próbie farszu (S) bez dodatku skrobi modyfikowanej wyciek termiczny wzrósł o 1%. Dodatek skrobi modyfikowanej w zróżnicowany sposób wpłynął na wielkość wycieku termicznego. W próbie farszu (S-D) z dodatkiem MOM z dorsza, wzrost wycieku termicznego był największy i wyniósł 2,9%, zaś w próbie farszu (S-D-Ł), zawierającej jednakowe ilości MOM z dorsza i z łososia, wyciek termiczny był nieco niższy i wyniósł 1,9%. Najmniejszy wzrost wycieku termicznego (0,4%) stwierdzono w próbie farszu (S-Ł), z dodatkiem MOM z łososia.

Uzyskane wyniki świadczą o korzystnym wpływie dodatku skrobi modyfikowanej na ograniczenie wielkości wycieku termicznego w próbach farszu ze szprotka z dodatkiem rybnego MOM, a zwłaszcza z łososia, przechowywanych w warunkach chłodniczych i zamrażalniczych. Według Hughes i in. [1998] skrobia modyfikowana w produktach z rozdrobnionego mięsa, zwiększa ich termostabilność, redukując m.in. wyciek cieplny.

Zdaniem Kołakowskiego [1986] ryby tłuste lub średnio-tłuste, zabezpieczone właściwie przed niekorzystnymi zmianami zamrażalniczymi, mogą być lepszymi surowcami do produkcji farszu, w porównaniu z rybami chudymi. Farsz rybny wytworzony z mrożonych ryb chudych, wskutek zmian denaturacyjnych białek, posiada dużą ilość niezwiązanej frakcji ciekłej oraz włóknistą i twardą teksturę po obróbce termicznej.

Na rys. 2 przedstawiono wartości twardości prób farszu ze szprotka z udziałem MOM z łososia i/lub z dorsza, przechowywane w warunkach chłodniczych i zamrażalniczych.



S – szprot, D – dorsz, Ł – łosoś

Rys. 2. Twardość prób farszu rybnego, przechowywanych w warunkach chłodniczych i zamrażalniczych.

Badania wykazały, że na twardość prób farszu rybnego wpływał ich skład oraz dodatek skrobi modyfikowanej.

W chłodniczych warunkach przechowywania, dodatek skrobi modyfikowanej miał zróżnicowany wpływ na twardość prób farszu. W porównaniu z próbą farszu (S) bez dodatku skrobi modyfikowanej, w próbach farszu z dodatkiem skrobi modyfikowanej nastąpił wzrost twardości, przy czym najmniejszą twardość (29,4 N) stwierdzono w próbce farszu (S-D), z dodatkiem MOM z dorsza, natomiast w próbach farszu (S-L) i (S-D-Ł), z dodatkiem MOM z łososia, twardości były większe i mieściły się w przedziale 35,2÷36,6 N.

Przechowywanie w warunkach zamrażalniczych spowodowało wzrost twardości prób farszu, głównie z powodu niekorzystnych zmian struktury tkanki mięśniowej wskutek denaturacji białek [Kołakowski i in., 2006]. W tych warunkach obecność skrobi modyfikowanej w próbach farszu miała zróżnicowany wpływ na ich twardość.

W próbce farszu (S) bez dodatku skrobi modyfikowanej, wzrost twardości, w porównaniu z próbą przechowywaną w warunkach chłodniczych, wyniósł 6,14 N.

Dodatek skrobi modyfikowanej do prób farszu w różny sposób wpłynął na ich twardość. W próbie (S-D-Ł), zawierającej jednakowe ilości MOM z łososia i z dorsza wzrost twardości wyniósł 7,98 N, a w próbie farszu S-D, z dodatkiem MOM z dorsza, wzrost twardości był większy i wyniósł 15,47 N. Natomiast w próbie farszu S-Ł, zawierającej MOM z łososia, twardość, w porównaniu z próbą farszu przechowywaną w warunkach chłodniczych, nie uległa istotnym zmianom i była niższa o 0,86 N. Według Kołakowskiego i in. [2006] dzięki właściwościom hydrofobowym obecność tłuszczu skutecznie przeciwdziała agregacji i asocjacji białek, zapobiegając tym samym nadmiernej spoistości i zwięzłości wyrobów rybnych. Z tego względu wraz ze wzrostem zawartości tłuszczu maleje spoistość i twardość farszów rybnych.

Wyniki analizy statystycznej dla twardości prób farszu zamieszczono w tabeli 3.

Tabela 3. Wyniki analizy statystycznej twardość prób farszu rybnego, przechowywanych w warunkach chłodniczych i zamrażalniczych

Próba farszu*	Twardość [N]	
	warunki chłodnicze	warunki zamrażalnicze
S	24,08 ± 1,37 ^{a**}	30,22 ± 2,35 ^a
S-D	29,38 ± 3,15	44,85 ± 3,96 ^b
S-D-Ł	36,56 ± 4,32 ^b	44,54 ± 6,95 ^b
S-Ł	35,15 ± 4,64 ^b	34,29 ± 3,56 ^c

*S – szprot, D – dorsz, Ł – łosoś

** a, b, c – litery przy wartościach średnich w kolumnie oznaczają różnice statystycznie istotne twardości prób farszu, dla $p \leq 0,05$

Analiza ta wykazała, że dodatek skrobi modyfikowanej statystycznie istotnie wpłynął na twardość większości prób farszu ze szprotów z udziałem MOM z dorsza i z łososia, przechowywanych w warunkach chłodniczych i zamrażalniczych. W próbach farszu rybnego, przechowywanych w warunkach chłodniczych, statystycznie istotne różnice twardości, dla $p \leq 0,05$, wystąpiły między parami prób: S, S-Ł i S-D-Ł, za wyjątkiem próby S-D, zaś w próbach farszu rybnego, przechowywanych w warunkach zamrażalniczych, statystycznie istotne różnice twardości wystąpiły między wszystkimi parami prób farszu rybnego.

Wnioski

1. Dodatek skrobi modyfikowanej do prób farszu ze szprotka bałtyckiego z udziałem MOM z łososia i/lub z dorsza, w zróżnicowany sposób wpływał na ich stabilność cieplną oraz właściwości reologiczne, w zależności od ich składu i warunków przechowywania.

2. W warunkach przechowywania chłodniczego, dodatek skrobi modyfikowanej do prób farszu ze szprota, powodował, że wraz ze wzrostem udziału MOM z łososia, następowało zmniejszenie się wielkości wycieku termicznego oraz wzrost twardości, w przeciwieństwie do prób farszu ze szprota, w których wraz ze wzrostem udziału MOM z dorsza, następował wzrost wielkości wycieku termicznego i spadek twardości.
3. W warunkach przechowywania zamrażalniczego, dodatek skrobi modyfikowanej do prób farszu ze szprota, powodował, że wraz ze wzrostem udziału MOM z łososia, następował spadek wielkości wycieku termicznego oraz spadek twardości, w przeciwieństwie do prób farszu ze szprota, w których wraz ze wzrostem udziału MOM z dorsza, następował wzrost wielkości wycieku termicznego przy niezmienionej twardości.
4. Analiza statystyczna wyników wykazała, że dodatek skrobi modyfikowanej istotnie wpłynął na twardość większości prób farszu ze szprota z udziałem MOM z dorsza i z łososia, przechowywanych w warunkach chłodniczych i zamrażalniczych.

Literatura

1. Bourne M.C. Texture profile analysis. *Food Technology*, 1978, 32 (7), 62-66, 72.
2. Dzieszuk W., Dworecka E., Szymańko T. Wpływ dodatku skrobi modyfikowanej na jakość kutrowanych kielbas parzonych. *Acta Pol., Technol. Aliment.*, 2005, 4(1), 111-121.
3. Fortuna T., Gałkowska D. Skrobie modyfikowane jako dodatki do żywności, *Laboratorium Przegląd Ogólnopolski*, 2006, 8-9, 38-41.
4. Hughes E., Mullen A. M., Troy D. J. Effect of fat level tapioca starch and whey protein on frankfurters formulated with 5% and 12% fat. *J. Muscle Foods*, 1998, 3, 323-340.
5. Juszcak L. Kształtowanie cech reologicznych żywności. W: Walczycka M., Jaworska G., Duda-Chodak A., Staruch L. 2011. *Żywność projektowana. Designed Food. Cz. 1*, PTTŻ, UR w Krakowie, Komitet Nauk o Żywności PAN, Kraków 2011, 91-107.
6. Kołakowski E. *Technologia farszów rybnych*. PWN. Warszawa 1986.
7. Kołakowski E. Postępy w technologii konserw rybnych. Materiały konferencyjne. Wydział Nauk o Żywności i Rybactwa. Akademia Rolnicza. Szczecin, 2006, 7-30.
8. Kołakowski E., Stodolnik L., Domiszewski Z. *Technologia mrożonych przetworów rybnych. Materiały szkoleniowe ze szkolenia „Postępy w technologii produktów mrożonych”*. Wydział Nauk o Żywności i Rybactwa. Akademia Rolnicza w Szczecinie, 2006.

9. Leszczyński W. Zastosowanie skrobi modyfikowanych w przemyśle spożywczym (cz. I). Przegląd Piekarski i Cukierniczy, 2006, 5, 54-57.
10. Pawlikowski B. Intensyfikacja wykorzystania szprota bałtyckiego. Magazyn Przemysłu Rybnego, 2006, 5 (52), 50-51.
11. Pawlikowski B. Adding value to low quality Baltic herring. Eurofish Magazine, 2011, 4, 44-45.
12. Pawlikowski B., Szulecka O. Kształtowanie jakości i wartości odżywczej produktów ze śledzi bałtyckich o obniżonej przydatności technologicznej. W: Walczycka M., Jaworska G., Duda-Chodak A., Staruch L. 2011. Żywność projektowana. Designed Food. Cz. 2, PTTŻ, UR W Krakowie, Komitet Nauk o Żywności PAN, Kraków 2011, 46-59.
13. PN-A-86770:1999P. Ryby i przetwory rybne. Terminologia.
14. Sikorski Z.E. Technologia żywności pochodzenia morskiego. WNT. Warszawa 1980.
15. Sikorski Z.E., Kostuch S., Kołodziejska I. Protein denaturation in frozen fish. Nahrung, 1975, 19(9-10), 997-1003.
16. Świderski F. Żywność wygodna i żywność funkcjonalna. WNT. Warszawa 1999.

MARCEL MATI, LADISLAV STARUCH,
MARTA STARUCHOVÁ

*Department of food science and technology
Faculty of chemical and food technology
Slovak university of technology*

THE ANALYSIS OF THE SOYA CONTENT IN SEASONINGS USED IN MEAT PROCESSING

Abstract

Mixtures of seasonings were developed in order to serve as flavouring agents for various meat products, but these can also serve, in some specific cases, as a medium for hidden allergen transfer into meat products. This work is focused on analysis of soya content in seasonings used in meat processing (7 samples) and also in commercial type of spices (11 samples) for meat preparation. Detection was provided by the ELISA RIDASCREEN[®] FAST Soya test which provides high sensitivity and reliability.

Introduction

Theme of allergens in food is very actual, because the evidence of people who are allergic to some components of food is statistically growing [Keresteš et al., 2011].

At the present the Slovak legislation distinguish 14 basic kinds of food allergens, which content have to be correctly marked on the package of food product [Directive 2003/89/EC, 2003]. There are also no exceptions in case of some kinds of meat products which are produced by using these allergy components, for example soya.

There are three allergenic proteins mostly responsible for soya allergy: Gly m Bd 60K, Gly m Bd 30K a Gly m Bd 28K [Ogawa et al., 2000].

This diploma thesis is based on laboratory analysis of the soya content in spices mixtures, as one of the componets of meat products. The analyses were provided by the ELISA test which is based on the reaction of the extracted soya protein sample with its antibodies.

Materials and methods

18 samples of seasonings mixtures, produced by 10 different companies (shown in the Table 1) were analysed by using the ELISA RIDASCREEN[®] FAST Soya test.

Seven of the respective samples were used in meat processing and of the rest, 11 samples are commercial type of seasoning mixtures.

The measurement was performed according to the procedure of RIDASCREEN[®]FAST Soya 13-12-10 Packaged with set.

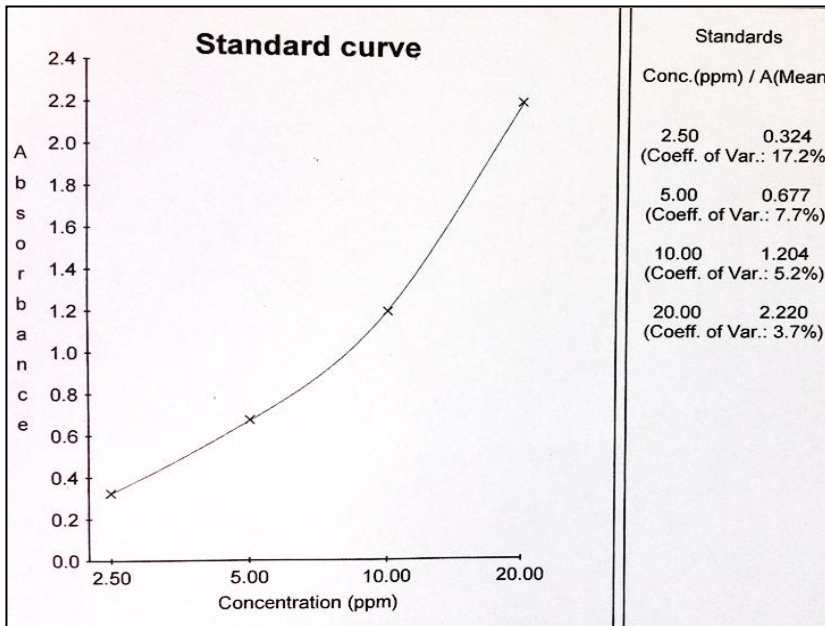
Table 1. List of samples

Sample number	Mixture of seasonings (sample)	Producer	Processor(p.)/ Seller (s.)	Declared content of soya on the label
1.	Gyros	Vitana	Tesco (s.)	soya free
2.	Seasoning salt for roast chicken	Orient	Tesco (s.)	may contain soya
3.	Roast chicken with honey and mustard	Kotány	Tesco (s.)	contains soya sauce (water, soya, wheat, maltodextrin, salt)
4.	Ribs with honey	Kotány	Tesco (s.)	contains soya sauce (water, soya, wheat, maltodextrin, salt)
5.	Ugrian sausage	Mäspoma	Berto (p.)	soya free
6.	Home hot sausage	Mäspoma	Berto (p.)	soya free
7.	Tyrolean sausage Combi OA	Schaler	Berto (p.)	soya free
8.	Frankfurter Combi Rotpunkt	Schaler	Berto (p.)	soya free
9.	Alpenwurst ES Combi	Almi	Berto (p.)	soya free
10.	Čaba salami	Mäspoma	Tauris (p.)	soya free
11.	Malokarpatská salami	Progast	Tauris (p.)	soya free
12.	Bavarian meatloaf KT	Pekný Unimex	not mentioned	contains soya
13.	Goulash spice	Thymos	Tesco (s.)	soya free
14.	Grilled chicken	Thymos	Tesco (s.)	soya free
15.	Roast pork	Marco Polo	Tesco (s.)	may contain traces of soya
16.	Košice meatloaf	Mäspoma	not mentioned	soya free
17.	Frankfurters forte combi 10	Mäspoma	not mentioned	soya free
18.	Grilled chicken	Marco Polo	Tesco(s.)	soya free
19.	Bavarian meatloaf KT (sample no. 12, 10 000 fold dilution)	Pekný Unimex	not mentioned	contains soya

Results and discussion

Table 2. The absorbance values

Sample no.	Absorbance	Calculation ppm	Dilution factor *	= ppm
1	0.235E	< 2.50	1	< 2.50
2	0.134E	< 2.50	1	< 2.50
3	0.418E	3.06	1	3.06
4	0.420E	3.07	1	3.07
5	0.182E	< 2.50	1	< 2.50
6	0.270E	< 2.50	1	< 2.50
7	0.230E	< 2.50	1	< 2.50
8	0.172E	< 2.50	1	< 2.50
9	0.152E	< 2.50	1	< 2.50
10	0.271E	< 2.50	1	< 2.50
11	0.233E	< 2.50	1	< 2.50
12	3.543E	> 20.00	1	> 20.00
13	0.262E	< 2.50	1	< 2.50
14	0.195E	< 2.50	1	< 2.50
15	0.311E	< 2.50	1	< 2.50
16	0.106E	< 2.50	1	< 2.50
17	0.192E	< 2.50	1	< 2.50
18	0.239E	< 2.50	1	< 2.50
19	3.145E	> 20.00	10 000	> 200 000



Graph 1. Calibration curve

The results in Table 2 show that none of the products declared as "soya free" (sample no. 1 , 5 , 6 , 7 , 8 , 9 , 10 , 11, 13 , 14, 16 , 17 , 18) were detected as positive in soya content.

The samples of "Seasoning salt for roast chicken" from Orient company (sample no. 2) and "Roast pork" from Marco Polo (sample no. 15), which were labelled as "may contain soya" also were not detected as positive in soya content. This labelling is used by the company in the case when soybeans are used in factory, or if soya is a component of some products, or just being stored in the factory. This is the way how the meat producer avoids violation of the law, which could arise in the case of cross-contamination.

The following spice blends with declared soya content on the label: "Roast chicken with honey and mustard" from Kotány (sample no. 3) and "Ribs and honey" as well from Kotány (sample no. 4) were detected in soya content at 3.06 mg/kg of the sample and 3.07 mg/kg of the sample.

After the extraction of the sample no. 12 ("Bavarian meatloaf" from company: Pekný Unimex) was observed a significant difference in the consistency (higher viscosity and gel formation) compared to the other samples. To verify the theorem that this difference is due to a high content of soya proteins, the 10 000 fold dilution was performed (I. Dilution 1: 1000 and subsequently II. Dilution 10: 100). (Sample no. 19).

The diluted sample was found to contain soya protein greater than 20 mg/kg. The undiluted sample contained soya higher than a detection limit.

Summary

Allergic diseases represent a very serious problem in developed countries. Food allergenes can cause severe reactions, and may even be life-threatening [Jackson 2007]. Several analytical methods are used to determine soya proteins in foodstuffs such as Reversed-Phase Chromatography HPLC; PCR method (Polymerase Chain Reaction), Matrix Assisted Laser Desorption/Ionization (MALDI-TOF); SDS polyacrylamide gel electrophoresis with immunoblot and dot blot; fluorescence microscopy method etc. The most currently used method for the soya detection is ELISA [Vránová, 2005; Talandová et al., 2013; Espiñeira et al., 2010; Houston et al., 2011; De Angelis et al., 2010; Picó, 2007].

Based on our experimental work and literary sources it can be confirmed that ELISA Soya test provides high sensitivity and reliability.

The obtained results also show that the analysed spice blends comply with legislative regulations concerning this type of allergen labelling on the package. However, it is important to constantly monitor the soya content also in the seasoning mixtures to minimize the risk for the consumers who suffer from soya allergy.

Literature

1. De Angelis M. et al. Two-dimensional electrophoresis and IgE-mediated food allergy. In *Electrophoresis*. 2010, 31, 2126-2136.
2. Directive 2003/89/EC of the European Parliament and of the Council of 10 November 2003 amending Directive 2000/13/EC as regards indication of the ingredients present in foodstuffs, 2003.
3. Espiñeira M. et al. Validation of end-point and real-time PCR methods for the rapid detection of soy allergen in processed products. *Food Additives and Contaminants - Part A Chemistry, Analysis, Control, Exposure and Risk Assessment.*, 2010, 27, 426-432.
4. Houston N.L. et al. Quantitation of soybean allergens using tandem mass spectrometry. *Journal of Proteome Research*, 2011, 10, 763-773.
5. Jackson M. *Allergy: The History of a Modern Malady*. Cromwell Press Ltd., Wiltshire 2007, 288.
6. Keresteš J. et al. *Zdravie a výživa ľudí*. CAD PRESS, Bratislava 2011, 1040.
7. Ogawa, T. et al. Soybean allergens and hypoallergenic soybean products. *Journal of Nutritional Science and Vitaminology*, 2000, 46, 271-279.

8. Picó Y. Food toxicants analysis: techniques, strategies and development. Elsevier, Oxford 2007, 762.
9. Talandová M. et al. Use fluorescence methods for the detection of soy protein in meat products, 2013, 7, 130-133.
10. Vránová D. Quantification of soy isoflavones in meat products by HPLC. Scripta medica, 2005, 78, 37-37.

AMINY BIOGENNE JAKO MARKERY BEZPIECZEŃSTWA ZDROWOTNEGO WYROBÓW MIĘSNYCH SUROWO DOJRZEWAJĄCYCH

Słowa kluczowe: aminy biogenne, wyroby mięsne, bezpieczeństwo zdrowotne

Wprowadzenie

Obecne tendencje w obszarze zapewnienia bezpieczeństwa zdrowotnego żywności koncentrują się m.in. na poszukiwaniu substancji śladowych, których obecność w produktach spożywczych może niekorzystnie oddziaływać na zdrowie człowieka. Do substancji tych należą aminy biogenne, które jako naturalne składniki surowców roślinnych i zwierzęcych występują w niskiej koncentracji i nie stanowią zagrożenia dla zdrowia człowieka lecz ich podwyższona zawartość w produktach spożywczych może prowadzić do zatrucia.

Produkty probiotyczne jako żywność funkcjonalna

Wzbogacanie produktów spożywczych w substancje aktywne fizjologicznie celem nadania im właściwości prozdrowotnych (tzw. żywność funkcjonalna) jest bardzo istotnym kierunkiem rozwoju produkcji żywności. W trakcie obrad Pierwszego Kongresu Nauk Rolniczych do zagadnień badawczych których realizacja powinna służyć rozwojowi rolnictwa, przemysłu spożywczego, rybołówstwa i obszarów wiejskich zaliczono wytwarzanie żywności prozdrowotnej (..) oraz zapewnienie rozwoju metod wytwarzania żywności o oddziaływaniu prozdrowotnym, co powinno stać się jednym z filarów polityki rolnej i jednym z najważniejszych działań służących zdrowiu, tak w Polsce, jak i we wszystkich krajach UE. Uznano również, że biorąc pod uwagę oczekiwania konsumentów, w badaniach naukowych powinno się uwzględniać perspektywiczne kierunki, umożliwiające opracowanie technologii produkcji żywności bezpiecznej pod względem zdrowotnym i zapewniającej codzienne dostarczanie niezbędnych składników odżywczych oraz spełniającej kryteria żywności funkcjonalnej [Chyłek, 2011].

Żywność probiotyczna, czyli produkty do których celowo dodano wyselekcjonowane kultury bakterii, o udokumentowanych właściwościach probiotycznych jest jednym z rodzajów żywności funkcjonalnej. Szczepy bakterii probiotycznych są od lat z powodzeniem stosowane jako kultury startowe w technologii przetworów mlecznych. Ich zastosowanie umożliwia uzyskanie produktów o pożądanym

cechach jakościowych i prozdrowotnych [Nowak i in., 2010]. Obok pozytywnego oddziaływania na organizm człowieka, ważnym argumentem przemawiającym za ich wykorzystaniem jest możliwość hamowania rozwoju mikroflory rodzimej, cechującej się zwykle wysoką zdolnością do produkcji amin biogennych, dzięki wytwarzaniu przez bakterie probiotyczne szeregu metabolitów o właściwościach bakteriostatycznych i bakteriobójczych (m.in. kwasu mlekowego, kwasu mrówkowego, etanolu oraz bakteriocyn) [Ammor i Mayo, 2007; Työppönen i in., 2003; Ziarno i Zaręba, 2008]. Efektem dynamicznego rozwoju badań nad żywnością funkcjonalną są próby wykorzystania probiotycznych bakterii fermentacji mlekowej (LAB) jako kultur startowych do produkcji surowo dojrzewających wyrobów mięsnych [Arihara, 2006; Aro Aro i in., 2010; De Vuyst i in., 2008; Lücke i in., 2000]. Wiąże się to jednak z szeregiem problemów technologicznych wynikających przede wszystkim z trudności w zapewnieniu odpowiednich warunków wzrostu i przeżywalności bakterii w produktach mięsnych [Kołozyn-Krajewska i Dolatowski, 2012].

Istotnym elementem badań zmierzających do określenia optymalnych warunków rozwoju bakterii probiotycznych podczas fermentacji, dojrzewania i przechowywania wędlin surowo dojrzewających, jest określenie wpływu zastosowania szczepu bakterii probiotycznych na bezpieczeństwo zdrowotne wyrobów mięsnych. Jest to zgodne z założeniami KPB (Krajowy Program Badań - Założenia polityki naukowo-technicznej i innowacyjnej państwa, 16 sierpnia 2011) w myśl których, w zagadnieniach związanych z produkcją prozdrowotnej żywności należy położyć nacisk na technologie wspomagające ocenę jakości surowców i rozwój kryteriów gwarancji bezpieczeństwa.

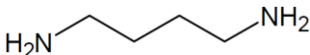
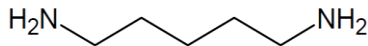
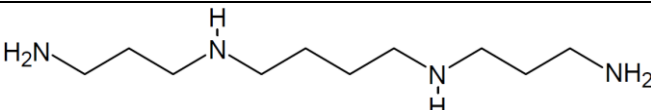
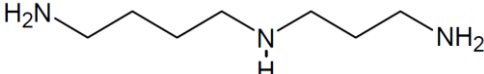
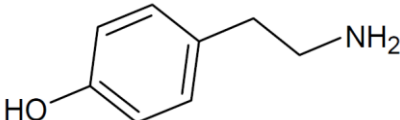
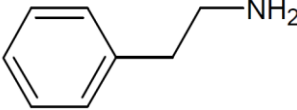
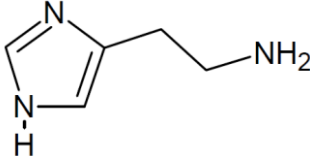
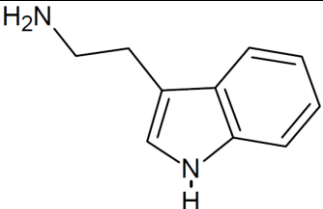
Aminy biogenne - charakterystyka

Aminy biogenne to aktywne biologicznie, niskocząsteczkowe zasady organiczne powszechnie występujące w roślinach, organizmach zwierzęcych oraz w mikroorganizmach, w których powstają w wyniku naturalnych procesów biochemicznych zachodzących na poziomie komórkowym i biorą udział w syntezie alkaloidów, hormonów, białek i kwasów nukleinowych oraz wpływają na replikację DNA i przepuszczalność błon komórkowych. Ponadto uczestniczą w regulacji temperatury ciała, ciśnienia tętniczego krwi i aktywności mózgu. Są zatem niezbędne do wzrostu i utrzymania żywotności komórek oraz prawidłowego przebiegu wielu procesów metabolicznych. Z drugiej jednak strony mogą wykazywać działanie toksyczne a niektóre z nich, jako prekursorzy karcynogennych nitrozwiązków, nawet rakotwórcze [Hernández-Jover i in., 1997; Karovičová i Kohajdová, 2005; Komprda i in., 2004].

Z punktu widzenia budowy chemicznej (Tabela 1) wyróżniamy aminy alifatyczne: putrescyna, kadaweryna, spermina, spermidyna, aromatyczne: tyramina, 2-fenyletoetyloamina oraz heterocykliczne: histamina, tryptamina. Ze względu na liczbę

grup aminowych dzielimy je na monoaminy (2-fenyletyloamina, tyramina), diaminy (histamina, kadaweryna, putrescyna, tryptamina) oraz poliaminy (spermidyna, spermina, agmatyna) [Önal, 2007; Suzzi i Gardini, 2003]. Nazwy amin biogennych tworzone są na podstawie nazw aminokwasów, których pochodne stanowią. Prekursorem histaminy jest histydyna, tyraminy - tyrozyna, tryptaminy - tryptofan, 2-fenyletyloaminy - fenylealanina. Kadaweryna powstaje w wyniku usunięcia grupy α -karboksylowej z lizyny, agmatyna z argininy, zaś putrescyna z ornityny [Karovičová i Kohajdová, 2005].

Tabela 1. Budowa chemiczna wybranych amin biogennych

Nazwa (akronim) i wzór sumaryczny	Wzór strukturalny	Masa molowa
Aminy alifatyczne		
Putrescyna (PUT) $C_4H_{12}N_2$		88,2
Kadaweryna (KAD) $C_5H_{14}N_2$		102,2
Spermina (SPN) $C_{10}H_{26}N_4$		202,3
Spermidyna (SPD) $C_7H_{19}N_3$		145,3
Aminy aromatyczne		
Tyramina (TYR) $C_8H_{11}NO$		137,2
2- fenoyletyloamina (PEA) $C_8H_{11}N$		121,2
Aminy heterocykliczne		
Histamina (HIS) $C_5H_9N_3$		111,1
Tryptamina (TRYP) $C_{10}H_{12}N_2$		160,2

Źródło: opracowanie własne

Aminy biogenne jako naturalne składniki surowców roślinnych i zwierzęcych są obecne w żywności w niskiej koncentracji i nie stanowią zagrożenia dla zdrowia człowieka. Ich podwyższona zawartość w produktach spożywczych jest wynikiem aktywności endogennych enzymów zawartych w surowcach lub mikrobiologicznej

konwersji wolnych aminokwasów do amin biogennych podczas kontrolowanej lub spontanicznej fermentacji, przetwarzania, przechowywania i dystrybucji. Spożywanie produktów zawierających duże ilości tych związków może wywołać charakterystyczne farmakologiczne, fizjologiczne i toksyczne skutki w organizmie [Suzzi i Gardini, 2003].

Aminy biogenne pobrane w niewielkiej ilości z pożywieniem są metabolizowane w przewodzie pokarmowym do mniej aktywnych fizjologicznie związków przez enzymy z klasy oksydoreduktaz (MAO, DAO). Zdolność do detoksykacji jest znacząco zróżnicowana indywidualnie i zależna m.in. od stanu zdrowia. W przypadku osób uczulonych lub przyjmujących leki będące inhibitorami wymienionych enzymów, jak również w wyniku spożycia znacznych ilości amin biogennych, proces detoksykacji zostaje spowolniony, a nawet zahamowany, co prowadzi do zatrucia [McCabe-Sellers i in., 2006].

Aminy biogenne w mięsie i w produktach mięsnych surowo dojrzewających

Związkami naturalnie występującymi w świeżym mięsie są spermina i spermidyna. Zawartość sperminy jest zwykle wysoka, w granicach 20-60 mg/kg, poziom spermidyny rzadko przekracza 10 mg/kg. Podczas przechowywania mięsa wzrasta w nim zawartość histaminy, kadaweryny, putrescyny i tyraminy, stężenie sperminy nieznacznie spada, zaś zawartość spermidyny utrzymuje się na niezmiennym poziomie [Kalač i Krausová, 2005; Ruiz-Capillas i Jiménez-Colmenero, 2004]. Wzrost zawartości amin biogennych w mięsie powyżej poziomu ich naturalnego występowania świadczy o nieprzestrzeganiu warunków higienicznych podczas jego pozyskiwania i przetwarzania, a w konsekwencji pojawienia się licznych niepożądanych bakterii. Zawartość amin biogennych może zatem stanowić swoisty marker stanu higienicznego żywności i procesu w jakim została wytworzona.

Powstawanie amin biogennych w żywności warunkuje obecność ich prekursorów, tj. wolnych aminokwasów oraz mikroorganizmów syntetyzujących dekarboksylazy. Ich tworzenie zależy również od warunków umożliwiających wzrost mikroorganizmów i biosyntezę dekarboksylaz oraz warunków mających korzystny wpływ na aktywność dekarboksylaz. Wolne aminokwasy występują naturalnie w żywności lub są uwalniane na drodze proteolizy. Wysoka zawartość białka oraz obecność w żywności szczepów bakterii o wysokiej aktywności proteolitycznej są zatem czynnikami zwiększającymi ryzyko powstawania amin biogennych [Suzzi i Gardini, 2003].

Zdolność do dekarboksylacji aminokwasów wykazują m.in. niektóre szczepy bakterii kwasu mlekowego z rodzaju *Carnobacterium*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Enterococcus*, *Pediococcus* i *Streptococcus*. Zdolność do wytwarzania amin biogennych jest cechą szczepową, a mikroorganizmy wytwarzające dekarboksylazy

aminokwasów mogą stanowić naturalną mikroflorę surowców spożywczych. Aminy biogenne mogą występować w żywności w wyniku jej zanieczyszczenia w trakcie produkcji lub przechowywania, bądź też mogą zostać celowo wprowadzone, jako kultury startowe w produkcji żywności fermentowanej [Galgano i in., 2009; Karovičová i Kohajdová, 2005; Ziarno i Zaręba, 2008].

Wysoką zawartość białka i wolnych aminokwasów, czas trwania i parametry procesu technologicznego oraz długi okres przechowywania charakterystyczny dla tej grupy produktów decydują o tym, że wędliny surowo dojrzewające zalicza się do żywności o wysokim ryzyku występowania amin biogennych [Bover-Cid i in., 2006; Hernández-Jover i in., 1997; Ruiz-Capillas i Jiménez-Colmenero, 2004]. Monitorowanie poziomu tych związków w wędlinach surowo dojrzewających jest niezbędne w celu zagwarantowania ich bezpieczeństwa zdrowotnego.

Czynniki wpływające na zawartość amin biogennych w wyrobach mięsnych surowo dojrzewających

Wyroby mięsne surowo dojrzewające ze względu na zróżnicowane profile mikrobiologiczne, charakteryzują się dużą zmiennością występowania amin biogennych. Oznaczanie ich zawartości było przedmiotem szeregu prac badawczych, z których większość dotyczyła kiełbas [Bover-Cid i in., 2006; Gardini i in., 2001; Komprda i in., 2004; Latorre-Moratalla i in., 2008; Lu i in., 2010; Tosukhowong i in., 2011]. W hiszpańskich kiełbasach fermentowanych (chorizo, fuet, sobrasada i salsichon) najwyższą koncentrację osiągnęła tyramina - średnio 200 mg/kg, w niektórych próbach jej zawartość przekraczała 600 mg/kg. Zawartość putrescyny w niektórych kiełbasach była również znacząca i wynosiła nawet 450 mg/kg. W niektórych kiełbasach typu chorizo i salsichon zawartość kadaweryny sięgała 600 mg/kg, lecz jej średnie stężenie było niższe i wynosiło ok. 20 mg/kg. Zawartość 2-fenyloetyloaminy i tryptaminy stwierdzono tylko w kilku kiełbasach na poziomie powyżej 50 mg/kg. Niebezpieczny dla zdrowia poziom histaminy (300 mg/kg) wykryto w niektórych przebadanych próbkach kiełbas typu chorizo i fuet [Suzzi i Gardini, 2003].

Na poziom zawartości amin biogennych wpływa wiele czynników, spośród których jakość surowca, warunki higieniczne oraz czynniki technologiczne, takie jak: temperatura, pH, aktywność wody, zawartość NaCl i potencjał redoks, odgrywają istotną rolę w tworzeniu tych związków [Gardini i in., 2001; Komprda i in., 2004; Latorre-Moratalla i in., 2008].

Najistotniejszym czynnikiem wpływającym na zawartość amin biogennych w wyrobach surowo dojrzewających jest jakość surowca [Bover-Cid i in., 2001]. Użycie surowca o niskiej jakości, charakteryzującego się dużą liczbą bakterii z rodzaju

Enterobacteriaceae, skutkowało wysoką zawartością diamin, w szczególności kadaweryny, w kielbasach poddanych spontanicznej fermentacji [Bover-Cid i in., 2006].

Kluczowym czynnikiem wpływającym na powstawanie amin biogennych jest wartość pH, gdyż aktywność dekarboksylaz aminokwasów jest uzależniona od kwasowości środowiska [Teodorovic i in., 1994]. Tworzeniu amin biogennych może zatem zapobiegać szybki i znaczący spadek pH wywołany przez kultury startowe bakterii. Jest to związane z szybką dominacją mikroflory startowej w procesie fermentacji nad mikroflorą niestartową i niepożądaną, cechującą się zwykle wysoką zdolnością do produkcji amin biogennych [Maijala i in., 1995]. Dominacja kultur startowych bakterii fermentacji mlekowej nad mikroflorą środowiskową podczas dojrzewania i przechowywania zapobiega dalszemu wytwarzaniu amin biogennych [Suzzi i Gardini, 2003].

Zapobieganie powstawaniu amin biogennych

Powstawaniu amin biogennych w wyrobach mięsnych surowo dojrzewających można zapobiegać poprzez wykorzystanie w procesie fermentacji kultur startowych niewykazujących zdolności do ich tworzenia [Naila i in., 2010; Suzzi i Gardini, 2003]. Ich zastosowanie może zredukować poziom amin biogennych dzięki szybkiemu i znaczącemu wzrostowi kwasowości oraz dominacji mikroflory startowej nad mikroflorą rodzimą, cechującą się zwykle wysoką zdolnością do produkcji amin biogennych, której źródłem może być zarówno mięso, jak i urządzenia oraz środowisko, w jakim przebiega proces produkcyjny [Ammor i Mayo, 2007; Suzzi i Gardini, 2003; Ziarno i Zaręba, 2008]. Skuteczność stosowania kultur startowych bakterii niewytwarzających amin biogennych w zapobieganiu ich występowania w fermentowanych produktach mięsnych potwierdziło w swoich badaniach wielu autorów cytowanych przez Lu i in. [2010] oraz González-Fernández i in. [2003]. Efektywność kultur startowych w zapobieganiu powstawania amin biogennych ogranicza zanieczyszczenie mięsa bakteriami w wyniku nieprzestrzegania higieny podczas jego pozyskiwania i przetwarzania [Bover-Cid i in., 2001].

Badania przeprowadzone przez Stadnik i Dolatowskiego [2012], których celem była ocena wpływu probiotycznego szczepu *Lactobacillus casei* ŁOCK 0900 na zawartość amin biogennych w polędwicy surowo dojrzewającej wykazały, że w porównaniu z produktami poddanymi spontanicznej fermentacji i przechowywanymi w identycznych warunkach, polędwice z dodatkiem szczepu bakterii probiotycznych cechowały się niższą zawartością kadaweryny. Poziom putrescyny i sperminy w obydwu badanych wariantach wyrobów był bardzo zbliżony. Zastosowanie bakterii probiotycznych jako kultur startowych skutkowało otrzymaniem produktów wolnych od spermidyny i histaminy. Uzyskane wyniki świadczą, iż zastosowanie bakterii

probiotycznych do produkcji wędlin surowo dojrzewających może zredukować poziom amin biogennych poprzez szybką i znaczną redukcję wartości pH oraz skuteczną i szybką dominację w procesie fermentacji mikroflory probiotycznej nad mikroflorą rodzimą i zanieczyszczającą, cechującą się zwykle wysoką zdolnością do produkcji amin biogennych. Hamowaniu rozwoju niepożądanego mikroflory może również sprzyjać zdolność wykorzystanego szczepu bakterii do syntezy biosurfaktantów, związków niewrażliwych na działanie enzymów proteolitycznych (pepsyny i trypsyny), które wykazując aktywność antagonistyczną w stosunku do: *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas fluorescens*, *Lactobacillus acidophilus*, *Enterobacter aerogenes* wspomagają działanie mieszanki peklującej. Szczep *Lactobacillus casei* ŁOCK 0900 wykazuje ponadto aktywność antagonistyczną w stosunku do bakterii patogennych przenoszonych drogą pokarmową: *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus faecalis*, *Salmonella enteritidis*, *Salmonella typhimurium*, *Listeria monocytogenes*, *Listeria innocua* [Motyl i in., 2011].

Podsumowanie

Wyroby mięsne surowo dojrzewające charakteryzują się dużą zmiennością występowania amin biogennych. Na poziom tych związków wpływa jakość surowca, warunki higieniczne podczas przetwarzania oraz czynniki technologiczne, takie jak: temperatura, pH, aktywność wody, zawartość NaCl i potencjał redoks. Występowaniu amin biogennych w wyrobach mięsnych surowo dojrzewających można zapobiegać poprzez wykorzystanie w procesie fermentacji kultur startowych niewykazujących zdolności do ich tworzenia, które poprzez hamowanie rozwoju mikroflory niepożądanego i związanej z tym redukcji zawartości amin biogennych mogą przyczynić się do poprawy bezpieczeństwa zdrowotnego produktów.

Literatura

1. Ammor M.S., Mayo B. Selection criteria for lactic acid bacteria to be used as functional starter cultures in dry sausage production: An update. *Meat Sci.*, 2007, 76 (1), 138-146.
2. Arihara K. Strategies for designing novel functional meat products. *Meat Sci.*, 2006, 74 (1), 219-229.
3. Aro Aro J.M., Nyam-Osor P., Tsuji K., Shimada K., Fukushima M., Sekikawa M. The effect of starter cultures on proteolytic changes and amino acid content in fermented sausages. *Food Chem.*, 2010, 119 (1), 279-285.
4. Bover-Cid S., Izquierdo-Pulido M., Vidal-Carou M.C. Effectiveness of a *Lactobacillus sakei* starter culture in the reduction of biogenic amine

- accumulation as a function of the raw material quality. *J. Food Protect.*, 2001, 64 (3), 367-373.
5. Bover-Cid S., Miguelez-Arrizado M.J., Latorre Moratalla L.L., Vidal Carou M.C. Freezing of meat raw materials affects tyramine and diamine accumulation in spontaneously fermented sausages. *Meat Sci.*, 2006, 72 (1), 62-68.
 6. Chyłek E.K. Požadane kierunki i perspektywy rozwoju nauk rolniczych w Polsce. *Woda-środowisko-obszary wiejskie*. 2011, 11, 1(33), 31-59.
 7. De Vuyst L., Falony G., Leroy F. Probiotics in fermented sausages. *Meat Sci.*, 2008, 80 (1), 75-78.
 8. Galgano F., Favati F., Bonadio M., Lorusso V., Romano P. Role of biogenic amines as index of freshness in beef meat packed with different biopolymeric materials. *Food Res. Int.*, 2009, 42, 1147-1152.
 9. Gardini F., Martuscelli M., Caruso M.C., Galgano F., Crudele M.A., Favati F., Guerzoni M.E., Suzzi G. Effects of pH, temperature and NaCl concentration on the growth kinetics, proteolytic activity and biogenic amine production of *Enterococcus faecalis*. *Int. J. Food Microbiol.*, 2001, 64 (1-2), 105-117.
 10. González-Fernández C., Santos E.M., Jaime I., Rovira J. Influence of starter cultures and sugar concentrations on biogenic amine contents in chorizo dry sausage. *Food Microbiol.*, 2003. 20 (3), 275-284.
 11. Hernández-Jover T., Izquierdo-Pulido M., Veciana-Nogués M.T., Mariné-Font A., Vidal-Carou M.C. Biogenic amine and polyamine contents in meat and meat products. *J. Agric. Food Chem.*, 1997, 45 (6), 2098-2102.
 12. Kalač P., Krausová P. A review of dietary polyamines: Formation, implications for growth and health and occurrence in foods. *Food Chem.*, 2005, 90, 219-230.
 13. Karovičová J., Kohajdová Z. Biogenic amines in food. *Chem. Pap.*, 2005, 59 (1), 70-79.
 14. Kolożyn-Krajewska D., Dolatowski Z.J. Probiotic meat products and human nutrition. *Process Biochem.*, 2012, 47, 1761-1772.
 15. Komprda T., Smělá D., Pechová P., Kalhotka L., Štencl J., Klejdus B. Effect of starter culture, spice mix and storage time and temperature on biogenic amine content of dry fermented sausages. *Meat Sci.*, 2004, 67 (4), 607-616.
 16. Latorre-Moratalla M.L., Veciana-Nogués T., Bover-Cid S., Garriga M., Aymerich T., Zanardi E., Ianieri A., Fraqueza M.J., Patarata L., Drosinos E.H., Lauková A., Talon R., Vidal-Carou M.C. Biogenic amines in traditional fermented sausages produced in selected European countries. *Food Chem.*, 2008, 107 (2), 912-921.
 17. Lu S., Xu X., Zhou G., Zhu Z., Meng Y., Sun Y. Effect of starter cultures on microbial ecosystem and biogenic amines in fermented sausage. *Food Control*, 2010, 21 (4), 444-449.

18. Lücke F.K. Utilization of microbes to process and preserve meat. *Meat Sci.*, 2000, 56 (2), 105-115.
19. Maijala R., Nurmi E., Fischer A. Influence of processing temperature on the formation of biogenic amines in dry sausages. *Meat Sci.*, 1995, 39 (1), 9-22.
20. McCabe-Sellers B.J., Staggs C.G., Bogle M.L. Tyramine in foods and monoamine oxidase inhibitor drugs: A crossroad where medicine, nutrition, pharmacy, and food industry converge. *J. Food Compos. Anal.*, 2006, 19, 58-65.
21. Motyl I., Klewicka E., Libudzisz Z. Nowy szczep bakterii mlekowych *Lactobacillus casei*. 2011. PAT. 209987.
22. Naila A., Flint S., Fletcher G., Bremer P., Meerdink G. Control of biogenic amines in food-existing and emerging approaches. *J. Food Sci.*, 2010, 75 (7), 139-150.
23. Nowak A., Śliżewska K., Libudzisz Z. Probiotyki-historia i mechanizmy działania. *ŻYWNOSĆ. Nauka Technologia Jakość*, 2010, 4 (71), 5-19.
24. Önal A. A review: Current analytical methods for the determination of biogenic amines in foods. *Food Chem.*, 2007, 103 (4), 1475-1486.
25. Ruiz-Capillas C., Jiménez-Colmenero F. Biogenic amines in meat and meat products. *Crit. Rev. Food Sci.*, 2004, 44 (7/8), 489-499.
26. Stadnik J., Dolatowski Z.J. Biogenic amines content during extended ageing of dry-cured pork loins inoculated with probiotics. *Meat Sci.* 2012, 91 (3), 374-377.
27. Suzzi G., Gardini F. Biogenic amines in dry fermented sausages: a review. *Int. J. Food Microbiol.*, 2003, 88 (1), 41-54.
28. Teodorovic V., Buncic S., Smiljanic, D. A study of factors influencing histamine production in meat. *Fleischwirtschaft*, 1994, 74 (2), 170-172.
29. Tosukhowong A., Visessanguan W., Pumpuang L., Tepkasikul P., Panya A., Valyasevi R. Biogenic amine formation in Nham, a Thai fermented sausage, and the reduction by commercial starter culture, *Lactobacillus plantarum* BCC 9546. *Food Chem.*, 2011, 129 (3), 846-853.
30. Työppönen S., Petaja E., Mattila-Sandholm T. Bioprotectives and probiotics for dry sausages. *Int. J. Food Microbiol.*, 2003, 83 (3), 233-244.
31. Ziarno M., Zaręba D. Charakterystyka komercyjnych kultur startowych stosowanych w przetwórstwie mięsa. *Med. Wet.* 2008, 64 (9), 1078-1082.

LADISLAV STARUCH, MARCEL MATI
MARTA STARUCHOVÁ

*Department of food science and technology
Faculty of chemical and food technology
Slovak university of technology*

**THE ANALYSIS OF NET MUSCLE PROTEIN CONTENT
IN SELECTED MEAT PRODUCTS**

Abstract

The thesis deals with the monitoring of a meat product's quality from the point of view of net muscle protein content (BEFFE) and gives an analytical overview of the real situation on the market with meat products. There has been a rising trend among meat producers to reduce the meat content in their products and, inevitably, essential additives as well, in the last decades. The net muscle protein content (BEFFE) is an important indicator of a meat product's quality. The analyses were based upon the usage of the Kjeldahl method for the determination of protein together with the KJELTEC AUTO 1030 Analyzer device and followed by determination of hydroxyproline.

Introduction

There has been a rising trend among meat producers to reduce the meat content in their products while the proportion of supplements of less valuable sources of protein in meat products is on the rise. As a very important indicator of the quality of meat products in this type of trend is therefore the net muscle protein content (BEFFE) which percentage is evaluated in the present work.

Total protein and net muscle proteins in meat products

The total protein content is defined as the nitrogen content (N) evaluated by the Kjeldahl method in meat product multiplied by the factor 6.25 [Decree of the Ministry of Agriculture of the Slovak Republic and the Ministry of Health of the Slovak Republic of 18 August 2005 No. 1895/2004 – 100]. The final total protein content encompasses also eventual content of connective tissue proteins consisting of collagen and elastin.

By the determination of hydroxyproline and its conversion on collagen content is possible to determine the addition of pork skin emulsion in meat products processing. The net muscle protein content (BEFFE) is calculated by subtraction of collagen percentage from percentage of total protein.

Hydroxyproline, liberated by acid hydrolysis of protein, breaks down through oxidation into 3-hydroxy-4-amino-1,3 diene valeric acid, which reacts with p-dimethylaminobenzaldehyde to form a red compound which amount is determined photometrically [ISO 3496 - Determination of hydroxyproline content, 2003].

$$\% \text{ total protein} = \% \text{ nitrogen content} * 6.25$$

$$\% \text{ of collagen} = \frac{\text{hydroxyproline} \times 100 \times 8}{N \times 6.25}$$

$$\% \text{ net muscle protein} = \% \text{ total protein} - \% \text{ collagen}$$

[Decree of the Ministry of Agriculture of the Slovak Republic and the Ministry of Health of the Slovak Republic of 18 August 2005 No. 1895/2004 – 100].

Materials and methods

The following analyses were carried out:

- Determination of total protein content was accomplished via Kjeldahl method using the KJELTEC AUTO 1030 Analyzer device [Guidance Manual. Tecator AB Company, 2000].
- Determination of hydroxyproline content was accomplished via photometric method [ISO 3496- Determination of Hydroxyproline content, 2003].

17 samples of meat products produced by 8 companies (marked by letters A-H) were analysed. Nine of the respective samples were labeled as traditional speciality guaranteed with reservation of the name. The rest, 8 samples were labeled as traditional speciality guaranteed without reservation of the name.

Several selected quantitative parameters were also determined and observed in traditional speciality guaranteed which are not included in this work.

Minimal content of net muscle protein in Spišské párky (Spiš Sausages) has to be 10% [Commission Regulation (EC) No. 159/2011].

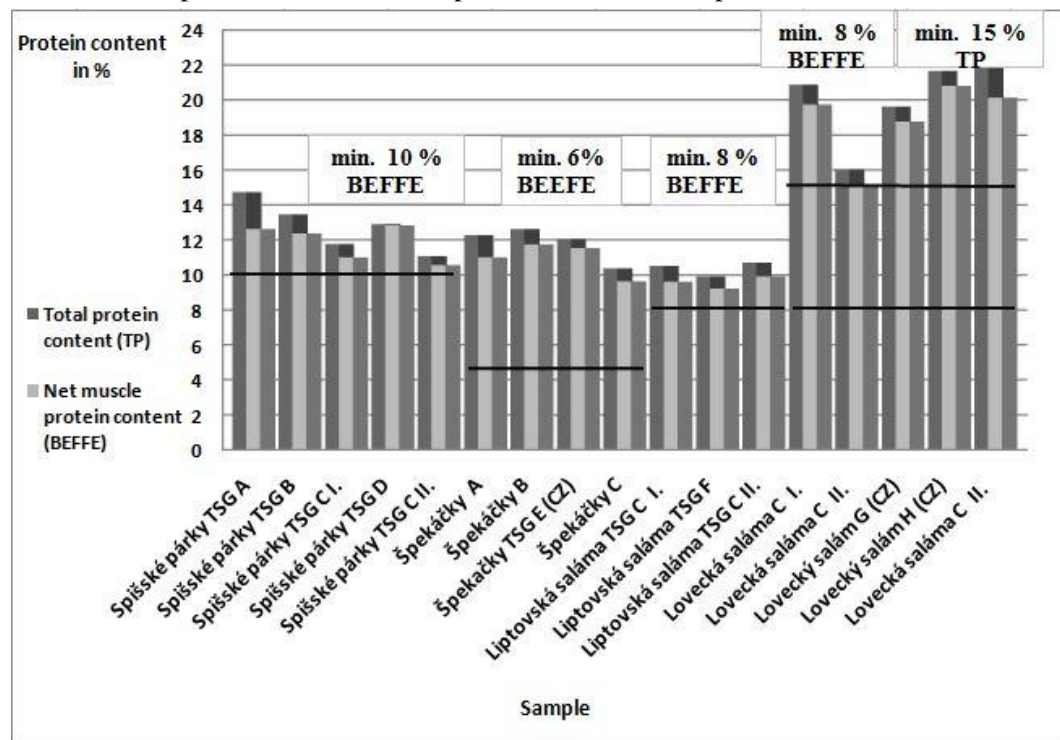
Minimal content of net muscle protein in Špekáčky/Špekačky (Sausages) has to be 6% [Commission Regulation (EC) No. 158/2011].

Minimal content of net muscle protein in Liptovská saláma/Liptovský salám (Liptov Salami) has to be 8 % [Commission Regulation (EC) No. 161/2011].

Minimal content of net muscle protein in Lovecká saláma/Lovecký salám (Hunter's Salami) has to be 8 % and total protein content minimally 15 % [Commission Regulation (EC) No. 160/2011].

Results and discussion

Table 1. Total protein and net muscle protein content in samples



*CZ- Czech Republic

On the basis of selected analyses it is possible to state that the highest discrepancy between total protein and net muscle protein content (BEFFE) was detected in Spišské párky – TSG (Spiš Sausages - TSG) from the company marked as A (difference was 2.1%). This difference is not statistically significant and could be caused by the potential measurement error.

The lowest difference (0.07%) between the measured parameters was observed in Spišské párky- TSG (Spiš Sausages - TSG) from the company marked as D. Highest net muscle protein content in total was determined in Lovecký salám (Hunter's Salami) from the company marked as H (Czech Republic) i.e. 20.8%.

It can be summarized that the analyzed products were abreast of the quality required for the respective group of meat products. All products from the category of TSG that have to follow the specific regulations met the regulation for minimum content of total protein and net muscle protein.

The highest content of net muscle protein among the samples of Spišské párky (Spiš Sausages) was identified in the sample of Spišské párky- TSG (Spiš sausages –

TSG) from the company marked as D, i.e. 12.8 %. The highest content of net muscle protein among the samples of Špekáčky (Sausages) was determined in the sample from the company marked as B, i.e. 11.8 %.

The highest content of net muscle protein among the samples of Liptovská saláma (Liptov salami) was detected in the sample of Liptovská saláma- TSG (Liptov salami- TSG) from the company marked as C II., i.e. at the level of 9.9%. The highest content of total protein among the samples of Lovecká saláma was found in the sample of Lovecká saláma C II., (Hunter's Salami C II.) i.e. 22.0%. The highest content of net muscle protein (20.8%) in this type of samples was detected in the sample of Lovecký salám (Hunter's Salami) from the company marked as H (Czech Republic).

Summary

To sum up it is important to emphasize that the proteins represent an indispensable part of human nutrition. Since the human organism is able to create only limited supplies of proteins it is necessary to receive them in food on a daily basis.

Regarding the structure and content, meat proteins are similar to human protein which makes them a very interesting subject matter within the human nutrition.

From the point of meat products quality view it is important to constantly monitor their content and quality.

Literature

1. COMMISSION REGULATION (EU) No 158/2011 of 21. February 2011 entering a name in the register of traditional specialities guaranteed (Špekáčky/Špekačky (TSG)).
2. COMMISSION REGULATION (EU) No 159/2011 of 21 February 2011 entering a name in the register of traditional specialities guaranteed (Spišské párky (TSG)).
3. COMMISSION REGULATION (EU) No 160/2011 of 21 February 2011 a name in the register of traditional specialities guaranteed (Lovecký salám/Lovecká saláma (TSG)).
4. COMMISSION REGULATION (EU) No 161/2011 of 21 February 2011 a name in the register of traditional specialities guaranteed (Liptovská saláma/Liptovský salám (TSG)).
5. Guidance Manual. Tecator AB Company. Höganäs, 2000. 218-276.
6. ISO 3496. 2003. Determination of Hydroxyproline content. 1-4.
7. Official publication - Decree of the Ministry of Agriculture of the Slovak Republic and the Ministry of Health of the Slovak Republic of 18 August 2005 No. 1895/2004 – 100), which is issued in accordance to the section Food Code of the Slovak Republic Providing for Meat Products. 218-276.

¹Uniwersytet Rolniczy w Krakowie, Wydział Technologii Żywności,

²Przedsiębiorstwo Wielobranżowe LASKOPOL Sp.j., 34-600 Limanowa, ul. Tarnowska 8C

³Przedsiębiorstwo przemysłu Mięsnego „Taurus” Sp. z o.o. 39-220 Pilzno, ul. Legionów 58

⁴Polskie Stowarzyszenie Producentów Wyrobow Wędzonych Tradycyjnie

WĘDLINY WĘDZONE TRADYCYJNIE – ZAWARTOŚĆ WIELOPIERŚCIENIOWYCH WĘGLOWODORÓW AROMATYCZNYCH (WWA)

Wędzenie żywności to jedna z najstarszych metod jej konserwacji. Od chwili, kiedy człowiek ujarzmił ogień i nauczył się nim posługiwać stosuje tę metodę do utrwalania i konserwowania mięsa i wędlin, ryb, sera i niektórych owoców. Historia stosowania tej metody jest ściśle związana z historią człowieka. W mitach greckich spotykamy historię Prometeusza, który bogom Olimpu w kawałku drewna wykrał ogień dla ludzi i nauczył ich piec, gotować i wędzić na ogniu [Parandowski, 2006]. Na stokach świętej Góry Karmel (obecnie północny Izrael) znaleziono ślady osadnictwa dużo wcześniejszego, niż nasza cywilizacja bo sprzed 250 000 lat). Znalezione ślady wskazują, że ludzie polowali na dużą zwierzynę, a zdobyte w ten sposób mięso obrabiali termicznie, wybierając tylko najsmaczniejsze kęski. W Nowym Testamencie, w Ewangelii wg św. Jana czytamy „A kiedy zeszli na ląd, ujrzeni żarzące się na ziemi węgle, a na nich ułożoną rybę oraz chleb” (J.21.9). Jest to przykład wędzenia i pieczenia bezpośrednio nad ogniem. W Krakowie, na Zwierzyńcu znaleziono fragment obozowiska człowieka z okresu neolit a w nim piec ziemny zawierający węgiel drzewny do wędzenia upolowanych zwierząt. Mieszkańcy Starożytnego Rzym wędzenie zapożyczyli od mieszkańców Europy Północnej i Środkowej. W „Historii naturalnej i moralnej jedzenia” czytamy, że wędliny były znane w Rzymie i Galii od 2 tys. lat [Toussaint-Samat, 2002].

Wędzenie jest procesem wysycenia składnikami dymu wędzarniczego surowców żywnościowych poddanych uprzednio solankowaniu lub soleniu oraz obsuszeniu lub podsuszaniu. Wysycenie składnikami dymu odbywa się metodą dyfuzji z mieszaniny dymno-powietrznej lub z naniesionej warstwy ciekłej („bejcowanie”) lub dodanie preparatu dymu do rozdrobnionego surowca. Synergiczne działanie dymu, temperatury, soli kuchennej i innych substancji chemicznych nadaje charakterystyczny, pożądany zapach i smak wędzonemu produktowi. Obsuszenie, zwłaszcza powierzchniowe produktu zwiększa wartość pokarmową i trwałość produktów wędzonych, a nasycenie składnikami dymu wędzarniczego o działaniu bakterio- i grzybobójczym, przedłuża trwałość produktów. Odwodnienie surowca, a tym samym zmniejszenie aktywności wody powoduje zwiększenie trwałości produktu, gdyż uniemożliwia rozwój bakterii

i unieczynnia enzymy. Denaturacja białek pod wpływem temperatury przygotowuje i uatrakcyjnia produkt do spożycia. Wyróżnia się kilka sposobów wędzenia:

1. Wędzenie w środowisku powietrza i dymu,
 - konwencjonalne (zwykłe) – w obojętnym środowisku powietrza i dymu,
 - elektrostatyczne – w polu elektrycznym wysokiego napięcia.
2. Wędzenie w roztworach (preparatach) dymu wędzarniczego [Kołakowski, 2012].

Wędzenie w środowisku powietrza i dymu obejmuje również wędzenie tradycyjne prowadzone w tradycyjnych wędzarniach komorowych, w których źródłem dymu i ciepła jest spalanie kawałków twardego drewna z drzew liściastych o odpowiedniej wilgotności, w palenisku umieszczonym w obrębie komory, nad którym lub w pewnej odległości od niego, na drążkach znajduje się produkt podany obróbce cieplnej.

Wędzenie w środowisku powietrza i dymu może być wędzeniem: na zimno 16–22°C, ciepło 22–40°C, na gorąco: 40–90°C i wędzeniem na gorąco z pieczeniem. W warunkach przemysłowych dym wędzarniczy generowany jest w procesie: żarzenia, tarcia, działania parą wodną, fluidalnej pirolizy trocin i/lub zrębków drewna [Pisula i Pospiech, 2011]. Kiedy w roku 1866 Friedrich August Kekulé von Stradonitz rozwiązał strukturę benzenu, stało się to podstawą opisu budowy i właściwości ważnej i licznej grupy związków organicznych, jakimi są związki aromatyczne, a szczególnie wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne (WWA). To setki związków organicznych, występujących w przyrodzie, z których część może występować w żywności. Są stałymi zanieczyszczeniami środowiska, które powstają w procesie niecałkowitego spalania węglowodorów np. pożarach lasów i wybuchach wulkanów, spalaniu odpadów, ale również przy paleniu papierosów, produkcji asfaltu. Związki te są efektem działalności przemysłowej człowieka, wydzielają się przy spalaniu drewna a więc również w trakcie wędzenia. Europejski Rejestr Uwalniania i Transferu Zanieczyszczeń na podstawie danych zebranych w 2011 roku wśród państw członkowskich Unii Europejskiej oszacował emisję benzo(a)pirenu (BaP) do atmosfery na poziomie 222 ton, wskazując jako największe źródło emisji przemysł produkcji pulpy drzewnej i innych materiałów włóknistych oraz elektrociepłownie i inne instalacje do spalania paliw, na które przypada niemal 70% emisji do atmosfery [za Kiljanek i in., 2014]. Cząsteczki WWA od chwili emisji podlegają wielu reakcjom osadzając się w glebie i na roślinach, rozpuszczając w wodzie. Tą drogą trafiają do organizmów zwierząt i ludzi. W badaniach na zwierzętach okazało się, że WWA mogą uszkadzać genom i powodować nowotworzenie. Cechą charakterystyczną niektórych WWA jest występowanie w ich cząsteczkach obszarów zwiększonej gęstości elektronowej, tzw. „bay region”, co umożliwia tworzenie się adduktów z DNA żywych organizmów, a to bardzo negatywnie wpływa na replikację komórek organizmu poddanego działaniu

tych związków. Konsekwencją tego jest to długofalowe działanie kancerogenne. Lista WWA obejmuje kilkaset związków, ale najważniejsze z nich to: naftalen, antracen, fenantren, chryzen, naftacen, pentacen, piren, benzo(a)piren, heksacen [Kubiak, 2013]. Do żywności związki te mogą przenikać drogą pośrednią lub bezpośrednią. Droga pośrednia to pobieranie tych związków przez rośliny z gleby oraz adsorpcja WWA na roślinach w wyniku opadu z powietrza wraz z pyłem i deszczem. Droga bezpośrednia to wędzenie, suszenia zbóż w suszarniach ogrzewanych pochodnymi ropy naftowej lub skażenie WWA dodatków do żywności. Badania nad szkodliwością WWA spowodowały, że w 2002 roku Komitet Naukowy ds. Żywności (*Scientific Committee on Food*) przy Komisji Europejskiej uznał, że 15 związków z grupy WWA może być uważanych potencjalnie za genotoksyczne i rakotwórcze dla ludzi. W roku 2005 Wspólny Komitet Ekspertów FAO/WHO ds. Dodatków do Żywności (*Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives*) uznał, że 13 związków spośród 15 wskazanych poprzednio przez SCF ma działanie genotoksyczne i rakotwórcze. Pojawiło się Rozporządzenie nr 208/2005 zmieniające rozporządzenie nr 466/2001 i wprowadzające maksymalny limit (ML) zawartości benzo(a)pirenu w żywności – w mięsie i produktach mięsnych wędzonych, mięsie ryb wędzonych i produktach rybołówstwa wędzonych (ML = 5,0 µg/kg) oraz mięsie ryb niewędzonych (ML = 2,0 µg/kg). Odpowiadając na zalecenie nr 2005/108/WE w sprawie dalszego badania poziomów 15 WWA 18 państw członkowskich przekazało około 10 000 wyników analiz WWA. Polska nie przekazała żadnego wyniku, chociaż w naszym kraju wędzenie metodami tradycyjnymi jest najbardziej rozpowszechnione. Opracowanie wyników powierzono Europejskiemu Urzędowi ds. Bezpieczeństwa Żywności (EFSA - *European Food Safety Authority*), który stwierdził, że jest możliwe zaostrenie obowiązujących limitów. W Rozporządzeniu nr 1881/2006 zastępującym rozporządzenie nr 466/2001, ML dla benzo(a)pirenu nie uległ zmianie, na kwiecień 2007 r. ustalono termin zakończenia przeglądu wartości ML oraz ustalono, że w związku z brakiem progowej dawki dla substancji genotoksycznych poziom WWA w żywności powinien być określony na najniższym rozsądnie osiągalnym poziomie – zasada ALARA. Zasada ALARA (As Low As Reasonably Achievable) - odnosi się do stosowania substancji oraz czynników szkodliwych w medycynie. Mówi o tym, że trzeba je wykorzystywać w dawce możliwie najniższej, niezbędnej do uzyskania zamierzonego efektu. Na skutek stanowiska EFSA, że możliwe jest zaostrenie obowiązujących limitów dotyczących WWA wydano:

- Rozporządzenie Komisji (UE) nr 835/2011 z 19 sierpnia 2011 r, zmieniające rozporządzenie (WE) nr 1881/2006 odnośnie do najwyższych dopuszczalnych poziomów wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych w środkach spożywczych

- Rozporządzenie Komisji (UE) nr 836/2011 z dnia 19 sierpnia 2011 r. zmieniające rozporządzenie Komisji (WE) nr 333/2007 ustanawiające metody pobierania próbek i metody analiz do celów urzędowej kontroli poziomów ołowiu, kadmu, rtęci, cyny nieorganicznej, 3-MCPD i benzo(a)pirenu w środkach spożywczych
- Rozporządzenie wykonawcze komisji (UE) NR 1321/2013 z dnia 10 grudnia 2013r. - ustanawiające unijny wykaz dozwolonych produktów początkowych dla środków aromatyzujących dymu wędzarniczego przeznaczonych do użycia w takiej postaci w środkach spożywczych lub na ich powierzchni lub do produkcji pochodnych środków aromatyzujących dymu wędzarniczego

Rozporządzenie nr 835/2011, zmieniające Rozporządzenie nr 1881/2006, wprowadziło obowiązujące od 1 września 2012 r. limity dla benzo(a)pirenu oraz sumy 4 WWA w wysokości odpowiednio 5,0 µg/kg oraz 30,0 µg/kg dla mięsa wędzonego i produktów mięsnych wędzonych oraz dla ryb wędzonych i produktów rybołówstwa wędzonych (z wyjątkami), które po dwóch latach czyli od 1 września 2014 roku zostaną obniżone do odpowiednio 2,0 µg/kg oraz 12,0 µg/kg. Zaostrzenie norm wydaje się uzasadnione, ale jeżeli w całej sprawie z benzo(a)pirenem i WWA chodzi o zdrowie konsumentów to dlaczego:

- ziarno kakaowe i produkty pochodne (czekolada) mają złagodzoną normę (5,0 µgBaP/kg i 30 µg WWA/kg) (dzieci piją więcej kakao i jedzą więcej czekolady niż wędlin wędzonych tradycyjnie). Żadnym usprawiedliwieniem jest stwierdzenie w Rozporządzeniu Komisji nr 835/2011 L215/5 (17) „Wynika to głównie z nieodpowiedniego procesu suszenia ziarna kakaowego...”.

- szproty wędzone i szproty wędzone w konserwie mają złagodzoną normę (5,0 µgBaP/kg i 30µg WWA/kg) a polski karp będzie miał zaostrzoną - (9 Łotyszy w Parlamencie Europejskim było bardziej czujnych i przekonywujących niż 51 Polaków). Małże wędzone – złagodzona norma (6 µgBaP/kg i 35 µg WWA/kg). Olej kokosowy – norma złagodzona (20 µg WWA/kg) a polski olej rzepakowy zaostrzona (10 µg WWA/kg). Ponadto jeden papieros to 0,16 µg benzo(a)pirenu, czyli wypalenie paczki papierosów wprowadza do organizmu 3,2 µg benzo(a)piranu. Paczka papierosów i 1 kg kiełbasy wędzonej tradycyjnie dziennie? Ponadto badania prowadzone w UWM w Olsztynie [Wieczorek i Wieczorek, 2011] wykazały, że 52.9% sumarycznego dziennego pobrania z żywnością WWA pochodzi z dziennej porcji produktów zbożowych, 13,4% z mięsa i jego przetworów, 8,7% z tłuszczów (głównie roślinnych), 8,5% z mleka i produktów mlecznych, 6,6% z warzyw (szczególnie liściowych), 4,2% z ziemniakami i poniżej 4% z owocami.

Na etapie rozpoczęcia konsultacji dotyczących WWA, czyli od 2005 zabrakło merytorycznej dyskusji dotyczącej wędzenia metodą tradycyjną w której trudno

dotrzymać nowych zaostrzonych norm WWA. Konsultacje prowadzone były między innymi z Radą Gospodarki Żywnościowej do której należą między innymi takie organizacje branżowe jak Polskie Mięso, Zrzeszenie Rzeźników i Wędliniarzy RP, czy Unia Producentów i Pracodawców Przemysłu Mięsnego – organizacje zrzeszające dużych producentów wędlin, którzy wędzą w komorach wędzarniczo-parzelniczych, stosując aromaty dymne, czy preparaty dymu wędzarniczego. Mali producenci, wędzący tradycyjnie do tych organizacji nie należą. Polska Izba Produktu Regionalnego i Lokalnego (do której należą między innymi producenci wędzący tradycyjnie) należy do Rady Gospodarki Żywnościowej i opiniuje propozycje ministerialne dotyczące żywności dopiero od roku 2011. W tym czasie zapomniano już o konsultacjach a 19 sierpnia 2011 zostało ogłoszone Rozporządzenie Komisji (UE) nr 835/2011. Pod koniec 2013 roku pojawił się problem z wędlinami dzięki dziennikarzom, bo pojawiły się pierwsze artykuły „Unia Europejska zakazuje naturalnego wędzenia wędlin”. Polscy urzędnicy rządowi zareagowali oburzeniem, że UE nie zakazuje, tylko w trosce o zdrowie zaostri normy bo „Zdrowie jest najważniejsze”. Pojawiły się stwierdzenia, że *„Przyczyną przekroczenia norm jest zazwyczaj wędzenie mięsa bezpośrednio nad paleniskiem, co jest zabronione”*. Na Podkarpaciu, w Małopolsce, na Śląsku tak się wędziło i tak się wędzi, a z danych Ministerstwa Zdrowia wynika, że te województwa nie są liderami występowania chorób wywoływanych przez WWA. Dodatkowo polski Minister Rolnictwa zgłaszając kielbasę lisecką jako ChOG napisał *„...Spalanie drewna odbywa się w komorze wędzarniczej bezpośrednio pod drążkami z kielbasą...”* i KE w Rozporządzeniu nr 510/2006 to zalegalizowała. Wobec takiego stanowiska władz przedstawiciele ponad 120 zakładów z terenu Podkarpacia, Małopolski, Świętokrzyskiego, Warmińsko-Mazurskiego założyli Polskie Stowarzyszenie Producentów Wyrobów Wędzonych Tradycyjnie, którego celem jest obrona wyrobów wędzonych tradycyjnie (wędlin, ryb, serów wędzonych, śliwek). Czym jest wędzenie tradycyjne?

Wędzenie tradycyjne to proces prowadzony zgodnie z kunsztem i wiedzą lokalnych producentów, na który składa się osuszanie, wędzenie dymem zimnym, ciepłym, gorącym oraz wędzenie z pieczeniem, na bledo lub ciemno, brązowo, wiśniowo itp. w zależności od wielowiekowej, lokalnej tradycji, prowadzony w tradycyjnych wędzarniach komorowych, w których źródłem dymu i ciepła jest spalanie kawałków twardego drewna z drzew liściastych o odpowiedniej wilgotności, w palenisku umieszczonym w obrębie komory, nad którym lub w pewnej odległości od niego znajduje się produkt podany obróbce cieplej na drążkach lub laskach – (definicja własna autorów opracowania).

Na podstawie badań właścicielskich i badań własnych prowadzonych w Katedrze Przetwórstwa Produktów Zwierzęcych Uniwersytetu Rolniczego w Krakowie

należy stwierdzić, że efekt końcowy wędzenia tradycyjnego, a więc i poziom WWA w produkcie końcowym zależy od wielu czynników, wśród których za najważniejsze należy uznać:

- surowiec - zarówno badania własne jak i innych autorów wskazują, że w surowym, świeżym mięsie, pochodzącym od zwierząt rzeźnych stwierdzono od 0 do 0,8-0,9 μg BaP/kg. Jest to efekt skażenia gleby, powietrza, wody, kumulowania się WWA w roślinach stanowiących paszę dla zwierząt i odkładania się tych związków w mięśniach
- rodzaj surowca i jego otluszczenie – w wędlinach drobiowych stwierdzano niższą zawartość BaP (0,9 $\mu\text{g}/\text{kg}$) natomiast suma WWA dochodziła do 35 $\mu\text{g}/\text{kg}$. W wędlinach wieprzowych zawartość BaP i suma WWA była wyższa niż w drobiowych
- rodzaj wędliny - rodzaj kielbasy, jej grubość i skład surowcowy decydowały o zawartościach zarówno BaP jak i sumy WWA⁴. Najtrudniejszą kielbasą pod tym względem jest kabanos. Duża powierzchnia chłonna przy małej masie i cienkim przekroju sprawia, że zawartość BaP wahała się od 0,9 (drobiowy) do 9,1 $\mu\text{g}/\text{kg}$), natomiast suma WWA dochodziła do 70 $\mu\text{g}/\text{kg}$. W przypadku kabanosa drobiowego zawartość BaP (0,9 $\mu\text{g}/\text{kg}$) spełniała „nową normę”, jednak suma WWA wynosiła 45 $\mu\text{g}/\text{kg}$. Jedynie delikatne podwędzenie a następnie pieczenie pozwala obniżyć zawartość tych związków
- przyprawy i dodatki funkcjonalne – jakość przypraw, metoda ich suszenia (producent), jakość dodawanego białka sojowego lub błonnika roślinnego uzależniona jest od jakości surowca. Według Kubiaka [2013] coraz częstsze używanie dodatków wędzarniczych do poprawy jakości i właściwości organoleptycznych produktu stało się znaczącym źródłem WWA w wędlinach
- rodzaj stosowanej osłonki – osłonki naturalne (jelita wieprzowe, jagnięce czy wołowe) nie stanowią bariery dla WWA w trakcie wędzenia tradycyjnego. Ponadto w trakcie oznaczania zawartości WWA kielbasa jest rozdrabniana wraz z osłonką, która traktowana jest jako osłonka jadalna. Zastosowanie kolagenowej osłonki białkowej FABIOS do tej samej kielbasy ograniczyło zawartość WWA w produkcie, natomiast kolagenowe osłonki białkowe FABIOS z bogatym nadrukiem pozwoliły osiągnąć zawartość BaP poniżej 0,9 $\mu\text{g}/\text{kg}$ a sumę WWA na poziomie 8 $\mu\text{g}/\text{kg}$. W trakcie oznaczania zawartości WWA kielbasa jest rozdrabniana bez kolagenowej osłonki białkowej. Nadruk na kolagenowej osłonce białkowej sprawia, że osłonka taka zachowuje się jak osłonka barierowa
- rodzaj obróbki cieplnej – jest powiązany z temperaturą wędzenia. Lekkie wędzenie tzw. muśnięcie dymem i pieczenie w temperaturze do 85°C ogranicza poziom WWA, tak, że produkt spełnia „nową normę”. Szczególnie polecamy

tą metodę do wędzenia wędlin o większej zawartości tłuszczu np. boczków, balerony czy kiełbasy

- temperatura wędzenia - generalnie im wyższa temperatura wędzenia tym więcej WWA w produkcie końcowym. Przy wędzeniu na zimno i ciepło obserwowano niższe zawartości BaP do 1,7 $\mu\text{g}/\text{kg}$. Wędzenie na blado sprawiło, że produkt stracił na atrakcyjności u konsumentów. Konsument w Małopolsce i na Podkarpaciu przyzwyczajony jest do wędlin wędzonych na ciemno, brązowo, wiśniowo w zależności od wielowiekowej, lokalnej tradycji a produktu wędzone na blado traktuje jako niedowędzone „umęczone”
- stopień obsuszenia – proces osadzania wędliny na celu wyrównanie smaku i barwy w całym batonie jak również obsuszenie powierzchni. W badaniach własnych kiełbasy i wędzonki poddane wędzeniu bez osuszenia powierzchni kumulowały na powierzchni więcej substancji smolistych (do 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ BaP i 85 $\mu\text{g}/\text{kg}$ sumy WWA), podczas gdy przeprowadzenie procesu osuszania w temperaturze do 80°C przez około 90 minut tego samego produktu pozwoliło uzyskać wyniki spełniające dotychczasową normę (1,8 $\mu\text{g}/\text{kg}$ BaP i 21 $\mu\text{g}/\text{kg}$ sumy WWA). Mokra powierzchnia osłonki lub mokra powierzchnia wędzonki osadza więcej składników dymu, szczególnie dymu gęstego
- konstrukcja i rodzaj wędzarni – tak często podnoszony przez ekspertów problem nowych konstrukcji wędzarni, odsuwania paleniska lub zastosowania metod alternatywnych jest próbą zniszczenia lokalnej tradycji i wyeliminowaniem produktów wędzonych tradycyjnie na danym terenie. Sugerowanie wędzenia w komorach wędzarniczo-parzelniczych lub stosowania preparatów dymu wędzarniczego są próbą zniszczenia tradycyjnego wędzenia, pomimo tego, że idea tzw. Małych Ojczyzn i zachowania lokalnego dziedzictwa lansowana przez Unię Europejską sugerują zachowanie tradycyjnych metod wędzenia w tradycyjnych wędzarniach. Odsunięcie paleniska to preferowanie wędzenia na zimno lub ciepło. Sugerowanie, że małopolskie i podkarpackie wędliny „ociekają smołą” oraz spalonym tłuszczem, który wyciekł na palenisko świadczy o złej woli. Żaden szanujący się wędzarczyk i właściciel masarni nie pozwoli sobie na ubytki surowca (wyciek tłuszczu), gdyż taka wędlina straci swoją soczystość, smak – podstawowe cechy sensoryczne i będzie źle przyjęta przez konsumenta. Intensywne obsuszanie produktu w temperaturze do 60-80°C a następnie wędzenie i pieczenie w temperaturze do 75-80°C mają na celu „zamknięcie produktu” i uniemożliwienie wycieku tłuszczu. Wędzenie bezpośrednio nad paleniskiem a więc umieszczonym w obrębie komory, nad którym lub w pewnej odległości od niego znajduje się produkt podany obróbce cieplnej na drążkach

(wędliny) lub laskach (suska sechłońska) to tradycyjne wędzenie Małopolski i Podkarpacia

- drewno do wędzenia - rodzaje, twardość, wilgotność. Najlepszy efekt wędzenia daje drewno drzew owocowych pochodzące z wycinki starych drzew lub corocznego podcinania drzew owocujących a szczególnie śliwy, wiśni, czereśni, moreli, jabłoni ponieważ drewno tych drzew jest bogate w hemicelulozę. Najwięcej hemicelulozy zawierają: morela (do 40%), jabłoni (około 37%) i grusza (około 32%), podczas gdy zawartość hemicelulozy w drewnie niesadowniczych drzew liściastych wynosi 25-30%. Zdecydowanie powinno unikać się wędzenia drewnem orzecha włoskiego, ze względu na końcowy gorzki smak wędliny. Rodzaj drewna to również kolor produktu wędzonego. Dym z drewna bukowego, klonowego, jesionowego i lipowego nadaje produktom wędzonym barwę złocistobrazową, złocistożółtą, natomiast dym z drewna gruszy i jabłoni barwę czerwoną do ciemnobrazowej. Drewno dębu nadaje produktom zabarwienie od ciemnożółtego do brązowego. W Polsce największe zastosowanie do wędzenia ma olcha, nadaje produktom barwę od cytrynowej do brązowej w zależności od stężenia dymu. Ponadto przy niewłaściwych parametrach wilgotności mocno smoli produkt. Olcha jest drewnem tanim i wydajnym, ponadto zawiera mało garbników (3-5%), dzięki czemu produkt tak wędzony nie wykazuje goryczki. Zalecanie stosowania drewna twardego ma swoje uzasadnienie, gdyż podczas procesu pirolizy drewna twardego powstaje 1,5-4,5-krotnie mniej benzopirenu niż w przypadku drewna miękkiego (jodła, sosna) [Kowalski i Pyrcz, 2006]. Drewno twarde, o zwartej strukturze pali się wolniej „krótszym” płomieniem i powstające związki lotne nie są tak bardzo narażone na utlenianie się do dwutlenku węgla, jak w przypadku drewna miękkiego. Do wędzenia powinno wykorzystywać się drewno o twardości > 40 MPa i masie właściwej powyżej $0,500 \text{ g/cm}^3$, z drzew liściastych, takich jak: grab, buk, jesion, klon, wiąz, dąb, akacja, grusza, gdyż wraz ze zwiększeniem się twardości i gęstości drewna zwiększa się wydajność otrzymywanych z niego składników dymu. Kontrowersyjne może wydawać się stosowanie drewna dębowego, ze względu na wysoką zawartość garbników do 4-10% w drewnie, 5-17% w korze i 20-45% w liściach [Surmiński, 2000]. Nie każdy konsument, szczególnie w Małopolsce toleruje gorzki, „dębowy” smak wędlin. Drewno użyte do wędzenia powinno być powietrznie suche, czyli jego wilgotność powinna się wynosić 15-20%. Należy unikać stosowania drewna mokrego (powyżej 30%) i suchego (poniżej 10% wody). Nie wolno stosować drewna zagrzybionego (ze zmianami zabarwienia, sinizną), drewna z procesami gnilnymi, drewna śliw porażonych tzw. ospowatością śliw (szarka)

oraz czereśni porażonych gumożą. Nie można używać drzewa z rozbiórki starych domów.

- Sposób generowania dymu. Tradycyjny sposób wędzenia uzależniony jest od warunków atmosferycznych. Wilgotność, ruch i temperatura powietrza na zewnątrz wędzarni wpływają na proces wędzenia, gdyż wpływają na temperaturę spalania drewna. Zastosowanie komór wędzarniczo-parzelniczych z dymogeneratorami rozwiązuje problem utrzymania pożądanej temperatury spalania, natomiast proces wędzenia tradycyjnego zależy od umiejętności i doświadczenia wędzarsza.
- Temperatura spalania drewna. Wykrywalne ilości WWA obserwuje się już w temperaturze powyżej 400°C, jednak benzo(a)piren pojawia się wyraźnie dopiero w temperaturze powyżej 500°C [McGrath, 2003], a najwięcej wytwarza się go w temperaturze 800-900°C. Produkt uwędzony w dymie powstałym w wysokiej temperaturze jest niebezpieczny dla zdrowia, gdyż zawiera więcej WWA, ale produkt taki jest mało aromatyczny. Maksymalna temperatura spalania drewna (pirolizy) nie powinna przekraczać 425-450°C [Kowalski i Pyrcz, 2006]. Ponadto dym otrzymany przy małym dopływie powietrza zawiera mniej benzo(a)pirenu, niż dym otrzymany przy pełnym dopływie powietrza. Dlatego ważną rzeczą jest instalowanie zasuw regulujących dopływ powietrza do wędzarni i odprowadzania dymu. Szybkość odprowadzania lotnych związków ze strefy spalania decyduje o ilości WWA w wędzonym produkcie. Dym powstały w niskiej temperaturze spalania (pirolizy) drewna zawiera dużo kwasów i mało związków fenolowych. Wędliny tak wędzone charakteryzują się kwaskowatym zapachem i luźną, gorszą teksturą mięsa.
- Sposób pobrania próby do analiz. Pobrana do oznaczeń próba wędzonego produktu powinna być reprezentatywna i jednorodna. Próby wędliny (szczególnie kiełbasy) znajdujące bliżej drążka w trakcie wędzenia (kiełbasa leżąca na drążku) charakteryzowały się niższą zawartością BaP i sumy WWA w porównaniu z próbą pobraną z najniżej leżącego końca wędliny. Szczególnie dotyczy to kiełbas, gdyż tłuszcz osadza się w najniższych partiach produktu. Metody (wielkość) pobierania próbek oraz metody analiz do celów urzędowej kontroli poziomów ołowiu, kadmu, rtęci, cyny nieorganicznej, 3-MCPD i benzo(a)pirenu w środkach spożywczych reguluje Rozporządzenie Komisji (UE) nr 836/2011 z dnia 19 sierpnia 2011 r. zmieniające rozporządzenie Komisji (WE) nr 333/2007
- Metody oznaczeń. Laboratoria akredytowane oznaczające wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne w żywności pochodzenia zwierzęcego stosują różne metody: chromatografię gazową ze spektrometrią mas (PIW Puławy)

lub wysokosprawną chromatografia cieczowa HPLC. Pomimo walidacji metody są nieporównywalne. W ramach badań właścicielskich, które obowiązkowo muszą prowadzić producenci, wysłaliśmy wędliny tego samego producenta, z tego samego drążka wędzarniczego, tak samo wędzone do czterech niezależnych akredytowanych laboratoriów A, B, C i D. Otrzymaliśmy następujące wyniki:

Laboratorium	BaP µg/kg	suma WWA µg/kg
A	<1,6	22,1±7,1
B	2,4±0,2	21,7±3,3
C	3,3±0,6	39,1±9,2
D	5,32±0,8	65,04±13,01

Laboratorium A – produkt spełnia nową zaostrzoną normę dla benzo(a)piranu i „starą normę” dla 4 WWA; laboratorium B - produkt nie spełnia nowej zaostrzonej normy, ale spełnia dotychczasową starą normę; laboratorium C – produkt spełnia starą normę dla benzo(a)piranu nie spełnia żadnej normy dla 4 WWA, laboratorium D – produkt nie spełnia żadnej normy. Los producenta zależy od tego do jakiego laboratorium trafi jego produkt a konsekwencją są kary finansowe a następnie zamknięciem zakładu. Powstrzymamy się od komentarza.

- W przypadku wędzarni tradycyjnych opartych o naturalny przepływ powietrza lub konwekcję, punktem krytycznym w ograniczaniu obecności WWA w gotowym produkcie jest doświadczenie i umiejętność wędzarsza panowania nad warunkami reakcji spalania. Rady ekspertów są cenne, tylko muszą być poparte własnym, doświadczeniem. Tradycyjna wędzarnia i tradycyjne wędzenie to nie skomputeryzowana komora wędzarniczo-parzelnicza.

Propozycja Rozporządzenia zmieniającego Rozporządzenie (EC) nr 1881/2006 ustalające najwyższe dopuszczalne poziomy wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych (WWA) w tradycyjnie wędzonym mięsie i produktach mięsnych i tradycyjnie wędzonych rybach i produktach rybnych (amending Regulation (EC) No 1881/2006 as regards maximum levels of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in traditionally smoked meat and meat products and traditionally smoked fish and fishery products) jest próbą kompromisu. Jednak w dokumencie roboczym będącym propozycją Komisji (EU) jest zdanie „...w tradycyjnie wędzonym mięsie i produktach mięsnych i tradycyjnie wędzonych rybach i produktach rybnych” - ...in traditionally smoked meat and meat products and traditionally smoked fish and fishery products”, a więc dotyczy tradycyjnego wędzenia, a nie produktu tradycyjnego. Pod pojęciem produktu tradycyjnego rozumiany jest produkt, którego jakość lub wyjątkowe cechy i właściwości

wynikają ze stosowania tradycyjnych metod produkcji, za które uważa się metody wykorzystywane co najmniej od 25 lat. Zadaniem Listy Produktów Tradycyjnych nie jest ochrona nazw produktów, ale pogłębienie wiedzy konsumentów na temat dziedzictwa kulinarnego i żywności tradycyjnej. Lista ma na celu zwiększenie zainteresowania konsumenta tymi produktami, co z kolei przekłada się na wzrost sprzedaży tradycyjnego jadła. Dodatkowo LPT stwarza możliwość ubiegania się o udzielenie odstępstw (derogacje) od wymogów produkcyjnych (weterynaryjnych, higienicznych lub sanitarnych), jakie nakładane są np. na duże zakłady wytwórcze. Odstępstwa te nie mogą mieć jednak wpływu na jakość i zdrowotność produktów. W handlu mamy całą serię wędlin tzw. tradycyjnych pod nazwą wiejska, swojska, domowa, tradycyjna, które wędzone są w komorach wędzarniczo-parzelniczych lub przy pomocy preparatów dymu wędzarniczego. To nie są produkty tradycyjne. Z drugiej strony nie wszyscy producenci stosujący tradycyjną metodę wędzenia wpisali swoje produkty na Listę Produktów Tradycyjnych z różnych powodów – chroniąc recepturę swych produktów, z braku czasu, lub braku 25-cio letniego okresu wymaganego przy wpisie produktu. Pojęcia „produkt tradycyjnie wędzony” i „produkt wędzony, tradycyjny” nie są tożsame. Nie wszyscy od których to zależy chcą przyjąć do wiadomości, że oprócz wędzenia przemysłowego w komorach wędzarniczo-parzelniczych i „wędzenia” preparatami dymu wędzarniczego („bejcowanie lub malowanie”) w niektórych rejonach Polski wędzi się jeszcze w sposób tradycyjny.

Literatura

1. Biblia Tysiąclecia - Pismo Święte Starego i Nowego Testamentu. Wydawnictwo Pallottinum w Poznaniu, Poznań 2003.
2. Ciecierska M., Obiedziński M. Zawartość wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych w produktach mięsnych wędzonych oznaczona metodą GC-MS. *Bromat. Chem. Toksykol.*, 2012, XLV, 3, 402-407 .
3. Kiljanek T., Niewiadowska A., Żmudzki J., Semeniuk S. Występowanie wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych w żywności pochodzenia zwierzęcego poddanej procesowi wędzenia – ocena ryzyka. Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy, 2014.
4. Kołakowski E. (red). *Technologia wędzenia żywności*. PWRiL, Warszawa 2012.
5. Kowalski R., Pyrcz J. Wędzenie produktów mięsnych. *Gospodarka Mięсна*, 2006, 6, 10-12.
6. Kubiak M.S. Wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne (WWA) – ich występowanie w środowisku i w żywności. *Probl. Hig. Epidemiol.*, 2013, 94 (1), 31-36.

7. McGrath T.E., Chan G.W., Hajaligol M.R. Low temperature mechanism for the formation of polycyclic aromatic hydrocarbons from the pyrolysis of cellulose. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, 2003, 66, 1-2, 51-70.
8. Parandowski J., *Mitologia. Wierzenia i podania Greków i Rzymian*. Puls Wydawnictwo, Warszawa 2006.
9. Pisula A., Pospiech E., (red.). *Mięso - podstawy nauki i technologii*. Wydawnictwo SGGW, Warszawa 2011.
10. Raporty z badań monitoringowych nad jakością gleb, roślin, produktów rolniczych i spożywczych. MRiRW, GISiPAR, Warszawa, 1995-2003.
11. Rozporządzenie Komisji (WE) nr 466/2001 z dnia 8 marca 2001 r. ustalające najwyższe dopuszczalne poziomy dla niektórych zanieczyszczeń w środkach spożywczych.
12. Rozporządzenie Komisji (WE) nr 208/2005 z dnia 4 lutego 2005 r. zmieniające rozporządzenie (WE) nr 466/2001 w odniesieniu do wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych.
13. Rozporządzenie Komisji (WE) nr 1881/2006 z dnia 19 grudnia 2006 r. ustalające najwyższe dopuszczalne poziomy niektórych zanieczyszczeń w środkach spożywczych.
14. Rozporządzenie Komisji (UE) nr 835/2011 z dnia 19 sierpnia 2011 r. zmieniające rozporządzenie (WE) nr 1881/2006 odnośnie do najwyższych dopuszczalnych poziomów wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych w środkach spożywczych.
15. Rozporządzenie Komisji (UE) NR 836/2011 z dnia 19 sierpnia 2011 r. zmieniające rozporządzenie Komisji (WE) nr 333/2007 ustanawiające metody pobierania próbek i metody analiz do celów urzędowej kontroli poziomów ołowiu, kadmu, rtęci, cyny nieorganicznej, 3-MCPD i benzo[a]pirenu w środkach spożywczych.
16. Sinha R., Kulldorff M., Gunter M.J., Strickland P., Rothman N. Dietary benzo[a]pyrene intake and risk of colorectal adenoma. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.*, 2005, 14(8), 2030-2034.
17. Surmiński J., *Zarys chemii drewna*, AR, Poznań 2000, 2006.
18. Toussaint-Samat M. *Historia naturalna i moralna jedzenia*. W.A.B., 2002.
19. WHO/IPCS (World Health Organization – International Programme on Chemical Safety). Selected non-heterocyclic polycyclic aromatic hydrocarbons. *Environmental Health Criteria 202*. WHO, Geneva, Switzerland 1998.
20. Wieczorek J., Wieczorek Z. Pobranie wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych z żywnością. *Bromat. Chem. Toksykol.*, 2011, 3, 725-731.
21. Wilczyński G. Wielopierścieniowe Węglowodory Aromatyczne (WWA) jako szczególna grupa związków - budowa, właściwości, zagrożenia.

<http://wsse.krakow.pl/strona2/index.php/publikacje>

22. Zalecenie Komisji z dnia 4 lutego 2005 r. w sprawie dalszego badania poziomów wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych w niektórych środkach spożywczych (2005/108/WE).

OCENA JAKOŚCI DWÓCH POPULARNYCH RODZAJÓW KIEŁBAS W ZALEŻNOŚCI OD SPOSOBU ICH PAKOWANIA

Streszczenie

Duża popularność spożycia kiełbas wieprzowych, specyfika ich przyprawiania i pakowania oraz występujące wahania jakościowe tych produktów spowodowały podjęcie badań 2 popularnych rodzajów kiełbas średniorozdrobnionych obecnych na rynku w województwach małopolskim i śląskim. Były to kiełbasy podwawelska i śląska pakowane w MAP oraz dystrybuowane luzem w kontenerach zbiorczych. Próby do badań pobrano z magazynu produkcyjnego jednego ze śląskich zakładów przetwórczych. Oceniono jakość i bezpieczeństwo spożycia tych kiełbas. Zbadano skład podstawowy, a_w , liczbę kwasową i nadtlenną, TBA; zawartość drobnoustrojów: tlenowych, kwaszących, drożdży i pleśni. Sprawdzono zawartość azotynów (konserwantów). Dokonano instrumentalnej oceny barwy, profilu tekstury i siły cięcia w połączeniu z konsumentką oceną organoleptyczną. Badania przeprowadzono w dniu zakupu oraz w trakcie przechowywania chłodniczego, w 4-6°C, w 7, 14 i 21 dniu przechowywania.

Skład kiełbas był zgodny z wymaganiami. Zawartość białka wahała się od 9,52 do 12,94%, tłuszczu od 23,29 do 26,16%, popiołu od 0,0262 do 0,0362%. Sól w kiełbasie podwawelskiej stanowiła średnio 2,05%, a w śląskiej 1,94. A_w w trakcie przechowywania, w obu kiełbasach wynosiła od 0,940 do 0,923. Wartości dla liczby nadtlennej (sposób opakowania, rodzaj kiełbasy), TBA i liczby kwasowej zmieniały się istotnie w zależności od czasu przechowywania (l. kwasowa), rodzaju kiełbasy (TBA). Zawartość azotynów zmieniała się istotnie, w zależności od rodzaju kiełbasy, sposobu opakowania i czasu.

Popularne kiełbasy spożywane w województwie małopolskim i śląskim były bezpieczne do spożycia do 14 dnia przechowywania chłodniczego (kiełbasy nieopakowane dystrybuowane w kontenerach zbiorczych). Okres trwałości tych samych kiełbas (śląskiej i podwawelskiej) wynosił 21 dni w przypadku pakowania w MAP. W obu produktach stwierdzono sporadyczną obecność drobnoustrojów z rodziny *Enterobacteriaceae*. Konsumenti oceniali kiełbasy jako dobre (3,8-4,5) w trakcie 14 dniowego przechowywania chłodniczego, po tym czasie oceny obniżyły się istotnie, zwłaszcza dla kiełbas nieopakowanych. Wyróżniki barwy w obu kiełbasach zmieniały się podczas

całego okresu przechowywania wysoce istotnie (L, a) lub istotnie (b). Parametry profilu tekstury oraz siła cięcia kiełbas podlegały niewielkim zmianom głównie w obszarze żuźności i sprężystości (zmiany statystycznie istotne dla czasu przechowywania).

Ze względu na trwałość mikrobiologiczną kiełbasy niepakowane mogą być przechowywane i spożywane przez 14 dni, a kiełbasy pakowane przez 21 dni czyli trwałość zadeklarowana przez producenta powinna być obniżona, w obu przypadkach o 1 tydzień (7 dni).

Słowa kluczowe: kiełbasa podwawelska, kiełbasa śląska, trwałość, ocena konsumencka

Wstęp

Możemy powtórzyć za Glogerem, który w Encyklopedii Staropolskiej pisał: „Kiełbasa była od czasów najdawniejszych przysmakiem polskim. Częstując gości, od niej rozpoczynano śniadania i obiady”, że nadal ta wędlina króluje na polskim stole [Gloger, 1900]. Kiełbasy są powszechnie spożywane w Polsce, szczególnie popularne są te średniorozdrobnione. Stanowią podstawowe źródło tłuszczów w diecie. Konsumenci nabywają je w sklepach spożywczych: dużych (26,7%), średnich i małych (25,8%) oraz w nowoczesnych obiektach dystrybucyjnych, takich jak: hipermarkety (19,7%), supermarkety (12,4%) oraz sklepy dyskontowe (11,6%) [Górska-Warsewicz, 2005]. Dominującą grupę stanowią kiełbasy wieprzowe, np.: zbójnicka, liseicka, jarmarczna, zwyczajna, toruńska, śląska, podwawelska, wiejska, jałowcowa. Średnia zawartość składników odżywczych dla wyżej wymienionych rodzajów wynosi dla: wody 54,3-68,8%, białka 9,7-21,0%, tłuszczu 7,0-24,9%, NaCl 1,6-2,6%, skrobi 0,4-6,5% oraz kolagenu 1,1-2,3%. Największą zawartością tłuszczu charakteryzuje się kiełbasa jarmarczna – 24,9%, a najmniejszą liseicka – 7,0% [Makała i in., 2008].

Cel pracy

Ze względu na dużą popularność spożycia kiełbas wieprzowych średniorozdrobnionych obecnych na rynku, a także specyfikę ich przyprawiania i pakowania, dostosowaną do upodobań lokalnych, podjęto badania 2 rodzajów kiełbas średniorozdrobnionych obecnych na rynku w województwach małopolskim i śląskim.

Materiał i metody

Materiał do badań stanowiły kiełbasy podwawelska i śląska pakowane w modyfikowanej atmosferze oraz dystrybuowane (do sieci handlowych) luzem w kontenerach zbiorczych. Próby do badań pobrano bezpośrednio z magazynu produkcyjnego jednego ze śląskich zakładów przetwórczych. Badania przeprowadzono

w dniu pobrania oraz w 7, 14 i 21 dniu przechowywania w standardowej lodówce (4-6°C).

Oceniono jakość kielbas oraz ich bezpieczeństwo sanitarno-higieniczne. Przygotowanie średnich prób wykonano zgodnie z normą [PN-ISO 3100-1:1999].

W dniu pobrania zbadano skład podstawowy: zawartość wody/suchej masy metodą suszenia [PN-ISO 1442:2000], zawartość białka metodą Kjeldahla w analizatorze Büchi 323 [PN-A-04018:1975/Az3:2002], zawartość tłuszczu metodą ekstrakcyjno-wagową Soxhleta w aparacie SOXTEC HTZ-2 TECATOR [PN-ISO 1444:2000], zawartość popiołu całkowitego metodą spalania [PN-ISO 936:2000], aktywność wody (LabMaster aw Novasina, Switzerland; odczyt bezpośredni).

Dokonano również instrumentalnej oceny barwy kielbas (Lab, Conica Minolta CM-3500d; odczyt bezpośredni). W dniu zakupu oraz podczas 21 dniowego przechowywania chłodniczego wykonano następujące analizy: zawartość chlorków metodą Mohra [PN-A-82112:1973/Az1:2008], wyróżniki świeżości tłuszczów - liczby: kwasowa (LK) [PN-EN ISO 660:2010], nadtlenkowa (LN) [PN-EN ISO 3960:2012], tiobarbiturowa (TBA) [Pikul i in., 1989]. Sprawdzono zawartość substancji konserwujących – azotynów metodą kolorymetryczną [PN-A-82114:1974, PN-EN 12014-3:2006]. Dokonano także konsumenckiej oceny organoleptycznej, której dokonywał każdorazowo 10-osobowy panel. Ocenę badanych kielbas przeprowadzono metodą pięciopunktową w skali hedonicznej. Ocenę tą prowadzono zgodnie z podanymi normami PN-ISO 6564:999, PN-ISO 11036:1999 oraz zasadami podanymi przez Baryłko-Pikielną i Matuszewską [2009]. Zespół oceniający oceniał kielbasy w skali od 1 do 5, gdzie 1 była oceną najniższą (produkt złej jakości), a 5 była oceną najwyższą. Oceniający dostali do dyspozycji charakterystykę wyróżników oceny sensorycznej średniorozdrobnionych kielbas, a także kartę z przypisanymi współczynnikami ważkości do poszczególnych wyróżników jakościowych

Ze względu na bezpieczeństwo spożycia badanych kielbas i zmian w ilości mikroflory obecnej w tych produktach, jakie mogły nastąpić podczas przechowywania chłodniczego, zbadano zawartość drobnoustrojów tlenowych, kwaszących drożdży i pleśni oraz obecność patogenów (*Escherichia coli*, *Salmonella* sp., *Listeria* sp., gronkowce koagulazo dodatnie) – szczegółowe wyniki tych badań stanowią odrębne opracowanie.

Także rozbudowana analiza profilu tekstury i siły/energii cięcia znalazła się w odrębnej pracy. W niniejszej pracy dołączono do opisu wyników tylko niezbędne dla bezpieczeństwa konsumenta informacje.

Wszystkie badania zostały wykonane w 2 seriach, po co najmniej 3 powtórzenia dla każdego oznaczenia w serii. Dla wyników podstawowego składu chemicznego i aktywności wodnej kielbas obliczono wartości średniej arytmetycznej oraz odchylenia

standardowe. Na podstawie oznaczeń wody/suchej masy wyliczono średnią zawartość węglowodanów. Dla wyróżników świeżości, oceny barwy oraz oceny konsumenckiej dokonano obliczeń średnich, odchyłeń standardowych, a także trójczynnikowej analizy wariancji różnic pomiędzy średnimi, dla poszczególnych typów oznaczeń, stosując jako czynniki zmienności: rodzaj kiełbasy, obecność lub brak opakowania jednostkowego oraz czas przechowywania. Zmienność w obrębie poszczególnych grup średnich analizowano testem *post-hoc* Duncana. Dla wszystkich powyższych obliczeń przyjęto poziomy istotności różnic jako $p < 0,05$ – istotne statystycznie oraz $p < 0,01$ – wysoce istotne statystycznie.

Wyniki i dyskusja

W tabeli 1 przedstawiono skład podstawowy badanych kiełbas.

Tabela 1. Skład podstawowy i niektóre wyróżniki fizyko-chemiczne kiełbas (średnia \pm SD)

Asortyment	Pakowane	Woda [%]	Sucha masa [%]	Białko [%]	Tłuszcz [%]	Popiół [%]	Sól [%]	a_w	Węglowodany [%]
Podwawelska	nie	59,34 \pm 0,42	40,66 \pm 0,42	10,74 \pm 0,66	24,81 \pm 1,00	0,029 \pm 0,00	2,05 \pm 0,00	0,940 \pm 0,00	3,03
Podwawelska	tak	58,98 \pm 0,01	41,03 \pm 0,01	11,96 \pm 1,39	24,74 \pm 0,11	0,032 \pm 0,00	2,07 \pm 0,03	0,937 \pm 0,00	2,23
Śląska	nie	58,13 \pm 0,07	41,87 \pm 0,07	9,68 \pm 0,23	26,05 \pm 0,16	0,027 \pm 0,00	1,93 \pm 0,01	0,941 \pm 0,00	4,183
Śląska	tak	60,58 \pm 0,57	39,42 \pm 0,05	10,42 \pm 0,72	23,08 \pm 0,30	0,028 \pm 0,00	1,95 \pm 0,03	0,937 \pm 0,00	3,942

Według Olszewskiego kiełbasy to: „przetwory mięsne w osłonkach naturalnych lub sztucznych, wyprodukowane z rozdrobnionego tłuszczu i mięsa peklowanego i niepeklowanego, solonego, z dodatkiem lub bez surowców uzupełniających, przyprawione, wędzone lub niewędzone, surowe, dojrzewające, parzone lub pieczone” [Olszewski, 2007].

Zgodnie z wymaganiami ujętymi przez Ministra Zdrowia w normie PN-A-82007:1996 „Przetwory mięsne” zawartość poszczególnych składników w kiełbasie powinna kształtować się na poziomie:

- sól nie więcej niż 3%.
- białko nie mniej niż 13%,
- tłuszcz nie więcej niż 35%,
- woda nie więcej niż 70%,

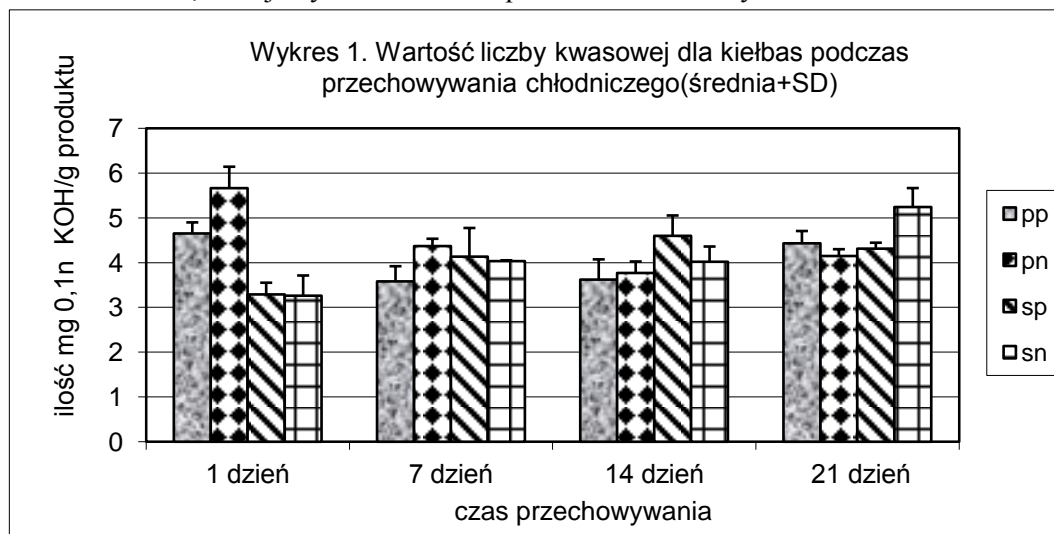
Uzyskane wyniki jednoznacznie wskazują na obniżone poziomy białka w badanych kiełbasach, jednak w danych recepturowych te kiełbasy mają założony poziom minimalny białka na 10%.

W badanych kielbasach stwierdzono dość niską zawartość tłuszczu, co odpowiada współczesnym trendom żywieniowym. Tłuszcz ma istotne znaczenie przy kształtowaniu smakowitości produktu. Należy jednak pamiętać, żeby zachować odpowiednie jego proporcje w gotowym wyrobie. Przy niskiej zawartości soli i tłuszczu smak kielbasy jest zbliżony do produktów tradycyjnych. Zbyt duża ilość tłuszczu nie jest mile widziana wśród współczesnych konsumentów, bowiem coraz częściej przykładają oni wagę do zdrowej żywności [Kowalski i Pyrcz, 2009].

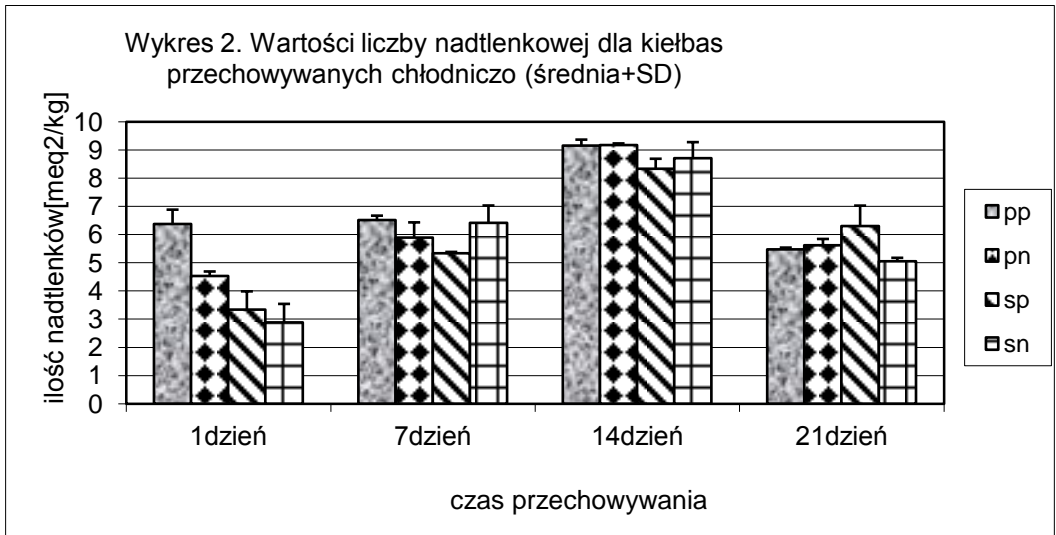
Pozostałe wyniki są zgodne z normami, przy czym warta podkreślenia jest stosunkowo niska aktywność wodna oznaczona w kielbasach bowiem zwykle dla produktów mięsnych niepoduszanych kształtuje się ona na poziomie 0,97-0,98 [Pikul, 1993].

Wyróżniki świeżości kielbas

Stopień zakwaszenia kielbas podczas przechowywania chłodniczego obrazuje liczba kwasowa, której uzyskane wartości przedstawiono na wykresie 1.

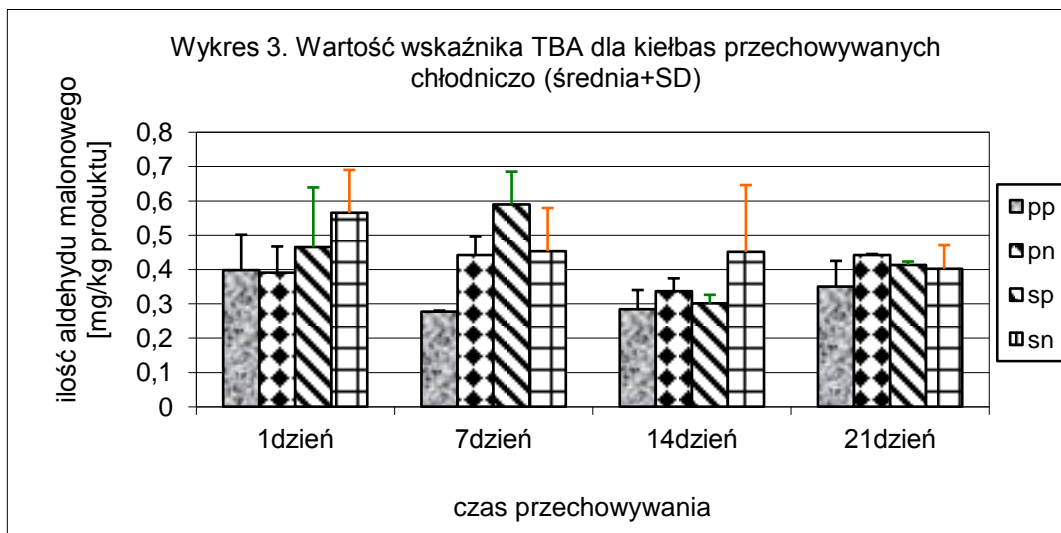


Wszystkie kielbasy, niezależnie od dnia przechowywania chłodniczego i sposobu opakowania, miały podwyższone poziomy zawartości wolnych kwasów (czyli powyżej 2,0 mg KOH/gram produktu). Mogło to wynikać zarówno z początkowych poziomów tych składników w surowcach, ale i także z działalności drobnoustrojów kwaszących, których znaczący wzrost odnotowano w 14 i 21 dniu przechowywania. Zmiany poziomów liczby kwasowej różniły się statystycznie istotnie dla czasu przechowywania. Zmiany w poziomach nadtlenków podczas przechowywania chłodniczego kielbas przedstawiono na wykresie 2.



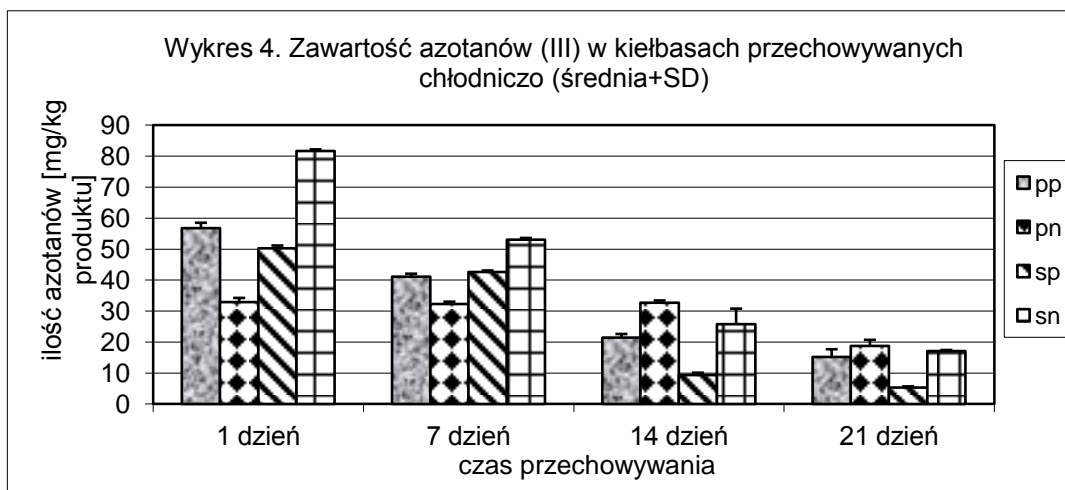
Bardzo istotnym składnikiem żywności są obecne w niej substancje utleniające, zwłaszcza lipidy i tłuszcze mogą zawierać znaczące ilości tych niekorzystnych dla zdrowia człowieka związków [Hęś i Korczak, 2007]. Polska Norma dla świeżego tłuszczu przewiduje maksymalny poziom nadtlenków na 2,7 meq O₂/kg, a dla topionego 3,0 meqO₂/kg [PN-EN ISO 3960:2012]. Można stwierdzić, że za wyjątkiem kiełbasy śląskiej pakowanej i niepakowanej (w 1 dniu badań), wszystkie kiełbasy przekroczyły ww. wartości, przy czym najwyższe poziomy LN odnotowano dla 14 dnia przechowywania chłodniczego, a sposób pakowania i rodzaj kiełbasy były istotnymi czynnikami zmienności.

Kolejnym etapem przemian nadtlenków w psujących się wędlinach jest pojawienie się produktów ich degradacji czyli aldehydów i ketonów. Wykonano zatem test na wskaźnik TBA – zawartość aldehydu malonowego w badanych kiełbasach. Zakres zmian wskaźnika TBA przedstawiono na wykresie 3.



Co ciekawe im więcej pojawiało się nadtlenków w kiełbasach ilości aldehydu malały różniąc się statystycznie od siebie w zależności od rodzaju kiełbasy, ale w żadnym przypadku wartość wskaźnika TBA nie przekroczyła granicznej ilości 1 mg aldehydu malonowego/kg produktu.

Substancje stabilizujące niekorzystne zmiany przechowalnicze w kiełbasach to odpowiednia zawartość konserwantów chemicznych, tj. azotanu(III) sodu oraz soli kuchennej. Sól w całym okresie przechowywania wahała się w kiełbasach na poziomie 1,94% (1,94 – 2,0%; kiełbasa śląska) do 2,05% (1,99 – 2,05%; kiełbasa podwawelska). Zmiany poziomu dodanego konserwantu – azotanu(III) sodu obrazuje wykres 4.



Zawartość azotynów malała istotnie w zależności od rodzaju kiełbasy, sposobu opakowania i czasu przechowywania chłodniczego. Wyjściowy poziom tych związków w kiełbasie śląskiej nieopakowanej był znacząco wyższy od pozostałych jednak, mieścił się w zakresie normatywnym. Rozporządzenie wydane przez Ministra Zdrowia z dnia 23 kwietnia 2004 roku w sprawie dozwolonych substancji dodatkowych mówi, że zawartość wprowadzonego w czasie produkcji azotynu sodu do peklowanego mięsa nie może przekraczać 150 mg/kg, a jego pozostałość po obróbce termicznej mięsa nie może wynosić więcej niż 100 mg na kg gotowego produktu.

Oceny konsumentów dotyczące poszczególnych wyróżników jakościowych kiełbas przechowywanych chłodniczo znajdują się na wykresach 5 – 15.

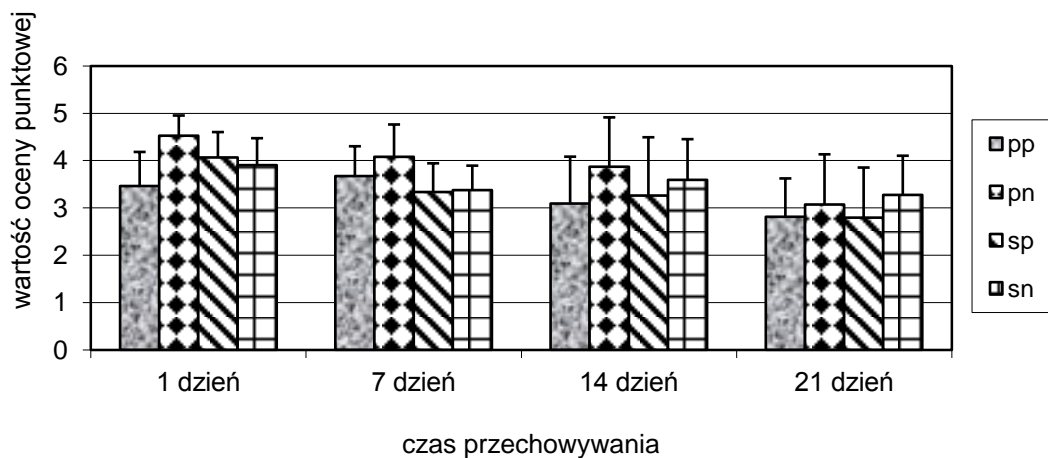
Zanim przystąpiono do oceny organoleptycznej, zwłaszcza w kolejnych dniach przechowywania chłodniczego kiełbas oceniano ich bezpieczeństwo mikrobiologiczne [Walczycka i in., 2014; materiały w druku]. Dla obu rodzajów kiełbas nieopakowanych 14 dzień przechowywania chłodniczego powinien stanowić ostateczny termin przydatności do spożycia, zwłaszcza gdy przechowywanie produktu odbywa się w domowej lodówce bowiem ilości ogólnej liczby bakterii tlenowych przekroczyły w tym dniu poziom 8 log jtk/g chociaż mikroflora kwasząca dominowała w produkcji (7 log jtk/g).

Pierwszą grupę ocenianych cech jakościowych stanowiły te związane z wyglądem zewnętrznym batonów kiełbas i wykrojonych z nich plastrów (wykresy 5-8).

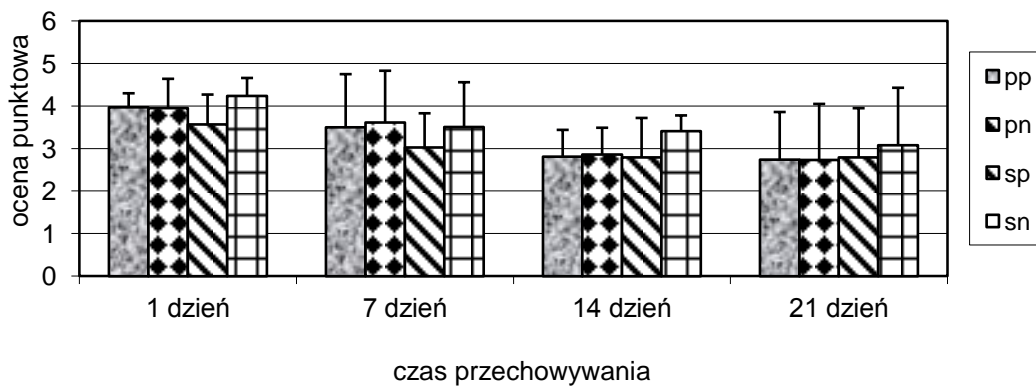
Żadna grupa kiełbas nie osiągnęła maksymalnej oceny 4,8-5,0 dla ocenianych cech – wyglądu zewnętrznego batonów, barwy na przekroju, struktury na przekroju i związania plastra. Średnie oceny dla tej grupy parametrów mieściły się w granicach 4,50- 2,20, w zależności od dnia przechowywania chłodniczego.

Kolejnymi ocenianymi parametrami były zapach (prawidłowość i natężenie), soczystość i kruchość (podczas żucia plastra), a także słoność i smak (prawidłowość i natężenie) (wykresy 9-15). Pomimo, że większość panelistów deklarowała, że spożywa kiełbasy wieprzowe średniorozdrobnione, prawie codziennie lub conajmniej kilkanaście razy w miesiącu, maksymalne średnie oceny kiełbas to 4,5-3,8. Wartości te obniżały się podczas przechowywania, a statystycznie wysoce istotna zmiana ($p < 0,001$) nastąpiła po 14 dniu przechowywania chłodniczego, zwłaszcza dla kiełbas nieopakowanych.

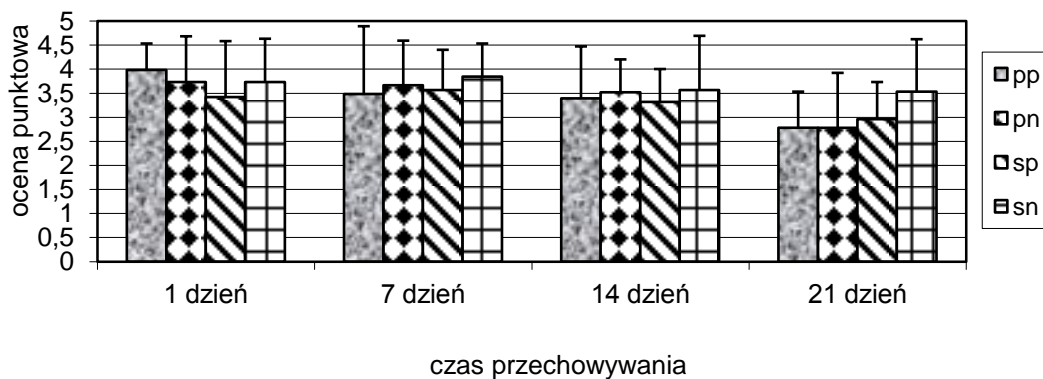
Wykres 5. Ocena konsumenta dla wyglądu zewnętrznego batonów kiełbas przechowywanych chłodniczo (średnia+SD)



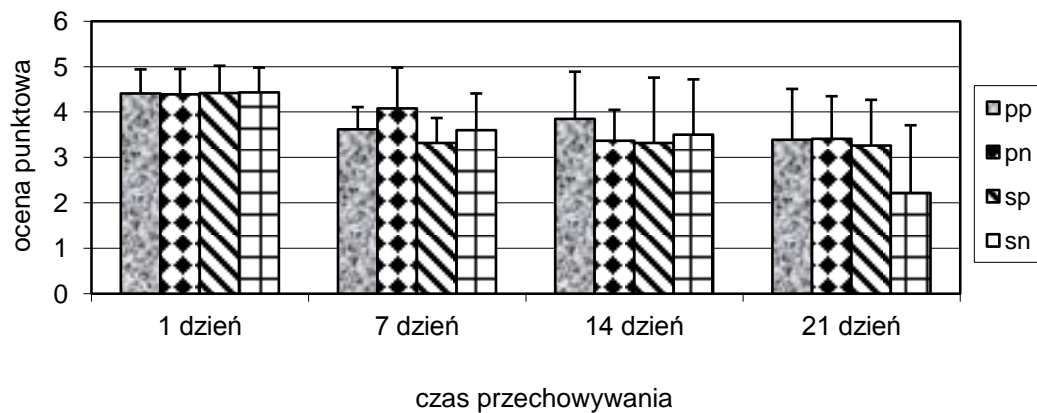
Wykres 6. Ocena konsumenta dla barwy batonów na przekroju kiełbas przechowywanych chłodniczo (średnia+SD)



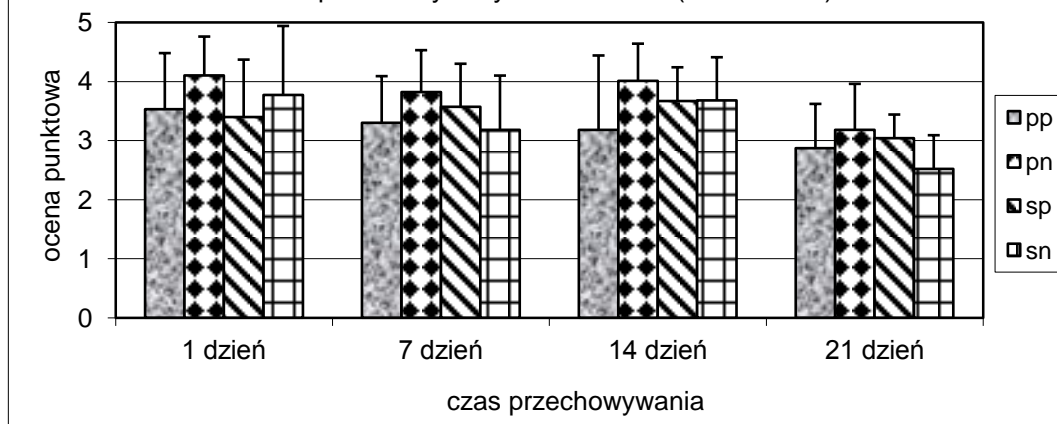
Wykres 7. Ocena konsumenta struktury przekroju batonów kiełbas przechowywanych chłodniczo (średnia+SD)



Wykres 8. Ocena konsumenta związania plastra kiełbas przechowywanych chłodniczo (średnia+SD)

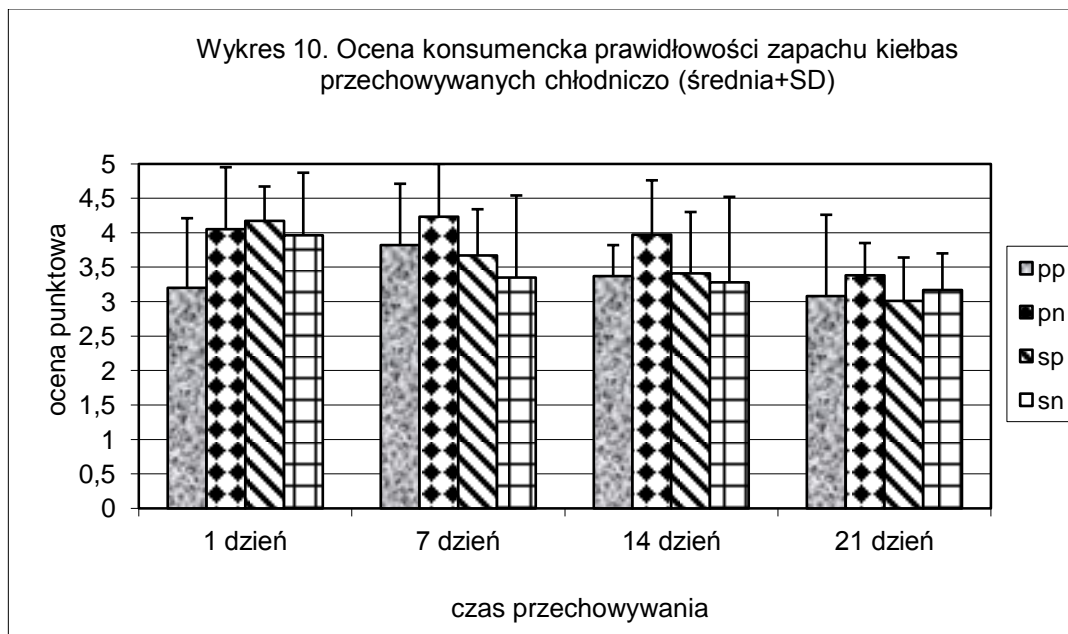


Wykres 9. Ocena konsumenta natężenia zapachu kielbas przechowywanych chłodniczo (średnia+SD)

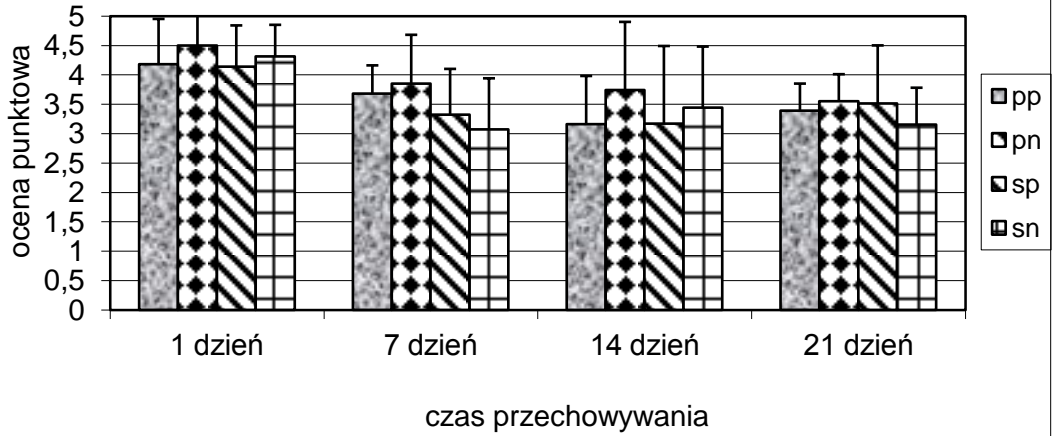


Panel konsumentki zaznaczył w uwagach dodatkowych, że kielbasa podwawelska zarówno pakowana jak i niepakowana powinna być konsumowana jako wędlina do kanapek, natomiast kielbasy śląskie jako danie „na gorąco” lub upieczone na grillu, pomimo, że wygląd zewnętrzny, barwa, a także inne cechy nie pozwalały na takie stwierdzenia. Takie uwagi były prawdopodobnie kwestią skojarzeń z nazwami i indywidualnymi przyzwyczajeniami konsumentów.

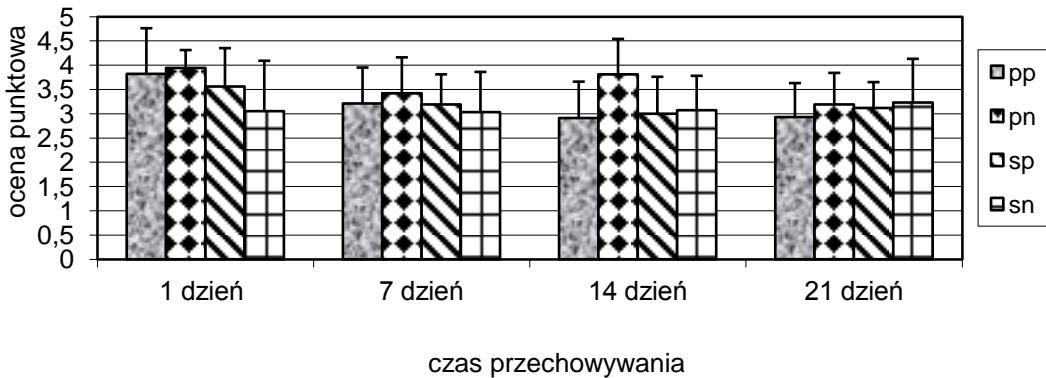
Wykres 10. Ocena konsumenta prawidłowości zapachu kielbas przechowywanych chłodniczo (średnia+SD)



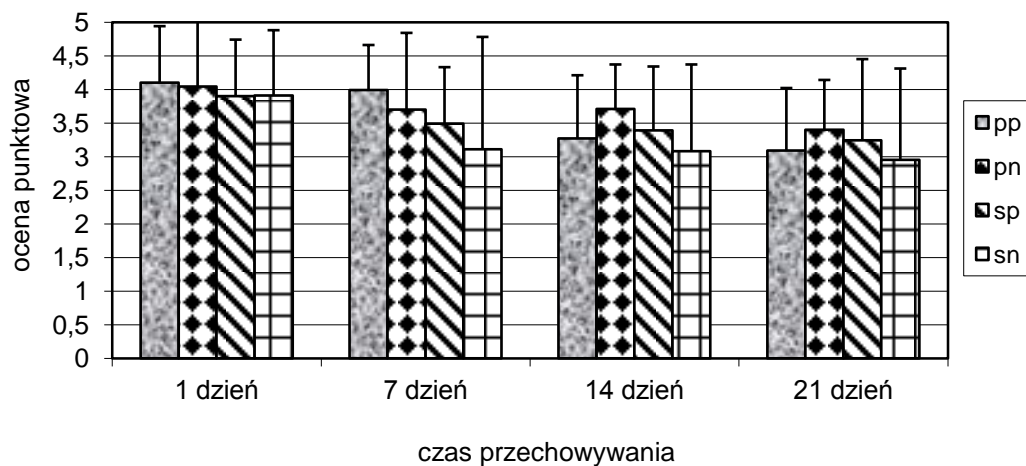
Wykres 11. Ocena konsumentcka soczystości kielbas przechowywanych chłodniczo (średnia+SD)



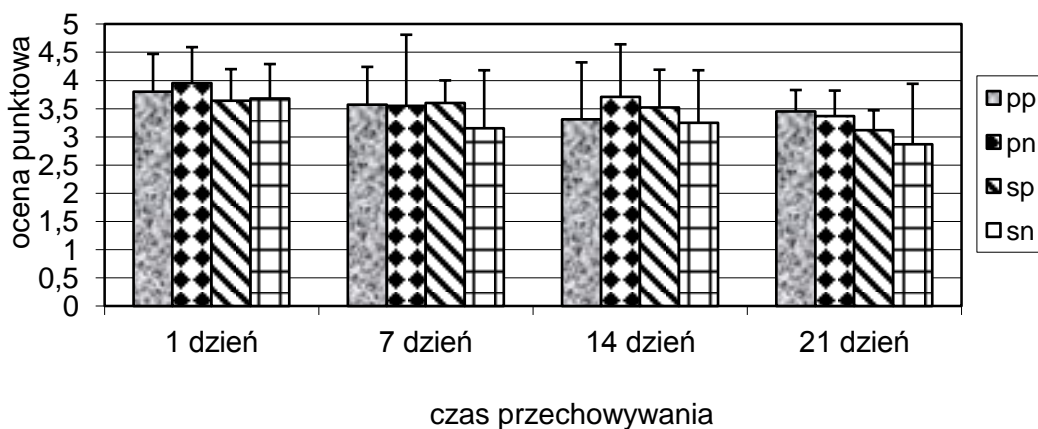
Wykres 12. Ocena konsumentcka kruchości (odkruszania) kielbas przechowywanych chłodniczo (średnia+SD)



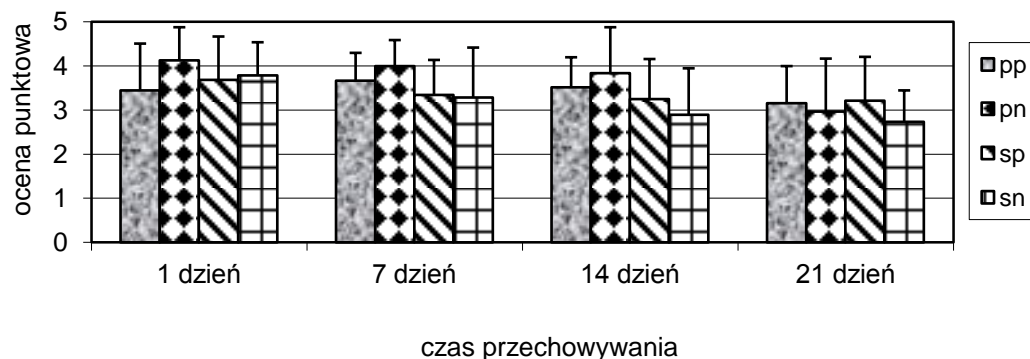
Wykres 13. Ocena konsumencka słoności kielbas przechowywanych chłodniczo (średnia+SD)



Wykres 14. Ocena konsumencka natężenia smaku kielbas przechowywanych chłodniczo (średnia+SD)

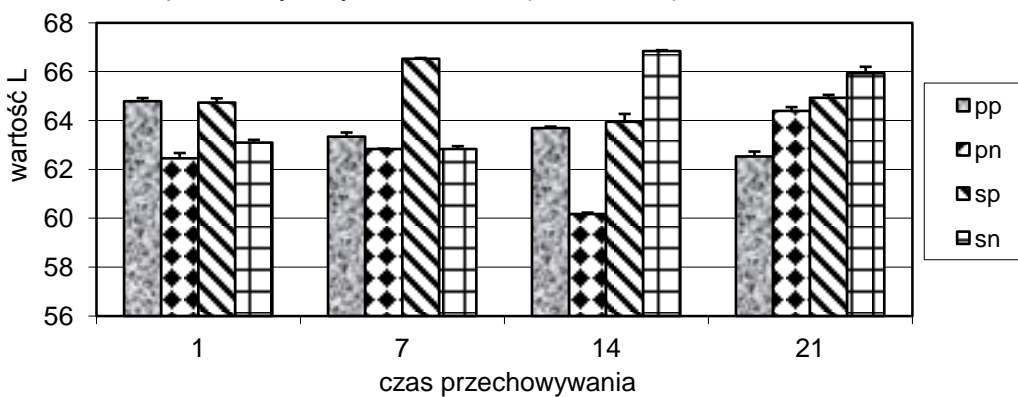


Wykres 15. Ocena konsumencka prawidłowości smaku kielbas przechowywanych chłodniczo (średnia+SD)

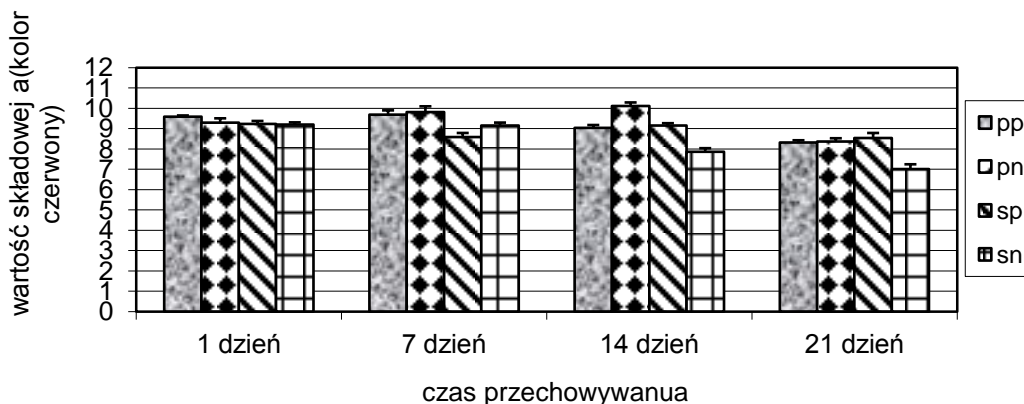


Dokonano obiektywnych pomiarów barwy kielbas, aby między innymi zweryfikować opinie, że barwa batonów sugeruje przeznaczenie „do kanapek lub na grilla. Wyniki pomiarów barwy metodą instrumentalną przedstawiono na wykresach 16-18.

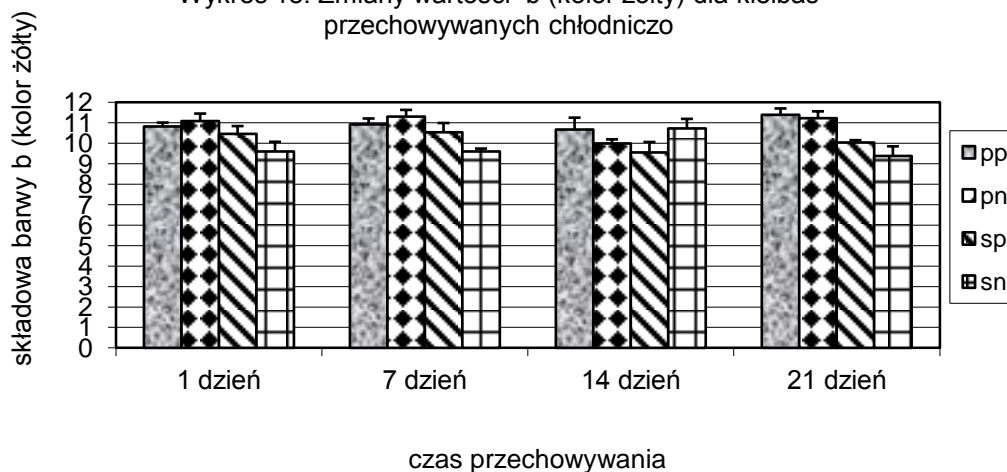
Wykres 16. Wartości parametru L (jasności) dla kielbas przechowywanych chłodniczo (średnia+SD)



Wykres 17. Zmiany wartości a (kolor czerwony) dla kiełbas przechowywanych chłodniczo



Wykres 18. Zmiany wartości b (kolor żółty) dla kiełbas przechowywanych chłodniczo



Wyróżniki barwy w obu kiełbasach zmieniały się podczas całego okresu przechowywania wysoce istotnie (L, a) lub istotnie (a) w zależności od rodzaju kiełbasy i czasu przechowywania.

Wnioski

1. Skład podstawowy kiełbas spełniał założenia norm i receptur zakładowych dla tego typu produktów.
2. Wartości liczby kwasowej przekroczyły znacząco ilości dopuszczalne dla kiełbasy podwawelskiej w pierwszym a dla kiełbasy śląskiej w 21 dniu przechowywania

3. Poziom nadtlenu przez cały okres przechowywania w obu rodzajach kiełbas przekraczał 3,0 meqO₂/kg i tym samym stwarzał potencjalne zagrożenie przyspieszaniem reakcji oksydacji zarówno w produktach jak i po ich konsumpcji w organizmie człowieka.
4. Wartości wskaźnika TBA, utrzymujące się, dla obu kiełbas, podczas całego okresu przechowywania poniżej 1mg aldehydu malonowego/kg produktu, sugerują, że procesy psucia się tych wędlin miały zdecydowanie charakter hydrolytyczny.
5. Średnie oceny konsumenckie dla poszczególnych wyróżników charakterystyki organoleptycznej kiełbas wahały się w zakresie 4,45 do 2,20 i różniły się statystycznie wysoce istotnie podczas przechowywania.
6. Ocena instrumentalna barwy kiełbas przechowywanych chłodniczo ujawniła spadek parametru odbicia-jasności oraz składowej czerwonej „a” przy czym zmiany te miały istotne znaczenie przy porównaniu barwy kiełbas świeżych i przechowywanych chłodniczo 21 mimo, że produkty były odpowiednio opakowane i/lub chronione od światła i gwałtownych zmian temperatury
7. Ze względu na rzeczywistą trwałość również mikrobiologiczną kiełbasy niepakowane mogą być przechowywane i spożywane przez 14 dni, a kiełbasy pakowane przez 21 dni czyli trwałość zadeklarowana przez producenta powinna być obniżona, w obu przypadkach o 1 tydzień (7 dni).

Literatura

1. Baryłko-Piekielna N., Matuszewska I. Sensoryczne badania żywności. Podstawy-Metody-Zastosowania. Wyd. Nauk. PTTŻ, 2009.
2. Gloger Z. Encyklopedia staropolska ilustrowana, Warszawa 1985.
3. Górską-Warsewicz H. Consumer of meat and meat products (in Polish). Food Industry, 2005, 3, 16-19.
4. Hęś M., Korczak J. Wpływ różnych czynników na szybkość utleniania sięlipidów mięsa. Nauka Przyroda. Technologie, 2007, 1,1, 1-11.
http://www.npt.up-poznan.net/tom1/zeszyt1/art_3.pdf.
5. Kowalski R., Pyrcz J. Rola tłuszczu w kształtowaniu jakości wyrobów mięsnych. Kalejdoskop mięsny, 2009, 6.
6. Makała H., Tyszkiewicz S., Wawrzyńkiewicz M. Characteristics of sensory quality and profile of popular market semi-coarse ground sausages. Acta Agrophysica, 2008, 11(1), 117-130.
7. Olszewski A., Technologia przetwórstwa mięsa. WNT – Warszawa 2007.
8. Pikul J. Ocena technologiczna surowców i produktów przemysłu drobiarskiego. Wyd. AR, Poznań 1993.

9. Pikul J., Leszczyński D., Kummerow F.A. Evaluation of three modified TBA methods for measuring lipid oxidation in chicken meat. *J. Agric. Food Chem.*, 189, 37, 1309.
10. PN-A-04018:1975/Az3:2002P Produkty rolniczo-żywnościowe Oznaczanie azotu metodą Kjeldahla i przeliczanie na białko (Zmiana Az3).
11. PN-A-82007:1996 Przetwory mięsne – Wędliny.
12. PN-A-82112:1973/Az1:2002 Oznaczanie zawartości soli kuchennej. Metoda Mohra.
13. PN-A-82114:1974 - Norma wycofana i zastąpiona przez PN-EN 12014-3:2006. Mięso i przetwory mięsne -- Oznaczanie zawartości azotynów i azotanów.
14. PN-EN 12014-3:2006 Artykuły żywnościowe - Oznaczanie zawartości azotanów i/lub azotynów - Część 3: Spektrometryczne oznaczanie zawartości azotanów i azotynów w produktach mięsnych po enzymatycznej redukcji azotanów do azotynów.
15. PN-EN ISO 3960:2012 Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce - Oznaczanie liczby nadtlenkowej - Jodometryczne (wizualne) oznaczanie punktu końcowego.
16. PN-EN ISO 660:2010 - Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce - Oznaczanie liczby kwasowej i kwasowości.
17. PN-ISO 11036:1999 - Analiza sensoryczna - Metodologia - Profilowanie tekstury.
18. PN-ISO 1442:2000. Mięso i przetwory mięsne -- Oznaczanie zawartości wody (metoda odwoławcza)
19. PN-ISO 3100-1:1999. Mięso i przetwory mięsne. Pobieranie i przygotowanie próbek do badań. Pobieranie próbek.
20. PN-ISO 6564:999 PN-ISO 6564:1999 Analiza sensoryczna - Metodologia - Metody profilowania smakowości.
21. PN-ISO 936:2000 Mięso i przetwory mięsne -- Oznaczanie popiołu całkowitego.

Podziękowania

Autorki dziękują Zakładowi Mięsnemu Henryk Kania S.A. za umożliwienie badań i nieodpłatne udostępnienie materiału badawczego.

ZAGROŻENIA I ZAFALSZOWANIA MIĘSA I PRODUKOWANYCH Z NIEGO WYROBÓW

Streszczenie

W artykule przedstawiono sytuację prawną związaną z zagrożeniem i zafałszowaniem środka spożywczego, w UE i w Polsce. Omówiono metody stosowane do wykrywania zafałszowań mięsa i produkowanych z niego wyrobów, podano przyczyny i metody fałszowania żywności. Przedstawiono przykłady fałszowania mięsa i przetworów w świetle przeprowadzonych kontroli oraz wpływ zafałszowania mięsa i produktów mięsnych na bezpieczeństwo zdrowotne konsumentów.

RISKS AND IDENTIFICATION OF ADULTERATION OF MEAT AND MEAT PRODUCTS

Summary

The article presents the legal situation related to the threat and adulteration of the food, in the EU and Poland. The methods used to detect adulteration of meat and meat products were discussed, and the reasons and methods of food adulteration were given. The examples of falsification of meat and meat products in the light of conducted control and influence of falsification of meat and meat products on the health safety of consumers were discussed.

Wprowadzenie

Fałszowanie żywności miało miejsce już od najdawniejszych czasów. Żywność podrabiano na wiele sposobów, na każdym etapie zarówno jej wytwarzania jak i dystrybucji. Na przestrzeni lat zmieniały się jednak formy i sposoby fałszowania takie jak fałszowanie gatunkowe mięsa, tłuszczów, zamiana surowców droższych tańszymi i wiele innych możliwych do wykrycia przy pomocy równie wysoce specyficznych metod analitycznych [Sawicki, 2009b; Targoński i Stój, 2005].

Potwierdzenie autentyczności rodzajowej i gatunkowej produktu jak również wykrywanie zafałszowań jest zwykle trudne, pracochłonne i kosztowne. Szybki rozwój technik analitycznych pozwala z jednej strony na identyfikację i ilościowe oznaczenie nawet śladowych ilości wielu składników, z drugiej zaś postęp techniczny zwiększa także możliwości fałszowania żywności. Żywność zafałszowana jest zwykle mniej cenna pod względem wartości odżywczej i właściwości biologicznych. Może też stwarzać zagrożenie dla zdrowia przez dodatek substancji niedozwolonych, może być także

niebezpieczna, jeśli jest nieprawidłowo oznakowana, zwłaszcza kiedy zawiera składniki alergenne. Na fałszowaniu żywności korzystają nieuczciwi przedsiębiorcy, a tracą konsumenci, gdyż nabywają produkt niepełnowartościowy, czasami wręcz nie nadający się do spożycia. Dlatego też badanie tożsamości w kontekście nazwy, pod jaką jest produkt oferowany i weryfikacja składu podanego na opakowaniu ze stanem faktycznym, stanowi podstawę zapewnienia właściwej jakości żywności [Rak, 2011].

Wyodrębnienie i usystematyzowanie zagrożeń związanych z fałszowaniem żywności postrzeganych przez konsumentów jest bardzo istotne z uwagi na uniknięcie lub zminimalizowanie strat, w tym także ekonomicznych, które mogą pojawić się, szczególnie po ich ujawnieniu i nagłośnieniu przez media informujących o kryzysach związanych z bezpieczeństwem zdrowotnym w różnych krajach. Choroba BSE, ptasia grypa, pryszczycza, obecność dioksyn w paszach, zatrucia pozostałościami pestycydów itp., zmieniły stan świadomości i poziom zaufania, a przez to sposób zachowania konsumentów na rynku żywności, szczególnie mięsa i jego przetworów [Gellynck, Verbeke 2001, Jakubowska i wsp. 2010]. Dlatego też śledzenie pochodzenia żywności, właściwy system identyfikacji mają znaczenie fundamentalne zarówno dla przemysłu spożywczego, jak i struktur urzędowej kontroli żywności [Czarniecka-Skubina i Nowak, 2012; Schwagële, 2005].

Celem artykułu było przedstawienie wybranych problemów związanych z badaniem autentyczności i przeanalizowanie metod identyfikacji oraz możliwości zafałszowania na przykładzie mięsa i produkowanych z niego wyrobów.

Regulacje prawne w zakresie zafałszowanych środków spożywczych

Ochrona interesów konsumenta w Unii Europejskiej wiąże się z rozporządzeniem (WE) nr 178/2002 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 28 stycznia 2002 roku. Definiuje ono zagrożenie związane z żywnością jako występowanie czynnika biologicznego, chemicznego lub fizycznego w żywności lub paszy bądź stan żywności lub paszy mogący powodować negatywne skutki dla zdrowia. Stanowi również, że żaden niebezpieczny środek spożywczy nie może być wprowadzony na rynek.

Ustanowione procedury mają na celu zapobieganie:

- a) oszukańczym lub podstępny praktykom,
- b) fałszowaniu żywności,
- c) oraz wszelkim innym praktykom mogącym wprowadzać konsumenta w błąd

[Kodziejczyk i Kowrygo, 2008; www.codexalimentarius.net].

Ustawa z dnia 25 sierpnia 2006 roku o bezpieczeństwie żywności i żywienia określa, iż środek spożywczy jest zafałszowany jeśli jego skład lub inne właściwości zostały zmienione, a konsument nie został o tym poinformowany w sposób określony w art. 45 oraz w przepisach wydanych na podstawie art. 50 (art. 45 i 50 dotyczących

znakowania żywności) albo środek spożywczy, w którym zostały wprowadzone zmiany mające na celu ukrycie jego rzeczywistego składu lub innych właściwości.

Artykuł rolno-spożywczy zafałszowany określany jest również jako produkt, którego skład jest niezgodny z przepisami dotyczącymi jakości handlowej poszczególnych artykułów rolno-spożywczych, albo produkt, w którym zostały wprowadzone zmiany, w tym zmiany dotyczące oznakowania, mające na celu ukrycie jego rzeczywistego składu lub innych właściwości, jeżeli niezgodności te lub zmiany w istotny sposób naruszają interesy konsumentów, w szczególności jeżeli:

- dokonano zabiegów, które zmieniły lub ukryły jego rzeczywisty skład lub nadały mu wygląd produktu zgodnego z przepisami dotyczącymi jakości handlowej,
- w oznakowaniu podano nazwę niezgodną z przepisami dotyczącymi jakości handlowej poszczególnych artykułów rolno-spożywczych albo niezgodną z prawdą,
- w oznakowaniu podano niezgodne z prawdą dane w zakresie składu, pochodzenia, terminu przydatności do spożycia lub daty minimalnej trwałości, zawartości netto lub klasy jakości handlowej [Kodziejczyk i Kowrygo, 2008; Rak; 2011].

W przypadku mięsa i produktów z niego uzyskanych potwierdzenie autentyczności może obejmować potencjalnie cztery grupy czynników, które zestawiono w Tabeli 1.

Tabela 1. Potencjalne problemy autentyczności mięsa i przetworów

Grupa problemów autentyczności	Czynniki identyfikacji problemów
identyfikacja pochodzenia/gatunku mięsa	stwierdzenie płci mięsa zwierząt stwierdzenie wieku identyfikacja wyrębów identyfikacja sposobu żywienia, rodzaju podawanej paszy rozdzielenie pochodzenia mięsa ze względu na sposób i miejsce hodowli (hodowlane, wolno żyjące) rozdzielenie pochodzenia mięsa ze względu na sposób hodowli (tradycyjna i organiczna)
identyfikacji zamienników mięsa	identyfikacja zamiany mięsa jednego gatunku innym, identyfikacja zastąpienia tłuszczu zwierzęcego roślinnym, rozdzielenie zastosowania zamienników białka mięsa białkiem pochodzenia roślinnego lub zwierzęcego lub komponentów organicznych,
identyfikacja procesów utrwalania i przetwórczych, wpływających na jakość gotowego produktu	identyfikacja stosowania napromieniowania, identyfikacja użycia surowca wychłodzonego od mrożonego, identyfikacja metody obróbki cieplnej
identyfikacja niemięsnych substancji dodatkowych,	identyfikacja substancji dodatkowych identyfikacja wielkości dodatku wody

Źródło: opracowanie na podstawie [Ballin, 2010]

Przyczyny i metody fałszowania żywności

Fałszowanie produktów spożywczych sprowadza się głównie do osiągnięcia nienależnych korzyści materialnych, w wyniku wytwarzania produktów o niższej niż deklarowanej jakości lub ograniczenie potencjalnych strat wynikających z konieczności wycofania z rynku surowców i przetworów np. w wyniku ich przeterminowania.

Do przyczyn fałszowania żywności zalicza się:

- chęć zwiększenia zysku poprzez obniżenie kosztów produkcji,
- zwiększenie konkurencyjności cenowej produktu,
- ukrycie faktycznego pochodzenia produktu,
- ukrycie niewłaściwej jakości produktu [Kodziejczyk i Kowrygo, 2008; Rak, 2011; Raporty Inspekcji Handlowej, 2010].

Wśród najczęstszych metod fałszowania żywności wymienia się takie jak:

- zastąpienie składnika produktu innym najczęściej tańszym składnikiem,
- brak deklaracji sposobu produkcji, np. żywność utrwalana metodami radiacyjnymi, żywność genetycznie modyfikowana,
- nieprawidłowa deklaracja składu ilościowego produktu,
- nieprawidłowa deklaracja pochodzenia produktu,
- nieprawidłowe oznakowanie produktu.
- podawanie nazwy niezgodnej ze stanem rzeczywistym, np.: „cielęcina pieczona”, „parówki cielęce” - na produktach, które w swoim składzie nie zawierają tego gatunku mięsa,
- umieszczanie napisów w języku obcym i szaty graficznej sugerujących pochodzenie wyrobów z importu,
- nie wyszczególnianie w składzie produktu zastosowanych dozwolonych substancji dodatkowych,
- dodatek wody (nadmierny dodatek wody do wędlin).

Fałszowane określane jest jako niezgodność deklaracji cech towaru wyspecyfikowanych np. na etykiecie ze stanem rzeczywistym. Następstwo fałszowania żywności skutkuje tym, że: konsumenci kupują produkty niepełnowartościowe, nieautentyczne, uczciwi konsumenci przegrywają w nieuczciwej konkurencji, często zysk z nieuczciwej produkcji jest znacznie mniejszy niż straty, jakie może ponieść, producent w wyniku postępowania prawnego [Raport Inspekcji Handlowej, 2010]. Pomimo wysokiego ryzyka podejmowane są próby fałszowania żywności, szczególnie w mniejszych firmach, których udział w rynku jest niewielki. Duże, znaczące firmy raczej nie chcą ryzykować dobrego imienia swojej marki.

Metody stosowane do wykrywania zafałszowań mięsa i przetworów

Wśród metod wykrywania zafałszowań można wyodrębnić cztery zasadnicze grupy:

- metody oparte na ocenie podstawowych cech produktu,
- metody porównujące zawartość składników produktów z wartościami standardowymi,
- metody określające poziom zawartości związków występujących w małych ilościach lub związków, które nie powinny znajdować się w danym produkcie,
- metody izotopowe, które określają skład izotopowy cząsteczek poszczególnych związków [Ballin, 2010; Jeleń i Zawirska-Wojtasik, 2010; Przetaczek-Rożnowska i Rosiak, 2011; Sawicki, 2009a; Schmidt i in., 2005; Sentandreu i Sentandreu, 2011; Targoński, 2000].

Metody analityczne stosowane do określania autentyczności produktów spożywczych dzieli się na: metody fizykochemiczne, metody immunologiczne, metody biologiczne oraz analizy chemometryczne stanowiące ich uzupełnienie [Aida i in., 2005; Jeleń i Zawirska-Wojtasik, 2010; Przetaczek-Rożnowska i Rosiak, 2011].

Zawartości wody, tłuszczu, białka i substancji mineralnych są charakterystyczne dla określonego gatunku mięsa. Zmiana ilości każdego składnika powoduje zmianę ilości wszystkich pozostałych, stąd podanie zawartości pojedynczego składnika nie daje informacji o pozostałych. Praktyczną przydatność do charakterystyki i identyfikacji mięsa mają liczby podobieństwa podstawowego składu chemicznego, jako proporcje dwóch lub więcej składników będących niezmiennikami uwarunkowanymi fizjologią, jakimi są organizmy zwierząt rzeźnych, mających znaczenie praktyczne jako wskaźniki potwierdzenia stanu jakościowego mięsa i przetworów mięsnych [Tyszkiewicz i Borys, 2013].

Techniki immunologiczne, a szczególnie testy ELISA (*Enzyme Linked Immunosorbent Assay*), są stosowane m.in. do wykrywania nieprawdziwej deklaracji pochodzenia mięsa, białek innych niż zwierzęce, które wykorzystuje się do produkcji przetworów mięsnych, np. białka sojowe. Te metody nie są jednak odpowiednie do wykrywania zafałszowania produktów mięsnych, gdyż w procesie technologicznym, pod wpływem temperatury, białka ulegają denaturacji [Jeleń i Zawirska-Wojtasik, 2010].

Metody genetyczne oparte na identyfikacji charakterystycznych fragmentów DNA lub oznaczenia chemometryczne wykorzystuje się do wykrywania niedeklarowanego dodatku mięsa wieprzowego do produktów z mięsa wołowego i drobiowego, jak również niedeklarowanego dodatku podrobów [Aida i in., 2005; Sentandreu i Sentandreu, 2011; Targoński i Stój, 2005].

Bardzo obiecujące są wyniki badań dotyczące określania pochodzenia mięsa od różnych zwierząt i sposobu ich żywienia drogą analizy izotopów trwałych C, N i S

[Schmidt i in., 2005]. Pomimo istniejących standardów znakowania zwierząt opartych o kolczykowanie, tatuaże, numery identyfikacyjne i paszporty zwierzęce, istnieje potrzeba potwierdzania autentyczności mięsa mogąca chronić konsumentów, potwierdzić oznaczenia regionalne i popierać uczciwą konkurencję. W badaniach potwierdzono np., że wołowina europejska znacząco różniła się od amerykańskiej składem izotopów C i N [Schmidt i in., 2005; Śmiechowicz, 2007].

Zastępowanie białek mięśniowych innymi białkami, o niższej wartości może być stosowane w celu poprawienia opłacalności produkcji. Pomocną w tym zakresie może być analiza kolagenu o którego ilości wnioskuje się na podstawie zawartości hydroksyproliny, będącej głównym składnikiem tego białka. Analiza udziału hydroksyproliny, przeprowadzona jest metodą spektrofotometryczną lub chromatograficzną. Stwierdzenie użycia podrobów jest możliwe za pomocą spektrometrii w podczerwieni.

Metody HPLC znalazły zastosowanie do identyfikacji i potwierdzenia obecności preparatów farmaceutycznych, środków ochrony roślin i pestycydów oraz sterydów obecnych w mięsie. W wyrobach mięsnych często stosuje się zamienniki tłuszczu zwierzęcego, np. tłuszcz roślinny, innych gatunków zwierząt albo innego rodzaju niż deklarowany którego obecność można stwierdzić na podstawie fitosteroli, techniką HPLC, GC-MS [Aida i in., 2005; Ballin, 2010; Targoński i Stój, 2005].

Identyfikowalność produktów pochodzenia zwierzęcego

Wprowadzenie i stosowanie systemu identyfikowalności w UE jest wymogiem prawnym od 1 stycznia 2005 roku. Ogólne zasady i podstawowe wymagania dotyczące projektowania i wdrażania systemu identyfikacji podane są w normie PN-EN ISO 22005:2007. System gwarantuje przepływ informacji w całym łańcuchu żywnościowym. Obejmuje on swoim zakresem pochodzenie surowców, historię przetwarzania i dystrybucji analizowanej żywności [Czarniecka-Skubina i Nowak, 2012].

W przetwórstwie produktów pochodzenia zwierzęcego pojęcie jakości wyrobów rozumiane jest jako wszystkie aspekty jakości ważne dla konsumenta „od pola do stołu” („*from farm to fork*“). Są to: bezpieczeństwo żywności, dobrostan zwierząt, środowisko, zdrowotność, smakowitość i styl życia [Sarig, 2003].

Współczesne zintegrowane systemy jakości umożliwiają prześledzenie całej historii procesu produkcyjnego mięsa i produktów mięsnych, począwszy od rolnika (hodowcy), aż do konsumenta można udostępnić wszelkie informacje na temat chowu zwierzęcia oraz obróbki mięsa po uboju. Każdy partner systemu jest zarejestrowany i posiada indywidualny numer ewidencyjny, na podstawie którego można go zidentyfikować.

Dane dokumentujące historię zwierzęcia muszą być zawarte w jego paszporcie lub w bazie danych. Prowadzenie szczegółowej dokumentacji pozwala zidentyfikować zwierzę od ostatniego hodowcy aż do miejsca jego urodzenia. Etykieta musi zawierać 6 elementów w formacie umożliwiającym jej odczytanie przez człowieka: numer referencyjny lub kod referencyjny, zapewniający powiązanie pomiędzy mięsem i zwierzęciem lub grupami zwierząt; kraj urodzenia, kraj tuczu, kraj uboju, kraj wykrawania/rozbioru i numer dopuszczenia ubojni i zakładu rozbiorowego [Cieślik i in., 2008].

Środki identyfikacji jednostek lub grup/partii żywego bydła, świń i owiec zawierają: zapisy papierowe (np. paszporty, dzienniki danych, pamiętniki), zapisy elektroniczne, marki (producenci) – na skórze lub na rogach, tatuaże (na uchu, ramieniu lub wardze), tagi (w uchu lub wokół ogona, z tworzywa sztucznego lub metalu, zwykłe lub urządzenia RFID), transpondery (zwisające na łańcuchach na szyi, wszczepione pod skórę lub lokowane w żwaczku) oraz biometryczne (odcisk DNA, autoimmunologiczne dopasowania przeciwciał, skanowanie tęczówki, obrazowanie siatkówki, nos-PRINT) [Czarniecka-Skubina i Nowak, 2012; Sarig, 2003].

Wpływ zafalszowania mięsa i wyrobów mięsnych na bezpieczeństwo zdrowotne konsumentów

Ocena wpływu zafalszowania mięsa i produktów mięsnych na bezpieczeństwo zdrowotne konsumentów jest bardzo zróżnicowana, ze względu na możliwości oddziaływania na zdrowie: brak wpływu, obniżenie poziomu bezpieczeństwa i zagrożenie zdrowia, zejścia śmiertelne, ostre zatrucia pokarmowe, oraz zmiany chorobowe diagnozowane w dalszej przyszłości [Rak, 2011; Wierzejska, 2011].

Przykładem braku wpływu oddziaływania na zdrowie konsumenta może być dodatek do wyrobów mięsnych surowców o odpowiedniej jakości zdrowotnej lecz niższej klasy lub innego gatunku. Identyfikowalność gatunkowa mięsa jest bardzo istotna dla osób, które ze względów religijnych nie spożywają określonego gatunku mięsa. Dlatego też pomimo, iż np. dodatek wieprzowiny czy koniny do mielonego mięsa wołowego, nie spowoduje uszczerbku na zdrowiu konsumenta, to może obniżyć jego wartość odżywczą i walory smakowe. Ze względów religijnych czyni taki produkt nieprzydatny do spożycia, wprowadza konsumenta w błąd, powoduje dyskomfort psychiczny i moralny.

Wprowadzanie do produktów mięsnych składników o kwestionowanej jakości zdrowotnej może negatywnie wpływać na zdrowie lub nawet życie, na przykład zafalszowanie wyrobów mięsnych może grozić śmiercią, gdy do obrotu wprowadzone jest przez kłusowników nie badane mięso pochodzące z dzików.

Wprowadzanie do produktów mięsnych dodatkowych składników, funkcjonalnych, strukturotwórczych, poprawiających barwę, smak i zapach, postrzeganych ogólnie jako bezpieczne, u osób wrażliwych może być przyczyną różnego rodzaju dolegliwości, często trudnych do jednoznacznego rozpoznania i diagnozowania, szczególnie w czasie rosnącej liczby osób cierpiących na choroby diety zależne [Rak, 2011].

Wprowadzanie do obrotu mięsa skażonego niebezpiecznymi dla zdrowia konsumentów substancjami chemicznymi (toksycznymi) może prowadzić do następstw odległych w czasie, które podczas wystąpienia objawów chorobowych trudno powiązać ze spożywaniem produktów mięsnych. Związkami takimi są np. dioksyny, które poprzez skażone pasze podawane zwierzętom trafiają do mięsa. Z uwagi na wysoki poziom toksyczności, skażone nimi mięso, pomimo iż nie wykazuje cech zepsucia czy obniżenia jakości, musi być uznane za niezdatne do spożycia. Związki te, wywołują zmiany w systemie odpornościowym, uszkodzenia płodów itp. [Caswell, 2006; Dupuy i in., 2005].

Podsumowanie

Falszowanie żywności, w tym mięsa i jego przetworów jest zjawiskiem powszechnym. Wykrywanie zafalszowań nie jest łatwe z uwagi na coraz bardziej wyrafinowane metody zafalszowań, jak i na stosowanie coraz bardziej wyrafinowanych technik detekcji. Zastosowanie metod statystycznych (chemometrycznych) ułatwia interpretację wyników badań autentyczności produktów żywnościowych. Stosowane najczęściej metody falszowania polegające na podmianie surowców droższych tańszymi, ukrywaniu pochodzenia, dodawaniu substancji zwiększających wydajność produkcji lub ukrywających wady mogą stać się bardziej finezyjne i ich wykrycie będzie wymagało co raz to nowocześniejszych technik badawczych. Nie należy w związku z tym, oczekiwać, że falszowanie żywności zostanie całkowicie wyeliminowane, pomimo działań kontrolnych.

Literatura

1. Aida A.A., Che Man Y.B., Wong C.M.V.L., Raha A.R., Son R. Analysis of raw meats and fats of pigs using polymerase chain reaction for Halal authentication. *Meat Sci.*, 2005, 69, 47-52
2. Ballin N.Z. Authentication of meat and meat products. *Meat Sci.*, 2010, 86, 577-587.
3. Caswell J.A. Quality assurance, information, tracking, and consumer labeling. *Marine Pollution Bulletin*, 2006, 53, 650-656.
4. Cieślak E., Niedośpiał A., Mickowska B. Wykorzystanie elektroforezy kapilarnej w analizie żywności. *Żywność Nauka Technologia Jakość*, 2008, 2(57), 5-14.

5. Dupuy C., Botta-Genoulaz V., Guinet A. Batch dispersion model to optimise traceability in food industry. *J. Food Eng.*, 2005, 70, 333-339.
6. Czarniecka-Skubina E., Nowak D. System śledzenia ruchu i pochodzenia żywności jako narzędzie zapewnienia bezpieczeństwa konsumentów. *Żywność Nauka Technologia Jakość*, 2012, 5 (84), 20-36.
7. Gellynck X., Verbeke W. Consumer perception of traceability in the meat chain. *Agrarwirtschaft*, 2001, 50, 368-374.
8. Jakubowska D., Radzymińska M., Smoczyński S. Określenie determinant wpływających na percepcję ryzyka w zakresie bezpieczeństwa mięsa i produktów mięsnych. *Żywność Nauka Technologia Jakość*, 2010, 1 (68), 123-129.
9. Jeleń H., Zawirska-Wojtasik R. Chromatografia gazowa – olfaktometria do identyfikacji związków zapachowych żywności. *Przem. Spoż.*, 2010, 11, (64), 21-23.
10. Kodziejczyk M., Kowrygo B. Urzędowe kontrole zafałszowań środków spożywczych w świetle obowiązującego prawa żywnościowego. Warszawa: Wyd. SGGW, Warszawa 2008, 23-32.
11. PN-EN ISO 22005:2007 Identyfikowalność w łańcuchu pasz i żywności. Ogólne zasady i podstawowe wymagania przy projektowaniu i wdrażaniu systemu.
12. Przetaczek-Rożnowska I., Rosiak M. Wykrywanie zafałszowań żywności. *Przem. Spoż.*, 2011, 2, (65), 20-24.
13. Rak L. Zafałszowania mięsa i przetworów mięsnych. *Przegląd Masarski*, 2011, 9, 40-43.
14. Raport Inspekcji Handlowej Informacja o zafałszowanych produktach żywnościowych wykrytych w trakcie kontroli Inspekcji Handlowej w 2010 r. www.uokik.gov.pl/download.php?plik=9503
15. Rozporządzenie (WE) nr 178/2002 z dnia 28.01.2002 r. ustanawiające ogólne zasady i wymagania prawa żywnościowego, powołujące Europejski Urząd ds. Bezpieczeństwa Żywności oraz ustanawiające procedury w zakresie bezpieczeństwa żywności (Dz. UE L 31, z 1.02.2002 z późn. zm.).
16. Sarig Y. Traceability of food products. *CIGR. J. Scient. Res. Developments*, 2003, 12, 54-65.
17. Sawicki W. Identyfikacja zafałszowań żywności z zastosowaniem metod PCR. *Przem. Spoż.*, 2009a, 4, 28-31.
18. Sawicki W. Falszowanie żywności od czasów starożytnych do dziś. *Przem. Spoż.*, 2009b, 12, (63), 2-6.
19. Schmidt O., Quilter J.M., Bahar B., Moloney A.P., Scrimgeour C.M., Begley I.S., Monahan F.J. Inferring the origin and dietary history of beef from C, N and S isotope ratio analysis. *Food Chem.*, 2005, 91, 545-549.

20. Sentandreu M., Sentandreu E. Peptide biomarkers as a way to determine meat authenticity. *Meat Sci.*, 2011, 89, 280-285.
21. Schwagēle F. Traceability from a European perspective. *Meat Sci.*, 2005, 71, 164-173.
22. Śmiechowicz M. Wybrane problemy autentyczności i identyfikowalności żywności ekologicznej. *J. Res. Appl. Agricult. Eng.*, 2007, 52(4), 80-88.
23. Targoński Z. Zafałszowania żywności i metody ich wykrywania. *Przem. Spoż.*, 2000, 6, 9-11.
24. Targoński Z., Stój A. Zafałszowania żywności i metody ich wykrywania. *Żywność Nauka Technologia Jakość*, 2005, 4 (45) Supl. 30-40.
25. Tyszkiewicz St., Borys A. Liczby podobieństwa podstawowego składu chemicznego mięsa zwierząt rzeźnych na przykładzie mięsa brojlerów kurzych. *Post. Nauki Technol. Przem. Rol.-Spoż.* 2013, LXVIII, 1, 100-108.
26. Ustawa z dnia 25 sierpnia 2006 r. o bezpieczeństwie żywności i żywienia. *Dz. U.* 2000 Nr 122 poz. 1319 z późniejszymi zmianami
27. Wierzejska R. Zagrożenia związane z żywnością. Sondaż konsumencki EFSA. *Przem. Spoż.*, 2011, 2, (65), 2-5.
28. www.codexalimentarius.net

ZASTOSOWANIE OLEJÓW ROŚLINNYCH W MODYFIKOWANIU PROFILU KWASÓW TŁUSZCZOWYCH TŁUSZCZU MIĘSA I PRZETWORÓW MIĘSNYCH

Streszczenie

W pracy przedstawiono charakterystykę tłuszczów zwierzęcych, które po mięsie stanowią, podstawową grupę surowców wykorzystywanych w przemyśle mięsnym. Przedstawiono ich rolę żywieniową oraz technologiczną. Opisano przykłady zastosowania olejów roślinnych w modyfikacji profilu kwasów tłuszczowych tak surowca mięsnego jak i przetworów mięsnych, celem poprawy ich wartości żywieniowej. Efekt ten można uzyskać na drodze genetycznej lub żywieniowej, gdyż ilość i jakość tłuszczu w tuszy w znacznym stopniu zależy od składu komponentów paszowych w diecie. Zastosowanie nasion roślin oleistych lub olejów w żywieniu tuczników i drobiu, w istotny sposób wpływa na skład kwasów tłuszczowych tłuszczu zapasowego i lipidów mięsa. W produkcji wybranych asortymentów przetworów mięsnych sposobem na zwiększenie udziału sprzężonych dienów kwasu linolowego może być stosowanie dodatku preparatu CLA na etapie procesu produkcji.

USE OF VEGETABLE OILS IN MODIFYING THE FAT FATTY ACID PROFILE OF MEAT AND MEAT PRODUCTS

Abstract

The paper presents the characteristics of animal fats, which are, after the meat, the primary group of raw materials used in the meat industry. The paper presents their nutritional and technological role. The examples of the use of vegetable oils in the modification of the fatty acid profile of raw meat and meat products, in order to improve their nutritional value were described. This can be achieved genetically or nutritionally, since the quantity and quality of fat in the carcass in a large extent depends on the composition of feed components in the diet. The use of oilseeds and oils in feeding pigs and poultry, has an important impact on the fatty acid composition of stored fat and lipids of meat. In the production of selected assortments of meat the way to increase the share of conjugated linoleic acid may be an addition of the CLA preparation during the stage of the production process.

Wprowadzenie

W procesie produkcji wielu przetworów mięsnych stosuje się recepturowy dodatek tłuszczów zwierzęcych, bogatych przede wszystkim w nasycone kwasy tłuszczowe. Poprawę jakości i profilu składu kwasów tłuszczowych w przetworach mięsnych można uzyskać poprzez dodatek, różnorodnych zamienników tłuszczu zwierzęcego z grupy sacharydów lub/i olejów roślinnych. Dodatek olejów roślinnych do produktów mięsnych poza korzystnym korygowaniem ich wartości żywieniowej może też spełniać rolę dodatku funkcjonalnego. Uzyskane efekty zależne są od m.in. rodzaju oleju, stopnia jego wymiany w stosunku do tłuszczu zwierzęcego, parametrów procesów technologicznych [Makała, 2007; Słowiński i Jankiewicz, 2010].

Charakterystyka tłuszczów zwierzęcych

Tłuszcze zwierzęce stanowią po mięsie, podstawową grupę surowców wytwarzanych i wykorzystywanych w przemyśle mięsnym. W produkcji przetworów mięsnych odgrywają one kluczową rolę w kształtowaniu tekstury otrzymywanych produktów, wpływają na ich wartość odżywczą i profil sensoryczny. Ilość i jakość surowca tłuszczowego uzyskiwanego ze zwierząt rzeźnych uzależniona jest od wielu czynników, takich jak: warunki chowu i żywienia zwierząt, genotyp, wiek i płeć zwierzęcia, lokalizacja tkanki tłuszczowej. Udział zawartości poszczególnych składników chemicznych, jak: białka, wody, tłuszczu, kwasów tłuszczowych, witamin i cholesterolu należą do czynników decydujących o wartości odżywczej, dietetycznej i przydatności technologicznej tłuszczu [Bartnikowska, 2008; Cardenia i in., 2011].

Jakość technologiczna tkanki tłuszczowej, jak: konsystencja, spoistość, jędrność oraz wrażliwość na oksydację decydują o jej przydatności do przetwarzania. Trudne jest uzyskanie dobrej jakości jednocześnie w zakresie wartości żywieniowej, technologicznej i sensorycznej. Tkanka tłuszczowa powinna mieć białą barwę, jędrną konsystencję i odznaczać się stabilnością w stosunku do czynników utleniających [Krasnowska i Salejda, 2008]. Jędrną, twardą słoninę z karku i grzbietu należy przeznaczać na wędliny surowe twarde, mniej jędrną, miękką słoninę grzbietu – na wędliny surowe miękkie, cienką słoninę na wędliny parzone, tłuszcz drobny twarty i podgardlany – na wszystkie wędliny parzone, tłuszcz drobny miękki – do wytopu smalcu [Pezacki, 1984].

Dla prawidłowego funkcjonowania organizmu człowieka istotne jest zachowanie właściwego stosunku PUFA z grupy n-6 i n-3, który powinien wynosić 4-6:1. Rekomendowany przez żywieniowców stosunek zawartych w diecie kwasów tłuszczowych omega-6 do omega-3 wynosi 5:1-3:1. W diecie współczesnego społeczeństwa stosunek ten wynosi 15:1-20:1 i jest znacznie wyższy od rekomendowanego. Zatem żywność wzbogacona w kwasy tłuszczowe z rodziny

omega – 3 powodowałyby korzystne skutki w diecie współczesnych społeczeństw [Kolanowski, 2007; Rycielska i Słowiński, 2012].

Pokrycie zapotrzebowania na PUFA z grupy n-6 nie stanowi problemu, dobrym źródłem tych kwasów są między innymi oleje roślinne. Dzisiejsza dieta deficytowa jest natomiast w PUFA z grupy n-3, zwłaszcza DHA i EPA. Spożycie ich jest zbyt niskie, co przynosi bardzo niekorzystne następstwa zdrowotne. Dobrym sposobem podniesienia udziału tych składników w diecie, bez radykalnej zmiany nawyków żywieniowych, jest wzbogacanie powszechnie spożywanych produktów spożywczych olejem roślinnym lub preparatami oleju rybiego [Makala i Kern-Jędrzychowski, 2006; Bartnikowska, 2008; Waszkiewicz-Robak i Piotrowska, 2005].

Istnieją również przeciwstawne teorie dotyczące wzbogacania produktów żywnościowych w kwasy z rodziny n-3, które mówią, iż wzbogacanie w te kwasy nie jest zalecane z uwagi na procesy utleniania i metabolizm, co w związku z tym ma bardzo duże ograniczenia w ich stosowaniu do żywności [Przysławski i Bolesławska, 2006].

Wzbogacanie mięsa i przetworów mięsnych w kwasy tłuszczowe

Mięso stanowi cenne źródło wielu składników żywieniowych i jest dobrym surowcem do produkcji żywności wzbogaconej w składniki mające pozytywny wpływ na zdrowie człowieka. Modyfikacja składu kwasów tłuszczowych mięsa przez wzbogacanie go w kwasy tłuszczowe z rodziny omega – 3 może poprawić jego wartość odżywczą. Do zalet tego sposobu interwencji żywieniowej zalicza się między innymi wysoką efektywność prewencyjną, możliwość długotrwałego oddziaływania, łatwość standaryzacji i kontroli, opłacalność ekonomiczną [Brzozowska, 2001; Dzięcioł i Przysławski, 2013].

Poprawa jakości zdrowotnej spożywczych produktów zwierzęcych jest jednym z głównych wyzwań stojących przed naukami zootechnicznymi i stanowić będzie w coraz większym stopniu o pozycji rynkowej tych produktów i w konsekwencji o egzystencji hodowców. Głównymi postulatami konsumentów formułowanymi pod adresem mięsa przeżuwaczy jest minimalizacja zawartości tłuszczu i cholesterolu oraz poprawa profilu kwasów tłuszczowych, w tym zwiększenie zawartości CLA, ważnego czynnika zdrowotnego [Oprządek i Oprządek, 2003].

Zmian w składzie kwasów tłuszczowych mięsa można dokonywać już na etapie chowu zwierząt, uzyskując surowiec o wyższej wartości odżywczej lub o cechach żywności funkcjonalnej. Modyfikacje takie można osiągać także przez krzyżowanie zwierząt w obrębie gatunku jak również poprzez żywienie paszą zawierającą pożądane żywieniowo składniki. Innym sposobem wzrostu udziału w diecie niezbędnych nienasyconych kwasów tłuszczowych z rodziny omega-3, który nie powoduje zmian w nawykach żywieniowych, może być wzbogacanie produktów mięsnych olejem

roślinnym oraz rybim i/lub zamiana tłuszczu zwierzęcego na tłuszcz roślinny. Tłuszcz zwierząt rzeźnych korzystnie wpływa na właściwości gotowego produktu, m.in. smakowość, wygląd i konsystencję. Zastąpienie go olejem roślinnym lub rybim nie jest łatwe bez zmiany jakości gotowego produktu [Kowalski i Pyrcz, 2009; Nitsch, 2007; Pelser i in., 2007; Rycielska i Słowiński, 2012].

O przydatności tych olejów do polepszenia walorów zdrowotnych tłuszczu w wyrobach mięsnych innych grup asortymentowych świadczą wyniki badań dotyczące m.in. kielbas parzonych i dojrzewających. Działania takie nie powinny jednak skutkować obniżeniem jakości i trwałości przetworów mięsnych. Jedną z metod poprawy stabilności oksydacyjnej lipidów i jakości mikrobiologicznej produktów wzbogaconych w oleje jest zastosowanie przeciwutleniaczy pochodzenia roślinnego [Makała i Kern-Jędrzychowski, 2006, 2007; Makała, 2007; Makała i in., 2007; Lopéz-Lopéz i in., 2009].

Badania Rycielewskiej i Słowińskiego [2012] wykazały iż wymiana podgardla wieprzowego olejem rzepakowym tłoczonym na zimno powodowała poprawę stabilności oksydacyjnej oraz stosunku kwasów tłuszczowych omega – 6 do omega – 3 w modelowych kielbasach homogenizowanych bezpośrednio po wytworzeniu i po 21-dniowym przechowywaniu. Autorzy wykazali, iż w kielbasach homogenizowanych maksymalna ilość wymienianego podgardla olejem rzepakowym nie powinna przekraczać 25% (przy dodatku tłuszczu na poziomie 20%). Zapewnia to wytworzenie produktów nie wykazujących istotnego pogorszenia jakości technologicznej i sensorycznej.

Modzelewska-Kapituła i in. [2012], oceniając wpływ częściowego zastąpienia słoniny olejem rzepakowym na skład chemiczny, właściwości fizyczne i organoleptyczne modelowych drobno rozdrobnionych wyrobów mięsnych stwierdzili, iż zamiana tłuszczu zwierzęcego na olej rzepakowy nie spowodowała zmian wartości pH wyrobów ani parametrów barwy, wpłynęła natomiast na twardość, sprężystość, żuwalność i gumowatość oraz konsystencję i związanie wyrobów.

Choi i in. [2010] stwierdzili, że możliwe jest zastąpienie słoniny olejem rzepakowym w ilości do 25% bez niekorzystnego wpływu na parametry jakościowe wyrobów. Pyrcz i in. [2007] wykazali, że w produkcji parówek 50% substytucji słoniny olejem rzepakowym nie wpływa na zmianę atrybutów sensorycznych, takich jak smak, zapach, kolor i konsystencję wyrobów. Pelser i in. [2007] zauważyli jednak, że wyższe wyniki ogólnej akceptacji uzyskano dla kielbas kontrolnych, w porównaniu do produktów, w których 20% słoniny zastąpiono olejem lnianym.

Cegiełka [2012] wykazała, iż w recepturze burgerów drobiowych możliwa jest wymiana 20% podgardla olejami roślinnymi z jednoczesnym dodatkiem wybranego preparatu błonnika spożywczego: inuliny lub błonnika pszennego. Zastosowane modyfikacje recepturowe skutkowały polepszeniem wartości żywieniowej burgerów,

zmniejszoną zawartością tłuszczu, korzystniejszymi żywieniowo proporcjami kwasów tłuszczowych.

Badania Makaty i Jerzewskiej [2008] wykazały, iż modelowe wyroby mięsne, do których w składzie surowcowym użyto tłuszczu twardego (słoniny) czy też podgardla charakteryzowały się wysokim stosunkiem PUFA n-6 : PUFA n-3, wynoszącym odpowiednio 6,62 oraz 7,91. Dodatek oleju lnianego spowodował korzystną żywieniowo zmianę proporcji PUFA n-6 : PUFA n-3, przynoszącą spadek odpowiednio do wartości 2,87 oraz 4,72. Do podobnych spostrzeżeń doszedł również Kühne [2000], który wykazał, że dodatek ziaren lnu w ilości odpowiednio 10 i 4 g/kg w żywieniu świń spowodował obniżenie proporcji kwasów tłuszczowych z rodziny n-6 i n-3 z 8,1 do poziomu 2,5.

WNKT dodane do przetworów mięsnych podlegają podczas przechowywania przemianom nagromadzonych hydroksynadtlenków we wtórne produkty oksydacji (aldehydy, ketony), wpływające na wartość współczynnika Totox [Jerzewska, 1991]. Dla ograniczenia natężenia przemian oksydacyjnych należy zastosować dodatek antyoksydantów, pochodzących na przykład z przypraw, co potwierdzają między innymi badania przeprowadzone przez Oberdicka [2004] oraz Szczepaniaka [2007].

Możliwości podniesienia zawartości CLA w mięsie

Obok kształtowania pożądanego poziomu składu kwasów tłuszczowych w mięsie istotnym czynnikiem prozdrowotnym jest wzrost mięsności tusz i zmniejszenie poziomu ich otłuszczenia. Efekt ten można uzyskać na drodze genetycznej lub żywieniowej, gdyż ilość i jakość tłuszczu w tuszy w znacznym stopniu zależy od składu komponentów paszowych w diecie. Zastosowanie w dawkach dla tuczników nasion roślin oleistych lub olejów, w istotny sposób wpływa na skład kwasów tłuszczowych tłuszczu zapasowego i lipidów mięsa. Wzbogacenie lipidów tkanki mięśniowej w wielonienasycone kwasy tłuszczowe (PUFA) szczególnie należące do rodziny n-3, poprawia walory dietetyczne mięsa wieprzowego. Macierzystą formą PUFA n-3 jest kwas alfa – linolenowy (C18:3 n-3), zaś najbogatszym jego źródłem są pełnotłuste nasiona lnu, gdzie kwas ten może stanowić od 52 do 58% sumy kwasów tłuszczowych [Alonso i in., 2012; Hur i in., 2007; Migdał i in., 2008].

Wzbogacanie lipidów tkanki mięśniowej w WNKT (PUFA) szczególnie należące do rodziny n-3 poprawia walory dietetyczne mięsa wieprzowego [Grzeškowiak i in., 2008]. W wyniku przeprowadzonych badań stwierdzono, iż wprowadzenie w żywieniu tuczników do mieszanek pokarmowych dodatku 5 i 7,5% preparatu oleju lnianego w okresie 60 dni przed ubojem miało wpływ na zmniejszenie otłuszczenia podskórnego tusz oraz korzystny wpływ zastosowanego preparatu na wartość dietetyczną surowca.

Żywienie zwierząt paszami o wysokiej zawartości nienasyconych kwasów tłuszczowych powoduje wzrost ich zawartości w produktach mlecznych i mięsnych i przez to zwiększenie ich podatności na utlenianie [Migdał i in., 2008]. Skuteczną metodą zabezpieczenia tak zmodyfikowanej żywności przed utlenianiem jest suplementacja dawki zawierającej komponenty oleiste witaminą E, tj. najskuteczniejszym antyoksydantem. Stosowanie bogatych w tą witaminę dobrej jakości zielonek (pastwiska) lub suplementacji dawek dodatkami syntetycznymi witaminy E działa korzystnie nie tylko na jakość oraz wartość odżywczą produktów ale również na stan zdrowotny zwierząt i ich produktywność. W odniesieniu do tuczonych jagniąt i uzyskiwanego z nich mięsa potwierdziły to badania Borysa i in. [2012] oraz Wood i in. [2003, 2008].

Uzyskanie mięsa drobiowego o podwyższonej wartości żywieniowej poprzez stosowanie odpowiednio opracowanych mieszanek paszowych, wzbogaconych w KT z rodziny n-3 badali m.in. Osek i in. [2006] oraz Janocha i Milczarek [2006]. Wykazano korzystny wpływ różnych dawek wit. E na udział poszczególnych KT w lipidach mięsa. Wysoki poziom wit. E podawanej w paszy brojlerów zmodyfikował w znacznym stopniu skład chemiczny mięsa kurcząt brojlerów w kierunku prozdrowotnym, zmniejszając w nim ilość tłuszczu surowego i kwasów hipercholesterolemicznych (OFA), natomiast obniżył jego walory smakowe.

Zainteresowanie stosowania dodatku preparatów CLA w żywieniu trzody chlewnej wynika zarówno z chęci uzyskania surowca o zwiększonej zawartości sprzężonych dienów kwasu linolowego i związanym z tym działaniu prozdrowotnym, jak i z potencjalnym wpływem na redukcję zawartości tłuszczu w tuszy [Bourre, 2007; Cordero i in., 2010; Grela i Winiarska, 1999]. Przypuszcza się, że jego dodatek do paszy trzody chlewnej może wpływać na obniżenie otłuszczenia tuszy, w tym również przetłuszczenia śródmięśniowego. Zagadnienie to jest bardzo istotne, ponieważ zmniejszenie otłuszczenia i wzrost mięsności tusz są bardzo pożądane zarówno ze względów ekonomicznych jak i zdrowotnych. Jednak dotychczasowe wyniki badań dotyczące wpływu CLA na zawartość tłuszczu w tuszy nie są jednoznaczne [Piotrowska i in., 2012].

Podsumowanie

Oleje roślinne pełnią istotną rolę w modyfikowaniu profilu kwasów tłuszczowych zarówno tłuszczu mięsa jak i przetworów mięsnych, celem poprawy ich wartości żywieniowej. W diecie żywieniowej dominują kwasy z rodziny n-6, dieta jest uboga w kwasy tłuszczowe z rodziny n-3 i dlatego też każde wzbogacenie w tę grupę aktywnych składników produktów spożywczych jest pożądane, zarówno na etapie hodowli i pozyskiwania surowca jak i przetwórstwa.

Literatura

1. Alonso V., Najes L.M., Provincial L., Guillén E., Gil M., Roncalés P., Beltrán J.A. Influence of dietary fat on pork eating quality. *Meat Science*, 2012, 92 366-373.
2. Bartnikowska E. Fizjologiczne działania polienowych kwasów tłuszczowych z rodziny n-3. *Tłuszcze Jadalne*, 2008, 43, 1/2, 10-15.
3. Borys B., Borys A., Grześkowiak E. Wpływ żywienia jagniąt makuchem słonecznikowym i nasionami lnu bez lub z suplementacją witaminą E na jakość mięsa. *Postępy Nauki i Technologii Przemysłu Rolno-Spożywczego*, 2012, 67, 2, 104-113.
4. Bourre J.M. Dietary omega-3 fatty acids for women. *Biomed. Pharmacother.*, 2007, 61, 105-112.
5. Brzozowska A. Wzbogacanie żywności i suplementacja diety składnikami odżywczymi – korzyści i zagrożenia. Referat prezentowany podczas Konferencji Naukowej „Analiza ryzyka zdrowotnego żywności – czynniki żywieniowe”, SGGW, Warszawa 2001.
6. Cardenia, V., Rodriguez-Estrada, M. T., Cumella, F., Sardi, L., Della Casa, G., & Lercker, G. Oxidative stability of pork meat lipids as related to high-oleic sunflower oil and vitamin E diet supplementation and storage conditions. *Meat Science*, 2011, 88, 271-279.
7. Cegiělka A. Zastosowanie olejów roślinnych i preparatów błonnikowych do produkcji burgerów z mięsa kurcząt. *ŻYWNOSĆ. Nauka. Technologia. Jakość*, 2012, 3 (82), 88-100.
8. Choi Y.S., Choi J.H., Han D.J., Kim H.Y., Lee M.A., Kim H.W., Lee J.W., Chung H.J., Kim C.J. Optimization of replacing pork back fat with grape seed oil and rice bran fiber for reduced-fat meat emulsion systems. *Meat Sci.*, 2010, 84, 212-218.
9. Cordero G., Isabel B., Menoyo D., Daza A., Morales J., Piñeiro C., López-Bote C.J. Dietary CLA 12:1AT/12:1ers intramuscular 12:1AT and fatty acid composition of pig skeletal muscle and subcutaneous adipose tissue. *Meat Sci.*, 2010, 85 (2), 235-239.
10. Dzięcioł M., Przysławski J. Ocena wartości odżywczej i aktywności biologicznej wybranych olejów roślinnych dostępnych na rynku polskim w kontekście profilaktyki chorób dietozależnych. *Bromat. Chem. Toksykol.*, 2013, XLVI, 1, 20-26.
11. Grela E., Winiarska A. Czynniki warunkujące wartość odżywczą tłuszczu świń, *Trzoda Chlewna*, 1999, 66-69.
12. Grześkowiak E., Zając T., Borzuta K., Zając P., Tratwal Z., Lisiak D., Strzelecki J. Badanie wpływu dodatku do paszy świń preparatu z oleju z nasion lnu na wartość

- rzeźną tusz oraz jakość mięsa i tłuszczu. Roczniki Instytutu Przemysłu Mięsnego i Tłuszczowego, 2008, XLVI/2, 7-20.
13. Hur S.J., Park G.B., Joo S.T. Biological activities of conjugated linoleic acid (CLA) and effects of CLA on animal products. *Livestock Science*, 2007, 110 (3), 221-229.
 14. Janocha A., Milczarek A. Wpływ diety złożonej z surowców roślinnych na wydajność rzeźną i profil kwasów tłuszczowych mięsa kurcząt brojlerów. *Roczniki IPMiTł*, 2006, XIV/1, 71-79.
 15. Jerzewska M. Wprowadzenie metody oznaczania liczby anizydynowej i współczynnika Totox w olejach roślinnych i tłuszczach do krajowej praktyki laboratoryjnej, *Roczniki Instytutu Przemysłu Mięsnego i Tłuszczowego*, 1991, 28, 107-119.
 16. Kolanowski W. Długołańcuchowe wielonienasycone kwasy tłuszczowe omega-3 – znaczenie zdrowotne w obniżaniu ryzyka chorób cywilizacyjnych. *Bromat. Chem. Toksykol*, 2007, 3, 229-237.
 17. Kowalski R., Pyrcz J. Innowacyjne dodatki technologiczne w przemyśle mięsnym. *Przem. Spoż.*, 2009, 3 (63), 28-32.
 18. Kühne D. Aktuelles aus der internationalen Fleischforschung. Fütterung von Leinsaat zur Errholung des Gehalts an Omega-3 Fettsäuren in Schweinfett – Fleischwirtschaft, 2000, 6, 81-83.
 19. Krasnowska G., Salejda A. Wybrane cechy jakościowe tłuszczu pochodzącego z tusz tuczników różnych grup genetycznych. *ŻYWNOSĆ. Nauka. Technologia. Jakość*, 2008, 2(57), 95-105.
 20. Lopéz-Lopéz I., Cofrades S., Jimenéz-Colmenero F. Low-fat frankfurters enriched with n-3 PUFA and edible seaweed: Effect of olive oil and chilled storage on physicochemical, sensory and microbial characteristics. *Meat Sci.*, 2009, 83, 148-154.
 21. Makała H., Kern-Jędrychowski J. Ocena modelowych przetworów mięsnych z dodatkiem olejów z ryb w aspekcie charakterystyki profilu kwasów tłuszczowych i przebiegu zmian oksydacyjnych. *Roczniki Przemysłu Mięsnego i Tłuszczowego*, 2006, XLIV/2, 95-106.
 22. Makała H., Kern-Jędrychowski J. Rola surowca tłuszczowego w modelowych przetworach mięsnych w kształtowaniu tekstury i jakości sensorycznej. *Roczniki Przemysłu Mięsnego i Tłuszczowego*, 2007, XLV/2, 95-106.
 23. Makała H. Effect of enriching model meat products with oils, abundant in polyunsaturated fatty acids on the selected quality parameters. *Electronic Journal of Polish Agricultural Universities*, 2007, 10, 2.

24. Makąła H., Kern-Jędrychowski J., Jerzewska M. Wpływ surowców tłuszczowych na charakterystykę profilu kwasów tłuszczowych w modelowych emulsjach. *Tłuszcze Jadalne*, 2007, 42, 1/2, 102-110.
25. Makąła H., Jerzewska M. Charakterystyka jakości modelowych przetworów mięsnych zawierających dodatek mono i polienowych kwasów tłuszczowych. *Tłuszcze Jadalne*, 2008, 43, 3/4, 99-110.
26. Migdał W., Pieszka M., Barowicz T., Janik A., Wojtysiak D., Pustkowiak H., Nowak J., Koziół A. Modyfikowanie profilu kwasów tłuszczowych mięsa zwierząt rzeźnych – za i przeciw. *Roczniki Instytutu Przemysłu Mięsnego i Tłuszczowego*, 2008, 46 (1), 111-123.
27. Modzelewska-Kapituła M., Ostoja H., Cierach M. Influence of rape-seed oil on sensory and textural properties of model comminuted meat products. *Nauka Przyr. Technol.*, 2012, 6, 2, 32.
28. Nitsch P. Auf die Mischung kommt es an. Omega-3-Fettsäuren als funktioneller Zusatz In Fleischerzeugnissen. *Fleischwirtschaft*, 2007, 2 (87), 46-51.
29. Oberdick R. Natürliche Antioxidanten aus Rosmarin und Salbei. *Fleischwirtschaft*, 2004, 10, 91-95.
30. Oprządek J., Oprządek A. Mięso i produkty mięsne jako żywność funkcjonalna. *Przegl. Hod.*, 2003, 2, 29-31.
31. Osek M., Milczarek A., Janocha A., Turyk Z. Jakość mięsa kurcząt brojlerów żywionych mieszankami z olejem lnianym i różnym dodatkiem witaminy E. *Roczniki IPMiTł*, 2006, XIV/1, 207-216.
32. Pelsler W.M., Linsen J.P.H., Legger A., Houben J.H. Lipid oxidation in n-3 fatty acid enriched Dutch style fermented sausages, *Meat Sci.*, 2007, 75, 1-11.
33. Pezacki W. Przetwarzanie jadalnych surowców rzeźnianych. PWN, Warszawa 1984, 173-176.
34. Piotrowska A., Świąder K., Waszkiewicz-Robak B., Świdorski F. Ocena możliwości zwiększenia zawartości sprzężonych dienów kwasu linolowego (CLA) w mięsie i przetworach mięsnych. *Rocz Państw Zakł Hig*, 2012, 63, 3, 265-271.
35. Pyrcz J., Kowalski R., Danyluk B. Jakość kutrowanych kiełbas parzonych produkowanych udziałem tłuszczów roślinnych *Med. Wet.*, 2007, 63, 118-122.
36. Rycielska J., Słowiński M. Próba zastąpienia tłuszczu zwierzęcego olejem rzepakowym w kiełbasach homogenizowanych. *Acta Agrophysica*, 2012, 19(1), 123-132.
37. Przysławski J., Bolesławska I. Tłuszcze pokarmowe – czynnik terapeutyczny czy patogenetyczny. *Tłuszcze jadalne*, 2006, 41, 3/4, 179-192.
38. Słowiński M., Jankiewicz L. Mięso i przetwory mięsne żywnością funkcjonalną. *Gospodarka Mięsna*, 2010, 62 (4), 10-13.

39. Szczepanik G. Wpływ ekstraktów kopru, podbiału, rozmarynu, skrzypu, szałwii i tymianku na hamowanie utleniania lipidów wyekstrahowanych z tkanki mięśniowej kurcząt i indyków. *ŻYWNOŚĆ. Nauka. Technologia. Jakość*, 2007, 4 (53), 89-98.
40. Waszkiewicz-Robak B., Piotrowska A. Możliwości wzbogacenia olejów tłoczonych na zimno w wielonienasycone kwasy tłuszczowe z grupy n-3. *Annales Universitatis Mariae Curie - Skłodowska Lublin – Polonia*, 2005, LX, SUPPL. XVI, 603, SECTIO D.
41. Wood J.D., Richardson R.I., Nute G.R., Fisher A.V., Campo M.M., Kasapidou E., Sheard P.R., Enser M. Effect of fatty acids on meat quality: a review. *Meat Science*, 2003, 66, 21-32.
42. Wood J.D., Enser M., Fisher A.V., Nute G.R., Sheard P.R., Richardson R.I., Huges S.I., Whittington F.M. Fat deposition, fatty acid composition and meat quality: A review. *Meat Science*, 2008, 78, 343-358.

ENZYMY HYDROLITYCZNE Z GRUPY KWAŚNYCH GLIKOZYDAZ WYSTĘPUJĄCE W MLECZKU PSZCZELIM

Streszczenie

W mleczku pszczelim stwierdzono obecność kilku enzymów z grupy kwaśnych glikozydaz dotychczas nie opisanych. Mleczko pobierano z mateczników w pierwszych trzech dniach rozwoju larw (mleczko I) oraz później w okresie od czterech do pięciu dni rozwoju larw (mleczko II). Optima pH badanych glikozydaz wskazują, że w większości przypadków podwyższona aktywność enzymów wystąpiła w zakresie pH od 5,0 do 5,5 i niższym, co wskazuje na ich lizosomowe pochodzenie. Aktywność badanych kwaśnych glikozydaz wyrażona w nmolach rozłożonego substratu/min/1cm³ mleczka, wynosiła w mleczku I: dla α -mannozydazy 129,6±15,2; β -N-acetylo-D-heksozaminidazy 32,64±7,24; β -glukozydazy 18,02±7,02; α -glukozydazy 9,12±5,19; α -galaktozydazy 5,28±2,6; β -galaktozydazy 5,28±0,88; β -mannozydazy 1,44±0,4 i α -fukozydazy 4,32±2,2, natomiast w mleczku II odpowiednio: 96,24±7,28; 148,8±25,09; 34,08±6,34; 41,04±25,19; 34,32±7,05; 56,16±15,02; 20,4±5,02; 77,28±15,15. Wszystkie aktywności enzymów w mleczku I różniły się od aktywności w mleczku II istotnie statystycznie przy $P < 0,01$.

Badane kwaśne glikozydazy są z dużym prawdopodobieństwem wydzielane do mleczka przez gruczoły podgardzielowe pszczoł. Podwyższona aktywność tych enzymów w mleczku później zbieranym może wynikać ze stopniowej akumulacji składników mleczka (w tym kwaśnych glikozydaz) w wyniku częstego dostarczania pokarmu larwom. Składniki pokarmowe mleczka (glikoproteiny i glikolipidy) są przez glikozydazy prawdopodobnie modyfikowane pod kątem zwiększenia ich przyswajalności przez larwę.

Słowa kluczowe: mleczko pszczele, kwaśne glikozydazy, aktywność, optimum pH

Wstęp

W ostatnich latach obserwuje się wzrost zainteresowania badaczy i części konsumentów żywnością, która pozwala zachować zdrowie i zredukować ryzyko rozwoju pewnych chorób. Mówi się o żywności funkcjonalnej, znanej także jako żywność terapeutyczna, medyczna czy super żywność [Nagai i Inoue, 2004]. Rynek funkcjonalnej żywności wzrasta rocznie o 15 do 20% [Hilliam, 2000]. Żywność funkcjonalna może być naturalna albo otrzymywana przez modyfikację jednego lub więcej komponentów

podstawowych. Wiele składników może być też dodawanych m.in. kwasy tłuszczowe ω -3, witaminy, probiotyki, symbiotyki, bioaktywne peptydy i in. [Viuda-Martos i in., 2008]. Pośród żywności funkcjonalnej szczególne miejsce zajmują produkty pszczele takie jak: miód, propolis oraz mleczko pszczele (Royal Jelly – RJ) .

Mleczko pszczele było i jest stosowane w tradycyjnej medycynie i jest komercyjnie dostępne jako „zdrowa” żywność i kosmetyki w wielu krajach, szczególnie w Chinach i Japonii [FAO, 1996]. Właściwości prozdrowotne mleczka pszczelego były dokładnie badane i świadczą o aktywności fizjologicznej tego produktu. Mleczko pszczele wpływa na rozszerzanie naczyń krwionośnych oraz obniża ciśnienie, działa antyrakowo, przeciwwzakaźnie, przeciwalergicznie, a także przeciwdziała zmęczeniu i przyspiesza gojenie się ran [Viuda-Martos i in., 2008].

Mleczko pszczele jest wydzieliną gruczołów podgardzielowych pszczół robotnic, w okresie kiedy są karmicielkami tj. od 5 do 14 dnia życia. Mleczkiem pszczelim karmione są wszystkie larwy w rodzinie pszczelej przez pierwsze 3 dni życia, a matka pszczela w okresie całego stadium larwalnego oraz w okresie czerwienia, co pozwala jej sezonowo składać nawet 2500 jaj na dobę i żyć kilka lat .Trutnie także są odżywiane mleczkiem pszczelim żeby mogły być aktywne płciowo. Rozwój gruczołów podgardzielowych zależy w dużym stopniu od spożywania pyłku kwiatowego, który jest bogatym źródłem białka. Mleczko różni się składem w zależności od tego jaki rodzaj larw karmią pszczoły: inne jest dla larw matek pszczelich, inne dla larw trutni, a inne dla larw pszczół robotnic. Zależy również od rodzaju pyłku kwiatowego jakim odżywiają się pszczoły karmicielki. Mleczko pszczele jest substancją o konsystencji półpłynnej śmietany i barwie kremowej, lekko gorzkim i cierpkim smaku oraz zapachu trudnym do określenia. Mleczko jest dobrze rozpuszczalne w wodzie, soli fizjologicznej, alkoholu i eterze etylowym, acetonie. Ma ono odczyn kwaśny, a jego pH wynosi od 4,1 do 4,8 [Wojtacki, 1988].

Chemicznie, mleczko pszczele składa się z wody (50-60%), białek (18%), węglowodanów (15%), lipidów (3-6%), soli mineralnych (1,5%) oraz dużej liczby substancji bioaktywnych (jak np. kwas 10-hydroksy-2-transdecenowy, o właściwościach immunomodulujących) [Viuda-Martos i in., 2008]. Mleczko ma także naturalny potencjał antyoksydacyjny (związki fenolowe) wzmocniony przez synergistyczne działanie dwóch enzymów: oksydazy glukozowej i katalazy [Rajalakshim i Narashimha, 1996].

Białka stanowią frakcję o największym udziale w składzie procentowym suchej masy mleczka. Białka występujące w mleczku dzieli się na: biorące udział w syntezie białek (także glikoprotein), uczestniczące w metabolizmie węglowodanów, związane z procesami utleniania i redukcji, biorące udział w metabolizmie i transporcie lipidów i t.d. [Han i in., 2011]. Według tych autorów, białka zaangażowane w metabolizm węglowodanów (takie jak np. oksydaza glukozowa, α -glukozydaza czy α -amylaza)

stanowią 17% wszystkich białek, w procesy red-ox 10%, hydrolazy 9,8%, białka wiążące 7%, a pozostałe około 2% .

Należące do hydrolaz glikozydazy, są enzymami ściśle związanymi z biogenezą, transportem i katabolizmem glikokonjugatów. Stanowią one zróżnicowaną grupę enzymów, z których wiele jest glikoproteinami. Glikozydazy katalizują odłączenie ściśle określonych monosacharydów od nieredukujących końców łańcuchów oligosacharydowych (egzoglikozydazy); inne hydrolizują specyficzne sekwencje cukrowe w obrębie łańcuchów oligosacharydowych (endoglikozydazy). Powyższe dotyczy również oligoglikanów związanych z lipidami (glikolipidów) oraz z białkami (glikoprotein). Enzymy te są specyficzne do stereoizomerów cukrów D lub L i do określonych wiązań glikozydowych, hydrolizując wyłącznie wiązania α - lub β -. Badane w tej pracy glikozydazy należą do egzoglikozydaz. Większość tych enzymów występuje powszechnie w wielu tkankach zwierząt oraz są wydzielane do płynów fizjologicznych [Skudlarek i in., 1992]. W komórkach glikozydazy występują w lizosomach, w aparacie Golgiego oraz w cytozolu. W zależności od ich lokalizacji mogą wykazywać różne optima pH. Glikozydazy występujące w lizosomach wykazują optima pH w zakresie kwaśnym (kwaśne glikozydazy).

Obecność niektórych kwaśnych glikozydaz została stwierdzona w ekstrakcie gruczołów podgardzielowych pszczół [Costa i Cruz-Landim, 2005]. Były to: α - i β -glukozydaza, β -galaktozydaza, α -mannozydaza oraz β -N-acetyloheksosaminidaza, natomiast nie stwierdzono aktywności α -galaktozydazy. W mleczku pszczelim natomiast wykazano obecność α -glukozydazy i glukocerebrozydazy [Han i in., 2011].

W tej pracy podjęto próbę oznaczenia aktywności następujących glikozydaz: α - i β -glukozydazy (α -GLU i β -GLU); α - i β -galaktozydazy (α -GAL i β -GAL); α - i β -mannozydazy (α -MAN i β -MAN); α -fukozydazy (α -FUC) oraz β -N-acetylo-D-heksosaminidazy (β -HEX).

Material i metody

Mleczko pszczele było zbierane w okresie maja i czerwca w prywatnej pasiece zlokalizowanej w Zalesiu (gmina Jeżowe) liczącej około 50 uli. Przed pobraniem, matecznik wydobywano w całości, rozcinano go i odsysano mleczko. Mleczko pobierano przy użyciu pipety (do gęstych cieczy), przenoszono do probówek Eppendorfa i przechowywano w lodówce (w temperaturze 4°C).

Mleczko, pobrane w okresie pierwszych trzech dni rozwoju larw, stanowiło materiał oznaczony jako „mleczko I”, natomiast pobrane w okresie późniejszym, to jest w czwartym i piątym dniu rozwoju larw, stanowiło materiał oznaczony jako „mleczko II”. Mleczko po dostarczeniu do laboratorium było najpierw przechowywano w lodówce (4°C), a następnie w temperaturze -18°C.

Aktywność kwaśnych glikozydaz była oznaczana metodą spektrofotometryczną wg. Barretta i Heatha (1977). Mieszanina inkubacyjna składała się z odpowiedniego substratu p-nitrofenyloglikozydowego rozpuszczonego w 0,2 M buforze cytrynianowym o optymalnym dla danego enzymu pH oraz z próbki odpowiednio rozcieńczonego mleczka. Stężenia substratów w mieszaninie inkubacyjnej wynosiły: dla β -HEX – 5,84 mM; dla α -FUC – 3,5 mM; zaś dla α - i β -GAL , α - i β -MAN oraz α - i β -GLU – 6,64 mM.

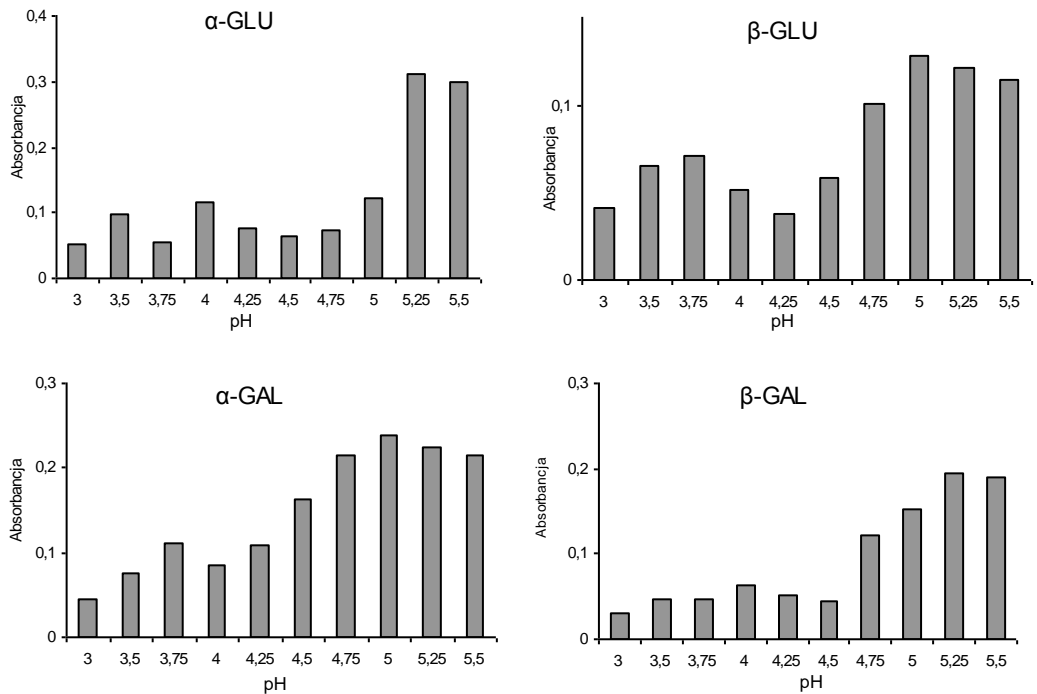
Próbki inkubowano w temperaturze 30°C przez 10–30 min., w zależności od aktywności enzymu. Reakcję zatrzymywano dodając 0,25M NaOH. Absorbancję uwolnionego p-nitrofenolu (p-NP) mierzono przy $\lambda = 400$ nm.

Przyjęto, że jednostką aktywności enzymatycznej (U) jest taka aktywność enzymu, która przekształca 1 μ mol substratu w czasie 1 min. w temperaturze 30°C. Aktywność enzymatyczną podawano w mU na 1 cm³ mleczka.

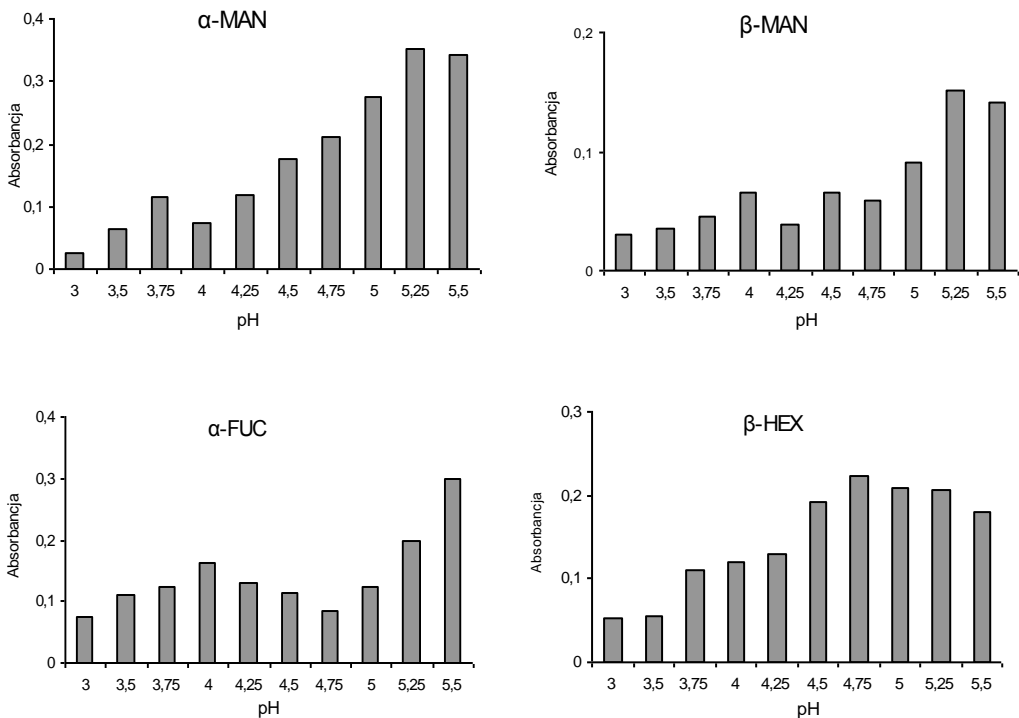
Optimum pH glikozydaz oznaczano inkubując próbki mleczka z odpowiednim substratem, 0.2 M buforem cytrynianowym w pH od 3,0 do 5,5 przez 10 – 30 min. w zależności od aktywności enzymu.

Do obliczeń statystycznych użyto program Statistica 8.0, Stat Soft, Inc., Tulsa, OK., USA.

Wyniki



Rys.1 Optima pH dla aktywności α - i β -GLU oraz α - i β -GAL. Przedstawiają one zależności aktywności glikozydaz (której miarą jest absorbancja mierzona przy $\lambda = 400$ nm) od pH środowiska reakcyjnego.



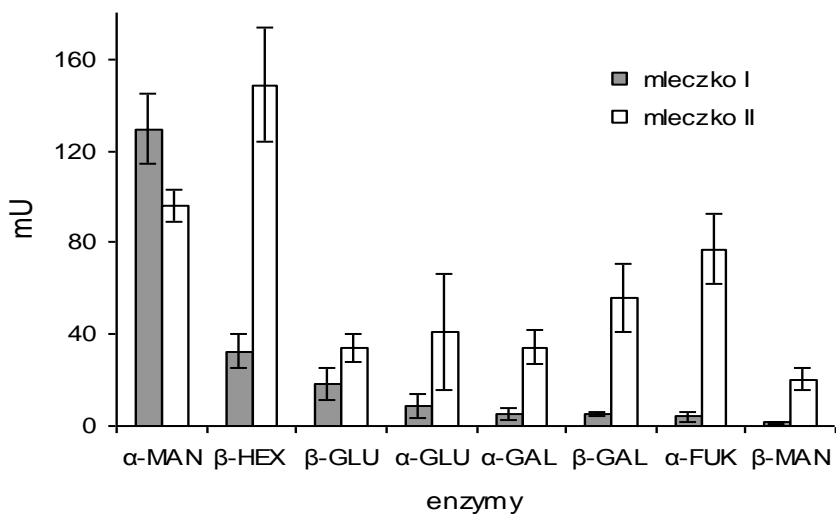
Rys. 2. Optima pH dla aktywności α - i β -MAN oraz α -FUC i β -HEX.

Rys. 1 i 2 przedstawiają zależność aktywności badanych glikozydaz od pH (w zakresie pH 3,0-5,5). Miarą aktywności jest w tym przypadku wartość absorbancji przy $\lambda = 400\text{nm}$ (A_{400}).

Najwyższe aktywności enzymów występowały w zakresie pH od 5,0 do 5,5. Większość badanych glikozydaz wykazywała również podwyższoną aktywność katalityczną przy niższych wartościach pH.

Rys. 3. przedstawia aktywność glikozydaz (w nanomolach p-NP/min/cm³ mleczka) w mleczku I oraz II. Pod względem malejącej aktywności, glikozydazy w mleczku I można uporządkować w szeregu: α -MAN > β -HEX > β -GLU > α -GLU > α -GAL \geq β -GAL > β -MAN > α -FUC, natomiast w mleczku II następująco: β -HEX > α -MAN > α -FUC > β -GAL > β -GLU > α -GAL > β -MAN.

Wszystkie aktywności badanych glikozydaz w mleczku II różnią się od aktywności enzymów w mleczku I istotnie statystycznie na poziomie $P < 0,01$.



Rys. 3. Uszeregowanie aktywności glikozydaz według malejącej aktywności w mleczku I (na tym tle przedstawiono aktywność w mleczku II). Dla każdego enzymu podano średnią \pm SE (n = 5)

Dyskusja

Enzymy hydrolityczne z grupy glikozydaz [EC.3.2.1-] dzieli się ze względu na optymalne pH działania oraz lokalizację w obrębie komórki. Ogólnie, glikozydazy występujące w siateczce endoplazmatycznej i w cytozolu działają w pH neutralnym; występujące w lizosomach w pH ok. 5,0 i niższym, a te z aparatu Golgiego działają w pH powyżej 5,0. Na przykład, występują trzy różne formy α -mannozydazy: forma kwaśna (lizosomowa) o optimum pH w zakresie 4,0-4,6, pośrednia (pochodząca z aparatu Golgiego) o optimum pH w zakresie 5,5-5,8 oraz neutralna (cytozolowa) wykazująca optymalną aktywność w pH 6,0-6,5 [Bergmayer, 1984]. Profile zależności aktywności badanych glikozydaz od pH mogą wskazywać na obecność w mleczku różnych form tego samego enzymu ale różniących się optimumami pH. Rozróżnienie tego typu form może być utrudnione ze względu na zachodzenie na siebie zbyt szerokich optimumów pH. Badane glikozydazy wykazywały podwyższoną aktywność zarówno w bardzo kwaśnym zakresie pH jak i w pH około 5,0, a także w pH zbliżonym do neutralnego (dane nie opublikowane). Aktywność badanych enzymów w pH około 5,0 i niższym wskazuje na obecność w mleczku pszczelim kwaśnych, lizosomowych form glikozydaz.

Zdolność wydzielania enzymów lizosomowych przez niektóre komórki do środowiska zewnętrznego jest dobrze udokumentowana [Dingle i in., 1984]. Dlatego różnego rodzaju płyny i wydzieliny ustrojowe, takie jak łzy [Skudlarek i in., 1992], nasienie [Droba i Droba, 1987; Droba, 1999] czy białko jaja [Droba i in., 2005] zawierają

liczne kwaśne glikozydazy. Normalnie, ilość enzymu wydzielonego przez komórkę jest niewielka i wynosi 5% całkowitej jego ilości na dobę [Skudlarek i in., 1992]. Podwyższone wydzielanie enzymów lizosomowych może występować w sposób naturalny, będąc konieczną funkcją pewnych komórek. Wydzielane przez komórki enzymy lizosomowe (i to w ilościach do 50%) mogą pochodzić z istniejących już w komórce lizosomów, mogą to również być formy niedojrzałe przekazywane do ziarnistości wydzielniczych. W zależności od rodzaju komórki i występujących uwarunkowań, komórka wykorzystuje jedną z tych możliwości albo obie [Holtzman, 1989]. W tym kontekście należy zwrócić uwagę na obecność w mleczku pszczelim dwóch glikozydaz lizosomowych (α -glukozydazy i α -glukocerebrozydazy) w postaci prekursorowej [Han i in., 2011]. Należy podkreślić, że w przeciwieństwie do proteinaz, prekursorowe formy glikozydaz zwykle wykazują znaczną aktywność katalityczną. Mleczko pszczele wykazuje odczyn kwaśny (pH w zakresie od 4,1 do 4,8) co stanowi doskonale warunki dla działania kwaśnych glikozydaz.

Natomiast obecność w mleczku pszczelim innych form glikozydaz, wykazujących aktywność w środowisku słabo kwaśnym czy neutralnym (a więc raczej nie pochodzących z lizosomów), jest mniej oczywista i wymaga osobnej interpretacji. W pracy dotyczącej nowo opisanych białek mleczka pszczelego [Han i in., 2011], w badaniach proteomicznych, stwierdzono w mleczku obecność białek typowo wewnątrzkomórkowych, nie podlegających wydzielaniu na zewnątrz. Były to m.in. białka biorące udział w syntezie białek. Została przedstawiona hipoteza, że procesowi sekrecji przez komórki gruczołów podgardzielowych pszczół, towarzyszy również rozpad pewnych komórek gruczołowych, co prowadzi do uwolnienia zawartych w nich białek do wydzielin tworzących mleczko. Zaproponowane przez autorów powyższej pracy wyjaśnienie wydaje się bardzo prawdopodobne, ponieważ w przypadku niektórych komórek sekrecyjnych takie zjawisko zachodzi nawet na dużą skalę (np. w gruczołach mlekowych). W ten sam sposób można wyjaśnić obecność ewentualnych nielizosomowych glikozydaz w badanym mleczku pszczelim. Obecność badanych w tej pracy enzymów (poza α -GAL) stwierdzona również w gruczołach podgardzielowych pszczół [Viuda-Martos i in., 2008], które prawdopodobnie wydzielają je do mleczka.

Najwyższą aktywność w ekstraktach gruczołów podgardzielowych pszczół (oznaczana w przybliżeniu przy zastosowaniu szacunkowego firmowego testu) stwierdzono w przypadku β -GLU (30 nmoli rozłożonego substratu) natomiast, w przypadku: α -GLU, β -GAL, α -MAN i β -HEX zaledwie 5 nmoli. Enzym α -FUC wykazywał najniższą aktywność (0–5 nmoli) [Costa, Cruz-Landim, 2005]. W mleczku pszczelim ten ranking aktywności jest odmienny, ponieważ stwierdzono wysokie aktywności α -MAN i β -HEX oraz dodatkowo wykazano aktywność α -GAL. Aktywności kwaśnych glikozydaz pochodzących z dwóch różnych źródeł, takich jak gruczoły

podgardzielowe oraz mleczko pszczele różnią się, bowiem enzymy lizosomowe mogą być przez różne komórki w różnym stopniu wydzielane do środowiska zewnętrznego [Skudlarek i in., 1992].

W komórce wiele białek (w tym enzymy lizosomowe) należy do glikoprotein. Podobnie, wiele lipidów posiada komponentę glikanową (np. glukocerebrozydy). Można przyjąć, że w mleczku pszczelim obecne są również inne niescharakteryzowane jeszcze składniki posiadające składnik glikanowy. Przykładem może być niedawno przebadane białko RJ-P1 o masie cząsteczkowej 57 kDa, które okazało się być glikoproteiną N-glikanową ulegającą rozkładowi w miarę przechowywania mleczka. Białko to może być wykorzystywane jako marker świeżości mleczka [Kamakura i in., 2001]. Jest ono podjednostką większego białka o masie cząsteczkowej 350 kDa, stymulującego proliferację ludzkich monocytów [Han i in, 2011; Kimura i in., 2003]. Przepuszcza się, że białko to może być zaangażowane w namnażanie i różnicowanie się komórek larwy pszczelej. Komponenta glikanowa białek i lipidów odgrywa znaczącą rolę w ważnych procesach fizjologicznych organizmu eukariotycznego [Varki i Lowe, 2009]. Poprzez modyfikację komponenty glikanowej glikokonjugatów, występujących w mleczku, glikozydazy mogą mieć wpływ na aktywację tych składników.

Aktywność badanych glikozydaz była znacznie wyższa w mleczku II niż w mleczku I. Podwyższona aktywność w mleczku zbieranym później może wynikać z nagromadzenia się niektórych składników mleczka (w tym glikozydaz) w wyniku częstego karmienia larw (20 razy na dobę).

Skład mleczka pszczelego powinien sprzyjać wzajemnym interakcjom różnych jego komponentów. Enzymy amylolityczne i glikolityczne mogą wzbogacać środowisko w łatwo przyswajalne składniki odżywcze oraz inne cenne składniki. Natomiast glikozydazy lizosomowe mogą sprzyjać procesom przebiegającym w mleczku, modyfikując skład komponenty glikanowej glikokoniugatów. Kwaśne środowisko mleczka pszczelego jest elementem sprzyjającym ich aktywności. Reasumując, nie można wykluczyć, że mleczko pszczele zbierane na późniejszym etapie rozwoju larwy ma korzystniejsze właściwości prozdrowotne i stanowi cenny suplement diety.

Literatura

1. Barrett A., Heath M. Lysosomal enzymes. W: Lysosomes: a laboratory handbook. (red. J. Dingle), Elsevier/ North-Holland Biomedical Press, Amsterdam 1977.
2. Bergmayer H. Methods of enzymatic analysis, vol. IV (ed. H.V. Bergmayer) Verlag. Chemic, Weinheim-Deerfield Beach, Florida-Basel 1984.
3. Costa R.A.C., Cruz-Landim C. Hydrolases in the hypopharyngeal glands of workers of *Scaptotrigona postica* and *Apis mellifera* (Hymenoptera, Apinae). *Genetics and Molecular Research*, 2005, 4(4), 616-623.

4. Dingle J.T., Dean R.T., Sly W. Lysosomes in Biology and Pathology, vol. VII (red. J. T. Dingle, R. T. Dean, W. Sly) Elsevier, Amsterdam, New York 1984.
5. Droba B. Acid α -D-mannosidase from cock's seminal plasma. *Med. Sci. Res.*, 1990, 18, 903-904.
6. Droba M., Droba B., Purification and properties of β -galactosidase from chicken seminal plasma. *Comp. Biochem. Physiol.*, 1987, 87B, 379-384.
7. Droba M., Droba B., Błędniak D. Acid glycosidases from hen oviduct and egg albumen. *Comp. Biochem. Physiol. B*, 2005, 142, 391-397.
8. FAO. Value-added products from beekeeping. Rome, Italy: FAO Agricultural Services Bulletin, 1996, 124.
9. Han B., Li C., Zhang L., Fang Y., Feng M., Li J. Novel royal jelly proteins identified by gel-based and gel-free proteomics, *J. Agric. Food Chem.*, 2011, 59, 10346-10355.
10. Hilliam M. Functional food, How big is the market? *Word Food Ingradients*, 2000, 12, 50-53.
11. Holtzman E. *Genesis. W: Lysosomes* (red. P. Siekavitz), Plenum Press, New York, London 1989, 363-416.
12. Kamakura M., Fukuda T., Fukushima M., Yonekura M. Storage-dependent degradation of 57-kDa protein in royal jelly: a possible marker for freshness. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 2001, 65(2), 277-284.
13. Kimura M., Kimura Y., Tsumura K., Okihara K., Sugimoto H., Hamada H., Yonekura M. 350-kDa royal Nelly glycoprotein (apisin), which stimulates proliferation of human monocytes, bears the β 1-3galactosylated N-glycan: analysis of the N-glycosylation site. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 2003, 67(9), 2055-2058.
14. Nagai T., Inoue R. Preparation and functional properties of water extract and alkaline extract of royal jelly. *Food Chem.*, 2004, 84, 181-186.
15. Rajalakshim D., Narasimha S. Food antioxidant: sources and methods of evaluation. In: *Food antioxidants: Technol. Toxicol. and Health Perspectives*.(red. D. L. Madhavi, S. S. Deshpande, D. K. Salunkhe), New York: Marcel Dekker 1996, 65-158.
16. Skudlarek, M.D., Tulsiani D.R., Orgebin-Crist M.C. Rat epididymal luminal fluid acid β -D-galactosidase optimally hydrolyses glycoprotein substrate at neutral pH. *Biochem. J.*, 1992, 286, 907-914.
17. Viuda-Martos M., Ruiz-Navajas Y., Fernandez-Lopez J., Perez-Alvarez J., *Function Properties of Honey, Propolis and Royal Jelly*, 2008, DOI:10.1111/j.1750-3841.

18. Varki A., Lowe J.B. Biological Roles of glycans. Essentials of Glycobiology, 2 ed. (red. A. Varki, R. D. Cummings), Gold Spring Harbor Laboratory Press, New York 2009, 75-88.
19. Wojtacki M. Produkty pszczele i przetwory miodowe. Wydanie 6, Państwowe Wydawnictwo Rolnicze i Leśne. Warszawa 1988.

MAREK GIBIŃSKI¹, HALINA GAMBUŚ¹, GABRIELA ZIĘĆ¹, DOROTA LITWINEK¹,
WIKTOR BERSKI¹, RENATA SABAT¹, ANNA MIKULEC²

¹*Katedra Technologii Węglowodanów, Uniwersytet Rolniczy w Krakowie, ul. Balicka 122
30 – 149 Kraków*

²*Instytut Techniczny, Państwowa Wyższa Szkoła Zawodowa w Nowym Sączu, ul. Zamenhofska 1a,
33-300 Nowy Sącz*

WYKORZYSTANIE MAKI OWSIANEJ RESZTKOWEJ DO WYPIEKU PIECZYWA PRZEKĄSKOWEGO: DROŻDŻOWYCH ROGALIKÓW NADZIEWANYCH I KRUCHYCH PALUSZKÓW

Wstęp

Analizy obecnych trendów rynkowych wskazują, na wyraźny wzrost zainteresowania klientów wartością odżywczą i walorami żywieniowymi spożywanej żywności. Jednym z wartościowych wykorzystywanych obecnie surowców, cieszącym się coraz większym uznaniem producentów i konsumentów jest ziarno owsa i jego przetwory. Szczególne wartości zdrowotne i żywieniowe tego zboża, związane z jego unikatowym składem chemicznym stają się niepodważalnymi gwarantami sukcesu wszystkich produktów, w których znajdzie się ziarno owsa o różnym stopniu przetworzenia. [Gąsiorowski, 1995, 1998; Bartnikowska i in., 2000a; Gambuś i in., 2003; Gibiński i in., 2005; Kawka, 2010].

Wśród nowych, dostępnych na rynku produktów owsianych, można wymienić: napoje owocowe z 5% dodatkiem β -glukanów owsianych, mleko owsiane, a także produkowane na bazie pełnoziarnistej mąki owsianej napoje fermentowane z wykorzystaniem bakterii kwasu mlekowego (*L.plantarum*). Mleko owsiane sporządzane jest z mąki owsianej lub rozdrobnionych płatków, które poddawane są procesom hydrotermicznym oraz działaniu β -amylazy, która rozkłada skrobię do dekstryn i maltozy, co pozwala na uzyskanie napoju o stopniu słodkości podobnym do laktozy [Angelov i in., 2006; Naumann i in., 2006]. Mąka owsiana resztkowa powstaje jako produkt odpadowy podczas przetwarzania ziarna owsa przy produkcji „Betavenu”, koncentratu β -D-glukanu firmy Microstructure sp.z.o.o., produktu zawierającego do 30% β -glukanów - związków o szczególnych właściwościach np. zdrowotnych. Po produkcji Betavenu, w dużej ilości pozostaje mąka nazwana „resztkową” która, mimo że w znacznej części pozbawiona jest rozpuszczalnego błonnika pokarmowego nadal zawiera cenne składniki odżywcze [Gibiński i in., 2010; Zięć i in., 2011], dzięki którym może być wykorzystana m.in. do wzbogacenia wyrobów piekarniczych i pieczywa cukierniczego, wyprodukowanych z niskowyciągowej mąki pszennej typu 650 [Gibiński i in., 2010; Gambuś i in., 2011a i b].

Celem pracy było:

- opracowanie receptury na pszenno-owsiane rogaliki drożdżowe i kruche pieczywo cukiernicze, w których część mąki pszennej zastąpiono mąką owsianą resztkową oraz
- określenie wpływu zastosowanego udziału mąki owsianej na fizyczne, chemiczne i organoleptyczne właściwości uzyskanych produktów.

Materiały i metody

W tabeli 1 przedstawiono skład recepturowy słodkich rogalików drożdżowych i kruchych paluszków oraz surowce użyte do sporządzenia tych wyrobów. W obu rodzajach wyrobów (rogaliki lub paluszki) wypiekano je w trzech wariantach: ze 100% udziałem mąki pszennej (próbki R-0 i P-0), a także wyroby, w których 15 i 30% mąki pszennej zastąpiono taką samą ilością resztkowej mąki owsianej (odpowiednio próbki R-1 i P-1 oraz R-2 i P-2). Paluszki wykonywane były w wersjach smakowych: naturalnym, słonym, zielonym, pikantnym (chili).

Sporządzanie ciasta i wypiek drożdżowych rogalików

Ciasto drożdżowe do wypieku rogalików sporządzano ręcznie. Początkowo łączono odważone wcześniej składniki, a następnie ugniatano do jednolitej masy. Następnie ciasto wstawiano do lodówki ($4\pm 2^{\circ}\text{C}$) na okres 60 minut, po czym wałkowano na stolnicy, wykrawano trójkąty, nadziewano i formowano rogaliki. Tak przygotowane wyroby wypiekano w piecu elektrycznym modułowym typu MIWE Condo, w temperaturze 180°C przez okres 17 minut.

Po wypieku rogaliki studzono w temperaturze pokojowej i poddawano pierwszej ocenie organoleptycznej. Pozostałe rogaliki przechowywano w plastikowych pojemnikach, przez okres 2 i 6 dni, do kolejnych ocen.

Z rogalików użytych do badań fizykochemicznych usunięto nadzienie a pozostałość wysuszono i rozdrobniono w młynku typu MKM 6000 firmy Bosch. Oznaczono w niej zawartość:

- białka - metodą Kjeldahla wg AOAC [2006] 950.36;
- cukrów ogółem - metodą Luffa-Schoorla wg PN-A-74252:1998;
- tłuszczu - metodą Soxhleta wg PN-71/A-88021;
- włókna pokarmowego - wg AOAC [2006] 991.43.

Wypieczone rogaliki poddawano ocenie organoleptycznej wg PN-A-74252:1998, przez 15 osobowy panel o sprawdzonej wrażliwości sensorycznej. Określano: jednolitość partii, wygląd zewnętrzny, strukturę i teksturę, smak i zapach.

Tabela 1. Skład surowców do wypieku pieczywa cukierniczego

Skład surowcowy	Rogaliki [g]		Paluszki [g]	
Mąka pszenna typ 650 ZPZ Kraków	350	wariant R-0	400	wariant P-0
	297	wariant R-15	340	wariant P-15
	245	wariant R-30	280	wariant P-30
Resztkowa mąka owsiana (RMO) Microstructure Sp. z.o.o., Warszawa	0	wariant R-0	0	wariant P-0
	52	wariant R-15	60	wariant P-15
	105	wariant R-30	120	wariant P-30
Margaryna Kasia Unilever Polska Sp. z.o.o., Warszawa	125		226,7	
Mleko Łaciate 2% Sp. Mleczarska MLEKPOL Grajewo	60		12	
Mleko w proszku pełne kl.I MLEKOWITA	-		32	
Drożdże „Świeże drożdże” Charkowska Fabryka Drożdży S.A. Charków, Ukraina	25		-	
Jaja z chowu klatkowego, Ferma Drobieu Tadeusz Szydlak Trzemeśnia	60		-	
Cukier Królewski biały SÜdzucker Polska S.A., Wrocław	30		-	
Sól spożywcza jodowana Inowrocławskie Kopalnie Soli SOLINO S.A., Inowrocław	0,9		6,7	
Przyprawy firmy Kamis Zioła prowansalskie, papryka słodka, papryka ostra	-		do smaku	
Sól morska			posypka	
Marmolada twarda o smaku różanym Rolnicza Spółdzielnia Produkcyjna w Duchnicach, 05-850 Ożarów Maz.	30,0		-	

Sporządzanie ciasta i wypiek kruchych paluszków

Ciasto na paluszki kruche sporządzano ręcznie. W pierwszym etapie przesiewano mąkę pszenną typu 650 oraz mąkę owsianą resztkową, celem lepszego ich napowietrzenia, pozbycia się grudek oraz ewentualnych zanieczyszczeń. Następnie

odważano wszystkie potrzebne do wypieku składniki zgodnie z recepturą (mąkę, mleko w proszku, mleko, sól, margarynę oraz dodatki smakowe) i ugniatano ciasto do otrzymania jednolitej masy. Otrzymane ciasto wstawiano do lodówki ($4\pm 2^{\circ}\text{C}$) na 30 minut. Po upływie tego czasu formowano paluszki w elektrycznej maszynie do mielenia Diana 886.84, firmy Zelmer, z zamontowaną końcówką nadającą im odpowiedni kształt. Otrzymane paluszki wypiekano w piecu typu MIVE Condo w temperaturze 200°C przez okres 17 minut. Po wypieku wszystkie rodzaje paluszków studzono w temperaturze pokojowej. W dniu wypieku oznaczano:

- teksturę gotowych wyrobów metodą instrumentalną, posługując się teksturometrem TA.XT. Plus Texture Analyser firmy Stable Micro System, stosując komorę Kramera (analizę powtórzono w 14 i 30 dniu po wypieku);
- ocenę organoleptyczną (powtórzoną następnie w 14 i 30 dniu po wypieku) przez 15 osobowy panel o sprawdzonej wrażliwości sensorycznej. Określano takie cechy jak: jednolitość partii, wygląd zewnętrzny, struktura i tekstura, smak i zapach [PN-A-74252:1998]
- zawartość białka - metodą Kjeldahla wg AOAC [2006] 950.36;
- zawartość tłuszczu - metodą Soxhleta wg PN-71/A-88021;
- zawartość włókna pokarmowego - wg AOAC [2005] 991.4;
- zawartość akryloamidu - metodą HPLC/UV [wg Paleologos i Kontominas, 2005].

Wyniki i dyskusja

Skład chemiczny mąki pszennej typu 650 i mąki owsianej resztkowej użytych do wypieku pieczywa cukierniczego przedstawiono w tabeli 2.

Tabela 2. Zawartość wybranych składników chemicznych w mąkach stosowanych do wypieku rogalików [Gibiński i in., 2010]

Rodzaj mąki	Zawartość [% s.s.]				
	Włókno pokarmowe			Białko ogółem	Tłuszcz surowy
	Fracja nierozpuszczalna	Fracja rozpuszczalna	Całkowita zawartość		
pszenna typu 650	1,9 ^{a*}	1,7 ^a	3,5 ^a	11,8 ^a	1,47 ^a
owsiana resztkowa	5,1 ^b	2,9 ^b	8,0 ^b	13,5 ^b	6,95 ^b

*wartości w kolumnach oznaczone różnymi literami różnią się statystycznie istotnie przy poziomie istotności $\alpha = 0,05$

Zawartość wszystkich badanych składników w mące pszennej różniła się istotnie od składu chemicznego mąki owsianej resztkowej. Zawartość włókna pokarmowego w mące owsianej była dwukrotnie większa niż w mące pszennej mimo wydzielenia z niej dużej ilości β -glukanów podczas produkcji preparatu Betaven. Udział białka w mące owsianej był także istotnie większy, niż w mące pszennej. W mące pszennej oznaczono również trzykrotnie mniejszą zawartość tłuszczu surowego, w stosunku do resztkowej mąki owsianej [Gibiński i in., 2010].

Zawartość wybranych składników chemicznych w rogalikach

Zawartość wybranych składników chemicznych w rogalikach pozbawionych nadzienia, zebrano w tabeli 3.

Tabela 3. Skład chemiczny upieczonego ciasta rogalikowego

Próbki rogalików	Zawartość [% s.s.]		
	Białka	Cukrów ogółem	Tłuszczu
R-0	19,7±0,01 ^{a*}	8,91±0,20 ^a	22,18±0,25 ^a
R-15	19,9±0,01 ^{ab}	8,59±0,10 ^a	23,64±0,11 ^b
R-30	20,1±0,02 ^b	6,68±0,09 ^b	24,79±0,25 ^c

* - wartości w kolumnach oznaczone różnymi literami różnią się statystycznie istotnie przy poziomie istotności $\alpha = 0,05$

Zawartość białka (tab.3) w rogalikach suplementowanych mąką owsianą zwiększyła się niewiele, ale istotnie, w odniesieniu do rogalików standardowych (o ok. 0,4%) dopiero przy udziale 30% mąki owsianej resztkowej. Większa zawartość białka w rogalikach z dodatkiem mąki owsianej resztkowej wynikała z większej zawartości tego składnika w mące owsianej niż w mące pszennej. Jest to zjawisko korzystne, gdyż białko obecne w mące owsianej zawiera więcej aminokwasów egzogennych i cechuje się znacznie wyższą wartością biologiczną w porównaniu z białkiem występującym w mące pszennej [Bartnikowska i in., 2000b; Bartnikowska, 2003; Gąsiorowski, 2003; Gibiński i in., 2010].

Częściowa zamiana mąki pszennej resztkową mąką owsianą spowodowała zauważalną i istotną różnicę w zawartości cukrów ogółem (tab.3), szczególnie pomiędzy rogalikami R-0 a R-30 (odpowiednio: 8,59% i 6,68%) co należy przypisywać mniejszej zawartości skrobi w mące owsianej [Bartnikowska, 2003; Gąsiorowski, 2003]

Zawartość tłuszczu (tab.3) w badanych rogalikach wzrastała istotnie wraz ze wzrostem udziału mąki owsianej resztkowej i wahała się średnio od 22,18% (R-0)

do 24,79% (R-30), co jest wynikiem większej zawartości tłuszczu w mące owsianej, w stosunku do mąki pszennej użytej do wypieku (tab 2). Jest to cecha korzystna, gdyż tłuszcz owsiany zawiera nienasycone kwasy tłuszczowe konieczne do utrzymania dobrego stanu zdrowia oraz prawidłowego rozwoju organizmu i jest łatwiej strawny niż tłuszcz zawarty w innych zbożach [Gąsiorowski, 2003; Bartnikowska i in., 2000a; Bartnikowska, 2003; Gibiński i in., 2010].

Tabela 4. Wyniki oznaczeń zawartości włókna pokarmowego (ogółem oraz frakcji rozpuszczalnej i nierozpuszczalnej) w rogalikach

Próbki rogalików	Zawartość [% s.s.]		
	Frakcji nierozpuszczalnej	Frakcji rozpuszczalnej	Włókna ogółem
R-0	1,29±0,01 ^{a*}	1,10±0,02 ^a	2,38±0,02 ^a
R-15	1,65±0,03 ^b	1,40±0,02 ^b	3,05±0,05 ^b
R-30	1,97±0,05 ^c	1,49±0,02 ^c	3,45±0,03 ^c

*– wartości w kolumnach oznaczone różnymi literami różnią się statystycznie istotnie przy poziomie istotności $\alpha = 0,05$

Zawartość włókna pokarmowego ogółem (tab.4) w rogalikach wahała się średnio od 2,38% (R-0) do 3,45% (R-30); frakcji nierozpuszczalnej od 1,29% (R-1) do 1,97% (R-30), a frakcji rozpuszczalnej od 1,09% (R-1) do 1,49% (R-30). We wszystkich przypadkach największe zróżnicowanie wystąpiło pomiędzy rogalikami pszennymi a rogalikami z 30% udziałem mąki owsianej. Jest to wynik oczekiwany, ze względu na znacznie większą zawartość błonnika i jego frakcji w mące owsianej w odniesieniu do mąki pszennej (tab. 2). Większa zawartość błonnika pokarmowego w rogalikach owsianych jest bardzo pożądana ze względu na korzystny wpływ tego składnika na organizm człowieka m.in. przez możliwość redukcji cholesterolu we krwi oraz stymulację pracy jelit [Inglett i in., 1996; Lange, 2010].

Analiza organoleptyczna rogalików

W pierwszym dniu po wypieku (tab.5) wyniki oceny organoleptycznej rogalików z 30% udziałem mąki owsianej resztkowej różniły się istotnie statystycznie od rogalików pszennych i z 15% dodatkiem mąki owsianej. Uzyskały one jednocześnie najlepszą średnią ocen tj. 17,1 pkt. na którą wpłynęła lepsza akceptacja smaku i zapachu, dwóch najważniejszych wyróżników oceny organoleptycznej, szczególnie w porównaniu do rogalików pszennych. Pozostałe wyróżniki jakości: jednorodność partii, wygląd zewnętrzny oraz struktura i tekstura nie odbiegały istotnie od pozostałych rogalików.

Wszystkie rogaliki na podstawie sumy punktów zostały zakwalifikowane do II klasy jakości [PN-A-74252:1998].

W drugim dniu po wypieku (tab.5) średnie oceny rogalików nie różniły się między sobą istotnie a wszystkie rogaliki zakwalifikowano do II klasy jakości.

Tabela 5. Wyniki analizy organoleptycznej badanych rogalików

Rodzaj rogalików		Wyróżnik jakości				Łączna ilość punktów	Poziom jakości
		jednolitość partii	wygląd zewnętrzny	struktura i tekstura	smak i zapach		
Dzień 1	R-0	3,50±0,71 ^{a*}	4,10±0,74 ^a	4,30±0,67 ^a	3,70±0,82 ^a	15,6±1,07 ^a	II
	R-15	3,20±0,63 ^a	3,90±0,74 ^a	4,00±0,00 ^a	4,20±0,63 ^{ab}	15,3±1,42 ^a	II
	R-30	3,60±0,63 ^a	4,10±0,74 ^a	4,60±0,70 ^a	4,80±0,42 ^b	17,1±1,29 ^b	II
Dzień 2	R-0	3,40±0,70 ^a	3,90±0,57 ^a	4,40±0,70 ^a	4,30±0,82 ^a	16,40±1,65 ^a	II
	R-15	3,80±0,63 ^a	4,20±0,79 ^a	4,30±0,48 ^a	4,10±0,32 ^a	16,30±1,70 ^a	II
	R-30	3,80±1,14 ^a	4,00±0,94 ^a	3,90±0,88 ^a	4,40±0,52 ^a	16,10±2,51 ^a	II
Dzień 6	R-0	4,00±0,67 ^b	4,00±0,67 ^a	3,80±0,79 ^a	3,30±1,16 ^a	15,20±2,25 ^b	II
	R-15	3,40±0,52 ^a	3,60±0,52 ^a	3,90±0,74 ^a	3,50±0,53 ^a	14,30±1,16 ^{ab}	III
	R-30	3,00±0 ^a	2,90±0,32 ^b	3,70±0,67 ^a	3,30±0,67 ^a	12,90±1,52 ^a	III

* – wartości w kolumnach oznaczone różnymi literami różnią się statystycznie istotnie przy poziomie istotności $\alpha = 0,05$

W szóstym dniu po wypieku (tab.5) wyniki oceny organoleptycznej pomiędzy rogalikami R-0 a R-30 nadal były zróżnicowane istotnie statystycznie, z tym, że to rogaliki R-0 uzyskały najlepsze oceny, a w następnej kolejności rogaliki R-15 (odpowiednio: R-0 - 15,2; R-15 – 14,3. Najmniejszą akceptowalność uzyskały rogaliki R-30 – 12,9 pkt. Nastąpiło istotne obniżenie ocen jednolitości partii w przypadku rogalików R-15 i R-30 oraz wyglądu zewnętrznego rogalików R-30. Na podstawie uzyskanych średnich ocen rogaliki R-0 zostały zakwalifikowane do II klasy jakości, natomiast rogaliki R-15 i R-30 do III klasy jakości.

Zawartość wybranych składników chemicznych w kruchych paluszkach

W tabeli 6 przedstawiono dane dotyczące zawartości podstawowych składników chemicznych (białka, tłuszczu i włókna pokarmowego) w paluszkach kruchych pszennych oraz z udziałem resztkowej mąki owsianej, w ilości 15 i 30%. We wszystkich przypadkach zanotowano stałą tendencję wzrostu ilości poszczególnych składników, w miarę wzrostu udziału mąki owsianej w miejsce mąki pszennej. Wszystkie różnice ilości oznaczonych składników chemicznych są istotne, co świadczy o wyraźnym korzystnym wpływie zastosowanego udziału mąki owsianej resztkowej na skład

chemiczny produktu końcowego. Wzrost udziału mąki owsianej, powodujący wzrost zawartości białka, tłuszczu i włókna pokarmowego wywiera niewątpliwy wpływ na wartość odżywczą produktu i poprawia jego właściwości dietetyczne [Lange, 2010; Gambuś i in., 2011a].

Tabela 6. Wyniki oznaczeń zawartości wybranych składników chemicznych w badanych paluszkach

Rodzaj paluszków	Zawartość [%s.s.]				
	Białka	Tłuszczu	Włókna pokarmowego frakcja nierozpuszczalna	Włókna pokarmowego frakcja rozpuszczalna	Włókna pokarmowego ogółem
P-0	16,60±0,01 ^{a*}	34,06±0,14 ^a	1,43±0,02 ^a	1,09±0,0 ^a	2,52±0,02 ^a
P-15	16,90±0,01 ^b	34,71±0,09 ^b	1,58±0,01 ^b	1,30±0,02 ^b	2,88±0,04 ^b
P-30	17,30±0,00 ^c	35,34±0,11 ^c	1,69±0,01 ^c	1,53±0,01 ^c	3,22±0,01 ^c

*– wartości w kolumnach oznaczone różnymi literami różnią się statystycznie istotnie przy poziomie istotności $\alpha = 0,05$

Badane paluszki zawierały dużą ilość tłuszczu, która ulegała zwiększeniu w miarę wzrostu udziału mąki owsianej resztkowej w tych produktach. Jednak tłuszcz odgrywa ważną rolę przy produkcji wyrobów z ciasta kruchego, w znaczący sposób wpływając na konsystencję i przełom gotowych produktów i jest istotnym czynnikiem decydującym o akceptacji konsumentkiej produktu. Z danych literaturowych wynika, że próby zmniejszenia ilości tłuszczu w kruchym pieczywie nie cieszyły się wzrostem akceptacji przez konsumentów, ze względu na niewłaściwe cechy organoleptyczne takiego pieczywa [Zawadzki, 1998; Gambuś i in., 2006].

Sięgając po produkty zbożowe, w tym owsiane, konsumenci przekonani są o ich walorach prozdrowotnych. Jednakże produkty te mogą zawierać substancje mające negatywny wpływ na organizm człowieka. Jednym z takich związków jest akryloamid, który powstaje w żywności podczas obróbki termicznej, w reakcji Maillarda, na skutek łączenia się cukrów redukujących z aminokwasami, głównie kwasem asparaginowym. Ze względu na właściwości związek ten został zakwalifikowany przez IARC jako substancja o potencjalnym działaniu rakotwórczym na człowieka [Friedman, 2003; Szczerbina, 2005; Żyżelewicz i in., 2012]. Obecność akryloamidu zbadano we wszystkich rodzajach paluszków pszennych P-0 oraz w paluszkach z 30% udziałem mąki owsianej resztkowej - P-30.

Tabela nr 7. Zawartość akryloamidu w smakowych paluszkach pszennych P-0 i z 30% udziałem resztkowej maki owsianej P-30

Rodzaj paluszków		Zawartość akryloamidu [µg/kg]
P-0	bez dodatków	2,7 ^{c*}
	z papryką	2,4 ^b
	z solą morską	2,3 ^a
	z ziołami	2,5 ^b
P-30	bez dodatków	2,5 ^b
	z papryką	2,5 ^b
	z solą morską	2,5 ^b
	z ziołami	2,5 ^b

*– wartości oznaczone różnymi literami różnią się istotnie statystycznie przy poziomie istotności $\alpha = 0,05$

Porównując zawartość akryloamidu w badanych próbkach (tab.7), stwierdzono, że paluszki pszenne charakteryzowały się istotnie większą zawartością tego związku niż paluszki owsiane, co może być związane z obecnością termostabilnych związków antyutleniających – awetramidyn, w mące owsianej [Bartnikowska, 2003; Lange, 2010]. Jak pokazują badania Zhang i in. [2007a i b] dodatek antyoksydantów znacząco hamuje powstawanie akryloamidu. Podobne wyniki uzyskali także Capuano i in. [2009]. Zastosowanie dodatków tj. papryki, soli i ziół do paluszków pszennych, niewiele, ale istotnie statystycznie wpłynęło na zmniejszenie w nich zawartości akryloamidu. Najmniejsze jego stężenie odnotowano w paluszkach pszennych z solą morską. Użycie papryki, soli i ziół do wypieku paluszków owsianych nie wpłynęło na zawartość tego związku.

Wszystkie badane paluszki odznaczały się małą zawartością akryloamidu, w porównaniu z zawartością tego związku w innych produktach piekarskich [Friedman, 2003; Mojska i in., 2010; Orzeł i Biernat, 2011], co można tłumaczyć brakiem sacharozы w cieście oraz warunkami wypieku. Paluszki były wypiekane w temperaturze 200°C przez 17 minut, co mogło spowodować zahamowanie powstawania akryloamidu. Bråthen i Knutsen [2005], badając zawartość tego związku w zależności od temperatury wypieku chleba, zauważyli, że wraz ze wzrostem temperatury wypieku wzrastała zawartość akryloamidu, przy czym wzrost ten był istotnie mniejszy w wyższych temperaturach tj. powyżej 200°C i 230°C. Zahamowanie wzrostu zawartości akryloamidu w wyższych temperaturach wypieku można tłumaczyć termicznym rozkładem tego

związku do prostszych związków, takich jak akroleina, triglicerole, czy kwas akrylowy [Bråthen i Knutsen, 2005]. Nie bez znaczenia na zahamowanie tworzenia się akryloamidu jest też obecność w mące owsianej termostabilnych antyoksydantów (awentramidów), które mogą wywierać korzystny wpływ na ograniczenie ilości akryloamidu w produktach spożywczych [Bråthen i Knutsen, 2005; Zhang i in., 2007a i b].

Wyniki badań twardości paluszków kruchych

Tabela 8. Zmiany twardości paluszków podczas przechowywania

Rodzaj paluszków		Twardość [N]	
		po 1 dniu	po 14 dniach
bez dodatków	P-0	10,1±1,13 ^a	13,0±1,91 ^b
	P-15	7,5±0,65 ^a	8,6±0,30 ^b
	P-30	7,0±0,41 ^a	7,3±1,14 ^b
z solą morską	P-0	11,5±0,58 ^a	12,5±0,13 ^b
	P-15	7,8±0,73 ^a	8,0±0,64 ^b
	P-30	6,3±0,20 ^a	7,9±0,28 ^b
z papryką	P-0	11,7±0,50 ^a	12,2±1,29 ^b
	P-15	9,6±0,38 ^a	10,5±0,36 ^b
	P-30	6,8±0,60 ^a	7,5±1,01 ^b
z ziołami prowansalskimi	P-0	10,1±0,61 ^a	11,5±0,13 ^b
	P-15	6,8±0,33 ^a	8,5±1,60 ^b
	P-30	6,1±0,65 ^a	7,6±0,61 ^b

Wyniki zmiany twardości paluszków podczas przechowywania zestawiono w tabeli 8. Stwierdzono istotny statystycznie wzrost twardości wszystkich paluszków po upływie 14 dni od wypieku. Największą twardość, zarówno po 1 dniu od wypieku, jak i po 14 dniach przechowywania, wykazywały paluszki pszenne P-0. Wszystkie pszenne paluszki smakowe P-0 charakteryzowały się twardością w przedziale od 10,1N do 11,7N (pomiar w 1 dniu od wypieku) i 11,5N do 13,2N (pomiar po 14 dniach od wypieku). Zaobserwowano wzrost twardości paluszków w trakcie przechowywania. Stosowane dodatki smakowe w nieznaczny sposób wpłynęły na tę cechę. Największą twardość wykazały paluszki z dodatkiem papryki - 11,7N po 1 dniu i 12,20N po 14 dniach, a najniższą z dodatkiem ziół prowansalskich - 10,1N po 1 dniu i 11,5N po 14 dniach przechowywania (tabela 6). Wszystkie rodzaje paluszków P-15 charakteryzowały się mniejszą twardością od paluszków P-0. Wyniki pomiarów mieściły się w przedziale od 6,8N do 9,6N po 1 dniu i 8,0N do 10,5N w przypadku pomiaru po 14 dniach. Najmniejszą twardością po 1 dniu od wypieku charakteryzowały się paluszki z dodatkiem ziół prowansalskich, a największą - z dodatkiem papryki, podobnie jak w przypadku paluszków pszennych P-0. Po 14 dniach przechowywania twardość wszystkich rodzajów

paluszków wzrosła. Najmniejszą twardość wykazały paluszki z dodatkiem soli morskiej - 8,0N, a największą, podobnie jak w przypadku pomiaru po 1 dniu paluszki z papryką - 10,5N. Paluszki z 30% udziałem mąki owsianej resztkowej (P-30) wykazały najmniejszą twardość w porównaniu z P-0 i P-15. Wartość ta kształtowała się na poziomie 6,1N (paluszki z dodatkiem ziół prowansalskich) do 7,0N (paluszki bez dodatków), mierzona po 1 dniu i 7,3N (paluszki bez dodatków) do 7,9N (paluszki z dodatkiem soli morskiej) w przypadku pomiaru po 14 dniach od wypieku. Nie zaobserwowano istotnego wpływu dodatku papryki na twardość paluszków, jak miało to miejsce w przypadku paluszków pszennych P-0 i P-15.

Analiza organoleptyczna paluszków kruchych

Z przeprowadzonej oceny organoleptycznej po 1 dniu od wypieku (tab.9) wynika, że żaden rodzaj paluszków nie uzyskał maksymalnej ilości punktów (20-18 – poziom jakości I; poniżej 18 – 15 poziom jakości II; poniżej 15 – 12 poziom jakości III; poniżej 12 – poziom jakości IV) - [PN-A-74252:1998]., większość z nich została zaklasyfikowana do II poziomu jakości. Najlepiej oceniono paluszki z dodatkiem papryki, które uzyskały średnią wartość oceny około 16 pkt. Największą popularnością cieszyły się paluszki pszenne, bez udziału mąki owsianej - (P-0). Ich wygląd zewnętrzny oraz jednolitość partii uzyskały wyższe oceny, w porównaniu z paluszkami z dodatkiem 15% (P-15) i 30% (P-30) mąki owsianej resztkowej. Paluszki P-30 z dodatkiem soli i ziół prowansalskich uzyskały najniższą ocenę i zostały zaklasyfikowane do III poziomu jakości, ze względu na nieodpowiednią strukturę, teksturę oraz smak i zapach.

Tabela 9. Wyniki oceny organoleptycznej paluszków po 1 dniu od wypieku

Paluszki		Określana cecha				Łączna ilość punktów	Poziom jakości
		jednolitość partii	wygląd zewnętrzny	struktura i tekstura	smak i zapach		
bez dodatków	P-0	3,96±0,36	4,40±0,78	4,46±0,84	3,50±0,85	16,31±0,85	II
	P-15	3,50±0,65	3,93±0,62	3,93±0,92	3,57±0,85	14,93±2,16	III
	P-30	3,93±0,73	4,36±0,93	4,07±0,10	3,79±0,89	16,14±2,96	II
z solą	P-0	3,71±0,91	4,64±0,63	4,36±0,74	3,43±0,94	16,14±2,25	II
	P-15	3,43±0,76	4,07±0,83	4,14±1,03	3,57±0,94	15,21±2,94	II
	P-30	3,64±0,84	3,64±1,01	3,79±0,89	3,71±0,91	14,79±2,58	III
z ziołami prowansalskimi	P-0	3,79±0,70	4,14±0,77	4,29±0,91	3,79±0,89	16,00±2,48	II
	P-15	3,64±0,84	3,86±0,95	3,93±0,73	4,14±0,77	15,57±2,24	II
	P-30	3,64±0,63	3,71±0,73	3,86±0,86	3,64±0,50	14,86±1,75	III
z papryką	P-0	3,79±0,89	4,07±0,92	4,14±1,03	4,50±0,78	16,50±2,69	II
	P-15	3,64±0,84	3,64±0,93	4,14±0,66	4,14±0,77	15,57±2,41	II
	P-30	3,71±0,61	4,00±0,68	4,07±0,73	4,43±0,65	15,93±1,94	II

Na podstawie oceny organoleptycznej przeprowadzonej po 14 dniach od wypieku, żaden rodzaj paluszków nadal nie uzyskał maksymalnej oceny, a wszystkie wyroby zostały zaklasyfikowane do II poziomu jakości (tabela 10). Najlepiej oceniono paluszki z papryką i z ziołami prowansalskimi, uzyskując średni wynik ponad 17 pkt., a najgorzej paluszki bez dodatków (średni wynik z ocen poniżej 16 pkt.).

Tabela nr 10. Wyniki oceny organoleptycznej paluszków po 14 dniach od wypieku

Paluszki		Określana cecha				Łączna ilość punktów	Poziom jakości
		jednolitość partii	wygląd zewnętrzny	struktura i tekstura	smak i zapach		
bez dodatków	P-0	3,62±0,65	4,00±0,71	4,08±0,64	4,15±0,99	15,85±2,15	II
	P-15	4,00±0,82	3,92±0,86	4,00±0,82	3,85±0,90	15,77±2,92	II
	P-30	3,85±0,80	3,82±0,95	4,08±0,95	4,08±0,86	15,82±2,72	II
z solą	P-0	4,08±0,76	4,08±0,28	4,15±0,69	4,15±0,80	16,46±1,94	II
	P-15	3,85±0,80	4,00±0,71	4,31±0,63	4,15±0,80	16,31±2,02	II
	P-30	3,92±0,76	4,15±0,90	3,95±0,80	3,95±0,99	15,97±2,80	II
z ziołami prowansalskimi	P-0	4,23±0,44	4,31±0,75	4,23±0,60	4,23±0,73	17,00±1,73	II
	P-15	3,85±0,69	4,38±0,65	4,00±0,58	3,77±0,60	16,00±1,47	II
	P-30	4,15±0,55	3,92±0,86	3,85±0,99	4,23±0,93	16,15±3,0	II
z papryką	P-0	4,15±0,80	4,62±0,65	4,31±0,95	4,38±0,65	17,46±2,57	II
	P-15	4,23±0,60	4,23±0,83	4,23±0,73	4,54±0,52	17,23±2,13	II
	P-30	4,00±0,71	3,92±0,86	4,15±0,69	4,38±0,87	16,46±2,4	II

Wyniki trzeciej oceny organoleptycznej po 30 dniach od wypieku, były znacznie gorsze od wyników pierwszej i drugiej oceny (tab.11). Połowa z ocenianych próbek uzyskała notę poniżej 15, co sprawiło, że paluszki te zostały zaklasyfikowane do III poziomu jakości. Najgorzej zostały ocenione paluszki bez dodatków P-0 i P-15, z solą P-15 i P-30 oraz z ziołami prowansalskimi P-0 i P-15. Największym uznaniem nadal cieszyły się paluszki z dodatkiem papryki (średni wynik oceny ponad 16 pkt.) niezależnie od surowca z którego zostały wypieczone. Ponadto zauważono, że po tak długim okresie przechowywania paluszki z największym, 30% udziałem resztkowej mąki owsianej P-30, uzyskały wyższą ocenę niż paluszki P-0 i P-15. Ich smak i zapach zostały ocenione najlepiej w stosunku do pozostałych. Wydaje się, że może to być zasługą obecności specyficznych polifenoli obecnych wyłącznie w mące owsianej, tzw. awentramidów, które są termostabilne i ich aktywność nie zanika podczas wypieku, dlatego też mogą ochraniać substancje tłuszczowe zawarte w wypiekach, przed ich zmianami oksydacyjnymi [Bartnikowska, 2003; Lange, 2010]

Tabela 11. Wyniki oceny organoleptycznej paluszków po 30 dniach od wypieku

Paluszki		Określana cecha				Łączna ilość punktów	Poziom jakości
		jednolitość partii	wygląd zewnętrzny	struktura i tekstura	smak i zapach		
bez dodatków	P-0	3,64±0,50	3,79±0,70	3,86±0,77	2,64±0,93	13,93±1,77	III
	P-15	3,43±0,65	3,29±0,73	4,07±0,73	2,86±0,86	13,57±1,83	III
	P-30	3,57±0,51	4,00±0,78	3,93±0,62	3,50±0,94	15,00±1,52	II
z solą	P-0	3,79±0,58	4,14±0,53	4,14±0,66	3,21±0,70	14,07±1,49	II
	P-15	3,71±0,73	3,50±0,85	4,14±0,36	3,43±0,85	14,79±1,67	III
	P-30	3,71±0,47	3,57±0,94	3,71±0,73	3,71±0,91	14,81±2,09	III
z ziołami prowansalskimi	P-0	3,57±0,85	3,86±0,86	3,57±1,09	3,86±0,86	14,86±2,57	III
	P-15	3,79±0,58	3,43±0,65	3,64±0,84	3,50±0,85	14,36±2,17	III
	P-30	3,71±0,61	3,36±0,63	3,50±0,94	3,64±0,84	16,21±2,19	II
z papryką	P-0	4,21±0,80	4,07±0,73	4,29±0,83	3,86±0,86	16,43±1,99	II
	P-15	4,14±0,77	4,07±0,47	4,14±0,77	4,29±0,41	16,64±1,78	II
	P-30	4,21±0,70	3,93±0,73	4,14±0,66	4,71±0,47	17,00±1,41	II

Podsumowanie

W pracy podjęto próbę wykorzystania resztkowej mąki owsianej do wypieku pieczywa cukierniczego i przekąskowego. Uzyskano produkty finalne, tj. nadziewane rogaliki drożdżowe i kruche paluszki, w których 15% i 30% mąki pszennej zastąpiono resztkową mąką owsianą. Oznaczając zawartość wybranych składników chemicznych w otrzymanych wyrobach potwierdzono korzystny skład chemiczny resztkowej mąki owsianej, która pod względem zawartości białka, tłuszczu i włókna pokarmowego ogółem (w tym jego frakcji rozpuszczalnej i nierozpuszczalnej) zdecydowanie przewyższała mąkę pszenną.

Otrzymane rogaliki drożdżowe z udziałem mąki owsianej, w dniu wypieku były jakościowo porównywalne z podobnymi wyrobami wypieczonymi tylko z mąki pszennej, a zdecydowanie przewyższały je pod względem smaku i zapachu. Dłuższe – 6 dniowe - przechowywanie rogalików z udziałem mąki owsianej pogorszyło ich jakość.

Wypieczone smakowe paluszki kruche charakteryzowały się zróżnicowanymi właściwościami, w zależności od czasu przechowywania i użytego dodatku smakowego. Wśród świeżych paluszków naturalnych lepiej oceniono paluszki z 30% udziałem resztkowej mąki owsianej niż te, z 15% jej udziałem. Spośród paluszków smakowych najwyżej oceniono te z udziałem papryki. Po 30 dniach przechowywania potwierdzono

uzyskane w pierwszym dniu wyniki. Stwierdzono istotny statystycznie wzrost twardości wszystkich rodzajów paluszków po upływie 14 dni od wypieku. Największą twardość, zarówno po 1 dniu od wypieku, jak i po 14 dniach przechowywania, wykazywały paluszki pszenne, bez udziału mąki owsianej. W paluszkach z udziałem mąki owsianej resztkowej nie stwierdzono wzrostu zawartości akryloamidu, w odniesieniu do paluszków pszennych.

Przeprowadzone badania jednoznacznie rekomendują mąkę owsianą resztkową jako wartościowy surowiec do suplementacji wartości odżywczej pieczywa cukierniczego i przekąskowego.

*Praca została sfinansowana ze środków Narodowego Centrum Nauki – projekt
NN 312331640*

Literatura

1. Angelov A., Gotcheva V., Kunchewa R., Hristozova T. Development of a new oat-based probiotic drink Intern. Journal Food Microbiology, 2006, 112, 75-80.
2. AOAC. Official methods of analysis 18thed. Gaithersburg 2006; Association of Official Analytical Chemists International. AOAC, 2006, 950.36.
3. Bartnikowska E., Lange E., Rakowska M. Ziarno owsa - niedoceniane źródło składników odżywczych i biologicznie czynnych, Cz. I. Ogólna charakterystyka owsa. Białka, tłuszcze. Biuletyn Instytutu Hodowli i Aklimatyzacji Roślin, 2000a, 215, 209-222.
4. Bartnikowska E., Lange E., Rakowska M. Ziarno owsa - niedoceniane źródło składników odżywczych i biologicznie czynnych, Cz. II. Polisacharydy i włókno pokarmowe, składniki mineralne, witaminy. Biuletyn Instytutu Hodowli i Aklimatyzacji Roślin, 2000a, 215, 223-237.
5. Bartnikowska E. Przetwory z ziarna owsa jako źródło ważnych substancji prozdrowotnych w żywieniu człowieka. Biuletyn Instytutu Hodowli i Aklimatyzacji Roślin, 2003, 229, 235-245.
6. Brathen, E., & Knutsen, S. H. Effect of temperature and time on the formation of acrylamide in starch-based and cereal model systems, flat breads and bread. Food Chemistry, 2005, 92 (4), 693-700.
7. Capuano E., Ferrigno A., Acampa I., Serpen A., Açar O., Gökmen V., Fogliano V. Effect of flour type on Maillard reaction and acrylamide formation during toasting of bread crisp model systems and mitigation strategies. Food Research International, 2009, 42, 1295-1302.
8. Friedman M.A. Chemistry, Biochemistry and safety of acrylamide: a review. Journal of Agriculture and Food Chemistry, 2003, 51, 4504-4526.

9. Gambuś F., Gambuś H., Pisulewska E., Zastosowanie produktów przemiału owsa nieoplewionego do wypieku chleba. *Biuletyn Instytutu Hodowli i Aklimatyzacji Roślin*, 2003, 229, 283-290.
10. Gambuś H., Gibiński M., Mickowska B., Pastuszka D., Witkowicz R., Ziobro R. The application of residual oats flour in bread production in order to improve its quality and biological value of protein. *Acta Scientiarum Polonorum*, 2011a, 10(3), 313-325.
11. Gambuś H., Zięć G., Gibiński M., Pastuszka D., Nowakowski K. Wykorzystanie reszkowej mąki owsianej do wypieku chleba. *Zeszyty Problemowe Postępów Nauk Rolniczych*, 2011b, 566, 49-60.
12. Gąsiorowski H. *Owies - chemia i technologia*. Państwowe Wydawnictwo Rolnicze i Leśne, Poznań 1995.
13. Gąsiorowski H. Wartość fizjologiczno-żywnościowa owsa. *Przegląd Zbożowo-Młynarski*, 2003, 3, 26-28.
14. Gibiński M., Gumul D., Korus J. Prozdrowotne właściwości owsa i produktów owsianych. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2005, 4(45), 49-60.
15. Gibiński M., Gambuś H., Nowakowski K., Mickowska B., Pastuszka D., Augustyn G., Sabat R. Wykorzystanie mąki owsianej – produktu ubocznego przy produkcji koncentratu owsa – w piekarstwie. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2010, 3(70), 56-75.
16. Inglett G.E., Warner K., Newman R.K. Soluble-fiber ingredient from oats: uses in foods and some health benefits. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 1996, 1 (7), 175-182.
17. Kawka A. Współczesne trendy w produkcji piekarskiej – wykorzystanie owsa I jęczmienia jako zbóż niechlebowych. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2010, 3(70), 25-43.
18. Lange E. Produkty owsiane jako żywność funkcjonalna. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2010, 3(70), 7-24.
19. Mojska H., Gielecińska I., Szponar L., Ołtarzewski M. Estimation of the diet ary acrylamide exposure of the Polish population, *Food and Chemical Toxicology*, 2010, 48, 2090-2096.
20. Naumann E., van Rees A., Önning G., Öste R., Wydra M., Mensink R. β -glucan incorporated into a fruit drink effectively lowers serum LDL-cholesterol concentrations. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 2006, 83, 601-605.
21. Orzeł D., Biernat J. Furan i akrylamid w żywności. *Bromatologia i Chemia Toksykologiczna*, 2011, 44,3, 225-232.

22. Paleologos E.K., Kontominas M.G. Determination of acrylamide and methaacrylamide by normal phase high performance liquid chromatography and UV detection. *Journal of Chromatography A.*, 2005, 1077, 2, 128-135.
23. PN-A-88109:1998. Wyroby ciastkarskie. Herbatniki i suchary
24. PN-A-88021:1971 Oznaczanie zawartości tłuszczu.
25. PN-A-74252:1998 Wyroby i półprodukty ciastkarskie - Metody badań.
26. Szerbina T. Akrylamid – potencjalnie rakotwórcza substancja występująca w Żywności. *Kosmos, Problemy Nauk Biologicznych*, 2005, 54, 4, 367-372.
27. Zawadzki K. Ważna rola błonnika w ograniczeniu kaloryczności diety żywieniowej. *Przegląd Zbożowo-Młynarski*, 1988, 43, 5-6.
28. Zhang Y. Chang J., Zhang X., Wu X., Zhang Y. Addition of antioxidant of bamboo leaves (AOB) effectively reduces acrylamide formation in potato crisps and french fries. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2007a, 55, 523-528.
29. Zhang Y., Xu W., Wu X., Zhang X., Zhang Y. Addition of antioxidant from bamboo leaves as an effective way to reduce the formation of acrylamide in fried chicken wings. *Food Additives and Contaminants*, 2007b, 24, 242-251.
30. Zięc G., Gambuś H., Kowalski S., Achrem-Achremowicz B. Wybrane właściwości maki owsianej oraz jej interakcje z hydrokoloidami w porównaniu z makami chlebowymi. *Acta Agrophysica*, 2011, 17(2), s. 433-437.
31. Żyżelewicz D., Nebesny E., Oracz J. Akrylamid - powstawanie, właściwości fizykochemiczne i biologiczne. *Bromatologia i Chemia Toksykologiczna*, 2012, 43, 3, 415-427.

SKŁAD CHEMICZNY I AKTYWNOŚĆ ANTYOKSYDACYJNA BISZKOPTÓW I CIASTEK BEZGLUTENOWYCH

Celem pracy było zbadanie składu chemicznego oraz aktywności antyoksydacyjnej produktów bezglutenowych. Badanie polegało na opracowaniu receptur i wykonaniu biszkoptów oraz ciastek kruchych. Modyfikacji poddano przepisy kulinarne i przygotowano produkty, w których mąkę pszenną zastąpiono mąką gryczaną, kukurydzianą oraz ich mieszanką w stosunku 1:1. Jako wzorzec wyjściowy wypieczono produkty z mąki pszennej. W uzyskanym materiale oznaczono skład podstawowy zawartość polifenoli oraz aktywność antyoksydacyjną analizowanych produktów. Na podstawie przeprowadzonych analiz stwierdzono, iż zawartość składników odżywczych w produktach bezglutenowych uzależniona była od rodzaju mąki, z jakiej zostały one przygotowane. Najwyższą zawartością białka, tłuszczu charakteryzował się biszkopt przygotowany z mieszanki mąk kukurydzianej i gryczanej oraz ciastka gryczane. Wykazano, iż ilość związków przeciwutleniających różniła się znacznie w poszczególnych produktach. Najwyższą aktywność antyoksydacyjną oraz zawartość polifenoli oznaczono w ciastkach oraz biszkopcie gryczanym.

Słowa kluczowe: gryka, kukurydza, choroba trzewna, celiakia, dieta bezglutenowa, gluten

Wstęp

Zmiana sposobu żywienia wywołana wzrostem spożycia żywności oraz wzrastające tempo życia przyczyniły się do zwiększenia występowania nietolerancji pokarmowych i alergii.

Choroba trzewna-celiakia jest to autoimmunologiczna enteropatia zapalna błony śluzowej jelita cienkiego prowadząca do zespołu złego wchłaniania wynikającego z nieprawidłowego trawienia, wchłaniania oraz motoryki jelit. Przyczyną choroby jest nietolerancja frakcji gliadynowej glutenu obecnego w pszenicy, życie, pszenzycie, jęczmieniu i owsie [Darewicz i Dziuba, 2007; Gomułka i Demkow, 2010]. W ostatnich latach zaobserwować można zwiększoną ilość rozpoznanych przypadków celiakii. Wzrastająca zachorowalność wywołana może być przez stresujący tryb życia oraz zwiększone spożycie produktów glutenowych przez ludzi. Białka glutenowe, zaliczane

do prolamin, u osób nadwrażliwych i obciążonych genetycznie mogą działać toksycznie, prowadząc do powstania stanu zapalnego jelita cienkiego, wywołanego uszkodzeniem jego błony śluzowej. Za najbardziej toksyczne dla ludzi z enteropatią glutenową uważana jest α -gliadyna znajdująca się w pszenicy. Nieco mniej toksyczne są sekaliny obecne w życie oraz hordeiny (jęczmień). Wykazano, iż najmniej szkodliwe działanie posiadają obecne w owsie aweniny [Alvarez-Jubete i in., 2010; Darewicz i Dziuba, 2007; Gomułka i Demkow, 2010].

Podstawową skuteczną metodą leczenia celiakii jest stałe wykluczenie glutenu z jadłospisu chorego. Dozwolone są produkty zawierające zboża bezglutenowe takie jak kukurydza, proso, ryż, gryka. Dieta bezglutenowa musi być stosowana przez całe życie, gdyż po ponownym podaniu glutenu następuje szybki nawrót choroby [Niewiński, 2008; Saturni i in., 2010].

Gryka należy do rodziny rdestowatych (*Polygonaceae*), zaliczana jest do roślin dwupiennych, jednorocznych, zapylanych przez owady. Ze względu na uprawę i przetwórstwo klasyfikowana do pseudozboź. Gryka zwyczajna (*Fagopyrum esculentum*) oraz gryka tatarska (*Fagopyrum tataricum*) wykorzystywane są jako rośliny uprawne [Guo i Yao, 2005]. Orzeszki gryki obfitują w wiele składników odżywczych np. białka, niektóre witaminy z grupy B, mikro- i makroelementy oraz składniki nieodżywcze błonnik pokarmowy i polifenole [Bilgici, 2009; Filipcev i in., 2011; Zhang i in., 2012].

Kukurydza zaliczana jest do najstarszych, powszechnie wykorzystywanych roślin na świecie. Do głównych produktów uzyskanych z jej ziaren należą mąka oraz grys kukurydziany. Mąka wykorzystywana jest w piekarnictwie jako składnik podstawowy lub dodatek do pieczywa i wyrobów cukierniczych [Niedziółka i Szymanek, 2003]. Produkty kukurydziane są znakomitym źródłem wielu niezbędnych dla człowieka składników odżywczych. Ziarno kukurydzy obfituje w węglowodany, głównie skrobię oraz dostarcza nienasyconych kwasów tłuszczowych. Jest także doskonałym źródłem składników mineralnych oraz witamin [Szymanek i in., 2004]. Posiada silne właściwości antyoksydacyjne. Bardzo dużym walorem tej rośliny jest to, iż podobnie jak gryka nie posiada w swoim składzie białek glutenowych. Brak glutenu pozwala na wykorzystanie produktów z nasion kukurydzy w diecie bezglutenowej przeznaczonej dla pacjentów z chorobą trzewną [Niedziółka i Szymanek, 2003; Szymanek i in., 2004]

Celem niniejszej pracy było zbadanie składu chemicznego oraz aktywności antyoksydacyjnej wybranych produktów bezglutenowych.

Materiały i metody

Do opracowania receptur produktów bezglutenowych w pracy wykorzystano mąkę gryczaną i kukurydzianą. W badaniu modyfikacji poddano przepisy kulinarne

i przygotowano produkty w taki sposób, że mąkę pszenną zastąpiono wymienionymi mąkami w odpowiednich proporcjach. Jako wzorzec sporządzono produkty z mąki pszennej [Syska, 2013].

Głównymi surowcami wykorzystanymi do przygotowania biszkoptów i ciastek kruchych były mąka gryczana, kukurydziana oraz pszenna tortowa. Dodatkowo zastosowano produkty wskazane w wykorzystanych przepisach kulinarnych, a mianowicie: jaja, cukier, masło, olej, proszek do pieczenia (zwykły i bezglutenowy). Ilość użytych składników do przygotowania biszkoptów i ciastek zestawiono w tabeli 1.

Jako wzorzec do opracowania receptur produktów bezglutenowych wykorzystano tradycyjne przepisy z książki kucharskiej „Kuchnia polska tradycyjna” [Kasprzycka, 2003]. Przy opracowywaniu receptur modyfikacji poddano proporcje niektórych składników, mąkę pszenną zastąpiono mąką gryczaną, kukurydzianą lub mieszanką mąki kukurydzianej i gryczanej w proporcjach 1:1. Z przygotowanych produktów po wypieczeniu oznaczono zawartość suchej masy oraz wykonano ekstrakty metanolowe. Poddano je także liofilizacji w celu przygotowania materiału do dalszych analiz.

W zliofilizowanych produktach oznaczono zawartość białka, tłuszczu oraz popiołu przy użyciu metod AOAC [2006]. Ilość węglowodanów ogółem obliczono w przeliczeniu na suchą masę. Z wypieczonych produktów przygotowano ekstrakty metanolowe. Odważono ok. 1 g produktu dodano 80 cm³ 70% metanolu, zatkało korkiem i umieszczono w wytrząsarce na 2 godziny, chroniąc próbkę przed dostępem światła. Następnie roztwór odwirowano przy 1500 x g przez 15 min. Supernatant zlewano i przechowywano w -22°C. Zawartość polifenoli oznaczano metodą Polli-Swain i Hillis [1959], przy użyciu odczynnika Folina-Ciocalteu. Ilość polifenoli ogółem wyrażono w mg kwasu chlorogenowego w 100 g produktu. Zdolność wygaszania wolnych rodników oznaczono używając wolnego kationorodnika ABTS metodą Re i in. [1999].

Uzyskane wyniki poddano jednoczynnikowej analizie wariancji przy użyciu programu Statistica 10 [Tulsa, USA, 2011]. Na podstawie testu Duncana określono istotność różnic występujących pomiędzy poszczególnymi średnimi przy poziomie istotności $p < 0,05$.

Wyniki

Zastosowanie różnego rodzaju mąk nie wpłynęło istotnie na zawartość suchej masy w badanych biszkoptach. Istotnie najwyższą zawartość białka i tłuszczu ogółem oznaczono biszkopcie mieszanym w porównaniu do ciasta przygotowanego z mąki pszennej oraz kukurydzianej. Najmniej tłuszczów w porównaniu do pozostałych ciast, zawierał biszkopt gryczany ($p < 0,05$). Istotnie najwięcej węglowodanów ogółem stwierdzono w biszkopcie gryczanym w porównaniu do pozostałych produktów (tabela 2). Najwyższą ilość popiołu oznaczono w biszkopcie mieszanym i gryczanym

w porównaniu do pozostałych produktów ($p < 0,05$). Zawartość polifenoli ogółem oraz zdolność wygaszania wolnych rodników była istotnie najwyższa w biszkopcie gryczanym w porównaniu do pozostałych produktów.

Zawartość suchej masy w ciastkach przygotowanych z różnego rodzaju mąk nie różniła się istotnie statystycznie (tabela 3). Istnie najwyższy poziom białka oznaczono w ciastkach gryczanych w porównaniu do ciastek kukurydzianych. Ciastka pszenne zawierały istotnie najniższą ilość tłuszczu w odniesieniu do ciastek mieszanych i gryczanych. Nie wykazano różnic istotnych statystycznie w ilości węglowodanów ogółem w analizowanych produktach. Istotnie najwyższą ilość popiołu zawierały ciastka gryczane w porównaniu do pozostałych ciastek. Najwyższy poziom polifenoli oznaczono w ciastkach gryczanych, w porównaniu do pozostałych produktów ($p < 0,05$). Największą zdolnością wygaszania wolnego kationorodnika ABTS charakteryzowały się ciastka wypieczone z mieszanki mąki kukurydzianej i gryczanej oraz przygotowane z mąki gryczanej w porównaniu do pozostałych produktów.

Dyskusja

Na podstawie przeprowadzonych analiz stwierdzono, iż badane wyroby bezglutenowe cechują się dużą zawartością podstawowych składników odżywczych oraz wysoką aktywnością antyoksydacyjną.

Przeprowadzone analizy nie wykazały istotnych różnic w zawartości suchej masy w biszkoptach wykonanych z analizowanych mąk w obrębie danego wypieku (tabela 2, tabela 3). W publikacjach naukowych niewiele jest informacji na temat zawartości suchej masy w produktach wypieczonych na bazie mąki gryczanej czy kukurydzianej, dlatego też dane otrzymane w niniejszej pracy porównywano do mąk. Otrzymane wyniki korespondują z danymi uzyskanymi przez Lin i in. [2009]. Autorzy, ci stwierdzili wyższą zawartość suchej masy w mące gryczanej w porównaniu do mąki pszennej wnosząca odpowiednio $87,32 \pm 0,02$ g/100g oraz $86,68 \pm 0,13$ g/100g.

Spośród biszkoptów przygotowanych na bazie mąk bezglutenowych najwyższą zawartość białka stwierdzono w biszkopcie mieszanym a najmniejszą w produkcie pszennym. W ciastkach największą zawartością białka charakteryzowały się wyroby z mąki gryczanej, najniższą natomiast ciastka kukurydziane. Podobne rezultaty otrzymali Sandhu i in. [2007]. Obserwowali oni wpływ odmiany kukurydzy na podstawowy skład chemiczny. Zawartość białka w zależności od odmiany mieściła się w przedziale od 5,18% do 7,82%. Również Filipev i in. [2011], którzy badali możliwość dodatku gryki do herbatników imbirowych, uzyskali zbliżone wyniki analiz. W zależności od udziału mąki gryczanej w herbatnikach, autorzy uzyskali zawartość białka, wynoszącą od $7,73 \pm 0,13$ do $8,12 \pm 0,17$ g/100 g s.m. produktu. Udział tłuszczu w badanych biszkoptach był bardzo zróżnicowany. Najwyższą zawartością tłuszczu charakteryzował

się biszkopt mieszany, natomiast najniższą biszkopt z mąki gryczanej. W ciastkach najczęściej tłuszczu stwierdzono w tych przygotowanych na bazie mąki gryczanej, a najmniejszą jego zawartość w ciastkach pszennych. Dane literaturowe dotyczące zawartości tłuszczu różnią się znacznie, w zależności czy analizie podana została czysta mąka z badanego zboża, czy eksperyment dotyczył sprawdzenia składu konkretnego wyrobu piekarniczego. Sandhu i in. [2007] w mąkach kukurydzianych, wykazali zawartość tłuszczu na poziomie od 1,56 do 2,42% s.m. Również Bilgili [2009] w badaniach dotyczących składu mąki gryczanej otrzymał znacznie niższą zawartość tłuszczu wynoszącą $2,9 \pm 0,14$ g/100 g s.m. produktu w porównaniu do wyników uzyskanych w tej pracy. Filipcev i in. [2011], analizując dodatek gryki do herbatników imbirowych, otrzymali zbliżoną zawartość tłuszczu w porównaniu do wyników otrzymanych w niniejszej pracy, wynoszącą od $8,43 \pm 0,26$ do $8,59 \pm 0,17$ g/100 g s.m. Zawartość węglowodanów ogółem była najwyższa w biszkopcie gryczanym. Ciastka zawierały podobną ilość omawianego składnika. Otrzymane wyniki korespondują z danymi opublikowanymi przez Lin i in. [2009], którzy zawartość węglowodanów w mące gryczanej łuskanej uzyskali na poziomie $61,59 \pm 0,06$ g/100g s.m. Wyższą zawartość węglowodanów przedstawili Sandhu i in. [2007] dla mąk kukurydzianych (87,6%-92,5%). Krkoskova i Mrozowa [2005] badające nasiona gryki oraz mąkę gryczaną zaprezentowały zawartość węglowodanów ogółem wynoszącą odpowiednio 73,3 g/100 g i 75,31 g/100 g s.m.

Największą ilość popiołu stwierdzono w biszkopcie przegotowanym z mieszanki mąk kukurydzianej i gryczanej oraz gryczanym. Spośród ciastek zdecydowanie największą ilością popiołu charakteryzowały się ciastka gryczane, natomiast najmniejszy poziom popiołu wykazano w ciastkach pszennych. Bonafaccia i in. [2003] w badaniach na mące gryczanej otrzymali wyższą zawartość popiołu w mące ($1,82 \pm 0,06$ g/100 g) w porównaniu do wyników przedstawionych w tej pracy. Również wyniki Torbicy i in. [2012] były niezgodne z danymi przedstawionymi w niniejszej pracy. Autorzy oznaczyli zawartość popiołu w ciastkach gryczanych na poziomie 2,20 g/100 g s.m. oraz w pszennych 0,47g/100g s.m.

Poziom polifenoli w analizowanych produktach różnił się w zależności od rodzaju mąki. Najwyższą zawartość polifenoli stwierdzono w biszkopcie gryczanym, ciastach przygotowanych z mieszanki mąk gryczanej i kukurydzianej i z mąki gryczanej. Najwyższe wartości polifenoli ogółem stwierdzono w ciastkach przygotowanych na bazie mąki gryczanej. Równie wysoki udział związków polifenolowych w mące gryczanej ($1,02 \pm 0,01$ g kwasu galusowego/100 g) przedstawili Guo i in. [2012]. Sedej i in. [2011] wykazali, że zawartość związków polifenolowych w krakersach gryczanych wynosiła 231 ± 1 mg kwasu galusowego/100 g i była ona trzykrotnie wyższa od zawartości w krakersach pszennych. Podobną zawartość polifenoli

otrzymali Filipcev i in. [2011]. Autorzy ci, w zależności od procentowego udziału mąki gryczanej w ciastkach, otrzymali zawartość polifenoli mieszczącą się w przedziale od $196,35 \pm 0,90$ do $238,92 \pm 1,81$ mg kwasu galusowego/100 g

Zaobserwowano, iż aktywność antyoksydacyjna w analizowanych produktach była zróżnicowana. Najniższą zdolnością wygaszania wolnych rodników zarówno w przypadku biszkoptów jak i ciastek charakteryzowały się produkty pszenne. Stempińska i in. [2007] wykazały zdolność wygaszania wolnych rodników na poziomie $20,22 \pm 0,22$ μmol Troloksu/g s.m. Sensou i in. [2006] analizowali aktywność antyoksydacyjną wybranych ziaren testem DPPH[•]. Otrzymali oni wyniki na poziomie $1,97 \pm 0,19$ mmol równoważne ilości Troloksu/g suchej masy dla mąki kukurydzianej oraz $2,13 \pm 0,05$ mmol równoważne Trolox/g suchej masy dla całych ziaren gryki.

Podsumowanie

Na podstawie przeprowadzonych badań stwierdzono, iż zawartość składników odżywczych w analizowanych produktach uzależniona była od rodzaju mąki, z jakiej zostały one przygotowane. Wykazano, iż ilość związków o działaniu przeciwutleniającym (analizowana poprzez analizę zawartości związków polifenolowych oraz zdolności zmiatania wolnych rodników) istotnie zależy od rodzaju mąki, z jakiej wykonany jest produkt. Najwyższy poziom związków przeciwutleniających stwierdzono w biszkopcie przygotowanym z mąki gryczanej. Wykazano, iż ilość związków przeciwutleniających różniła się znacznie w poszczególnych ciastkach. Najwyższą zdolność wygaszania wolnych rodników oraz zawartość polifenoli stwierdzono w ciastkach gryczanych.

Literatura

1. AOAC. Official methods of analysis, 18th edition. Gaithersburg Association of Official Analytical Chemists International, 2006
2. Alvarez-Jubete L., Arendt E.K., Gallagher E. Nutritive value of pseudocereals and their increasing use as functional gluten-free ingredients. Trends in Food Science & Technology, 2010, 106-113.
3. Bilgicli N. Effect of buckwheat flour on chemical and functional properties of tarhana. Food Science and Technology, 2009, 42, 514-518.
4. Bonafaccia G., Marocchini M., Kreft I. Composition and technological properties of the flour and bran from common and tartary buckwheat. Food Chemistry, 2003, 80, 9-15.
5. Darewicz M., Dziuba J. Dietozależny charakter enteropatii pokarmowych na przykładzie celiakii. Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 2007, 1(50), 5-50.

6. Filipcevic B., Simurina O., Sakac M., Sadej I., Jovanov P., Pestoric M., Bodroza-Solarov M. Feasibility of use of buckwheat flour as an ingredient in ginger nut biscuit formulation. *Food Chemistry*, 2011, 125, 164-170.
7. Gomulka K., Demkow U. Celiakia – etiopatogeneza, klinika i diagnostyka laboratoryjna. *Nowa Peditria*, 2010, 2, 44-49.
8. Guo X., Yao H. Fractionation and characterization of tatar buckwheat flour proteins. *Food Chemistry*, 2005, 98, 90-94.
9. Guo X., Wu C., Ma Y., Parry J., Xu Y., Lin H., Wang M. Comparison of milling fractions of tartary buckwheat for their phenolics and antioxidant properties. *Food Research International*, 2012, 49, 53-59.
10. Kasprzycka M. *Kuchnia polska*. Wyd. Ex Libris, Warszawa 2003.
11. Krkoskova B., Mrazova Z. Prophylactic components of buckwheat. *Food Research International*, 2005, 38, 561–568.
12. Lin L., Liu H., Yu Y., Lin S. Mau J. Quality and antioxidant property of buckwheat enhanced wheat bread. *Food Chemistry*, 2009, 987-991.
13. Niedziółka I. Szymanek M. Przemysłowe i energetyczne wykorzystanie ziarna kukurydzy. *Motoryzacja, Energetyka, Rolnictwo*, 2003, 115-121.
14. Niewiński M. Advances in Celiac Disease and Gluten Free Diet, *Journal of American Dietetic Association*, 2008, 108, 661-672.
15. Poli-Swain T., Hillis W.E. The phenolic constituents of *Prunus domedtica*. The quantitative analysis of phenolic constituents. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 1959, 10, 63-68.
16. Re R., Pellegrini N., Pannala A., Yang M., Rice-Evans C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 1999, 26(9-10), 1231-1237.
17. Sandhu K., Singh N., Malhi N. Some properties of corn grains and their flours I: Physicochemical, functional and chapatti-making properties of flours. *Food Chemistry*, 2007, 101, 938-946.
18. Saturni L., Feretti G., Bacchetti T. The Gluten-Free Diet: Safety and Nutritional Quality. *Nutrients*, 2010, 2, 16-34.
19. Sedej I., Sakac M., Mandic A., Misan A., Pestoric M., Simurina O., Canadanovic-Brunet J. Quality assessment of gluten-free crackers based on buckwheat flour. *Food Science and Technology*, 2011, 44, 694-699.
20. Sensou I., Rosen R., Ho C., Karwe M. Effect of processing on buckwheat phenolics and antioxidant activity. *Food Chemistry*, 2006, 99, 388-393.
21. Stempińska K., Solar-Śmietana M., Zieliński H., Michalska A. Wpływ obróbki termicznej na skład chemiczny i właściwości przeciwutleniające ziarniaków gryki, Żywność. *Nauka. Technologia. Jakość*, 2007, 5, 66-76.

22. Syska A. Możliwość wykorzystania gryki w diecie bezglutenowej. Praca inżynierska, 2013, 26-27.
23. Szymanek M., Niedziółka I., Dobrzański B. Właściwości fizyczne ziarna kukurydzy cukrowej w aspekcie jego mechanicznego odcinania. ACTA Agrophyzica, Rozprawy i Monografie, 2004, 107, (4).
24. Torbica A., Hadnaev M., Hadnaev D. Rice and buckwheat flour characterisation and its relation to cookie quality. Food Research International, 2012, 48, 1, 277-283.
25. Zhang Z., Zhuo M., Tang Y., Li F., Tang Y., Shao J., Xue W., Wu Y. Bioactive compounds in functional Buckwheat food. Food Research International, 2012, 389-395.

Tabela 1. Zestawienie składników receptury biszkoptów i ciastek kruchych

Produkt	Mąka pszenna [g]	Mąka gryczana [g]	Mąka kukurydziana [g]	Jaja [szt.]	Cukier [g]	Proszek do pieczenia glutenowy [g]	Proszek do pieczenia bezglutenowy [g]	Olej [g]	Masło [g]	Aromat waniliowy [g]	Sól [g]
<i>biszkopty</i>											
Biszkopt pszenny	40	-	-	4	60	2,5	-	30	-	-	-
Biszkopt kukurydziany	-	-	40	4	60	-	2,5	30	-	-	-
Biszkopt mieszany	-	20	20	4	60	-	2,5	30	-	-	-
Biszkopt gryczany	-	40	-	4	60	-	2,5	30	-	-	-
<i>ciastka kruche</i>											
Ciastka pszenne	400	-	-	2	200	-	-	-	200	1	0,5
Ciastka kukurydziane	-	400	-	2	200	-	-	-	200	1	0,5
Ciastka mieszane	-	200	200	2	200	-	-	-	200	1	0,5
Ciastka gryczane	-	400	-	2	200	-	-	-	200	1	0,5

Tabela 2. Średnia zawartość podstawowych składników oraz zawartość polifenoli i aktywność antyoksydacyjna biszkoptów

Produkt	Biszkopt pszenny	Biszkopt kukurydziany	Biszkopt mieszany	Biszkopt gryczany
Sucha masa	57,27±3,43a	54,46±5,02a	59,58±3,46a	51,71±0,78a
Białko*	6,07±0,26a	6,72±0,22a	7,75±0,17b	7,00±0,55ab
Tłuszcz*	9,75±0,13b	11,38±0,46c	12,56±0,62d	5,75±0,09a
Węglowodany ogółem*	70,59±0,27b	65,11±0,37a	63,75±0,63a	73,08±0,99c
Popiół*	1,02±0,03a	0,90±0,03a	1,30±0,08b	1,17±0,05b
Polifenole ogółem**	46,61±2,22b	59,00±1,47a	60,63±2,21a	70,78±1,47c
Aktywność antyoksydacyjna** [μmol Trolox/100 g]	5,13±0,1a	5,69±0,18b	6,84±0,03c	8,79±0,19d

±SD- odchylenie standardowe, wartości oznaczone różnymi literami w wierszach różnią się istotnie statystycznie przy p<0,05

* wartości średnie podane w przeliczeniu 100 g suchej masy

** dane w przeliczeniu na 100 g świeżej masy produktu

Tabela 3. Średnia zawartość podstawowych składników oraz zawartość polifenoli i aktywność antyoksydacyjna ciastek

Produkt	Ciastka pszenne	Ciastka kukurydziane	Ciastka mieszane	Ciastka gryczane
Sucha masa	83,35±0,66a	85,06±1,71a	84,19±0,36a	85,15±0,31a
Białko*	6,03±1,13ab	4,43±0,52a	6,15±0,10ab	7,95±1,67b
Tłuszcz*	14,15±0,54a	14,86±0,24ab	16,13±0,73bc	16,49±0,06c
Węglowodany ogółem*	75,50±0,61a	76,80±0,44a	76,33±5,15a	70,02±0,65a
Popiół*	0,23±0,08a	0,40±0,04b	0,71±0,00c	1,09±0,04d
Polifenole ogółem [mg/100 g]**	29,30±0,00a	44,31±0,72b	79,23±3,71c	122,26±0,74d
Aktywność antyoksydacyjna** [μmol Trolox/100 g]	33,12±0,58a	38,09±0,94a	56,22±0,90b	56,35±0,20b

±SD- odchylenie standardowe, wartości oznaczone różnymi literami w wierszach różnią się istotnie statystycznie przy p<0,05

* wartości średnie podane w przeliczeniu 100 g suchej masy

** dane w przeliczeniu na 100 g świeżej masy produktu

WIKTOR BERSKI, MAREK GIBIŃSKI, HALINA GAMBUŚ,
ANETA SKÓRA, ANNA GAŁUSZKA

*Katedra Technologii Węglowodanów, Wydział technologii Żywności,
Uniwersytet Rolniczy w Krakowie, ul. Balicka 122 30 – 149 Kraków*

MOŻLIWOŚĆ WYKORZYSTANIA RESZTKOWEJ MĄKI OWSIANEJ DO WYROBU DESERÓW I KREMÓW TYPU BUDYNIOWEGO

Wstęp

Rosnące zainteresowanie konsumentów zdrowym sposobem odżywiania się doprowadziło do powstania licznych suplementów diety. Jako przykład można podać preparaty błonnikowe, takie jak: OTARIM czy BETAVEN. Ten ostatni jest produkowany w Polsce przez firmę Microstructure z płatków owsianych. Podczas jego produkcji dochodzi do powstania dużej ilości produktu ubocznego, czyli tzw. resztkowej mąki owsianej (RMO), w ilości 10 krotnie większej niż masa BETAVENU. Resztkowa mąka owsiana jest produktem o bardzo ciekawych właściwościach, gdyż zawiera wszystkie składniki obecne w ziarnie owsa, przy obniżonym poziomie β -glukanów, w odniesieniu do handlowej mąki owsianej [Gambuś i in., 2011 a i b]. Z badań własnych wynika, że na tle mąk zbóż chlebowych, RMO charakteryzuje się większą zawartością lipidów, błonnika pokarmowego (w tym jego frakcji rozpuszczalnej), związków mineralnych czy też bardzo wartościowego białka, oraz stosunkowo niską zawartością skrobi [Gibiński i in., 2010; Gambuś i in., 2011 a i b].

Powstawanie dużej ilości RMO skłania do opracowywania różnych sposobów jej wykorzystania, np. do produkcji pieczywa, ekstrudatów, herbatników, czy też różnego rodzaju zagęstników [Gibiński i in., 2010; Gambuś i in., 2011 a i b; Berski i Gambuś, 2013, 2014]. Pewien problem jaki można napotkać, próbując zastosować RMO do produkcji artykułów spożywczych, jest brak akceptacji konsumenckiej okazywanej wyrobom owsianym przez sporą część konsumentów, ze względu na ich małą atrakcyjność. W przypadku młodszych konsumentów, którzy powinni włączyć do diety przetwory owsiane ze względu na ich unikalny skład chemiczny, istotnym problem może być brak atrakcyjności typowego produktu owsianego jakim jest np. owsianka. Dlatego też by zwiększyć zainteresowanie konsumentów produktami z RMO, które oprócz poprawy walorów odżywczych posiłku, mogłyby przyczynić się do zwiększenia opłacalności produkcji preparatu błonnikowego BETAVEN, celowym wydaje się być zamaskowanie mało atrakcyjnego wyglądu kleików owsianych, poprzez rozmaite dodatki poprawiające smak czy zapach.

Takie podejście skłoniło autorów niniejszego opracowania do przygotowania receptury i technologii produkcji wyrobów deserowych, bazujących na RMO.

Zamierzeniem było opracowanie wyrobu deserowego typu budyni oraz nadzienia/kremlu, które znalazłoby zastosowanie w produkcji piekarskich wyrobów cukierniczych, np. pieczywa pszennego półcukierniczego.

Jako materiał porównawczy wykorzystano mąkę pszenną typu 650. W ramach wcześniej przeprowadzonych badań dokonano wstępnej oceny układów zawierających mleko [Berski i Gambuś, 2013], wodę i sacharozę [Berski i Gambuś, 2014] oraz RMO. Badania te pozwoliły na ustalenie wstępnych parametrów tekstury deserów. Oceniono, że produkt z udziałem mleka charakteryzował się lepszymi cechami organoleptycznymi, przy dodatkowo zwiększonej wartości odżywczej, ze względu na możliwość wzajemnego uzupełniania się aminokwasów pochodzących z mleka i RMO.

Materialy i metody

Materialy

W badaniach wykorzystano następujące surowce:

- resztkową mąkę owsianą (RMO), będącą pozostałością po produkcji preparatu Betaven (Microstructure Sp. z o. o., Warszawa);
- mąkę pszenną typu 650 (PZZ Kraków);
- mleko spożywcze „Łaciate” o zawartości 2,0 % tłuszczu (Mlekpól);
- cukier puder Diamant (Pfeifer & Langen Marketing Sp. z o.o., Poznań);
- jaja z chowu klatkowego (ferma Sochaczew, Sochaczew);
- masło śmietankowe (Polmlek, Warszawa);
- kakao Deco Morreno (MASPEX-GMW, Wadowice);
- sok malinowy Paola (Hoop Polska Sp. z o.o., Warszawa);
- kwasek cytrynowy (Gellwe, Zabierzów);
- aromaty: waniliowy/pomarańczowy (Delecta, Włocławek) oraz toffee (AROMA - POL, Poznań).

Z powyższych materiałów sporządzono wyrób deserowy (**D**) przeznaczony do bezpośredniej konsumpcji oraz krem (**K**), mający stanowić nadzienie do ciast. Skład tych produktów podano poniżej w przeliczeniu na 100 g produktu finalnego.

Metody

Wyrób deserowy (D) przygotowywano w następujący sposób: 5,1 g RMO, z dodatkiem 7,6 g cukru, rozprowadzano w 85,2 g mleka, a po uzyskaniu jednolitej konsystencji dodawano 0,1 g kwasu cytrynowego, 1,9 g soku malinowego oraz 0,1 g aromatu toffee.

Krem (K) sporządzano z mieszaniny RMO (9,26 g), jaj (16,78 g), cukru (17,36 g), mleka (45,86 g), masła (7,67 g), kakao (2,89 g) oraz aromatu waniliowego lub

pomarańczowego (0,19 g). Przed wymieszaniem mąki z innymi składnikami, przesiewano ją przez sito celem usunięcia ewentualnych zanieczyszczeń mechanicznych, napowietrzenia i zapobiegnięcia powstawania grudek (zbrylaniu), utrudniających dobre wymieszanie składników i obniżających ocenę sensoryczną produktu. Na wstępie zagotowano mleko z dodatkiem 50% ilości cukru uwzględnionej w recepturze. Pozostałą część cukru połączono z jajami i mąką i wyrabiano do uzyskania masy o jednorodnej konsystencji, w czasie 2 minut używając ręcznego miksera firmy Zelmer. Do tak otrzymanej mieszaniny dolano zagotowane mleko z cukrem. Po dokładnym wymieszaniu uzyskaną masę ogrzewano do zagotowania, i w stanie wrzenia mieszano przez około 0,5 minuty, po czym schładzano tak otrzymaną masę do temperatury 40°C, po osiągnięciu której dodawano do niej masło, kakao i aromat (pomarańczowy lub waniliowy). Po ponownym wymieszaniu krem schładzano do temperatury 20°C, i pozostawiano na 1 godzinę. Po tym czasie przeprowadzano analizę sensoryczną oraz przygotowywano próbki do oznaczeń tekstury.

Dla celów porównawczych wykonano też krem, w którym RMO zastąpiono mąką pszenną (MP).

Charakterystyka kleikowania

Oznaczenie charakterystyki kleikowania zawiesin RMO w różnych ośrodkach (w wodzie i sacharozie, mleku i sacharozie, oraz mleku, sacharozie i pozostałych składnikach, wykonano w urządzeniu Micro Visco-Amylo-Graph firmy Brabender (Duisburg, Niemcy). Wielkość próbki wynosiła 100 g. Zastosowano następujący profil temperaturowy: próbkę ogrzewano od temperatury 45°C do 95°C, po osiągnięciu temperatury 95°C próbka była w tej temperaturze przetrzymywana przez 10 minut, następnie chłodzono ją do temperatury 25°C, w której przetrzymywano ją przez kolejne 10 minut. Próbkę ogrzewano i chłodzono z szybkością 4,5°C na minutę, pojemnik pomiarowy obracał się z szybkością 150 obr•min⁻¹.

Analizie poddano następujące układy modelowe: RMO – woda – sacharoza (D-I), RMO – mleko – sacharoza (D-II), oraz gotowy wyrób deserowy (D): RMO - mleko - sacharoza - kwasek cytrynowy – sok malinowy.

Analiza profilu tekstury (TPA) otrzymanych produktów

Do tego celu wykorzystano teksturometr TA-XT Plus (Stable Micro Systems Haselemere, Surrey, Anglia). W badaniach zastosowano próbnik walcowy P/35 o średnicy 35 mm. Próbkę poddawano dwukrotnemu ściskaniu z prędkością 1 mm•s⁻¹, do głębokości 10 mm, zachowując 5-sekundowe przerwy między suwami tłoka.

Teksturę deseru (D) badano w przeciągu 7 dni (1, 5 i 7 dzień), natomiast próbki kremu (K) oznaczono w dniu sporządzenia (0) oraz po 7 dniach. Próbkę przechowywano

w lodówce, w temperaturze 5°C, w zamkniętych pojemnikach. Przed pomiarem próbkom pozwalano uzyskać temperaturę otoczenia.

Badania konsumenckie gotowych produktów (D i K) obejmowały ocenę organoleptyczną oraz analizę profilową

W ocenie organoleptycznej zastosowano 5-cio punktową ocenę deserów (D), wybierając następujące wyróżniki jakości i współczynniki ważkości: wygląd ogólny, struktura (0,2); barwa (0,1); jednolitość powierzchni (0,1); konsystencja (0,1); zapach (0,1); smak (0,4). Z kolei w przypadku kremów (K) oceniano barwę (0,1), konsystencję/rozpływalność w ustach (0,1), strukturę (0,1), smak (0,4) oraz zapach (0,3).

Analiza profilowa przewidywała udzielnie odpowiedzi na 7 pytań: jak oceniasz smak tego produktu; jak oceniasz słodkość tego produktu; jak oceniasz kwaśność tego produktu; jak oceniasz barwę tego produktu; jak oceniasz konsystencję tego produktu; jak oceniasz zapach tego produktu; jak oceniasz produkt, które były umieszczane na skalowanej osi (-5 do 5).

Ocenę organoleptyczną przeprowadził 20 - osobowy panel oceniający, o sprawdzonej wrażliwości sensorycznej. Ocenę deseru (D) przeprowadzono po pierwszym dniu przechowywania (1), natomiast kremu (K) w dniu przygotowania (0) oraz po 3 i 7 dniach przechowywania w warunkach chłodniczych

Analiza statystyczna

Ocenę statystyczną wyników wykonano wykorzystując program komputerowy Statistica (Statsoft Tulsa, USA). Istotność różnic pomiędzy średnimi wykazano, posługując się testem Tukey'a. Obliczenia wykonano przy poziomie istotności $\alpha = 0,05$.

Wyniki i dyskusja

Ocena jakości uzyskanych deserów (D)

Pierwszym etapem sporządzenia deserów na bazie resztkowej mąki owsianej (RMO) był wybór ośrodka kleikowania mąki i oznaczenie wpływu zastosowanych składników smakowych na przebieg charakterystyki kleikowania takich mieszanin. Z wcześniejszych badań wiadomo bowiem, że o przydatności przetworów owsianych jako zagęstnika decyduje ich zdolność do kleikowania w danym układzie dyspersyjnym [Zhou i in. 1999a-c]. Jak wynika z danych zawartych w tabeli 1 ośrodek, w którym doszło do kleikowania mąki miał istotny wpływ na przebieg charakterystyki kleikowania. Zastąpienie wody (D-I) mlekiem (D-II) lub mieszaniną zawierającą mleko i pozostałe składniki deseru (D) doprowadziło do wzrostu wartości poszczególnych wskaźników lepkości, jednak nie zaobserwowano statystycznie istotnego wpływu składu mieszanin na temperaturę kleikowania (A). Obserwowany wzrost lepkości wraz ze zmianą ośrodka

dyspersyjnego można tłumaczyć wzrastającą zawartością składników suchej masy w układzie [Berski i Gambuś, 2013]. Znajduje to potwierdzenie we wzroście temperatury, w której zaobserwowano lepkość maksymalną (BT). Zastąpienie wody mlekiem doprowadziło do istotnego wzrostu wartości tego wskaźnika, co oznacza, że napęczniałe ziarna skrobiowe później uległy dezintegracji, jak już zanotowano w badaniach wcześniejszych [Abu-Jdayil i in., 2004].

Największą lepkością maksymalną oraz lepkością po ochłodzeniu do temperatury 25°C (F) charakteryzowały się kleiki w układzie dyspersyjnym zawierającym mleko, sacharozę, sok malinowy i dodatki smakowe (kwasek cytrynowy i aromat Toffii). Zastąpienie wody mlekiem spowodowało zwiększenie lepkości kleiku mącznego, co przypisuje się większej sztywności cząsteczek skrobi w obecności mleka [Abu-Jdayil i in., 2004; Noisuwan i in., 2008]. Zwiększona się zawartość tłuszczu w układzie spowodowana obecnością mleka przyczyniła się do wzrostu lepkości pozornej kleików. Efekt ten przypisywany jest oddziaływaniu przestrzennemu cząsteczek tłuszczu. Poza interakcjami między składnikami kleiku, zwiększona zawartość tłuszczu i innych składników w układzie, zmniejsza odległości między cząsteczkami w układzie, co z kolei przekłada się na większą gęstość próbki [Vélez-Ruiz i in., 1997].

Tabela 1. Wartości parametrów charakterystyki kleikowania kleików RMO

Parametry charakterystyki kleikowania		D-I	D-II	D
A	°C	72,6 ^a	70,8 ^a	70,8 ^a
B	j.B.	173,5 ^a	228,5 ^b	273,0 ^c
BT	°C	91,6 ^a	95,0 ^b	94,4 ^b
C	j.B.	168,5 ^a	224,0 ^b	235,5 ^b
D	j.B.	117,0 ^a	152,5 ^b	192,0 ^c
E	j.B.	371,5 ^a	467,0 ^b	639,0 ^c
F	j.B.	318,0 ^a	358,0 ^b	442,0 ^c

D-I RMO + woda + sacharoza, D-II RMO + mleko + sacharoza, D RMO + mleko + sacharoza + sok + kwasek cytrynowy + aromat Toffii

A - temperatura kleikowania, B – lepkość maksymalna, BT – temperatura w maksimum lepkości, C – lepkość po osiągnięciu temperatury maksymalnej (95°C), D – lepkość po przetrzymaniu przez 10 minut w temperaturze maksymalnej, E – lepkość po ochłodzeniu do temperatury 25°C, F – lepkość po przetrzymaniu w temperaturze 25°C przez 10 minut.

Wartości średnie oznaczone tą samą literą w jednym wierszu nie różnią się istotnie ($\alpha = 0,05$)

Tabela 2. Zmiana wybranych parametrów profilu tekstury badanych deserów z RMO podczas przechowywania

	Dzień	D-I	D-II	D
Twardość [N].	1	0,917 ^{abc}	1,297 ^e	1,203 ^{ed}
	5	0,764 ^a	0,987 ^{bcd}	1,119 ^{ecd}
	7	0,712 ^a	0,830 ^{ab}	1,245 ^e
Adhezyjność [N·s].	1	-0,513 ^{abc}	-0,695 ^{ab}	-0,706 ^a
	5	-0,392 ^{bc}	-0,599 ^{abc}	-0,465 ^{abc}
	7	-0,371 ^c	-0,458 ^{abc}	-0,519 ^{abc}

Oznaczenia jak w tabeli 1. Wartości średnie oznaczone tą samą literą w obrębie cechy nie różnią się istotnie ($\alpha = 0,05$)

Zjawisko to znalazło też odbicie w zmianach twardości żeli owsianych w trakcie przechowywania (tabela 2). Żele D charakteryzowały się znaczną stabilnością w trakcie całego 7 dniowego okresu przechowywania. Różne twardości żeli obserwowanych w pierwszym dniu można tłumaczyć różną ilością wody dostępnej w układzie, potrzebną do skleikowania ziaren skrobiowych [Berski i Gambuś, 2014].

Adhezyjność próbek sporządzonych z udziałem mleka (D-II i D-III) zmniejszała się w czasie przechowywania, przy czym w przypadku próbki D-II zmiany te były wyraźniejsze.

Produkt finalny (D) poddano ocenie konsumenckiej. W ocenie organoleptycznej otrzymał on następujące noty (średnia \pm odchylenie standardowe): wygląd ogólny, struktura 4,4 \pm 0,7; barwa 3,9 \pm 1,0; powierzchnia 4,4 \pm 0,7; konsystencja 4,3 \pm 0,6; zapach 3,5 \pm 1,0; smak 3,5 \pm 1,3. Po uwzględnieniu współczynnika ważkości końcowa ocena wyniosła 3,9. Można więc stwierdzić, że produkt spotkał się z życzliwym przyjęciem przez konsumentów, jednakże stosunkowo niskie noty przyznane za zapach i smak, najprawdopodobniej spowodowane specyficznym zapachem i smakiem RMO, sugerują konieczność dalszych badań w tym zakresie. Wysoka wartość odchylenia standardowego, świadczy o znacznym zróżnicowaniu ocen, co szczególnie uwidoczniło się w przypadku oceny smaku.

Ocena jakości uzyskanych kremów (K)

Tabela 3. Zmiana twardości i adhezji kremów kakaowych (K) powstałych na bazie RMO i MP podczas przechowywania

	Dzień przechowywania	Owsiany (RMO)	Pszenny (MP)
Twardość [N]	0	0,898 ^a	1,498 ^c
	7	0,875 ^a	1,122 ^b
Adhezja [N·s]	0	-1,365 ^{ab}	-1,609 ^a
	7	-1,200 ^b	-1,367 ^{ab}

Wartości średnie oznaczone tą samą literą w obrębie cechy nie różnią się istotnie ($\alpha = 0,05$)

W tabeli 3 przedstawiono wartości twardości i adhezji kremu pszennego i owsianego oznaczone w dniu przygotowania (0), oraz po 7 dniach przechowywania w warunkach chłodniczych. Zdecydowanie większą twardością charakteryzował się krem pszenny, zarówno świeżo przygotowany, jak i po okresie przechowywania. Co ciekawe, twardość kremu owsianego nie uległa w tym okresie istotnym zmianom, czego nie można stwierdzić w przypadku kremu sporządzonego na bazie mąki pszennej. Wyniki te wskazują na większą stabilność kremu sporządzonego z RMO. Wpływ na tę cechę może mieć obecność w RMO hydrokoloidów nieskrobiowych (β -glukanów), które uczestniczą w tworzeniu i stabilizacji struktury żelu [Berski i Gambuś, 2013 i 2014], a których RMO zawierała około 10 razy więcej niż mąka pszenna [Zięć i in., 2010].

Adhezja (przylepność) do sondy pomiarowej obu rodzajów kremów zmniejszała się w trakcie przechowywania, jednakże zmiany te nie były istotne (tabela 3).

W celu uatrakcyjnienia smaku i zapachu badanych kremów do ich sporządzenia użyto po kilka kropli aromatów spożywczych: waniliowego, pomarańczowego, zgodnie z opisaną recepturą. Kremy czekoladowe aromatyzowane poddano ocenie organoleptycznej.

Tabela 4. Wyniki analizy organoleptycznej kremów kakaowych (K) powstałych na bazie RMO i MP w kolejnych dniach przechowywania

Dzień	RMO		MP	
	Pomarańczowy	Waniliowy	Pomarańczowy	Waniliowy
0	4,29 ^{ab}	4,49 ^{ab}	4,63 ^b	4,50 ^{ab}
3	4,37 ^{ab}	4,44 ^{ab}	4,45 ^{ab}	4,14 ^{ab}
7	4,43 ^{ab}	4,23 ^{ab}	4,23 ^{ab}	3,92 ^a

Wartości średnie oznaczone tą samą literą nie różnią się istotnie ($\alpha=0,05$)

Jak można zauważyć (tabela 4) kremy zostały ocenione dość wysoko przez panel oceniający, jednakże brak jest wyraźnych różnic zarówno pomiędzy poszczególnymi kremami, jak i ocenami z różnych dni. Zarówno najwyższą, jak i najniższą notę uzyskiwały kremy sporządzone na bazie MP. Przyznawana nota ulegała zmniejszeniu w kolejnych dniach oceny, jedynie krem o smaku pomarańczowym sporządzony na bazie RMO uzyskał wyższą ocenę w siódmym dniu przechowywania, niż w dniu jego sporządzenia. Końcowe oceny, były wyższe w przypadku kremów sporządzonych z udziałem RMO w odniesieniu do kremów z mąki pszennej. Wyniki oceny poszczególnych cech zostały przedstawione w tabeli 5.

Tabela 5. Wyniki oceny organoleptycznej kremów kakaowych w ocenianych w kolejnych dniach

Dzień	Krem	Barwa	Konsystencja	Struktura	Smak	Zapach
0	MP-P	4,9 ^b	4,2 ^a	4,5 ^a	4,8 ^b	4,1 ^a
	MP-W	4,9 ^b	4,4 ^a	4,4 ^a	4,2 ^{ab}	4,3 ^a
	RMO-P	4,6 ^{ab}	4,3 ^a	4,1 ^a	4,1 ^{ab}	4,3 ^a
	RMO-W	4,6 ^{ab}	4,6 ^a	4,4 ^a	4,4 ^{ab}	4,3 ^a
3	MP-P	4,5 ^{ab}	4,4 ^a	4,3 ^a	4,5 ^{ab}	4,4 ^a
	MP-W	4,4 ^{ab}	4,1 ^a	3,9 ^a	4 ^{ab}	4,5 ^a
	RMO-P	4,4 ^{ab}	4,5 ^a	4,2 ^a	4,4 ^{ab}	4,5 ^a
	RMO-W	4,4 ^{ab}	4,3 ^a	4,1 ^a	4,3 ^{ab}	4,5 ^a
7	MP-P	4,7 ^{ab}	4,1 ^a	4,3 ^a	4,1 ^{ab}	4,5 ^a
	MP-W	3,9 ^a	3,9 ^a	3,8 ^a	3,8 ^a	4,5 ^a
	RMO-P	4,3 ^{ab}	4,3 ^a	4,3 ^a	4,5 ^{ab}	4,6 ^a
	RMO-W	4,0 ^a	4,2 ^a	4,2 ^a	4,1 ^{ab}	4,6 ^a

MP-P krem pszenny z aromatem pomarańczowym, MP-W – krem pszenny z aromatem waniliowym, RMO-P – krem owsiany z aromatem pomarańczowym, RMO-W – krem owsiany z aromatem waniliowym. Wartości średnie oznaczone tą samą literą w kolumnie nie różnią się istotnie ($\alpha=0,05$)

W dniu sporządzenia kremów najwyższą ocenę otrzymał krem kakaowy pszenny z nutą pomarańczową (MP-P), uzyskując średnią ocenę 4,63 (tabela 4). Osoby określające nutę smakową tego kremu (tabela 6) w 100% udzieliły poprawnej odpowiedzi, określając ją jako nutę pomarańczową. Na wysoką ocenę tego kremu złożyły się korzystnie ocenione: barwa, smak i zapach. Z kolei spośród wszystkich analizowanych kremów najgorzej oceniono krem owsiany (również z nutą pomarańczową - RMO-P) - 4,29 pkt (tabela 4). W nim też najslabiej określono nutę smakową (40% poprawnych odpowiedzi), podobnie jak strukturę. Oba badane kremy z nutą waniliową –

owsiany i pszenne uzyskały porównywalne wyniki (odpowiednio 4,49, i 4,50 – tabela 4). Nutę smakową poprawnie określiło również 66,7% osób - tabela 6.

W trzecim dniu przeprowadzanej analizy organoleptycznej ponownie najwyższej oceniony został krem pszenne o nucie pomarańczowej (MP-P) uzyskując średnią ocenę 4,45 (tabela 4), jednakże zaobserwowano nieznaczny spadek, w porównaniu do poprzedniej oceny dokonanej w dniu 0, w którym sporządzono krem.

W trzecim dniu najgorzej oceniony został krem pszenne z nutą waniliową (MP-W), uzyskując 4,14 pkt., i tym samym tracąc 0,36 punktu w stosunku do poprzedniej oceny (tabela 4). Na taki wynik wpłynęły niskie oceny struktury, smaku i konsystencji (tabela 5). Ponownie najwyższy procent poprawnie udzielonych odpowiedzi dotyczących nuty smakowej otrzymał krem pszenne z nutą pomarańczową (MP-P) - 87% (tabela 6). Uzyskał on też dobrą ocenę ogólną za sprawą wysokich not przyznanych za smak i zapach (tabela 5). Najślabiej wyczuwalną nutą smakową odznaczył się krem pszenne z nutą waniliową (MP-W) - jedynie 40% badanych ją rozpoznało. Jednocześnie zauważono (w porównaniu do pierwszego dnia oceny) stopniowy wzrost rozpoznawalności nuty smakowej w kremach owsianych (tabela 6).

W siódmym dniu badania najwyższą ocenę otrzymał krem owsiany o nucie pomarańczowej (RMO-P). Uzyskał on średnią ocenę 4,43 i wykazał się najwyższą rozpoznawalnością nuty smakowej, bo aż w 80 %. Najniższą ocenę, 3,92 ponownie uzyskał krem pszenne z nutą waniliową (MP-W), on też był najślabiej rozpoznawalny - jedynie w 40%. Krem owsiany kakaowo-waniliowy (RMO-W) i krem pszenne kakaowo-pomarańczowy (MP-P) zostały w ocenie organoleptycznej identycznie ocenione (4,23), z tym, że krem owsiany uzyskał wyższą ocenę rozpoznawalności nuty zapachowo-smakowej.

Na podstawie przeprowadzonej analizy organoleptycznej stwierdzono, że w pierwszym i trzecim dniu największą popularnością cieszył się krem pszenne o nucie pomarańczowej (MP-P), wykazujący również najwyższą rozpoznawalność nuty smakowej w tych dniach. Natomiast badania w dniu siódmym okazały się zaskoczeniem, ponieważ najwyższą ocenę uzyskały oba kremy owsiane (RMO-P i RMO-W). Podobnie było z określeniem nuty smakowej, bowiem poprawność odpowiedzi dotyczących tej cechy była najlepsza (tabela 6).

Niezależnie od zastosowanej mąki preferowany był smak pomarańczowy. Jeśli chodzi o ocenę poprawności rozpoznawania nuty smakowej nie zaobserwowano żadnej zależności. Na przestrzeni siedmiu dni analizy organoleptycznej wykazano, że oceny konsumentów nie różnią się statystycznie istotnie przy poziomie istotności $\alpha = 0,05$.

Wyniki badań mikrobiologicznych (nie zaprezentowano) świadczą o możliwości przechowywania kremów w terminie przynajmniej siedmiu dni od wyprodukowania, bez

dotatku konserwantów, z zachowaniem całkowitego bezpieczeństwa spożycia. Nie zanotowano w badanych kremach obecności kolonii pleśni lub bakterii.

Tabela 6. Rozpoznawalność nuty smakowo-zapachowej kremów (% poprawnych odpowiedzi)

Dzień	Owsiany		Pszenny	
	Pomarańczowy	Waniliowy	Pomarańczowy	Waniliowy
0	40,0	66,7	100,0	66,7
3	46,7	80,0	86,7	40,0
7	80,0	80,0	73,0	40,0

Podsumowanie

Wyniki przeprowadzonych badań wskazują, że z powodzeniem można wykorzystać RMO do produkcji wyrobów deserowych typu budyniowego, czy też kremów nadających się do nadzień cukierniczych, co przy jej atrakcyjnym składzie chemicznym może być dodatkowym atutem. Zastosowanie dodatków takich jak: sok malinowy, kakao czy aromaty, pozwoliło na zwiększenie stopnia akceptacji konsumenckiej projektowanego deseru, a dalsza poprawa atrakcyjności takich produktów zależy tylko od inwencji producenta.

W wyniku przeprowadzonych analiz i uzyskanych wyników można stwierdzić, że:

1. mąka owsiana resztkowa doskonale nadaje się do wykorzystania jej w produkcji kremów kakaowych, nie ustępując pod żadnym względem podobnym kremom opartym recepturowo na bazie mąki pszennej i uzyskując wysokie oceny konsumenckie panelu sensorycznego,
2. wprowadzenie do składu modelowych zawiesin: sacharozy, mleka oraz innych dodatków, spowodowało wzrost lepkości pozornej otrzymanych z nich kleików; zarówno lepkości maksymalnej (w temp. 95°C), jak i po ochłodzeniu,
3. twardość badanych prób deserów mlecznych z mąki owsianej resztkowej (RMO) sporządzonych bez dodatków smakowych (soku, kwasu cytrynowego, aromatu toffee) malała podczas 7 dniowego przechowywania w warunkach chłodniczych, natomiast okazała się ona stabilna po wprowadzeniu w/w dodatków.

Praca została sfinansowana ze środków Narodowego Centrum Nauki (NN 312331640)

Literatura

1. Abu-Jdayil B., Mohameed H. A., Eassa A. Rheology of wheat starch – milk – sugar systems: effect of starch concentration, sugar type and concentration, and milk fat content. *Journal of Food Engineering*, 2004, 64, 207-212.

2. Berski W., Gambuś H. Charakterystyka kleikowania wodnych i mlecznych zawiesin z mąki owsianej oraz wybrane parametry tekstury otrzymanych z nich żeli. *Acta Agrophysica*, 2013, 20, 515-528.
3. Berski W., Gambuś H. Reologiczna charakterystyka kleikowania resztkowa mąka owsiana – sacharoza – woda. *Acta Agrophysica*, 2014, 21, 5-15.
4. Gambuś H., Gibiński M., Pastuszka D., Mickowska B., Ziobro R., Witkowicz R. The application of residual oats flour in bread production in order to improve its quality and biological value of protein. *Acta Scientiarum Polonorum*, 2011a, 10, 317-325.
5. Gambuś H., Zięc G., Gibiński M., Pastuszka D., Nowakowski K. Wykorzystanie resztkowej mąki owsianej do wypieku chleba. *Zesz. Probl. Post. Nauk Roln.*, 2011b, 566, 49-60.
6. Gibiński M., Gambuś H., Nowakowski K., Mickowska B., Pastuszka D., Augustyn G., Sabat R. Wykorzystanie mąki owsianej - produktu ubocznego przy produkcji koncentratu z owsa w piekarstwie. *Żywność Nauka Technologia Jakość*, 2010, 70, 56-75
7. Noisuwan A., Bronlund J., Wilkinson B., Hemar Y. Effect of milk protein products on the rheological and thermal (DSC) properties of normal rice starch and waxy rice starch. *Food Hydrocolloids*, 2008, 22, 174-183.
8. Vélez-Ruiz J.F., Barbosa Cánovas G.V., Peleg M. Rheological properties of selected dairy products. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 1997, 37, 311-359.
9. Zhou M., Glennie-Holmes M., Robards K., Helliwell S. Effects of processing and short-term storage on the pasting characteristics of slurries made from raw and rolled oats. *Food Australia*, 1999a, 51, 251-258.
10. Zhou M., Glennie-Holmes M., Roberts GL., Robards K., Helliwell S. The effect of growing sites on grain quality of oats and pasting properties of oatmeals. *Australian Journal of Agricultural Research*, 1999b, 50, 1409-1416.
11. Zhou M., Robards K., Glennie-Holmes M., Helliwell S. Effects of oat lipids on groat meal pasting properties. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 1999c, 79, 585-592.
12. Zięc G., Gambuś H., Kowalski S. Wybrane wskaźniki reologiczne kleików z mąki owsianej oraz jej interakcje z hydrokolidami w porównaniu z mąkami pszenną i żytnią. *Monografia. Wielokierunkowość badań w rolnictwie i leśnictwie*, 2010, 2, 735-742.

HALINA GAMBUŚ¹, FLORIAN GAMBUŚ², MAŁGORZATA MAKAREWICZ³,
GABRIELA ZIĘĆ¹, DOROTA LITWINEK¹, KATARZYNA SZARY-SWORST¹,
RENATA SABAT¹

¹ *Katedra Technologii Węglowodanów, Wydział Technologii Żywności,*

² *Katedra Chemii Rolnej i Środowiskowej, Wydział Rolniczo-Ekonomiczny*

³ *Katedra Technologii Fermentacji i Mikrobiologii Technicznej, Wydział Technologii Żywności
Uniwersytet Rolniczy w Krakowie*

PRÓBY ZAGOSPODAROWANIA PIECZYWA ZE ZWROTÓW DO PONOWNEGO WYPIEKU

Wstęp

Na rynku polskim obecnie najważniejszymi cechami pieczywa jest jego świeżość i jakość. Jest to główny aspekt o jaki konkurują piekarnie. Sytuacja ta wymusza utrzymanie ciągłej gotowości dostaw świeżego pieczywa, wskutek czego, aby nie dopuścić do przerw w podaży, produkowany jest nadmiar pieczywa. Konsekwencją tego jest wzrost ilości niesprzedanego pieczywa, a zatem także pieczywa pozostającego w piekarni. Sytuacja ta jest podstawowym problemem ekonomicznym piekarstwa [Dziugan, 2009].

Problem zagospodarowania pieczywa jest nowy, dlatego Redaktor Naczelna „Przeglądu Piekarskiego i Cukierniczego”, Magdalena Mart wystosowała pismo do Głównego Inspektoratu Sanitarnego pytając co robić z niesprzedanym pieczywem. W odpowiedzi uzyskała obszerny komentarz do Ustawy z dnia 25 sierpnia 2006 r. o bezpieczeństwie żywności i żywienia (Dz. U. Nr 171 poz. 1225), który wskazuje na możliwość zagospodarowania niesprzedanego pieczywa do dalszej produkcji. Należy zwrócić szczególną uwagę na to, aby pieczywo było bezpieczne dla zdrowia konsumenta oraz, aby przedsiębiorca na życzenie organu urzędowej kontroli żywności mógł potwierdzić, że pieczywo ze zwrotów spełnia wszystkie wymagania zdrowotne [Staszewska, 2008].

Przydatność pieczywa do spożycia to 24 - 32 godzin. Później niesprzedane pieczywo przeważnie jest zwracane do piekarni. Zwroty pieczywa, łącznie z pieczywem pozostałym w piekarni mogą wynosić 5 - 8% produkcji ogółem, czasem nawet 10%. Pieczywo pszenne to zazwyczaj 75 - 80% całej ilości zwrotów pieczywa niesprzedanego. Ważnym jest, aby znaleźć sposób na zagospodarowanie pieczywa niesprzedanego i zwracanego do producenta bez szkód dla jakości produkcji oraz zgodnie z wymogami sanitarno-epidemiologicznymi. Najkorzystniejszym sposobem ze względów ekonomicznych byłoby wykorzystanie tego produktu jako surowca do ponownej produkcji. Korzyścią wynikającą z takiego sposobu jest zmniejszenie odpadów produkcyjnych. Należy wybrać metodę zagospodarowania, która będzie spełniała

wymagania sanitarno-epidemiologiczne, jak i logistyczne. Należy zastanowić się nad formą, ilością oraz sposobem wykorzystania czerstwego pieczywa, aby przy najmniejszych kosztach uzyskać najlepsze efekty jakościowe i ekonomiczne. Niebezpieczne i niedopuszczalne jest stosowanie czerstwego pieczywa w postaci rozmoczonych kawałków chleba w trakcie sporządzania ciasta, tzw. moczki [Dziugan, 2009].

Ziarno oraz wyprodukowane z niego wyroby zawsze wykazują w pewnym stopniu skażenie mikrobiologiczne. W konsekwencji powszechne stało się używanie konserwantów w produkcji pieczywa o przedłużonej trwałości [Diowks, 2008]. Skażenie to zmniejsza się również podczas czyszczenia ziarna na sucho bądź na mokro w młynie. Podczas mielenia pewna ilość mikroflory pozostaje w otrębach i pyłe mącznym oraz w mąkach o niższym stopniu czyszczenia. W mąkach wyższego gatunku liczba drobnoustrojów jest 2-3 razy mniejsza [Diowks, 2008].

Jeżeli produkcja pieczywa przebiega zgodnie z zasadami GMP i GHP, produkt po wypieku powinien spełniać wymagania zdrowotne. Podczas wypieku (temperatura wewnątrz bochenka - ok. 90°C) niszczone są bakterie, drożdże, pleśnie; przeżywają jedynie przetrwalniki bakterii, np. *Bacillus subtilis*. [Kniel i Moser, 2010]. Wynika z tego, że pieczywo jest wolne od drobnoustrojów, oraz że jego stan higieniczny w chwili gdy trafia do konsumenta, jest spowodowany wtórnym zanieczyszczeniem.

Pieczywo zwracane ze sklepów powinno podlegać ocenie wizualnej. Nie wolno przyjmować pieczywa zabrudzonego, zamkniętego, z widoczną pleśnią, z chorobą kredową oraz ze zmienionym zapachem, co może wskazywać na chorobę ziemniaczaną. Pieczywo z posypkami, kruszonką, ziarnami obcych zbóż, nadzieniami, nie może być kierowane do dalszego przerobu. Pieczywo przyjęte należy przechowywać w pomieszczeniach do tego wydzielonych, czystych, suchych, przewiewnych, regularnie sprzątanym, w czystych pojemnikach. Czas jego przechowywania powinien być ograniczony (np. do 48 h) w celu zminimalizowania niekorzystnych zmian. Należy brać pod uwagę zagrożenia jakie wiążą się z wykorzystywaniem pieczywa ze zwrotów [Staszewska, 2008].

W przypadku wykorzystywania pieczywa pszennego na bułkę tartą, największe zagrożenie stanowią pleśnie. Zakazane jest odkrawanie zakażonych fragmentów pieczywa i jego dalsze przetwarzanie. Takie postępowanie może wywołać nadmierny wzrost pleśni w gotowym wyrobie (norma na bułkę tartą PN-A-74113:1997/Az1:1999 dopuszcza poziom do 5000 jtk/g) [Staszewska, 2008].

W Unii Europejskiej nie występują żadne regulacje mikrobiologiczne dla wyrobów zbożowych. W Niemczech jedynie specjalistyczna grupa ds. mikrobiologii i higieny artykułów spożywczych przy Niemieckim Towarzystwie Higieny i Mikrobiologii (DGHM), opublikowała mikrobiologiczne wartości wytyczne

i ostrzegawcze dla różnych grup żywności. Wartości te nie są prawnie wiążące, jednak stanowią obiektywną podstawę do dokonywania ocen mikrobiologicznych dla producentów i dystrybutorów [Kniel i Moser, 2010].

Pieczywo zwracane do piekarni może być wykorzystywane jako dodatek w postaci całych chlebów do żurków wytwarzanych w żurownikach, przy inicjowaniu fermentacji kwasowej przez kultury starterowe bakterii mlekowych. Dodając pieczywo delikatnie ukwaszone lub wręcz pszenne, czasami dochodzi do namnożenia w żurku lasecznika - *Bacillus subtilis*, w początkowym okresie fermentacji, kiedy to bakterie mlekowe nie wytwarzają jeszcze wystarczającego poziomu kwasowości, która oddziałuje hamująco na szkodliwą mikroflorę. Konsekwencje tej sytuacji mogą być poważne i kosztowne, gdyż wytwarzanie żurku jest procesem cyklicznym. Aby zapobiec takim skutkom należy:

- szczególnie przeglądać pieczywo przed dodaniem do żurownika, aby wykluczyć chorobę ziemniaczaną,
- stosować pieczywo mocno ukwaszone [Staszewska, 2008].

Celem badań podjętych w pracy była próba zagospodarowania pieczywa ze zwrotów do ponownego wypieku, poprzez zastąpienie części mąki używanej do wytwarzania ciasta - bułką tartą, sporządzaną z niesprzedanego pieczywa.

Material i metody badawcze

Material badawczy

Materiałem badawczym była mąka pszenna handlowa typu 750, mąka żytnia handlowa typu 720 oraz bułka tarta handlowa pochodząca z Piekarni Czajczyk K. D. Sp.j. Ponadto materiałem do badań były chleby wypieczone z mąki pszennej, na zakwasach z mąki żytniej o konsystencji 300, w których mąkę żytnią (w ilości 100g) zastępowano bułką tartą, w następujących proporcjach:

- 100 g mąki żytniej / 0 g bułki tartej
- 75 g mąki żytniej / 25 g bułki tartej
- 50 g mąki żytniej / 50 g bułki tartej
- 10 g mąki żytniej / 90 g bułki tartej
- 0 g mąki żytniej / 100g bułki tartej

Oprócz bułki poddanej fermentacji w zakwasie, do ciasta dodawano również bułkę niefermentowaną, tak aby całkowita jej ilość w chlebie stanowiła: 5, 7,5 i 10% całkowitej masy mąki.

Metody badań

Wszystkie analizy zawarte w pracy wykonano co najmniej w dwóch powtórzeniach.

Sporządzanie zakwasów

Zakwas sporządzano z mąki żytniej, wody oraz cukru, z odpowiednim dodatkiem bułki tartej – tab. 1. Przed użyciem do produkcji zakwasu, bułkę prażono w piecu piekarskim, na blasze, w temperaturze 100°C przez 1h. Zakwas przechowywano każdorazowo przez 17 h, w garowni, w temp. ok. 40°C.

Tabela 1. Receptury stosowanych zakwasów

Zakwas mąka żytnia/bułka tarta		Bułka tarta [g]	Mąka żytnia typ 720 [g]	Woda [ml]	Cukier [g]
Standard 100/0	I	0	100	200	10
75/25	II	25	75	200	10
50/50	III	50	50	200	10
10/90	IV	90	10	200	10
0/100	V	100	0	200	10

Kwasowość ogólną zakwasów oznaczono wg PN-A-79011-9:1998

Wypiek laboratoryjny

Ciasto na chleby pszenne o konsystencji 350 j. B. przygotowywano w szybkoobrotowej miazarce laboratoryjnej firmy Diosna. Do sporządzenia ciasta używano mąkę pszenna, całą ilość określonego zakwasu, drożdże liofilizowane firmy LeSaffre, sól i określoną ilość wyprażonej bułki tartej, zgodnie z recepturami zawartymi w tabeli 2. Bułkę tartą przed dodaniem do ciasta moczo w części wody przewidzianej recepturą:

- 25 g w 100 cm³ wody
- 50 g w 150 cm³ wody
- 90 g w 200 cm³ wody.

Tabela 2. Receptury ciasta ze zróżnicowanym udziałem bułki tartej

Udział bułki tartej	Mąka pszenna typ 750 [g]	Bułka tarta niefermentowana [g]	Woda [cm ³]	Drożdże [g]	Sól [g]	Zakwas [g]
Standard S 0%	900	0	460	30	15	I-310
A 5%	875	25	460	30	15	II-310
B 7,5%	850	50	460	30	15	II-310
C 7,5%	875	25	460	30	15	III-310
D 10%	850	50	460	30	15	III-310
E 10%	890	10	460	30	15	IV-310
F 10%	1000	0	460	30	15	V-310

Proces przygotowania ciasta przebiegał następująco:

1. mieszanie wszystkich składników przez 9 minut, przy czym 3 minuty przy wolnych obrotach miesidła i 6 minut przy obrotach szybkich,
2. fermentacja ciasta w temp. 40°C przez 15 minut,
3. formowanie kęsów ciasta o masie 250g,
4. fermentacja kęsów ciasta do pełnej dojrzałości przez około 30 minut w temperaturze 40°C.

Wypiek przeprowadzano w temperaturze 230°C przez 25 do 30 minut.

Do wypieku używano metalowych foremek o wymiarach:

- podstawa 80 x 80 mm
- górne krawędzie 110 x 110 mm
- wysokość 70 mm.

Dla każdej próby wypiekano w ten sposób 6 chlebów. Po 2-godzinnym ochłodzeniu chleby ważono. Znając masę kęsów ciasta uformowanych do wypieku oraz masę pieczywa zimnego, obliczano stratę wypiekową całkowitą i wydajność pieczywa [Analiza zbóż, 1983].

Objętość pieczywa oznaczono laserowym miernikiem objętości Volscan Profiler (Wielka Brytania) zgodnie z instrukcją urządzenia

Ocenę organoleptyczną chlebów przeprowadzono wg PN-A -74108:1996

Przeznaczone do badania chleby oceniano metodą punktową. Oceniano następujące wyróżniki jakości pieczywa:

- wygląd zewnętrzny,
- barwę i grubość skórki,
- elastyczność i porowatość miękiszu,
- smak i zapach.

Do uzyskanej ilości punktów każdorazowo doliczano 8 punktów za wskaźniki fizyko - chemiczne, w celu doprowadzenia do porównywalnej oceny organoleptycznej i fizyko - chemicznej. Na podstawie ogólnej ilości punktów określano klasę jakości pieczywa.

Profil tekstury miękiszu chlebów badano analizą TPA posługując się analizatorem tekstury TAXT Plus

Chleb krojono na dwie połowy, z każdej odcinano kromkę grubości 3 cm i w obu kromkach oznaczano profil tekstury. Badanie przeprowadzono zgodnie z instrukcją obsługi. Badając profil tekstury miękiszu oznaczano jego twardość, odbojność itp.

Zawartość wybranych składników chemicznych w wybranych chlebach oznaczono metodami AOAC [2006]:

- wilgotność miękiszu - Method 925.10,
- zawartość białka ogółem - Method 950.36,
- zawartość włókna pokarmowego (frakcji rozpuszczalnej i nierozpuszczalnej) - Method 991.43,
- zawartość popiołu w chlebie i bułce tartej - Method 937.05,
- zawartość wybranych makro – i mikropierwiastków - Method 985.01.

Próbki spopieliano na sucho przez 4 godziny w temperaturze 900°C a popiół rozpuszczano w HNO₃. Wapń (Ca) i potas (K) oznaczano metodą emisji atomowej, miedź (Cu) i cynk (Zn) metodą absorpcji atomowej w spektrofotometrze absorpcji atomowej PU 9100X firmy Philips. Fosfor (P) oznaczano spektrofotometrem emisyjnym z indukcyjnie wzbudzoną plazmą JI 238 ULTRACE firmy Jobin Yvon.

Analizę mikrobiologiczną - posiewy z bułki tartej i chleba wykonano wg PN-A-4134-2 i PN-A-74134-6

Homogenizacja próby

- na wadze laboratoryjnej odważano 10 g próby i zawieszano w 90 cm³ 0,85% roztworu NaCl (rozcieńczenie 1:10),
- następnie przeprowadzano homogenizację próby przy użyciu stomachera laboratoryjnego (BagMixer firmy Interscience, Francja).

Rozcieńczenia dziesiętne

- z bułki tartej, nie poddawanej obróbce termicznej, sporządzano następujące rozcieńczenia homogenizatu 1:100, 1:1000, 1:10 000 (0,85 % roztwór NaCl),
- z pozostałych prób (bułka tarta prażona, pieczywo świeże i przechowywane) sporządzano rozcieńczenia homogenizatu 1.100 (0,85 % roztwór NaCl).

Posiewy mikrobiologiczne

- uzyskany homogenizat oraz poszczególne rozcieńczenia dziesiętne, posiewano

w dwóch powtórzeniach, po 1 cm³ na płytce Petriego, zalewając zawieszoną drobnoustrojów odpowiednią, wystudzoną pożywką (w celu oznaczenia ogólnej liczby bakterii - bulionem odżywczym zestalonym agarem, w celu oznaczenia ogólnej liczby drożdży i pleśni - pożywką Sabouraud'a z dodatkiem agaru).

Inkubacja

- hodowle bakteryjne inkubowano w temp. 32°C przez 24 h, a grzybowe w temp. 28°C przez 48h.

Odczyt wyników

- po okresie inkubacji liczono wyrosnięte kolonie posługując się licznikiem kolonii (LKB 2002),
- wynik końcowy przeliczano na zawartość poszczególnych grup mikroorganizmów w 1 g produktu (jtk/g; jednostki tworzące kolonie zawarte w 1 g produktu).

Analiza statystyczna

Wszystkie wyniki badań przedstawiono jako średnia ± odchylenie od średniej (SEM). Wyniki poddano także jednoczynnikowej analizie wariancji, którą wykonano stosując program komputerowy Statistica 9.0 PL. Istotność różnic wykazano testem Duncana.

Wyniki i dyskusja

W pracy podjęto próbę wykorzystania bułki tartej do wypieku chlebów pszennych na zakwasach z mąki żytniej. Bułkę tartą, po uprzednim wysterylizowaniu w piecu piekarskim, dodawano do ciasta w formie przefermentowanej w zakwasach i w formie niefermentowanej - uprzednio namoczonej w określonej ilości wody przewidzianej recepturą.

W tabeli 3 przedstawiono kwasowość ogólną zakwasów o konsystencji 300 (100 g mąki/ bułki + 200 g wody), sporządzonych ze zróżnicowanej ilości mąki żytniej i bułki tartej, począwszy od zakwasu z samej mąki żytniej, a na zakwasie z samej bułki tartej skończywszy.

Tabela 3. Kwasowość ogólna uzyskanych zakwasów

Zakwas mąka żytnia /bułka tarta		Kwasowość (°N)
Standard 100/0	I	6,4
75/25	II	7,0
50/50	III	7,3
10/90	IV	2,8
0/100	V	3,3

Najmniejszą kwasowością charakteryzowały się zakwasy: z samej bułki tartej (zakwas nr V) oraz z niewielkim, 10 % udziałem mąki żytniej (zakwas nr IV). Powodem tak małej kwasowości, odpowiednio 3,3°N oraz 2,8°N była wcześniejsza pasteryzacja bułki tartej, pochodzącej z chlebów poddanych wypiekowi, a tym samym już pewnej sterylizacji produktu. W sytuacji, gdy do sporządzania zakwasu zastosowano wyłącznie mąkę żytnią (zakwas nr I), kwasowość tego półproduktu okazała się dwukrotnie większa, bowiem mąka żytnia zawiera dużo enzymów (w tym aktywną α -amylazę) oraz bakterie kwasu mlekowego, jak również nietlone kwasy organiczne, głównie kwas jabłkowy i cytrynowy [Gąsiorowski, 1994]. Jeszcze większą kwasowością odznaczały się zakwasy sporządzone z mąki żytniej i bułki tartej (zakwasy nr II i III), bowiem bakterie fermentacji mlekowej, zdolne są do częściowego rozkładu węglowodanów, m. in. z bułki tartej, które wykorzystują w celu zdobycia niezbędnej im energii [Gąsiorowski, 1994]. W zastosowanej temperaturze fermentacji (tj. ok. 40°C) zostały stworzone optymalne warunki dla rozwoju bakterii mlekowych, a nie drożdży, które namnażają się w temperaturach znacznie niższych tj. w granicach 25-30°C [Ambroziak, 2011].

Po wymieszaniu mąki i bułki tartej z wodą, do roztworu wodnego przeszły dostępne dla drobnoustrojów składniki mąki i bułki tartej, takie jak: aminokwasy, witaminy i cukry. Bakterie mlekowe mają dość złożone zapotrzebowanie pokarmowe, gdyż poza węglowodanami wymagają wielu aminokwasów i witamin [Ambroziak, 2011; Gąsiorowski, 1994]. Udział w zakwasie wypróżonej bułki tartej nie był dobrym źródłem witamin, bowiem w czasie wypieku tracone jest ponad 90% tych związków [Gąsiorowski, 2004; Gambuś, 2009], ale z pewnością stanowił dobre źródło aminokwasów i cukrów prostych do fermentacji bakterii kwasu mlekowego. Wydaje się więc, że użycie do wypieku chlebów bułki tartej w formie przefermentowanej jest bardziej uzasadnione, niż użycie tej bułki w formie tylko namoczonej, do sporządzania ciasta.

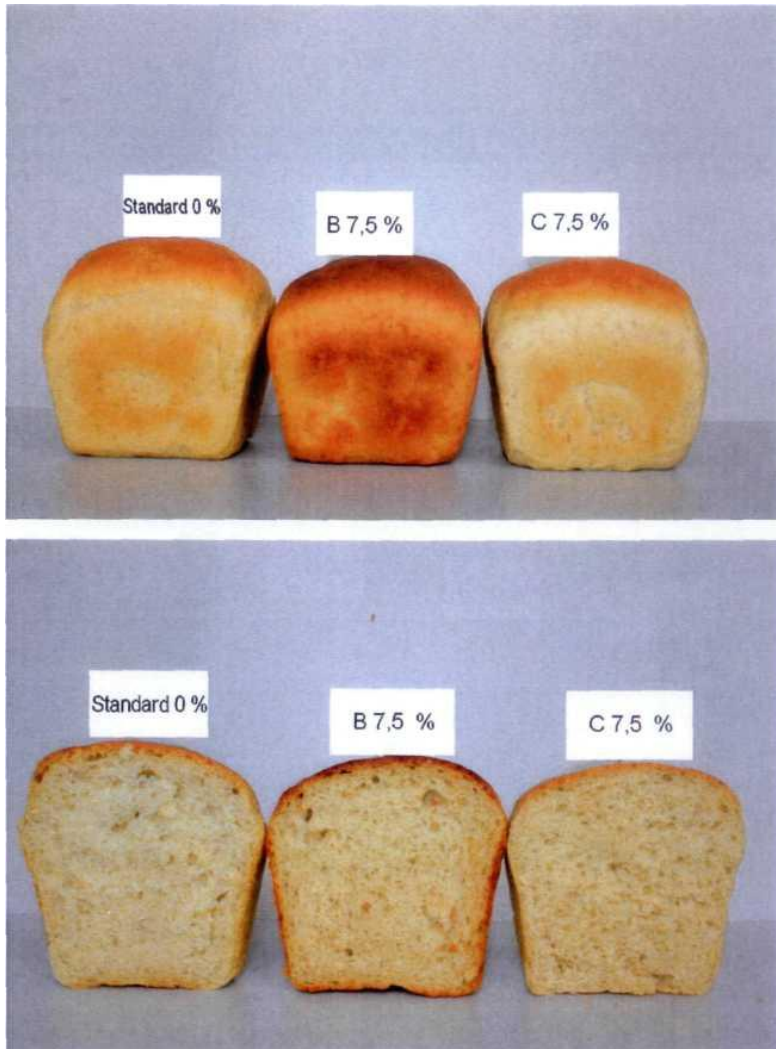
Do wypieku chlebów pszennych każdorazowo używano całą ilość zakwasu, ze zróżnicowanym udziałem bułki tartej w poszczególnym zakwasie, regulując dodatek bułki w formie przefermentowanej tak, aby całkowita jej ilość w chlebie wynosiła:

- 5% - receptura A, zakwas II,
- 7,5% - receptura B, zakwas II,
receptura C, zakwas III,
- 10 % - receptura D, zakwas III,
receptura E, zakwas IV,
receptura F, zakwas V

Jak wynika z tab. 4 oraz fot. 1, objętość uzyskanych chlebów istotnie malała wraz ze zwiększającym się całkowitym udziałem bułki tartej, niezależnie od rodzaju receptury i użytego zakwasu.

W analogicznej kolejności zmniejszała się też akceptacja konsumenta, bowiem wraz ze wzrastającą ilością bułki tartej, chleb został zakwalifikowany do coraz niższej klasy jakości (tab. 4). Powodem niekorzystnej oceny organoleptycznej była nie tylko mniejsza objętość, ale także ciemniejsza barwa miękiszu oraz skórki (fot. 1), mniejsza porowatość i wyczuwalny smak tartej bułki.

Przy większym udziale bułki tartej malała strata wypiekowa całkowita, choć wilgotność miękiszu wszystkich ocenianych chlebów była porównywalna - różnice nieistotne statystycznie (tab. 4).



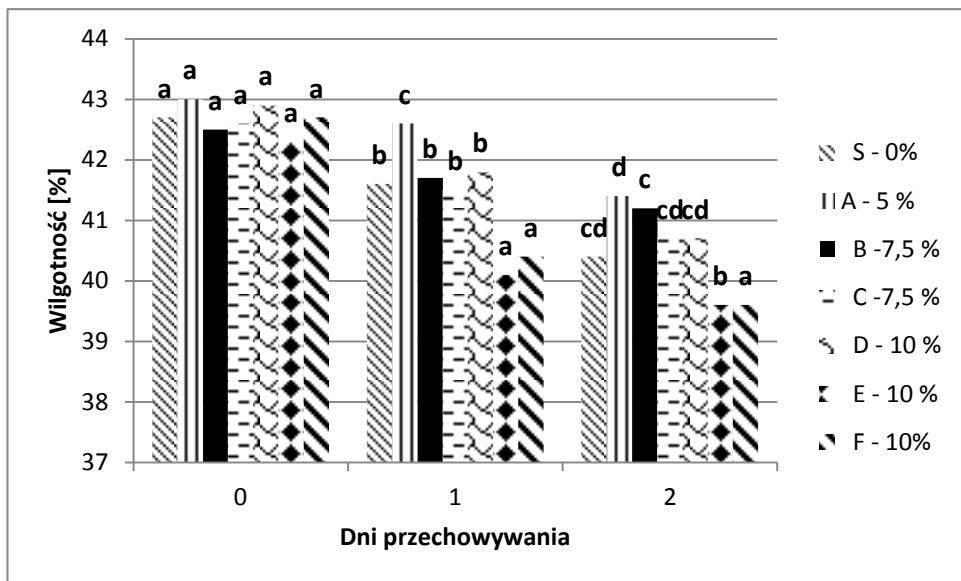
Fot. 1. Chleby pszenne ze zróżnicowanym dodatkiem bułki tartej

Tabela 4. Ocena jakości chlebów pszennych ze zróżnicowanym udziałem bułki tartej fermentowanej (w zakwasie) i w postaci niefermentowanej

Rodzaj chleba		Masa chleba zimnego [g]	Objętość chleba [cm ³]	Objętość chleba za 100g mąki [cm ³]	Wydajność pieczywa [%]	Strata wypiekowa całkowita [%]	Wilgotność miękiszu [%]	Ocena organoleptyczna	
Całkowity udział bułki tartej w chlebie	Udział bułki tartej w zakwasie [%]							Suma pkt.	Klasa jakości
S-0%	0	216 ± 0,45 ab*	708 ±16,97 c	470 ±11,31 c	143,4 ±0,31 ab	13,6 ±0,18 bc	42,7 ±0,03 a	40	I
A-5%	25	218 ±0,62 abc	704 ±15,56 c	467 ±9,89 c	145 ±0,42 abc	12,7 ±0,25 abc	43,0 ±0,03 b	37	I
B-7,5%	25	218 ±5,49 abc	630 ±0,00 b	418 ±0,00 b	144,6 ±3,64 abc	12,9 ±2,19 abc	42,5 ±0,42 a	35	II
C-7,5%	50	224 ±4,29 c	635 ±56,57 b	419 ±41,79 b	148,5 ±2,87 c	10,5 ±1,72 abc	42,6 ±0,21 a	35	II
D-10%	50	223 ±2,45 bc	504 ±38,89 a	334 ±25,82 a	148,5 ±2,86 c	10,9 ±0,98 ab	42,9 ±0,16 a	30	III
E-10%	90	223 ±1,38 bc	534 ±1,41 a	355 ± 0,94 a	148,3 ±0,92 bc	10,7 ±0,55 ab	42,3 ±0,09 a	26	III
F-10%	100	215 ±1,65 a	548 ±7,07 a	364 ±4,95 a	142 ± 1,09 a	14,1 ±0,66 c	42,7 ±0,25 a	10	IV

* wartości w kolumnach oznaczone różnymi literami oznaczają różnice statystyczne przy poziomie istotności $\alpha = 0,05$

Mimo porównywalnej wilgotności miększu chlebów w dniu wypieku (tab. 4), w pierwszej i drugiej dobie przechowywania w stałych warunkach, wystąpiły różnice pod względem tej cechy, uzależnione nie tylko ilością dodanej bułki, ale także jej formą – ryc. 1.



Ryc. 1. Zmiany wilgotności miększu badanych chlebów podczas przechowywania

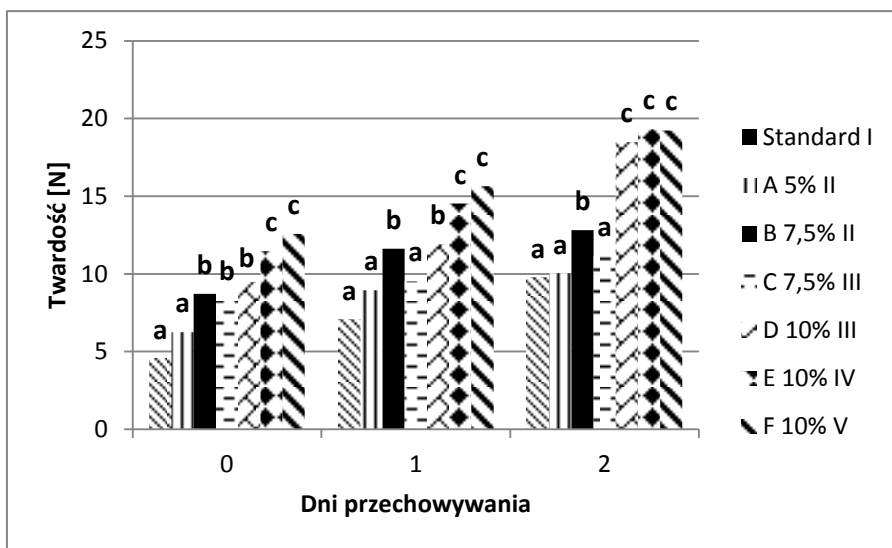
Najmniejszą wilgotnością miększu odznaczały się chleby z największym - 10% udziałem bułki tj. sporządzone wg receptury E i F. Do tych chlebów użyto 100% i 90% bułki w zakwasach. Były to zakwasy o najniższej kwasowości, bowiem jak wynika z tabeli 8 w bułce tartej pasteryzowanej oznaczono minimalną ogólną ilość bakterii.

Istotnie większą wilgotnością charakteryzował się miększ chleba z równie dużym, 10 % udziałem bułki tartej, ale tylko w 50% przefermentowanej w zakwasie (receptura D, zakwas III). Prawdopodobnie przy stosunku mąki żytniej do bułki tartej jak 1:1, wystąpiły w zakwasie optymalne warunki do namnażania się bakterii kwasu mlekowego, co poskutkowało większym zatrzymaniem wody w miększu. Podobną sytuację zaobserwowano w miększu chleba z 5 % udziałem bułki tartej, wypieczonym na zakwasie II ze stosunkiem mąki żytniej do bułki tartej jak 2:1, co pozwala wnioskować, że ilość bułki tartej w zakwasie nie powinna przekraczać 50% w stosunku do mąki żytniej, a jeśli te proporcje zostaną zachowane uzyskuje się zbliżoną kwasowość zakwasu (tab. 3) i większą wilgotność miększu pieczywa po 2 dobach przechowywania (ryc. 1).

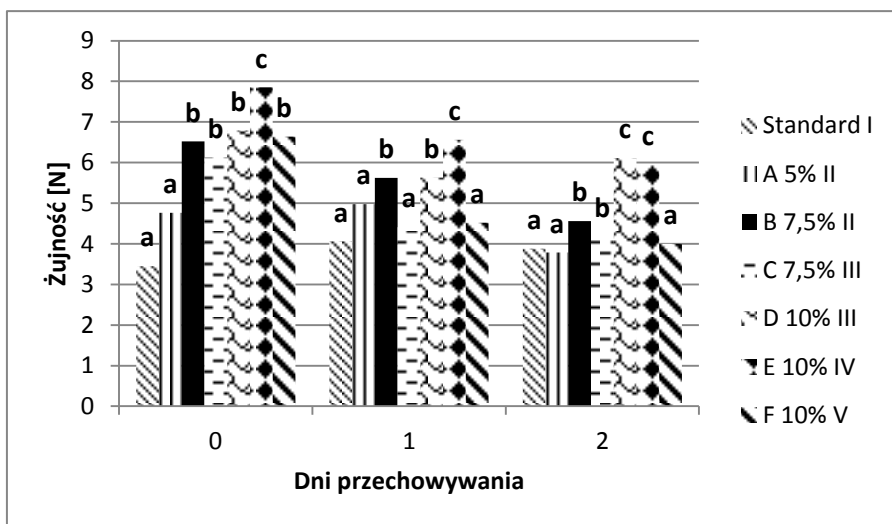
Całkowity udział w chlebach bułki tartej wpłynął także na parametry tekstury miększu ocenianych chlebów (ryc. 2, 3 i 4).

W miarę wzrostu ilości bułki tartej do ciasta, wzrastała twardość (ryc. 2)

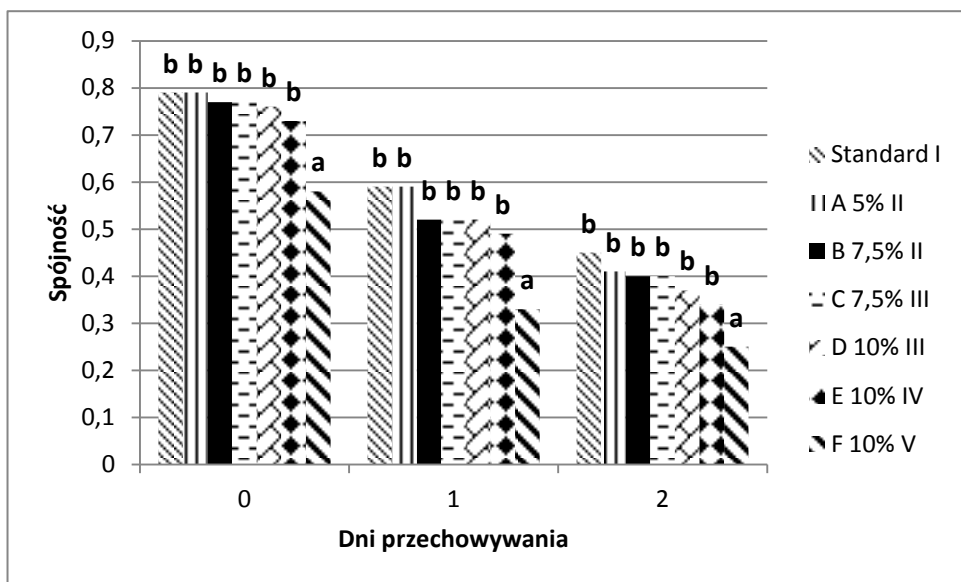
i żujność (ryc. 3) miększu, a malała spójność (ryc. 4) miększu. W dniu wypieku, chleby z takim samym, 10% udziałem bułki, ale zastosowanej w różnej formie do ciasta (D, E i F), różniły się istotnie twardością miększu: najmniejszą twardością wyróżniał się miększ chleba na zakwasie nr III, sporządzonym z mąki żytniej i bułki tartej, w stosunku 1:1. Ta korzystna tendencja utrzymywała się podczas kolejnych dni przechowywania (ryc. 2).



Ryc. 2. Zmiany twardości miększu badanych chlebów podczas przechowywania



Ryc. 3. Zmiany żujności miększu badanych chlebów podczas przechowywania



Ryc. 4. Zmiany spójności miększu badanych chlebów podczas przechowywania

Oceniono także skład chemiczny wybranych chlebów (tab. 6). Ilość i forma dodawanej bułki do ciasta nie wpłynęła istotnie na zawartość białka ogółem w ocenianych chlebach, ponieważ zawartość tego składnika w mące pszennej i bułce tartej była porównywalna. Natomiast, mimo istotnej różnicy w zawartości włókna pokarmowego ogółem w mące i bułce tartej, na korzyść bułki, nie zanotowano wyraźnej tendencji we wzroście zawartości tego składnika, w miarę wzrostu udziału bułki tartej w oznaczanych chlebach.

Większa ilość włókna w bułce tartej w stosunku do mąki pszennej spowodowana była prawdopodobnie dużym udziałem skrobi odpornej w bułce, która tworzy się podczas wypieku chleba, na skutek powstawania kompleksów amylozowo - lipidowych oraz w wyniku retrogradacji skrobi, zarówno podczas wypieku, jak i chłodzenia i przechowywania po wypieku [Bradley i in., 1997; Soral - Śmietana i Wronkowska, 1999; Leszczyński, 2004]. Wydaje się natomiast, że udział bułki tartej w formie nieprzefermentowanej w zakwasie wpłynął na zwiększenie ilości włókna pokarmowego w produktach finalnych (tab. 6).

Tabela 6. Zawartość białka ogółem i włókna pokarmowego w użytych surowcach i wybranych chlebach w % s.s. produktu

Badany produkt	Zawartość białka [%] Nx5,7	Zawartość włókna pokarmowego [%]		
		Fracja nierozpuszczalna	Fracja rozpuszczalna	Włókno ogółem
Mąka typ 750	12,67±0,15 ab*	2,49±0,23 a	1,00±0,03 a	3,49±0,20 a
Bułka tarta	12,80±0,15ab	3,95±0,04 c	1,61± 0,08 b	5,56±0,13bc
Standard	12,90 ±0,08 b	3,67 ±0,04 b	1,96±0,12 c	5,63±0,08 bc
A - 5%	12,63 ±0,25 ab	4,34 ±0,09 d	1,67±0,11 b	6,01±0,01 d
B - 7,5 %	12,25±0,33 a	4,76±0,03 e	2,15±0,13 c	6,91± 0,11 e
C - 7,5 %	12,57 ±0,22 ab	3,87 ±0,04 bc	1,60 ±0,08 b	5,47 ±0,03 b
E - 10%	12,50±0,35 ab	4,09± 0,00 c	1,70±0,03 b	5,79 ±0,03 d

* wartości w kolumnach oznaczone różnymi literami oznaczają różnice statystyczne przy poziomie istotności $\alpha = 0,05$

Ponieważ w bułce tartej oznaczono trzykrotnie większą zawartość popiołu w porównaniu do mąki pszennej (tab. 7), w chlebach z większym jej udziałem oznaczono nieznacznie większą zawartość popiołu, na co wpłynęła nieco większa zawartość Ca, przy porównywalnej ilości K, Mg i Cu oraz zmniejszającej się ilości P, Fe, Zn i Mn.

Tabela 7. Zawartość popiołu całkowitego oraz wybranych makro- i mikropierwiastków w użytych surowcach i wybranych chlebach w mg/kg s.s. produktu

Badany produkt	Zawartość popiołu całkowitego	K	P	Mg	Ca	Zn	Mn	Fe	Cu
Mąka typu 750	0,80 ±0,00 a*	1679 ±12,73 a	1314,5 ±3,53 a	172,85 ±2,47 a	31,55 ±0,78 a	10,6 ±0,85 a	6,62 ±0,17 a	10,4 ±0,00 a	0,62 ±0,01 a
Bulka tarta	2,61 ±0,04 c	2291 ±53,740 b	1764 ±1,41 a	123,65 ±3,46 a	70,25 ±1,63 c	20,30 ±0,56 b	11,17 ±0,14 d	15,35 ±0,35 b	1,12 ±0,11 b
S-0%	2,34 ±0,01 a	2345 ±15,56 b	1787 ±25,455 b	184,8 ±17,96 a	59,55 ±0,35 b	35,85 ±1,63 d	8,465 ±0,03 c	16,55 ±1,63 b	0,905 ±0,03 a
A- 5%	2,55 ±0,05 bc	2365,5 ±55,86 b	1595,5 ±9,19 a	191,45 ±0,49 a	64,70 ±1,13 b	21,25 ±0,07 b	7,595 ±0,09 b	30,85 ±3,89 c	0,875 ±0,05 a
B-7,5%	2,47 ±0,00 b	2397,5 ±36,06 b	1806,5 ±82,73 b	183,55 ±3,04 a	58,35 ±0,78 b	21,85 ±1,48 bc	8,48 ±0,21 c	14,25 ±0,21 ab	0,88 ±0,03 a
C-7,5 %	2,58 ±0,03 c	2372,5 ±26,16 b	1560,5 ±77,07 a	190,4 ±2,26 a	65,35 ±0,64 b	24,65 ±0,35 c	7,44 ±0,155 b	13,85 ±2,19 ab	0,88 ±0,04 a
E-10%	2,59 ±0,04 c	2320 ±12,73 b	1606 ±46,67 a	195 ±0,71 a	64,25 ±1,06 b	15,15 ±1,34 a	6,91 ±0,04 a	18,15 ±3,323 a	0,96 ±0,04 a

* wartości w kolumnach oznaczone różnymi literami oznaczają różnice statystyczne przy poziomie istotności $\alpha = 0,05$

Biorąc pod uwagę zagrożenia mikroorganizmami, jakie wiążą się z wykorzystaniem pieczywa ze zwrotów, w pracy oznaczono również ogólną liczbę bakterii i ogólną liczbę grzybów pleśniowych w bułce tartej niepasteryzowanej, pasteryzowanej oraz w wybranych chlebach z udziałem bułki tartej pasteryzowanej (tab. 8).

Jeśli produkcja pieczywa przebiega zgodnie z zasadami GMP i GHP, produkt po wypieku powinien spełniać wymagania zdrowotne, bowiem podczas tego procesu niszczone są bakterie, drożdże i pleśnie, a mogą jedynie przeżyć przetrwalniki bakterii np. *Bacillus subtilis* [Staszewska, 2008].

Jednak pieczywo podczas sprzedaży i transportu może zostać wtórnie zanieczyszczone. W bułce tartej niepasteryzowanej oznaczono siedmiokrotnie większą ilość ogólnej liczby bakterii tj. 738 jtk/g produktu, podczas gdy w bułce tartej pasteryzowanej zaledwie 103 jtk/g produktu. Pasteryzacja bułki spowodowała całkowite zniszczenie grzybów pleśniowych, z niewielkiej ilości 23 jtk/g produktu jaką oznaczono w bułce niepasteryzowanej. Trzeba zaznaczyć, że oznaczona ilość drobnoustrojów jest minimalna w odniesieniu do PN-A-74113:1997/Azl:1999, w której dopuszczalna ilość pleśni wynosi do 5000 jtk/g produktu.

Tabela 8. Zakażenia mikrobiologiczne wybranych produktów

Produkty	Ogólna liczba bakterii	Ogólna liczba grzybów pleśniowych
	[jtk / g produktu]	
Bułka tarta	738	23
Bułka tarta pasteryzowana	103	0
S- 0% świeży	10	0
S- 0% przechowywany	75	0
B- 7,5 % świeży	15	0
B- 7,5 % przechowywany	3990	0
C- 7,5 % świeży	15	0
C- 7,5 % przechowywany	45	0

W analizowanych chlebach, zarówno w dniu wypieku, jak i po 2 dniach przechowywania nie oznaczono żadnych pleśni i minimalną zawartość bakterii, z wyjątkiem chleba przechowywanego, z 7,5% udziałem pasteryzowanej bułki tartej, w większości dodanej w formie nieprzefermentowanej do ciasta.

Podsumowując wyniki tej pracy ogólnie można stwierdzić, że w celu zagospodarowania pieczywa ze zwrotów można zastosować je w postaci bułki tartej pasteryzowanej do wypieku chlebów, najlepiej w ilości 5%, w stosunku do masy mąki pszennej. Najlepszą formą udziału bułki w pieczywie jest sporządzenie zakwasu z mąki żytniej i bułki tartej w ilości nieprzekraczającej 50 % udziału w zakwasie, czyli w stosunku 1:1.

Wnioski

1. Najlepsze ukwaszenie stosowanych zakwasów uzyskano podczas fermentacji mieszaniny mąki żytniej i bułki tartej, w temperaturze ok. 40°C - dwukrotnie większe, w porównaniu do zakwasu z samej bułki tartej i istotnie większe od zakwasu z samej mąki żytniej.
2. Objętość chlebów pszennych zmniejszała się istotnie wraz ze zwiększaniem się całkowitego udziału bułki tartej w cieście, niezależnie od rodzaju receptury i użytego zakwasu.
3. W miarę wzrostu ilości bułki tartej w cieście, wzrastała twardość i żujność, a zmniejszała się spójność miękiszu ocenianych chlebów, zarówno w dniu wypieku jak i podczas 2 dniowego przechowywania.
4. Przy największym, 10% -owym udziale bułki tartej w cieście, najmniejszą twardością miękiszu odznaczał się chleb wypieczony na zakwasie sporządzonym z mąki żytniej i bułki tartej w stosunku 1:1.
5. Udział bułki tartej w chlebach pszennych nie wpłynął istotnie na zawartość w nich białka ogółem, natomiast spowodował istotny wzrost zawartości włókna pokarmowego i zawartości popiołu całkowitego.
6. Pasteryzacja bułki tartej spowodowała kilkakrotne zmniejszenie ogólnej liczby bakterii oraz całkowite zniszczenie grzybów pleśniowych, co zaowocowało wysoce zadowalającą czystością mikrobiologiczną produktów finalnych z udziałem tej bułki.
7. W celu zagospodarowania pieczywa ze zwrotów można zastosować je do wypieku chlebów pszennych w postaci bułki tartej najlepiej, w ilości do 5% w stosunku do masy mąki pszennej i w formie zakwasu sporządzonego z mąki żytniej i bułki tartej, w ilości nieprzekraczającej 50% jej udziału w zakwasie.

Literatura

1. Ambroziak Z. Produkcja piekarsko-ciastkarska. Cz. 1. WSiP, Warszawa 2011.
2. Analiza zbóż i przetworów zbożowych. Praca zbiorowa pod redakcją prof. dr hab. T. Jakubczyka i dr hab. T. Habera. Skrypt SGGW (AR) w Warszawie 1983.
3. AOAC. Official methods and analysis, 18 end. Gaithersburg: Association of Official Analytical Chemists International, 2006.
4. Bradley G., Krygier K., Wroniak M. Skrobia oporna i jej wykorzystanie jako źródło błonnika pokarmowego w produkcji żywności. Przemysł Spożywczy, 1997, 51, 12, 19 -20.
5. Diowski A. Nasz chleb powszedni źródłem zdrowia. Przegląd Piekarski i Cukierniczy, 2008, 56, 1, 10-14.
6. Dziugan P. Zagospodarowanie pieczywa ze zwrotów metodą fermentacji w zakwasie. Przegląd Piekarski i Cukierniczy, 2009, 57, 3, 12-15.

7. Gambuś H. Wartość odżywcza i dietetyczna chleba, w Prawda, dobro i piękno w naukach rolniczych. Wydawnictwo UR w Krakowie 2009.
8. Gąsiorowski H. Żyto - chemia i technologia. PWRiL, Poznań 1994.
9. Gąsiorowski H. Pszenica - chemia i technologia. PWRiL, Poznań 2004.
10. Kniel B., Moser M. Analityka specjalna, Cz. 2. Oznaczanie pozostałości, substancji skażających oraz mikrobiologicznych w ziarnie zbóż i ich przetworach. Przegląd Zbożowo Młynarski, 2010, 54, 2, 15- 16 i 21-22
11. Leszczyński W. Skrobia oporna i jej znaczenie. Przegląd Piekarski i Cukierniczy, 2004, 52, 7, 2-5.
12. PN-A-79011 - 9: 1998, Koncentraty spożywcze. Metody badań. Metody oznaczania kwasowości ogólnej, Polski Komitet Normalizacyjny, Warszawa 1998.
13. PN-A-74134 - 2: 1998, Wyroby i półprodukty ciastkarskie. Badania mikrobiologiczne. Przygotowanie próbek i rozcieńczeń do badań, Polski Komitet Normalizacyjny, Warszawa 1998.
14. PN-A-74134 - 6: 1998, Wyroby i półprodukty ciastkarskie. Badania mikrobiologiczne. Oznaczanie liczby drożdży i pleśni, Polski Komitet Normalizacyjny, Warszawa 1998.
15. PN-A-74113:1997/Azl:1999, Wyroby piekarskie. Bułka tarta, Polski Komitet Normalizacyjny, Warszawa 1999.
16. PN-A-74108:1996, Pieczywo. Metody badań, Polski Komitet Normalizacyjny, Warszawa 1996.
17. Soral-Śmietana M., Wronkowska M. Czy skrobia oporna na hydrolizę enzymatyczną może zastąpić błonnik pokarmowy. Przemysł Spożywczy, 1999, 53, 7, 22-24.
18. Staszewska E. Zwroty pieczywa i ich zagospodarowanie. Przegląd Piekarski i Cukierniczy, 2008, 56, 10, 34-35.

PRÓBA OSZACOWANIA ZAWARTOŚCI ZWIĄZKÓW POLIFENOLOWYCH W GREJPFRUTACH I DŻEMACH GREJPFRUTOWYCH

Streszczenie

Celem niniejszej pracy była próba oszacowanie zawartości związków o działaniu przeciwutleniającym w grejpfrutach, z uwzględnieniem całych owoców i poszczególnych ich części (skórka, miąższ i albedo - biała błona owocu), a także w dżemach z nich wytworzonych. Zawartość związków polifenolowych oznaczono za pomocą chromatografii cieczowej sprzężonej z matrycą fotodiodową i detektorem mas w postaci potrójnego kwadrupola (UPLC-PDA-MS). We wszystkich przebadanych próbkach zidentyfikowano 9 tych samych związków: kwas protokatechowy, dilakton kwasu walonejowego, rutyna oraz 4 pochodne naryngeniny i 2 apigeniny. Ogólna zawartość polifenoli dla poszczególnych próbek wahała się od 0,12 do 5,79 mg/100 g. Dominującymi związkami dla wszystkich próbek były pochodne naryngeniny, ich zawartość wynosiła się od 0,1 do 4,23 mg/100 g. W śladowych ilościach występowały: dilakton kwasu walonejowego oraz kwas protokatechowy, ich wartości wahały się od 0,001 do 0,02 mg/100 g.

Słowa kluczowe: grejpfrut, dżem grejpfrutowy, związki polifenolowe, UPLC

Wprowadzenie

Grejpfrut (*Citrus paradisi*), czyli „Rajski Owoc”, prawdopodobnie powstał jako mieszańiec pomarańczy olbrzymiej (pomeli) i innego gatunku z rodzaju *Citrus*. Należy on do znanej grupy owoców cytrusowych, do której zaliczyć można liczne gatunki z rodziny Rutowate (*Rutaceae*), podrodziny Pomarańczowate (*Aurantioideae*), z rodzaju Cytrusy (*Citrus*) takie jak pomarańcze, cytryny i mandarynki. Rośliny należące do tego rodzaju charakteryzują się tym, że w liściach, kwiatach i owocach licznie występują olejki eteryczne. Olejki cytrusowe mają bardzo przyjemny i zróżnicowany zapach, w związku z tym szeroko wykorzystywane są w cukiernictwie, likiernictwie oraz perfumerii. Szczególną uwagę zwraca się także na dużą zawartość witaminy C oraz bioflawonoidów w tych owocach. Decyduje to o ich wartości odżywczej i prozdrowotnej [Lamer, 2000; Pieniążek, 2000; Podstępek, 2001].

Wzrost zainteresowania grejpfrutem nastąpił w wyniku jego promowania jako czynnika wspomagającego odchudzanie oraz zachowanie odpowiedniej masy ciała.

Spożywa się go w różnych postaciach, głównie jako surowy owoc, często z dodatkiem cukru lub miodu, cynamonu, gałki muszkatołowej oraz goździków. Na jego bazie produkowane są także soki jedno i wieloskładnikowe oraz nektary. Wykorzystywany jest także jako dodatek do: sałatek, galaretek, puddingów i tart. Wytwarzane są również grejpfruty w syropie w puszkach oraz dżemy. Ważnym surowcem dla pozyskiwania olejków eterycznych, służących jako baza do sporządzania aromatów, jest skórka. Nie tylko owoce drzewa grejfrutowego mają właściwości prozdrowotne, posiadają je także kwiaty. Ekstrakt z kwiatów grejfruta stosowany jest jako lek na: bezsenność, problemy przewodu pokarmowego i niektóre schorzenia serca. Ekstrakt z miąższu wykazuje właściwości wspomagające leczenie dysfunkcji układu moczowego, natomiast liście wykazują aktywność antybiotyczną [Morton, 1987; <http://users.kymp.net/citruspages/grapefruit.html>, 2011].

Grejfruty są cennym źródłem składników regulujących, witamin (witaminy C, kwasu pantotenowego, kwasu foliowego, biotyny, witamin: B₁, B₂, B₆, PP, E, karotenoidów, likopenu) i soli mineralnych (wapnia, żelaza, potasu, fosforu, magnezu, manganu, fluoru, cynku), które znajdują się głównie w miąższu i soku. Zawartość głównych składników odżywczych w 100 g owocu wynosi dla: białka 1 g, tłuszczów 0,1 g, węglowodanów 10 g oraz błonnika pokarmowego 0,4 g. Działanie prozdrowotne wywierają głównie bioflawonoidy, których zawartość w 100 g grejfruta wynosi około 550 mg [Morton, 1987; Podstępek, 2001]. W jego soku znajdują się związki fenolowe w formie glikozydów – hesperetyna (15,4 - 15,7 mg/l), neohesperetyna (10,8 - 19,7 mg/l), narirutyna (62 - 68 mg/100 g), naringina (116 - 211 mg/l), kwercetyna (6,8 - 12,1 mg/l). Natomiast w miąższu w postaci aglikonu – (1,5 mg/100 g), naryngenina (53 mg/100 g), kwercetyna (0,5 mg/100 g), kemferol (0,4 mg/100 g) [Cieślik, 2008; Janeczko, 2004].

Polifenole są największą grupą przeciwutleniaczy pochodzenia naturalnego, które są bardzo zróżnicowane pod względem właściwości biologicznych i fizykochemicznych, masy cząsteczkowej, a także struktury chemicznej. Flawonoidy należą do grupy polifenoli, charakteryzują się różnymi właściwościami biologicznymi oraz farmakologicznymi, które należy uznać za prozdrowotne. Są to głównie działania przeciwnowotworowe, przeciwzapalne, przeciwalergiczne, przeciwzkrzepowe i przeciwwirusowe. Większość właściwości prozdrowotnych flawonoidów wynika z ich funkcji przeciwutleniających oraz zdolności do modyfikowania enzymów, toteż odpowiedzialne są za działanie immunologiczne, kancerogenezę. Wiele z nich zapobiega chorobom układu naczyniowego, hamują agregację płytek krwi oraz napięcie mięśni, otaczających tętnice. W zakresie przeciwnowotworowym ograniczają uszkodzenia DNA oraz proliferację komórek. Dość często stosuje się także połączenia flawonoidu z witaminą C. Połączenia tego typu są wykorzystywane do leczenia schorzeń żył oraz zaburzeń w mikrokrążeniu [Oszmiański, 2007; Rosicka-Kaczmarek, 2004].

Proces technologiczny produkcji dżemu

Dżem to produkt wytwarzany z owoców, posiadający konsystencję żelu. Jest otrzymywany przez gotowanie owoców świeżych, konserwowanych z dodatkiem cukru, pektyn, kwasów organicznych. Stosuje się także dodatki syropu skrobiowego, środków przeciwpniennych, konserwujących, kwasu askorbinowego – jako przeciwutleniacza oraz składników uszlachetniających tj. alkohol: wina, likiery, orzechy, miód, zioła, przyprawy. Dodatki te stosowane są w celu poprawienia ich konsystencji oraz nadania im odpowiednich walorów smakowo-zapachowych. Dla wzmocnienia barwy dodawany jest m.in. sok na bazie czerwonych owoców lub buraczany. Dla podkreślenia lub poprawienia smaku stosuje się dodatek soku z owoców cytrusowych. Pod względem składu surowcowego oraz ilości użytych owoców wyróżniamy: dżemy jednoowocowe, dwu lub wieloowocowe. Ze względu na ilość dodanego cukru dżemy dzielimy na: nisko- i wysokosłodzone. Produkty wysokosłodzone powinny zawierać nie mniej niż 65% ekstraktu, natomiast niskosłodzone od 28 do 50% ekstraktu. Kwasowość dżemów wysokosłodzonych powinna wynosić 0,7%, natomiast dżemy niskosłodzone powinny posiadać kwasowość na poziomie 0,5%. Dżemy posiadają trzy klasy jakości: klasa ekstra, I i II. Do klas I i II możliwy jest dodatek środka konserwującego [Jarczyk, 2010; Oszmiański, 2002].

Schemat technologiczny produkcji dżemu:

1. Wstępna obróbka surowca – w przypadku owoców świeżych, w zależności od rodzaju owocu stosujemy tutaj odszypułkowanie, mycie, czyszczenie, drylowanie, ocieranie i blanszowanie. Owoce mrożone przed użyciem należy rozmrozić. Owoce pasteryzowane najczęściej przechowywane w aseptycznych pojemnikach wyjmujemy tuż przed przerobem.
2. Sporządzanie roztworu pektyn – w przypadku pektyny wysokometylowanej podaje się ją w postaci 4% wodnego roztworu w/v (pektynę z wodą i cukrem mieszamy w mikserze do rozpuszczenia), natomiast pektynę niskometylowaną rozpuszcza się bezpośrednio w wodzie o temp. 55 - 70°C.
3. Przygotowanie roztworu kwasu cytrynowego – z obliczonej ilości kwasu cytrynowego sporządza się 50% wodny roztwór.
4. Sporządzanie syropu cukrowego – w przypadku owoców świeżych gotuje się je w syropie cukrowym o stężeniu 40 - 70%. Zastosowanie syropu zamiast zwykłego cukru skraca czas gotowania, pozwala ograniczyć rozdrobnienie owoców podczas mieszania oraz usunąć ewentualne zanieczyszczenia obecne w cukrze.

5. Obliczanie wsadu – ilość poszczególnych składników dżemu ustala się na podstawie receptury. W produkcji dżemu dodatek owoców jest stały, natomiast dodatek innych składników zależy od rodzaju owoców, ich słodkości, kwasowości i obecności pektyn.

6. Gotowanie dżemu – jeżeli stosujemy owoce pasteryzowane najczęściej są one utrwalone poprzez sulfitację, dlatego przed rozpoczęciem gotowania dla takich owoców należy przeprowadzić desulfitację. Proces ten przeprowadza się w kotłach z płaszczem parowym lub w wyparkach próżniowych, aż do ostatecznego zaniku zapachu dwutlenku siarki, a jednocześnie pojawienia się barwy i zapachu użytych owoców. Dopiero po procesie desulfitacji do wstępnie zagęszczonej pulpy dodaje się cukier, najczęściej w postaci sypkiej.

Świeże owoce, nieprzetworzone wcześniej, gotuje się w syropie cukrowym, sporządzanym z połowy ilości cukru przewidzianego w recepturze, drugą połowę dodaje się stopniowo podczas gotowania.

Roztwór preparatu pektynowego wprowadza się pod koniec gotowania. Konsystencję kontrolujemy refraktometrem. Czas gotowania zwykle wynosi od 20 do 40 min. Po zakończeniu gotowania dodaje się kwas cytrynowy, aż do osiągnięcia odpowiedniego pH = 3. Dżem przechowuje się głównie w opakowaniach szklanych (słoje). W celu uniknięcia rozwoju pleśni lub drożdży i przedłużenia czasu przechowywania stosuje się łagodną pasteryzację dżemów po zamknięciu opakowań w tunelach pasteryzacyjnych. W końcowej fazie są one schładzane, co pozwala na osiągnięcie odpowiedniej konsystencji [Jarczyk, 1999; Jarczyk, 2010; Pijanowski, 1976].

Celem niniejszej pracy była próba oszacowanie zawartości związków o działaniu przeciwtleniającym w grejpfrutach, z uwzględnieniem całości owoców i poszczególnych ich części (skórka, miąższ i albedo - białej błonie owocu), a także w dżemach z nich wytworzonych.

Material i metodyka

Material roślinny

Badania przeprowadzono na dwóch grupach grejpfruta czerwonego pochodzącego z różnych źródeł. Pierwszy materiał został zakupiony w sieci sklepów „Delikatesy Centrum” w Rzeszowie, kraj pochodzenia – Holandia, drugi zakupiony w supermarkecie „Tesco” w Rzeszowie, kraj pochodzenia – Portugalia.

Przygotowanie dżemu

Owoce grejpfruta zostały umyte i sparzone wrzątkiem. Następnie usunięto z nich pestki. Oddzielną skórkę oraz miąższ rozdrobniono i gotowano z wodą w stosunku obj. 1:0,5 przez 2 godz. Pod koniec obróbki cieplnej, gdy masa

grejpfrutowa była wystarczająco zagęszczona (redukcja około 50% od stanu wyjściowego), dodano cukier w ilości 150 g do 500 g owoców. Całość po rozpuszczeniu cukru gotowano 10 min. Gotowy dżem przełożono do sterylnych słoików, zakręcono pokrywkami typu twist-off. Po wstępnym ochłodzeniu dżemy zostały przeniesione do chłodni i przechowywane w temp. 10°C.

Przygotowanie próbek

Świeże owoce zostały podzielone na mniejsze fragmenty oraz rozdzielone na poszczególne części: skórkę, miąższ i albedo. Części stałe zostały wstępnie rozdrobnione, zamrożone i poddane procesowi liofilizacji przez okres 48 godz. Po tym czasie zostały zmielone w młynku laboratoryjnym i poddane dalszym procesom analitycznym.

Przygotowane dżemy po 2-dniowym okresie przechowywania w opakowaniach szklanych zostały zamrożone, a następnie poddane procesowi liofilizacji. Otrzymane liofilizaty zostały rozdrobnione, tak jak w przypadku owoców świeżych.

Ekstrakcja materiału

Zliofilizowany materiał o wadze 1 g rozpuszczono w 30 ml 70% roztworu metanolu, w przypadku zhomogenizowanego dżemu w 60 ml 70% roztworu metanolu. Przygotowane próbki umieszczono w łaźni ultradźwiękowej na 30 min. w temp. 45°C. Następnie otrzymane ekstrakty odwirowano w czasie 10 min., przy 5000 obr./min. i przeniesiono ilościowo do kolby okrągłodennej, w celu odparowania pozostałości metanolu za pomocą wyparki próżniowej.

Ekstrakcja do fazy stałej (SPE)

Frakcję fenolową wyodrębniono metodą ekstrakcji do fazy stałej – Solid Phase Extraction (SPE). Ekstrakty metanolowe zagęszczono na wyparce próżniowej i rozpuszczono w wodzie. Kolejno nanoszono je na mikrokolumnienki Sep-Pack C-18. Zaabsorbowany ekstrakt przemywano wodą, a następnie 40% roztworem metanolu wymyło frakcję fenolową. Po usunięciu metanolu, suchą pozostałość rozpuszczono w 2 ml mieszaniny 50:50 acetonitryl/woda. Przygotowane ekstrakty przeniesiono do fiolek i poddano analizie UPLC-PDA-MS.

Chromatografia UPLC

Rozdziały, a także identyfikację związków przeprowadzono na ultrasprawnym chromatografie cieczowym Aquity firmy Waters wyposażonym w zestaw dwustopniowej pompy gradientowej, automatyczny podajnik próbek oraz detektory: matrycy

fotodiodowej (PDA) i mas w postaci potrójnego kwadrupola (TQD). Rozdział przeprowadzono na kolumnie Aquity BEH C-18, o długości 100 mm i granulacji ziarna 1,7 μm . Temperatura układu wynosiła 50°C. Prędkość przepływu fazy ruchomej, która stanowiła liniowy gradient acetonitrylu w wodzie wyniósł 0,35 ml/min. Czas analizy wyniósł 9,5 min., przy objętość nastrzyków 5 μl .

Analiza ilościowa i jakościowa

Identyfikacji związków fenolowych zawartych w poszczególnych próbkach grejpfrutów i dżemach dokonano na podstawie charakterystycznych widm absorpcji promieniowania UV oraz widm masowych uzyskanych dzięki zastosowaniu metody chromatografii cieczowej sprzężonej z detektorem mas (LC-PDA-MS). Do obliczeń ilościowych zastosowano eksperyment SIR (*single ion recording* – rejestracja pojedynczego jonu) polegający na utworzeniu odrębnych kanałów chromatograficznych dla poszczególnych wartości stosunku m/z.

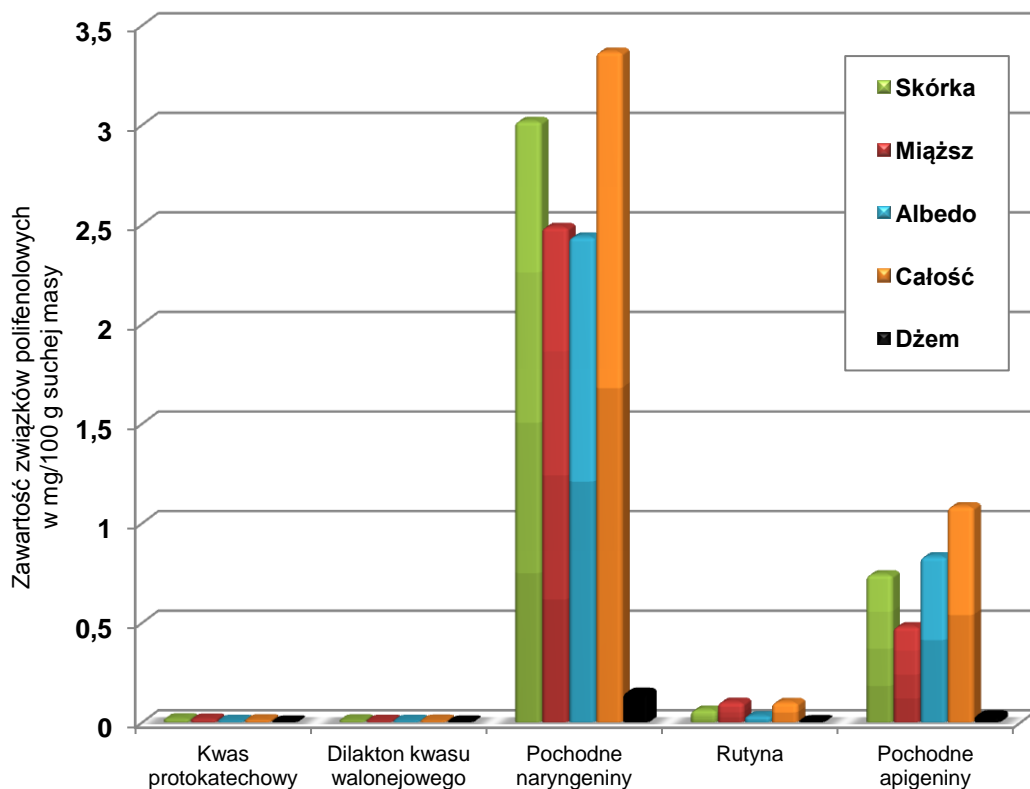
Wyniki i ich dyskusja

Związki fenolowe przez obecność w swojej budowie grupy chromoforowej mogą być oznaczone lub analizowane za pomocą detekcji UV. Jest to jedna z najczęściej wybieranych metod do oznaczania polifenoli roślinnych. Dzięki zwiększonej prędkości przepływu fazy ruchomej, rozdzielczości oraz czułości chromatografia UPLC w sposób istotny zwiększa wydajność oznaczanych związków, skraca czas analizy oraz dostarcza więcej informacji niż inne tradycyjne metody wykorzystujące pomiar spektrofotometryczny.

Główne związki polifenolowe jakie zostały zidentyfikowane podczas analizy to kwasy fenolowe: kwas protokatechowy i dilakton kwasu walonejowego oraz pochodne flawonoidów: naryngeniny, apigeniny, a także rutyna. Zarówno w całych grejpfrutach, jak i w poszczególnych ich częściach oraz w dżemie skład jakościowy związków był taki sam. Analizę ilościową związków polifenolowych przeprowadzono za pomocą krzywej kalibracyjnej wyznaczonej dla naryngeniny. Zakresy stężeń roztworów wzorcowych wynosiły od 1,5625 do 100 $\mu\text{g/ml}$. Współczynnik determinacji wyniósł 0,999.

Tabela 1. Zestawienie wyników zawartości pochodnych związków dla grejpfruta czerwonego (Portugalia)

Lp.	Nazwa związku	Skórka mg/100g	Miąższ mg/100g	Albedo mg/100g	Całość mg/100g	Dżem mg/100g
1.	kwask protokatechowy	0,0182	0,0169	0,0080	0,0115	0,0006
2.	dilakton kwasu walonejowego	0,0109	0,0082	0,0079	0,0085	0,0005
3.	7-O-glukozyd naryngeniny	0,0810	0,0388	0,0273	0,0540	0,0027
4.	7-O-rutynozyd-4'-O-glukozyd naryngeniny	0,0521	0,0193	0,0181	0,0341	0,0014
5.	7-O-ramnozyd-glukozyd naryngeniny	0,4878	0,5503	0,2609	0,6396	0,0281
6.	7-O-rutynozyd naryngeniny	2,3975	1,8781	2,1312	2,6390	0,1198
7.	rutyna	0,0625	0,1023	0,0313	0,1007	0,0045
8.	7-O-diglukuronid apigeniny	0,5478	0,2943	0,4209	0,7144	0,0159
9.	7-O-rutynozyd apigeniny	0,1937	0,1865	0,4112	0,3689	0,0161
Kwas protokatechowy		0,0182	0,0169	0,0080	0,0115	0,0006
Dilakton kwasu walonejowego		0,0109	0,0082	0,0079	0,0085	0,0005
Pochodne naryngeniny		3,0183	2,4865	2,4375	3,3668	0,1520
Rutyna		0,0625	0,1023	0,0313	0,1007	0,0045
Pochodne apigeniny		0,7415	0,4807	0,8321	1,0833	0,0365

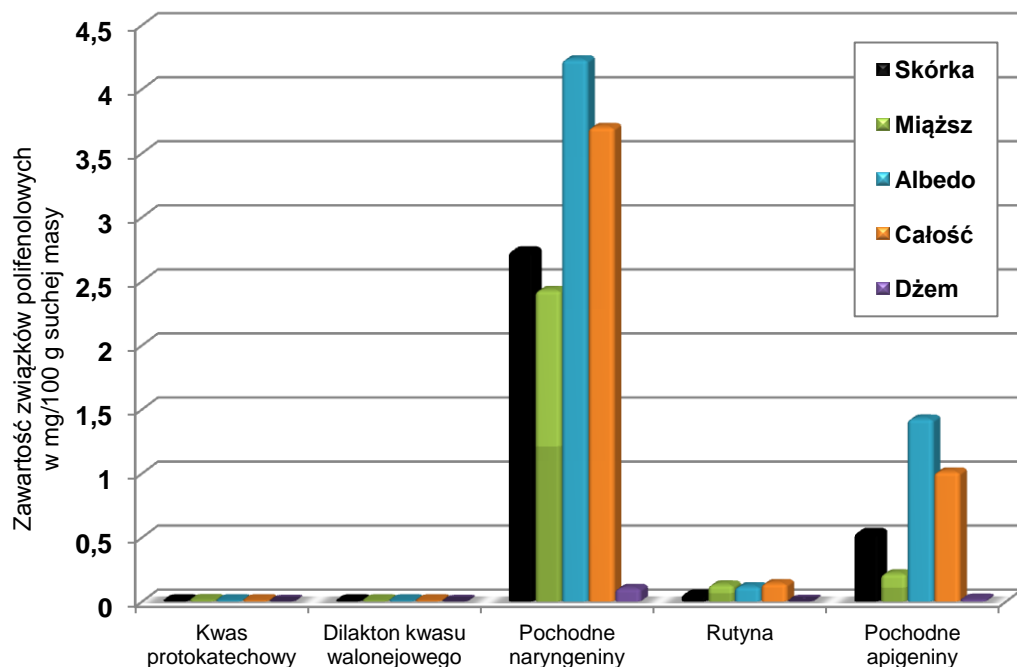


Rys. 1. Zestawienie zawartości związków dla grejpfruta czerwonego (Portugalia)

Rysunek 1 przedstawia zestawienie zawartości poszczególnych związków dla grejpfruta czerwonego pochodzącego z Portugalii. Związkami dominującymi dla wszystkich próbek przeanalizowanego grejpfruta były pochodne naryngeniny, których wartości wahały się od 0,1520 do 3,3668 mg/100 g. W mniejszych ilościach znajdowały się pochodne apigeniny, zawierały się one w przedziale od 0,0365 do 1,0833 mg/100 g. Kwas protokatechowy oraz dilakton kwasu walonejowego, występowały w ilościach śladowych, poniżej 0,0182 mg/100 g.

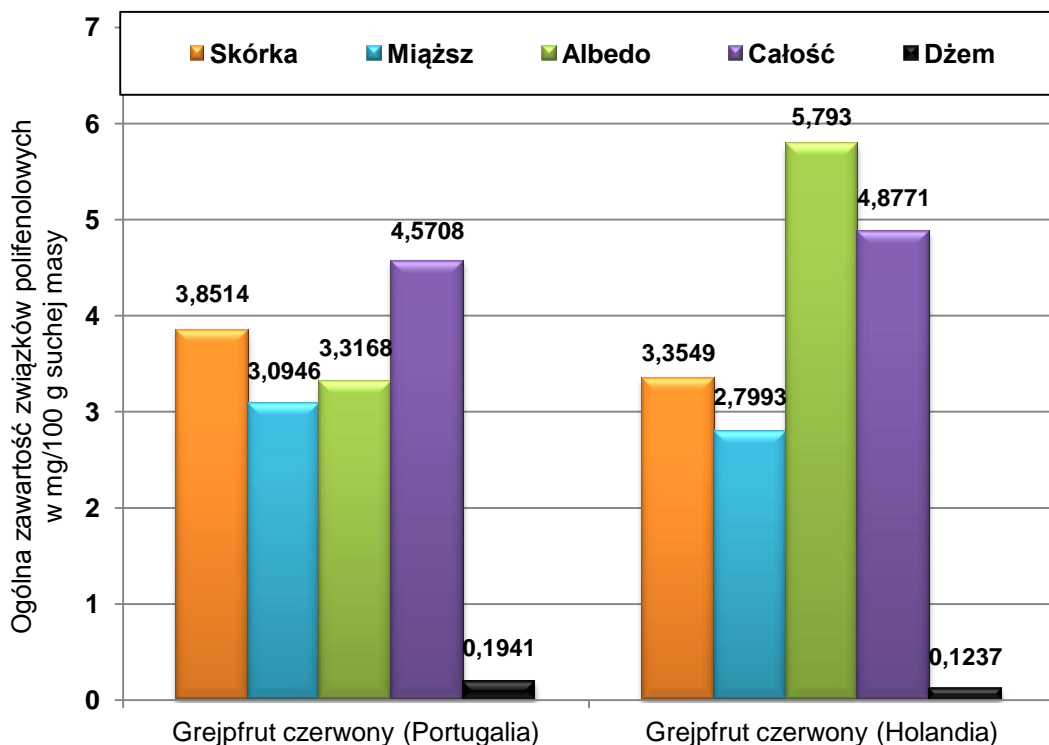
Tabela 2. Zestawienie wyników zawartości pochodnych związków dla grejpfruta czerwonego (Holandia)

Lp.	Nazwa kwasu	Skórka mg/100g	Miąższ mg/100g	Albedo mg/100g	Całość mg/100g	Dżem mg/100g
1.	kwas protokatechowy	0,0081	0,0132	0,0099	0,01	0,0005
2.	dilakton kwasu walonejowego	0,0082	0,0083	0,008	0,0085	0,0005
3.	7-O-glukozyd naryngeniny	0,0282	0,0328	0,1053	0,0707	0,0012
4.	7-O-rutynozyd-4'-O-glukozyd naryngeniny	0,0208	0,0223	0,0656	0,0432	0,0008
5.	7-O-ramnozyd-glukozyd naryngeniny	0,4084	0,5029	0,9862	0,8388	0,0122
6.	7-O-rutynozyd naryngeniny	2,2817	1,8712	3,0739	2,7504	0,09
7.	rutyna	0,0574	0,1311	0,1175	0,1421	0,0019
8.	7-O-diglukuronid apigeniny	0,2726	0,2175	0,8101	0,6116	0,0051
9.	7-O-rutynozyd apigeniny	0,2695	0,1250	0,6164	0,4018	0,0115
Kwas protokatechowy		0,0081	0,0132	0,0099	0,01	0,0005
Dilakton kwasu walonejowego		0,0082	0,0083	0,008	0,0085	0,0005
Pochodne naryngeniny		2,7391	2,4292	4,2311	3,7031	0,1042
Rutyna		0,0574	0,1311	0,1175	0,1421	0,0019
Pochodne apigeniny		0,5421	0,2175	1,4265	1,0134	0,0166



Rys. 2. Zestawienie wyników zawartości związków dla grejpfruta czerwonego (Holandia)

Rysunek 2 przedstawia zawartość związków polifenolowych w grejpfrucie pochodzącym z Holandii. Wyraźnie widać przeważającą ilość pochodnych naryngeniny w badanych próbkach owocu – w skórce, mięszu, albedo, całych owocach grapefruita oraz dżemu, których wartości wahały się od 0,1042 do 4,2311 mg/100 g. Pochodne apigeniny występowały w mniejszych ilościach od 0,0166 do 1,4265 mg/100 g. Kwas protokatechowy oraz dilakton kwasu walonejowego, znajdowały się w ilościach śladowych, poniżej 0,0132 mg/100 g



Rys. 3. Zestawienie wyników zawartości poszczególnych związków polifenolowych dla grejpfruta pochodzącego z Portugalii i Holandii

Porównując poszczególne części owoców (skórka, miąższ, albedo, cały owoc grejpfruta), można stwierdzić, że w grejpfrucie pochodzenia portugalskiego skórka była najbardziej zasobna w związki polifenolowe, natomiast w grejpfrucie „holenderskim” to albedo było najbogatszą częścią owocu. Niższą zawartością związków w grejpfrucie z Portugalii i Holandii charakteryzował się miąższ. Ogólna ilość związków w obydwu owocach była na podobnym poziomie, nieznacznie wyższą zawartość można było

zaobserwować w grejpfrucie pochodzenia holenderskiego. Najuboższe w związki polifenolowe były próbki dżemów sporządzone na bazie badanych owoców.

Wnioski

1. Grejpfrut (*Citrus paradisi*) jest cennym źródłem związków polifenolowych, zarówno pod względem ilości jak i różnorodności tych związków.
2. W obu grupach grejpfrutów analiza jakościowa wykazała obecność 9 związków polifenolowych, tj: kwas protokatechowy, dilakton kwasu walonejowego, 7-O-glukozyd naryngeniny, 7-O-rutynozyd-4'-O-glukozyd naryngeniny, 7-O-ramnozyd-glukozyd naryngeniny, 7-O-rutynozyd naryngeniny, rutyna, 7-O-diglukuronid apigeniny, 7-O-rutynozyd apigeniny.
3. W największych ilościach we wszystkich przeanalizowanych próbkach grejpfrutów zidentyfikowano pochodne naryngeniny. Natomiast kwas protokatechowy i dilakton kwasu walonejowego występowały w ilościach śladowych.
4. Ogólna zawartość związków polifenolowych w całych owocach była nieznacznie wyższa w grejpfrucie czerwonym pochodzącym z Holandii.
5. Porównując dżem i owoce świeże, w obu grupach grejpfrutów zawartość związków polifenolowych po obróbce technologicznej znacząco zmniejszyła się (ponad 20-sto krotnie).

Literatura

1. Cieślik E., Surma-Zadora M. Analiza związków fenolowych w owocach cytrusowych, jabłkach i sokach. Przemysł Fermentacyjny i Owocowo-Warzywny, 2008, 3, 16.
2. Janeczko Z., Makowska-Wąs J. Biodostępność polifenoli roślinnych. Borgis - Postępy Fitoterapii, 2004, 3, 126-137.
3. Jarczyk A., Berdowski J. B. Przetwórstwo owoców i warzyw. Wydawnictwo Szkolne i Pedagogiczne, Warszawa 1999, 80-82.
4. Jarczyk A., Płocharski W. Technologia produktów owocowych i warzywnych. Wydawnictwo Wyższej Szkoły Ekonomiczno – Humanistycznej im. Prof. S.A. Pieniążka w Skierniewicach, Skierniewice 2010, 166-167.
5. Lamer E. Zarawska, Owoce egzotyczne. Wydawnictwo ASTRUM, Wrocław 2000, 91-93.
6. Morton J. Grapefruit, In: Fruits of warm climates, 1987, 152-158.
7. Oszmiański J. Technologia i analiza produktów z owoców i warzyw, Wydawnictwo Akademii Rolniczej we Wrocławiu, Wrocław 2002, 102.
8. Oszmiański J. Prozdrowotne polifenole w chorobach serca i naczyń krwionośnych. Przemysł Fermentacyjny i Owocowo-Warzywny, 2007, 7-8, 42 – 43.

9. Pijanowski E. Technologia produktów owocowych i warzywnych. Państwowe Wydawnictwo Rolnicze i Leśne, Warszawa 1976, 290-291.
10. Pieniążek S.A. (red). Sadownictwo Państwowe Wydawnictwo Rolnicze i Leśne, Warszawa 2000, s. 27.
11. Podstępek A., Wilska-Jeszka J. Bioflawonoidy jako naturalne antyoksydanty. Wiadomości chemiczne, 2001, 55, 990-998.
12. Rosicka-Kaczmarek J. Polifenole jako naturalne antyoksydanty w żywności. Przegląd Piekarski i Cukierniczy, 2004, 6, 12-16.
13. <http://users.kymp.net/citruspages/grapefruit.html>

¹*Katedra Technologii Gastronomicznej i Konsumpcji*

²*Katedra Analizy i Oceny Jakości Żywności*

³*Katedra Chłodnictwa i Koncentratów Spożywczych*

Wydział Technologii Żywności

Uniwersytet Rolniczy im. H. Kołłątaja w Krakowie

WPŁYW DODATKU ROZDROBNIONYCH BULW TOPINAMBURU (*HELIANTHUS TUBEROSUS* L.) NA JAKOŚĆ MIKROBIOLOGICZNĄ SORBETÓW OWOCOWYCH

W ostatnim czasie obserwuje się dynamiczny rozwój nowego rynku żywności, będącego odpowiedzią na wymagania i potrzeby współczesnego konsumenta. Przemiany ekonomiczne, przy jednoczesnej wzrastającej świadomości zdrowotnej konsumentów, przyczyniają się do wzrostu popytu na artykuły spożywcze o specjalnie zaprojektowanym składzie, wykazujące pozytywny, udokumentowany wpływ na zdrowie, które dodatkowo charakteryzują się dobrymi właściwościami sensorycznymi i wygodą użytkowania. Zwiększona jakość prozdrowotna takich produktów (będących przykładem żywności funkcjonalnej) wynika z zawartych w nich substancji, które stymulują przebieg procesów metabolicznych, a także z optymalnie dobranych proporcji składników odżywczych wzajemnie się uzupełniających [Świdorski, 2003].

Wyniki wielu badań wskazują, że do takich cennych składników diety można zaliczyć fruktany, węglowodany nie ulegające trawieniu w przewodzie pokarmowym ze względu na brak w soku trzustkowym i jelitowym enzymów hydrolizujących wiązania β -2-1 glikozydowe. Pełnią one funkcję prebiotyczną, stymulując rozwój dobroczynnych bakterii z rodzaju *Lactobacillus* i *Bifidobacterium* w jelicie grubym. W efekcie hamują rozwój mikroflory patogennej, a więc i powstawanie kancerogenów [Kaplan i Hutkins, 2000]. Węglowodany te ulegają w jelicie grubym fermentacji bakteryjnej, wskutek czego powstają krótkołańcuchowe kwasy tłuszczowe, a pH środowiska ulega obniżeniu. Obecność fruktanów w jelicie grubym powoduje wzrost przyswajalności różnych pierwiastków, m.in. wapnia, co jest szczególnie ważne w przypadku jego niedostatecznej podaży z dietą [Cieślik i Topolska, 2002a; Cieślik i Topolska, 2002b; Cieślik i in., 2009]. Związki te wykazują także zdolność do obniżania stężenia cholesterolu we krwi [Gałązka i in., 2004].

Jednym z najbogatszych źródeł fruktanów, uprawianych w Polsce jest topinambur (*Helianthus tuberosus* L.), znany również jako słonecznik bulwiasty lub karczoch jerozolimski [Cieślik i in., 2005; Cieślik i in., 2007]. Jego uprawę w naszym kraju rozpoczęto w XVIII wieku, z przeznaczeniem na paszę dla zwierząt bądź jako roślinę ozdobną. Topinambur nie ma dużych wymagań - jest odporny na mróz i okresowe

susze, może również dawać plony na ubogich glebach [Cieślik i Gębusia, 2011]. W zimie, bulwy topinamburu są w stanie wytrzymać temperatury dochodzące do -25°C , a odpowiednio zabezpieczone nawet do -50°C . Tak dużą odporność zawdzięczają wysokiemu ciśnieniu osmotycznemu w komórkach, związanemu z inuliną zawartą w soku komórkowym.

To właśnie bulwy, spośród wszystkich części rośliny, cieszą się największym uznaniem. Z jednej rośliny może wyrosnąć nawet 30-70 bulw [Cieślik i in. 2005; Izdebski, 2009]. W Polsce uprawiane są dwie odmiany topinamburu: „Albik” o dużych, maczugowatych, żółtych bulwach oraz „Rubik” o bulwach niewielkich rozmiarów, nieregularnym kształcie i fioletowej barwie [Cieślik i Siembida, 2010]. Stanowią one bowiem niezwykle bogate źródło błonnika pokarmowego oraz fruktanów [Cieślik i Gębusia, 2011]. Ich skład chemiczny jest zależny przede wszystkim od: odmiany, warunków uprawy oraz terminu zbioru [Florkiewicz i in., 2007]. Bulwy topinamburu zawierają 20,4 - 31,9% suchej masy. Ich podstawowym składnikiem są węglowodany: przede wszystkim rozpuszczalna w wodzie inulina (49,5–56,4% w suchej masie oraz 11,3–14,2 g/100 g świeżej masy) [Ma i in., 2011; Chrapkowska i in., 1993; Praznik i in., 1998], a także fruktooligosacharydy, glukoza, fruktoza i sacharoza oraz polisacharydy nierozpuszczalne w wodzie. Zawartość tych składników może się wahać w granicach 5,7–11,7%, w zależności od odmiany [Chrapkowska i in., 1993; Góral 1996]. Kolejnym składnikiem bulw topinamburu są białka, zawierające wszystkie niezbędne aminokwasy egzogenne w niezwykle korzystnych proporcjach. Ponadto słonecznik bulwiasty jest źródłem witamin (z grupy B, witaminy C), a także składników mineralnych, przede wszystkim potasu, wapnia, magnezu, sodu, żelaza, cynku oraz miedzi [Cieślik i in. 2005]. Nie dziwi więc fakt, iż tak korzystny skład chemiczny, ze szczególnym uwzględnieniem wysokiej zawartości fruktanów czyni z bulw topinamburu doskonały surowiec do produkcji żywności funkcjonalnej [Ma i in., 2011].

Konsumenci coraz chętniej sięgają po nowe produkty, o udowodnionych prozdrowotnych właściwościach. Jednakże muszą mieć gwarancję wysokiej ich jakości mikrobiologicznej oraz bezpieczeństwa [Kronberga i in. 2013]. Jakość żywności, w tym stopień jej zanieczyszczenia drobnoustrojami chorobotwórczymi, ma bowiem istotny wpływ na zdrowie i życie ludzi. Badania dotyczące określenia poziomu zanieczyszczeń surowców i produktów gotowych mogą informować o higienie procesu lub nieprawidłowościach technologicznych, a także o zagrożeniach bezpieczeństwa konsumenta [Ołtuszek-Walczak, 2006; Kołożyn-Krajewska i Sikora, 1999].

W związku z tym celem podjętych badań była ocena wpływu dodatku rozdrobnionych bulw topinamburu (*Helianthus tuberosus* L.) na jakość mikrobiologiczną sorbetów owocowych.

Materiał i metody badań

Materiał badawczy stanowiły sorbety (ekstrakt 26%) wyprodukowane z udziałem (60%) owoców pomarańczy (owoce świeże) bądź truskawki (owoce mrożone) oraz pulpy z bulw topinamburu odmiany Albik, uprawianych w Polsce. Bulwy topinamburu po zbiorze zostały umyte, rozdrobnione, a następnie zapakowane w opakowania foliowe i zamrożone.

Owoce zostały poddane homogenizacji za pomocą uniwersalnego urządzenia wielofunkcyjnego (typ Zelmer 175.5), wymieszane z cukrem, wodą i pulpą z bulw topinamburu. Po upływie 0,5 godziny mieszaninę zamrażano z zastosowaniem frezera typu MHFU/5A (firmy Mirkoz, Węgry).

Próbki do badań mikrobiologicznych stanowiły zarówno surowce, jak i produkty gotowe (bezpośrednio po wyprodukowaniu i po 3 miesiącach przechowywania).

Ogólną liczbę drobnoustrojów mezofilnych w materiale badawczym oznaczono zgodnie z normą PN-EN ISO 4833/2004 *Mikrobiologia żywności i pasz. Horyzontalna metoda oznaczania liczby drobnoustrojów*. Analizy wykonano metodą płytkową, z użyciem pożywki PCA (Plate Count Agar LAB-AGAR) firmy Biocorp, nr katalogowy PS 37, prowadząc inkubację w temp. 30°C przez 72±2 h.

Liczbę drożdży i pleśni w surowcach oraz produktach określono według normy PN-90 A-75052/08 *Pleśnie i drożdże: Przetwory owocowe, warzywne i warzywno-mięsne. Metody badań mikrobiologicznych. Oznaczanie liczby drożdży i pleśni*. Oznaczanie wykonano metodą płytkową, stosując podłoże agarowe z ekstraktem drożdżowym, glukozą i chloramfenikolem (Chloramphenicol LAB-AGAR), firmy Biocorp, nr kat. PS 106, temp. inkubacji 25°C, czas: 5 dni.

Bakterie z rodziny Enterobacteriaceae oznaczono zgodnie z normą PN-A-04023 *Mikrobiologia żywności. Wykrywanie i identyfikacja drobnoustrojów z rodziny Enterobacteriaceae*. Oznaczanie wykonano metodą płytkową, wykonując posiew powierzchniowy na pożywce VRBG (Violet Red Bile with Glucose LAB-AGAR), firmy Biocorp, nr katalogowy PS 73, inkubując hodowle w temp. 37°C przez 24±2 h.

Oznaczenie bakterii z grupy coli wykonano według normy PN-ISO 4832 *Mikrobiologia żywności i pasz. Horyzontalna metoda oznaczania liczby bakterii z grupy coli. Metoda płytkowa*. Analizę wykonano z zastosowaniem pożywki selektywnej VRBL (Violet Red Bile with Lactose LAB AGAR), firmy Biocorp, nr katalogowy PS 74, używając jako pożywki potwierdzającej bulionu z zielenią brylantową, laktozą i żółcią. Próby w obu analizach inkubowano w temp. 30°C przez 24±2 h.

Próbki badano również na obecność bakterii *Salmonella spp.*, zgodnie z procedurą opisaną w normie PN-EN ISO 6579. *Mikrobiologia żywności pasz. Horyzontalna metoda wykrywania Salmonella spp.* Przebieg analizy był następujący: najpierw przeprowadzono przednamnażanie w nieselektywnej pożywce płynnej. Wykonano posiew próbki do zbuforowanej wody peptonowej i inkubowano w temp. $37^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$ przez 18 ± 2 h. Następnie hodowlę posiano do dwóch selektywnych pożywek płynnych: pożywki wg Rappaporta-Vassiliadis z soją (RVS) firmy BTL (Zakład Enzymów i Peptonów) nr katalogowy P-0291 oraz pożywki Müllera-Kauffmana z czterotionianem i nowobiocyną (MKTTn) firmy BTL (Zakład Enzymów i Peptonów) nr katalogowy P-0348. Inkubację w podłożu RVS prowadzono w temp. $41,5^{\circ}\text{C}$ przez 24 ± 3 h, natomiast w MKTTn w temp. $37^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$ przez 24 ± 3 h. Z otrzymanych hodowli wykonano przesiewy metodą powierzchniową na dwa selektywne podłoża stałe: agar z ksylozą i lizyną (XLD LAB-AGAR acc. To ISO 6579) firmy Biocorp, nr katalogowy PS 45 oraz na podłoże SS Agar (*Salmonella-Shigella Agar*) firmy Merck, nr 7667. Inkubacje prowadzono w temp. $37^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$ przez 24 ± 3 h.

Dodatkowo wykonano analizę mikrobiologiczną cukru według normy PN-91 A-74855/12 *Cukier. Metody badań. Badania mikrobiologiczne.*

Ogólną liczbę drobnoustrojów mezofilnych (w tym przetrwalników bakterii) oznaczano na agarowym podłożu odżywczym w temperaturze 30°C przez 72 godziny. Oznaczanie liczby drożdży i pleśni osmotolerancyjnych wykonano na podłożu Whalleya Scarra (skład i wykonanie podłoża zgodnie z normą PN-91 A-74855/12). Inkubację przeprowadzono w temp. 30°C przez 120 h.

Wyniki

Na podstawie wykonanych analiz surowców użytych następnie do produkcji sorbetów stwierdzono, że jakość mikrobiologiczna owoców była zadowalająca. Jednakże ogólna liczba drobnoustrojów mezofilnych i drożdży w pulpie z bulw topinamburu wynosiła odpowiednio $5,4\times 10^6$ i $4,7\times 10^3$. Jednocześnie stwierdzono w niej obecność bakterii z grupy coli ($3,2\times 10^5$) i *Enterobacteriaceae* ($9,8\times 10^5$). W żadnej próbce nie wykryto bakterii *Salmonella spp.* (Tabela 1).

Tabela 1. Wyniki analiz mikrobiologicznych surowców użytych do produkcji sorbetów

Surowiec	Ogólna liczba drobnoustrojów mezofilnych	Drożdże	Pleśnie	Bakterie z grupy coli	<i>Enterobacteriaceae</i>	<i>Salmonella</i>
	jtk/g					w 25 g
Truskawki (owoce mrożone)	$2,5 \times 10^2$	<10	<10	0	0	nb
Pomarańcze (owoce świeże)	$2,5 \times 10^2$	<100	<100	0	0	nb
Pulpa z bulw topinamburu	$5,4 \times 10^6$	$4,7 \times 10^3$	<100	$3,2 \times 10^5$	$9,8 \times 10^5$	nb

nb - nieobecna

Analiza mikrobiologiczna cukru wykazała, że ogólna liczba drobnoustrojów mezofilnych wynosiła 445 jtk/10g, natomiast ogólna liczba przetrwalników mezofilnych - 45 jtk/10g. Liczba drożdży osmotolerancyjnych była na poziomie 80 jtk/10g. Nie stwierdzono obecności pleśni w analizowanych próbkach.

Na podstawie uzyskanych wyników dotyczących jakości mikrobiologicznej bulw topinamburu, proces produkcji sorbetów uzupełniono o etap pasteryzacji (temperatura: 95-98°C, czas: 2 min) pulpy. Wyniki analiz mikrobiologicznych sorbetów owocowych wykonanych bezpośrednio po ich wyprodukowaniu przedstawiono w Tabeli 2.

Tabela 2. Wyniki analiz mikrobiologicznych sorbetów owocowych wykonanych bezpośrednio po ich wyprodukowaniu

Rodzaj sorbetu	Ogólna liczba drobnoustrojów mezofilnych	Drożdże	Pleśnie	Bakterie z grupy coli	<i>Enterobacteriaceae</i>	<i>Salmonella</i>
	jtk/g					w 25 g
truskawkowy	$2,8 \times 10^3$	$7,0 \times 10^3$	$7,5 \times 10^2$	0	0	nb
pomarańczowy	$9,3 \times 10^2$	<10	<10	0	0	nb

nb - nieobecna

Po trzech miesiącach przechowywania sorbetów owocowych w temperaturze 22°C ogólna liczba drobnoustrojów mezofilnych w sorbecie truskawkowym wynosiła $2,2 \times 10^3$, natomiast w sorbecie pomarańczowym - $4,0 \times 10^2$ jtk/g. W żadnej próbce nie stwierdzono bakterii z grupy coli, ani też bakterii z rodzaju *Salmonella* (Tabela 3).

Tabela 3. Wyniki analiz mikrobiologicznych sorbetów owocowych przeprowadzonych po okresie ich przechowywania w temperaturze zamrażalniczej (-22°C) przez 3 miesiące

Rodzaj sorbetu	Ogólna liczba drobnoustrojów mezofilnych	Drożdże	Pleśnie	Bakterie z grupy coli	<i>Enterobacteriaceae</i>	<i>Salmonella</i>
	jtk/g					w 25 g
truskawkowy	2,2x10 ³	2,3x10 ³	7,4x10 ²	0	0	nb
pomarańczowy	4,0x10 ²	<10	<10	0	0	nb

nb - nieobecna

Dyskusja

Mrożone desery owocowe cieszą się dużą popularnością, niezależnie od pory roku i wieku konsumentów, przy czym coraz większe zainteresowanie wzbudzają sorbety, ze względu na ich walory smakowe oraz dietetyczne [Czerwińska, 2010; Maksimowicz i in., 2006]. Sorbety wytwarza się na bazie wody, soku owocowego lub koncentratu owocowego, a charakteryzują się one dużą kwasowością (pH 2,5 – 4,0) oraz intensywnym smakiem i zapachem [Maksimowicz i in., 2006]. Ważne jest jednak, by do ich produkcji wybierać i stosować jedynie składniki najwyższej jakości mikrobiologicznej i technologicznej. Wszystkie komponenty muszą być świeże, bez obcych zapachów i posmaków. Zawartość mikroorganizmów w sorbetach, podobnie jak w lodach tradycyjnych zależy bowiem w głównej mierze od jakości surowców użytych do ich produkcji [Hesser, 2000; Kanbakan i in., 2004; Mrowiec-Mateja, 2011].

Owoce to grupa surowców o bardzo zróżnicowanym składzie chemicznym, których charakterystyczną cechą jest duża zawartość wody (nawet do 96%). W suchej substancji główny składnik stanowią sacharydy, natomiast niewiele jest białka i przeważnie jeszcze mniej tłuszczu. Owoce charakteryzują się odczynem kwaśnym, ze względu na obecność w ich składzie wielu kwasów organicznych. Dlatego też naturalną mikroflorę powodującą psucie się owoców i warzyw stanowi w głównej mierze zróżnicowana grupa tlenowych bakterii mezofilnych, jak również drożdże i pleśnie [Malinowska-Pańczyk i Kołodziejska, 2010].

W ocenie zanieczyszczenia badanych sorbetów truskawkowych przez bakterie można kierować się wymaganiami mikrobiologicznymi, formułowanymi przez zagranicznych kontrahentów w stosunku do całych mrożonych truskawek, w których liczba bakterii nie powinna przekraczać 10⁵ jtk/g [Białasiewicz i Królasik, 2000; Skupień i Wójcik-Stopczyńska, 2006]. W związku z powyższym nie budziły one zastrzeżeń. Ponadto, według wymagań odbiorców zagranicznych, w zamrożonych całych truskawkach liczba drożdży i pleśni, w zależności od kraju, nie powinna przekraczać poziomu 10³ lub 10⁴ jtk/g [Białasiewicz i Królasik, 2000]. W niniejszej pracy było ich mniej niż 10 (Tabela 1). Tymczasem inni autorzy, w badaniach zamrożonych truskawek

pochodzących z różnych krajowych chłodni [Białasiewicz i Królasik, 2000; Kordowska-Wiater i in., 2002] stwierdzili w części ocenianych partii owoców wysokie zanieczyszczenie przez drożdże ($>10^3$ jtk/g) oraz grzyby pleśniowe (do $2,0 \times 10^5$ jtk/g). Mikrobiologiczna jakość produktów mrożonych zależy od stanu surowca, dlatego ważne jest zachowanie warunków ograniczających rozwój drobnoustrojów, m.in. krótki okres między zbiorem a przetworzeniem oraz higiena obróbki wstępnej owoców [Skupień i Wójcik-Stopczyńska, 2006].

Wyniki analiz pulpy z bulw topinamburu wykazały jej niezadowalającą jakość mikrobiologiczną, w tym nie tylko dużą liczbę drobnoustrojów mezofilnych, ale i bakterii z grupy coli, *Enterobacteriaceae*, jak również drożdży (Tabela 1). Tymczasem sposobem eliminacji większości zagrożeń mikrobiologicznych może być pasteryzacja. W trakcie tego procesu ulegają bowiem zniszczeniu patogeny stanowiące potencjalne zagrożenie dla zdrowia [Kanbakan i in., 2004]. Dlatego też – w oparciu o uzyskane wyniki – zdecydowano o konieczności pasteryzacji pulpy przed jej zastosowaniem jako surowca w produkcji sorbetów owocowych.

Ważna jest również jakość mikrobiologiczna cukru użytego do wytworzenia sorbetów. Otóż biały cukier był używany od wieków w produkcji żywności jako środek słodzący, ale upatrywano także jego roli jako ważnego składnika wpływającego na takie cechy produktu, jak smak czy tekstura [Wojtczak i in., 2012]. W sorbetach cukier nie tylko poprawia ich kremistość, ale też reguluje kwasowość i dodaje smaku. Pełni również rolę przyprawy [Hesser, 2000]. Kiedy cukru jest za dużo sorbet rozpuszcza się, a jeśli za mało – traci kremistość i kruszy się [Mrowiec-Mateja, 2011]. Ważna jest również jego odpowiednia jakość mikrobiologiczna. W analizowanych próbkach cukru białego nie stwierdzono pleśni, natomiast liczba drożdży osmotolerancyjnych wynosiła 80 jtk/10g. Dla porównania, dane literaturowe wskazują, iż zawartość drożdży i pleśni w brązowym cukrze waha się od 101 do 103 jtk/10 g, podczas gdy w cukrze surowym może nawet osiągnąć poziom 107 jtk/10 g. Zdaniem Wojtczak i in. [2012] zanieczyszczenie surowego cukru trzcinowego osmotolerancyjnymi drożdżami jest silnie związane z aktywnością wody (a_w) i nie występuje gdy $a_w < 0,65$. Podczas przechowywania cukru, wilgotność powietrza przyczynia się do zwiększenia a_w produktu [Klaushofer i in., 1998].

Trzeba jednakże pamiętać, że potencjalne zagrożenia mikrobiologiczne mogą wystąpić także na dalszych etapach wytwarzania sorbetów – poprzez dodanie zanieczyszczonych składników lub jako konsekwencja niewłaściwej higieny procesu (personelu, naczyń, sprzętu) [Encyclopedia of Life Support Systems, Kanbakan i in., 2004]. Stąd też konieczność analizy gotowych sorbetów, w pierwszej kolejności bezpośrednio po ich wytworzeniu. Uzyskane wyniki pozwoliły na stwierdzenie, iż uzyskano pożądaną jakość mikrobiologiczną ww. produktów (Tabela 2). Nie uległa

ona zmianie w trakcie 3-miesięcznego okresu przechowywania w temperaturze zamrażalniczej (-22°C) (Tabela 3).

Biorąc pod uwagę możliwość otrzymania produktu o dobrej jakości mikrobiologicznej, a przy tym o pożądanym składzie chemicznym, sorbet może stanowić interesującą alternatywę dla lodów tradycyjnych [Kłosiewicz-Latoszek i Szostek, 2008].

Podsumowanie

Sorbety owocowe (zarówno truskawkowe, jak i pomarańczowe) z udziałem pulpy z bulw topinamburu (*Helianthus tuberosus* L.) charakteryzowały się dobrą jakością mikrobiologiczną, jednakże dopiero po włączeniu pasteryzacji pulpy jako etapu niezbędnego w procesie ich wytwarzania. Przechowywanie gotowych produktów przez okres trzech miesięcy w temperaturze zamrażalniczej (-22°C) nie wpłynęło na zmianę jakości mikrobiologicznej.

Projekt został sfinansowany ze środków Narodowego Centrum Nauki przyznanych na podstawie decyzji numer DEC-2011/01/B/NZ9/03045

Literatura

1. Białasiewicz D., Królasik J. Porównanie jakości mikrobiologicznej mrożonych truskawek z wymaganiami zagranicznych odbiorców. *Przemysł Fermentacyjny i Owocowo-Warzywny*, 2000, 6, 33-35.
2. Chrapkowska K. J. Otrzymywanie syropów fruktozowych bulw *Helianthus tuberosus* (topinamburu). *Mat. XXIV Sesji Naukowej KtiChŻ PAN*, 1993, 161-164.
3. Cieślik E., Gębusia A. Żywność funkcjonalna z dodatkiem fruktanów. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2011, 2, 27-37.
4. Cieślik E., Kopeć A., Praznik W. Healthy properties of Jerusalem artichoke flour (*Helianthus tuberosus* L.). *Electronic Journal of Polish Agricultural Universities*, 2005, 8, 2. <http://www.ejpau.media.pl/volume8/issue2/art-37.html>
5. Cieślik E., Siembida A. Fruktany i ich występowanie w roślinach uprawnych. *Postępy Nauk Rolniczych*, 2010, 4, 67-80.
6. Cieślik E., Topolska K.: Wpływ fruktanów na biodostępność wapnia w organizmie szczurów laboratoryjnych. *Pediatrics Współczesna, Gastroenterologia, Hepatologia i Żywnienie Dziecka*, 2002a, 1, 4, 92.
7. Cieślik E., Topolska K. Wpływ fruktanów na biodostępność wybranych składników mineralnych. *Żywność*, 2002b, 3, 5-16.

8. Cieřlik E., Topolska K., Pisulewski P.M. Effect of inulin-type fructans on body weight gain and selected biochemical parameters at calcium hypoalimentionation in rats. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 2009, 59, 2, 163-168.
9. Czerwińska D. Czas na lody, *Przegląd Gastronomiczny*, 2010, 2, 8-10.
10. Encyclopedia of Life Support Systems (EOLSS) - FOOD QUALITY AND STANDARDS – Vol. II - Food Quality and Assurance - Jiri Davidek (on line <http://www.eolss.net/Sample-Chapters/C10/E5-08-03-00.pdf>).
11. Florkiewicz A., Cieřlik E., Filipiak – Florkiewicz A. Wpływ odmiany i terminu zbioru na skład chemiczny bulw topinamburu (*Helianthus tuberosus* L.). *ŻYWNOSĆ. Nauka. Technologia. Jakość*, 2007, 3 (52), 71 – 81.
12. Gałazka I., Klewicki R., Grzelak K. Hydroliza fruktanów w warunkach symulujących działanie soku żołądkowego. *ŻYWNOSĆ. Nauka. Technologia. Jakość*, 2004, 3 (40), Supl., 68-76.
13. Góral S., Topinambur – słonecznik bulwiasty – *Helianthus tuberosus* L. Nowe rośliny uprawne na cele spożywcze, przemysłowe i jako odnawialne źródła energii. SGGW, 1996, 76-86.
14. Hesser A. Improving on Nature: The Small Miracle of Sorbet, *New York Times*, 2000.
15. Izdebski W. Jerusalem artichoke – potential and possibilities of use in power industry. *TEKA Kom. Mat. Energ. Roln.*, 2009, 9, 93-98.
16. Kanbakan U., Çon A.H., Ayar A. Determination of microbiological contamination sources during ice cream production in Denizli, Turkey. *Food Control*, 2004, 15, 463-470.
17. Kaplan H., Hutkins R. Fermentation of fructooligosaccharides by lactic acid bacteria and bifidobacteria. *Applied and Environmental Microbiology*, 2000, 66, 2682-2684.
18. Klaushofer, H., Clarke, M.,A., Rein, P.,W., & Mauch, W. Microbiology. In P. van der Poel, H. Schiweck, & T. Schwartz (Eds.), *Sugar technology: Beet and cane sugar manufacture* (pp. 993e1007). Berlin 1998., Verlag, (Dr. Albert Bartens KG).
19. Kłosiewicz-Latoszek L., Szostek W.B. 2008. Żywnienie a choroby sercowo-naczyniowe, *Forum Profilaktyki*, 10, 1-12.
20. Kołożyn-Krajewska D., Sikora T. HACCP. Koncepcja i system zapewnienia bezpieczeństwa zdrowotnego żywności. Wyd. SITSpoż.. Warszawa, 1999.
21. Kordowska-Wiater, Sosnowska B., Wako A., Janas P. Ocena jakości mikrobiologicznej wybranych mrożonych owoców jagodowych. *ŻYWNOSĆ. Nauka. Technologia. Jakość*, 2002, 4 (33), 117-126.

22. Kronberga M., Gedrovica I., Karklina D. The Influence of Jerusalem Artichoke as Nutrition Value Increaser on Microbiological Parameters of Confectionery Products. IPCBEE, 2013, 53, 16-23.
23. Kubik C., Piasecka K., Anyszka A., Bielecki S. Polifruktany i fruktooligosacharydy (FOS) – występowanie, otrzymywanie i zastosowanie. *Biotechnologia*, 2006, 2 (73), 103-116.
24. Kordowska-Wiater, Sosnowska B., Wako A., Janas P.: Ocena jakości mikrobiologicznej wybranych mrożonych owoców jagodowych. *ŻYWNOŚĆ. Nauka. Technologia. Jakość*, 2002, 4 (33), 117-126.
25. Ma X. Y., Zhang L. H., Shao H.B., Xu G., Zhang F., Ni F. T. Brestic M. Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus*), a medicinal salt-resistant plant has high adaptability and multiple-use values. *Journal of Medicinal Plants Research*, 2011, 5(8), 1272-1279.
26. Maksimowicz K., Grodzka K., Krygier K. Ocena wpływu dodatku celulozy mikrokrystalicznej jako stabilizatora do owocowych lodów wodnych. *ŻYWNOŚĆ. Nauka. Technologia. Jakość*, 2006, 2 (47) Supl., 198 – 205.
27. Malinowska-Pańczyk E., Kołodziejaska I. Możliwości zastosowania wysokiego ciśnienia w przemyśle owocowo-warzywnym. *ŻYWNOŚĆ. Nauka. Technologia. Jakość*, 2010, 2 (69), 5-15.
28. Mrowiec-Mateja P., 2011. Kremowy sorbet-klucz do sukcesu, *Świat lodów*, 1, 20-22.
29. Ołtuszek-Walczak E. Jakość mikrobiologiczna wybranych produktów garmazeryjnych *ŻYWNOŚĆ. Nauka. Technologia. Jakość*, 2006, 1 (46) Supl., 80-85.
30. PN-EN ISO 4833:2004. Mikrobiologia żywności i pasz. Horyzontalna metoda oznaczania liczby drobnoustrojów. Metoda płytkowa w temperaturze 30°C.
31. PN-90 A-75052/08 Przetwory owocowe, warzywne i warzywno-mięsne. Metody badań mikrobiologicznych. Oznaczanie liczby drożdży i pleśni.
32. PN-A-04023 Mikrobiologia żywności. Wykrywanie i identyfikacja drobnoustrojów z rodziny *Enterobacteriaceae*.
33. PN-ISO 4832 Mikrobiologia żywności i pasz. Horyzontalna metoda oznaczania liczby bakterii z grupy coli. Metoda płytkowa.
34. PN-EN ISO 6579 Mikrobiologia żywności pasz. Horyzontalna metoda wykrywania *Salmonella spp.*
35. PN-91 A-74855/12 Cukier. Metody badań. Badania mikrobiologiczne.
36. Praznik W., Cieślak E., Filipiak, A. The influence of harvest time on the content of nutritional components in tubers of J. artichoke (*Helianthus tuberosus* L.). *Proceedings of 7th Seminar of Inulin. Leuven, Belgium*, 1998, 154-157.

37. Skupień K., Wójcik-Stopczyńska B. Ocena jakości przecierów z truskawek odmiany Kent ŻYWNOŚĆ, 2006, 4(49), 47-59.
38. Świdorski F., 2003. Żywność wygodna i żywność funkcjonalna. WNT, Warszawa.
39. Wojtczak M., Biernasiak J., Papińska A. Evaluation of microbiological purity of raw and refined white cane sugar. Food Control, 2012, 25, 136-139.

WŁAŚCIWOŚCI POWŁOK SKROBIOWYCH I ICH WPŁYW NA JAKOŚĆ MODELOWYCH OWOCÓW PODCZAS PRZECHOWYWANIA

Wprowadzenie

W ostatnich latach coraz ważniejszym aspektem decydującym o wyborze żywności przez konsumenta stała się jej jakość. Żywność ze względu na swój charakter jest narażona na wiele negatywnych oddziaływań ze strony środowiska. Pod wpływem przechowywania jej jakość ulega pogorszeniu na skutek licznych zmian: masy, barwy, aromatu, składu chemicznego, tekstury, jak również zmian natury mikrobiologicznej. Wszystkie te zjawiska wynikają z procesów utraty wody, oddychania, jak również są wynikiem dostępności tlenu, który uczestniczy w procesach psucia żywności. W związku z tym, w celu przedłużenia trwałości produktów spożywczych coraz większą uwagę zwraca się na różnego rodzaju opakowania, których właściwy dobór pozwala zachować wysokie walory jakościowe zapakowanego produktu.

Najpopularniejsze materiały opakowaniowe stosowane do bezpośredniego przechowywania produktów spożywczych to papier, tektura, szkło i metal. Największy udział w produkcji opakowań mają jednak tworzywa sztuczne, takie jak poliestry, poliolefiny i poliamidy m. in. polietylen (PE), politereftalan etylenu (PET), polichlorek winylu (PVC), polistyren czy polipropylen, produkowane z pochodnych produktów ropy naftowej [Pająk, 2011; Sztuka i Kołodziejska, 2008a]. Wadą tworzyw sztucznych jest fakt, iż nie ulegają one biodegradacji przez co stanowią poważne źródło zanieczyszczenia środowiska. Dlatego doskonałą alternatywą dla tych nieodegradowalnych tworzyw wydają się być materiały wytworzone na bazie naturalnych polimerów, takich jak skrobia, celuloza, chityna i chitozan, pullulan, czy białka roślinne i zwierzęce, które stanowią bezpośrednią osłonę żywności [Cutter, 2006; Gennadios i in., 1997; Pająk, 2013].

Powłoki jadalne (ang: edible coatings) są to cienkie błony na bazie polimerów naturalnych tworzące powłokę na produkcie, która staje się jego integralną częścią. Przykładem mogą być powłoki woskowe zabezpieczające jabłka przed zepsuciem, które dodatkowo nadają owocom pożądany połysk. Powłoki te są jadalne, jednak ich ewentualne usunięcie z produktu (np. poprzez zeszkobanie) powoduje ich nieodwracalne zniszczenie.

Folie jadalne (ang. edible films) to cienkie filmy stosowane do owijania żywności, które można stosować także jako folie oddzielające warstwy żywności. Wyglądem przypominają spożywczą folię polietylenową. Usunięcie folii z produktu zwykle nie powoduje ich zniszczenia.

Zaletą obu rodzajów pokryć jadalnych jest to, że mogą być spożywane razem z opakowanym produktem, a składowane ulegają szybkiemu rozkładowi, zatem nie wymagają drogich zabiegów recyklingu lub utylizacji. Celem ich stosowania jest ochrona żywności przed niekorzystnym oddziaływaniem środowiska zewnętrznego [Galus, 2012; Lenart i Kadzińska, 2012; Pająk, 2013]. Powłoki jadalne mając bezpośredni kontakt z żywnością, muszą spełniać określone wymagania funkcjonalne, m. in. powinny być odporne na działanie wilgoci, wykazywać barierowość lub selektywność dla związków aromatycznych, olejów i gazów, charakteryzować się barwą, wyglądem oraz właściwościami mechanicznymi i reologicznymi zbliżonymi do folii z tworzyw sztucznych, nie powinny być także toksyczne. Właściwości te zależą m.in. od zastosowanych polimerów naturalnych oraz od sposobu i warunków formowania powłok [Skurtys i in., 2010].

Istnieją różne sposoby produkcji folii i powłok jadalnych [Basiak i in., 2012]. Najpowszechniejszą metodą wytwarzania folii jest usunięcia rozpuszczalnika potrzebnego do przygotowania roztworu powłokotwórczego. Następuje tutaj wytworzenie i ustabilizowanie się ciągłej struktury za sprawą fizykochemicznego oddziaływania międzycząsteczkowego. Makrocząsteczki roztworu powłokotwórczego są rozpuszczane w rozpuszczalniku oraz w razie konieczności połączone z dodatkami. Jako rozpuszczalniki są używane: woda, alkohol etylowy, kwas octowy, a jako plastyfikatory poliole: glicerol, sorbitol i glikol polietylenowy, a także disacharydy np. sacharoza i monosacharydy np. glukoza, fruktoza i mannoza [Embuscado i Huber, 2009]. Później roztwór powłokotwórczy wylewa się cienką warstwą i suszy, a następnie zdejmuje z powierzchni [Basiak i in., 2012; Kokoszka i Lenart, 2009]. Warunki suszenia (temperatura oraz wilgotność względna) są bardzo istotne, gdyż wpływają one na strukturę filmów. Oprócz nich wpływ ma także grubość warstwy roztworu powłokotwórczego, jak również jego skład [Skurtys i in., 2010]. Powłoki z kolei powszechnie wytwarza się metodą zanurzeniową, którą stosuje się do powlekania owoców i warzyw. Istotne w tej metodzie są właściwości roztworu powlekającego, takie jak: gęstość, lepkość i napięcie powierzchniowe oraz prędkość zanurzania produktów żywnościowych [Cisneros–Zevallos i Krochta, 2003]. Powlekanie przez zanurzenie minimalnie przetworzonych owoców nie jest łatwe, gdyż trudno jest uzyskać dobrą przyczepność powłoki do hydrofilowej powierzchni pokrojonego owocu. Rozwiązaniem tego może być stosowanie techniki

wielowarstwowej, w której następuje elektrolityczne powlekanie warstwa po warstwie.

W ostatnich latach obserwuje się rozwój żywności wygodnej, a przy tym o wysokich walorach zdrowotnych i odżywczych. Do tej kategorii zaliczyć można owoce i warzywa minimalnie przetworzone, tzw. „ready to eat”. Owoce minimalnie przetworzone, np. plastry jabłek, mają krótki okres trwałości w porównaniu do całych owoców, z uwagi na większą podatność na zepsucie mikrobiologiczne, wzmożoną transpirację i produkcję etylenu. Ponadto pozbawienie naturalnej ochrony jaką jest skórka i uszkodzenie tkanki roślinnej podczas procesu krojenia powoduje uwolnienie enzymów wewnątrzkomórkowych, które negatywnie wpływają na barwę tkanki owoców, jak również powodują pogorszenie ich zapachu oraz tekstury. Skórka stanowi ponadto dodatkową ochronę spowalniającą ubytek masy owoców w trakcie przechowywania [Olivas i in., 2007].

Celem niniejszej pracy była ocena właściwości folii wytworzonych na bazie kleików skrobi ziemniaczanej z dodatkiem glicerolu lub sorbitolu oraz określenie wpływu tych folii i powłok na jakość przechowywanych plasterów jabłek.

Materiał badawczy

Do wytworzenia folii i powłok wykorzystano skrobię ziemniaczaną LU-1431-1 wyprodukowaną przez Wielkopolskie Przedsiębiorstwo Przemysłu Ziemniaczanego w Luboniu. Folie i powłoki wytwarzane były z dodatkiem dwóch plastyfikatorów: glicerolu firmy Chempur (Piekary Śląskie) oraz sorbitolu spożywczego firmy „DAKART” (Węgry).

Folie i powłoki wytworzono na podstawie publikacji Basiak i Lenart [2013] z modyfikacją własną. W tym celu przygotowano 2% s.m. kleiki skrobiowe (czas ogrzewania 30 min + 10 min po dodaniu plastyfikatora, temp. 95°C), gdzie udział glicerolu lub sorbitolu stanowił 50% składu folii w stosunku do suchej masy skrobi. Otrzymane kleiki stanowiły bazę do otrzymania powłok na modelowych owocach, którymi były plastry (średnica 5 cm, wysokość 2 cm) jabłek odmiany Ligol (łac. *Malus domestica*). Powłoki otrzymywano poprzez pięciokrotne zanurzenie (30 s każde) plasterów jabłek w kleiku skrobiowym z dodatkiem glicerolu (PG) lub sorbitolu (PS) stosując 30 sekundowe przerwy pomiędzy kolejnymi zanurzeniami w celu osuszenia powłoki. Z kolei folie (FG i FS) otrzymywano z przygotowanych kleików poprzez ich wylanie w ilości 50 g na szalki Petriego o średnicy 14 cm i wysuszenie w temperaturze 40°C, przy wilgotności RH=32±4% w suszarce Venticell Standard (Conbest, Polska) przez czas 24 h. Po odseparowaniu od płytek folie służyły do owijania plasterków jabłek. Kontrolę

stanowiły plastry jabłek nie poddane zabezpieczeniu foliami ani powłokami skrobiowymi (K).

Metodyka badań

Metodyka obejmowała:

- pomiar grubości folii przy użyciu suwmiarki firmy „Powerfix profi” (Milomex, Wielka Brytania) w pięciu różnych miejscach,
- wagowy pomiar zawartości wody w foliach wg Mali i in. [2004] po wysuszeniu próbki w temperaturze 100°C przez 24h,
- rozpuszczalność folii w wodzie wg metodyki Ryu i in. [2002]. Przed analizą przygotowano sączi papierowe i wysuszono je w 100°C do stałej masy w ciągu 24 godzin. Po ostudzeniu sączi zważono. Z folii jadalnych wycięto paski o wymiarach 20x20 mm. Próbkę doprowadzono do stałej masy w trakcie 24 godzinowego suszenia w 100°C. Po tym czasie folie zważono (wynik to początkowa sucha masa próbki – m_0). Następnie zważone paski umieszczono w kolbie stożkowej i zalano 50 ml wody destylowanej. Próbkę wytrząsano w kąpeli wodnej przez 24 h. Po tym czasie całość przesączono, a sączi z nierozpuszczonymi kawałkami folii wysuszono do stałej masy w temp. 100°C w ciągu 24 godzin, a następnie po ostudzeniu zważono. Z różnicy mas sączi z folią po wysuszeniu i suchego sączi, obliczono suchą masę folii po 24 godzinach rozpuszczania w wodzie (m_{24}) według poniższego wzoru:

$$\text{Rozpuszczalność [\%]} = 100 \cdot (m_0 - m_{24}) / m_0$$

- pomiar ubytku masy w próbkach jabłek podczas przechowywania w temperaturze $20 \pm 2^\circ\text{C}$ i $\text{RH} = 36 \pm 5\%$. Badanie polegało na zważeniu próbek w 1, 2, 3, 6 i 7 dniu przechowywania i obliczeniu procentowego ubytku masy próbek w porównaniu do masy zmierzonej w dniu powlekania (określanym jako dzień 0).
- pomiar parametrów barwy próbek przed i po zabezpieczeniu foliami i powłokami przeprowadzono przy zastosowaniu spektrofotometru X-Rite Color i5 (USA) w systemie CIELAB w odbiciu (geometria pomiarowa $d/8^\circ$, iluminat D_{65} , detektor odchylony o 10° , szczelina pomiaru 25 mm). Przy użyciu X-Rite Color Master wyznaczono wartości współrzędnych $L^*a^*b^*$, gdzie L^* - wyraża jasność, $+a^*$ - czerwień, $-a^*$ - zieleń, $+b^*$ - żółć, $-b^*$ - błękit.

Z poniższych wzorów [Buera i in., 1885] obliczono indeks brunatnienia enzymatycznego jabłek (BI), gdzie:

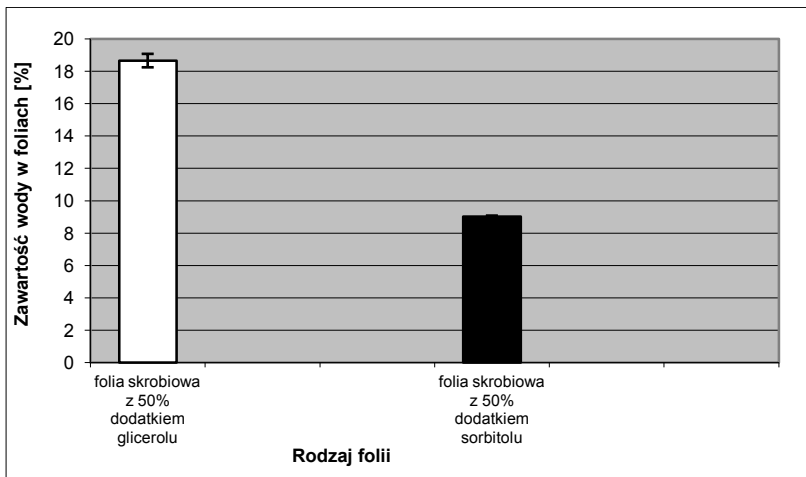
$$BI = \frac{100(x - 0,31)}{0,172}$$

$$x = \frac{a^* + 1,75L^*}{5,645L^* + a^* - 3,012b^*}$$

Dyskusja wyników

Grubość jest istotnym parametrem jadalnych błon i filmów, gdyż wpływa na biologiczne właściwości, a także na okres trwałości pokrytych nimi produktów żywnościowych. Na grubość z kolei wpływ ma równomierne rozprzeczanie roztworów powłokotwórczych. Grubość jest uzależniona od właściwości roztworu takich jak gęstość, lepkość oraz napięcie powierzchniowe, jak również od sposobu wytwarzania filmu [Skurtys i in., 2010].

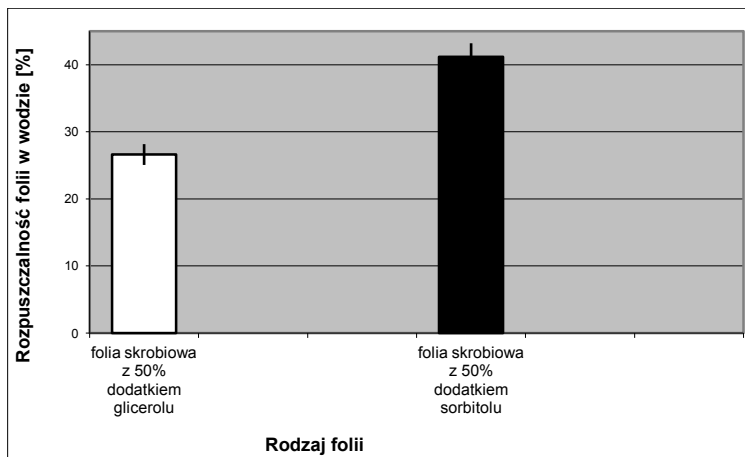
Na podstawie pomiaru grubości folii skrobiowych z dodatkiem glicerolu lub sorbitolu stwierdzono, iż folie pomimo takiej samej procedury wytworzenia wykazywały różną grubość. Stwierdzono istotny statystycznie wpływ zastosowanego plastyfikatora na wartość zmierzonego parametru. Średnia grubość folii z dodatkiem sorbitolu wynosiła $88 \pm 7 \mu\text{m}$, natomiast folii wytworzonej z dodatkiem glicerolu $110 \pm 8 \mu\text{m}$. Grubość ściśle związana była z zawartością wody w foliach (Rys. 1.) Folie z dodatkiem glicerolu zawierały prawie dwa razy więcej wody niż te z dodatkiem sorbitolu.



Rys. 1. Zawartość wody w foliach skrobiowych z dodatkiem glicerolu lub sorbitolu

Zawartość wody w foliach zależy od rodzaju substancji powłokotwórczej, a przede wszystkim od rodzaju i ilości użytego plastyfikatora. Tezę tę potwierdzają badania prowadzone przez Aguirre i in. [2013], którzy wykazali różnice w zawartości wody w białkowych foliach plastyfikowanych glicerolem lub sorbitolem w różnych stężeniach. Na ich podstawie stwierdzono, że folie z dodatkiem glicerolu dużo lepiej pochłaniają i zatrzymują wodę z otoczenia. Fakt ten jest podyktowany znacznie wyższym powinowactwem glicerolu do wody, co wynika z izoterm sorpcji tego związku [Sztuka i Kołodziejka, 2008b; Dias i in., 2010]. Glicerol jako związek bardziej hydrofilowy dużo lepiej chłonie i wiąże wodę co potwierdzają otrzymane w niniejszych badaniach wyniki. Również Galus i Lenart [2011] potwierdzają silne właściwości adsorpcji pary wodnej przez powłoki białkowe z dodatkiem glicerolu. Mali i in. [2004] w swoich badaniach wykazali zwiększoną zawartość wody w foliach ze skrobi maniokowej plastyfikowanej glicerolem niż w tych, gdzie związkiem plastyfikującym był sorbitol.

Rozpuszczalność folii jadalnych to ważny parametr wpływający na jakość żywności w nich przechowywanej. Właściwość ta zależy w głównej mierze od obecności i rodzaju plastyfikatora w strukturze powłoki. Duże znaczenie ma tutaj powinowactwo substancji plastyfikującej do wody. Jeśli chodzi o rodzaj plastyfikatora to badania prowadzone przez Aguirre i in. [2013] wskazują, że znacznie wyższą rozpuszczalność wykazują powłoki plastyfikowane sorbitolem niż glicerolem. W badaniach własnych również można zauważyć tę zależność. Wyniki przeprowadzonych analiz przedstawiono na Rysunku 2.



Rys. 2. Rozpuszczalność folii skrobiowych z dodatkiem glicerolu lub sorbitolu w wodzie

Na podstawie wyników badań stwierdzono, że rozpuszczalność folii zawierającej sorbitol (41,20%) była o około 35% wyższa niż folii z dodatkiem glicerolu (26,62%). Większa podatność tego rodzaju folii na rozpuszczanie w wodzie wynika z obecności

środka plastyfikującego posiadającego aż 6 grup hydroksylowych. Tak duża ilość tych grup funkcyjnych skutkuje większą możliwością wytworzenia wiązań wodorowych z cząsteczkami wody, a co za tym idzie zwiększeniem rozpuszczalności takiej folii [Mali i in., 2004]. Obecność glicerolu w strukturze folii posiadającego trzy grupy funkcyjne i krótkie łańcuchy powoduje wytworzenie trwalszej i znacznie bardziej odpornej na działanie wody sieci [Dias i in., 2010], dlatego też rozpuszczalność takiej folii jest mniejsza.

Następnym etapem badań było pokrycie plastrów jabłek foliami oraz powłokami wytworzonymi na bazie skrobi i ocena jakości jabłek podczas ich przechowywania w tych rodzajach pokryć. W Tabeli 1 przedstawiono wyniki pomiaru ubytku masy plastrów jabłek podczas przechowywania w foliach skrobiowych z dodatkiem glicerolu lub sorbitolu jako plastyfikatora, a w Tabeli 2 w powłokach o tym samym składzie surowcowym.

Tabela 1. Ubytek masy jabłek podczas siedmiodniowego okresu przechowywania w foliach skrobiowych z dodatkiem glicerolu lub sorbitolu

Dzień przechowywania	Ubytek masy [%]			NIR _{α=0,05}
	Nazwa próbki			
	**K	FG	FS	
1	20,42 ^{a*}	17,58 ^a	17,70 ^a	2,94
2	36,26 ^a	32,38 ^a	31,93 ^a	4,51
3	45,38 ^a	41,39 ^a	39,77	5,01
6	69,25 _a	65,43 ^a	62,04	5,32
7	74,55	69,95	67,28	4,32
NIR _{α=0,05}	4,55	2,60	4,77	-

* Średnie w wierszach oznaczone tą samą literą nie różnią się istotnie statystycznie przy $\alpha=0,05$

** K - próbka kontrolna, FG – plastry jabłek owinięte w folie skrobiowe z dodatkiem glicerolu, FS - plastry jabłek owinięte w folie skrobiowe z dodatkiem sorbitolu

Tabela 2. Ubytek masy jabłek podczas siedmiodniowego okresu przechowywania w powłokach skrobiowych z dodatkiem glicerolu lub sorbitolu.

Dzień przechowywania	Ubytek masy [%]			NIR _{α=0,05}
	Nazwa próbki			
	K**	PG	PS	
1	20,42	15,41	17,46	2,44
2	36,26	31,39 ^a	34,63 ^a	3,56
3	45,38 ^{a*}	42,44 ^a	45,28 ^a	4,79
6	69,25 ^a	69,29 ^a	69,32 ^a	5,62
7	74,55 ^a	74,15 ^a	73,93 ^a	5,36
NIR _{α=0,05}	4,55	2,28	4,98	-

* Średnie w wierszach oznaczone tą samą literą nie różnią się istotnie statystycznie przy $\alpha=0,05$

** K - próbka kontrolna, PG – plastry jabłek zabezpieczane przez zanurzenie w powłoki skrobiowe z dodatkiem glicerolu, PS - plastry jabłek zabezpieczane przez zanurzenie w powłoki skrobiowe z dodatkiem sorbitolu

Folie jadalne stanowią warstwę izolującą produkt od otoczenia przez co powinny ograniczać parowanie wody z produktu, zmniejszając przez to zjawisko utraty masy [Geraldine i in., 2008; Lima i in., 2010]. Pokrycia jadalne w zależności od składu i sposobu wytwarzania mogą stanowić lepszą lub gorszą barierę dla pary wodnej. Hydrofilowe folie i powłoki skrobiowe stanowią zwykle dobrą barierę dla substancji niepolarnych, tj. tlenu, związków zapachowych i lipidów, mają jednak słabą odporność na działanie wody i pary wodnej [Sztuka i Kołodziejska, 2008a]. Na podstawie wyników badań zamieszczonych w Tabeli 1 i 2 stwierdzono, iż wpływ na zahamowanie ubytku masy plastrów jabłek miały jedynie folie skrobiowe na koniec okresu przechowywania, natomiast powłoki spełniały to zadanie jedynie po pierwszym dniu przechowywania próbek. Nie stwierdzono jednak istotnych statystycznie różnic pomiędzy stosowanym rodzajem plastyfikatora w foliach i powłokach w niemal całym okresie przechowywania.

W tabeli 3 zamieszczono wartości indeksu brunatnienia enzymatycznego próbek (obliczone na podstawie wartości L*, a* i b*) podczas przechowywania plastrów jabłek w badanych foliach i powłokach skrobiowych.

Tabela 3. Wartości indeksu brunatnienia enzymatycznego plastrów jabłek w trakcie przechowywania w badanych foliach i powłokach skrobiowych

Dzień przechowywania	Indeks brunatnienia enzymatycznego BI				
	Nazwa próbki				
	*K	FG	FS	PG	PS
1	39,07	40,55	43,87	28,28	31,93
3	44,90	63,18	53,47	46,56	59,06
7	58,66	73,69	103,52	79,59	77,12

*K - próbka kontrolna, FG – plastry jabłek owinięte w folie skrobiowe z dodatkiem glicerolu, FS - plastry jabłek owinięte w folie skrobiowe z dodatkiem sorbitolu, PG – plastry jabłek zabezpieczane przez zanurzanie w powłoki skrobiowe z dodatkiem glicerolu, PS - plastry jabłek zabezpieczane przez zanurzanie w powłoki skrobiowe z dodatkiem sorbitolu

Stwierdzono, iż próbka kontrolna (plastry jabłek nie poddane owijaniu lub powlekananiu) charakteryzowała się najniższym indeksem brunatnienia w trakcie przechowywania, w siódmym dniu uzyskują wartość BI = 58,66. Owinięcie plastrów w folie skrobiowe z dodatkiem glicerolu lub sorbitolu spowodowało wzrost wartości BI już od pierwszego dnia przechowywania próbek, przy czym w ostatnim dniu przechowywania plastry jabłek owinięte w FS osiągnęły najwyższą wartość BI spośród wszystkich badanych próbek. Zabezpieczenie surowca poprzez pięciokrotne zanurzanie w kleikach powłokotwórczych pozwoliło na obniżenie BI jedynie w pierwszym dniu przechowywania, jednakże po siedmiu dniach indeks brunatnienia badanych próbek był niemal taki sam, bez względu na rodzaj stosowanego plastyfikatora. Po siedmiu dniach przechowywania próbek w foliach skrobiowych na powierzchni plastrów jabłek zaobserwowano barwny nalot pleśni, co mogło wpłynąć na otrzymane wyniki parametrów barwy. Badania wymagają zatem rozszerzenia o właściwości mikrobiologiczne próbek podczas przechowywania w badanych foliach skrobiowych.

Wnioski

Na podstawie wyników badań stwierdzono, iż rodzaj plastyfikatora miał wpływ na właściwości folii. Zastosowanie glicerolu pozwoliło na otrzymanie grubszych folii, o wyższej zawartości wody niż tych z dodatkiem sorbitolu (odpowiednio 110 i 90 μm , 18,7 i 9,0 %). Folie skrobiowe zawierające w swoim składzie sorbitol wykazywały z kolei wyższą rozpuszczalność w wodzie w porównaniu do tych, które zawierały glicerol. Folie skrobiowe z udziałem sorbitolu i glicerolu zmniejszyły statystycznie istotnie ($\alpha=0,05$) ubytek masy plastrów jabłek na koniec okresu przechowywania, natomiast powłoki skrobiowe spełniały to zadanie jedynie w pierwszych dwóch dniach

przechowywania owoców. Na podstawie analizy składowych barwy stwierdzono, iż żadna z folii i powłok nie zahamowała zmian enzymatycznych zachodzących w jabłkach w trakcie przechowywania.

Literatura

1. Aguirre A., Borneo R., Leon A.E. Properties of triticale protein films and their relation to plasticizing-antiplasticizing effect of glycerol and sorbitol. *Industrial Crops and Products*, 2013, 50 (2013), 297-303.
2. Basiak E., Galus E., Lenart E. Filmy i powłoki skrobiowe do żywności. *Przemysł Spożywczy*, 2012, 66, 28-30.
3. Basiak E., Lenart A. Powłoki skrobiowe stosowane w opakowalnictwie żywności. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2013, 1(86), 21-31.
4. Buera M.P., Lozano R.D., Petriella C. Definition of colour in the nonenzymatic browning process. *Die Farbe*, 1985, 32-33, 318-322.
5. Cutter C.N. Opportunities for bio-based packaging technologies to improve the quality and safety of fresh and further processed muscle foods. *Meat Science*, 2006, 74, 131-142.
6. Cisneros-Zevallos L., Krochta J.M. Dependence of coating thickness on viscosity of coating solution applied to fruits and vegetables by dipping method. *Journal of Food Science*, 2003, 68 (2), 503-510.
7. Dias A.B., Müller C.M.O., Larotonda F.D.S., Laurindo J.B. Biodegradable films based on rice starch and rice flour. *Journal of Cereal Science*, 2010, 51, 213-219.
8. Embuscado M.E., Huber K.C. *Edible films and coatings for food applications*. Springer Science + Business Media. LLC, New York, USA 2009.
9. Galus S. Powłoki jadalne do minimalnie przetworzonych owoców i warzyw. *Przemysł Fermentacyjny i Owocowo-Warzywny*, 2012, 4, 28-29.
10. Galus S., Lenart A. Wpływ glicerolu na kinetykę adsorpcji pary wodnej przez powłoki serwatkowe. *Acta Agrophysica*, 2011, 18(1), 45-54.
11. Gennadios A., Hanna M.A., Kurth L.B. Application of edible coatings on meats, poultry and seafoods: a review. *LWT- Food Science and Technology*, 1997, 30, 337-350.
12. Geraldine R.M., Soares N.F.F., Botrel D.A., Goncalves L.A. Characterization and effect of edible coatings on minimally processed garlic quality. *Carbohydrate Polymers*, 2008, 72, 403-409.
13. Kokoszka S., Lenart A. Powłoki jadalne – tworzenie i zastosowanie. *Przemysł Spożywczy*, 2009, 63, 30-32
14. Lenart A., Kadzińska J. Przyszłość powłok jadalnych w przemyśle spożywczym cz. 1. Bezpieczeństwo i Higiena Żywności, 2012, 06/107, 62-65.

15. Lima A.M., Cerqueira M.A., Souza B.W.S., Santos E.C.M., Teixeira J.A., Moreira R.A., Vicente A.A. New edible coatings composed of galactomannans and collagen blends to improve the postharvest quality of fruits – Influence on fruits gas transfer rate. *Journal of Food Engineering*, 2010, 97, 101-109.
16. Mali S., Grossmann M.V.E., Garcia M.A., Martino M.N., Zaritzky N.E. Barrier, mechanical and optical properties of plasticized yam starch films. *Carbohydrate Polymers*, 2004, 56, 129-135.
17. Olivas G.I., Mattinson D.S., Barbosa-Cánovas G.V. Alginate coatings for preservation of minimally processed “Gala” apples. *Postharvest Biology and Technology*, 2007, 45, 89-96.
18. Pająk P. Polimery naturalne w produkcji biodegradowalnych opakowań. *Laboratorium*, 2011, 5-6, 51-54.
19. Pająk P., Fortuna T., Przetaczek-Rożnowska I. Opakowania jadalne na bazie białek i polisacharydów – charakterystyka i zastosowanie. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2013, 2 (87), 5-18.
20. Ryu S.Y., Kim S.S., Rhim J.W., Roh H.J. Preparation and physical properties of zein - coated high - amylose corn starch film. *LWT– Food Science and Technology*, 2012, 35, 680-686.
21. Skurtys O., Acevedo A., Pedreschi F., Enrione J., Osorio F., Aguilera J.M. *Food hydrocolloid edible films and coatings*. Nova Science Publishers Inc. New York, USA 2010.
22. Sztuka K., Kołodziejska I. Jadalne folie oraz powłoki powierzchniowe z polimerów naturalnych stosowane do opakowań żywności, cz. I. Właściwości. *Polimery*, 2008a, 53(9), 625-706.
23. Sztuka K., Kołodziejska I. Jadalne folie oraz powłoki powierzchniowe z polimerów naturalnych stosowane do opakowań żywności. Cz. II. Modyfikacje. *Polimery*, 2008b, 53(10), 725-729.

EKSTRAKTY ZIOŁOWE W ASPEKTCIE ZAWARTOŚCI ZWIĄZKÓW POLIFENOLOWYCH I AKTYWNOŚCI PRZECIWUTLENIAJĄCEJ

Streszczenie

Ekstrakty z roślin leczniczych są często składnikami codziennej diety i wciąż stosowane są zarówno w przemyśle farmaceutycznym jak i spożywczym. Stale rosnące zainteresowanie tymi preparatami wynika z ich korzystnego oddziaływania na organizm. Celem pracy było dokonanie przeglądu metod oznaczania związków polifenolowych w ekstraktach ziołowych z uwzględnieniem wpływu ekstrahenta na oznaczenie aktywności przeciwutleniającej, która może być konsekwencją zawartych w próbce polifenoli.

Wprowadzenie

Dietetycy zalecają spożywanie produktów zawierających przeciwutleniacze, z których najbardziej znane są związki polifenolowe, flawonoidy, tokoferole (witamina E), kwas askorbinowy (witamina C), karotenoidy (prowitamina A) [Kiewlicz i in., 2013; Gawlik-Dziki, 2004]. Ich źródłem mogą być m.in. zioła i przyprawy, które od czasów prehistorycznych były stosowane zarówno jako preparaty lecznicze, jak też poprawiające właściwości odżywcze potraw. Stosowane są w celu zwiększenia odporności, jak również jako leki działające przeciwzapalnie, przeciwnowotworowo, przeciwdepresyjnie. Zalecane są między innymi w chorobach serca, infekcji układu moczowego, problemach trawiennych i wielu innych dolegliwościach [Shahidi, 2006].

Wyciągi roślin zielarskich i przyprawowych są produktami bogatymi w unikalne, bioaktywne składniki oraz naturalne przeciwutleniacze. Związki o działaniu przeciwutleniającym można podzielić na dwie grupy: pochodzenia naturalnego i otrzymywane syntetycznie. Przeciwutleniacze syntetyczne, takie jak butylowany hydroksyanizol (BHA), butylowany hydroksytoluen (BHT) i galusan propylu (PG) są dodawane do żywności, chociaż ich wpływ na zdrowie może być niekorzystny [Gallego i in., 2013]. Mogą wywoływać między innymi alergię, zaburzenia endokrynologiczne, mogą sprzyjać powstawaniu nowotworów. Stosowanie BHT w środkach spożywczych w Polsce jest zabronione [Kisala, 2009]. Naturalne przeciwutleniacze są bezpieczne. Wykazują właściwości przeciwutleniające ze względu na zawartość niektórych witamin, flawonoidów, terpenoidów, karotenoidów

i fitoestrogenów [Gallego i in., 2013]. Cenne dla organizmu polifenole znane są z właściwości przeciwutleniających i przeciwrodnikowych związanych głównie z właściwościami redoks tych związków. Mechanizm takiego działania może polegać na a) oddawaniu elektronu lub wodoru przez reduktory, b) stabilizowaniu lub delokalizowaniu wolnego elektronu przez związki wiążące wolne rodniki, c) chelatowaniu jonów metali katalizujących reakcje utleniania enzymów, d) inhibowaniu oksydaz, e) przerywaniu łańcuchowych reakcji rodnikowych, f) uwodorowaniu lub kompleksowaniu wolnych rodników [Gortat, 2013; Grajek 2007; Gawlik-Dziki, 2004]. W żywym organizmie w warunkach fizjologicznych występuje równowaga oksydacyjna między ilością wyprodukowanych wolnych rodników a ilością ich inhibitorów (przeciwutleniaczy), tak więc wolne rodniki nie gromadzą się w tkankach. W stanach patologicznych, na skutek zaburzenia równowagi w organizmie, mogą one prowadzić do degeneracji komórek w wyniku stresu oksydacyjnego. Wolne rodniki mogą reagować z cząsteczkami białek, sacharydów i lipidów powodując ich utlenianie, a w konsekwencji niszczenie struktur komórkowych w organizmie [Sielicka i in., 2010].

Metody oznaczania aktywności przeciwutleniającej

Zdolność przeciwutleniaczy do dezaktywacji wolnych rodników wykorzystywana jest w analizie aktywności przeciwutleniającej. Reakcje te mogą przebiegać według dwóch mechanizmów: przeniesienia atomu wodoru, tzw. HAT (ang. *Hydrogen Atom Transfer*) lub mechanizmu przeniesienia pojedynczego elektronu, tzw. SET (ang. *Single Elektron Transfer*). Szczegółowy opis metod stosowanych w badaniach aktywności przeciwutleniających wyciągów roślinnych przedstawili Cybul i Nowak [2008]. Jedną z najczęściej stosowanych metod wykorzystujących mechanizm przeniesienia elektronu z przeciwutleniacza na utleniacz określa właściwości przeciwutleniające za pomocą % wygaszonego rodnika DPPH (2,2-difenylo-1-pikrylohydrazyl) lub parametru EC₅₀ (ang. *Efficient Concentration*) określającego stężenie przeciwutleniacza, przy którym stężenie DPPH spada o 50%. W kolejnej metodzie używany jest kationorodnik ABTS [2,2'-azobis(3-etylobenzotiazolino-6-sulfonian)], a zawartość przeciwutleniaczy wyrażana jest jako ilość równoważników Troloksu na jednostkę masy próbki (TEAC). Do analizy aktywności przeciwutleniającej wykorzystywany jest również odczynnik Folina-Ciocalteu, za pomocą którego oznaczana jest całkowita zawartość polifenoli TPC (ang. *Total Phenolic Content*), którą przedstawia się w przeliczeniu na kwas galusowy (GA). Aktywność przeciwutleniającą można również oznaczać metodą FRAP określającą zdolność redukcjonowania jonów żelaza (ang. *Ferric Reducing Antioxidant Parameter*). Powyższe metody wykorzystują barwne reakcje, a zmiany absorbancji mierzone są spektrofotometrycznie w zakresie widzialnym. Do metod wykorzystujących mechanizm HAT należą ORAC (ang. *Oxygen Radical Absorbance Capacity*)

pozwalająca oznaczyć zdolność absorpcji rodników tlenowych i TRAP (ang. *Total Radical Trapping Antyoxidant Parameter*) określająca całkowitą zdolność wychwytywania wolnych rodników (w obu metodach mierzy się spadek fluorescencji). W celu określania aktywności przeciwutleniającej stosuje się również metodę oznaczenia zdolności inhibicji utleniania kwasu linolowego wykonując pomiary w zakresie UV.

Wpływ ekstrahenta na oznaczanie aktywności przeciwutleniającej

Związki o właściwościach przeciwutleniających są labilne, a w świeżym surowcu są łatwo utleniane przez endogenne enzymy. Aby zminimalizować straty związków biologicznie czynnych obróbka surowca powinna być prowadzona w odpowiednich warunkach. Niezbędnym procesem poprzedzającym właściwą analizę jest ekstrakcja. Nie ma jednoznacznej opinii, co do najskuteczniejszego ekstrahenta, jednak najczęściej używa się acetonu, metanolu/etanolu i wody, bądź roztworów wodno-alkoholowych. Cai i in. [2004] porównali metanolowe i wodne ekstrakty 112 ziół leczniczych w aspekcie ich zdolności przeciwutleniającej oznaczanej metodami ABTS i TPC. Chociaż średnie wartości otrzymane dla wszystkich badanych ziół były niższe w przypadku wodnych ekstraktów, to wodne ekstrakty 41 ziół wykazywały wyższe wartości TEAC a 29 ziołowych przypraw TPC niż odpowiednie ekstrakty metanolowe.

Iqbal i in. [2012] oznaczali potencjał przeciwutleniający ekstraktów liści piołunu (*Artemisia annua L.*) stosując pięć rozpuszczalników o różnej polarności: heksan, chloroform, octan etylu, metanol i wodę. Ekstrakty metanolowe wykazywały największą aktywność przeciwutleniającą określoną metodami TPC, TEAC i DPPH, zatem metanol jest najlepszym ekstrahentem. Danila i in. [2011] porównywali wodne i etanolowe ekstrakty następujących ziół: *Calendula officinalis*, *Hypericum perforatum*, *Galium verum*, *Origanum vulgare* i stwierdzili, że alkoholowe ekstrakty zawierały więcej kwasów fenolowych i flawonoidów. Większość związków fenolowych charakteryzuje się dużą polarnością, zatem polarne rozpuszczalniki ekstrahują je w większym stopniu. Skuteczność ekstrahentów przy oznaczaniu TPC maleje w szeregu: metanol>woda>octan etylu>chloroform>heksan [Iqbal i in., 2012]. Z drugiej strony stwierdzono, że rozpuszczalniki polarne, mają większy wpływ na metody, które polegają na przeniesieniu atomu wodoru (np. ORAC), niż na te związane z przeniesieniem elektronów, np. FRAP.

Çelik i in. [2010] badali wpływ rozpuszczalnika na hydrofilowe i lipofilowe przeciwutleniacze. Różne zachowanie polifenoli wynika z rodzaju rozpuszczalnika i jego polarności, rozpuszczalności, mechanizmu reakcji i struktury .

Sposoby przygotowywania ekstraktów

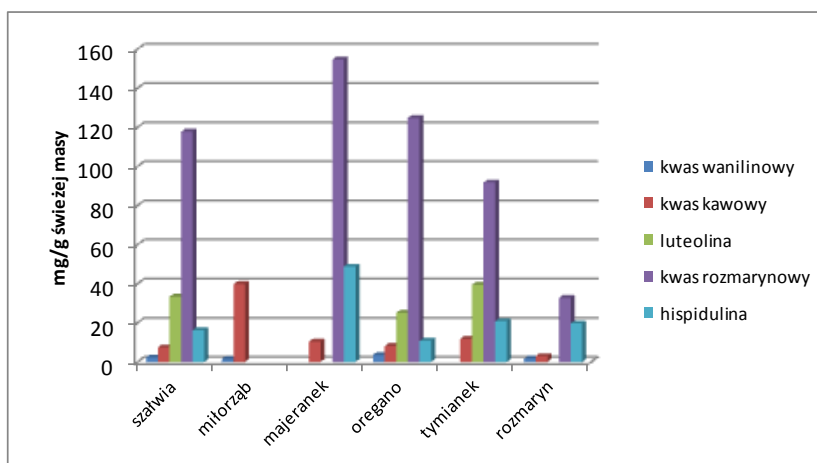
Najważniejszym etapem w każdej procedurze analitycznej jest przygotowanie próbki. Ogólny schemat kompletnej procedury analitycznej od przygotowania próbki roślinnej do analizy wyników pomiarów przedstawili Hurtado-Fernandez i in. [2010]. W literaturze opisane są różne metody przygotowania ekstraktów w zależności od rodzaju ziola i wykonywanej analizy.

Ekstrakty do identyfikacji i ilościowego oznaczania polifenoli

W celu ułatwienia identyfikacji występujących w materiale roślinnym związków przeciwutleniających, które zwykle występują w formie glikozydów, stosowana jest hydroliza kwasowa, zasadowa lub enzymatyczna [Cybul i Nowak, 2008; Hinneburg i in., 2006]. Aby przerwać wiązania glikozydowe Cai i wsp. [2004] metanolowe ekstrakty ziół poddawali hydrolizie kwasowej (2 M HCl). Metodą HPLC zidentyfikowano główne składniki ziół: kwasy fenolowe, flawonoidy, garbniki, kumaryny, lignany, chinony stylbeny, kurkuminoidy.

Wojdyło i in. [2007] metodą HPLC określili skład ilościowy 32 ziół. Próbki świeżych roślin myto, liofilizowano i mielono. Do wysuszonego materiału roślinnego dodawano mieszaninę enzymów (β -glukozydaza, β -ksylozydaza, β -galaktozydaza, β -hesperidinaza i sulfataza typu H-2) i NaHSO_3 (aby zapobiec stratom ze względu na utlenianie związków fenolowych). Badane próbki poddawano hydrolizie w łaźni wodnej (1h, 37°C). Po ochłodzeniu utrzymywano próbki przez 24 h w 20°C. Następnie dodawano 2 ml metanolu i na 10 min wstawiano do łaźni ultradźwiękowej. Po odwirowaniu klarowny roztwór z nad osadu analizowano (kolumna RP-18).

Zheng i Wang [2001] badali 39 różnych ziół prowadząc dwukrotną ekstrakcję próbki (2 g) acetonem (po 15 ml). Po homogenizacji i odwirowaniu pozostałość przemywano dwukrotnie rozpuszczalnikiem. Połączone ekstrakty odparowywano do sucha pod zmniejszonym ciśnieniem. Suchą pozostałość rozpuszczano w 4 ml metanolu i analizowano metodą HPLC. Wyniki analizy przedstawiono na rys. 1.



Rys. 1 Zawartość polifenoli [mg/100 g świeżej masy] w następujących ziołach: szalwii (*Salvia officinalis*), miorzab (*Ginkgo Biloba*), majeranek (*Origanum majoricum*), oregano (*Poliomintha longiflora*), tymianek (*Thymus vulgaris*), rozmaryn (*Rosmarinus Officinalis*) [Zheng i Wang, 2001]

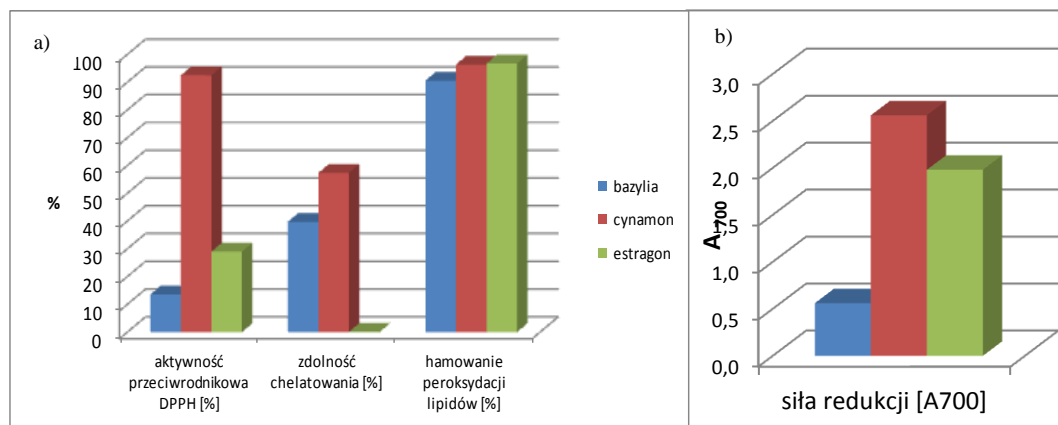
Danila i in. [2011] wysuszony materiał roślinny (5 mg) dodawali do 50 ml wody i 30%, 50% i 70% etanolu, roztwory przechowywano przez 7 dni w 4°C, w ciemności wytrząsając raz na dobę. Następnie próbki sączone i rozcieńczano do 50 ml. Do czasu analizy przechowywano je w temperaturze 4°C. Metodą HPLC zidentyfikowano i ilościowo oznaczono kwas chlorogenowy, kawowy, ferulowy i kumarowy oraz rutynę, kwas rozmarynowy, luteolinę, kwercetol, apigeninę i kempferol.

HPLC jest najchętniej stosowaną metodą oznaczania polifenoli, jednak Hurtado-Fernandez i in. [2010] w obszernej pracy przeglądowej podają przykłady zastosowania elektroforezy kapilarnej do oznaczania tych związków. Prezentują sposoby ekstrakcji oraz optymalne parametry stosowane do wydzielenia, rozdzielenia i końcowego oznaczenia polifenoli w roślinnej matrycy.

Ekstrakty do badania właściwości przeciwutleniających

Złotek i Gawlik-Dziki [2007] określiły aktywność przeciwutleniającą metanolowych ekstraktów cynamonu, estragonu i bazylii. Próbki (1g) ekstrahowano wrzącym metanolem (100 ml). Następnie 50 ml ekstraktu zakwaszono HCl do pH 2 i inkubowano w 37°C przez 1 h wytrząsając (bez dostępu światła i tlenu). Następnie zobojętniano 0,1M NaOH do pH 7 i dalej inkubowano przez 2 h. Oznaczono aktywność przeciwrodnikową z zastosowaniem trwałego wolnego rodnika DPPH, zdolność chelatowania metali, zdolność do hamowania autooksydacji kwasu linolowego (rys. 2a) oraz siłę redukcji (rys. 2b). Ekstrakt cynamonu wykazywał największą zdolność

do neutralizacji wolnych rodników, zdolność chelatowania i siłę redukcji. Wszystkie ekstrakty znacznie hamowały peroksydację lipidów.



Rys. 2 Aktywność przeciwutleniająca metanolowych ekstraktów bazylii (*Ocimum basilicum*), cynamonu (*Cinnamomum verum*) i estragonu (*Artemisia dranunculus*) [Złotek i Gawlik-Dziki, 2007]

Aktywność przeciwutleniającą metanolowych ekstraktów cynamonu (*Cinnamomum verum*) oznaczali Mathew i Abraham [2006]. Próbkę (4g) po liofilizacji i zmieleniu ekstrahowano przez 5 h metanolem (28°C) - ekstrakcję powtarzano aż do uzyskania bezbarwnego rozpuszczalnika. Ekstrakty zateżano w próżni w 50°C w wyparce obrotowej i ponownie rozpuszczano w metanolu. Przechowywano w temperaturze 0-4°C. Ekstrakty badano pod kątem skuteczności wychwytywania wolnych rodników (DPPH i ABTS), zdolności redukującej oraz skuteczności chelatowania jonów metali w porównaniu z BHA, troloksenem i kwasem askorbinowym.

Shan i in. [2005] analizowali aktywność przeciwutleniającą ekstraktów przypraw ziołowych. Próbkę świeżych roślin po liofilizacji zmielono i przepuszczano przez sito. Następnie suszono przez 24 h w wentylowanej suszarce w 40°C, ekstrahowano 80% metanolem w temperaturze ~23°C przez 24 h. Ekstrakt sączono pod zmniejszonym ciśnieniem. Przed badaniem przesącz przechowywano w ciągu 24h w 4°C. Po rozcieńczeniu 80% etanolem oznaczano w przesączu pojemność przeciwutleniającą metodą ABTS i TPC.

Wojdyło i in. [2007] przygotowywali próbki 32 roślin przyprawowych dodając do suchego materiału roślinnego 80% metanol i przez 15 minut poddawano próbki działaniu ultradźwięków. Przez 24 h utrzymywano w temperaturze pokojowej (~ 20°C), następnie odwirowywano, a roztwór z osadu przechowywano przed użyciem w temp. 4°C przez 24 h. Aktywność przeciwutleniającą metanolowych ekstraktów oznaczano metodami TPC, FRAP, DPPH i ABTS.

Kiewlicz i in. [2013] badali handlowe wyciągi wodno-alkoholowe ziela bylicy piołun (*Artemisia absinthium L.*), nostrzyka żółtego (*Melilotus officinalis L.*), rdestu ptasiego (*Polygonum aviculare L.*) i owoców rokitnika zwyczajnego (*Hippophae rhamnoides L.*) oznaczając zdolność do wygaszania rodnika DPPH. Stwierdzono, że aktywność przeciwrodnikowa wyciągów ziołowych maleje w szeregu: ziele rdestu ptasiego>ziele bylicy piołun>ziele nostrzyka żółtego>owoce rokitnika zwyczajnego.

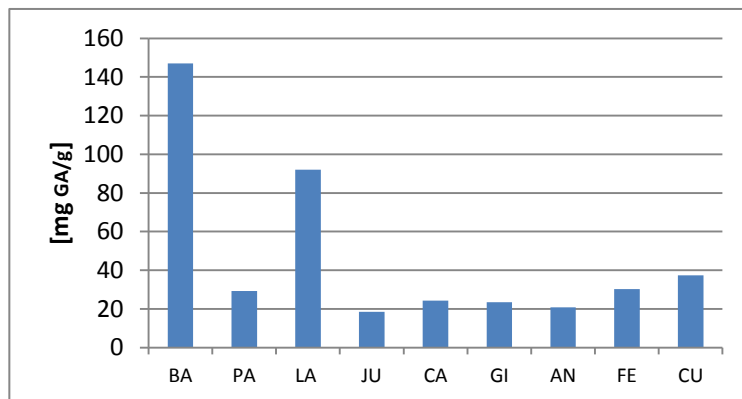
Ponieważ zioła stosowane w diecie przygotowywane są w formie raczej wodnych niż organicznych wyciągów Zheng i Wang [2001] badali wodne ekstrakty, które przechowywano przed analizą w temp. -80°C . Próbkę ziół (2g) ekstrahowano za pomocą 15 ml buforu fosforanowego w homogenizatorze przez 1 min, następnie odwirowywano. W roztworze znajd osadu, po odpowiednim rozcieńczeniu buforem fosforanowym (pH 7,0), oznaczano aktywność przeciwutleniającą metodą ORAC i TPC.

Guo i in. [2008] określili właściwości przeciwutleniające 16 chińskich przypraw. Próbkę ziół liofilizowano przez 24-48 h i mielono na drobny proszek, po czym ekstrahowano wrzącą ultra czystą wodą przez 2,5 h (200 ml wody na 10 g proszku). Po ochłodzeniu ekstrakt odwirowywano, roztwór odparowano pod zmniejszonym ciśnieniem (24-48 h). Suchą pozostałość przechowywano w -20°C . Przed użyciem rozpuszczano w wodzie, metanolu lub etanolu w zależności od stosowanej metody.

Gawlik-Dziki [2012] oznaczała aktywność przeciwutleniającą wodnych ekstraktów tymianku (*Thymus vulgaris L.*), rozmarynu (*Rosemarinus officinalis L.*), oregano (*Origanum vulgare L.*), czarnego i białego pieprzu (*Piper nigrum L.*), estragonu (*Artemisia dracuncululus L.*), bazylii (*Ocimum basilicum L.*) i cynamonu (*Cinamomum sp.*) oraz ich wpływ na aktywność peroksydazy i niektórych prooksydacyjnych enzymów. Suche przyprawy sproszkowano i poddano obróbce termicznej przez gotowanie w ciągu 15 min. (symulowanie procesu gotowania). Po odwirowaniu roztwór znajd osadu przechowywano przez 24 h w 4°C , następnie poddawano analizie.

Hinneburg i in. [2006] zalewali materiał roślinny ultra czystą wodą i przez 2 h prowadzili ekstrakcję w specjalnym urządzeniu. Po dodaniu nowej porcji wody powtórnie ekstrahowano w ciągu 1h. Połączone ekstrakty wodne przesączono, odparowano pod zmniejszonym ciśnieniem (45°C), liofilizowano i przechowywano w 4°C . Przed użyciem ekstrakty rozpuszczano w wodzie. Całkowitą zawartość polifenoli TPC określano w przeliczeniu na kwas galusowy (GA). Otrzymane wyniki przedstawiono na rys. 3. Hinneburg i in. [2006] określili też między innymi: % wygaszenia rodnika DPPH, zdolność ekstraktów do redukcji jonów Fe(III) oraz stopień inhibicji kwasu linolowego katalizowanego hemoglobina. W celu określenia stopnia zahamowania utleniania kwasu linolowego 10 μl próbki dodawano do 0,37 ml 0,05 M buforu fosforanowego (pH 7,0),

zawierającego 0,14% 20 i 4 mM kwasu linolowego i pozostawiono w 37°C na 3 min. Następnie dodano 20µl 0,035% wodnego roztworu hemoglobiny, inkubowano przez następne 10 minut i na koniec dodawano 5 ml 0,6% HCl w etanolu.



Rys. 3. Całkowita zawartość związków polifenolowych w ziołach: BA - bazylia (*Ocimum basilicum*); PA – pietruszka (*Petroselinum crispum*); LA – liść laurowy (*Laurum nobilis*); JU – jałowiec (*Juniperus communis*); CA –kardamon (*Elettaria cardamomum*); GI – imbir (*Zingiber officinalis*); AN – anyżek (*Pimpinella anisum*); FE – koper (*Foeniculum vulgare*); CU – kminek (*Carum carvi*) [Hinneburg i wsp. 2006]

Cai i in. [2004] opisali sposób przygotowania ekstraktów z 112 chińskich ziół leczniczych. W tym celu zmielone i przepuszczone przez sito próbki suszono do stałej masy w ~23°C. Ekstrakty wodne sporządzano zalewając próbki (5 g) 100 ml ultra-czystej wody i przez 20 minut wytrząsano w łaźni wodnej w 80°C. Po ochłodzeniu ekstrakt wirowano przez 10 minut i sączono pod próżnią w 23°C. Przesącz przechowywano przed użyciem w 4°C w ciągu 24 h. W celu przygotowania ekstraktów metanolowych próbkę (5g) ekstrahowano za pomocą 100 ml 80% metanolu w 35°C przez 24 h wytrząsając w łaźni wodnej. Dalsze postępowanie było analogiczne do ekstraktów wodnych.

Podsumowanie

Rezultaty badań wskazują, że zdolność przeciwutleniająca danego gatunku rośliny może być konsekwencją zawartych w niej składników fenolowych. Badając ekstrakty 26 przypraw Shan i in. [2005] znaleźli liniową korelację pomiędzy aktywnością przeciwutleniającą a całkowitą zawartością polifenoli ($R^2=0,9613$). Cai i in. [2004] przebadali aż 112 ziół leczniczych i dla wszystkich otrzymano $R^2=0,964$ i $0,953$, odpowiednio dla ekstraktów metanolowych i wodnych, co wyraźnie potwierdza, że obecność związków polifenolowych decyduje o właściwościach przeciwutleniających preparatów ziołowych. Im więcej polifenoli, tym większa jest aktywność przeciwutleniająca. Gawlik-Dziki [2012] nie uzyskała tak jednoznacznych wyników.

Rozbieżności tłumaczy tym, że a) całkowita zawartość fenolu nie obejmuje takich związków jak kwas askorbinowy, karotenoidy i α -tokoferolu, b) kwas askorbinowy bardzo przyczynia się do zawyżenia wszystkich związków fenolowych (TPC), c) może być wzajemne oddziaływanie mieszaniny przeciwutleniaczy oraz d) różne stosowane metody o różnych mechanizmach mogą prowadzić do rozbieżnych obserwacji.

Niektórzy autorzy podjęli się porównania polifenoli z witaminami A, E i C oraz z syntetycznymi przeciwutleniaczami takimi, jak BHT (E321) i BHA (E 320) pod kątem ich właściwości przeciwutleniających. Aktywność przeciwutleniająca polifenoli jest silniejsza niż witamin A, E i C, charakteryzują się one również większą stabilnością niż witamina C [Wójcik-Stopczyńska i Jakowienko, 2010]. Skovyrá i in. [2014] badając właściwości przeciwutleniające (ABTS, FRAP, ORAC) ekstraktów piołunu (*Artemisia annua*) stwierdzili, że są one tak samo efektywne jak BHA więc mogą zastąpić syntetyczne dodatki do żywności.

Projekt został sfinansowany ze środków Narodowego Centrum Nauki przyznanych na podstawie decyzji numer DEC-2011/01/B/NZ9/06830

Literatura

1. Cai Y., Luo Q., Sun M., Carke H. Antioxidant activity and phenolic compounds of 112 traditional Chinese medicinal plants associated with anticancer. *Life Sciences*, 2004, 74, 2157-2184.
2. Çelik S.E., Özyürek M., Güçlü K., Apak R. Solvent effects on the antioxidant capacity of lipophilic and hydrophilic antioxidants measured by CUPRAC, ABTS/persulphate and FRAP methods. *Talanta*, 2010, 81, 1300-1309.
3. Cybul M., Nowak R. Przegląd metod stosowanych w analizie właściwości antyoksydacyjnych wyciągów roślinnych. *Herba Polonica*, 2008, 54(1), 69-78.
4. Danila A.O., Gatea F., Radu G.L. Polyphenol composition and antioxidant activity of selected medicinal herbs. *Chemistry of Natural Compounds*, 2011, 47(1), 22-25.
5. Gallego M.G., Gordon M.H., Segovia F.J., Skovyrá M., Almajano M.P. Antioxidant properties of three aromatic herbs (rosemary, thyme and lavender) In oil-in-water emulsions. *Journal of American Oil Chemists Society*, 2013, 90, 1559-1568.
6. Gawlik-Dziki U. Fenolokwasy jako bioaktywne składniki żywności. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2004, 4(41), 29-40.
7. Gawlik-Dziki U. Dietary spices as a natural effectors of lipoxygenase, xanthine oxidase, peroxidase and antioxidant agents. *LWT - Food Science and Technology*, 2012, 47, 138-146.

8. Guo D.J., Cheng H.L., Chan S.W., Yu P.H.F. Antioxidative activities and total phenolic contents of tonic Chinese medicinal herbs. *Inflammopharmacology*, 2008, 16, 201-207.
9. Gortat M. Jesienne warzywa i ich właściwości prozdrowotne. *Nauki Przyrodnicze*, 2013, 1, 3-11.
10. Grajek W. (red.). *Przeciwutleniacze w żywności, aspekty zdrowotne, technologiczne, molekularne i analityczne*. WNT, Warszawa 2007.
11. Hinneburg I., Damien Dorman H. J., Hiltunen R. Antioxidant activities of extracts from selected culinary herbs and spices. *Food Chemistry*, 2006, 97, 122-129.
12. Hurtado-Fernandez E., Gomez-Romero M., Carrasco-Pancorbo A. Application and potential of capillary electroseparation methods to determine antioxidant phenolic compounds from plant food material. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2010, 53, 1130-1160.
13. Iqbal S., Younas U., Chan K.W., Zia-Ul-Haq M., Ismail M. Chemical Composition of *Artemisia annua* L. Leaves and Antioxidant Potential of Extracts as a Function of Extraction Solvents. *Molecules* 2012, 17, 60-6032.
14. Kiewlicz J., Malinowska P., Szymusiak H. Aktywność przeciwrodnikowa wybranych wyciągów ziołowych. *Problemy Higieny i Epidemiologii*, 2013, 94(2), 317-320.
15. Kisała J. Antyutleniacze pochodzenia roślinnego i syntetycznego – ich rola i właściwości. *Zeszyty Naukowe. Południowo-Wschodni Oddział Polskiego Towarzystwa Inżynierii Ekologicznej z siedzibą w Rzeszowie, Polskie Towarzystwo Gleboznawcze, Oddział w Rzeszowie*, 2009, 11, 109-114.
16. Mathew S., Abraham T.E. Studies on the antioxidant activities of cinnamon (*Cinnamomum verum*) bark extracts, through various in vitro models. *Food Chemistry*, 2006, 94, 520-528.
17. Shahidi F., Naczk M. *Phenolic in herbal and nutraceuticals*, CRC Press 2006.
18. Shan B., Cai Y. Z., Sun M. Corke H. Antioxidant capacity of 26 spice extracts and characterization of their phenolic constituents. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2005, 53(20), 7749-7759.
19. Sielicka M., Pacholek B., Zagórska A. Właściwości przeciwutleniające wybranych herbatek będących suplementami diety. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2010, 5(72), 112-122.
20. Skowrya M, Gallego M.G., Segovia F., Almajano M.P. Antioxidant properties of *Artemisia annua* extracts in model food emulsions. *Antioxidants*, 2014, 3, 116-128.
21. Wojdyło A. Oszmiański J., Czemerys R. Antioxidant activity and phenolic compounds in 32 selected herbs. *Food Chemistry* 2007, 105, 940-949.

22. Wójcik-Stopczyńska B., Jakowienko P. Bazylija pospolita – naturalna bariera antyoksydacyjna, *Panacea*, 2010, 4(33), 20-23.
23. Zheng W., Wang S.Y. Antioxidant activity and phenolic compounds in selected herbs. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2001, 49 5165-5170.
24. Złotek U., Gawlik-Dziki U. Wpływ kwaśnej hydrolizy na właściwości przeciwutleniające alkoholowych ekstraktów wybranych przypraw. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2007, 5(54), 329-336.

OCENA WPŁYWU WYBRANYCH KATIONÓW METALI NA AKTYWNOŚĆ PRZECIWRODNIKOWĄ ETANOLOWYCH I WODNYCH EKSTRAKTÓW TYMIANKU I OREGANO

Streszczenie

Celem pracy było określenie wpływu kationów cynku, glinu, wapnia i magnezu na aktywność przeciwutleniającą etanolowych i wodnych ekstraktów (naparów) w zależności od ich stężenia. Materiałem badawczym były wysuszone i rozdrobnione przyprawy: tymianek i oregano pochodzące z ekologicznej uprawy firmy „Dary natury” w Korycinach. Aktywność przeciwutleniającą oznaczono metodą spektrofotometryczną jako zdolność do redukcji stabilnego rodnika DPPH, a zawartość suchej masy metodą suszarkową. Zarejestrowano również widma w zakresie widzialnym ekstraktów wodnych i etanolowych tymianku i oregano oraz ich mieszanin z solami metali. Dodatek kationów metali wpływał na obniżenie absorpcji etanolowego ekstraktu tymianku i podwyższenie absorpcji ekstraktu oregano przy λ_{\max} . Dodatek soli Al^{3+} i Mg^{2+} powodował przesunięcie maksimum absorpcji ekstraktów z tymianku. Ekstrakty (napary) wodne nie wykazywały maksimum absorpcji w zakresie widzialnym. Jak wynika z przeprowadzonych badań obecność analizowanych soli w próbach w różny sposób wpływa na ich aktywność antyutleniającą, która zależy zarówno od zawartości ekstraktów w próbach, od rodzaju rozpuszczalnika, jak i od stężenia dodawanych soli metalu. Stwierdzono, że kationy glinu zwiększają aktywność antyutleniającą wszystkich badanych ekstraktów. Zmiany te są tym większe im większy jest stosunek stężenia dodawanej soli glinu do stężenia ekstraktu. Natomiast obecność kationów cynku powoduje obniżenie aktywności antyrodnikowej badanych ekstraktów. Sole wapnia i magnezu w mniejszym stopniu mają wpływ na zmianę tej aktywności.

Słowa kluczowe: aktywność przeciwutleniająca, ekstrakty tymianku i oregano, DPPH

Wprowadzenie

Żywność pochodzenia roślinnego stanowi bogate źródło związków bioaktywnych, w tym kwasów fenolowych i polifenoli o specyficznym działaniu na procesy fizjologiczne. Zioła i rośliny przyprawowe mają długą historię stosowania jako ważne składniki żywności, które mogą zapobiegać jej psuciu oraz hamować wzrost patogenów w niej obecnych. Dodawane do posiłków nie tylko zwiększają ich

atrakcyjność sensoryczną, ale wpływają też na prozdrowotne właściwości pożywienia [Złotek, 2007]. Są one również stosowane w medycynie, farmaceutyce, przemyśle spożywczym (barwniki, aromaty), w przemyśle kosmetycznym [Wojdyło, 2007]. Przyprawy roślinne dzięki zawartym w nich składnikom, w tym polifenolom, wykazują właściwości przeciwutleniające polegające na zdolności neutralizowania wolnych rodników, dzięki czemu mogą przeciwdziałać chorobom cywilizacyjnym. Procesy utleniania wywołane działaniem wolnych rodników powodują w organizmach powstawanie stanów zapalnych, będących przyczyną różnych chorób cywilizacyjnych. Najczęściej rośliny przyprawowe są stosowane jako dodatki do żywności w stanie świeżym lub wysuszonym, ale mogą być również użyte w formie ekstraktów. Do cenionych roślin przyprawowych należą tymianek i oregano między innymi ze względu na ich właściwości przeciwutleniające. Liczne badania potwierdziły obecność w ziele tymianka kwasów fenolowych tj.: ferulowego, galusowego, gentyzynowego, kawowego, p-kumarowego, syringowego, [Piekut, 2013], neochlorogenowego [Wojdyło, 2007], a także flawonoidów: apigeniny i luteoliny [Justesen, 2001]. W oregano stwierdzono obecność kwasu kawowego, kumarowego, rozmarynowego, protokatechinowego, a także flawonoidów: kwercetyny [Sung-Sook 2005], apigeniny i luteoliny [Justesen, 2001].

Kationy metali pełnią bardzo istotną rolę w różnych systemach biologicznych. Wpływają na właściwości terapeutyczne niektórych związków stosowanych jako leki [Prashanth, 2012]. Mogą powodować zmiany we właściwościach antyutleniających i przeciwbakteryjnych niektórych ekstraktów roślinnych oraz związków w nich zawartych. Badania eksperymentalne dowodzą, że chelatowane jonami metali (Fe^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+}) flawonoidy są bardziej skuteczne w „zmiataniu wolnych rodników” niż same flawonoidy [Kostyuk, 2001; Grazula, 2009]. Badania prowadzone przez Moridaniego [2003], wykazały, że kompleksy flawonoidów z jonami metali w stosunku 2:1 zmiatają rodniki $\text{O}_2^{\cdot -}$ efektywniej w porównaniu z wolnymi flawonoidami.

W pracy przedstawiono wyniki badań wpływu Al^{3+} , Mg^{2+} , Ca^{2+} oraz Zn^{2+} na aktywność przeciwutleniającą i zawartość związków fenolowych ekstraktów tymianku i oregano.

Material i metody badań

Materiałem badawczym były suszone przyprawy: tymianek (*Thymus vulgaris*) i oregano (*Origanum vulgare*) dostępne na rynku i pochodzące z ekologicznej uprawy firmy „Dary natury”. Napary wodne otrzymano poprzez zalanie naważki ziół w ilości 1 g wrzącą wodą redestylowaną (10 ml) i utrzymywanie roztworu w stanie wrzenia około 15 minut. Po ochłodzeniu napary przesączono. Ekstrakty etanolowe otrzymano poprzez zalanie naważki 1 g badanych ziół 70% alkoholem etylowym i wytrząsanie

w temperaturze pokojowej przez 6 h, po czym ekstrakt przesączono. Następnie na drodze rozcieńczeń przygotowywano próby o tej samej objętości a różnej zawartości ekstraktów w przeliczeniu na suchą masę (tak aby stężenie mieściło się w granicach od 0,001 do 0,01 g s.m./ml) i dodawano równe objętości roztworów kationów metali w postaci chlorków: glinu, cynku, wapnia i magnezu o różnych stężeniach. Próbę kontrolną stanowiły ekstrakty bez dodatku metalu. W tak przygotowanych próbach oznaczano całkowitą zawartość polifenoli metodą spektrofotometryczną z zastosowaniem odczynnika Folin-Ciocalteu'a wyrażoną jako ekwiwalent kwasu galusowego (mg GAE/ml) [Singleton, 1965]. W tym celu odmierzano 0,1 ml próbki (ekstrakt z dodatkiem kationów metali) i dodawano 0,3 ml odczynnika F-C. Tak otrzymany roztwór mieszano i pozostawiano na 3 minuty. Po upływie tego czasu dodawano 0,5 ml 14% (w/w) wodnego roztworu węglanu sodu i 4 ml wody redestylowanej. W ten sposób przygotowane próbki pozostawiano w ciemności na 1 godzinę, a następnie mierzono ich absorbancję przy długości fali 784 nm wobec próby zerowej. Aktywność antyoksydacyjną oznaczono według zmodyfikowanej metody Brand-Williams z użyciem rodnika DPPH (1,1-difenylo-2-pikrylhydrazyl) [Brand-Williams, 1995]. Pobierano 5 ml metanolowego roztworu DPPH (A ok. 1,2) i dodawano 0,1 ml próbki. Próby inkubowano w ciemności w temperaturze pokojowej przez 30 minut. Absorbancję roztworów mierzono przy długości fali $\lambda = 517$ nm wobec odnośnika. Wszystkie oznaczenia wykonano w trzech powtórzeniach. Aktywność przeciwutleniająca próbek ekstraktów z dodatkiem soli metali została wyrażona jako procent wygaszonego rodnika DPPH po 30 minutowej inkubacji z badanymi roztworami w odniesieniu do próby kontrolnej i obliczona ze wzoru [Szlachta, 2008]:

$$DPPH = \frac{A_{DPPH} - A_t}{A_{DPPH}} \cdot 100\%$$

gdzie: A_{DPPH} – absorbancja próbki kontrolnej, A_t – absorbancja badanej próbki.

Wyniki badań poddano analizie statystycznej przy użyciu programu Office Excel 2010.

Zarejestrowano również widma Vis ekstraktów oraz ich mieszanin z solami metali na spektrofotometrze DR 5000 HACH-LANGE z rozdzielczością 1 nm. Absorbancję mierzono dla prób o tym samym stężeniu ekstraktu w przeliczeniu na suchą masę naważki i zmiennym stężeniu dodawanej soli metalu.

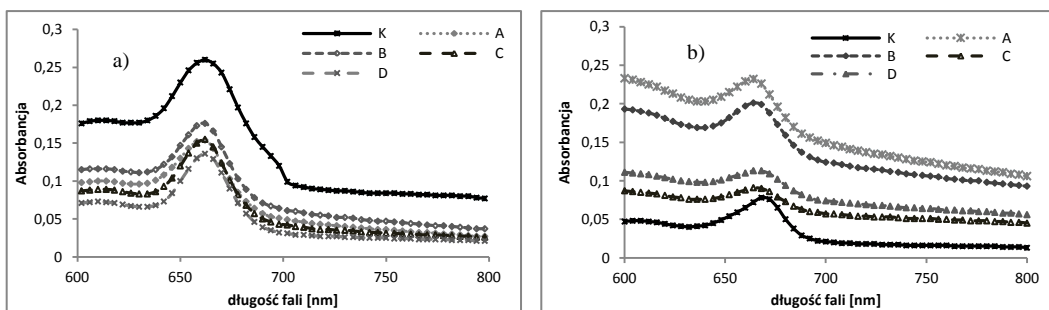
Wyniki i dyskusja

Widma absorpcyjnej spektroskopii elektronowej (Vis) ekstraktów i ich mieszanin z solami metali

Zarejestrowano widma w zakresie widzialnym ekstraktów wodnych i etanolowych tymianku i oregano oraz ich mieszanin z solami metali. Na rysunkach 1-4

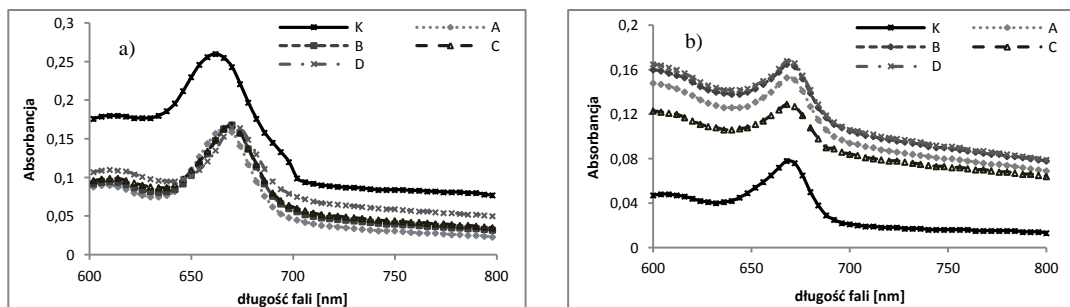
przedstawiono przykładowe widma z zakresu 600 – 800 nm (w tym zakresie występowało maksimum absorbcyj) dla etanolowych ekstraktów tymianku (a) i oregano (b) dla stężenia ekstraktów $7,5 \cdot 10^{-3}$ [g s.m./ml].

Jak wynika z widm zarejestrowanych w zakresie widzialnym maksimum absorbcyj dla ekstraktu etanolowego tymianku leży przy 664 nm ($A=0,26$), natomiast dla oregano przy 668 nm ($A=0,078$). Dodatek kationów metali powodował zmniejszenie absorbcyj etanolowego ekstraktu tymianku i podwyższenie absorbcyj ekstraktu oregano w maksimum absorbcyj. Dodatek soli Al^{3+} i Mg^{2+} w przypadku ekstraktu tymianku powodował przesunięcie maksimum absorbcyj odpowiednio do: 670 nm i 668 nm, natomiast dodatek Zn^{2+} , Ca^{2+} nie wpłynął na zmianę położenia maksimum absorbcyj, a jedynie na wartości absorbcyj, które dla ekstraktu z dodatkiem $Zn(II)$ wynoszą odpowiednio: 0,136 (D); 0,155 (C); 0,176 (B); 0,154 (A)*, a dla ekstraktu z dodatkiem Ca^{2+} : 0,069 (D); 0,088 (C); 0,246 (B); 0,0,173 (A)*.



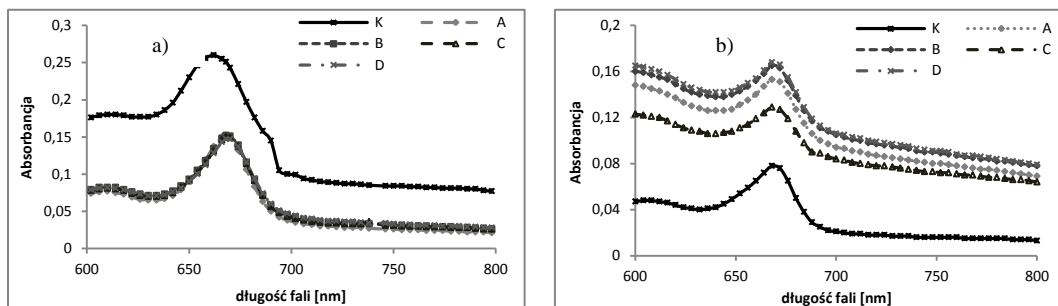
Rys.1. Widmo UV z zakresu: 600 – 800 nm etanolowych ekstraktów o $c = 7,5 \cdot 10^{-3}$ [g s.m./ml] a) tymianku, b) oregano* w funkcji stężenia $ZnCl_2$

Dodatek kationów Zn^{2+} spowodował przesunięcie maksimum absorbcyj w etanolowych ekstraktach oregano w stronę niższych wartości długości fali – 664 nm i zmiany w wartościach absorbcyj, które wynoszą odpowiednio: 0,013 (D); 0,091 (C); 0,201 (B); 0,232 (A)*.



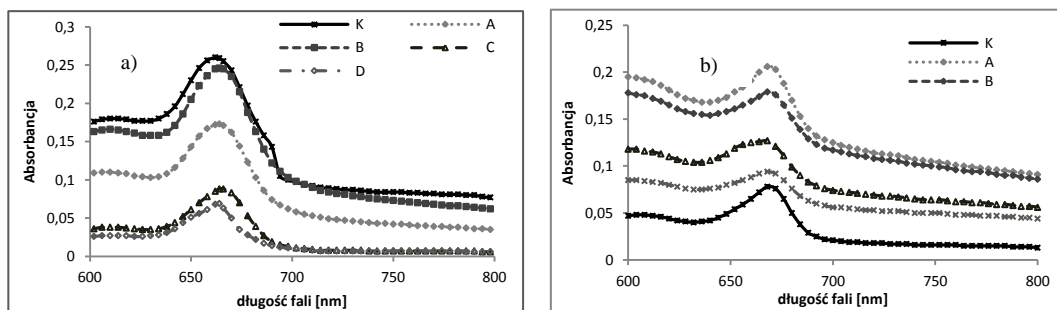
Rys. 2. Widmo UV z zakresu: 600 – 800 nm etanolowych ekstraktów o $c = 7,5 \cdot 10^{-3}$ [g s.m./ml] a) tymianku, b) oregano* w funkcji stężenia $AlCl_3$

Maksimum absorpcji dla ekstraktów etanolowych oregano w analizowanym zakresie widma występuje przy $\lambda = 668$ nm ($A=0,078$). Dodatek kationów Al^{3+} spowodował wzrost wartości absorpcji odpowiednio do: 0,238 (D); 0,237 (C); 0,229 (B); 0,212 (A)*. W przypadku ekstraktu z tymianku dodatek jonów tego metalu spowodował przesunięcie położenia maksimum absorpcji do $\lambda=670$ i zmiany w wartościach absorpcji odpowiednio: 0,165 (D); 0,168 (C); 0,168 (B); 0,164 (A)*.



Rys. 3. Widmo UV z zakresu: 600 – 800 nm etanolowych ekstraktów o $c = 7,5 \cdot 10^{-3}$ [g s.m./ml] a) tymianku, b) oregano* w funkcji stężenia $MgCl_2$

Dodatek kationów Mg^{2+} spowodował przesunięcie maksimum absorpcji etanolowego ekstraktu tymianku do $\lambda = 668$ i zmianę w wartościach absorpcji przy tej długości fali odpowiednio: 0,147 (D); 0,150 (C); 0,152 (B); 0,152 (A)*, natomiast w przypadku ekstraktu z oregano obserwowano tylko wzrost wartości absorpcji przy długości fali odpowiadającej maksimum absorpcji odpowiednio do: 0,168 (D); 0,139 (C); 0,165 (B); 0,153 (A)*.



Rys. 4. Widmo UV z zakresu: 600 – 800 nm etanolowych ekstraktów o $c = 7,5 \cdot 10^{-3}$ [g s.m./ml] a) tymianku, b) oregano* w funkcji stężenia $CaCl_2$

*Oznaczenia stosowane na wszystkich wykresach:

K – próba kontrolna; A – stężenie soli w mieszaninie z ekstraktem – $0,5 \text{ mol/dm}^3$; B – stężenie soli w mieszaninie z ekstraktem – $0,125 \text{ mol/dm}^3$; C – stężenie soli w mieszaninie z ekstraktem – $0,05 \text{ mol/dm}^3$; D – stężenie soli w mieszaninie z ekstraktem – $0,025 \text{ mol/dm}^3$

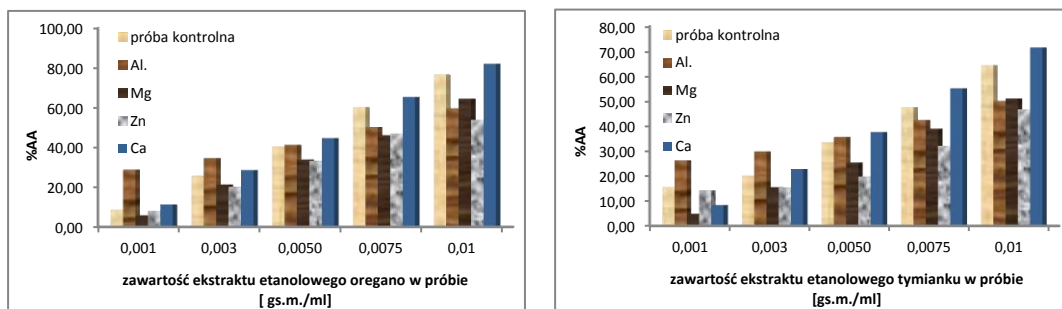
Maksimum absorpcji dla ekstraktów etanolowych oregano w analizowanym zakresie widma występuje przy $\lambda = 668 \text{ nm}$ ($A=0,078$). Dodatek kationów Ca^{2+} spowodował wzrost wartości absorpcji odpowiednio do: 0,094 (D); 0,127 (C); 0,179 (B); 0,206 (A)*. Ekstrakty wodne nie wykazywały maksimum absorpcji w zakresie widzialnym.

W celu doświadczalnego określenia wpływu kationów metali na aktywność antyutleniającą (AA) ekstraktów etanolowych i wodnych tymianku i oregano wykorzystano trwały rodnik DPPH. Wyniki pomiarów stopnia redukcji DPPH przez próby zawierające 5 mg s.m./ml (w odniesieniu do naważki suszu) ekstraktu wyrażonej w g s.m./ml próby oraz całkowitą zawartość związków fenolowych przedstawiono w tabeli 1. Jak wynika z tabeli największą zawartością związków zdolnych do wygaszania wolnych rodników charakteryzują się ekstrakty etanolowe, najmniejszą natomiast ekstrakty wodne oregano. Natomiast ekstrakty wodne i etanolowe tymianku mają podobną zdolność do wygaszania wolnych rodników.

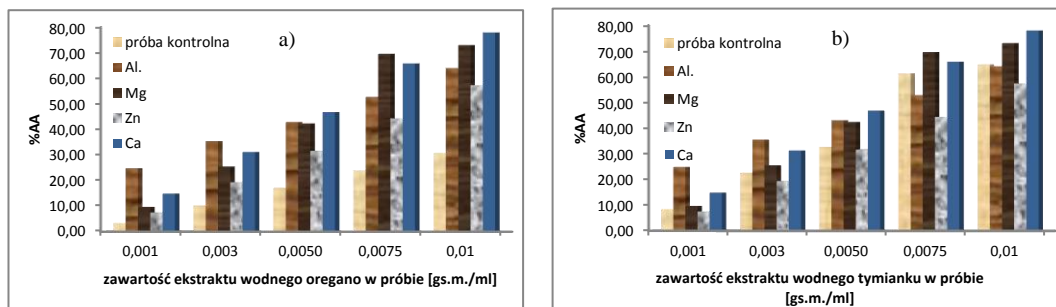
Tabela 1. Wpływ stężenia kationów metali na aktywność antyutleniającą i zawartość związków fenolowych prób przy stałej zawartości ekstraktów równej 5mg s.m./ml próby

Rodzaj ekstraktu	kation		Próba kontrolna		Al ³⁺		Zn ²⁺		Mg ²⁺		Ca ²⁺	
	C _{kationu} [mol/dm ³]		% AA±SD	Zawartość zw. fenolowych [mg/g sur.]	% AA±SD	% wzrost/ spadek sygnału analit.	% AA±SD	% wzrost/ spadek sygnału analit.	% AA±SD	% wzrost/ spadek sygnału analit.	% AA±SD	% wzrost/ spadek sygnału analit.
oregano	etanolowe	0,025	40,40±2,14	18,616±1,041	36,90±0,41	1,47↓	33,65±0,15	3,27↓	36,79±0,60	3,27↓	45,28±0,27	2,77↓
		0,050			41,28±0,59	1,71↑	33,33±0,22	3,51↓	33,88±0,33	6,21↓	44,71±0,38	14,69↑
		0,125			50,74±0,39	2,04↓	26,53±0,72	2,21↓	33,88±1,13	9,48↓	44,24±0,51	8,56↑
		0,500			67,81±0,27	7,60↑	27,86±0,20	1,55↓	31,66±1,03	5,15↓	44,75±0,42	5,88↑
	wodne	0,025	17,06±1,06	10,176±0,940	22,65±0,17	4,04↓	13,18±0,21	3,89↓	24,97±0,22	4,18↑	7,93±0,21	10,48↓
		0,050			26,63±0,75	2,69↓	14,44±0,06	4,33↓	25,32±0,20	9,41↑	9,37±0,80	15,98↓
		0,125			35,47±0,23	9,11↑	13,49±0,06	1,80↓	24,32±0,35	6,57↑	7,31±0,68	12,22↑
		0,500			55,66±0,03	24,20↑	15,09±1,33	49,76↑	24,77±0,50	6,72↑	7,79±0,24	37,68↑
tymianek	etanolowe	0,025	33,53±1,53	15,848±2,977	29,39±1,14	61,99↓	20,04±2,00	36,94↓	26,39±0,69	24,47↓	40,95±0,60	3,84↓
		0,050			35,59±1,67	51,82↓	19,72±0,53	27,83↓	25,37±1,68	27,92↓	42,25±0,98	5,86↓
		0,125			45,13±1,93	49,61↓	22,98±0,23	22,36↓	26,05±0,98	31,95↓	41,88±1,02	1,25↓
		0,500			63,67±1,62	53,07↓	27,45±0,24	27,54↓	25,18±1,37	29,36↓	41,35±0,53	6,89↑
	wodne	0,025	32,61±3,18	18,859±1,954	37,25±3,99	1,37↑	30,08±0,53	2,42↑	42,30±2,11	2,83↑	43,07±5,50	3,61↑
		0,050			42,96±1,05	9,19↑	31,66±0,76	13,79↑	42,36±2,65	7,74↑	46,77±3,06	2,34↑
		0,125			48,55±1,10	9,35↑	31,86±1,20	8,55↑	44,12±3,54	7,02↑	51,66±2,84	11,03↑
		0,500			62,82±3,65	23,07↑	27,93±0,65	11,61↑	44,90±2,67	1,53↑	49,48±0,38	19,41↑

Przeprowadzono również badania wpływu kationów na aktywność przeciwutleniającą ekstraktów tymianku i oregano, wyrażoną poprzez całkowitą zawartość związków fenolowych oraz poprzez procent redukcji rodnika DPPH. Metale mogą tworzyć połączenia kompleksowe ze związkami fenolowymi obecnymi w materiale roślinnym, albo uaktywniać niektóre grupy funkcyjne przez co mogą zmieniać aktywność przeciwutleniającą ekstraktów. W tabeli 1 przedstawiono zmiany aktywności przeciwutleniającej ekstraktów wodnych i etanolowych tymianku i oregano o stężeniu ekstraktu $c = 5 \text{ mg s.m./ml}$ metodą z zastosowaniem rodnika DPPH oraz % wzrostu sygnału analitycznego w metodzie F-C po dodaniu różnych stężeń kationów metali w stosunku do próby kontrolnej. Dodatek badanych kationów w większości przypadków wpływał na obniżenie sygnału analitycznego w metodzie F-C. Wzrost sygnału zoobserwowano dla wodnych roztworów tymianku po dodaniu wszystkich analizowanych kationów, oraz dla wodnych ekstraktów oregano po dodaniu Mg^{2+} . Wyniki uzyskane dla wodnych i etanolowych ekstraktów oregano po dodaniu Al(III) nie wykazały żadnych prawidłowości.



Rys.5. Wpływ kationów metali (stężenie w próbce $0,05 \text{ mol/dm}^3$) na wygaszenie rodnika DPPH w ekstraktach etanolowych oregano i tymianku w zależności od zawartości ekstraktu w próbce



Rys.6. Wpływ kationów metali (stężenie w próbce $0,05 \text{ mol/dm}^3$) na wygaszenie rodnika DPPH w naparach oregano a) i tymianku b) w zależności od zawartości ekstraktu w próbce

Jak wynika z tabeli 1 przy stałej zawartości ekstraktu w próbie wzrost stężenia kationów glinu w próbie powodował wzrost %AA. Dodatek kationów cynku (niezależnie od stężenia) wpływał na obniżenie aktywności antyutleniającej ekstraktu w stosunku do próby kontrolnej. Kationy magnezu dodawane do ekstraktów wodnych tymianku i oregano powodował wzrost, a w przypadku etanolowych spadek wartości %AA. Stężenie dodanej soli wapniowej przy tej samej zawartości ekstraktów w badanych próbach tylko w niewielkim stopniu wpływa na zmianę ich aktywności antyutleniającej.

Na podstawie danych zamieszczonych na rysunkach 5 i 6 można stwierdzić, że obecność badanych soli w próbach w różny sposób wpływa na ich aktywność antyutleniającą i zależy od zawartości ekstraktów w próbach. Dodatek soli Al^{3+} do prób zawierających różne ilości ekstraktów wodnych oregano wpłynął na wzrost ich aktywności antyutleniającej. Obecność kationów Zn^{2+} niezależnie od zawartości ekstraktu w próbach zawierających etanolowe i wodne ekstrakty z tymianku i oregano wpływała na zmniejszenie ich aktywności antyutleniającej, co było szczególnie widoczne przy wyższych zawartościach ekstraktów w próbie, przy mniejszych wpływ dodatku cynku był niezauważalny. Dodatek soli wapnia do badanych prób nie wydaje się mieć większego wpływu na ich aktywność antyutleniającą w przypadku ekstraktów etanolowych zarówno tymianku jak i oregano – zaobserwowano tylko niewielkie zmiany. Natomiast dodatek Ca^{2+} do prób zawierających różne ilości ekstraktów wodnych tymianku lub oregano powodował zwiększenie aktywności antyutleniającej w stosunku do próby kontrolnej, tym większy im większe było stężenie ekstraktu.

Dodanie kationów Mg^{2+} do prób zawierających etanolowe ekstrakty tymianku i oregano powodowało zmniejszenie ich aktywności antyutleniającej, natomiast w przypadku wodnych ekstraktów zaobserwowano zwiększenie tej aktywności. Wielkość zmian zależy od zawartości ekstraktów w badanych próbach.

Wnioski

1. Badane kationy metali wpływały na zmianę aktywności antyutleniającej wyrażonej zdolnością do redukcji stabilnego rodnika DPPH roztworów o różnej zawartości ekstraktów wodnych i etanolowych tymianku i oregano.
2. Badania całkowitej zawartość związków fenolowych w próbach zawierających różne stężenia ekstraktów wodnych i etanolowych wykazały, że dodatek analizowanych kationów w większości przypadków wpływał na obniżenie sygnału analitycznego w metodzie F-C. Wzrost sygnału zaobserwowano dla wodnych roztworów tymianku po dodaniu wszystkich analizowanych kationów, oraz dla wodnych ekstraktów oregano po dodaniu Mg^{2+} . Wyniki uzyskane dla wodnych i etanolowych ekstraktów oregano po dodaniu $Al(III)$ nie wykazały żadnych prawidłowości.

Literatura

1. Brand-Williams W., Cuvelier M. E., Berset C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food Science and Technology*, 1995, 28 25-30.
2. Grazula M., Budzisz E. Biological activity of metal ions complexes of chromones, coumarins and flavones, *Coordination Chemistry Reviews*, 2009, 153(921-22), 2588-2598.
3. Justesen U., Knuthsen P. Composition of flavonoids in fresh herbs and calculation of flavonoid by use of herbs in traditional Danish dishes, *Food Chemistry*, 2001, 73, 245-250.
4. Kostyuk V.A., Potapovich A.I., Vladykovskaya E.N., Korkina L.G., Afanas'ev I.B. Influence of metal ions on flavonoid protection against asbestos-induced cell injury, *Arch Biochem Biophys*, 2001, 385(1), 129-37.
5. Moridani M.Y., Pourahmad J., Bui H., Siraki A., O'Brien P.J. Dietary flavonoid iron complexes as cytoprotective superoxide radical scavengers. *Free Radic Biol Med.*, 2003, 34(2), 243-253.
6. Piekut J., Bagińska A., Bagiński M. Analiza ekstraktów etanolowych wybranych roślin przyprawowych, *Nauka i przemysł: metody spektroskopowe w praktyce, nowe wyzwania i możliwości*, Wyd. UMCS, Lublin 2013, 177-183.
7. Prashanth M.K., Revanasiddappa H.D., Rai K.M. L., Raveesha, K.A., Jayalakshmi B. Antioxidant and antibacterial activity of ajwain seed extract against antibiotic resistant bacteria and activity enhancement by the addition of metal salts, *Journal of Pharmacy Research*, 2012, 5(4), 1952-1956.
8. Singleton V.L., Rossi J.A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents, *Am J Enol Vitic*, 1965, 16, 144-158.
9. Sung-Sook C., Dhiraj A.V., Yuan-Tong L., Kalidas S. Phenolic antioxidants from clonal oregano (*Origanum vulgare*) with antimicrobial activity against *Helicobacter pylori*, *Process Biochemistry*, 2005, 40, 809-816.
10. Szlachta M., Małecka M. Właściwości przeciwutleniające herbatek owocowych, *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość.*, 2008, 1(56), 92-102.
11. Wojdyło A., Oszmiański J., Czemerys R. Antioxidant activity and phenolic compounds in 32 selected herbs, *Food Chemistry*, 2007, 105, 940-949.
12. Złotek U., Gawlik-Dziki U. Wpływ kwaśnej hydrolizy na właściwości przeciwutleniające alkoholowych ekstraktów wybranych przypraw, *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość.*, 2007, 5(54), 329-336.

MAŁGORZATA DŻUGAN, RAFAŁ KORDIAKA,
MIROSLAVA KAČÁNIOVÁ*, MONIKA WESOŁOWSKA

*Katedra Chemii i Toksykologii Żywności, Wydział Biologiczno-Rolniczy
Uniwersytet Rzeszowski*

**Katedra Mikrobiologii, Wydział Biotechnologii i Nauk o Żywności,
Słowacki Uniwersytet Rolniczy w Nitrze*

CZOSNEK NIEDŹWIEDZI (*ALLIUM URSINUM*) JAKO UZUPEŁNIENIE WIOSENNEJ DIETY

Streszczenie: Określono zawartości biopierwiastków (S, Mg, Fe, Mn, Zn, Cu) i metali ciężkich (Pb i Cd) w liściach dzikiego czosnku niedźwiedziego (*Allium ursinum* L.). Oceniono aktywność antyoksydacyjną oraz właściwości antybakteryjne i przeciwgrzybiczne ekstraktów liści świeżych i suszonych.

Słowa kluczowe: czosnek niedźwiedzi, składniki mineralne, antyoksydanty, aktywność antybakteryjna

Wstęp

Czosnek niedźwiedzi (*Allium ursinum* L.), bylina występująca niemal w całej Europie a także w północnej Azji, nie jest u nas tak popularny jak w Niemczech czy Austrii, ale ostatnio na rynku pojawiają się coraz to nowe produkty z jego dodatkiem. Tymczasem ta obfita w składniki odżywcze (minerały, witaminy i antyoksydanty) roślina, może w okresie wiosennym stanowić cenną alternatywę dla zielonych nowalijek. Jej nazwa pochodzi najprawdopodobniej od potocznego wierzenia, że niedźwiedzie po zimowej hibernacji zjadały tę roślinę w celu oczyszczenia układu pokarmowego i powrotu do sił po długiej zimie.

W medycynie ludowej czosnek niedźwiedzi był znany i stosowany od lat, ze względu na właściwości zbliżone do czosnku zwyczajnego (*Allium sativum* L.), przy czym najczęściej wykorzystywaną częścią rośliny są delikatne zielone liście a nie cebulki. W Polsce gatunek ten jest objęty częściową ochroną [Rozporządzenie Ministra Środowiska; Dz. U. 2012, nr 0, poz.81], umieszczony jest także na Czerwonej liście roślin i grzybów Polski [Mirek i in., 2006].

Czosnek niedźwiedzi występuje na całym obszarze Polski, głównie jednak w Karpatach, Sudetach, Pogórzu oraz Kotlinie Sandomierskiej i wyżynach, gdzie jest dość pospolity [Boss-Tejchmann, 2009]. Jest rośliną wskaźnikową. Najczęściej rośnie w miejscach o wysokim poziomie wód gruntowych. Należy on do grupy roślin cieniolubnych, przeważnie występuje w lasach bukowych, grądach i nadrzecznych łągach zwłaszcza w śródleśnych wąwozach oraz przy źródłiskach czyli w miejscach o dużej

wilgotności, gdzie tworzy duże skupiska. Najlepiej rośnie na glebach gliniasto-piaszczystych, bogatych w składniki mineralne. W warunkach ogrodowych z powodzeniem rozwija się w miejscach zacienionych o dobrych warunkach glebowych [Janeczko i Sobolewska, 1995].

Pomimo swej długiej obecności w medycynie ludowej dopiero kilkanaście lat temu rozpoczęto badania naukowe mające na celu udokumentowanie i potwierdzenie aktywności farmakologicznej i prozdrowotnej czosnku niedźwiedziego oraz możliwości zastosowania w terapii różnych schorzeń [Sobolewska i in., 2013]. W tradycyjnej europejskiej medycynie był polecany jako stymulator trawienia, środek bakteriobójczy oraz jako roślina oczyszczająca organizm z toksyn i wspomagająca system krwionośny. Stosowany był także przy schorzeniach układu oddechowego jako środek oczyszczający drogi oddechowe. Wykazuje aktywność w leczeniu ran, trądziku i różnych chorobach skóry [Boss-Teichmann, 2009]. Jest doskonałym odtruwaczem organizmu, np. przy zatruciu metalami ciężkimi. Wykorzystuje się go też do regeneracji flory bakteryjnej jelit po kuracjach antybiotykowych [Sobolewska i in., 2013]. Ze względu na wysoką zawartość adenozyiny (20 razy więcej niż w czosnku pospolitym), wpływa bardzo korzystnie na krążenie krwi w całym ustroju, szczególnie w obrębie serca i głowy, pomaga przy migrenie oraz szumach usznych [Reuter, 1995]. Badania naukowe dowodzą, że czosnek niedźwiedzi zapobiega sklejananiu się płytek krwi, rozrzedza krew i poprawia jej cyrkulację w naczyniach krwionośnych [Hysat i in., 2009].

Liście tej rośliny zawierają szereg substancji czynnych, m.in. olejki eteryczne, których najważniejszym składnikiem są związki siarkowe [Sendl, 1995]. Czosnek niedźwiedzi jest najbogatszą w siarkę rośliną w Europie. Jego walorem jest też wysoki poziom żelaza, i co ważniejsze występującego w łatwo przyswajalnej formie. Ponadto, w czosnku niedźwiedzim stwierdzono takie substancje, jak flawonoidy, saponiny, bogaty zestaw enzymów i aminokwasów oraz szereg związków o działaniu antybiotycznym [Sobolewska i in., 2013].

Celem pracy było określenie zawartości składników mineralnych i antyoksydantów w świeżych i suszonych liściach dzikiego czosnku niedźwiedziego, pozyskanych z dwóch siedlisk naturalnych. Badano aktywność wodnych ekstraktów czosnkowych wobec bakterii i grzybów.

Material i metody

Liście czosnku niedźwiedziego (*Allium ursinum* L.) pozyskano z naturalnego siedliska w powiecie brzozowskim (woj. podkarpackie) przed okresem kwitnienia. Zbioru liści dokonano ręcznie za zgodą właściciela terenu. Analogiczną próbę liści pozyskano z lasów w pobliżu Oradei (Rumunia). Obie partie liści poddano procesowi suszenia

w temp. 40°C (suszarka laboratoryjna), a liście czosnku rumuńskiego dodatkowo - liofilizacji (Alpha 1-2 LD plus; CHRIST, Niemcy).

W suchej masie liści oznaczono całkowitą zawartość siarki metodą analizy elementarnej (Vario EL Cube; Elementar Analysensysteme GmbH, Niemcy). Zawartość biopierwiastków (Mg, Fe, Mn, Zn, Cu) oraz metali ciężkich (Cd i Pb) w suchym materiale badano metodą AAS stosując spektrometr Hitachi Z-2000 z kuwetą grafitową (Hitachi High Technologies Co., Tokio, Japonia), po uprzedniej mineralizacji mikrofalowej (Speedwave four; Berghof GmbH, Niemcy).

Do badania aktywności antyoksydacyjnej i antybakteryjnej wykorzystano wodne ekstrakty uzyskane z liści: świeżych (20% w/v) i suszonych (4% w/v, uwzględniając 85-86% zawartość wody w św. m.). Ekstrakcję rozdrobnionego materiału w wytrząsarce przez 2 godz. w temp. pokojowej, a odwirowany (10 min. 14000×g) supernatant użyto do analiz. Aktywność antyoksydacyjną ekstraktów badano kolorymetryczną metodą FRAP, stosując do kalibracji etanolowy roztwór Troloksu. Całkowitą zawartość związków fenolowych (TPC) określono w oparciu o wynik barwnej reakcji z odczynnikiem Folina-Ciocalteu'a, zwiększając jej czułość przez dodatek 7,5% w/v Na₂CO₃. Do kalibracji zastosowano wodny roztwór kwasu galusowego (GA). Stosowane odczynniki pochodziły z firmy Sigma-Aldrich (USA).

Do oznaczania właściwości przeciwdrobnoustrojowych czosnku niedźwiedziego wykorzystano metodę dyfuzyjno-krażkową [Kačániová i in., 2012]. Do badań zastosowano 6 wzorcowych szczepów bakterii z czeskiej kolekcji mikroorganizmów (*Paenibacillus larvae* CCM 4483, *Salmonella enteritidis* CCM 4420, *Pseudomonas aeruginosa* CCM 1960, *Escherichia coli* CCM 3988, *Enterococcus rhamnosus* CCM 1828 oraz *Brochothrix thermosphacta* CCM 4769) oraz 6 gatunków grzybów mikroskopowych (*Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Penicillium crustosum*, *Penicillium griseofulvum*, *Candida albicans* oraz *Saccharomyces cerevisiae*). Krążki bibułowe o średnicy 6 mm nasączono trzykrotnie ekstraktem, a następnie nanoszono symetrycznie na inokulowaną płytkę. Bakterie hodowano na podłożu GTK w temp. 30°C przez 24 godz., a grzyby na podłożach Malt agar w temp. 25°C przez 5-8 dni. Mierzono strefę zahamowania wzrostu mikroorganizmów (średnica w mm).

Wszystkie analizy wykonano w trzykrotnym powtórzeniu. Obliczono wartości średnie ±SD. Istotność różnic oceniano przy użyciu testu Studenta, z wykorzystaniem programu Excel 2003.

Wyniki i ich omówienie

Przeprowadzone badania wykazały, że liście czosnku niedźwiedziego stanowią obfite źródło makro- i mikroelementów (tab. 1). W porównaniu do bulw czosnku pospolitego (średnio 0,6% s.m.) [Dżugan, 2013], zawartość siarki w suchej masie liści

czosnku niedźwiedziego była istotnie wyższa ($P < 0,05$) i wynosiła średnio 0,98%. Podobnie zawartość magnezu, żelaza i manganu była wielokrotnie wyższa ($P < 0,05$) w liściach dzikiego czosnku niż w ząbkach czosnku pospolitego, odpowiednio 4-, 10-, i 9-krotnie. Natomiast na zbliżonym poziomie kształtowała się zawartość cynku i miedzi. Jeśli chodzi o skażenie liści czosnku niedźwiedziego metalami ciężkimi (Cd i Pb) to było ono 2- do 3-krotnie niższe niż obserwowane dla czosnku pospolitego, co może wskazywać, że kumulacja tych zanieczyszczeń w liściach zachodzi w mniejszym stopniu niż w bulwach (część podziemna).

Z kolei porównanie składu mineralnego czosnku niedźwiedziego pochodzącego z Podkarpacia i Rumunii wskazuje, że zasobność liści w makro- i mikroelementy zależy od pochodzenia geograficznego czosnku, przy czym w większości przypadków obserwowane różnice były nieistotne statystycznie ($P > 0,05$). Czosnek rodzimy zawierał więcej żelaza ($P < 0,05$), ale był uboższy w mangan ($P < 0,05$). Czosnek podkarpacki był też mniej zanieczyszczony kadmem ($P < 0,05$), zawierał jednak więcej ołowiu ($P > 0,05$).

Tabela 1. Zawartość składników mineralnych w liściach czosnku niedźwiedziego

Zawartość pierwiastka	Czosnek niedźwiedzi [na 100g s.m. liści]		Czosnek pospolity* [na 100g s.m. bulwy]
	Podkarpacki	rumuński	podkarpacki
Siarka, S [g]	0,93±0,05 ^a	1,03±0,07 ^a	0,60±0,02 ^b
Magnez, Mg [mg]	179,50±10,16 ^a	185,50±12,13 ^a	47,75±3,55 ^b
Żelazo, Fe [mg]	16,35±0,61 ^a	11,52±0,74 ^b	1,38±0,62 ^c
Cynk, Zn [mg]	1,57±0,64 ^a	2,17±0,82 ^a	1,98±0,16 ^a
Mangan, Mn [mg]	3,43±0,16 ^a	6,88±0,63 ^b	0,58±0,07 ^c
Miedź, Cu [µg]	0,42±0,09 ^a	0,41±0,04 ^a	0,54±0,05 ^a
Kadm, Cd [µg]	3,62±1,85 ^a	7,20±1,69 ^b	19,02±2,08 ^c
Ołów, Pb [µg]	59,2±10,6 ^a	39,1±1,93 ^a	151,40±33,82 ^b

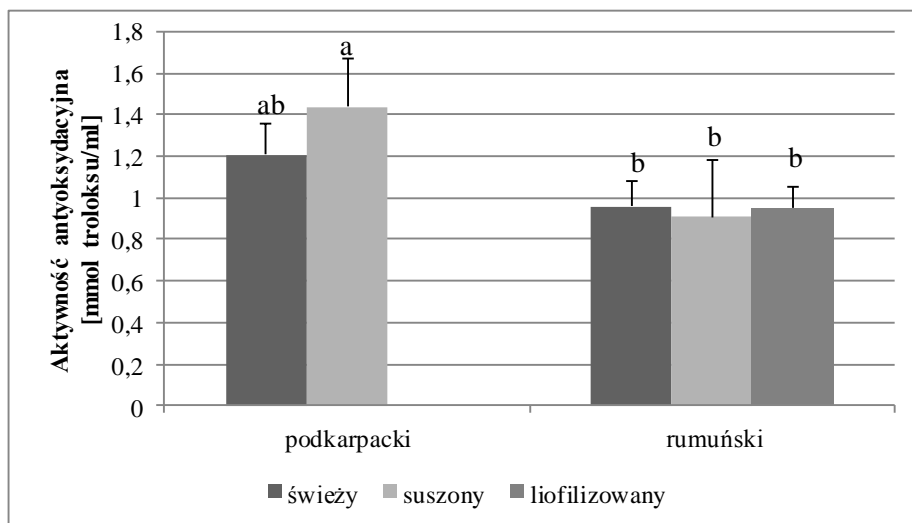
^{a,b}średnie oznaczone różnymi literami w wierszach różnią się istotnie ($P < 0,05$)

*dane dla czosnku pospolitego uprawianego na Podkarpaciu zaczerpnięto z pracy [Dżugan, 2013], przeliczono na s.m.

Analogiczne wyniki uzyskali Nagori i in. [2010], prowadząc analizę porównawczą niektórych makro- i mikroelementów *A. ursinum* i *A. sativum*. Wykazali oni, że czosnek niedźwiedzi zawiera wyższe poziomy magnezu (7 mg/kg), manganu (1,6 mg/kg) i żelaza (230 mg/kg) niż czosnek ogrodowy. Natomiast Błazewicz-Woźniak i Michowska [2011] stwierdziły, że skład chemiczny liści czosnku niedźwiedziego jest mocno uzależniony od ekotypu oraz warunków klimatycznych w danym roku. Wykazały, że liście mogą zawierać od 6,69 do 15,70% suchej masy, natomiast zawartość składników mineralnych w suchej masie liści waha się w przedziałach: dla azotu pomiędzy

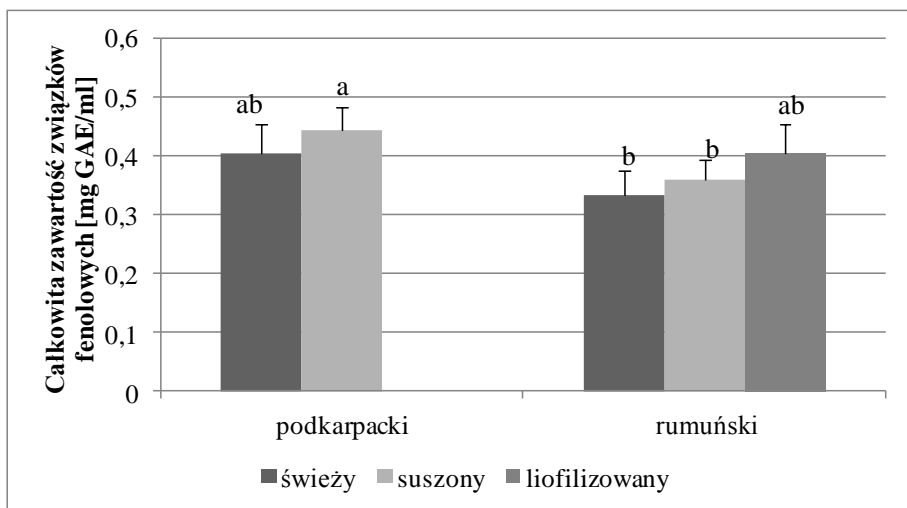
2,36 do 3,37% , dla fosforu 0,010 do 0,182%, dla potasu 2,22 do 5,03%, dla wapnia 0,37 do 2,12% oraz dla magnezu 0,07 do 0,13%.

Aktywność antyoksydacyjna ekstraktów świeżych liści mierzona metodą FRAP wynosiła 0,97-1,20 $\mu\text{mol Troloksu/cm}^3$ (rys. 1), przy czym obfitą frakcją antyoksydantów stanowiły związki fenolowe 0,3-0,4 mg kwasu galusowego/ cm^3 (rys. 2). Obróbka termiczna (suszenie, liofilizacja) nie wpłynęła istotnie ($P>0,05$) na zawartość przeciwutleniaczy w ekstraktach uzyskanych ze świeżych i suszonych (równoważna próbka) liści czosnku. Liście czosnku niedźwiedziego wydają się być stosunkowo bogate w składniki antyoksydacyjne, zawierają wysoką zawartość pigmentów: chlorofilu A ($2,87\pm 0,03$ mg/g), chlorofilu B $1,35\pm 0,01$ mg/g i $9,99\pm 0,01$ mg/g karotenoidów [Sobolewska i in. 2013]. Stanowią także obfite źródło związków fenolowych oraz witaminy C. Zawartość kwasu askorbinowego w suchych liściach czosnku wynosi 84 mg% (badania własne, dane niepublikowane).



Rys. 1. Aktywność antyoksydacyjna [$\mu\text{mol Troloksu/ml}$] ekstraktów z liści czosnku niedźwiedziego mierzona metodą FRAP

Całkowita zawartość związków fenolowych w liściach czosnku niedźwiedziego jest wyższa niż w bulwach, odpowiednio 3,24 i 2,30 mg/g [Sobolewska i in., 2013], przy czym liście zawierają wyższy poziom wolnych związków fenolowych. Podobnie, Oszmiański i in. [2013] wykazali, że zawartość flawonoidów w liściach jest największa 1,856g/100g s.m., w porównaniu z nasionami i łodygą.



Rys. 2. Całkowita zawartość związków fenolowych w ekstraktach z liści czosnku niedźwiedziego wyznaczona w równoważnikach kwasu galusowego (mg GAE)/ml ekstraktu

Najwyższą aktywność w stosunku do referencyjnych szczepów bakterii wykazał ekstrakt świeżych liści polskiego czosnku (2,7-6,7 mm), przy czym największą skuteczność obserwowano dla szczepów *Enterococcus rhamnosus*, *Salmonella enteritidis* i *Brochothrix thermosphacta* (tab. 2). Aktywność ekstraktu z liści czosnku pochodzącego z Rumunii była niższa dla *Enterococcus rhamnosus* i *Brochothrix thermosphacta*, podczas gdy istotnie wyższa dla szczepu *Paenibacillus larvae*. Ekstrakty z liści suszonych wykazywały znacznie niższą skuteczność wobec większości badanych bakterii. Podobnie proces liofilizacji powodował obniżenie aktywności antybakteryjnej ekstraktu, chociaż w mniejszym stopniu niż proces suszenia liści.

Ekstrakty świeżych liści czosnku niedźwiedziego wykazywały aktywność zarówno wobec grzybów drożdżopodobnych jak i grzybów pleśniowych (tab. 3). Szczególną wrażliwość wykazały szczepy reprezentowane przez grzyby z rodzajów: *Aspergillus niger*, *Candida albicans* i *Saccharomyces cerevisiae*, przy czym większą skutecznością charakteryzował się czosnek podkarpacki. Proces obróbki termicznej powodował znaczną redukcję działania przeciwgrzybowego ekstraktów.

Tabela 2. Antybakteryjne działanie ekstraktów liści czosnku niedźwiedziego pochodzącego z Podkarpacia (P) i Oradei (R) (jako średnica strefy zahamowania wzrostu)

Szczep bakterii	Wodny ekstrakt z liści czosnku niedźwiedziego				
	Świeże (20%w/v)		Suszone (4%w/v)		Liofilizowane (4%w/v)
	P	R	P	R	R
<i>Paenibacillus larvae</i>	2,7 mm	6,0 mm	3,3 mm	2,3 mm	4,0 mm
<i>Salmonella enteritidis</i>	5,3 mm	6,0 mm	1,0 mm	0,6 mm	0,7 mm
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	4,7 mm	5,7 mm	1,9 mm	3,0 mm	3,5 mm
<i>Escherichia coli</i>	4,3 mm	6,3 mm	4,0 mm	0,4 mm	0,8 mm
<i>Enterococcus rhamnosus</i>	6,7 mm	1,7 mm	2,7 mm	3,0 mm	1,9 mm
<i>Brochothrix thermosphacta</i>	5,3 mm	1,3 mm	1,8 mm	2,1 mm	2,3 mm

Tabela 3. Przeciwgrzybiczne działanie ekstraktów liści czosnku niedźwiedziego pochodzącego z Podkarpacia (P) i Oradei (R) (jako promień strefy zahamowania wzrostu)

Gatunek grzybów	Wodny ekstrakt z liści czosnku niedźwiedziego				
	Świeże (20%w/v)		Suszone (4%w/v)		Liofilizowane (4%w/v)
	P	R	P	R	R
<i>Aspergillus flavus</i>	2,0 mm	2,7 mm	1,5 mm	1,2 mm	1,5 mm
<i>Aspergillus Niger</i>	3,7 mm	4,0 mm	0,5 mm	0,9 mm	1,0 mm
<i>Penicillium crustosum</i>	3,0 mm	2,3 mm	1,7 mm	1,2 mm	1,2 mm
<i>Penicillium griseofulvum</i>	3,0 mm	3,0 mm	1,5 mm	1,4 mm	2,0 mm
<i>Candida albicans</i>	5,0 mm	3,0 mm	2,8 mm	1,2 mm	1,6 mm
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	5,7 mm	2,7 mm	2,0 mm	1,9 mm	1,7 mm

Uzyskane wyniki znajdują potwierdzenie w pracach wielu autorów [Reuter, 1995; Bagiū i in., 2012; Sobolewska i in., 2013]. Przykładowo, Synowiec i in. [2010] wykazali wysoką aktywność antybakteryjną i przeciwgrzybiczną ekstraktów czosnku niedźwiedziego, szczególnie wobec *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* oraz *Candida lypolitica*, *Rhizopus nigricans*, *Aspergillus niger*. W badaniach stwierdzono znacznie wyższą aktywność przeciwdrobnoustrojową metanolowego ekstraktu świeżych liści czosnku niedźwiedziego, podczas gdy wodny ekstrakt liści charakteryzował się słabszym działaniem hamującym wobec testowanych bakterii i grzybów.

Aktywność przeciwdrobnoustrojowa ekstraktów czosnkowych zależy głównie od metody i warunków ekstrakcji, decydujących o ich składzie chemicznym. Za biologiczną aktywność czosnku odpowiadają głównie związki siarki. Szacuje się, że sulfotlenki cysteiny (alliiny) oraz nietlone peptydy γ -glutamylcysteinowe stanowią ponad 82% całkowitej zawartości siarki w czosnku niedźwiedzim [Reuter, 1995]. Związki siarki występujące w *Allium* są degradowane do różnych tiosulfinianów, ajoenów, winyloditiin, które również wykazują różny stopień aktywności przeciwdrobnoustrojowej [Golubkina i in., 2010], choć w naturalnym stanie nie występują. Kierunek degradacji, a więc i otrzymanych produktów, zależy od warunków prowadzenia ekstrakcji, tj. temperatura czy rozpuszczalnik. W badaniach porównawczych składu chemicznego i aktywności farmakologicznej czosnku niedźwiedziego i ogrodowego wykazano podobieństwo w składzie jakościowym związków siarkowych występujących w obydwu gatunkach, równocześnie stwierdzając istotne różnice w składzie ilościowym poszczególnych komponentów [Reuter, 1995; Sobolewska i in., 2013].

Występujący naturalnie w czosnku sulfotlenek S-allilo-L-cysteiny – alliina, podczas rozdrabniania fragmentów jest rozkładana przez enzym alliinazę uwolnioną ze zniszczonych tkanek. Hydroliza i kondensacja reaktywnego związku pośredniego tworzy allicynę, związek bakteriobójczy o charakterystycznym czosnkowym zapachu [Kwiecień, 2008]. Sama allicyna (tiosulfinian diallilu) jest produktem niestabilnym i ulega reakcjom, w wyniku których powstają dodatkowe inne pochodne w zależności od warunków środowiskowych i przetwarzania [Bagiū i in., 2012]. Po ekstrakcji liści czosnku niedźwiedziego etanolem w temperaturze poniżej 0°C otrzymano alliinę. Ekstrakcja etanolem i wodą w temperaturze 25°C prowadzi do otrzymania allicyny, natomiast destylacja z parą wodną przekształca alliinę całkowicie do siarczków metyloallilowych i diallilowych (mono-, di- i trisiarczki) [Horníčková i in., 2011]. Zawartość alliiny zależy również od metody przetwarzania czosnku, świeże liście zawierają 0,25-1,15% alliiny, natomiast materiał starannie suszony w łagodnych warunkach zawiera 0,7-1,7% alliiny [Bagiū i in., 2012].

Działanie bakteriostatyczne i fungistatyczne czosnku niedźwiedziego, oprócz wysokiej zawartości makro- i mikroelementów oraz antyoksydantów (polifenoli i witaminy C), jest ważnym powodem do zwiększenia jego bezpośredniego spożycia jak również wykorzystania w przemyśle spożywczym jako konserwującej przyprawy do żywności. Ostatnio, czosnek niedźwiedzi zdobywa coraz większą popularność wśród kucharzy. Wykorzystywany jest do przygotowania rozmaitych potraw (tj. zupy czy pierogi z czosnkiem niedźwiedzim, gołąbki w czosnku niedźwiedzim). Ze względu na krótki sezon zbioru proponuje się różne sposoby jego utrwalenia, w celu zachowania lotnych litofilnych związków siarki w miejsce suszenia zaleca się konserwację w oleju (olej czosnkowy, sos pesto). Powoli na rynku zaczynają się pojawiać, obok suszonych liści, parafarmaceutyki i suplementy diety na bazie czosnku niedźwiedziego. Ten pozytywny trend powinien przyczynić się do zainteresowania szerszej grupy konsumentów tą wartościową dziką rośliną i spowodować wzrost jej spożycia w naszym kraju.

Wnioski

Badania potwierdziły, że ze względu na wysoką zawartość pierwiastków niezbędnych (głównie siarki, manganu i żelaza) oraz właściwości przeciwdrobnoustrojowe czosnek niedźwiedzi stanowić może cenny składnik wiosennej diety, pozyskiwany bezpośrednio z natury lub z łatwością uprawiany w ogrodzie. Zawartość antyoksydantów i działanie antibakteryjne zależy istotnie od ekotypu i warunków klimatycznych uprawy. Wodne ekstrakty świeżych liści wykazywały wysoką aktywność wobec testowanych szczepów bakterii (szczególnie wobec *Salmonella enteritidis*, *Pseudomonas aeruginosa* oraz *Escherichia coli*) oraz drożdży (*Candida albicans* i *Saccharomyces cerevisiae*). Skuteczność hamowania wzrostu drobnoustrojów była znacznie większa dla ekstraktu świeżych liści czosnku niedźwiedziego niż suszonych.

Literatura

1. Bagiu R.V., Vlaicu B., Butnariu M. Chemical Composition and in Vitro Antifungal Activity Screening of the *Allium ursinum* L. (Liliaceae). Int. J.Mol. Sci., 2012, 13, 1426-1436.
2. Błazewicz-Woźniak M., Michowska A. The growth, flowering and chemical composition of leaves of three ecotypes of *Allium ursinum* L. Acta Agrobot., 2011, 64 (4), 171–180.
3. Boss- Teichmann C. Czosnek niedźwiedzi smaczny, tani, zdrowy. Wyd. Bellona, Warszawa 2009, s. 71.

4. Dżugan M. Bioactive components of garlic and their effect on the reduction of cadmium toxicity in food. Wyd. Uniwersytetu Rzeszowskiego, Rzeszów, 2013, s. 126.
5. Golubkina N.A., Malankina H.L., Kosheleva O.V., Solovyeva A.Y. Content of biologically active substances - selenium, flavonoids, ascorbic acid and chlorophyllin of *Allium ursinum* L. and *Allium victorialis* L. Vopr. Pitan. 2010, 79, 78–81.
6. Hiyasat B., Sabha D., Grotzinger K., Kempfert J., Rauwald J.W., Mohr F.W., Dhein S. Antiplatelet activity of *Allium ursinum* and *Allium sativum*. Pharmacology 2009, 83, 197–204.
7. Horníčková J., Kubec R., Velisek J., Cejpek K., Ovesna J., Stavělikova, H. Changes of S-alk(en)ylcysteine sulfoxide levels during the growth of different garlic morphotypes. Czech J. Food Sci. 2011, 29, 373–381.
8. Janeczko Z., Sobolewska D. Czosnek niedźwiedzi – cenna roślina lecznicza. Wiad. ziel., 1995, 37, 12-14.
9. Kačániová M., Vukovič N., Hleba L., Bobková A., Pavelková A., Rovná K., Arpášová H. Antimicrobial and antiradicals activity of *Origanum vulgare* L. and *Thymus vulgaris* essential oils. J. Microbiol. Biotech. Food Sci., 2012, 2, 263-271.
10. Kwiecień H. Chemia i aktywność biologiczna czosnku (*Allium sativum*). Wiad. Chem., 2008, 62, 9-10.
11. Mirek Z., Zarzycki K., Wojewoda W., Szelań Z. (red.). Czerwona lista roślin i grzybów Polski. Instytut Botaniki im. W Szafera PAN., Kraków 2006.
12. Nagori B.P., Solanki R., Sharma N. Natural healing agent: garlic, an approach to healthy life. IJRAP, 2010, 1(2), 358–366.
13. Oszmiański J., Kolniak-Ostek J., Wojdyło A. Characterization and content of flavonol derivatives of *Allium ursinum* L. plant. J. Agric. Food. Chem., 2013, 61, 176-184.
14. Reuter H.D. *Allium sativum* and *Allium ursinum*: Part 2. Pharmacology and Medicinal Application. Phytomedicine, 1995, 2(1), 73-91.
15. Rozporządzenie Ministra Środowiska w sprawie ochrony gatunkowej roślin, Dz. U. 2012, nr 0, poz 81.
16. Sobolewska D., Podolak I., Makowska-Wąs J. *Allium ursinum*: botanical, phytochemical and pharmacological overview. Phytochem Rev., 2013, DOI 10.1007/s11101-013-9334-0.
17. Sendl A. *Allium sativum* and *Allium ursinum*: Part 1. Chemistry, analysis, history, botany. Phytomedicine, 1995, 4, 323-339.

18. Synowiec A., Gniewosz M., Zieja I., Bączek K., Przybył J. Porównanie właściwości przeciwdrobnoustrojowych ekstraktów z czosnku niedźwiedziego (*Allium ursinum*). Zesz. Probl. Post. Nauk Roln., 2010, 553, 203-209.

OCENA ZMIAN WYZNACZNIKÓW POTENCJAŁU PRZECIWUTLENIAJĄCEGO WYBRANYCH ZIÓŁ PODDANYCH SUSZENIU

Streszczenie

Rośliny zielarskie i przyprawowe są surowcami o dużej zawartości związków fenolowych, takich jak kwasy fenolowe, flawonoidy i karotenoidy. W organizmie człowieka wykazują one zróżnicowaną aktywność biologiczną, przede wszystkim chelatują jony metali, zmiatają wolne rodniki, niektóre zmieniają działanie enzymów i ich biodostępność. Aktywność biologiczna związków fenolowych wynika w dużej mierze z ich działania antyoksydacyjnego. Celem badań była ocena zmian ogólnej zawartości związków fenolowych oraz przeciwutleniaczy (TAS) w wybranych roślinach zielarskich i przyprawowych poddanych suszeniu. W pracy poddano analizie ekstrakty następujących ziół i roślin przyprawowych świeżych oraz suszonych: cząbrku, tymianku, pietruszki, oregano, bukwicy i macierzanki. Badania dotyczyły oceny zawartości związków fenolowych wyrażonych w mg kwasu galusowego w przeliczeniu na g suchej masy (s.m.) i świeżej masy (ś.m.) oraz całkowitej zawartości przeciwutleniaczy jako równoważnika Troloxu w mmol na g suchej masy. Ekstrakcję prowadzono roztworem wodnym kwasu solnego o stężeniu $0,1 \text{ mol/dm}^3$ oraz roztworem wodnym metanolu o stężeniu 70% v/v. Z przeprowadzonych analiz wynika, że w roślinach świeżych występuje istotnie wyższa zawartość związków fenolowych ogółem oraz wyższy całkowity potencjał antyoksydacyjny w porównaniu do tych samych roślin poddanych suszeniu. Najwyższą zawartość badanych związków wykazano w próbach ekstrahowanych kwasem solnym z oregano zarówno świeżym jak i suszonym oraz w ekstrakcie metanolowym suszonego oregano. Najwyższą zawartość związków przeciwutleniających stwierdzono w próbach ze świeżej macierzanki ekstrahowanej kwasem solnym. Najniższą zawartość związków fenolowych odnotowano w natce pietruszki zarówno świeżej jak i suszonej. Badania potwierdziły istotną korelację pomiędzy zawartością związków fenolowych a ogólną zawartością substancji o właściwościach przeciwutleniających, które ulegają rozkładowi podczas procesu suszenia.

Słowa kluczowe: rośliny zielarskie, rośliny przyprawowe, potencjał antyoksydacyjny, związki fenolowe

Wstęp

Wielokierunkowe badania ostatnich kilkunastu lat dotyczące poszukiwania związku pomiędzy dietą a zdrowiem człowieka dostarczyły nowych danych informujących o tym, że żywność obok cennych składników odżywczych zawiera wiele substancji nie odżywczych, np. polifenole, które mogą działać profilaktycznie, a niekiedy wspierać leczenie różnych chorób. Biologicznie aktywne składniki żywności mogą przeciwdziałać egzogennym (ksenobiotyki, bakterie i wirusy chorobotwórcze) i endogennym (wolne rodniki tlenowe, produkty peroksydacji lipidów, jony metali) czynnikom genotoksycznym oraz wpływać na wszystkie etapy procesu karcynogenezy: inicjację, promocję i progresję [De Flora, 1998; Bear i Dubowska, 2003]. W ostatnich latach ukazało się wiele doniesień na temat korzystnego wpływu przeciwutleniaczy na zdrowie człowieka. Niejednokrotnie podkreślano w nich, że nie ilość antyoksydantów w diecie ma znaczenie, ale ich biodostępność.

W syntezie związków fenolowych szczególnie wyspecjalizowane są rośliny, które tworzą je w formie pośrednich produktów syntezy aminokwasów aromatycznych (fenylołaminy i tyrozyny). Organizmy zwierzęce są znacznie uboższe w tego typu substancje, gdyż nie potrafią syntetyzować pierścienia aromatycznego, a właśnie z tych pośrednich produktów syntezy aminokwasów aromatycznych powstają różne polifenole [Daniel i in., 1999; Bais i in., 2000; Hipskind i Paiva, 2000]. Źródłami związków polifenolowych są produkty roślinne, a w szczególności owoce, warzywa, zioła i rośliny przyprawowe. Kumulują się w różnych częściach anatomicznych: korzeniach, łodygach, liściach, kwiatach a także nasionach [Kolesnikov, 2001; Skupień, 2008; Pennington, 2002; Daniel, 1999; Bais, 2000; Hipskind, 2000; Piekut i in., 2013].

Polifenole wspomagają rośliny m.in. jako:

- czynnik chroniący aparat fotosyntetyczny przed niekorzystnym wpływem światła w zakresie widzialnym,
- składnik chroniący przed promieniowaniem ultrafioletowym,
- czynniki wspomagające transport glukozydów z liści do innych części rośliny,
- składnik umożliwiający regulację ciśnienia osmotycznego w czasie suszy oraz w niskiej temperaturze,
- barwniki oddziałujące na owady zapylające i zwierzęta przenoszące nasiona,
- komponent chroniący przed szkodliwym działaniem owadów i mikroorganizmów [D'Archivio i in., 2010].

Aktywność biologiczna związków polifenolowych wynika w dużej mierze z ich działania antyoksydacyjnego, które w znacznym stopniu opiera się na zmiataniu wolnych rodników, a także przerywaniu reakcji wolnorodnikowych. Związki polifenolowe łatwo oddają wodór grupy hydroksylowej, co powoduje, że same ulegają utlenianiu, którego produktem są stabilne rodniki fenoksylowe. Stabilność tych rodników

zależy od ich struktury i może wynosić od kilku minut do kilku dni. Polifenole reagując z wolnymi rodnikami przerywają reakcję łańcuchową inicjowaną przez rodniki hydroksylowe lub peroksydowe co prowadzi do wytworzenia bardziej stabilnych wodoronadtlenków lipidowych.

Właściwości przeciwutleniające polifenoli przypisuje się ich budowie strukturalnej, szczególnie obecności grup –OH w pozycji –para. Różne grupy polifenoli wykazują różnorodną aktywność przeciwutleniającą. Za najbardziej reaktywne chemicznie uznaje się flawonoidy ze względu na występowanie w ich cząsteczkach charakterystycznego układu trójpierścieniowego. Wszystkie flawonoidy posiadające w pozycji 3' i 4' grupę hydroksylową, których przykładem może być katechina, posiadają aktywność przeciwutleniającą. Kwasy fenolowe wykazują największą aktywność kiedy posiadają kilka grup hydroksylowych w pozycji –orto lub –para. Obecność w pozycji –orto grupy alkilowej lub metoksylowej powoduje znaczne osłabienie ich aktywności antyoksydacyjnej [Oszmiański i in., 1999; Chen i Ho, 1997; D'Archivio i in., 2007].

W badaniach właściwości przeciwbakteryjnych ekstraktu z kłączy nawłoci (*Solidago chilensis*) wykazano jego działanie hamujące wzrost szczepów: *Pseudomonas aeruginosa* (MIC = 3,1 mg/ml), *Escherichia coli* (6,2 mg/ml) oraz *Staphylococcus aureus* (6,2 mg/ml). W ekstrakcie obecny był m.in. kwas kawowy i chlorogenowy [Rafael i in., 2009]. Związki polifenolowe, za sprawą obecności różnych grup funkcyjnych, w tym grup hydroksylowych, mają tendencję do wbudowywania się w błony lipidowe, co powoduje zmiany ich przepuszczalności. Zwiększa to podatność drobnoustrojów na czynniki antybakteryjne, może prowadzić do migracji ważnych dla mikroorganizmu substancji z wnętrza komórki i do zaburzenia jego wzrostu [Cushnie i Lamb, 2005; Kemperman, 2010]. Badania z wykorzystaniem ekstraktów roślinnych oraz izolowanych z nich polifenoli potwierdzają, iż związki te mogą wykazywać synergizm między sobą oraz z innymi czynnikami przeciwdrobnoustrojowymi w działaniu biobójczym lub biostatycznym. W wielu przypadkach obserwuje się silniejsze działanie mieszanin związków roślinnych niż ich pojedynczych komponentów oraz nasilenie działania antybiotyków, gdy podawane są łącznie z dużą ilością związków fenolowych. Wykazano, iż kwercetyna zwiększa przepuszczalność błony komórkowej bakterii, co może powodować wzrost ich wrażliwości na antybiotyki, nawet w przypadku drobnoustrojów wykazujących oporność na dany lek [Cushnie i Lamb, 2005; Quave i in., 2012]. Quave i in. [2012] wykazali, że mieszanina związków pochodzących z jeżyny (*Rubus ulmifolius*), zawierająca m.in. kwas elagowy, nasilała działanie daptomycyny, klindamycyny i oksacyliny w stosunku do szczepu *Staphylococcus aureus* wrażliwego na metycylinę (MSSA). Zaobserwowali również istotne zahamowanie tworzenia biofilmu przez szczep gronkowca wrażliwy i oporny (MRSA) na metycylinę w obecności ekstraktu z jeżyny [Quave i in., 2012]. Ponieważ formy biofilmowe wykazują znacznie

większą oporność na działanie antybiotyków niż planktonowe, osłabienie adhezji i tworzenia biofilmu przez naturalne związki roślinne może częściowo wyjaśniać ich synergizm z lekami.

Rośliny przyprawowe to nie tylko znane i coraz bardziej popularne u nas przyprawy ziołowe (takie jak m.in. tymianek, bazylija, estragon, majeranek), korzenne (pieprz, goździki, gałka muszkatołowa, ziele angielskie, imbir, cynamon) czy warzywne (czosnek, cebula). To również bardzo pospolite rośliny, często będące chwastami. Używane niegdyś przez nasze babcie, potem zapomniane, obecnie zaczynają przeżywać renesans. Dotychczasowe badania potwierdzają, że umiarkowane stosowanie przypraw ma niezwykle korzystny wpływ na nasze zdrowie. Doniesienia naukowe podkreślają rolę przypraw i zawartych w nich fitozwiązków w pobudzaniu procesów metabolicznych organizmu ludzkiego. Żywność pochodzenia roślinnego w tym zioła i rośliny przyprawowe stanowią dla człowieka bogate źródło związków o właściwościach przeciwutleniających [Szajdek i Borowska, 2004].

Powyższe doniesienia literaturowe dowodzą, iż polifenole roślinne stanowią ważną grupę związków bioaktywnych, które mogą być wykorzystywane w chemoprewencji różnego rodzaju schorzeń. Dzięki wielokierunkowym oddziaływaniom wspomagają utrzymanie dobrej kondycji organizmu, zapobiegają wielu chorobom, a także wspomagają leczenie już zaistniałych stanów chorobowych. Obecnie trwają poszukiwania nowych preparatów jako alternatywnych środków leczniczych do obecnie stosowanych, np. ze względu na ich obniżającą się skuteczność w stosunku do drobnoustrojów. Istotne jest, że polifenole syntetyzowane są przez rośliny, dzięki czemu stanowią element codziennej diety i tolerowane są przez organizm ludzki. Z tego powodu możemy zaliczyć je do nutraceutyków.

Celem badań była ocena zmian ogólnej zawartości związków fenolowych oraz przeciwutleniaczy (TAS) w wybranych roślinach zielarskich i przyprawowych poddanych suszeniu.

Material i metody

Badaniom poddano następujące zioła i rośliny przyprawowe: cząber (*Satureja hortensis* L.), tymianek (*Thymus vulgaris*), pietruszka (*Petroselinum crispum*), oregano (*Origanum vulgare*), bukwica (*Betonica officinalis* L.), macierzanka (*Thymus pulegioides* L.). Zostały one pozyskane z upraw prowadzonych w Gospodarstwie Agroturystycznym „Ziołowy Zakątek” w Korycinach w województwie podlaskim. Zebrane zioła poddano suszeniu w przedsiębiorstwie zielarskim „Dary Natury”, które specjalizuje się w produkcji oraz dystrybucji ziół i żywności ekologicznej. Przy wyborze ziół do badań sugerowano się dostępnością roślin świeżych i suszonych. Zioła suszono metodą konwekcyjną w temperaturze 35°C przez 20 godzin.

Przygotowanie próbek do analizy. Materiału roślinnego świeżego odważono po ok. 2 g ($\pm 0,0001$ g), natomiast suszonego po ok. 1 g ($\pm 0,0001$ g) i ekstrahowano dwukrotnie 40 cm³ roztworu HCl o stężeniu 0,1 mol/dm³ (ekstrakcja A) lub 40 cm³ wodnego roztworu metanolu o stężeniu 70% v/v (ekstrakcja B). Po zakończeniu ekstrakcji wyciągi połączono i przesączono. Każdą próbę uzupełniono do 100 cm³ odpowiednim roztworem (HCl lub metanol).

Ogólną zawartość polifenoli w ekstraktach oznaczano przy użyciu metody Folina-Ciocalteu (F-C). Podstawą oznaczenia jest odwracalna reakcja redukcji molibdenu(VI) do molibdenu(V) zawartego w odczynniku Folina-Ciocalteu (F-C) przez fenole w środowisku alkalicznym. W wyniku reakcji powstaje niebieski związek, który wykazuje maksimum absorpcji przy długości fali 765 nm. Intensywność absorpcji przy tej długości fali jest proporcjonalna do stężenia fenoli. Do reakcji potrzebne jest alkaliczne środowisko (pH 10), w którym powstaje anion fenolanowy redukujący molibden. Niebieski barwnik powstaje w reakcji odczynnika F-C z fenolami niezależnie od ich struktury. Dla uzyskania środowiska alkalicznego stosuje się nasycony roztwór bezwodnego węgla sodu. Próbkę inkubuje się w temperaturze 40°C przez 30 min, po czym wykonuje pomiar absorbancji. Przy temperaturze pokojowej, czas inkubacji wydłuża się do 2 godzin. Zalecana proporcja objętości nasyconego roztworu Na₂CO₃ i odczynnika F-C wynosi 3:1. Kwas galusowy jest rekomendowany jako standard ułatwiający porównywanie danych [Cheung 2003, Singleton i Rossi 1965]. Do wykreślenia krzywej kalibracyjnej użyto roztworów kwasu galusowego jako wzorca. Wyniki wyrażano jako równoważnik kwasu galusowego (GAE) w mg·g⁻¹ świeżej masy oraz suchej masy.

Wykonanie krzywej wzorcowej. Przygotowano roztwór roboczy kwasu galusowego o stężeniu 2 g/dm³ w wodzie destylowanej. Do 5 kolb miarowych pojemności 100 cm³ pobrano kolejno: 0,0; 2,5; 5,0; 7,5; 10,0 cm³ roztworu roboczego kwasu galusowego i uzupełniono wodą do kreski. Z każdego stężenia do probówki pobrano 0,25 cm³ dodano 1,25 cm³ odczynnika Folin-Ciocalteu, zakorkowano i wymieszano. Następnie dodano 1 cm³ roztworu Na₂CO₃, wymieszano i inkubowano w temperaturze pokojowej przez 2 godziny. Po tym czasie zmierzono absorbancję przy długości fali 760 nm stosując wodę jako próbę odniesienia [Djeridane i in., 2006].

Wykonanie oznaczenia. Z przesączonego ekstraktu pobrano 0,25 cm³ roztworu, dodano 1,25 cm³ odczynnika Folin-Ciocalteu i wymieszano. Następnie dodano 1 cm³ roztworu Na₂CO₃, wymieszano i inkubowano w temperaturze pokojowej przez 2 godziny. Po tym czasie mierzono absorbancję przy długości fali 760 nm. Stężenie w mg kwasu

galusowego/g produktu odczytano z krzywej wzorcowej [Djeridane i in., 2006]. Analizy wykonano w trzech powtórzeniach.

Do oznaczenia pojemności przeciwutleniającej ekstraktów wykorzystano metodę z kationorodnikami ABTS⁺ [Re i in., 1999]. Zmiany stężenia kationorodników ABTS⁺ określano spektrofotometrycznie po inkubacji z badanymi ekstraktami. Związki o właściwościach przeciwutleniających zawarte w tych ekstraktach redukowały stężenia kationorodników ABTS⁺ [Kozłowska i Ścibisz, 2012]. Mieszanina reakcyjna ma kolor niebiesko-zielony i max absorpcji wykazuje przy długości fali 600 nm. Przeciwutleniacze obecne w próbkach powstrzymują tę reakcję oraz powstawanie niebiesko-zielonego zabarwienia. Stopień tego hamowania jest proporcjonalny do stężenia przeciwutleniaczy w próbce. Oznaczenia wykonano zgodnie z procedurą dołączoną do zestawu odczynników firmy Randox (nr katalogowy NX2332) przeznaczonych do oceny całkowitego statusu antyoksydacyjnego (TAS - Total Antioxidant Status). Zawartość antyoksydantów wyrażana jest najczęściej jako ilość równoważników Troloxu na jednostkę masy lub objętości (TEAC) tzn. mmol/g lub mmol/dm³.

Analiza statystyczna. Wyniki poddano analizie wariancji (ANOVA). Do określenia stopnia wzajemnych powiązań pomiędzy poszczególnymi parametrami obliczano współczynnik korelacji (r) Pearsona. Testowanie prowadzono na poziomie istotności $p \leq 0,05$. Wszystkie analizy wykonano w programie Statistica 10,0.

Omówienie wyników

W pracy poddano analizie ekstrakty następujących ziół i roślin przyprawowych świeżych oraz suszonych: cząbrku, tymianku, pietruszki, oregano, bukwicy i macierzanki. W tabeli 1 przedstawiono zawartości związków fenolowych wyrażonych w mg kwasu galusowego w przeliczeniu na g suchej (s.m.) i świeżej masy (ś.m.) oraz całkowitej zawartości przeciwutleniaczy (TAS) jako równoważnik Troloxu w mmol na g suchej masy. Ekstrakcję prowadzono roztworem wodnym kwasu solnego o stężeniu 0,1 mol/dm³ oraz roztworem wodnym metanolu o stężeniu 70% v/v. W roślinach świeżych zawartości związków fenolowych ekstrahowanych kwasem solnym są wyższe w porównaniu z roślinami suszonymi i mieszczą się w zakresie 4,422 - 44,774 mg GA/g s.m. Przy zastosowaniu metanolu do ekstrakcji, wyższe zawartości związków fenolowych wykazano jedynie w przypadku suszonej bukwicy i macierzanki, odpowiednio 26,102±0,691 i 32,184±0,097 mg GA/g s.m., w porównaniu do roślin świeżych. Najsilniejsze właściwości przeciwutleniające zaobserwowano w ekstrakcie z HCl ze świeżej macierzanki (83,67 mmol Troloxu/g s.m.). W przypadku ekstraktu z pietruszki z kwasem solnym, zarówno świeżej jak i suszonej, uzyskano wyniki ujemne. Zapewne

zostały wyekstrahowane substancje o właściwościach prooksydacyjnych, w związku z tym należałoby zastosować do oznaczeń inną metodę. W ekstraktach metanolowych najwyższy potencjał antyoksydacyjny wykazano w przypadku świeżego cząbr (74,44 mmol Troloxu/g s.m.) i oregano (64,77 mmol Troloxu/g s.m.) Analiza potwierdziła istotną korelację ($r = 0,778$) pomiędzy zawartością związków fenolowych a ogólną zawartością substancji o właściwościach przeciwutleniających badanych ziół.

Tab.1. Zawartość związków fenolowych w przeliczeniu na kwas galusowy GA wyrażona w mg/g suchej masy (s.m.) i świeżej masy (ś.m.) oraz całkowita zawartość przeciwutleniaczy wyrażona jako równoważnik mmol Troloxu/g s.m.

	masa próbki [g]	zawartość GA [mg/g ś.m.] ±SD	s.m [%]	s.m. [g]	zawartość GA [mg/g s.m.] ±SD	TAS [mmol/g s.m.]
rośliny świeże						
ekstrakty w HCl (roztwór wodny o stężeniu 0,1 mol/dm³)						
cząbr	2,031	9,924±0,051	24,31	0,494	40,821±0,208	72,36
tymianek	2,033	12,057±0,066	30,84	0,627	39,094±0,215	56,99
pietruszka	2,074	0,786±0,065	22,96	0,476	3,422±0,284	-140,43
oregano	2,037	12,553±0,082	28,04	0,571	44,774±0,293	41,69
bukwica	2,016	11,523±0,011	44,83	0,904	25,709±0,024	46,61
macierzanka	2,003	13,141±0,016	37,21	0,745	35,323±0,044	83,57
ekstrakty w metanolu (roztwór wodny o stężeniu 70% v/v)						
cząbr	2,025	10,364±0,344	24,31	0,492	42,630±1,416	74,44
tymianek	2,083	10,011±0,664	30,84	0,642	32,463±2,154	51,33
pietruszka	2,05	2,910±0,003	22,96	0,471	12,671±0,011	19,46
oregano	2,068	11,335±0,572	28,04	0,580	40,435±2,041	64,77
bukwica	2,648	7,536±0,388	44,83	1,187	16,819±0,865	30,87
macierzanka	2,014	11,277±0,859	37,21	0,749	30,312±2,308	50,12
rośliny suszone						
ekstrakty w HCl (roztwór wodny o stężeniu 0,1 mol/dm³)						
cząbr	1,015	25,427±0,256	90,92	0,923	27,972±0,281	32,13
tymianek	1,056	27,615±0,228	91,56	0,967	30,161±0,249	33,99
pietruszka	1,089	1,388±0,363	91,03	0,991	1,537±0,399	-73,57
oregano	1,024	30,004±0,109	91,50	0,937	32,792±0,119	31,65
bukwica	1,072	23,464±0,023	92,78	0,995	25,293±0,025	31,43
macierzanka	1,076	26,493±0,132	90,30	0,972	29,346±0,146	33,00
ekstrakty w metanolu (roztwór wodny o stężeniu 70% v/v)						
cząbr	1,021	28,979±0,073	90,92	0,928	31,878±0,080	34,54
tymianek	1,049	28,959±0,224	91,56	0,960	31,633±0,244	34,22
pietruszka	1,081	7,197±0,326	91,03	0,984	7,916±0,358	26,07
oregano	1,004	30,749±0,344	91,50	0,919	33,611±0,376	35,77
bukwica	1,012	24,214±0,641	92,78	0,939	26,102±0,691	36,70
macierzanka	1,058	29,057±0,088	90,30	0,955	32,184±0,097	34,40

Ocenę wpływu procesów technologicznych badali również Gumul i in [2005] oraz Świeca i Gawlik-Dziki [2008]. Wykazali oni, iż temperatura oraz czas suszenia ma

istotny wpływ na właściwości przeciwutleniające ekstraktów roślinnych. W niniejszej pracy zastosowano konwekcyjną metodę suszenia przy temperaturze 35°C. Istotny wzrost zawartości związków fenolowych i właściwości przeciwutleniających po suszeniu wykazano tylko w przypadku metanolowych ekstraktów z bukwicy.

Badania porównawcze potencjału antyoksydacyjnego ekstraktów roślin przyprawowych i zielarskich przeprowadziła również Gawlik-Dziki i współpracownicy. Analizie poddali wyciągi z kopru, pietruszki, czarnuszki, czarnego pieprzu, rozmarynu, majeranku i tymianku. Ekstrakt z kopru wykazywał największy potencjał antyoksydacyjny, ekstrakt z natki pietruszki efektywnie neutralizował wolne rodniki DPPH. Oceniając aktywność przeciwutleniającą ekstraktów z rozmarynu, majeranku i tymianku stwierdzono, iż najwyższą aktywność przeciwrodnikową, zdolność do hamowania procesów peroksydacyjnych oraz potencjał redukcyjny wykazał wyciąg z rozmarynu. Charakteryzował się on natomiast najniższą zdolnością do chelatowania. Wysoką zdolnością do hamowania peroksydacji lipidów oraz zdolnością do redukcji charakteryzował się ekstrakt z majeranku, podczas gdy najwyższą zdolność do chelatowania wykazał ekstrakt z tymianku [Złotek i Gawlik-Dziki, 2007; Szajdek i Borowska, 2004].

Podsumowanie

1. Z przeprowadzonych analiz wynika że w roślinach świeżych występuje istotnie wyższa zawartość związków fenolowych ogółem oraz wykazano wyższy całkowity potencjał antyoksydacyjny w porównaniu do tych samych roślin poddanych suszeniu (wyjątek stanowi bukwica).
2. Najwyższą zawartość związków fenolowych wykazano ekstrahowanym kwasem solnym oregano zarówno świeżym jak i suszonym oraz w ekstrakcie metanolowym suszonego oregano.
3. Najwyższą zawartość przeciwutleniaczy (w tym związków fenolowych) stwierdzono w próbach ze świeżej macierzanki ekstrahowanej kwasem solnym.
4. Najniższą zawartość związków fenolowych odnotowano w natce pietruszki zarówno świeżej jak i suszonej.
5. Badania potwierdziły istotną korelację pomiędzy zawartością związków fenolowych a ogólną zawartością substancji o właściwościach przeciwutleniających w ekstraktach metanolowych.

Projekt został sfinansowany ze środków Narodowego Centrum Nauki przyznanych na podstawie decyzji numer DEC-2011/01/B/NZ9/06830

Literatura

1. Baer-Dubowska W. Chemoprewencja – profilaktyka i terapia wspomaganą raków głowy i szyi, *Postępy w Chirurgii Głowy i Szyi*, 2003, 2, 3-14.
2. Bais J., Murphy P.J., Aust Dry I.B. The molecular regulation of stilbene phytoalexin biosynthesis in *Vitis vinifera* during grape berry development, *Aust. J. Plant. Physiol.*, 2000, 27(5), 425-433.
3. Chen J.H., Ho C.T. Antioxidant activities of caffeic acid and its related hydroxycinnamic acid compounds, *J. Agric. Food Chem.*, 1997, 45, 2374-2378.
4. Cheung L.M., Cheung P.C.K., Ooi V.E.C. Antioxidant activity and total phenolics of edible mushroom extracts. *Food Chem.*, 2003, 81 (2), 249-255.
5. Cushnie T.P., Lamb A.J. Antimicrobial activity of flavonoids, *Int. J. Antimicrob. Agents*, 2005, 26, 343-356.
6. D'Archivio M., Filesi C., Di Benedetto R., Gargiulo R., Giovannini C., Masella L. Polyphenols, dietary sources and bioavailability, *Ann. Ist. Super. Sanita.*, 2007, 43, 348-361.
7. D'Archivio M., Filesi C., Vari R., Scaccocchio M., Masella R. Bioavailability of the Polyphenols: Status and Controversies, *Int J Mol Sci*, 2010, 11(4), 1321-1342.
8. Daniel O., Meier M. S., Schlatter J., Frischhnecht P. Selected phenolic compounds in cultivated plants: ecologic functions, health implications, and modulation by pesticides, *Environ. Health. Perspect*, 1999,107(1), 109-114.
9. De Flora S. Mechanisms of inhibitors of mutagenesis and carcinogenesis, *Mutat. Res.*, 1998, 402, 151-158.
10. Djeridane A., Yousfi M., Nadjemi B., Boutassouna D., Stocker P., Vidal N. Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds, *Food Chem.*, 2006, 97, 654-660.
11. Gumul D., Korus J., Achremowicz B. Wpływ procesów przetwórczych na aktywność przeciwutleniającą surowców pochodzenia roślinnego, *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość.*, 2005, 4(45), 41-48.
12. Hipskind J. D., Paiva N. L. Constitutive accumulation of a resveratrol-glucoside in transgenic alfalfa increases resistance to *Phoma medicaginis*, *MPMI*, 2000,13(5), 551-562.
13. Kemperman R.A., Bolca S., Roger L.C., Vaughan E.E. Novel approaches for analysing gut microbes and dietary polyphenols: challenges and opportunities, *Microbiology*, 2010, 156, 3224-3231.
14. Kolesnikov M.P., Gins V.K. Phenolic substances in medicinal plants, *Appl. Biochem. Microbiol.*, 2001, 37 (4), 392-399.

15. Kozłowska M., Ścibisz I. Zawartość polifenoli i aktywność przeciwutleniająca ekstraktów z roślin przyprawowych podczas ich przechowywania, *Bromat. Chem. Toksykol.*, 2012, 45(3), 358-363.
16. Michalczyk M., Macura R. Wpływ warunków przechowywania na jakość wybranych, dostępnych w obrocie handlowym, mało przetworzonych produktów warzywnych, *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość.*, 2008, 3(58), 96-107.
17. Oszmiański J., Kucharska A., Gasiewicz E. Usefulness the honeysuckle fruits for juice production, in: *Fruit and vegetables juice today and in the XXI century*, Edited by L. Michalczuk and W. Plocharski. Rytro, Poland, 1999, 251-259.
18. Pennington J.A.T. Food composition databases for bioactive food components. *J. Food Comp. Anal.*, 2002, 15, 419-434.
19. Piekut J., Bagińska A., Bagiński M., Analiza ekstraktów etanolowych wybranych roślin przyprawowych, w: *Nauka i przemysł: metody spektroskopowe, nowe wyzwania i możliwości*, UMCS Lublin, 2013, 177-183.
20. Quave C.L., Estévez-Carmona M., Compadre C.M., Hobby G., Hendrickson H., Beenken K.E., Smeltzer M.S. Ellagic acid derivatives from *Rubus ulmifolius* inhibit *Staphylococcus aureus* biofilm formation and improve response to antibiotics, *PLoS One*, 2012, 7(1), e28737.
21. Rafael L., Teresinha N., Moritz J.C., Maria I.G., Dalmarco E.M., Fröde T.S. Evaluation of antimicrobial and antiplatelet aggregation effects of *Solidago chilensis* Meyen, *Int. J. Green Pharm.*, 2009, 3, 35-39.
22. Re R., Pellegrini N., Proteggente A., Pannala A., Yang M., Rice-Evans C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay, *Free Rad. Biol. Med.*, 1999, 26(9-10), 1231-1237.
23. Singleton V.L., Rossi J.A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phodphotonegistics acid reagents, *Am. J. Enol. Vitic.*, 1965, 16, 144-158.
24. Skupień K., Kostrzewa-Nowak D., Oszmiański J., Tarasiuk J. In vitro antileukaemic activity of extracts from chokeberry (*Aronia melanocarpa* [Michx] Elliott) and mulberry (*Morus alba* L.) leaves against sensitive and multidrug resistant HL60 cells, *Phytother. Res.*, 2008, 22, 689-694.
25. Szajdek A., Borowska J. Właściwości przeciwutleniające żywności pochodzenia roślinnego, *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość.*, 2004, 4(41), 5-28.
26. Świeca M., Gawlik-Dziki U. Influence of thermal processing on phenolics compounds level and antiradical activity of dill (*Anethum graveolens* L.), *Herba Polonica*, 2008, 54(3), 59-69.
27. Złotek U., Gawlik-Dziki U. Wpływ kwaśnej hydrolizy na właściwości przeciwutleniające alkoholowych ekstraktów wybranych przypraw, *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość.*, 2007, 5(54), 329-336.



Ergo Solutions
30-438 Kraków, ul. Borkowska 9/6
Tel. 12 445 64 49
email: info@ergosol.pl
<http://www.ergosol.pl/>

Firma Ergo Solutions została utworzona w 2002 roku. Jej głównym celem działalności jest świadczenie kompleksowych usług dla przedsiębiorstw w branży spożywczej. Ergo Solutions to zespół specjalistów z wieloletnim stażem w przemyśle spożywczym. W skład zespołu wchodzi: audytorzy, konsultanci, trenerzy oraz praktycy i teoretycy przemysłu spożywczego. W zależności od potrzeb, do współpracy z klientem dobierany jest interdyscyplinarny zespół osób o uzupełniających się kompetencjach. Oferta Ergo Solutions dotyczy w szczególności: badań i doskonalenia wyrobów oraz wdrażania i doskonalenia systemów zarządzania.



Konica Minolta Sensing Europe B.V. Sp. z o.o.
Oddział w Polsce
53-025 Wrocław, ul. Skarbowców 23a
Tel: 71 734 52 11
e-mail: info.poland@seu.konicaminolta.eu
www.konicaminolta.pl

Oferujemy precyzyjne instrumenty pomiarowe Konica Minolta dla przemysłu i nauki:

- Do kontroli jakości oraz recepturowania barwy rozmaitych produktów, oferujemy wiele modeli laboratoryjnych oraz przenośnych **kolorymetrów**, **spektrofotometrów** i **spektrodensytometrów**, wraz z oprogramowaniem. Mamy także **komory świetlne** do wizualnego porównywania barw oraz przenośne **mierniki połysku** powierzchni.
- Lekkie, poręczne **mierniki światła** mierzą luminancję źródeł światła, temperaturę barwową i chromatyczność, natężenie oświetlenia i widmo światła.
- Do regulacji monitorów komputerowych, wyświetlaczy LCD oraz ekranów plazmowych TV oferujemy przemysłowe **analizatory barw**.
- Przenośne, bezdotykowe **skanery laserowe** 3D potrafią w ciągu 0,3 sekundy stworzyć komputerowy, barwny model przestrzenny dowolnego przedmiotu.
- Do testowania **ogniw fotowoltaicznych** oferujemy fotoogniwa wzorcowe, symulatory słoneczne i spektrometry słoneczne.

- Chromatografia: GC, HPLC, UHPLC, LCxLC(MS), GCxGC(MS)
- Spektrometria mas: LC/MS, LC/MS-IT-TOF, GC/MS/MS, LC/MS/MS
- Analizatory biotechnologiczne, MALDI TOF-TOF
- Spektrofotometria: UV-VIS, FTIR, RF, AAS, ICP
- Analiza węgla organicznego: TOC
- Analiza powierzchni: XPS, Auger, ISS, SIMS
- Uniwersalne urządzenia testujące
- Maszyny wytrzymałościowe, twardościomierze
- Analizatory fluorescencyjne i rentgenowskie: EDX
- Analizatory wielkości cząstek



Gas Chromatograph Mass Spectrometer
GCMS-TQ8040



Nexera X2
Ultra High Performance Liquid Chromatography
Liquid Chromatograph Mass Spectrometer
LCMS-8050



Grand Prix Prezesa PAN
EuroLab Crime Lab
Warszawa 2014



- Kolumny do chromatografii ciekowej
- Kolumny do UHPLC
- Kolumny do chromatografii gazowej
- Kolumnki do ekstrakcji na fazie stałej (SPE)
- Zestawy do szybkiej analizy aminokwasów
- Zestawy do oczyszczania oligonukleotydów



PREPARE FOR BETTER RESULTS

- Systemy do zateżania i odparowania próbek
- Systemy do automatycznej ekstrakcji SPE na dyskach i kolumnkach



- Wysokosprawna chromatografia przeciwaprądowa HPLCC



- Ekstraktory cieczą w stanie nadkrytycznym