

**POLSKIE TOWARZYSTWO TECHNOLOGÓW ŻYWNOŚCI
ODDZIAŁ MAŁOPOLSKI**

**WYDZIAŁ TECHNOLOGII ŻYWNOŚCI
UNIwersytet Rolniczy im. Hugona Kołłątaja
w Krakowie**

**ROLA PROCESÓW
TECHNOLOGICZNYCH
W KSZTAŁTOWANIU JAKOŚCI
ŻYWNOŚCI**

**Aleksandra Duda-Chodak, Dorota Najgebauer-Lejko,
Iwona Drożdż, Tomasz Tarko
(redaktorzy)**

Recenzenci Naukowi

Prof. dr hab. inż. Jacek **Domagała**, Dr Iwona **Drożdż**, Dr hab. Aleksandra **Duda-Chodak**, Dr hab. inż. Agnieszka **Filipiak-Florkiewicz**, Prof. dr hab. Teresa **Fortuna**, Prof. dr hab. inż. Halina **Gambuś**, Dr hab. inż. Piotr **Gębczyński**, prof. UR, dr hab. inż. Lesław **Juszczak**, prof. UR, Prof. dr hab. inż. Władysław **Migdał**, Dr inż. Dorota **Najgebauer-Lejko**, Prof. dr hab. Teresa **Leszczyńska**, Prof. dr hab. inż. Krzysztof **Surówka**, Dr hab. inż. Tomasz **Tarko**, Dr inż. Maria **Walczycza**, Prof. dr hab. inż. Krzysztof **Żyła**

Redakcja

Dr hab. Aleksandra Duda-Chodak
Dr inż. Dorota Najgebauer-Lejko
Dr Iwona Drożdż
Dr hab. inż. Tomasz Tarko

Projekt okładki

Dr Łukasz Byczyński

Wydawca

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

ISBN 978-83-937001-6-5

© *Copyright by Polskie Towarzystwo Technologów Żywności, Kraków 2016*

Za treść zamieszczonych materiałów odpowiadają ich Autorzy

SPIS TREŚCI

<i>Piotr Gębczyński, Marta Wójcik, Radosława Skoczeń-Słupska, Ewelina Gwóźdź, Anna Korus, Małgorzata Tabaszewska, Jacek Słupski</i> Wpływ sposobu otrzymywania na zawartość błonnika w przecierach pomidorowych...	5
<i>Krzysztof Buksa, Anna Nowotna, Halina Gambuś</i> Wpływ dodatku arabinoksylianów o różnej masie cząsteczkowej na właściwości chlebów żytnich wypieczonych metodą odroczonego wypieku	14
<i>Dorota Wichrowska, Katarzyna Gościnnna, Tomasz Knapowski, Wojciech Kozera</i> Wpływ metod suszenia na barwę plastrów wybranych odmian jabłek	23
<i>Sławomir Pietrzyk, Robert Socha, Paweł Chmielowski, Teresa Fortuna, Andrzej Wroński</i> Wpływ rodzaju syropu cukrowego użytego w trakcie produkcji na stabilność wybranych parametrów jakościowych kandyzowanej skórki pomarańczowej	33
<i>Anna Diowksza, Joanna Leszczyńska</i> Wpływ transglutaminazy na jakość i immunoreaktywność pieczywa pszennego o małej zawartości glutenu	42
<i>Agnieszka Nowak, Agata Czyżowska, Justyna Rosicka, Ilona Gałązka-Czarnecka</i> Trwałość owoców suszonych mikrofalowo w próżni	51
<i>Beata Treszczyńska, Justyna Żulewska</i> Przebieg proteolizy w serach o obniżonej zawartości tłuszczu	60
<i>Magdalena Efenberger-Szmechtyk, Agnieszka Nowak, Agata Czyżowska</i> Aktywność przeciwbakteryjna ekstraktów polifenolowych pozyskanych z liści jabłoni	68
<i>Małgorzata Makarewicz, Anna Bylica, Iwona Drożdż, Urszula Błaszczuk, Marek Zdaniewicz</i> Przeżywalność naturalnej mikroflory pierzgi pszczołej w modelowym soku żołądkowym	78
<i>Halina Makala</i> Wpływ poziomu dodatku olejów roślinnych w modelowych rozdrobnionych przetworach mięsnych na dynamikę przemian oksydacyjnych	89
<i>Dorota Ogrodowska, Małgorzata Tańska, Dorota Derewiaka, Rafał Wołosiak, Sylwester Czaplicki</i> Charakterystyka frakcji białek nowych form nasion dyni bezłupinowej	98
<i>Maria Balcerek, Katarzyna Pielech-Przybylska, Piotr Patelski, Urszula Dziekońska-Kubczak</i> Wpływ techniki i parametrów destylacji na jakość okowit zbożowych	108
<i>Magdalena Kostrz, Paweł Satora</i> Jabłko - surowiec do produkcji napojów alkoholowych	118
<i>Katarzyna Turek, Jacek Słupski, Małgorzata Tabaszewska, Łukasz Skoczylas, Anna Tomf-Sarna, Radosława Skoczeń-Słupska</i> Soki jabłkowe naturalnie mętne – produkty bogate w związki biologicznie czynne ..	127
<i>Tomasz Tarko, Aleksandra Duda-Chodak, Dorota Semik-Szczurak, Alicja Błach</i> Związki bioaktywne w napojach owocowych i warzywnych	135
<i>Małgorzata Dżugan, Joanna Kisala, Monika Wesolowska</i> Zawartość składników bioaktywnych w soku z owoców granatu (<i>Punica granatum</i>) w zależności od metody wytwarzania	143
<i>Grzegorz Fiutak, Ryszard Macura, Magdalena Michalczyk, Agnieszka Zawiaślak, Krzysztof Surówka</i> Wpływ różnych źródeł światła LED na wybrane wyróżniki jakości młodych liści owsa i rukoli	154
<i>Iwona Tesarowicz, Agnieszka Zawiaślak, Ireneusz Maciejaszek, Magdalena Witek, Jagoda Majcherczyk</i> Wybrane właściwości funkcjonalne i przeciwutleniające izolatu białkowego pestek arbuza (<i>Citrullus lanatus</i>)	163
<i>Anna Magdalena Ambroszczyk, Ewa Lwińska, Renata Biezanowska-Kopeć</i> Zróżnicowanie wartości odżywczej oraz prozdrowotnej owoców pomidora w zależności od zastosowanych stymulatorów wzrostu	173
<i>Ewa Piątkowska, Anna Ciszewska, Katarzyna Cora, Aneta Kopeć</i> Skład chemiczny i właściwości przeciwutleniające młodych pędów różnych odmian orkiszu, gryki i szarlatu	183
<i>Monika Hrynkiewicz, Anna Iwaniak, Małgorzata Darewicz</i> Charakterystyka in silico wybranych białek zbóż jako prekursorów peptydów o działaniu inhibitora enzymu konwertującego angiotensynę	194
<i>Mariola Samsonowicz</i> Ocena właściwości prozdrowotnych tradycyjnych kaw zbożowych produkowanych na Podlasiu	205
<i>Małgorzata Bączkowiec, Joanna Sobolewska-Zielińska, Jacek Rożnowski, Teresa Fortuna, Klaudia Hajduk, Magda Machota</i> Wpływ rodzaju czekolady na zawartość wybranych składników mineralnych	217
<i>Katarzyna Neffe-Skocińska, Joanna Stadnik, Paulina Kęska, Danuta Kołożyn-Krajewska</i> Jakość ekologicznych półgędwic surowo dojrzewających w zależności od zastosowanej technologii produkcji	228
<i>Bogusław Pawlikowski, Maria Adameczuk</i> Wpływ zmienności podstawowego składu chemicznego na wybrane parametry technologiczne szprotów bałtyckich	238
<i>Agnieszka Latoch</i> Wpływ inuliny jako zamiennika tłuszczu na skład chemiczny, wartość kaloryczną, kwasowość oraz stopień utlenienia lipidów pasztetów z mięsa indyka	248
<i>Katarzyna Szczurko, Marta Kołodziej, Ewa Białik, Tomasz Lesiów</i> Wpływ wybranych preparatów białkowych na właściwości sensoryczne, teksturę i stabilność oksydacyjną pieczywa pszennego	256
<i>Michał Świeca, Barbara Baraniak, Urszula Gawlik-Dziki, Anna Jakubczyk, Urszula Złotek</i> Żywe i martwe kultury <i>Lactobacillus rhamnosus</i> jako czynnik modyfikujący potencjał odżywczy i prozdrowotny kiełków soczewicy	268
<i>Joanna Sobolewska-Zielińska, Małgorzata Bączkowiec, Teresa Fortuna, Gabriela Babiś</i> Wpływ dodatku maltodekstryn na właściwości fizykochemiczne i sensoryczne chrzanowych sosów majonezowych ...	277

<i>Agata Znamirowska, Dorota Kalicka, Katarzyna Szajnar, Przemysław Rożek, Małgorzata Pawlos</i> Wpływ czasu przechowywania i fortyfikacji L-pidolanem magnezu na jakość kefirów produkowanych metodą termostatową	287
<i>Dorota Piasecka-Kwiatkowska, Paulina Zielińska, Marta Burzyńska</i> Alergenne właściwości wybranych dolnośląskich nektarowych miodów i pyłków kwiatowych	297
PARTNERZY I SPONSORZY	308

WPŁYW SPOSOBU OTRZYMYWANIA NA ZAWARTOŚĆ BŁONNIKA W PRZECIERACH POMIDOROWYCH

Streszczenie

Celem pracy była ocena zawartości błonnika pokarmowego w produktach pomidorowych typu przecierowego: PI – typowy przecier otrzymany przez przetarcie pomidorów, z odrzuceniem skórek i nasion, PII – produkt powstały przez rozdrobnienie owoców, z pozostawieniem nasion i rozdrobnionych skórek. Oceniono ogólną zawartość błonnika oraz jego frakcję rozpuszczalną i nierozpuszczalną w przecierach otrzymanych z pomidorów odmian o kształcie podłużnym (Dyno F₁ i Caspar F₁) i kulistym (Bersola). Produkty gotowe oceniono bezpośrednio po otrzymaniu oraz po 12-miesięcznym składowaniu. Zawartość błonnika ogółem (TDF) oraz jego frakcji rozpuszczalnej (SDF) i nierozpuszczalnej (IDF) w surowcu świeżym była istotnie wyższa ($p < 0,05$) w odmianach Dyno F₁ i Caspar F₁ niż w owocach odmiany Bersola. Surowiec i produkty z odmiany o owocach podłużnych nie różniły się istotnie zawartością IDF, SDF i TDF. W produktach gotowych takie zróżnicowanie również wystąpiło, z wyjątkiem zawartości NDF w PII12 oraz SDF w PI0 i PI12. Odmienne od pozostałych, zawartość frakcji SDF była większa w produktach po przechowywaniu niż w surowcu i produktach wyjściowych.

Wprowadzenie

Pomidor (*Lycopersicon esculentum* Mill.) należy do rodziny psiankowatych (*Solanaceae*) i wywodzi się z Ameryki Południowej, z rejonu Andów [Sims, 1980]. Do tej rodziny przynależy wiele innych cennych roślin użytkowych, w tym warzywa: papryka i oberżyna, rośliny przemysłowe: ziemniak, tytoń, a także rośliny lecznicze: bielun, lulek czarny, pokrzyk wilcza jagoda [Costa i Huevelink, 2005]. Pomidor do Europy został sprowadzony w pierwszej połowie XVI w. [Peralta i Spooner, 2001]. Początkowo był uważany za roślinę trującą, afrodyzjak albo roślinę dekoracyjną i stosunkowo powoli zaczął być traktowany jako roślina jadalna. W Polsce, pomidora zaczęto uprawiać na szerszą skalę dopiero w połowie XIX w. Obecnie, jest to warzywo najbardziej rozpowszechnione w uprawie i przetwórstwie na skalę przemysłową [Polese, 2008; Buchter-Weisbrodt, 2013]. O tej popularności decyduje przede wszystkim wiele możliwości jego wykorzystania. Pomidor może być spożywany w stanie świeżym, na

surowo oraz po przetworzeniu na wiele różnych sposobów, w tym jako utrwalone produkty otrzymane wyłącznie z pomidorów (soki, przeciery, koncentraty, pomidory całe lub w kawałkach, w soku lub w zalewie octowej), pomidory suszone (proszek, płatki, kawałki lub w całości) oraz produkty na bazie pomidorów (zupy, sosy, keczupy) [Costa i Huevelink, 2005].

Przetwory z tego warzywa należą, po sokach owocowych, do najchętniej spożywanych produktów wśród przetworzonych owoców i warzyw w krajach Unii Europejskiej, a także w Polsce [Nosecka, 2004; Eurostat, 2016]. W Polsce, na początku obecnej dekady poziom spożycia pomidorów szacowano na około 10 kg, przy ogólnej konsumpcji warzyw świeżych i przetworzonych wynoszącej około 60 kg/osobę [Trajer i Dyngus, 2013]. Spośród przetworów pomidorowych, szczególnym popytem cieszą się soki. Soki te, zaliczane do wyrobów typu przecierowego, są produkowane z surowca świeżego lub są odtwarzane z zagęszczonego przecieru (koncentratu pomidorowego) [Ostasiewicz i Piecyk, 2009]. Popularność soku pomidorowego spowodowała, że jest on, w myśl przepisów o jakości handlowej, traktowany łącznie z sokami owocowymi, a pomidory są uważane za owoce [Rozporządzenie MRiRW, 2013].

Owoce pomidora są cenione za smak, walory kulinarne, właściwości zdrowotne i dietetyczne, w tym za małą kaloryczność, zasobność w witaminy i składniki mineralne. Wśród składników odżywczych na uwagę zasługuje duża zawartość likopenu, który jest podstawowym ilościowo karotenoidem, i potasu, na którego przypada prawie połowa zawartości wszystkich składników popielnych. Pomidor, szczególnie w stanie świeżym, może być również cennym źródłem witaminy C. Ważnym składnikiem, z punktu widzenia właściwości organoleptycznych i technologicznych, są kwasy zawarte w pomidorach. Ich ilość i forma występowania powoduje, że pH surowca świeżego wynosi około 4,0-4,2 [USDA, 2016]. Taka wartość pH powoduje, że pomidory są zaliczane do żywności kwaśnej. Dzięki temu mogą być one w łatwy sposób utrwalane, z wykorzystaniem pasteryzacji, nawet w warunkach domowych. Znaczącym składnikiem suchej masy pomidora są również substancje tworzące błonnik [Causse i in., 2006]. Występuje on przede wszystkim w skórce i w nasionach jednak w myśl przepisów o jakości handlowej soków te części owoców muszą być oddzielone od soku w procesie jego wytwarzania i nie mogą wchodzić w skład gotowego produktu.

Celem pracy była ocena jak proces technologiczny wytwarzania przecieru pomidorowego, w którym odrzuca się lub pozostawia nasiona i skórki w gotowym produkcie, wpływa na zawartość błonnika pokarmowego i jego frakcji rozpuszczalnej i nierozpuszczalnej.

Material i metody

Material

Materiałem badawczym były pomidory świeże oraz produkty pomidorowe o charakterze przecierów. Oceniono surowiec i produkty z trzech odmian: Dyno F₁ i Caspar F₁ (owoce podłużne) oraz Bersola (owoce o kulistym kształcie). Owoce o kształcie podłużnym, popularnie określane jako typ lima, uprawiane w warunkach polowych, są odmianami zalecanymi do przetwórstwa, a owoce o kształcie kulistym są traktowane jako ogólnoużytkowe. Przygotowano dwa rodzaje produktów przecierowych: PI – typowy przecier otrzymany przez rozdrobnienie i przetarcie całych owoców pomidora, z odrzuceniem skórek i nasion; PII – produkt powstały przez rozdrobnienie całych owoców, z pozostawieniem nasion i rozdrobnionych skórek. Przeciery utrwalono przez pasteryzację w temp. 96-98°C przez 12 min, w butelkach szklanych z zamknięciem twist-off o pojemności 330 ml. Produkty gotowe oceniono bezpośrednio po otrzymaniu oraz po 12-miesięcznym składowaniu w temperaturze 16-18°C, bez dostępu światła.

Metody

Skład frakcji błonnika pokarmowego (błonnik rozpuszczalny - SDF, nierozpuszczalny - IDF oraz błonnik ogółem - TDF) oznaczono metodą enzymatyczną przy zastosowaniu procedury i zestawu enzymów α -amylazy, proteazy i amyloglukozydazy Megazyme®. Powyższa procedura bazuje na metodach: AOAC 985.29, 991.42 i 43, 003.19 oraz AACC 32-05, 32-06, 32-07, 32-21. Poprawność oznaczeń weryfikowano przy pomocy zestawu kontrolnego TDF [Megazyme, 2012]. Zawartość frakcji rozpuszczalnej i nierozpuszczalnej błonnika skorygowano o zawartość białka, popiołu i ślepą próbę. Wszystkie oznaczenia przeprowadzono w trzech niezależnych próbach. Istotność różnic między średnimi oceniono za pomocą jednoczynnikowej analizy wariancji i testu Tukey'a, dla $\alpha = 0,05$.

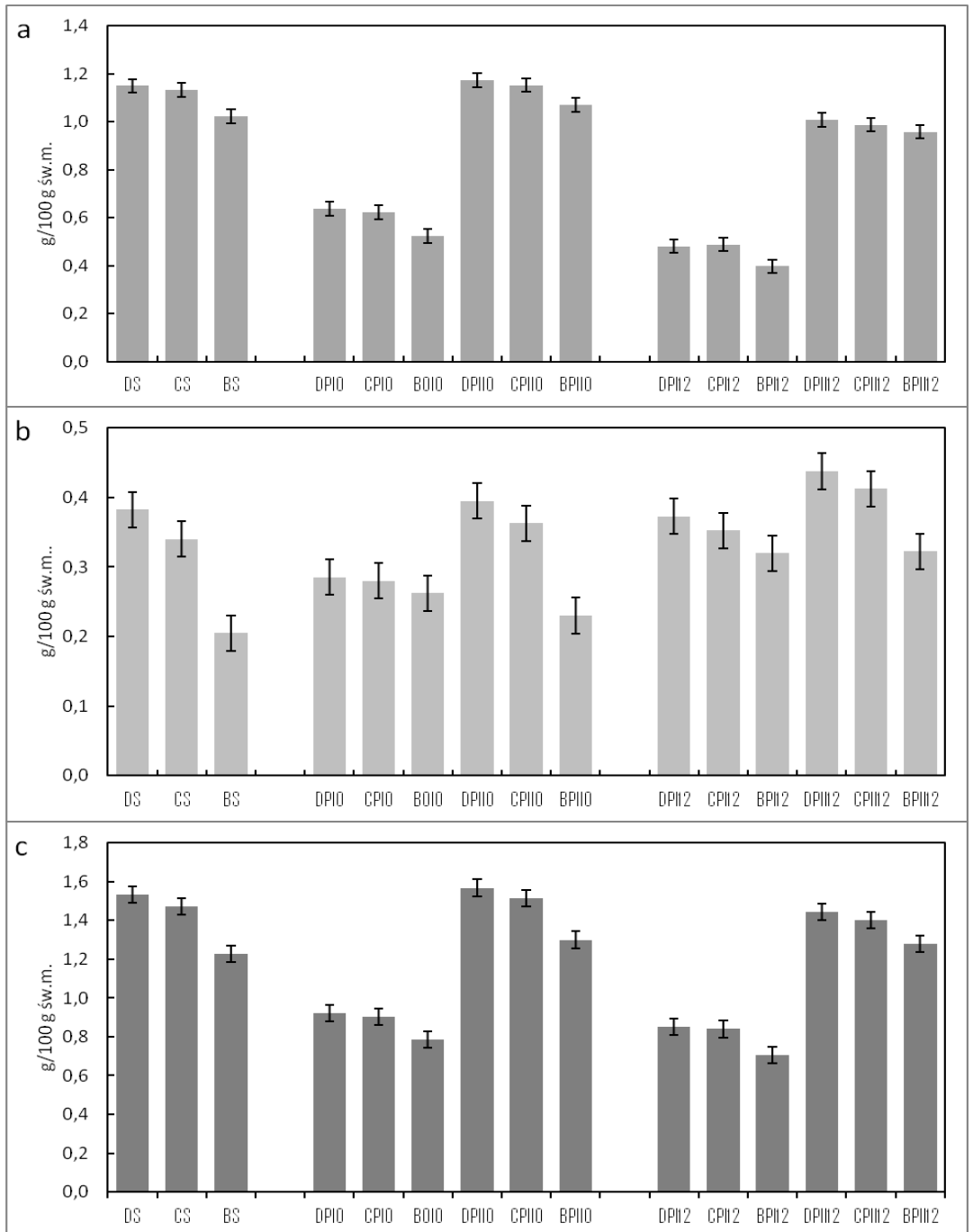
Wyniki

Zawartość błonnika ogółem (TDF) oraz jego frakcji rozpuszczalnej (SDF) i nierozpuszczalnej (IDF) w surowcu świeżym była istotnie wyższa ($p < 0,05$) w odmianach o owocach podłużnych Dyno F₁ i Caspar F₁ niż w odmianie o owocach kulistych – Bersola (Rys. 1). Odmiany o owocach podłużnych nie różniły się istotnie zawartością błonnika ogółem. W surowcu świeżym zawierały one średnio o 22% więcej TDF niż odmiana o owocach kulistych. Zróżnicowanie w zawartości TDF na korzyść odmian Dyno i Caspar utrzymało się również w produktach gotowych. Bezpośrednio po rozdrobnieniu, przetarciu i utwaleniu pomidorów, w tradycyjnych produktach przecierowych (PI) z odmian o owocach podłużnych TDF było istotnie więcej, średnio o 33%, a przecierach, w których pozostawiono pestki i rozdrobnione skórki o 19%. W produktach przechowywanych przez 12 miesięcy omawiane różnice

zmniejszyły się odpowiednio do 20% i 11%, jednak nadal były one istotne statystycznie ($p < 0,05$). Oddzielenie skórek i nasion podczas przygotowania produktu PI skutkowało podobnym u wszystkich odmian znaczącym obniżeniem zawartości błonnika ogółem, które wynosiło 39-44% początkowej zawartości w surowcu świeżym. Proces technologiczny otrzymywania i utrwalania produktu gotowego nie miał istotnego znaczenia dla zawartości TDF w produktach zmodyfikowanych PII. Z kolei 12-miesięczne przechowywanie produktów pozostało bez istotnego wpływu na zawartość TDF w produkcie PI oraz w produkcie PII otrzymanym z odmiany kulistej Bersola. W produktach PII z odmian o owocach podłużnych obserwowano niewielkie (8%) jednak istotne obniżenie ilości TDF.

Podobne zależności między odmianami pomidorów oraz rodzajami produktów jakie obserwowano w zawartości błonnika pokarmowego ogółem wykazano również w odniesieniu do frakcji nierozpuszczalnej błonnika. W surowcu wyjściowym (S) oraz w produktach bezpośrednio po otrzymaniu i utrwaleniu (PI0 i PII0) i w produkcie PI po przechowywaniu (PI12), odmiany o owocach podłużnych zawierały istotnie więcej IDF, odpowiednio o 11%, 20% i 9% oraz 22%. W produktach po przechowywaniu stwierdzono zmniejszenie zawartości IDF. W produkcie PII wystąpiło ono przede wszystkim w odmianach podłużnych. Doprowadziło to, do zaniku zróżnicowania między produktami z różnych odmian.

W odniesieniu do zawartości frakcji rozpuszczalnej błonnika różnice między odmianami były takie same jak powyżej. W każdym wariantcie doświadczenia zawartość SDF w pomidorach odmiany o owocach kulistych była mniejsza niż w odmianach o owocach podłużnych. W surowcu świeżym i w produktach PII były to różnice istotne statystycznie. Podczas przetwarzania i przechowywania różnice te zmniejszyły się od 77% w surowcu do 32% w produkcie PII12. Odmianą właściwością frakcji SDF był wzrost jej zawartości. W produkcie tradycyjnym PI po początkowym obniżeniu koncentracji SDF w PI0, po przechowywaniu odnotowano powrót do wartości wyjściowych, a w odmianie Bersola nawet większych niż w surowcu świeżym. W produktach PII, zawierających skórki i nasiona zmiany wywołane przetwarzaniem i pasteryzacją były nieistotne, a po rocznym przechowywaniu stwierdzono znaczący wzrost zawartości SDF, w produktach ze wszystkich trzech odmian. Produkty z odmian Dyno i Caspar po przechowywaniu miały więcej SDF niż w surowcu o 14 i 21%, a z odmiany Bersola o 58%.



Rysunek 1. Zawartość błonnika pokarmowego w pomidorach świeżych i przecierach z trzech odmian pomidorów D - Dyno, C - Caspar, B - Bersola (a - błonnik nierozpuszczalny, b - błonnik rozpuszczalny, c - błonnik ogółem, S - pomidor świeży, PI - przecier tradycyjny, PII - przecier z pestkami i skórkami, 0 - bezpośrednio po otrzymaniu, 12 - po 12 miesiącach przechowywania, słupki błędů reprezentuj ą wartośc NIR testu Tukeya)

Dyskusja

Błonnik pokarmowy jest istotnym składnikiem diety człowieka, zarówno u dzieci jak i osób dorosłych [Maćkowska i in., 2016]. Na błonnik pokarmowy składa wiele substancji naturalnie występujących w roślinach i grzybach [Sobieralski i in., 2013; Dodevska i in., 2015]. Są to oligomerowe i polimerowe pochodne węglowodanowe, które w formie niestrawionej przedostają się aż do jelita grubego, gdzie niektóre z nich podlegają częściowym lub całkowitym procesom fermentacyjnym [Jones, 2014]. Zalicza się do nich substancje tworzące frakcję błonnika nierozpuszczalnego (celuloza oraz niektóre ligniny i hemicelulozy) oraz substancje, które po rozpuszczeniu w wodzie tworzą lepkie żele (pektyny, pentozany, gumy i śluzy roślinne, fruktany typu inuliny, niektóre hemicelulozy) [James i Mark, 2010]. Ze względu na udowodnione korzystne oddziaływanie na organizm człowieka, które dotyczy właściwego funkcjonowania przewodu pokarmowego oraz całego organizmu, obecność błonnika jest niezbędna w codziennym pożywieniu [Anderson i in., 2009; Wanders i in., 2011]. Dzielne zapotrzebowanie na ten składnik wg zaleceń WHO i EFSA powinno wynosić co najmniej 25 g [Nishida i in., 2004, EFSA, 2010]. Głównymi źródłami błonnika pokarmowego w prawidłowo skomponowanej racji pokarmowej są warzywa i produkty zbożowe pełnoziarniste [Jones, 2014].

Oznaczona zawartość błonnika w świeżych pomidorach była na ogół zgodna z danymi literaturowymi [Kmieciak i Lisiewska, 2000; USDA, 2016]. Szacuje się, że substancje błonnikowe stanowią około 20-30% suchej masy pomidorów świeżych [Frusciante i in., 2007; Jorgensen i in., 2012]. W ocenianych przecierach PI, bez skórek i nasion, w porównaniu do surowca świeżego, zawartość TDF wynosiła 56-64% i mieściła się w zakresie wartości podawanych w literaturze, 50-70% [Martin-Belloso i Llanos-Barriobero, 2001; Rani i Khetarpaul, 2009]. Pomimo niewielkiego udziału skórek i nasion w masie pomidorów, poniżej 10%, ale ze względu na dużą zawartość błonnika, 30-54%, ich odrzucenie w procesie technologicznym powoduje znaczący spadek zawartości tego składnika w produktach przetworzonych [Knoblich i in., 2005]. W trakcie przetwarzania, które obejmowało operacje technologiczne o charakterze mechanicznym – rozdrabnianie i przecieranie, a także cieplnym – odpowietrzanie i pasteryzację, w produktach z całych pomidorów nie wykazano znaczących zmian w zawartości frakcji błonnika. Niewielki przyrost ich zawartości mógł wynikać z odparowania wody w trakcie przerobu lub napełniania opakowań. Jak wskazują doniesienia literaturowe oddziaływanie wysokiej temperatury na substancje błonnikowe występujące w surowcach roślinnych może mieć różnoraki charakter. W produktach poddanych takiej obróbce zawartość błonnika może ulec zmniejszeniu [Florkiewicz i in., 2014] lub może się znacząco zwiększyć [Komolka i in., 2012]. Efekt działania procesów hydrotermicznych na substancje błonnikowe determinowany może być również gatunkiem, rodzajem części użytkowej warzywa [Pupponen-Pimia i in., 2003], a także

czasem obróbki [Joshua, 2012]. Pasteryzacja ocenianych produktów pomidorowych, ze względu na małe opakowania, trwała stosunkowo krótko, 12 minut. Podczas gotowania warzyw liściowych, w niektórych gatunkach dopiero po 15 minutach następowały znaczące obniżenie zawartości błonnika [Joshua, 2012].

Przemiany obserwowane podczas przechowywania produktów gotowych należy przypisać przede wszystkim hydrolizie substancji tworzących błonnik pokarmowy w pomidorach. Procesom tym sprzyja duża zawartość kwasów i niskie pH pomidorów. Na zjawisko hydrolizy błonnika zwracano uwagę również w innych gatunkach warzyw, takich jak groch, marchew, szpinak, warzywa kapustne, gdzie zawartość kwasów w surowcu jest dużo niższa, a pH wyższe [Pupponen-Pimia i in., 2003; Wennberg i in., 2003]. Szczególnie labilnym składnikiem błonnika w pomidorach są pektyny. Jako składnik blaszki środkowej w tkance roślinnej występują one zarówno w skórce, jak i w tkance mezokarpu, są także składnikiem serum wypełniającego komory nasienne, w związku z tym w świeżych pomidorach są one obecne w nierozpuszczalnej i w rozpuszczalnej frakcji błonnika [Sila i in., 2009]. Ubytki SDF w produktach PI0 można więc wiązać z hydrolizą pektyn rozpuszczalnych już w trakcie ich wytwarzania i pasteryzacji. Natomiast wzrost SDF po przechowywaniu w PI12 mógł być związany także z hydrolizą pektyn nierozpuszczalnych. Przechodzeniem form nierozpuszczalnych w rozpuszczalne, w procesie technologicznym wytwarzania produktów pomidorowych, można do pewnego stopnia sterować, dobierając odpowiednio temperatury procesów cieplnych. Dzięki temu uzyskuje się różną ich lepkość – większą w sosach i keczupach, mniejszą w sokach [Chong i in., 2015].

Podsumowanie

Zawartość błonnika ogółem oraz jego frakcji rozpuszczalnej i nierozpuszczalnej w surowcu świeżym była istotnie wyższa ($p < 0,05$) w odmianach o owocach podłużnych niż w owocach kulistych. Surowiec i produkty z odmiany o owocach podłużnych nie różniły się istotnie zawartością poszczególnych frakcji błonnika. W produktach gotowych takie zróżnicowanie jak w surowcu również wystąpiło, z wyjątkiem zawartości błonnika nierozpuszczalnego w PII12 oraz rozpuszczalnego w PI0 i PI12. Odmienne od pozostałych frakcji, zawartość błonnika rozpuszczalnego była większa w produktach po przechowywaniu niż w surowcu i produktach wyjściowych.

Badania zostały sfinansowane z dotacji przyznanej przez MNiSW na działalność statutową.

Literatura

1. Anderson J.W., Baird P., Davis R.H., Ferreri S., Knudtson M., Koraym A., Valerie Waters W., Williams C.L. Health benefits of dietary fiber. *Nutrition Reviews*, 2009, 67, 188-205.
2. Buchter-Weisbrodt H. Pomidory. Odmiany i uprawa. Wydawnictwo RM, Warszawa, 2013, 80.

3. Causse M., Damidoux R., Rousselle P. Traditional and enhanced breeding for quality traits in tomato. w: Genetic improvements of solanaceous crops. Vol. 2. Tomato. (red. M.K. Razdan, A.K. Mattoo). Science Publishers. Enfield NH, USA, 2006, 153-192.
4. Chong H.H., Simsek S., Reuhs B.L. Chemical properties of pectin from industry hot and cold break tomato products. *Food and Nutrition Sciences*, 2014, 5, 1162-1167.
5. Costa J.M., Huevelink E. Introduction: The tomato crop and industry, w: Tomatoes. (red. E. Huevelink). CABI Publishing, Wallingford 2005, 1-19.
6. Dodevska M., Šobajić S., Djordjević B. Fibre and polyphenols of selected fruits, nuts and green leafy vegetables used in Serbian diet. *Journal of the Serbian Chemical Society*, 2015, 80, 21-33.
7. EFSA – European Food Safety Authority. Outcome of the public consultation on the draft opinion of the scientific panel on dietetic products, nutrition, and allergies (NDA) on Dietary Reference Values for carbohydrates and dietary fibre. *EFSA Journal*, 2010, 8, 1508-1569.
8. Eurostat. <http://epp.eurostat.ec.europa.eu/portal/page/portal/eurostat/home>, 2016. (dostęp on-line: 18.04.2016).
9. Florkiewicz A., Filipiak-Florkiewicz A., Topolska K., Cieślak E., Kostogrys R.B. The effect of technological processing on the chemical composition of cauliflower. *Italian Journal of Food Science*, 2014, 26, 275-281.
10. Frusciante L., Carli P., Ercolano M.R., Pernice R., Di Matteo A., Fogliano V. Pellegrini N. Antioxidant nutritional quality of tomato. *Molecular Nutrition and Food Research*, 2007, 51, 609-617.
11. James M.L., Mark D.H. Effects of dietary fiber and its components on metabolic health. *Nutrients*, 2010, 2, 1266-1289.
12. Jones J.M. CODEX-aligned dietary fiber definitions help to bridge the 'fiber gap'. *Nutritional Journal*, 2014, 13, 34-57.
13. Jørgensen H., Bach Knudsen K.E., Lauridsen Ch. Influence of different cultivation methods on carbohydrate and lipid compositions and digestibility of energy of fruits and vegetables. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2012, 92, 2876-2882.
14. Joshua Z.P., Timothy A.G., Suleiman M.M. The effect of cooking time on the vitamin c, dietary fiber and mineral compositions of some local vegetables. *Science World Journal*, 2012, 7, 29-30.
15. Kmiecik W., Lisiewska Z. Studies on the morphological traits and chemical composition of the fruit of six tomato cultivars recommended as raw material for freezing. *Nahrung/Food*, 2000, 44, 349-353.
16. Knoblich M., Anderson B., Latshaw D. Analyses of tomato peel and seed byproducts and their use as a source of carotenoids. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2005, 85, 1166-1170.
17. Maćkowska K., Walkowiak-Torlińska N., Torlińska B. Dietary fibre as an important constituent of the diet. *Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej*, 2016, 70, 104-109.
18. Komolka P., Górecka D., Dziedzic K. The effect of thermal processing of cruciferous vegetables on their content of dietary fiber and its fractions. *Acta Scientiarum Polonorum, s. Technologia Alimentaria*, 2012, 11, 347-354.
19. Martin-Belloso O., Llanos-Barriobero E. Proximate composition, minerals and vitamins in selected canned vegetables. *European Food and Research Technology*, 2001, 212, 182-187.
20. Megazyme. Total dietary fibre. Assay procedure. Megazyme International, Wicklow, 2012, 19.
21. Nishida C., Uauy R., Kumanyika S., Shetty P. Joint FAO/WHO expert consultation. Carbohydrates in human nutrition. Food and Agriculture Organization. World Health Organization. FAO Food and Nutrition. *Public Health and Nutrition*, 2004, 7, 245-250.
22. Nosecka B. Wsparcie przetwórstwa pomidorów w UE (cz.I) – sytuacja obecna. *Hasło Ogrodnicze*, 2004, 1, 28-29.
23. Ostasiewicz A., Piecyk M. 2009. Soki pomidorowe – charakterystyka i właściwości przeciwnutleniające. *Przemysł Fermentacyjny i Owocowo-Warzywny*, 2, 28-29.
24. Peralta I. E., Spooner D. M. History, origin and early cultivation of tomato (*Solanaceae*), w: Genetic improvements of solanaceous crops. Vol. 2. Tomato. (red. M.K. Razdan i A.K. Mattoo). Science Publishers. Enfield NH, USA, 2006, 1-24.
25. Polese J.M. Pomidory. Odmiany i uprawa. Wydawnictwo RM, Warszawa 2013, 94.
26. Puupponen-Pimia R., Hakkinen S.T., Aarni M., Suortti T., Lampi A-M., Eurola M., Piironen V., Nuutila A.M., Oksman-Caldentey K-M. Blanching and long-term freezing affect various bioactive compounds of vegetables in different ways. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2003, 83, 1389-1402.

27. Rani V., Khetarpaul N. Nutrient composition of tomato products prepared using tomato grown under sodic condition with gypsum and farmyard manure treatment. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2009, 89, 2601-2607.
28. Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dn. 8 lutego 2013 r. zmieniające rozporządzenie w sprawie szczegółowych wymagań w zakresie jakości handlowej soków i nektarów owocowych. Dz. U. 2013, poz. 327.
29. Sila D.N., Van Buggenhout S., Duvetter T., Fraeye I., De Roeck A., Van Loey A., Hendrickx M. Pectins in processed fruit and vegetables: Part II - Structure-function relationships. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 2009, 8, 86-104.
30. Sims W.L. History of tomato production for industry around the world. *Acta Horticulturae*, 1980, 100, 1-25.
31. Sobieralski K., Siwulski M., Sas-Golak I. Potential utilisation of vegetables and mushrooms as components of functional food. *Folia Horticulturae*, 2013, 25, 79-88.
32. Trajer M., Dyngus M. Krajowa produkcja, spożycie oraz promocja owoców i warzyw. *Biuletyn Informacyjny Agencji Rynku Rolnego*, 2013, 3, 14-25.
33. USDA – United States Department of Agriculture, Agricultural Research Service, National Nutrient Database for Standard Reference Release 28, 2016 (dostęp on-line: 18.04.2016).
34. Wanders A.J., van den Borne J.J.G.C., de Graaf C., Hulshof T., Jonathan M.C., Kristensen M., Mars M., Schols H.A., Feskens E.J.M. Effects of dietary fibre on subjective appetite, energy intake and body weight: a systematic review of randomized controlled trials. *Obesity Reviews*, 2011, 12, 724-739.
35. Wennberg M., Engqvist G., Nyman E. Effects of boiling on dietary fiber components in fresh and stored white cabbage (*Brassica oleracea* var. *capitata*). *Journal of Food Science*, 2003, 68, 1615-1621.

WPŁYW DODATKU ARABINOKSYLANÓW O RÓŻNEJ MASIE CZĄSTECZKOWEJ NA WŁAŚCIWOŚCI CHLEBÓW ŻYTNICH WYPIECZONYCH METODĄ ODROZONEGO WYPIEKU

Streszczenie

Celem pracy było przebadanie wpływu dodatku arabinoksylianów (AX) o różnej masie cząsteczkowej, na właściwości chlebów wypieczonych metodą odroczonego wypieku. Aby ten cel zrealizować do wypieku odroczonego wykorzystano wzbogaconą w arabinoksyliany mąkę żytnią, zawierającą AX o różnej masie cząsteczkowej - naturalne i usieciowane.

Na podstawie przeprowadzonych badań stwierdzono, iż zastosowanie 10% udziału wzbogaconej w AX mąki żytniej, zawierającej AX niemodyfikowane (MP NM) oraz usieciowane (MP CR), niezależnie od typu użytej mąki, przyczyniło się do poprawy jakości chlebów w wypieku odroczonego tj.: zwiększenia objętości i wilgotności ich miękkiszu, przy zmniejszeniu twardości oraz lepszych wynikach oceny organoleptycznej, w stosunku do chlebów kontrolnych (bez dodatku AX).

Słowa kluczowe: wzbogacona w arabinoksyliany mąka żytnia, wypiek odroczonego, chleb żytni, arabinoksyliany

Wprowadzenie

Mąka żytnia typu 1150, jest nowością na polskim rynku, dlatego też badania dotyczące jej udziału w procesie wypieku, zarówno metodami tradycyjnymi, jak i nowoczesnymi, takimi jak metoda odroczonego wypieku, wydają się być szczególnie interesujące, z punktu widzenia zarówno teorii, jak i praktyki. Ze względu na walory żywieniowe, wybór jako obiektu badań mąki żytniej, o różnej zawartości elementów zewnętrznych ziarna żyta, czyli różnej zawartości popiołu (typu 720 i 1150), jest również uzasadniony.

Z punktu widzenia przydatności do wypieku mąki żytniej, największe znaczenie ma kompleks węglowodanowo-amylolityczny, a mniejsze kompleks białkowo-proteolityczny [Gąsiorowski, 1994]. Wśród węglowodanów, najważniejszą rolę w procesie wytwarzania chleba żytniego odgrywają: skrobia [Hoseney i in., 1978] i arabinoksyliany (AX) [Gąsiorowski, 1994], celem zatem wydaje się poszerzenie wiedzy odnośnie ich roli w wypieku chleba żytniego. Należy nadmienić, że dostępna

literatura charakteryzuje te dwa składniki pod wieloma względami, wskazując ich wpływ na cechy wypiekowe mąki, lecz prace te dotyczą głównie mąki pszennej.

Frakcje arabinoksylianów rozpuszczalnych (WEAX) i nierozpuszczalnych (WUAX) w wodzie, które wykazują różnice w budowie chemicznej cząsteczek AX, pełnią również różne funkcje w cieście i pieczywie. Badając wpływ dodanych preparatów pentozanów rozpuszczalnych w wodzie, wyizolowanych z ziarna żyta i pszenicy oraz nierozpuszczalnych pentozanów pszennych na właściwości ciast pszennych, stwierdzono wzrost absorpcji wody, czasu rozwoju i mieszenia ciasta. Jednakże, aby uzyskać ten efekt należy zastosować odpowiednią dawkę preparatu [Izydorczyk i Biliaderis, 1995]. Stopień w jakim AX absorbują wodę zależy od różnic strukturalnych, głównie masy cząsteczkowej AX, wchodzących w skład preparatów [Clemput i in., 1993, Izydorczyk i Biliaderis, 1995].

Z przeprowadzonych badań wynika, iż tylko rozpuszczalne AX wywierają pozytywny wpływ na objętość chleba [Izydorczyk i Biliaderis, 1995]. Natomiast AX nierozpuszczalne w wodzie, w opinii wielu autorów, nie wywierają znaczącego wpływu na objętość chleba pszennego lub ich wpływ jest negatywny [Krishnaray i Hosene, 1994]. Ponadto stwierdzono, że korzystny efekt AX rozpuszczalnych na objętość chleba pszennego, uzależniony jest nie tylko od ich ilości, ale także od ich masy cząsteczkowej [Vanhamel i in., 1993, Izydorczyk i Biliaderis, 1995]. Istotne jest również środowisko, w którym działają te polisacharydy, z uwagi na interakcje pomiędzy składnikami mąki [Biliaderis i in., 1995].

Ze względu więc na pozytywną rolę jaką odgrywają AX w pieczywie, szczególnie żytnim, aby zwiększyć ich udział w cieście, można i należy stosować dodatek tych związków, wyizolowanych z ziarna żyta. Poprawa jakości pieczywa zależy jednak w dużym stopniu nie tylko od rodzaju, ilości, ale także właściwości preparatów AX uzyskanych w wyniku izolacji [Fengler i Marquardt, 1988; Girhammar i Nair, 1995; Delcour i in., 1999; Hartmann i in., 2005; Buksa i in., 2012]. Ze względu na znaczną, pozytywną rolę AX rozpuszczalnych w wodzie, stosowanych jako dodatki do mąki, celowe jest poszukiwanie sposobów ich pozyskiwania, nie tylko metodami laboratoryjnymi, jak to zostało scharakteryzowane w publikacjach [Fengler i Marquardt, 1988; Girhammar i Nair, 1995; Delcour i in., 1999; Hartmann i in., 2005; Buksa i in., 2012], ale również przemysłowymi np. metodą separacji powietrznej cząstek mąki, przy zachowaniu właściwości, jakimi charakteryzują się te związki naturalnie obecne w mące.

Aby uzyskać lepsze i bardziej przewidywalne efekty stosowania AX można poddać je modyfikacji [Buksa i in., 2012]. Taka modyfikacja jest możliwa poprzez działanie czynnikami modyfikującymi na mąkę, w skład której wchodzi AX [Buksa i in., 2015] lub też modyfikacji mogą zostać poddane AX po ich uprzednim wyizolowaniu z mąki żytniej [Buksa i in., 2012; Buksa i in., 2013; Buksa i in., 2016].

Potraktowanie frakcji mąki żytniej, złożonej głównie z pentozanów nierozpuszczalnych w wodzie, hemicelulazami, w skład których wchodzi endoksylnaza, prowadzi do zwiększenia objętości chlebów żytnich. Z kolei równoczesna hydroliza obydwu frakcji pentozanów (nierozpuszczalnych i rozpuszczalnych w wodzie) nie prowadzi do wzrostu objętości chleba żytniego [Kuhn i Grosch, 1988].

Innym sposobem poprawy właściwości ciasta, stosowanym szczególnie przy produkcji chleba pszennego, jest stosowanie dodatku do mąki czynników o działaniu utleniającym. Takie działanie umożliwia poprawę jakości „słabej” mąki pszennej, głównie za sprawą sieciowania białek glutenowych [Kieffer i in., 1981]. Zdolność do sieciowania stwierdzono także w przypadku AX - zarówno frakcji rozpuszczalnej w wodzie, jak i nierozpuszczalnej [Girhammar i Nair, 1995]. Pod wpływem substancji utleniających, za pośrednictwem cząsteczek kwasu ferulowego wchodzących w skład AX, także te węglowodany mogą się łączyć. Prowadzi to do gwałtownego zwiększania ich masy cząsteczkowej, a obecność AX o dużej masie cząsteczkowej, jak wykazano w badaniach ciasta i chleba pszennego, szczególnie pozytywnie wpływa na ich właściwości [Izydorczyk i Biliaderis, 1995].

Badania dotyczące wpływu żytnich AX rozpuszczalnych w wodzie, zróżnicowanych pod względem mas cząsteczkowych, na jakość chleba żytniego uzyskanego metodą odroczonego wypieku, nie były dotychczas prowadzone, a literatura dotycząca odroczonego wypieku koncentruje się zasadniczo na mące pszennej. Ziarno żyta jest jednakże znacznie bogatsze w AX, w porównaniu z ziarnem pszenicy [Gąsiorowski, 1994], a ponadto w cieście żytnim nie tworzy się matryca glutenowa, lecz AX, obok skrobi, są głównym strukturotwórczym składnikiem takiego ciasta.

Dlatego celem pracy było przebadanie wpływu dodatku arabinoksylianów o różnej masie cząsteczkowej, na właściwości chleba wypieczonego metodą odroczonego wypieku. Aby ten cel zrealizować do wypieku odroczonego wykorzystano wzbogaconą w arabinoksyliany mąkę żytnią, zawierającą AX o różnej masie cząsteczkowej, naturalne i usieciowane.

Material i metody

Do badań wykorzystano mąki żytnie typu 720 i 1150: handlowe oraz z przemiału laboratoryjnego ziarna żyta odmiany Amilo, scharakteryzowane w pracy Buksy i in. [2013]. Materiałem badawczym była również wzbogacona w arabinoksyliany (o $M_w = 340\ 000\ \text{g/mol}$) mąka żytnia, uzyskana metodą przemysłową, wyprodukowana w firmie MICROSTRUCTURE Sp. z o. o. na drodze separacji powietrznej mąki żytniej (w pracy oznaczona jako MP NM). Materiał do badań stanowiła również wzbogacona w arabinoksyliany mąka żytnia, zawierająca AX o dużej masie cząsteczkowej (MP CR; $M_w = 360\ 000\ \text{g/mol}$), uzyskane w wyniku modyfikacji polegającej na usieciowaniu AX.

Szczegółową charakterystykę użytych preparatów przedstawiono w pracy Buksy i in. [2015].

Wypiek chleba metodą odroczonego wypieku

Z handlowych mąk żytnich o różnej zawartości popiołu (typu 720 i 1150) sporządzono ciasta i wypieczono modelowe chleby. Według bazowej receptury ciasto na chlebek żytni sporządzano ze: 100 g mąki, wody w ilości oznaczonej farinograficznie (ciasto o konsystencji 150 j.B., oznaczano zgodnie z ICC-Standard No. 115/1), 2% soli, 3% drożdży, 8% kwasu piekarskiego firmy Bionat. Wymieniona receptura była stosowana do sporządzania ciasta i chleba, stanowiącego próbę kontrolną.

Aby scharakteryzować wpływ dodatku pentozanów rozpuszczalnych w wodzie, naturalnych i zmodyfikowanych, na jakość pieczywa żytniego, użyto wzbogaconej w arabinoksylany mąki żytniej zawierającej AX niemodyfikowane (MP NM) oraz usieciowane (o dużej masie cząsteczkowej - MP CR) Przy tworzeniu ciasta, w miejsce mąki dodawano ww. preparaty w ilości 10% masy mąki.

W mieszarce farinografu z badanych mąk sporządzano ciasta o jednakowej konsystencji 150 j.B., z których następnie, po uformowaniu kęsów (60 g) i fermentacji (130 min), wypieczono chleby, w foremkach aluminiowych, w modułowym piecu elektrycznym Miwe Condo, typ C – 52 w temperaturze 230°C i czasie 20 min.

Wypiek odroczonego chlebow przeprowadzono bez dodatku i z dodatkiem preparatów arabinoksylianowych. Receptura i postępowanie podczas przygotowania ciasta i chleba w wypieku odroczonego, była analogiczna jak w przypadku normalnego wypieku, z tą różnicą, iż chleby podpiekano, umieszczając kęsy ciasta w komorze pieca nagrzaną do temperatury 160°C, stopniowo zwiększając temperaturę do osiągnięcia 190°C i przetrzymywano je w 190°C przez 3 min, nie dopuszczając do skolorowania skórki. Następnie tak podpieczone chleby chłodzono do temperatury pokojowej i zamrażano w zamrażarce szokowej, w temperaturze -60°C, do momentu uzyskania temperatury -18°C we wnętrzu bochenków. Zamrożone chleby przechowywano w zamrażalniku (-18°C) przez 2 tygodnie. Po rozmrożeniu w czasie 60 min, chleby dopiekano w 230°C przez 17 min.

Oznaczono upiek (stratę wypiekową) [wg Jakubczyka i Habera, 1981], jak również, po ochłodzeniu, objętość wypieczonego chleba w materiale sypkim, zgodnie z metodyką przedstawioną przez Jakubczyka i Habera [1981] (pomiar wykonywano co najmniej w 4 powtórzeniach), przeprowadzono jego ocenę organoleptyczną (wg PN-A-74108:1996), jak również analizę profilu tekstury miękkiszu testem TPA (PN-ISO 11036:1999), w teksturometrze TAXT.Plus wyposażonym w przystawkę – walec o średnicy $d = 15$ mm. Szybkość przesuwu walca podczas pomiaru wynosiła 5 mm/s, natomiast zagłębienie w miękisz kromki chleba o grubości 3 cm – 10 mm od momentu wykrycia

kontaktu z jego powierzchnią. Oznaczono także wilgotność miększu chlebów metodą AOAC 925.10.

Wyniki poddano analizie statystycznej programem Statistica 10.0 (StatSoft, Tulsa, USA). Przeprowadzono jednoczynnikową analizę wariancji ANOVA. Istotność różnic pomiędzy wartościami średnimi weryfikowano testem Tukeya na poziomie istotności $p = 0,05$.

Wyniki i dyskusja

Wypiek odroczony chlebów wykonano stosując mąki żytnie handlowe typu 720 i 1150 bez i z 10% udziałem (stosowanym w miejsce części mąki) wybranych preparatów wzbogaconej w arabinoksylany mąki żytniej: MP NM i MP CR, a wyniki oznaczeń właściwości chlebów przedstawiono w tabelach 1a i 1b. Chleby wypieczone z mąki typu 720 i 1150 z 10% udziałem MP CR odznaczały się większą stratą upiekową, w porównaniu do kontrolnych bez udziału AX oraz z udziałem MP NM. Udział obydwu rodzajów wzbogaconej w arabinoksylany mąki żytniej (MP NM i MP CR) do mąk typu 720 i 1150, skutkowało zwiększeniem objętości chleba, wilgotności miększu i zmniejszeniem jego twardości, przy czym w przypadku objętości i wilgotności miększu preparat MP CR był znacznie efektywniejszy (Tab. 1a).

Jedynie preparat MP CR dodany do mąki typu 720 spowodował zmniejszenie adhezyjności miększu, w porównaniu do pozostałych wariantów. Udział zarówno MP NM, jak i MP CR, w cieście na chleb, nie wpłynął znacząco na sprężystość i spójność jego miększu. Zastosowanie MP NM do mąki typu 1150 skutkowało natomiast znaczącym zmniejszeniem żujności miększu w porównaniu do pozostałych próbek.

We wcześniej opublikowanych wynikach badań, dotyczących wypieku tradycyjnego, wykazano, że działanie usieciowanych AX powodowało generalnie pogorszenie właściwości wypiekowych wzbogaconych w ten sposób mąk żytnich [Buksa i in. 2013; Buksa i in. 2015]. Jednakże w wypieku odroczonym, gdzie dochodzi do dużej utraty wody z miększu podczas dwóch etapów wypieku: podpiekania, jak również dopiekania, preparat zawierający usieciowane AX wykazał korzystne działanie, gdyż takie AX, o dużej masie cząsteczkowej, w największym stopniu, spośród badanych preparatów, wiązały wodę.

Wyniki oceny organoleptycznej chlebów wypieczonych w technologii odroczonego wypieku wskazują, iż zastosowanie wzbogaconej w arabinoksylany mąki żytniej, zawierającej AX niemodyfikowane (MP NM), jak i o dużej masie cząsteczkowej (MP CR), w przypadku mąki żytniej typu 720 skutkowało lepszymi wynikami oceny organoleptycznej (Tab. 2), w stosunku do chlebów standardowych, bez dodatku AX.

Warto również podkreślić, iż w porównaniu z danymi literaturowymi, uzyskanymi w zbliżonych warunkach doświadczalnych (taki sam skład i ilość ciasta), wypiek odroczony

Tabela 1a. Właściwości chlebów wypieczonych w odroczonym wypieku

Rodzaj mąki + preparat AX	Upiek [%]		Objętość [cm ³]		Wilgotność miększu [%]		Twardość miększu [N]	
	0%	10%	0%	10%	0%	10%	0%	10%
Mąka typu 720								
MH* - s.**	13,1±0,1 ^a		90,5±1,0 ^a		49,9±0,3 ^a		8,2±0,0 ^a	
MH + MP NM		13,6±0,4 ^a		93,0±1,2 ^b		50,5±0,3 ^b		7,3±0,5 ^a
MH + MP CR		14,9±0,1 ^b		100,0±1,2 ^c		51,9±0,0 ^c		8,0±0,2 ^a
Mąka typu 1150								
MH - s.	14,4±0,0 ^a		73,0±1,2 ^a		55,1±0,4 ^a		12,1 ± 1,0 ^b	
MH + MP NM		14,3±0,2 ^a		79,0±1,2 ^b		55,3±0,1 ^a		8,7±0,2 ^a
MH + MP CR		15,3±0,0 ^b		90,0±1,2 ^c		56,2±0,2 ^b		8,7±0,3 ^a

* MH – mąka żytnia handlowa

** s. – chleb standardowy

a,b,c – wartości średnie oznaczone tymi samymi literami w poszczególnych kolumnach nie różnią się statystycznie istotnie na poziomie istotności p = 0,05

Tabela 1b. Właściwości chlebów wypieczonych w odroczonej wypieku

Rodzaj mąki + preparat AX	Adhezyjność miękiszu		Sprężystość miękiszu		Spójność miękiszu		Żujność miękiszu [N]	
	0%	10%	0%	10%	0%	10%	0%	10%
Mąka typu 720								
MH* - s.**	-15,5±2,4 ^a		0,974±0,058 ^a		0,693±0,001 ^a		5,5±0,3 ^a	
MH + MP NM	-15,0±5,3 ^a		0,877±0,037 ^a		0,702±0,007 ^a		4,5±0,4 ^a	
MH + MP CR	-3,8±0,4 ^b		0,929±0,018 ^a		0,770±0,011 ^b		5,7±0,1 ^a	
Mąka typu 1150								
MH - s.	-54,7±7,0 ^{ab}		0,823±0,051 ^a		0,620±0,019 ^a		6,2±0,7 ^b	
MH + MP NM	-90,8±20,3 ^a		0,801±0,033 ^a		0,603±0,005 ^a		4,2±0,3 ^a	
MH + MP CR	-55,0±1,2 ^{ab}		0,850±0,024 ^a		0,628±0,007 ^a		4,9±0,6 ^{ab}	

Objaśnienia identyczne jak w przypadku tabeli 1a

Tabela 2. Ilość punktów w ocenie organoleptycznej chlebów wypieczonych w odroczonego wypieku

Rodzaj mąki + preparat AX	Ocena organoleptyczna	
	0%	10%
Mąka typu 720		
MH* - s.**	33±0,4 ^a	
MH + MP NM		36±0,5 ^b
MH + MP CR		37±0,2 ^b
Mąka typu 1150		
MH - s.	35±0,4 ^{ab}	
MH + MP NM		34±0,4 ^a
MH + MP CR		34±0,7 ^a

Objaśnienia identyczne jak w przypadku tabeli 1a

chlebów żytnich bez dodatku i z dodatkiem niemodyfikowanych preparatów MP NM spowodował otrzymanie chlebów o mniejszej objętości i gorszych parametrach miękiszu (większej twardości), w porównaniu z wypiekiem tradycyjnym [Tab. 3 w Buksa i in., 2015]. Natomiast 10% udział MP CR w mące użytej do wypieku odroczonego, skutkowało uzyskaniem chleba o lepszej jakości, porównywalnej z jakością chleba wypieczonego w wypieku tradycyjnym, z udziałem tej samej wzbogaconej w arabinoksyłany mąki żytniej, zawierającej AX o dużej masie cząsteczkowej (MP CR).

Podsumowanie

Zastosowanie do sporządzenia ciasta 10% udziału (w stosunku do masy mąki) wzbogaconej w AX mąki żytniej, zawierającej AX niemodyfikowane (MP NM) oraz usieciowane (MP CR), niezależnie od typu użytej mąki, przyczyniło się do poprawy jakości chlebów w wypieku odroczonego tj.: zwiększało objętość i wilgotność ich miękiszu, przy zmniejszeniu jego twardości oraz poprawiło wyniki oceny organoleptycznej, w stosunku do chlebów kontrolnych (bez dodatku AX).

Projekt został sfinansowany ze środków MNiSW przyznanych na podstawie decyzji nr N N312 440837.

Literatura

1. AOAC. Official methods of analysis. 18th edition. Gaithersburg Association of Official Analytical Chemists International; 2006.
2. Biliaderis C. G., Izydorczyk M. S. Rattan O. Effect of arabinoxylans on bread-making quality of wheat flours. Food Chemistry, 1995, 5, 165-171.
3. Buksa K., Nowotna A., Ziobro R. Application of cross-linked and hydrolyzed arabinoxylans in baking of model rye bread. Food Chemistry, 2016, 192, 991-996.

4. Buksa K., Nowotna A., Ziobro R., Gambuś H. Rye flour enriched with arabinoxylans in rye bread making. *Food Science and Technology International*, 2015, 21(1), 45-54.
5. Buksa K., Ziobro R., Nowotna A., Praznik W., Gambuś H. Characteristics of water soluble arabinoxylan preparation obtained using laboratory method. *European Food Research and Technology*, 2012, 235 (3), 385-395.
6. Buksa, K., Ziobro, R., Nowotna, A., Gambuś, H. The influence of native and modified arabinoxylan preparations on baking properties of rye flour. *Journal of Cereal Science*, 2013, 58, 23-30.
7. Delcour J.A., Rouseu N., Vanhaesendonck I.P. Pilot-Scale Isolation of Water-Extractable Arabinoxylans from Rye. *Cereal Chemistry*, 1999, 76, 1-2.
8. Fengler A.I., Marquardt R.R. Water-soluble arabinoxylans from rye: I. Isolation, partial purification and characterization. *Cereal Chemistry*, 1988, 65, 291-297.
9. Gąsiorowski H. Żyto. *Chemia i technologia (Rye. Chemistry and technology)*. Poznań PWRiL 1994.
10. Girhammar U., Nair B.M. Rheological properties of water soluble non-starch polysaccharides from whole grain rye flour. *Food Hydrocolloids*, 1995, 9, 133-140.
11. Hartmann G., Piber M., Koehler P. Isolation and chemical characterization of water – extractable arabinoxylans from wheat and rye during breadmaking. *European Food Research and Technology*, 2005, 221, 487-492.
12. Hosney, R.C., Faubion, J. M. A mechanism for the oxidative gelation of wheat flour water-soluble pentosans. *Cereal Chemistry*, 1981, 48, 5, 421-424.
13. Izydorczyk M.S., Biliaderis C.G. Cereal arabinoxylans: advances in structure and physicochemical properties. *Carbohydrate Polymers*, 1995, 28, 47.
14. Jakubczyk T., Haber T. *Analiza zbóż i przetworów zbożowych*. SGGW – AR 1981.
15. Kieffer R., Matheis G., Hofmann H.W., Belitz H.D. Verbesserung der Backeigenschaften von Weizenmehlen durch Zusätze von Peroxidase aus Meerrettich, H₂O₂ und Phenolen. *Zeitschrift für Lebensmittel-untersuchung und Forschung*, 1981, 173, 376-379.
16. Krishnaray, L. Hosney, R.C. Enzymes increase loaf volume of bread supplemented with starch tailings and insoluble pentosans. *Journal of Food Science*, 1994, 59, 1251-1254.
17. Kuhn M.C., Grosch W. Influence of the enzymatic modification of the nonstarch polysaccharide fractions on the baking properties of reconstituted rye flour. *Journal of Food Science*, 1988, 53, 889-895.
18. Vanhamel S., Cleemput G., Delcour J.A., Nys M., Delcour J.A. Physico-chemical and functional properties of rye non starch polysaccharides. The effect of high molecular weight water solubles on wheat bread quality in a straight dough procedure. *Cereal Chemistry*, 1993, 70, 306-311.

WPŁYW METOD SUSZENIA NA BARWĘ PŁASTRÓW WYBRANYCH ODMIAN JABŁEK

Streszczenie

Celem niniejszej pracy było zbadanie wpływu metod suszenia oraz stosowania różnych roztworów blanszujących na barwę plasterów jabłkowych.

Materiał do badań stanowiło sześć odmian jabłek: 'Idared', 'Honeygold', 'Ligol', 'Idared', 'Szampion' oraz 'Elstar', pochodzących z sadów z Integrowaną Produkcją Ogrodniczą Zakładu Sadowniczego we Wtelnie, z których wyprodukowano w skali laboratoryjnej plastry jabłkowe stosując różne roztwory blanszujące (woda, kwas cytrynowy o stężeniu 0,5%, roztwór inuliny o stężeniu 20% firmy Brenntag-Frutafit TEX) oraz trzy metody suszenia (liofilizacja, metoda konwekcyjna i mikrofalowo-konwekcyjna). Badano barwę metodą organoleptyczną i za pomocą chromometru CR-410 firmy Konica Minolta pracującym w systemie CIE (L^*, a^*, b^*). Istotnie najjaśniejszą barwą charakteryzowały się plastry jabłkowe z odmiany 'Elstar', bez stosowania blanszowania, poddane suszeniu sublimacyjnemu ($L^* 91,30$). Odwrotną zależność uzyskano w plasterach jabłkowych z odmiany 'Honeygold', bez stosowania blanszowania suszonych metodą konwekcyjną ($L^* 48,75$). Istotnie najmniejszym postępowaniem brunatnienia (bezwzględna różnica barwy- ΔE) wynoszącą 6,7 charakteryzowały się plastry jabłkowe uzyskane z odmiany 'Szampion', w których nie zastosowano blanszowania, suszone metodą liofilizacji. Natomiast największym postępowaniem brunatnienia (44,31) charakteryzowały się plastry jabłkowe uzyskane z odmiany 'Honeygold', w których nie zastosowano blanszowania, suszone metodą konwekcyjną. Najlepszą barwą w ocenie organoleptycznej charakteryzowały się plastry wyprodukowane z odmiany 'Elstar' (4,74), a najgorszą 'Honeygold' (3,12) i 'Gloster' (3,17).

Słowa kluczowe: suszenie konwekcyjne, suszenie sublimacyjne, suszenie konwekcyjno-mikrofalowe, blanszowanie, jabłka

Wprowadzenie

W ostatnich latach wzrasta zainteresowanie suszonymi surowcami roślinnymi, które producenci oferują w formie przekąsek, między innymi jako suszone plastry owocowo-warzywne (jabłkowe, marchwiowe i inne). W dobie rozwijającej się żywności funkcjonalnej oraz wygodnej, konsumenci zwracają nie tylko uwagę na cenę produktu oraz wygląd, ale również, czytając etykiety, na jego skład i czy można go szybko i łatwo przygotować do spożycia.

Suszenie wyrobów owocowo-warzwywnych zaliczane jest do najstarszej metody utrwalania żywności. Proces suszenia odgrywa ważną rolę zarówno w przemyśle spożywczym jak i w rolnictwie decydując głównie o jakości otrzymywanych produktów. Odpowiedni dobór parametrów suszenia kształtuje właściwości produktu, co jest ważnym aspektem w przypadku przetwórstwa spożywczego, w tym owocowo-warzwywnego [Ciesielczyk, Kamińska, 2011]. Proces suszenia zapewnia obniżenie aktywności wody w danym produkcie, spowolnienie szeregu reakcji enzymatycznych oraz niekiedy zmniejszenie liczby drobnoustrojów. Podczas suszenia następuje również redukcja masy oraz objętości produktu, co powoduje obniżenie kosztów pakowania, transportu czy magazynowania [Nowacka, Witrowa-Rajchert, 2012]. Produkty suszone zajmują ważne miejsce na rynku, a związane jest to z dużym stopniem spożycia produktów suszonych również jako dodatków do żywności, między innymi zup, jogurtów bądź deserów czy ciast [Łapczyńska-Kordon, Krzysztofik, 2008].

Celem niniejszej pracy było zbadanie wpływu metod suszenia oraz stosowania różnych roztworów blanszujących na barwę plastrów jabłkowych.

Material i metody

Materiał do badań stanowiło sześć odmian jabłek: 'Idared', 'Honeygold', 'Ligol', 'Idared', 'Szampion' oraz 'Elstar', pochodzących z sadów z Integrowaną Produkcją Ogrodniczą Zakładu Sadowniczego we Wtelnie, z których wyprodukowano w skali laboratoryjnej plastry jabłkowe. Jabłka wybierano losowo i krojono w plastry o grubości 3-5 mm. Daje to możliwość ewentualnego porównania wyników badań własnych z wynikami innych naukowców [Rząca i Witrowa-Rajchert, 2007; Lentas i Witrowa-Rajchert, 2008]. Plastry jabłkowe suszono według zaleceń PN-90/A-75101/03 do uzyskania suchej masy na poziomie 93%, z odchyleniem 0,05 g. W przypadku blanszowania plastrów jabłkowych zastosowano następujące warianty: nie zastosowano blanszowania, blanszowano metodą immersyjną w temperaturze 95°C przez 0,5 minuty w wodzie, w kwasie cytrynowym o stężeniu 0,5%, a następnie próby schłodzono oraz zanurzano w roztworze inuliny o stężeniu 20% firmy Brenntag (Frutafit TEX) w temperaturze 40°C przez 30 minut, następnie schłodzono. Suszenie plastrów

jabłkowych bez i po blanszowaniu przeprowadzono za pomocą trzech metod: liofilizacji, konwekcyjną, mikrofalowo-konwekcyjną. Metoda konwekcyjna polegała na suszeniu plastrów jabłkowych w pojedynczej warstwie, w suszarce konwekcyjnej Sup-100 w temperaturze 40°C oraz z prędkością przepływu powietrza wzdłuż warstwy materiału 2 m/s. Suszone plastry zawierały 93% suchej masy. Metoda liofilizacyjna produkcji plastrów jabłkowych w warunkach laboratoryjnych polegała na wstępnym poddaniu plastrów jabłkowych mrożeniu w powietrzu o temperaturze -20°C przez 24 h, a następnie procesowi sublimacji w liofilizatorze Alpha 2-4 LSC firmy Christ, w której kontaktowo ogrzewano próbki w temperaturze półki 20°C i przy obniżonym ciśnieniu do 20 Pa. Pozwoliło to na wysuszenie plastrów do wartości 98% suchej masy. Proces prowadzono do chwili osiągnięcia przez materiał równowagowej zawartości wody. Przyjęto, że materiał osiągnął równowagową zawartość wody, gdy trzy kolejne odczyty nie wykazały zmiany masy materiału [Wesołowski i Markowski, 2000]. W tym celu odłączano szklane kolby z losowo wybranymi próbkami, natychmiast ważono i kontynuowano proces liofilizacji. Ponieważ przy tej metodzie przeważnie nie osiąga się absolutnej stałości masy, suszenie uznaje się za zakończone, gdy różnica kolejnych ważen nie przekracza 0,004 g. Metoda konwekcyjno-mikrofalowa polegała na wstępnym podsuszeniu plastrów jabłkowych w mikrofalówce firmy Sharp o mocy 270 W i temperaturze 40°C. Surowiec do suszenia układano w pojedynczej warstwie, a następnie suszono w suszarce konwekcyjnej Sup-100, co pozwoliło na osiągnięcie zawartości suchej masy na poziomie 94%.

Barwę chipsów jabłkowych określono za pomocą Chromametry CR-410 firmy Konica Minolta pracującego w systemie CIE (L^*, a^*, b^*) względem oświetlenia standardowego C w trzech powtórzeniach, gdzie: L^* - jasność, a^* - barwa od zielonej do czerwonej, b^* - barwa od niebieskiej do żółtej. Różnice w barwie obliczono według wzoru:

$$\Delta E = \sqrt{(\Delta L)^2 + (\Delta a)^2 + (\Delta b)^2}$$

gdzie:

- (ΔL) , (Δa) , (Δb) – wskaźniki różnicy barw (ΔE) powierzchni porównywanych próbek plastrów jabłkowych w odniesieniu do powierzchni barwy plastrów surowych.

Zakresy (ΔE) – wskaźniki własne:

- 5-10 – plastry jasnożółte z nieznacznym zbrunatnieniem na krawędziach,
- 11-20 – plastry jasnobrunatne z widocznym zbrunatnieniem na krawędziach,
- >20 – plastry ciemnobrunatne na całej powierzchni.

Analizy sensorycznej uzyskanych w warunkach laboratoryjnych chipsów jabłkowych dokonała pięcioosobowa grupa przebadana pod względem predyspozycji sensorycznych (zgodnie z PN-EN ISO 8586-2:2008 i PN-ISO 4121:1998). Jednym z parametrów była

barwa oceniana w skali 5-punktowej, gdzie 5 oznaczało barwę charakterystyczną dla użytego surowca, bardzo równomierną, bez plam i przebarwień, 1 – silnie zmienioną, nietypową brunatną.

Wyniki badań poddano analizie statystycznej testem Tukey'a i wyznaczono najmniejsze istotne różnice. Wyniki oceny barwy plastrów poddano analizie wariancji w układzie całkowicie losowym 3-czynnikowym, gdzie 1-szy czynnik stanowiła metoda suszenia, 2-gi sposób blanszowania, 3-ci odmiana jabłek.

Wyniki i dyskusja

W wyniku przeprowadzonej analizy jasności plastrów jabłkowych (parametr L*) stwierdzono istotny wpływ odmiany jabłek, sposobu blanszowania oraz metody suszenia (Tab. 1). Dodatkowo stwierdzono także istotne interakcje pomiędzy badanymi czynnikami.

Istotnie najjaśniejszą barwą charakteryzowały się plastry jabłkowe z odmiany 'Elstar', bez stosowania blanszowania, poddane suszeniu sublimacyjnemu osiągając najwyższą wartość parametru L* 91,30. Natomiast istotnie najmniej jasne były plastry jabłkowe wyprodukowane z odmiany 'Honeygold', bez stosowania blanszowania suszone metodą konwekcyjną osiągając najniższą wartość parametru L* 48,75. Jaśniejsza barwa w ujęciu konsumenckim jest oznaką wysokiej smakowitości wyrobów w porównaniu z produktami ciemniejszymi [Pękośławska-Garstka, Lenart, 2010]. Jednym ze sposobów ograniczenia niekorzystnych zmian barwy jest stosowanie blanszowania, które częściowo niszczy mikroflorę, usuwa powietrze z występujących przestrzeni międzykomórkowych tkanki oraz powoduje inaktywację enzymów, między innymi oksydazy polifenolowej, odpowiedzialnej za procesy ciemnienia [Nowacka, Witrowa-Rajchert, 2011]. Biegańska-Marecik i Czapski [2003] w badaniach dotyczących porównania przydatności odmian jabłek do produkcji plastrów o małym stopniu przetworzenia wykazali, że najmniejszym stopniem ciemnienia charakteryzują się odmiana 'Elstar' i 'Szampion', natomiast najwyższym odmiana 'Gloster' oraz 'Idared'. Podobne zależności zaobserwowano w badaniach własnych, dotyczących plastrów jabłkowych uzyskanych z powyższych odmian. Najjaśniejsze chipsy uzyskano z odmiany 'Elstar', natomiast z odmiany 'Gloster' uzyskano plastry jabłkowe o barwie ciemnobrunatnej. Blanszowanie w badanych roztworach istotnie wpływało na polepszenie barwy plastrów.

Na podstawie analizy statystycznej za pomocą testu Tukey'a stwierdzono istotny wpływ badanych czynników (metoda suszenia, czynnik blanszujący, odmiana jabłek) na bezwzględną różnicę barwy (ΔE) (Tab. 2). Dodatkowo wykazano istotne interakcje pomiędzy badanymi czynnikami. Istotnie najmniejszym postępowaniem brunatnienia, wynoszącym 6,70, charakteryzowały się plastry jabłkowe uzyskane z odmiany

‘Szampion’, w których nie zastosowano blanszowania, a metodą suszenia wykorzystaną do ich uzyskania była liofilizacja.

Tabela 1. Jasność plastrów jabłkowych (parametr L*) w zależności sposobu suszenia, metody blanszowania oraz od odmiany jabłek

Odmiana (C)	Czynnik blanszujący (B)	Metoda suszenia (A)			Średnia
		Liofilizacyjna	Konwekcyjna	Mikrofalowo- konwekcyjna	
Elstar	Bez czynnika	91,30	67,00	74,14	77,48
	Woda	85,74	56,81	73,38	71,98
	Kwas cytrynowy	86,02	58,25	75,43	73,23
	Inulina	82,06	78,71	76,46	79,08
	Średnia	86,28	65,19	74,85	75,44
Honeygold	Bez czynnika	74,78	48,75	65,24	62,92
	Woda	78,19	68,87	64,51	70,52
	Kwas cytrynowy	84,26	75,14	67,31	75,57
	Inulina	79,62	64,08	66,55	70,08
	Średnia	79,21	64,21	65,90	69,77
Ligol	Bez czynnika	77,63	62,07	67,42	69,04
	Woda	87,53	85,81	75,90	83,08
	Kwas cytrynowy	80,35	64,83	78,70	74,63
	Inulina	75,56	72,32	72,06	73,31
	Średnia	80,27	71,26	73,52	75,02
Szampion	Bez czynnika	87,39	64,40	72,87	74,89
	Woda	82,49	66,60	70,08	73,06
	Kwas cytrynowy	80,08	66,57	74,01	73,55
	Inulina	81,05	73,30	74,44	76,26
	Średnia	82,75	67,72	72,85	74,44
Gloster	Bez czynnika	80,37	55,30	54,06	63,24
	Woda	80,61	55,09	59,72	65,14
	Kwas cytrynowy	78,48	63,61	64,88	68,99
	Inulina	73,37	69,97	69,34	70,89
	Średnia	78,21	60,99	62,00	67,07
Idared	Bez czynnika	81,43	64,50	75,12	73,68
	Woda	76,32	56,23	75,71	69,42
	Kwas cytrynowy	80,08	64,86	75,88	73,61
	Inulina	75,85	76,12	71,52	74,50
	Średnia	78,42	65,43	74,56	72,80
Średnia z odmian	Bez czynnika	82,15	60,34	68,14	70,21
	Woda	81,81	64,90	69,88	72,20
	Kwas cytrynowy	81,55	65,54	72,70	73,26
	Inulina	77,92	72,42	71,73	74,02
	Średnia	80,91	80,86	65,80	70,61

NIR przy $p = 0,05$

A – Metoda suszenia

A = 0,39

B = 0,50

C = 0,67

B – Czynnik blanszujący

B/A = 0,85

A/B = 0,77

C/A = 0,95

C – Odmiana jabłek

A/C = 0,77

C/B = 1,34

B/C = 1,20

Tabela 2. Bezwzględna różnica barwy ΔE plastrów jabłkowych w zależności od sposobu suszenia, metody blanszowania oraz odmiany

Odmiana (C)	Czynnik blanszujący (B)	Metoda suszenia (A)			Średnia
		Liofilizacyjna	Konwekcyjna	Mikrofalowo-konwekcyjna	
Elstar	Bez czynnika	5,1	27,23	19,89	23,56
	Woda	11,00	37,19	19,89	22,17
	Kwas cytrynowy	9,44	36,09	19,38	17,83
	Inulina	10,38	14,98	16,71	16,52
	Średnia	8,98	28,87	18,97	20,01
Honeygold	Bez czynnika	20,51	44,31	31,11	27,11
	Woda	13,28	25,95	27,49	20,44
	Kwas cytrynowy	8,61	21,41	25,88	21,06
	Inulina	13,45	30,08	26,90	23,44
	Średnia	13,22	29,55	27,42	24,20
Ligol	Bez czynnika	13,81	31,91	29,30	17,93
	Woda	8,82	27,09	16,64	16,91
	Kwas cytrynowy	16,77	28,40	13,74	20,46
	Inulina	20,71	21,32	21,81	19,82
	Średnia	13,72	27,18	19,55	19,54
Szampion	Bez czynnika	6,70	28,36	21,71	20,21
	Woda	14,98	26,54	22,96	22,08
	Kwas cytrynowy	20,67	27,08	20,23	20,17
	Inulina	11,34	22,28	19,42	18,57
	Średnia	12,43	25,51	20,46	25,13
Gloster	Bez czynnika	14,38	38,57	39,44	29,37
	Woda	11,61	38,55	33,68	27,69
	Kwas cytrynowy	19,60	33,46	29,24	25,51
	Inulina	21,67	24,39	24,67	25,25
	Średnia	15,99	33,35	31,42	23,25
Idared	Bez czynnika	11,94	33,39	26,51	23,35
	Woda	12,89	28,86	23,00	21,60
	Kwas cytrynowy	14,93	29,09	20,80	20,76
	Inulina	16,01	21,73	21,99	20,58
	Średnia	14,07	28,22	23,10	21,63
Średnia z odmian	Bez czynnika	11,94	33,39	26,51	23,35
	Woda	12,89	28,86	23,00	22,15
	Kwas cytrynowy	14,93	29,09	20,80	20,76
	Inulina	16,01	21,73	21,99	20,58
	Średnia	14,07	28,22	23,10	21,92

NIR przy $p = 0,05$

A – Metoda suszenia

A = 0,04

B = 0,05

C = 0,07

B – Czynnik blanszujący

B/A = 0,09

A/B = 0,09

C/A = 0,10

C – Odmiana jabłek

A/C = 0,08

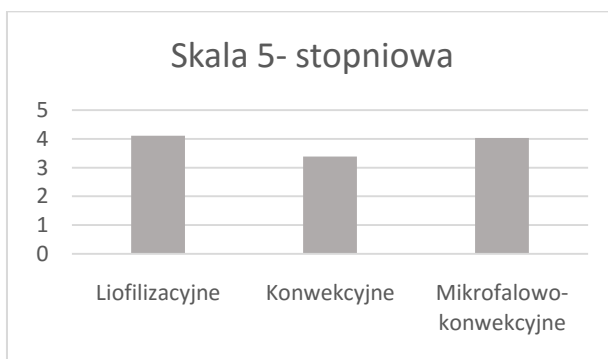
C/B = 0,14

B/C = 0,12

Natomiast największym zaobserwowanym postępowaniem brunatnienia, wynoszącym 44,31, charakteryzowały się chipsy jabłkowe uzyskane z odmiany ‘Honeygold’,

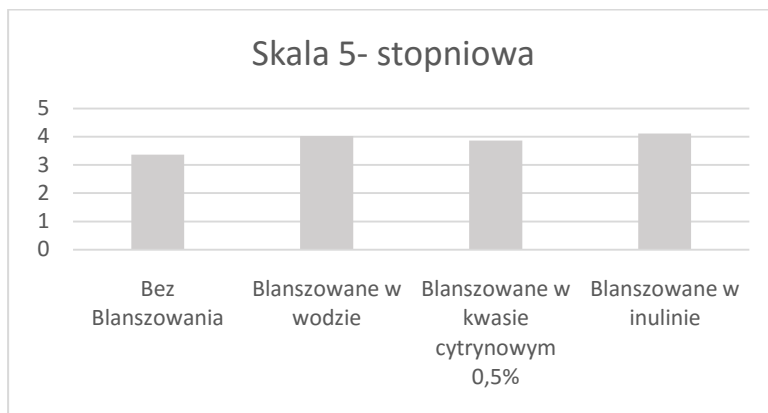
w których - podobnie jak w przypadku odmiany 'Szampion' - nie zastosowano blanszowania, jednakże metodą suszenia wykorzystaną do ich suszenia była metoda konwekcyjna. W odniesieniu do zakresów barwy (ΔE) 7% chipsów jabłkowych charakteryzowało się barwą jasnożółtą z widocznym nieznacznym zbrunatnieniem na krawędziach, 38% chipsów jabłkowych charakteryzowało się barwą jasnożółtą z zauważalnym zbrunatnieniem na krawędziach oraz 55% chipsów jabłkowych charakteryzowało się barwą ciemnobrunatną na całej powierzchni, w których największy procent stanowiły plastry uzyskane metodą konwekcyjną.

Najlepszą barwą ocenianą przez przeszkolony według Polskiej Normy zespół charakteryzowały się plastry uzyskane metodą liofilizacji (4,11), natomiast najgorszą wytworzone metodą konwekcyjną (3,39) (Rys. 1). W zależności od użytego roztworu blanszującego najlepszą barwę miały plastry blanszowane w wodzie (4,02), a najgorszą te, w których nie zastosowano blanszowania (3,37) (Rys. 2). Z kolei biorąc pod uwagę odmianę, najlepszą barwą charakteryzowały się plastry wyprodukowane z odmiany 'Elstar' (4,74), a najgorszą 'Gloster' (3,17) (Rys. 3).

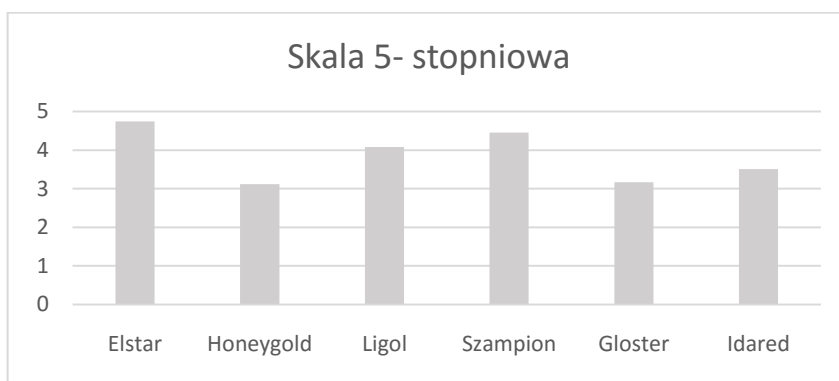


Rysunek 1. Ocena barwy metodą organoleptyczną plastrów jabłkowych w zależności od metody suszenia

Według Rzącej i Witrowej-Rajchert [2010] żywność jest materiałem wrażliwym na działanie wysokiej temperatury, dlatego warunki i parametry procesu suszenia wpływają na jakość suszonych produktów. Tkanka roślinna podczas suszenia ulega niekorzystnym zmianom wywołanym reakcjami chemicznymi tj. brązowieniu nieenzymatycznemu, procesom utleniania i przemianom witamin. Niekorzystne wartości powyższych parametrów wykazano w plastrach suszonych konwekcyjnie, które charakteryzowały się najciemniejszą barwą. Podobne wyniki uzyskali Biegańska-Marecik i Czapski [2003], stwierdzając, że szybciej ciemnieją jabłka wskutek większej zawartości kwasu askorbinowego i aktywności polifenylooksydazy katalizującej reakcje utleniania polifenoli.



Rysunek 2. Ocena barwy metodą organoleptyczną plastrów jabłkowych w zależności od stosowanego roztworu blanszującego



Rysunek 3. Ocena barwy metodą organoleptyczną plastrów jabłkowych w zależności od odmiany

Badania przeprowadzone przez Biller i Zarembę [2007] wykazały, że plastry jabłkowe blanszowanie w wodzie i w wodzie z dodatkiem cukru i kwasu cytrynowego wpływało na wysokość parametru L^* , podobne zależności uzyskano w badaniach własnych. Rząca i Witrowa-Rajchert [2008] w swych badaniach określiły na podstawie parametrów L^* , a^* i b^* podobnie jak w badaniach własnych, bezwzględną różnicę barwy. Wykazały, że im te wartości bardziej odbiegają od wzorca tym bezwzględna różnica barwy jest większa. Uzyskane wyniki obu autorek świadczą, że susz konwekcyjny uzyskał wartość powyżej 10, co znaczy, że nastąpiła znaczna zmiana barwy suszu w porównaniu do jabłka surowego. Potwierdzają to badania własne, gdyż barwa suszu konwekcyjnego wyraźnie odbiegała od barwy jabłka surowego, z kolei barwa plastrów liofilizowanych miała barwę najbardziej zbliżoną do surowego miąższu.

Wnioski

1. Na podstawie uzyskanych wyników można stwierdzić, że parametry i sposoby suszenia oraz wstępna obróbka – blanszowanie, a także właściwości odmianowe istotnie wpływają na zmiany parametrów określających barwę plastrów jabłkowych.

2. Im wyższa wartość parametru L^* tym jaśniejszą barwą odznaczał się susz. Plastry liofilizowane charakteryzowały się jaśniejszą barwą niż plastry suszone konwekcyjnie.

3. Ocena bezwzględnej różnicy barwy ΔE plastrów jabłkowych wykazała, że najbardziej zbliżoną barwę do materiału wyjściowego posiadały plastry liofilizowane, poddane blanszowaniu, a najlepsze odmiany to 'Elstar' i 'Ligo'. Niemniej jednak interakcja wszystkich trzech badanych czynników istotnie wpływała na postępowanie brunatnienia plastrów jabłkowych, dlatego też znajomość reakcji odmianowej umożliwi odpowiedni dobór parametrów suszenia.

Projekt jest finansowany ze środków Europejskiego Funduszu Rozwoju Regionalnego w ramach Regionalnego Programu Operacyjnego Województwa Kujawsko-Pomorskiego na lata 2007-2013 - Voucher Badawczy.

Literatura

1. Biegańska-Marecik R., Czapski J., 2003, Porównanie przydatności wybranych odmian jabłek do produkcji plastrów o małym stopniu przetworzenia. *Acta Scientiarum, Technologia Alimentaria* 2(2), 115-127.
2. Biller E., Zaremba R., 2007. Zmienność poszczególnych wyróżników barwy w czasie przebiegu procesu suszenia jabłek, w zależności od zastosowanej metody blanszowania. *Inżynieria Rolnicza* 5(93), 31-37.
3. Ciesielczyk W., Kamińska A., 2011. Kinetyka suszenia mikrofalowego wybranych warzyw i owoców. *Inżynieria i Aparatura Chemiczna*, tom 50, nr 1, 19-20.
4. Lentas K., Witrowa-Rajchert D., 2008. Wpływ wstępnego nasycania jonami wapnia na wybrane właściwości suszu jabłkowego. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2008, 5 (60), 178-188.
5. Łapeczyńska-Kordon B., Krzysztofik B., 2008. Wpływ sposobów i czasu przechowywania na wybrane właściwości fizyczne jabłek. *Inżynieria Rolnicza* 2(100)/2008, 179-185.
6. Nowacka M., Witrowa-Rajchert D., 2011. Procesy wstępne stosowane przed suszeniem owoców i warzyw. *Przemysł spożywczy*, tom 66, 36-38.
7. Pękosławska-Garstka A., Lenart A., 2010. Wybrane właściwości fizyczne miąższu dyni odwadnianej osmotycznie w roztworach cukrów. *Acta Agrophysica* 16(2), 413-422.
8. PN-A-75101-3 (PN-90/A-75101/03). Ocena zawartości suchej masy.
9. PN-EN ISO 8586-2:2008 Analiza sensoryczna -Ogólne wytyczne wyboru, szkolenia i monitorowania oceniających - Część 2: Eksperti oceny sensorycznej.
10. PN-ISO 4121:1998 Analiza sensoryczna - Metodologia - Ocena produktów żywnościowych przy użyciu metod skalowania.
11. Rząca M., Witrowa-Rajchert D., 2007. Wpływ parametrów suszenia konwekcyjno-mikrofalowego na aktywność przeciwrodnikową jabłek. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość* 5(54), 222-230.
12. Rząca M., Witrowa-Rajchert D., 2008. Zmiany barwy suszu jabłkowego uzyskanego przy wykorzystaniu promieniowania podczerwonego. *Postępy Techniki Przetwórstwa Spożywczego* 1, 1-19.
13. Rząca M., Witrowa-Rajchert D., 2010. Zmiany zdolności przeciwrodnikowej, zawartości polifenoli i barwy w czasie przechowywania suszu jabłkowego uzyskanego przy wykorzystaniu promieniowania podczerwonego., www.małgorzata-nowacka.waw.pl 13.02.2013
14. Wesołowski A., Markowski M., 2000. Badania nad suszeniem jabłek promieniami podczerwonymi. *Inżynieria Rolnicza* 5(16), 249-256.

IMPACT OF DRYING METHOD IN COLOUR OF SLICES OF CHOSEN APPLE VARIETIES

Summary

The aim of this study was to investigate the effect of drying methods and the use of different blanching solutions on the color of apple slices. The research material consisted of six varieties of apples: 'Idared', 'Honeygold', 'Ligol', 'Idared', 'Szampion' and 'Elstar', derived from orchards with Integrated Production Horticultural in firm in Wtelno, which were produced on a laboratory scale apple slices using different solutions blanching (water, citric acid at a concentration of 0.5%, inulin solution at a concentration of 20% Brenntag -Frutafit TEX), and three methods of drying (freeze-drying, convection, microwave-convection), and then evaluated by the color sensory and using Chromameter CR-410, Konica Minolta running in the CIE (L^* , a^* , b^*). Indeed, the brightest color characterized slices of apple varieties 'Elstar', without blanching, subjected to freeze-drying ($L^* 91.30$). An inverse relationship was obtained sliced apple with a variety of 'Honeygold', without blanching dried by convection ($L^* 48.75$). Indeed, the progress of browning of the smallest (absolute difference colour- AE) of 6.7 characterized apple slices derived from 'Szampion', where no blanching dried by lyophilization. In contrast, the greatest progress of browning (44.31), characterized apple slices are obtained from the variety 'Honeygold', where no blanching dried by convection. The best color characterized by slices made from the variety 'Elstar' (4.74) and the worst 'Honeygold' (3.12) and the 'Gloster' (3.17) assessed by organoleptic.

Key words: freeze drying, convection drying and convection-microwave drying, blanching, apple

SŁAWOMIR PIETRZYK¹, ROBERT SOCHA¹, PAWEŁ CHMIEŁOWSKI²,
TERESA FORTUNA¹, ANDRZEJ WROŃSKI¹

¹ *Katedra Analizy i Oceny Jakości Żywności, Wydział Technologii Żywności,
Uniwersytet Rolniczy w Krakowie*

² *Przetwórnia Owoców i Warzyw „PROSPONA” sp. z o.o., Nowy Sącz*

**WPŁYW RODZAJU SYROPU CUKROWEGO UŻYTEGO W TRAKCIE
PRODUKCJI NA STABILNOŚĆ WYBRANYCH PARAMETRÓW JAKOŚCIOWYCH
KANDYZOWANEJ SKÓRKI POMARAŃCZOWEJ**

Streszczenie

Celem pracy było określenie wpływu rodzaju syropu cukrowego na stabilność parametrów jakościowych owoców kandyzowanych. Materiał do badań stanowiła skórka pomarańczowa wyprodukowana w Przetwórni Owoców i Warzyw "PROSPONA" (Nowy Sącz) kandyzowana sacharozą i syropem glukozowo-fruktozowym oraz ich mieszaną (80% sacharoza i 20 % syrop glukozowo-fruktozowy oraz 20% sacharoza i 80% syrop glukozowo-fruktozowy). W celu określenia stabilności parametrów jakościowych w badanym materiale zaraz po wyprodukowaniu oraz po przechowywaniu 3 i 6 miesięcy w temp. 8°C oznaczono zawartość cukrów (glukozy, fruktozy, sacharozy i maltozy), pH, aktywność wody oraz parametry barwy w systemie CIELab. Na podstawie uzyskanych wyników stwierdzono wyraźny wpływ rodzaju użytego syropu cukrowego do kandyzowania na zmiany badanych parametrów jakościowych przechowywanej skórki pomarańczowej.

Wprowadzenie

Kandyzowanie owoców i warzyw jest rozpowszechnioną metodą stosowaną przez człowieka przedłużania ich trwałości. Wyroby kandyzowane są to produkty otrzymywane z owoców, warzyw świeżych lub mrożonych, odpowiednio przygotowanych i wysyconych roztworem sacharozy, z dodatkiem syropu skrobiowego, glukozy i niekiedy kwasów spożywczych. Z owoców krajowych najczęściej kandyzuje się: czereśnie, wiśnie, brzoskwinie, śliwki, morele, gruszki, jabłka, pigwy, a z owoców południowych: ananasy, melony, pomarańcze oraz skórkę pomarańczową. Owoce kandyzowane wykorzystuje się w przemyśle spożywczym i/lub gastronomii, m.in. jako dodatek do ciast lub ciastek, pieczywa cukierniczego oraz jako dodatki smakowe i zdobnicze w produkcji lodów, deserów i koktajli [Szczurek, 1999; Jarczyk, 1999; Felis, 2003; Pietrzyk i in., 2009].

Syropy glukozowo-fruktozowe są szeroko znanym surowcem dla różnych gałęzi produkcji spożywczej w Polsce i na świecie. Do produkcji tego typu syropów cukrowych

najczęściej jest wykorzystywana skrobia kukurydziana, która ulega hydrolizie enzymatycznej (za pomocą α -amylazy i glukoamylazy) do glukozy, a następnie poddana jest częściowej izomeryzacji do fruktozy. Duże zainteresowanie producentów żywności syropem glukozowo-fruktozowym wynika z jego zalet. Odznacza się on przede wszystkim wysoką rozpuszczalnością w wodzie, małą lepkością roztworu oraz wysoką słodkością. Ponadto produkty spożywcze nimi słodzone charakteryzują się dużą stabilnością mikrobiologiczną oraz mniejszą podatnością na wysychanie w trakcie przechowywania. W przemyśle spożywczym syropy skrobiowe są stosowane między innymi w słodzonych napojach gazowanych i niegazowanych, sokach owocowych, cukierkach, sztucznym miodzie, galaretkach, majonezach, keczupach, pieczywie cukierniczym oraz w produkcji wyrobów mleczarskich i owocowo-warzywnych [Słomińska, 1997; Gawęcki, 2001; Cichosz i in., 2011].

Sacharoza zawarta w wyrobach spożywczych (a przede wszystkim w produktach kandyzowanych) pod wpływem kwaśnego środowiska, wysokiej temperatury oraz w trakcie przechowywania jest podatna na inwersję, czyli rozpad na cząsteczkę glukozy i fruktozy. W wyniku tego procesu może następować odczuwalna zmiana smaku artykułów żywnościowych [Gawęcki, 2001]. W związku z tym cały czas prowadzone są badania na temat dodatku innych substancji słodzących, które mogą podnieść jakość produktów spożywczych i/lub obniżyć ich wartość kaloryczną [Pietrzyk, 2013; Vilela i in., 2016].

Celem pracy było określenie wpływu rodzaju mieszaniny (sacharozy i syropu glukozowo-fruktozowego) użytej do kandyzowania skórki pomarańczowej na stabilność parametrów jakościowych wyrobu gotowego.

Materiał i metodyka

Materiał do badań stanowiła skórka pomarańczowa wyprodukowana w Przetwórni Owoców i Warzyw "PROSPONA" (Nowy Sącz, Polska) zgodnie z zastrzeżoną przez producenta technologią, w której do kandyzowania owoców wykorzystano sacharozę i syrop glukozowo-fruktozowy oraz ich mieszaniny (20% sacharoza i 80% syrop glukozowo-fruktozowy oraz 80% sacharoza i 20% syrop glukozowo-fruktozowy). W celu określenia stabilności parametrów jakościowych produktu gotowego zaraz po wyprodukowaniu oraz po 3 i 6 miesiącach przechowywania w temp. 8°C, w badanym materiale oznaczono zawartość: glukozy, fruktozy, sacharozy i maltozy. Do oznaczeń zawartości cukrów wykorzystano zestaw do wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC) firmy Merck Hitachi (Japonia) w odwróconym układzie faz, przy użyciu kolumny Purospher STAR NH₂ 250×4,5µm. Analizę chromatograficzną przeprowadzono z wykorzystaniem rozpuszczalnika (stosunek objętościowy 80% acetonitrylu do 20% wody) z prędkością przepływu 1 cm³/min, w temperaturze rozdziału na kolumnie 30°C.

W celu identyfikacji analizowanych cukrów wykorzystano detektor refraktometryczny, a na kolumnę jednorazowo наносono 20 μ l próbki. Ponadto w badanym materiale określono kwasowość aktywną (pH) zgodnie z PN-90/A-75101/06, aktywność wody za pomocą urządzenia LabSwift-aw (Novasina, Szwajcaria) oraz parametry barwy w systemie CIE $L^*a^*b^*$ (geometria pomiarowa $d/8^\circ$, iluminat D65, obserwator 10°) przy użyciu spektrofotometru Color i5 (X-Rite, USA), gdzie L^* - to jasność, a^* - parametr barwy w zakresie od zielonej ($-a^*$) do czerwonej (a^*), b^* - parametr barwy w zakresie od niebieskiej ($-b^*$) do żółtej (b^*). W celu określenia istotności różnic w badanych parametrach fizykochemicznych zastosowano jednoczynnikową analizę wariancji i test Tukey'a na poziomie istotności $\alpha = 0,05$.

Wyniki i dyskusja

W tabeli 1. przedstawiono zawartości cukrów w kandyzowanej skórce pomarańczowej zaraz po wyprodukowaniu oraz po 3 i 6 miesiącach przechowywania w warunkach chłodniczych. Zawartość poszczególnych cukrów była uzależniona od użytej mieszanki kandyzującej. Najwięcej glukozy zawarte było w produkcie słodzonym zarówno samym syropem glukozowo-fruktozowym jak również samym syropem sacharozowym. Pozostałe mieszanki kandyzujące spowodowały natomiast, iż obecność glukozy w produkcie gotowym była o ponad 40% niższa niż w skórce kandyzowanej samym syropem glukozowym lub sacharozowym. Zawartość fruktozy była na tym samym poziomie w produktach gotowych z wyjątkiem skórki pomarańczowej kandyzowanej samym syropem sacharozowym, gdzie zawartość tego cukru była ponad 2 razy większa od pozostałych kandyzowanych skórek. Sacharoza, czego można było się spodziewać, była w produktach kandyzowanych samym syropem sacharozowym lub w produktach kandyzowanych mieszaniną z jego udziałem. Dostyc ciekawym spostrzeżeniem było natomiast to, że najwięcej sacharozy było w skórce kandyzowanej mieszaniną sacharozy z 20% zawartością syropu glukozowo-fruktozowego, a nie w skórce kandyzowanej samą sacharozą. Obecność maltozy natomiast stwierdzono w produktach, które kandyzowano syropem glukozowo-fruktozowy lub mieszaniną z jego dodatkiem. Jej zawartość była najwyższa w skórce kandyzowanej samym syropem glukozowo-fruktozowym i malała wraz ze zmniejszającym się jego udziałem w mieszance kandyzującej. Obecność maltozy w produktach kandyzowanych z udziałem syropu glukozowo-fruktozowego była potwierdzeniem deklarowanej przez producenta jej obecności w nim. W przetwórstwie owocowo-warzywnym roztwory cukrów stosowane do kandyzowania mają ekstrakt mieszczący się w granicach od 30 do 75% [Szczurek, 1995; Jarczyk, 1999], czego potwierdzeniem były wyniki ogólnej zawartości cukrów (56-75%) uzyskane w produkcie gotowym. Po trzech miesiącach przechowywania skórki kandyzowanej nie stwierdzono większych zmian w zawartości analizowanych cukrów, co prawdopodobnie wynikało

z zastosowania temperatur chłodniczych. Jedynie znaczący wzrost zawartości fruktozy stwierdzono w produktach kandyzowanych samym syropem glukozowo-fruktozowym, a sacharozy natomiast w produktach kandyzowanych syropem z jej udziałem. Małe zmiany zawartości glukozy stwierdzono również po 6 miesiącach przechowywania. Jedynie w skórce kandyzowanej samym syropem sacharozowym nastąpił znaczny wzrost jej zawartości. Zawartość fruktozy po 6 miesiącach przechowywania zmniejszyła się w każdym produkcie. W przypadku sacharozy natomiast po 6 miesiącach przechowywania nastąpił jej znaczny wzrost w produkcie kandyzowanym mieszaniną 80% sacharozy i 20% syropu glukozowo-fruktozowego. Po 6 miesiącach przechowywania stwierdzono wzrost zawartości maltozy w skórce pomarańczowej kandyzowanej mieszaniną sacharozy i syropu glukozowo-fruktozowego (w stosunku ilościowym 20% do 80%), natomiast w produkcie kandyzowanym mieszaniną sacharozy i syropu cukrowego (80% do 20%) nie stwierdzono już obecności maltozy. Zmiany zawartości cukrów w owocach kandyzowanych w czasie przechowywania były prawdopodobnie następstwem hydrolizy cukrów pochodzących nie tylko z syropu kandyzującego oraz sacharozy, ale również z cukrów, które naturalnie występują w owocach. Gliemmo i in. [2001] wykazali, że w sokach (środowisko kwaśne) może następować hydroliza sacharozy w trakcie przechowywania. Stwierdzony wzrost zawartości sumy cukrów (Tab. 1) w trakcie przechowywania skórki pomarańczowej był prawdopodobnie spowodowany ubytkiem wody (parowanie), gdyż produkty te były przechowywane w opakowaniach nie zamkniętych hermetycznie.

Jednym z parametrów żywności, który decyduje o trwałości produktu w trakcie przechowywania, jest jego kwasowość aktywna, czyli pH. Niska wartość pH dla produktów owocowo-warzywnych niskosłodzonych i wysokosłodzonych jest ważna ze względu na dobór metody przedłużenia ich trwałości. W tabeli 2 przedstawiono wartości pH w badanych produktach kandyzowanych. Wartość pH wszystkich produktów zaraz po wyprodukowaniu była niska (4,66-4,76) i rodzaj zastosowanego syropu do kandyzowania nie miał wpływu na ten parametr. Jest to potwierdzenie naszych wcześniejszych badań [Pietrzyk i in., 2014], gdzie stwierdzono, iż rodzaj syropu wykorzystanego do kandyzowania owoców nie wpływa na pH oraz na kwasowość ogólną skórki pomarańczowej. Po przechowywaniu zarówno po 3, jak i po 6 miesiącach stwierdzono obniżenie wartości pH we wszystkich produktach kandyzowanych, z czego w pierwszych trzech miesiącach ta zmiana była większa, bo średnio około 20% w porównaniu do produktu świeżego. Obniżenie kwasowości aktywnej w pozostałych miesiącach wynosiło średnio ok. 10%, w porównaniu do produktu przechowywanego 3 miesiące. Obniżenie kwasowości badanych produktów prawdopodobnie spowodowane było przemianą (degradacja/utlenianie) cukrów do kwasów organicznych, w wyniku czego zwiększyła się kwasowość czynna.

Tabela 1. Zawartość glukozy, fruktozy, sacharozy i maltozy w kandyzowanej skórce pomarańczowej po wyprodukowaniu, po 3 i 6 miesiącach przechowywania w temp. 8°C

Skórka pomarańczowa kandyzowana w syropie	Glukoza (g/100 g)	Fruktoza (g/100 g)	Sacharoza (g/100 g)	Maltoza (g/100 g)	Suma (g/100 g)
Sacharozowym (100%)	21,52±1,16	18,59±0,89	16,11±0,45	–	56,22±2,51
Sacharozowym (80%) Glukozowo-fruktozowym (20%)	13,98±1,78	9,18±0,13	28,68±0,31	10,38±0,01	62,22±1,98
Sacharozowym (20%) Glukozowo-fruktozowym (80%)	15,00±1,01	6,84±1,15	6,65±0,26	28,10±1,46	56,61±0,98
Glukozowo-fruktozowym (100%)	24,89±1,39	6,82±0,43	–	43,52±2,95	75,01±3,60
NIR _{0,05}	5,58	3,11	1,24	6,14	10,00
Po 3 miesiącach przechowywania					
Sacharozowym (100%)	22,48±0,22	20,67±0,25	19,50±0,29	–	62,66±0,18
Sacharozowym (80%) Glukozowo-fruktozowym (20%)	13,18±1,38	10,37±0,11	32,15±0,30	9,05±0,98	64,76±2,19
Sacharozowym (20%) Glukozowo-fruktozowym (80%)	17,62±0,07	5,52±0,04	10,32±0,13	28,59±1,74	62,06±1,72
Glukozowo-fruktozowym (100%)	19,43±0,04	12,06±0,47	–	48,57±2,02	80,07±1,59
NIR _{0,05}	2,86	1,12	0,89	5,79	6,53
Po 6 miesiącach przechowywania					
Sacharozowym (100%)	29,95±0,06	13,10±0,11	19,28±0,07	–	62,34±0,12
Sacharozowym (80%) glukozowo-fruktozowym (20%)	16,00±0,12	5,83±0,19	39,99±0,01	–	61,84±0,30
Sacharozowym (20%) glukozowo-fruktozowym (80%)	19,41±1,81	3,48±0,53	6,18±0,23	40,77±0,71	69,86±1,87
Glukozowo-fruktozowym (100%)	23,25±0,86	3,93±0,01	–	48,65±3,16	75,83±4,02
NIR _{0,05}	4,09	1,17	0,50	6,59	9,04

– poniżej poziomu detekcji

NIR_{0,05} – Najmniejsza istotna różnica na poziomie istotności $\alpha = 0,05$.

Dostępność wody i jej wpływ na przebieg reakcji zachodzących w produktach spożywczych można określić na podstawie aktywności wody (a_w), definiowanej jako stosunek prężności pary wodnej nad roztworem do prężności pary wodnej nad czystą wodą w warunkach stałej temperatury i ciśnienia. Aktywność wody ma wpływ na wygląd, zapach, konsystencję, smak oraz podatność wyrobu na zepsucie. Żeby skutecznie odwodnić środowisko produktu i powstrzymać rozwój drobnoustrojów, zaleca się usunięcie wody lub związanie jej poprzez dodanie znacznej ilości sacharozy lub innych cukrów, co powoduje zmniejszenie aktywności wody i zwiększenie ekstraktu w owocach kandyzowanych [Jarczyk i Płocharski, 2010; Kowalska i in., 2011]. Aktywność wody w badanych skórkach pomarańczowych kandyzowanych przedstawiono w tabeli 2. Aktywność wody produktów kandyzowanych syropem glukozowo-fruktozowym lub mieszanką z jego dodatkiem była na zbliżonym poziomie od 0,72 do 0,75. Jedyne wyraźnie mniejszą aktywnością wody charakteryzowała się skórka pomarańczowa kandyzowana samym syropem sacharozowym (0,67), co związane było z jego mniejszą

higroskopijnością w porównaniu do syropu glukozowo-fruktozowego. W trakcie przechowywania przez 3 miesiące nie nastąpiły znaczne zmiany tego parametru (maksymalnie do 5%). Dalsze przechowywanie natomiast spowodowało większe zmiany jedynie w przypadku skórki pomarańczowej kandyzowanej syropem sacharozowym (nieco ponad 5%), a w przypadku produktu kandyzowanego samym syropem glukozowo-fruktozowym nie stwierdzono zmian w tym parametrze. Obniżenie w produktach zawartości wody wolnej (aktywność wody) w trakcie przechowywania spowodowane było jej parowaniem i zwiększeniem udziału suchej substancji, czego potwierdzeniem są wyniki zawartości cukrów przedstawione w tabeli 1.

Barwa jest cechą jakości i atrakcyjności warzyw i owoców. Substancje barwne występujące w produktach roślinnych są związkami o niewielkiej stabilności, ulegającymi przemianom lub rozpadowi pod wpływem niewielkich nawet zmian, np. temperatury, pH, zawartości wody, obecności jonów metali lub tlenu. Ważne zatem jest utrzymanie barwy produktów spożywczych w tym kandyzowanych, nie tylko w trakcie procesu produkcji, ale również w trakcie ich przechowywania. Wpływa to na atrakcyjność organoleptyczną produktu gotowego. Wyniki pomiarów parametrów barwy badanej skórki pomarańczowej kandyzowanej przedstawiono w tabeli 3. Spośród rodzajów wytworzonej skórki kandyzowanej najwyższym parametrem barwy L charakteryzowała się skórka kandyzowana samym syropem sacharozowy. Świadczyło to o wyższej jasności tego produktu w porównaniu do pozostałych. Podobnie było z parametrem a gdzie w tym przypadku również skórka kandyzowana samym syropem sacharozowym miała najwyższą wartość tego parametru, co świadczyło o najwyższym udziale składowej czerwonej w barwie. W przypadku parametru b najwyższą wartością charakteryzowała nie tylko skórka pomarańczowa kandyzowana samym syropem sacharozowym, ale również kandyzowana mieszaniną syropu sacharozowego (20%) i glukozowo-fruktozowego (80%). Znaczy to, że produkty te posiadały najwyższy udział składowej żółtej w barwie. Po 3 miesiącach przechowywania natomiast wszystkie wartości wyznaczanych parametrów L, a, i b zmniejszyły się.

Ciekawym spostrzeżeniem w tym przypadku wydaje się to, iż wszystkie produkty kandyzowane po 3 miesiącach przechowywania miały wartości L, a, b takie same. Odmiennie było po 6 miesiącach przechowywania tych produktów, gdzie najwyższą wartość parametru L miała skórka pomarańczowa kandyzowana syropem sacharozowym, parametru a kandyzowana samym syropem sacharozowym, jak i kandyzowana samym syropem glukozowo-fruktozowym.

Tabela 2. Wartość pH i aktywność wody w kandyzowanej skórce pomarańczowej po wyprodukowaniu, po 3 i 6 miesiącach przechowywania w temp. 8°C

Skórka pomarańczowa kandyzowana w syropie	pH	Aktywność wody
Sacharozowym (100%)	4,74±0,07	0,67±0,00
Sacharozowym (80%)	4,76±0,02	0,75±0,01
Glukozowo-fruktozowym (20%)		
Sacharozowym (20%)	4,66±0,01	0,75±0,01
Glukozowo-fruktozowym (80%)		
Glukozowo-fruktozowym (100%)	4,70±0,04	0,72±0,01
NIR_{0,05}	ns	0,02
Po 3 miesiącach przechowywania		
Sacharozowym (100%)	3,88±0,05	0,67±0,00
Sacharozowym (80%)	3,77±0,07	0,73±0,00
Glukozowo-fruktozowym (20%)		
Sacharozowym (20%)	3,66±0,01	0,73±0,01
Glukozowo-fruktozowym (80%)		
Glukozowo-fruktozowym (100%)	3,69±0,01	0,71±0,00
NIR_{0,05}	0,12	0,02
Po 6 miesiącach przechowywania		
Sacharozowym (100%)	3,31±0,01	0,63±0,01
Sacharozowym (80%)	3,33±0,03	0,71±0,00
Glukozowo-fruktozowym (20%)		
Sacharozowym (20%)	3,29±0,02	0,73±0,00
Glukozowo-fruktozowym (80%)		
Glukozowo-fruktozowym (100%)	3,27±0,01	0,71±0,00
NIR_{0,05}	0,06	0,01

NIR_{0,05} – Najmniejsza istotna różnica na poziomie istotności $\alpha = 0,05$

ns – brak statystycznie istotnych różnic

W przypadku parametru b skórka pomarańczowa kandyzowana syropem sacharozowym i syropem z udziałem 80% sacharozy miały identyczne wartości tego parametru. Wartość parametru b dla skórki kandyzowanej syropem glukozowo-fruktozowym i syropem z 80% jego udziałem także były porównywalne. Obniżenia wartości parametrów a i b podczas przechowywania mogło być związane nie tylko z degradacją substancji barwnych, ale również z odwodnieniem produktu, co dowiedli w swoich badaniach Paślawska i in. [2010].

Tabela 3. Parametry barwy kandyzowanej skórki pomarańczowej po wyprodukowaniu, po 3 i 6 miesiącach przechowywania w temp. 8°C

Skórka pomarańczowa kandyzowana w syropie	Parametry barwy		
	L	A	b
Sacharozowym (100%)	44,79±0,90	6,64±0,55	32,94±1,44
Sacharozowym (80%)	41,23±0,28	5,23±0,31	29,61±0,28
Glukozowo-fruktozowym (20%)			
Sacharozowym (20%)	39,52±0,45	5,72±0,29	32,14±0,88
Glukozowo-fruktozowym (80%)			
Glukozowo-fruktozowym (100%)	40,37±1,26	4,67±0,49	28,05±0,69
NIR _{0,05}	3,31	1,73	3,75
Po 3 miesiącach przechowywania			
Sacharozowym (100%)	36,45±1,90	3,39±0,13	26,48±1,28
Sacharozowym (80%)	33,84±1,15	3,12±0,08	24,74±1,42
Glukozowo-fruktozowym (20%)			
Sacharozowym (20%)	34,82±1,29	3,60±0,47	27,39±0,01
Glukozowo-fruktozowym (80%)			
Glukozowo-fruktozowym (100%)	37,07±0,55	3,82±0,24	26,60±0,64
NIR _{0,05}	ns	Ns	ns
Po 6 miesiącach przechowywania			
Sacharozowym (100%)	38,91±0,73	4,05±0,57	18,04±1,49
Sacharozowym (80%)	36,89±0,65	1,55±0,33	19,85±1,32
Glukozowo-fruktozowym (20%)			
Sacharozowym (20%)	34,88±0,76	2,78±0,23	26,39±0,56
Glukozowo-fruktozowym (80%)			
Glukozowo-fruktozowym (100%)	36,96±0,46	3,46±0,05	25,65±1,11
NIR _{0,05}	1,76	0,92	3,07

NIR_{0,05} – najmniejsza istotna różnica na poziomie istotności $\alpha = 0,05$

ns – brak statystycznie istotnych różnic

Wnioski

1. Zastosowane syropy do kandyzowania miały znaczący wpływ na zawartość cukrów i ich stabilność w trakcie przechowywania skórki pomarańczowej.
2. Wykorzystane syropy kandyzujące nie miały wpływu na pH produktu gotowego, natomiast miały wpływ na zmiany tego parametru w trakcie przechowywania.
3. Najniższą aktywnością wody zaraz po wyprodukowaniu jak i w całym okresie przechowywania charakteryzowała się skórka pomarańczowa kandyzowana samym syropem sacharozowym.
4. Wszystkie badane produkty kandyzowane charakteryzowały się odmiennymi parametrami barwy L^*a^*b , w całym badanym okresie.

Badania zostały sfinansowane z dotacji przyznanej przez MNiSW na działalność statutową.

Literatura

1. Cichosz G., Ambroziak A., Kowalska M., Aljewicz A. Syrop glukozowo-fruktozowy – zagrożenia zdrowotne. *Przegląd Mleczarski*, 2011, 10, 20-24.
2. Felis M. Prosona. W poszukiwaniu nowości. *Przegląd Piekarski i Cukierniczy*. 2003, 12, 58.
3. Gawęcki M. Syropy skrobiowe o wysokiej zawartości fruktozy – zastosowanie w produkcji napojów i soków. *Przemysł Fermentacyjny i Owocowo-warzywny*. 2001, 3, 3.
4. Gliemmo M.F., Campos C.A., Gerschenson L.N. Interaction between potassium sorbate and Aspartame in Aqueous Model Sugar Systems. *Journal of Food Science*. 2001, 66(3), 428-431.
5. Jarczyk A. Kandyzowanie owoców i warzyw. *Przemysł. Spożywczy*, 1999, 4, 19-20.
6. Jarczyk A., Płocharski W.. *Technologie produktów owocowych i warzywnych tom I*. Wydawnictwo Wyższej Szkoły Ekonomiczno-Humanistycznej im. prof. Szczepana A. Pieniążka, Skierniewice, 2010.
7. Kowalska J., Majewska E., Lenart A.. Aktywność wody napoju kakaowego w proszku o zmodyfikowanym składzie surowcowym. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2011, 4 (77), 57-65.
8. Paślowska M., Stępień B., Jałoszyński K. Zmiany parametrów barwy owoców jagodowych wywołane suszeniem, przechowywaniem i rehydracją. *Inżynieria Rolnicza* 2010, 2(120), 95-102.
9. Pietrzyk S., Fortuna T., Bojdo-Tomasiak I., Morawiec K. Wpływ temperatury i czasu przechowywania na wybrane parametry jakościowe owoców kandyzowanych. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*. 2009, 2(63), 119-129.
10. Pietrzyk S., Fortuna T., Bojdo-Tomasiak I., Płaczek D. Wpływ zamienników sacharozy na właściwości fizyczno-chemiczne i sensoryczne wiśni w żelu skrobiowym. *Nauka, Przyroda, Technologie – Nauki o Żywności i Żywieniu*, 2013, 7,4, #64
11. Pietrzyk S., Fortuna T., Chmielowski P., Witas M. Wpływ rodzaju syropu cukrowego użytego w trakcie produkcji na właściwości fizyczne i chemiczne kandyzowanej skórki pomarańczowej” XI Konferencja Naukowa z cyklu „Żywność XXI wieku”, 18-19 września 2014, Kraków, 150.
12. PN-90/A-75101/06. Przetwory owocowe i warzywno. Przygotowanie próbek i metody badań fizykochemicznych. Oznaczenie pH metodą potencjometryczną. Eqv. ISO C3B4230-83.
13. Słomińska L. Środki słodzące na bazie skrobi. *Przegląd Piekarski i Cukierniczy*, 1998, 46(5), 28–33.
14. Szczurek G. Owoce kandyzowane – ich wyrób, przygotowanie i zastosowanie w technologiach ciastkarskich i cukierniczych. *Przegląd Piekarski i Cukierniczy*, 1995, 4, 22-23.
15. Vilela A., Sobreira C., Abraao A., Lemos A., Nunes F. Texture quality of candied fruits as influence by Osmotic dehydration agents. *Journal; of Texture Studies* 2016, DOI: 10.1111/jtxs.12177.

WPLYW TRANSGLUTAMINAZY NA JAKOŚĆ I IMMUNOREAKTYWNOŚĆ PIECZYWA PSZENNEGO O MAŁEJ ZAWARTOŚCI GLUTENU

Streszczenie

W ostatnich latach obserwuje się rosnącą częstotliwość występowania chorób autoimmunologicznych, a zjawisko to związane jest ze zmianą stylu życia i odżywiania. Zboża mogą stanowić potencjalne źródło białek wywołujących reakcje opaczne u osób nadwrażliwych. W przypadku nietolerancji glutenu konieczna jest dieta eliminacyjna. Utrzymywanie przez całe życie restrykcyjnej diety jest bardzo uciążliwe, a jakość pieczywa bezglutenowego pozostawia wiele do życzenia, dlatego stale trwają poszukiwania alternatywnych rozwiązań. Jednym z kierunków badań są próby pozyskania pieczywa pszenne go o zmodyfikowanej strukturze toksycznego glutenu, tak, aby było dobrze tolerowane przez osoby chore na celiakię, a jednocześnie zachowywało walory konwencjonalnego pieczywa.

Celem podjętych badań było zbadanie wpływu zastosowania transglutaminazy na charakterystykę pieczywa o małej zawartości glutenu. W pracy sprawdzono wpływ dodatku transglutaminazy do ciasta o małej zawartości glutenu, zawierającego fermentowaną mąkę pszenną, na jakość i bezpieczeństwo dietetyczne pieczywa. Oceniono parametry technologiczne i sensoryczne wypieków, a ekstrakty z chleba poddano niekompetencyjnym, pośrednim testom ELISA. Wykazano pozytywny wpływ transglutaminazy na strukturę miękiszu, wzrost objętości i wydajności pieczywa. Jednoczesny dodatek denaturowanych drożdży, jako źródła aminokwasów stymulujących reakcje sieciowania białek, powodował dalszą poprawę właściwości reologicznych ciasta, jakości sensorycznej wyrobów i zmniejszenie ich immunoreaktywności.

Wprowadzenie

Zachodzące w szybkim tempie zmiany stylu życia, zanieczyszczenie środowiska oraz nadmierna higienizacja, przyczyniają się do rosnącej częstotliwości występowania chorób autoimmunologicznych. Choroby te są w przebiegu dość podobne do procesów alergicznych, jednak w ich przypadku nieprawidłowa reakcja układu immunologicznego skierowana jest przeciw komórkom organizmu. Jedną z jednostek autoimmunologicznych jest celiakia, zwana inaczej chorobę trzewną, która prowadzi do zmian w budowie błony

śluzowej jelita cienkiego, pod wpływem spożycia produktów zawierających gluten [Di Sabatino i Corazza, 2009; Lange, 2009].

Zboża mogą stanowić potencjalne źródło białek wywołujących reakcje opaczne u osób nadwrażliwych. W przypadku nietolerancji glutenu efekt ten obserwuje się po spożyciu występujących w zbożach frakcji prolamin bogatych w prolinę i glutaminę [Ciclitira i Moodie, 2006; Niewinski, 2008; Wieser i Koehler, 2008], a konkretnie pewnych sekwencji tych aminokwasów [Davis i in., 2001]. Pod ich wpływem następują zmiany struktury jelita cienkiego polegające na zaniku kosmków, co w znacznym stopniu ogranicza wchłanianie substancji odżywczych, powodując objawy zespołu złego wchłaniania i niedobory pokarmowe.

Jedyną znaną formą leczenia celiakii jest całkowite wyeliminowanie glutenu z diety [Davis i in., 2001; Catassi i Fasano, 2008]. Jednak utrzymywanie przez całe życie restrykcyjnej diety jest bardzo uciążliwe, wykluczenie wszelkich produktów pszennych, żytnich i jęczmiennych znacznie zubaża asortyment żywności bezpiecznej dla osób cierpiących na celiakię [Di Sabatino i Corazza, 2009]. Ponadto dostępne komercyjnie chleby bezglutenowe, produkowane na bazie skrobi, charakteryzują się zwykle niską jakością miękiszu i skórki, gorszymi walorami sensorycznymi i szybciej ulegają procesom starzenia niż pieczywo konwencjonalne [Gallager i in., 2004; Hager i in., 2012]. Sprawia to, że dieta bezglutenowa jest niezwykle wymagająca i trudna w stosowaniu. Wymusza rezygnację z wielu produktów, co diametralnie zmienia podstawowe nawyki żywieniowe. Taka zmiana w połączeniu z dolegliwościami zdrowotnymi wywiera silny wpływ na psychikę chorego [Korfel, 2005].

Niezadawalająca jakość pieczywa bezglutenowego motywuje do poszukiwań alternatywnych rozwiązań. Jednym z kierunków badań są próby pozyskania pieczywa pszennego o zmodyfikowanej strukturze toksycznego glutenu, tak aby było dobrze tolerowane przez osoby chore na celiakię, a jednocześnie zachowywało walory konwencjonalnego pieczywa. Szansę tego typu rozwiązań upatruje się w fakcie, iż indywidualna wrażliwość na dawkę dobową spożywanego glutenu jest bardzo zróżnicowana i nie zawsze konieczne jest całkowite wykluczenie produktów zawierających gluten, a wielkość tolerowanej przez chorych na celiakię dziennej dawki glutenu ciągle pozostaje w sferze dyskusji [Catassi i in., 1993; Hischenhuber i in., 2005].

Założeniem tak ukierunkowanych badań jest uzyskanie mąki pszennej o obniżonej immunoreaktywności, która mogłaby później znaleźć zastosowanie w produkcji pieczywa przeznaczonego dla osób w umiarkowanym stopniu nietolerujących glutenu. Efekt taki można osiągnąć bądź to poprzez usuwanie rozpoznawanych przez przeciwciała sekwencji aminokwasów, na drodze hydrolizy wiązań peptydowych odpornych na działanie soku żołądkowego i enzymów proteolitycznych przewodu

pokarmowego człowieka, lub też przez wytworzenie dodatkowych izo-wiązań, w wyniku łączenia reszt aminokwasów blokujących glutaminę, czego skutkiem jest maskowanie epitopu i zahamowanie niepożądanego reakcji [Brzozowski i in., 2005; Czerwionka-Szafarska i in., 2006; Wróblewska i in., 2007].

Celem badań było zbadanie wpływu zastosowania transglutaminazy na charakterystykę pieczywa o małej zawartości glutenu, zawierającego fermentowaną mąkę pszenną.

Materialy i metody

W pracy sprawdzono wpływ dodatku transglutaminazy do ciasta o małej zawartości glutenu, zawierającego fermentowaną mąkę pszenną, na jakość i bezpieczeństwo dietetyczne pieczywa.

Podstawową recepturę ciasta podano w tabeli 1.

Tabela 1. Receptura ciasta (próba kontrolna)

Składnik	[g]
fermentowana mąka pszenna typ 550	50
skrobia pszenna	50
guma guar	2
sól	2
drożdże	2
woda	60

Fermentację mąki prowadzono 24 h w temperaturze 30°C, przy wydajności ciasta 200 i zastosowaniu mieszanej kultury starterowej (*Lb. plantarum* 860 ŁOCK, *Lb. brevis* 1269 DSMZ, *Lb. sanfranciscensis* 20669 DSMZ, *S. cerevisiae* K1 ŁOCK) w ilości 2% masy mąki. W pracy stosowano preparat handlowy transglutaminazy POLSELVIA (PMT Trading) w dawce 0,1% oraz denaturowane drożdże RS 190 (Lesaffre) użyte w ilości 0,01% masy mąki.

Ciasto mieszone w mieszarce (Bosch, ProfiMixx 46) przy obrotach wolnych przez 9 min, następnie szybkich w czasie 3 min. Fermentację w masie prowadzono 1,5 h w 30°C przy wilgotności względnej powietrza 75-80%, stosując przebijanie ciasta po 1 h i po 1,5 h. Ciasto dzielono na kęsy o masie 350 g. Foremki z ciastem umieszczano w komorze rozrostowej (temp. 30°C, wilgotność wzgl. 75-80%) na 40 min, uprzednio zwilżając powierzchnię kęsów wodą. Po zakończeniu rozrostu nacinano kęsy i ponownie zwilżano. Wypiek prowadzono 20 min w 230°C (piec Polin, Verona), stosując zaparowanie komory wypiekowej na początku procesu. Po wyjęciu z pieca sztuki pieczywa pozostawiano do ostygnięcia na 1,5 h.

W wypiekach oceniano parametry technologiczne i sensoryczne. Oceny punktowej dokonywał przeszkolony panel degustacyjny.

W ekstraktach z ciasta i chleba oznaczano immunoreaktywność stosując niekompetencyjną metodę pośrednią ELISA. Próbkę chleba przed oznaczeniem poddawano trawieniu za pomocą enzymów (Pepsyna, Sigma; Kreon, Abbott) w celu hydrolizy zawartych w pieczywie białek i uwolnienia z nich peptydów potencjalnie wywołujących reakcje autoimmunologiczne. Oznaczenie immunoreaktywności przeprowadzono na podstawie reakcji antygeny (pentapeptydu QQQPP) z króliczymi przeciwciałami pierwszorzędowymi oraz drugorzędowymi kozimi przeciwciałami przeciw króliczej immunoglobulinie. Wyniki wyrażono w % jako pozostałą immunoreaktywność w stosunku do prób odniesienia.

Wyniki i ich omówienie

Do komponowania składu ciasta pszennego o zmniejszonej zawartości glutenu zastosowano mąkę poddaną uprzednio fermentacji z wykorzystaniem piekarskich kultur starterowych. W celu zmniejszenia wyjściowej zawartości glutenu w mieszance, oprócz fermentacji mlekowej zaproponowano zastąpienie połowy ilości mąki skrobią pszenną.

Etap fermentacji spowodował znaczące zmniejszenie immunoreaktywności białek obecnych w surowym cieście (Tab. 2).

Tabela 2. Immunoreaktywność ciast surowych

Skład mieszanki mącznej	Immunoreaktywność [%]
<u>niefermentowana</u> mąka pszenna skrobia pszenna	100
<u>fermentowana</u> mąka pszenna skrobia pszenna	53,6

Zastosowanie drobnoustrojów czynnych w zakwasie piekarskim, do zmniejszania immunoreaktywności białek glutenowych stanowi dość obiecujący kierunek badań, gdyż fermentacja jest procesem technologicznym typowym dla produkcji piekarskiej, a publikowane wyniki prac wskazują, że bakterie mlekowe zdolne są do degradacji glutenu na krótsze fragmenty, nietoksyczne dla pacjentów [Di Cagno i in., 2002; Thiele i in., 2002; Rollan i in., 2005].

Fermentacja mąki z udziałem szczepów bakterii mlekowych powoduje degradację albumin, globulin i gliadyn, hydrolizowany jest także fragment alfa gliadyny, toksyczny dla pacjentów. Pojawiają się sugestie, że dzięki odpowiedniej stymulacji procesu degradacji białek w zakwasie pszennym, możliwe byłoby zmniejszenie zawartości glutenu do poziomu tolerowanego przez chorych [Ganzle i in., 2008]. Trafność tego spostrzeżenia potwierdzają wyniki badań prowadzonych

z wykorzystaniem wieloskładnikowych kultur starterowych [Rizello i in., 2006; Leszczyńska i in., 2009]. Stopień hydrolizy białek zależy od indywidualnych cech szczepowych drobnoustrojów czynnych w tym procesie [De Angelis i in., 2006; Gobbetti i in., 2007]. Zatem poprzez odpowiedni dobór szczepów, wprowadzonych wraz z piekarską kulturą starterową do środowiska ciasta, można w sposób kontrolowany zmieniać immunoreaktywność pieczywa.

Jednak aby proponowane modyfikacje mogły znaleźć zastosowanie praktyczne, niezwykle istotne jest zachowanie prawidłowych właściwości wypiekowych mąki o obniżonej antygenowości uzyskanej na drodze fermentacji [Diowks, 2006]. Jak pokazują doniesienia literaturowe, nie jest to zadanie łatwe [Di Cagno i in., 2002; Diowks i Leszczyńska, 2014; Moroni i in., 2009]. Poddawane hydrolizie białka glutenowe pełnią bowiem zasadniczą rolę podczas produkcji pieczywa, odpowiadając za zdolność zatrzymania gazów w cieście i w efekcie uzyskanie w pełni wyrośniętego pieczywa o odpowiedniej porowatości i elastyczności miękiszu [Dobraszczyk i Morgenstern, 2003; Shrewry, 2009; Wojtasik, 2011].

Degradacja struktury białek glutenowych pod wpływem aktywności bakterii mlekowych ma swoje konsekwencje, przejawiające się utratą właściwości lepkosprężystych ciasta [Gocmen i in., 2007]. Takie ciasto jest mało spoiste i niesprężyste, wymaga zatem dalszych modyfikacji receptury, tak jak w przypadku stosowania typowych surowców bezglutenowych [Di Cagno i in., 2002].

Obiecującym kierunkiem badań jest zastosowanie enzymów w poprawie funkcjonalności mąki poddanej modyfikacjom [Kołakowski i in., 2001]. Obróbka enzymatyczna jest uważana za metodę całkowicie bezpieczną, gdyż dalsza obróbka termiczna związana z wypiekiem powoduje dezaktywację wprowadzonych enzymów [Caballero i in., 2005]. Bardzo ciekawym rozwiązaniem może być zastosowanie transglutaminazy, enzymu z grupy transferaz. Jego zdolność do zmiany ładunku cząsteczek białka, a także przyłączenia reszt aminokwasów lub innych grup, może wpływać na wymiary i gęstość cząsteczek białka oraz ich rozpuszczalność przez katalizowanie tworzenia kowalencyjnych wiązań sieciujących [Kołakowski i in., 2001; Sobieszczuk-Nowicka i in., 2005].

Zastosowana modyfikacja enzymatyczna pozwoliła na uzyskanie ciasta o bardziej zwartej konsystencji i lepiej wyrastającego. Ciasto niemodyfikowane było luźne i rozlewające się, trudne do formowania. Przeprowadzone próby wypiekowe dowiodły skuteczności zastosowanego preparatu transglutaminazy, użytego w cieście pszennym, przygotowanym z udziałem mąki modyfikowanej na drodze fermentacji, w poprawie jakości uzyskiwanego pieczywa (Tab. 3).

Wykazano pozytywny wpływ transglutaminazy na strukturę miękiszu i wzrost objętości. Zauważono natomiast, że wydajność pieczywa ulega poprawie dopiero przy

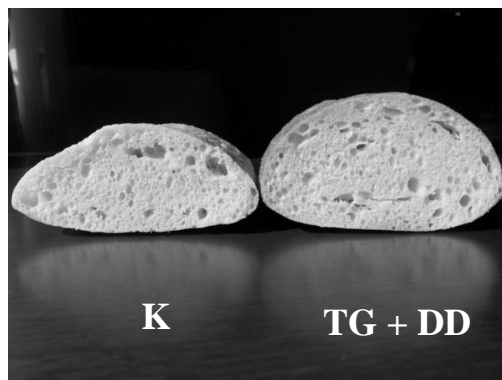
jednoczesnym stosowaniu denaturowanych drożdży. Dodatkowe źródło aminokwasów w środowisku ubogim w białka, znacząco zwiększyło efektywność działania enzymu.

Tabela 3. Parametry technologiczne i jakościowe pieczywa ($X_{sr} \pm SD$, $n=3$)

Parametr	Pieczywo		
	kontrolne	z transglutaminazą	z transglutaminazą i denaturowanymi drożdżami
objętość właściwa [$\text{cm}^3/100 \text{ g}$]	248,43 \pm 11,98	270,62 \pm 11,89	288,33 \pm 11,02
wilgotność [%]	41,43 \pm 0,45	41,56 \pm 0,34	42,58 \pm 0,38
wydajność [kg/100 kg mieszanki]	146,30 \pm 0,74	145,16 \pm 0,45	148,24 \pm 0,80

Na lepsze zatrzymywanie gazów fermentacyjnych przez ciasto poddane działaniu transglutaminazy i mocniejsze wiązanie wody przez białka zawarte w mące, zwraca uwagę także Piesiewicz [2013].

Jednoczesny dodatek denaturowanych drożdży, jako źródła aminokwasów stymulujących reakcje sieciowania białek, powodował dalszą poprawę właściwości reologicznych ciasta o małej zawartości glutenu, dzięki czemu możliwe było kształtowanie batonów i wypiek bez konieczności stosowania foremek (Fot. 1).



Fot.1. Przekrój poprzeczny pieczywa wypiekanego na trzonie: po lewej – pieczywo kontrolne (K), po prawej – pieczywo z dodatkiem transglutaminazy i denaturowanych drożdży (TG + DD)

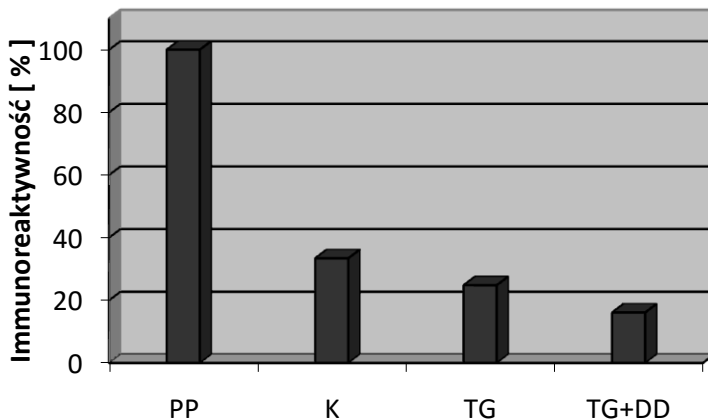
Wśród czynników determinujących przebieg sieciowania białek katalizowanego transglutaminazą jest niewątpliwie dostępność substratów [Kołakowski i in., 2001]. Przy małym stężeniu białek w cieście kontrolnym, suplementacja ciasta w dodatkowe

aminokwasy pochodzące z biomasy drożdży powodowała widoczny efekt wzmocnienia działania enzymu. Nie stwierdzono natomiast wpływu dodatku transglutaminazy na smak i zapach pieczywa. Z kolei wprowadzenie denaturowanych drożdży do ciasta wpłynęło na wzrost oceny organoleptycznej średnio o 1,5 pkt., gdyż nadają one pieczywu przyjemny smak i aromat.

Zauważono też, że na drugi dzień po wypieku, pieczywo z transglutaminazą nadal zachowywało świeżość konsumpcyjną, w przeciwieństwie do pieczywa kontrolnego. Lepsze wiązanie wody powoduje, że pieczywo dłużej zachowuje świeżość [Piesiewicz, 2013].

Wypieki otrzymane w wyniku modyfikacji recepturowych poddano symulowanemu trawieniu, aby ocenić jego faktyczne oddziaływanie na śluzówkę przewodu pokarmowego. W procesie trawienia z prolamin uwalniane są bowiem bogate w prolinę i glutaminę polipeptydy, wywołujące odpowiedź immunologiczną u osób z celiakią [Ganzle i in., 2008].

W badaniach pozostałej immunoreaktywności białek stwierdzono, że nie tylko zmniejszenie zawartości glutenu w recepturze ciasta sprzyja istotnemu obniżeniu immunoreaktywności wyrobów, ale także skuteczna jest modyfikacja enzymatyczna, zwłaszcza stymulowana dodatkiem bogatego w aminokwasy suplementu drożdżowego (Rys.1).



Rysunek 1. Immunoreaktywność pieczywa poddanego modyfikacjom recepturowym: pieczywo kontrolne (K), pieczywo z dodatkiem transglutaminazy (TG), z dodatkiem transglutaminazy i denaturowanych drożdży (TG+DD). Próba odniesienia (100%) – tradycyjne pieczywo pszenne (PP).

Może to być spowodowane powstawaniem nowych struktur białkowych, w wyniku łączenia przez transglutaminazę aminokwasów wprowadzonych wraz z denaturowanymi drożdżami oraz tych uwolnionych na skutek fermentacji mąki. Obserwacje te znajdują potwierdzenie w literaturze, gdzie odnotowano obniżenie immunoreaktywności frakcji gliadyny i gluteiny w wyniku zastosowania

transglutaminazy. Katalizowana przez ten enzym reakcja sieciowania białek może być skuteczna w maskowaniu epitopów wewnątrz nowopowstałych struktur, co uniemożliwia ich rozpoznanie przez przeciwciała odpowiedzialne za nietolerancję glutenu [Łącka i Leszczyńska, 2005; Waga i in., 2008; Susanna i Prabhasankar, 2011].

Wnioski

Podsumowując, sieciowanie białek za pomocą transglutaminazy nie tylko powoduje znaczne zmniejszenie immunoreaktywności, ale przy tym pozwala na uzyskanie odpowiednich cech technologicznych mąki i walorów sensorycznych pieczywa, co ma ogromne znaczenie przy wypieku pieczywa o zmniejszonej zawartości glutenu. Uzyskane rezultaty można uznać za bardzo dobre, niemniej jednak wyniki te należy traktować jako wstępne i wymagające dalszych badań, potwierdzających bezpieczeństwo takiego chleba dla osób chorych.

Literatura

1. Brzozowski B., Bednarski W., Adamczak M. Biotechnologiczna modyfikacja biologicznych właściwości białek zbóż, *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2005, 44(4), 17-26.
2. Caballero P.A., Bonet A., Rosell C.M., Gómez M. Effect of microbial transglutaminase on the rheological and thermal properties of insect damaged wheat flour. *Journal of Cereal Science*, 2005, 42, 93-100.
3. Ciclitira P.J., Moodie S.J. Transition of care between paediatric and adult gastroenterology. Coeliac disease. *Best Practice and Research in Clinical Gastroenterology*, 2003, 17, 181-195.
4. Czerwionka-Szafarska M., Szafarska-Popławska A., Muller L. Choroba trzewna dzieci i dorosłych, *Alergia*, 2006, 28, 20-24.
5. Di Cagno R., De Angelis M., Lavermicocca P., De Vincenzi M., Giovannini C., Faccia M., Gobbetti M. Proteolysis of sourdough lactic acid bacteria: effects on wheat flour protein fractions and gliadin peptides involved in human cereal intolerance. *Applied Environmental Microbiology*, 2002, 68, 623-633.
6. Diowski A. Pieczywo hipoalergiczne – poszukiwanie nowych rozwiązań dla szybko rosnącego rynku produktów dietetycznych. *Przegląd Piekarski i Cukierniczy*, 2006, 8, 2-4.
7. Diowski A., Leszczyńska J. Hypoallergenic wheat bread – a response to an emerging issue. *Food and Agricultural Immunology*, 2014, 25(4), 535-544.
8. Di Sabatino A., Corazza G.R. Coeliac disease. *Lancet*, 2009, 373, 1480-1493.
9. Dobraszczyk B.J., Morgenstern M.P. Rheology and the breadmaking process. *Journal of Cereal Science*, 2003, 38, 229-245.
10. Fasano A., Catassi C. Current approaches to diagnosis and treatment of celiac disease: an evolving spectrum. *Gastroenterology*, 2001, 120, 636-651.
11. Gallagher E., Gormley T.R., Arendt E.K. Recent advances in the formulation of gluten-free cereal-based products. *Trends in Food Science and Technology*, 2004, 15, 143-152.
12. Ganzle M.G., Loponen J., Gobbetti M. Proteolysis in sourdough fermentation: mechanism and potential for improved bread quality. *Trends in Food Science and Technology*, 2008, 19, 513-521.
13. Gobbetti M., Rizzello C.G., Di Cagno R., De Angelis M. Sourdough Lactobacilli and celiac disease, *Food Microbiology*, 2007, 24, 187-196.
14. Gocmen D., Gurbuz O., Kumral A.Y., Dagdelen A.F., Sahin I. The effect of wheat sourdough on glutenin patterns, dough rheology and bread properties. *European Food Research and Technology*, 2007, 225, 821-830.
15. Hager A.S., Wolter A., Czerny M., Bez J., Zannini E., Arendt E.K., Czerny M. Investigation of product quality, sensory profile and ultrastructure of breads made from a range of commercial gluten-

- free flours compared to their wheat counterparts. *European Food Research and Technology*, 2012, 235, 333-344.
16. Hischenhuber C., Crevel R., Jarry B., Maki M., Moneret-Vautrin D.A., Romano A., Troncone R., Ward R. Review article: Safe amounts of gluten for patients with wheat allergy or celiac disease. *Alimentary Pharmacology and Therapeutics*, 2005, 23, 559-575.
 17. Kołakowski E., Sikorski Z.E. Transglutaminaza i jej wykorzystanie w przemyśle żywnościowym. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2001, 2, 5-16.
 18. Korfel A. Celiakia cz.I. *Przegląd Piekarski i Cukierniczy*, 2005, 7, 10-11.
 19. Lange E. Celiakia nowe perspektywy w zapobieganiu i leczeniu. *Przegląd Piekarski i Cukierniczy*, 2009, 8, 8-9.
 20. Leszczyńska J., Diowksz A., Łącka A., Bryszewska M., Wolska K., Ambroziak W. Decrease of wheat flour allergenicity via lactic acid fermentation. *Food and Agricultural Immunology*, 2009, 20(2), 139-154.
 21. Moroni A.V., Dal Bello F., Arendt E.K. Sourdough in gluten-free bread making: An ancient technology to solve a novel issue? *Food Microbiology*, 2009, 26, 676-684.
 22. Niewinski M. Advances in celiac disease and gluten-free diet. *Journal of American Dietetic Association*, 2008, 108, 661-672.
 23. Piesiewicz H. Zastosowanie transglutaminazy w piekarstwie. *Przegląd Piekarski i Cukierniczy*, 2013, 9, 30-31.
 24. Rizello C.G., De Angelis M., Coda R., Gobbetti M. Use of selected sourdough lactic acid bacteria to hydrolyze wheat and rye proteins responsible for cereal allergy. *European Food Research and Technology*, 2006, 223, 405-411.
 25. Rollan G., De Angelis M., Gobbetti M., de Valdez G.F. Proteolytic activity and reduction of gliadin-like fractions by sourdough lactobacilli. *Journal of Applied Microbiology*, 2005, 99, 1495-1502.
 26. Shewry P.R. Wheat. *Journal of Experimental Botany*, 2009, 60, 1537-1553.
 27. Sobieszczuk-Nowicka E., Solińska M., Legocka J. Roślinne transglutaminazy. *Postępy w Biologii Komórki*, 2005, 32, 463-476.
 28. Susanna S., Prabhasankar P. A comparative study of different bio-processing methods for reduction in wheat flour allergens. *European Food Research and Technology* 2011, 233, 999-1006.
 29. Thiele C., Ganzle M.G., Vogel, R.F. Contribution of sourdough lactobacilli, yeast and cereal enzymes to the generation of amino acids in dough relevant for bread flavor. *Cereal Chemistry*, 2002, 79(1), 45-51.
 30. Waga J., Bilo B., Stachowicz M., Ziemiański J., Obtulowicz K. Gliadin immunoreactivity and dough rheological properties of winter wheat genotypes modified by thioredoxin. *Cereal Chemistry*, 2008, 85(4), 488-494.
 31. Wieser H., Koehler P. The biochemical basis of celiac disease. *Cereal Chemistry*, 2008, 85(1), 1-13.
 32. Wojtasik A. Gluten nie zawsze znaczy to samo. *Przegląd Piekarski i Cukierniczy*, 2011, 6, 21-22.
 33. Wróblewska B., Szymkiewicz A., Jędrychowski L. Wpływ procesów technologicznych na zmiany alergenności żywności. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2007, 55 (6), 7-19.

AGNIESZKA NOWAK¹, AGATA CZYŻOWSKA¹, JUSTYNA ROSICKA²,
ILONA GAŁĄZKA-CZARNECKA²

¹Institut Technologii Fermentacji i Mikrobiologii, Politechnika Łódzka

²Institut Technologii i Analizy Żywności, Politechnika Łódzka

TRWAŁOŚĆ OWOCÓW SUSZONYCH MIKROFALOWO W PRÓŻNI

Streszczenie

Celem badań było określenie wpływu suszenia mikrofalowego w warunkach obniżonego ciśnienia na trwałość owoców i zawartość w nich związków biologicznie czynnych. Surowiec stanowiły suszone na słońcu kawałki owoców gujawy i ananasa. Zarówno przed, jak i po procesie suszenia przeprowadzono badania mikrobiologiczne obejmujące określenie ogólnej liczby bakterii tlenowych mezofilnych, liczby drożdży i pleśni, liczby bakterii z rodziny *Enterobacteriaceae*. Badania przeprowadzono metodami referencyjnymi. Z posiewów wyizolowano charakterystyczne kolonie i przeprowadzono ich identyfikację do poziomu gatunku. W owocach określono również zawartość i aktywność wody, zawartość polifenoli ogółem, kwasu L-askorbinowego i ich zdolność antyoksydacyjną. W żadnej z przebadanych próbek nie stwierdzono obecności pałeczek z rodziny *Enterobacteriaceae*. W próbce gujawy przed suszeniem stwierdzono obecność pleśni z gatunku *Aspergillus niger*. Mikroflorą obecną zarówno w surowcu, jak i w produkcie były tlenowe laseczki przetrwalnikujące z rodzaju *Bacillus*. Jednakże określone poziomy zanieczyszczeń, mieszczące się w zakresie 40 do $1,7 \times 10^2$ jtk/g świadczą o dobrej jakości mikrobiologicznej zarówno surowców jak i produktów. Niska aktywność wody produktu w pełni zabezpiecza przed rozwojem tej grupy mikroorganizmów. Zawartość związków bioaktywnych w produkcie była znacząco wyższa niż w surowcu. Nie odnotowano jedynie różnic pomiędzy zawartością polifenoli w ananasie przed i po suszeniu mikrofalowym. Szczególnie bogatym źródłem polifenoli i witaminy C okazały się owoce gujawy. Prozdrowotne właściwości produktu potwierdzają również uzyskane wyniki zdolności antyoksydacyjnej owoców. Uzyskany na drodze suszenia mikrofalowego w obniżonym ciśnieniu produkt może być zatem doskonałym uzupełnieniem zbilansowanej diety.

Wprowadzenie

Owoce są bardzo ważnym składnikiem zbilansowanej diety, których rolą jest wspieranie profilaktyki chorób przewlekłych. Niestety europejski poziom konsumpcji owoców jest poniżej poziomu zalecanego przez WHO. Mimo, że zdrowotność jest głównym motywem do spożycia owoców, istnieją również inne przyczyny, takie jak jakość, cena i trwałość, które determinują wybór konkretnego owocu. Dlatego suszone

owoce powinny być wygodniejsze w opinii konsumentów. Badania postrzegania suszonych owoców wykazały, że konsumenci odbierają je jako nie zawsze korzystny składnik diety ze względu na wysoką zawartość cukru i straty witamin spowodowane suszeniem [Sijtsema i in., 2012]. Podstawowym celem suszenia żywności jest usunięcie wody do poziomu, który powinien zapewnić uniknięcie psucia mikrobiologicznego [Lewicki, 2006]. Gdy zawartość wody w świeżych owocach jest wyższa niż 80% są one klasyfikowane jako towar bardzo łatwo psujący się. Jakość końcowego produktu, a także zużycie energii, to zasadnicze parametry wyboru procesu suszenia. Optymalna technika powinna być opłacalna i doprowadzić do najmniejszych zmian wartości odżywczych produktu [Sagar i in., 2010]. Podczas klasycznego suszenia konwekcyjnego uszkodzenia surowca są wprost proporcjonalne do temperatury i czasu trwania. Lotne związki są tracone przez odparowanie z wodą, co powoduje utratę specyficznego smaku produktów. Następną wadą konwencjonalnej obróbki cieplnej żywności jest jej efektywność energetyczna, która jest bardzo niska [Vadivambal i Jayas, 2007]. Aby poprawić jakość produktów suszonych należałoby obniżyć temperaturę operacji, niestety jest to zwykle związane z długim czasem pracy i wysokimi kosztami. Poszukuje się zatem innych metod pozwalających na uzyskanie produktów o wysokiej jakości jednocześnie stosunkowo niskim kosztem. Alternatywną metodą może być suszenie mikrofalowe. W procesie suszenia konwekcyjnego ciepło musi przejść przez powierzchnię materiału. Odbywa się to przede wszystkim przez konwekcję gorącego powietrza, a następnie przewodzenie. Podczas suszenia mikrofalowego produkt absorbuje energię mikrofal i przekształca ją w ciepło. Temperatura powierzchni produktu jest niższa przez co pozostaje ona wilgotna co znacznie ułatwia rehydrację [Nowacka i Witrowa-Rajchert, 2012]. Odmianą suszenia mikrofalowego jest suszenie mikrofalowe w próżni. Na ogół, w trakcie suszenia próżniowego cząsteczki wody szybko dyfundują do powierzchni materiału i odparowują do komory próżniowej. Stężenie pary wodnej na powierzchni szybko zmniejsza się. Dodatkowo podciśnienie obniża temperaturę wrzenia wody w wewnętrznej części materiału. W konsekwencji, tworzone są wysokie gradienty ciśnienia pary między powierzchnią i wnętrzem materiału, co prowadzi do bardzo dużych szybkości suszenia. Taki proces zalecany jest szczególnie w przypadku produktów wrażliwych na ciepło, zwłaszcza owoców i warzyw [Zhang i in., 2006]. Calin-Sanchez i in. [2011] badali wpływ parametrów suszenia mikrofalowego w próżni na zawartość związków lotnych oraz jakość sensoryczną liści rozmarynu. Autorzy stwierdzili, że najlepsze efekty przynosi zastosowanie mikrofal o niskiej mocy (240 W) oraz zachowanie całkowitej próżni. Z kolei zastosowanie mikrofal o wyższej mocy pozwala na zminimalizowanie strat witaminy C [Alibas i in., 2007; Alibas, 2010]. Suszenie mikrofalowe zapewnia wyższą wydajność cieplną i wymaga krótszego czasu procesu. Ciepło jest wytwarzane głównie w produkcie, w związku z tym nie jest tracone przez dodatkowe ogrzewanie

środowiska, przez co możliwe jest zużywanie mniejszej ilości energii [Vadivambal i Jayas, 2007]. Zastosowanie mikrofal w procesie suszenia pozwala na ograniczenie zmian kształtu i skurczu tkanek. Uzyskiwany jest produkt o barwie bardziej zbliżonej do surowca niż w przypadku suszenia konwekcyjnego [Nowacka i Witrowa-Rajchert, 2012; Nowacka i in., 2012].

Materiały i metody badań

Materiał do badań

Materiał do badań stanowiły wstępnie suszone na słońcu kawałki owoców gujawy i ananasa, które uzyskano dzięki uprzejmości firmy MicroFood Piotr Barczyk, Ostrzeszów. Surowiec poddano suszeniu mikrofalowemu w warunkach obniżonego ciśnienia z zastosowaniem laboratoryjnej suszarki mikrofalowej (Promis-Tech, Wrocław). Parametry procesu suszenia przedstawiono w tabeli 1.

Tabela 1. Średnie wartości parametrów procesu suszenia próbek owoców

Owoc	Czas [s]	Czas stabilizacji [s]	Temperatura początkowa [°C]	Temperatura końcowa [°C]	Ciśnienie początkowe [Pa]	Moc [W]
Gujawa	138±8	291±21	21,3±3,1	48,3±1,2	40,0±0,5	489±2
Ananas	98±7	287±18	21,6±1,8	45,1±1,8	39,7±0,6	482±3

Ocena jakości mikrobiologicznej surowców i produktów

Zarówno w surowcach jak i w produkcie gotowym oznaczano ogólną liczbę bakterii mezofilnych, liczbę drożdży i pleśni oraz bakterii z rodziny *Enterobacteriaceae*. Wszystkie badania przeprowadzono w trzech niezależnych powtórzeniach. Próbkę do badań przygotowano zgodnie z procedurą opisaną w normie ISO 6887-4 dla produktów suchych. Ogólną liczbę bakterii mezofilnych oznaczano na pożywce PCA z dodatkiem nystatyny (inkubacja 72 h, 30°C), liczbę drożdży i pleśni oznaczano na pożywce DG18 (inkubacja 120 h, 25°C) a bakterii z rodziny *Enterobacteriaceae* na pożywce VRBG (inkubacja 48 h, 30°C). Po okresie inkubacji zliczono wyrosłe kolonie, a następnie wyizolowano czyste kultury drobnoustrojów, które poddano identyfikacji. Wstępna identyfikacja bakterii obejmowała określenie makroskopowych i mikroskopowych cech wzrostu, barwienie Grama oraz określenie sposobu metabolizmu glukozy i aktywności oksydazy oraz katalazy. W celu identyfikacji wyizolowanych szczepów bakterii do poziomu gatunku wykonano testy API 50CHB/E. Grzyby strzępkowe identyfikowano w oparciu o cechy morfologiczne i hodowlane.

Oznaczanie zawartości i aktywności wody

Suchą masę badanych owoców określano z zastosowaniem wagosuszarki MAC110/NH (Radwag, Radom). Aktywność wody oznaczano z zastosowaniem miernika Hygro Palm AW1 (Rotronik, Bassersdorf). Wszystkie oznaczenia wykonano w trzech niezależnych powtórzeniach.

Oznaczanie zawartości polifenoli ogółem

Zawartość związków polifenolowych oznaczano metodą Folina-Ciocalteu [Waterhouse, 2001]. Próbki owoców, każda w trzech powtórzeniach, rozdrabniano, następnie do 5 g próbki dodawano 10 ml 80% wodnego roztworu metanolu. Mieszaniny poddano działaniu ultradźwięków dwukrotnie po 10 minut (Sonic 5, Polsonic, Warszawa), a następnie wirowano przez 15 min w 4°C przy 19 000×g. Do próbek odmierzano 0,1 ml odpowiednio rozcieńczonego supernatantu, dodawano 0,2 ml odczynnika Folina-Ciocalteu, 1 ml 20% Na₂CO₃ i 2 ml wody destylowanej. Równocześnie wykonano próbę zerową, która zamiast supernatantu zawierała 0,1 ml 80% roztworu metanolu. Przygotowane próby pozostawiano na 1 h w temperaturze pokojowej bez dostępu światła. Następnie mierzono absorbancję badanych prób w stosunku do próby zerowej przy długości fali 765 nm z użyciem spektrofotometru Cecil CE2041 (Cecil Instruments Limited, Cambridge). Na podstawie przygotowanej uprzednio krzywej wzorcowej dla kwasu galusowego obliczano zawartość związków polifenolowych w badanych próbkach, a wyniki wyrażano w mg_{GAE}/100g owoców.

Oznaczanie zdolności antyoksydacyjnej owoców

Zdolność antyoksydacyjną badanych owoców określano metodą redukcji rodnika DPPH (rodnik 2,2-difenylo-1-pikrylhydrazylowy, Sigma). Roztwór DPPH przygotowano rozpuszczając 19,7 mg odczynnika w 100 ml metanolu. 30 ml 80% metanolu dodano do odpowiednio 0,3; 0,6 i 1,0 grama uprzednio rozdrobnionego surowca lub produktu. Przygotowane próby mieszano i pozostawiano na 1 godzinę w temperaturze pokojowej bez dostępu światła. Po tym czasie ekstrakty filtrowano i dopełniano do 50 ml metanolem. Wszystkie próbki przygotowano w trzech powtórzeniach. Do próbek typu Eppendorf wprowadzono po 1,0 ml roztworu DPPH i odpowiednio 0,3; 0,7; 1,1; 1,5 lub 2,0 ml badanego ekstraktu a następnie uzupełniano do 5,0 ml metanolem. Próbę zerową przygotowano odmierzając 1,0 ml roztworu DPPH i 4,0 ml alkoholu metylowego. Próby inkubowano w temperaturze pokojowej przez 30 min bez dostępu światła. Po upływie tego czasu mierzono ich absorbancję przy długości fali 517 nm względem metanolu, z użyciem spektrofotometru Cecil CE2041 (Cecil Instruments Limited, Cambridge). Na podstawie uzyskanych wyników obliczano % inhibicji rodnika DPPH: % inhibicji

= $100\%(A_0 - A_{sr})/A_0$, gdzie A_0 – absorbanca próby zerowej, A_{sr} – średnia absorbanca prób zawierających ekstrakt. Przygotowano krzywe zależności % inhibicji rodnika DPPH od masy próbki i na tej podstawie wyznaczono 50% inhibicji DPPH (IC_{50}).

Oznaczanie zawartości kwasu L-askorbinowego

Zawartość kwasu L-askorbinowego oznaczano metodą Tillmansa [Burguieres i in., 2007]. W celu przygotowania próbek do analiz, rozdrobnione owoce homogenizowano w 2-procentowym roztworze kwasu szczawiowego. Homogenat sączono, następnie miareczkowano mianowanym roztworem odczynnika Tillmansa. Zawartość kwasu askorbinowego (KA) wyrażano w mg KA/100 g badanych owoców.

Analizy statystyczne

Analizy statystyczne przeprowadzono z wykorzystaniem oprogramowania STATISTICA 12 (StatSoft). Wykonywano test t-Studenta ($p < 0,05$).

Wyniki i dyskusja

Charakterystyczną cechą surowców i produktów spożywczych może być stosunkowo mała trwałość. Na szybkość psucia mikrobiologicznego, a co za tym idzie na trwałość produktu, wpływa wiele czynników fizycznych i chemicznych. Czynnikiem warunkującym trwałość owoców poddanych procesowi suszenia za pomocą energii mikrofalowej w obniżonym ciśnieniu jest aktywność wody. Ilość wody w środowisku dostępnej dla drobnoustrojów, determinuje m. in. transport składników pokarmowych, przemiany metaboliczne, ciśnienie osmotyczne komórki, a ostatecznie rozmnażanie komórek. Zastosowany w ramach badań sposób suszenia owoców przyczynił się do około dwukrotnego spadku wartości aktywności wody. Odnotowano również statystycznie istotne różnice suchej masy pomiędzy surowcami a produktami gotowymi (Tab. 2).

Tabela 2. Sucha masa i aktywność wody owoców

	Gujawa		Ananas	
	Surowiec	Produkt	Surowiec	Produkt
Sucha masa [%]	85,3±1,7	96,1±0,1*	89,0±1,3	95,7±0,8*
Aktywność wody	0,667±0,002	0,349±0,003*	0,634±0,004	0,313±0,004*

* Statystycznie istotne różnice pomiędzy wartościami parametrów dla surowców i produktów

Tak niska aktywność wody powoduje, że organizmem krytycznym, warunkującym trwałość owoców poddanych procesowi suszenia mikrofalowego w obniżonym ciśnieniu są pleśnie. Bazujący na założeniach mikrobiologii prognostycznej program ERH-CALC™ pozwala na określenie MFSL (mould-free shelf-life) czyli okresu przydatności do spożycia owoców, w którym nie dojdzie do rozwoju pleśni. Stosując założenia

zawarte w tym programie wyznaczono progowe wartości aktywności wody pozwalające na zachowanie trwałości produktu podczas przechowywania do pięciu lat (Tab. 3). Stwierdzić można, że aktywność wody owoców mieszcząca się w zakresie poniżej 0,5 czyni go stabilnym mikrobiologicznie.

Tabela 3. Aktywności wody warunkujące trwałość produktów suchych w różnych okresach przechowywania

Temperatura przechowywania	1 rok	2 lata	3 lata	4 lata	5 lat
21°C	0,660	0,623	0,601	0,586	0,574
27°C	0,640	0,594	0,566	0,548	0,532

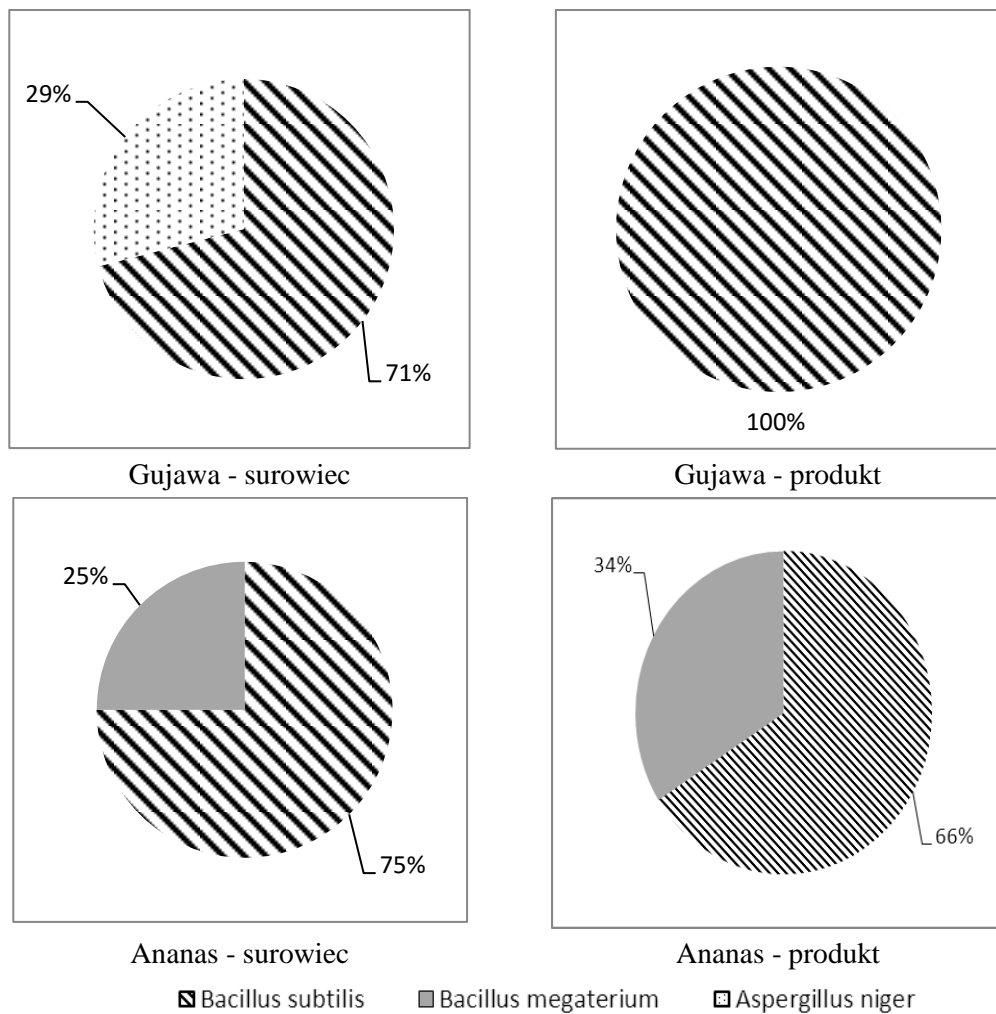
Przeprowadzone analizy mikrobiologiczne potwierdziły wysoką jakość zarówno surowców jak i produktów gotowych. Nie odnotowano statystycznie istotnych zmian w liczebności oznaczanych grup drobnoustrojów po procesie suszenia mikrofalowego. Stopień zanieczyszczenia produktu był niski. W żadnej z przebadanych próbek, na poziomie detekcji metody (10 jtk/g) nie stwierdzono obecności pałeczek z rodziny *Enterobacteriaceae*, co świadczy o właściwym poziomie higieny zarówno podczas pozyskiwania surowca jak i podczas suszenia owoców. Próbkę ananasa nie były również zanieczyszczone grzybami, których obecność na bardzo niskim poziomie stwierdzono w owocach gujawy przed suszeniem. Mikroflorą obecną zarówno w surowcach, jak i w produktach były bakterie. Jednakże określone poziomy zanieczyszczeń, mieszcząca się w zakresie od 40 do $1,7 \times 10^2$ jtk/g, świadczą o ich dobrej jakości mikrobiologicznej (Tab. 4).

Tabela 4. Jakość mikrobiologiczna owoców

Owoc	OLB	Grzyby jtk/g	<i>Enterobacteriaceae</i>
Gujawa - surowiec	$1,7 \times 10^2 \pm 0,4 \times 10^2$	70±20	<10
Gujawa - produkt	$1,0 \times 10^2 \pm 0,3 \times 10^2$	<10	<10
Ananas - surowiec	60±10	<10	<10
Ananas - produkt	40±10	<10	<10

Z badanych próbek wyizolowano 16 szczepów bakterii dla których przeprowadzono wstępną diagnostykę. Wszystkie wyizolowane bakterie były Gram-dodatnimi, ruchliwymi laseczkami tworzącymi przetrwalniki. Wszystkie szczepy wykazywały aktywność katalazy, natomiast żaden z nich nie wykazywał aktywności oksydazy. Wyizolowane szczepy wykazywały zdolność do tlenowego metabolizmu glukozy. Przeprowadzone badania pozwoliły na stwierdzenie, że wyizolowane z badanych produktów bakterie należą do rodziny *Bacillaceae*. Diagnostykę do poziomu gatunku przeprowadzono z zastosowaniem testów API 50CHB/E. W ananasiu zarówno przed, jak

i po suszeniu mikrofalowym stwierdzono obecność laseczek z gatunku *Bacillus subtilis* i *Bacillus megaterium*. W próbkach gujawy mikroflora bakteryjna była jednorodna i należała do gatunku *B. subtilis*. W tym surowcu zidentyfikowano również pleśnię *Aspergillus niger* (Rys. 1).



Rysunek 1. Mikrobiota owoców suszonych

W większości przypadków zawartość związków bioaktywnych w produkcie była znacząco wyższa niż w surowcu. Nie odnotowano jedynie różnic pomiędzy zawartością polifenoli w ananasiu przed i po suszeniu (Tab. 5). Suszenie mikrofalowe w obniżonym ciśnieniu odbywa się w stosunkowo niskiej temperaturze (poniżej 50°C) i w krótkim czasie (poniżej 5 minut). Konsekwencją jest stabilność związków biologicznie czynnych.

Jednocześnie odnotowywany jest wzrost zawartości suchej substancji, przez co końcowa zawartość tych związków w produkcie gotowym relatywnie wzrasta.

Tabela 5. Zawartość polifenoli, kwasu L-askorbinowego i aktywność antyoksydacyjna suszonych owoców

Owoc	Polifenole ogółem [mg GAE/100g owoców]	Kwas L-askorbinowy [mg/g owoców]	IC ₅₀ [mg owoców]
Gujawa - surowiec	171,21±4,91	71,25±1,96	5,61±0,22
Gujawa - produkt	201,38±9,04 *	81,48±3,87 *	4,75±0,31 *
Ananas - surowiec	25,48±3,74	19,53±2,96	53,21±1,15
Ananas - produkt	27,53±7,10	24,48±1,44 *	33,15±1,45 *

* Statystycznie istotne różnice pomiędzy wartościami parametrów dla surowców i produktów

Szczególnie bogatym źródłem polifenoli i witaminy C okazały się owoce gujawy. Wysoką zawartość polifenoli w tych owocach potwierdzili również Fu i in. [2011]. Autorzy przebadali 62 gatunki owoców i tylko w dwóch z nich – owocach głożyny pospolitej i flaszowca łuskowatego – stwierdzili większą zawartość tej grupy związków niż w gujawie. Również Alothman i in. [2009] określili, że gujawa zawiera około trzykrotnie więcej polifenoli niż ananas. Opisywana w literaturze zawartość witaminy C w gujawie mieści się w zakresie 70-145 mg/100g owocu, a w ananasie 9-60 mg/100 g owocu [Vinci i in., 1995; Luximon-Ramma i in., 2003; Gil i in., 2006; Kongsuwan i in., 2009; Oliveira i in. 2010]. Zgodnie z prawem żywnościowym obowiązującym na terenie UE (Rozporządzenia 1924/2006, 1169/2011, 432/2012) produkt zawierający co najmniej 12mg witaminy C w 100g może stanowić jej źródło, a co za tym idzie można dla niego stosować zatwierdzone oświadczenia zdrowotne. Zatem oba surowce po zastosowaniu suszenia mikrofalowego można traktować jako źródło tej witaminy. Prozdrowotne właściwości produktu potwierdzają również uzyskane wyniki zdolności antyoksydacyjnej owoców (Tab. 5). Rząca i Witrowa-Rajchert [2007] badały wpływ suszenia konwekcyjno-mikrofalowego na aktywność antyoksydacyjną jabłek. Stwierdziły, że w suszach otrzymanych przy zastosowaniu mikrofal 300W zawartość polifenoli i aktywność przeciwutleniająca były na podobnym a nawet wyższym poziomie niż w surowcu. Zalety suszenia metodą mikrofalowo-próżniową, ze względu na kształtowanie w produkcie (żurawina) profilu składników polifenolowych i jego właściwości przeciwutleniających, w stosunku do metod suszenia konwekcyjnego i sublimacyjnego wykazali Leusink i in. [2010]. Autorzy ci, podobnie jak Lin i in. [1998] oraz Durance i Wang [2002], podkreślili również bardzo pozytywny wpływ warunków suszenia mikrofalowego-próżniowego na właściwości fizyczne gotowego produktu (marchewka, ziemniaki).

Wnioski

Zastosowanie mikrofalowego suszenia owoców w obniżonym ciśnieniu pozwala na uzyskanie trwałego produktu, który ze względu na zawartość związków biologicznie czynnych może być doskonałym uzupełnieniem zbilansowanej diety.

Literatura

1. Alothman M., Bath R., Karim A.A., Antioxidant capacity and phenolic content of select tropical fruits from Malaysia, extracted with different solvents. *Food Chemistry*, 2009, 115, 785-788.
2. Alibas i., Akbudak B., Akbudak N., Microwave drying characteristics of spinach, *Journal of Food Engineering*, 2007, 78(2), 557-587.
3. Alibas I., , Determination of drying parameters, ascorbic acid contents and color characteristic of nettle leaves during microwave-, air, and combined microwave-air drying, *Journal of Food Process Engineering*, 2010, 33, 213-233.
4. Burguieres E., Mccue P., Kwon Y.I., Shetty K., Effect of vitamin C and folic acid on seed vigour response and phenolic-linked antioxidant activity. *Bioresource Technology*, 2007, 98, 1393-1404.
5. Calín-Sánchez Á., Szumny A., Figiel A., Jałoszyński K., Adamski M., Carbonell-Barrachina Á.A. Effects of vacuum level and microwave power on rosemary volatile composition during vacuum-microwave drying. *Journal of Food Engineering*, 2011, 103, 219-227.
6. Durance T.D., Wang J.H., Energy consumption, density, and rehydration rate of vacuum microwave- and hot-air convection-dehydrated tomatoes. *Journal of Food Science*, 2002, 67(2), 2212-2216.
7. Fu L., Xu X.R., Gan R.Y., Xia E.Q., Li H.B., Antioxidant capacities and total phenolic contents of 62 fruits. *Food Chemistry*, 2011, 129, 345-350.
8. Leusink G.J., Kitts D.D., Yaghmaee P., Durance T., , Retention of antioxidant capacity of vacuum microwave dried cranberry. *Journal of Food Science*, 2010, 75(3), 331-316.
9. Lewicki P.P., Design of hot air drying for better foods. *Trends in Food Science & Technology*, 2006, 17, 153-163.
10. Lin T.M., Durance T.D., Scaman C.H., Characterization of vacuum microwave, air and freeze dried carrot slices. *Food Research International*, 1998, 31(2), 111-117.
11. Luximon-Ramma A., Bahorun T., Crozie A., Antioxidant actions and phenolic and vitamin C contents of common Mauritian exotic fruits. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2003, 83, 496-502.
12. Nowacka M., Śledź M., Wiktor A., Witrowa-Rajchert D., Fizyczne i chemiczne właściwości produktów spożywczych suszonych z wykorzystaniem mikrofał, *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, (2012), 6 (85), 5-20.
13. Nowacka M., Witrowa-Rajchert D., Suszenie mikrofalowe żywności, *Przemysł Spożywczy*, 2012, 66(1), 35-38.
14. Oliveira D.S., Lobato A.L., Ribeiro S.M., Santana A.M.C., Chaves J.B.P., Pinheiro-Sant'Ana H.M., Carotenoids and Vitamin C during handling and distribution of guava (*Pisidium gujava* L.), mango (*Magnifera indica* L.), and papaya (*Carica papaya* L.) at commercial restaurants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2010, 58, 6166-6172.
15. Rząca M., Witrowa-Rajchert D., Wpływ suszenia konwekcyjno-mikrofalowego na aktywność przeciwrodnikową jabłek. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2007, 5 (54), 222-230.
16. Sagar V.R., Suresh Kumar P. Recent advances in drying and dehydration of fruits and vegetables: a review. *Journal of Food Science and Technology*, 2010, 47, 15-26.
17. Sijtsema S.J., Jesionkowska K., Symoneaux R., Konopacka D., Snoek H., Perceptions of the health and convenience characteristics of fresh and dried fruits. *LWT - Food Science and Technology*, 2012, 49, 275-281.
18. Vadivambal R., Jayas D.S., Changes in quality of microwave-treated agricultural Products - a review. *Biosystems Engineering*, 2007, 98, 1-16.
19. Waterhouse, A.L. Determination of total phenolics, in *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*, 11.1.1.-11.1.8, Wrolstad, R.E., Wiley, 2001.
20. Zhang M., Tang J., Mujumdar A.S., Wang S., Trends in microwave-related drying of fruits and vegetables. *Trends in Food Science & Technology*, (2006), 17, 524-534.

PRZEBIEG PROTEOLIZY W SERACH O OBNIŻONEJ ZAWARTOŚCI TŁUSZCZU

Wprowadzenie

Produkcja serów dojrzewających jest głównym kierunkiem przerobu mleka w zakładach produkcyjnych zarówno w Polsce jak i na świecie. W Polsce na produkcję serów przeznaczają się ok. 50% dostarczonego do mleczarni mleka, w Europie na ten cel przeznaczają się 43-46% [www.agro.apbiznes.pl]. Najchętniej kupowanymi w tej kategorii produktami mleczarskimi są sery dojrzewające (30%), twarogi (20%), serki wiejskie (17%), serki kremowe (16%), serki topione (10%) oraz pozostałe serki w tym pleśniowe (7%) [www.agro.apbiznes.pl]. Sery dojrzewające można podzielić ze względu na zawartość wody w masie beztłuszczowej na bardzo twarde (<51%), twarde (49-56%) i półtwarde (54-69%). Pod względem zawartości tłuszczu w suchej masie sery dzielą się na pełnotłuste (>60%), tłuste (45-60%), półtłuste (25-45%), częściowo odtłuszczone (10-25%), chude (<10%) [Codex General Standard for Cheese, 2011].

Sery są źródłem pełnowartościowego białka, łatwo przyswajalnego tłuszczu oraz mikroelementów i witamin niezbędnych do prawidłowego rozwoju organizmu człowieka. Wysoka wartość odżywcza oraz możliwość długotrwałego przechowywania, jak i różnorodność serów pod względem cech organoleptycznych sprawia, że cieszą się one coraz większą popularnością. W diecie człowieka sery dojrzewające, obok pieczywa, wędlin, owoców i warzyw, są jednym z najczęściej spożywanych produktów. Dzieje się to na skutek ich walorów smakowo-zapachowych, dostępności na rynku, wysokiej wartości odżywczej, łatwości przygotowania do spożycia oraz możliwości zastosowania jako składnika w innych daniach. Niemniej jednak, konsument XIX wieku kierując się chęcią posiadania szczupłej sylwetki, a przy tym złą opinią o tłuszczu, w tym o tłuszczu mlekowym, czy też obawami przed chorobami związanymi z nadwagą, coraz częściej wybiera produkty niskotłuszczowe [Jemioł i in., 2015]. Z uwagi na rosnące zainteresowanie konsumentów produktami o obniżonej kaloryczności, również przemysł mleczarski odpowiada na zapotrzebowanie rynku. W ofercie handlowej wielu przetwórców mleka znajdują się sery częściowo odtłuszczone i/lub chude. W latach 2005-2010 spożycie żywności o zredukowanej zawartości tłuszczu wzrosło z 4% do 12% [www.agro.apbiznes.pl]. Jedną z przesłanek do wprowadzenia nowych produktów jest oprócz alternatywnych lub nowych technologii, zmiany wizerunku firmy, realizacji założonego programu sprzedaży czy zmiany przepisów prawnych, zapotrzebowanie

rynku. Według danych z raportu PMMI Dairy Industry - A Market Assessment [2013], prawie 48% przetwórców mleka wprowadza na rynek innowacje w kategoriach mleczarskich, będących odpowiedzią na zapotrzebowanie rynku. Są to głównie produkty niskotłuszczowe, produkty beztłuszczowe, produkty o zredukowanej zawartości cukrów i soli, produkty bezlaktozowe, produkty wzbogacone kulturami probiotycznymi, produkty wzbogacone wapniem i innymi składnikami odżywczymi.

Produkcja serów o obniżonej zawartości tłuszczu wymaga zastosowania odpowiednich metod produkcyjnych, ze względu na szczególny układ białkowo-tłuszczowy w tych serach [Wierzbicka i in., 2003]. Tłuszcz jest nośnikiem wielu substancji biologicznie czynnych, witamin rozpuszczalnych w tłuszczach, niezbędnych nienasyconych kwasów tłuszczowych oraz wpływa na kształtowanie się smaku i zapachu produktu. Obniżenie zawartości tłuszczu o ok. 30% i zastąpienie go w takiej samej ilości wodą, skutkuje znacznym pogorszeniem jakości sera, dlatego oprócz zwiększenia zawartości wody stosuje się dodatek innych substancji wpływających na jego jakość [Mistry, 2001; Rodriguez, 1998]. Najczęściej stosowanymi zamiennikami są karagen, pochodne celulozy, inulina, skrobia modyfikowana, pektyny niskometylowe, lecytyna, białka serwatkowe, odtłuszczone mleko w proszku, odtłuszczone mleko zagęszczone. Pojawienie się na rynku nowych produktów dietetycznych stworzyło potrzebę wprowadzenia definicji i uregulowań prawnych znakowania żywności o obniżonej zawartości tłuszczu. Rozporządzenie (WE) nr 1924/2006 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 20 grudnia 2006 r. w sprawie oświadczeń żywieniowych i zdrowotnych dotyczących żywności definiuje również produkt o niskiej zawartości tłuszczu: „gdy produkt zawiera nie więcej niż 3 g tłuszczu na 100 g dla produktów stałych lub 1,5 g tłuszczu na 100 ml dla produktów płynnych (1,8 g tłuszczu na 100 ml mleka półtłustego)” [Rozporządzenie 1924/2006].

Celem prowadzonych badań była charakterystyka przemian proteolitycznych zachodzących w wybranych serach o obniżonej zawartości tłuszczu dostępnych na rynku krajowym.

Material i metodyka

Materiał do badań stanowiło 5 serów dojrzewających o obniżonej zawartości tłuszczu: ser Serenada Gouda Lekka (producent: SM Spomlek w Radzynie Podlaskim), ser Hit z Ryk (producent: SM Ryki w Rykach), ser Piórko (producent: Ceko Sp. z o.o. w Goliszewie), ser Edamer Light (producent: OSM w Kosowie Lackim), ser Boryna (producent: Ceko Sp. z o.o.). Serem kontrolnym pełnotłustym był ser Grand Gouda wyprodukowany przez SM Spomlek w Radzynie Podlaskim.

W tabeli 1 przedstawiono skład chemiczny serów deklarowany na opakowaniach przez producentów. Sery o obniżonej zawartości tłuszczu oraz ser pełnotłusty zostały

zakupione w hurtowniach spożywczo-przemysłowych w Olsztynie. Każdy produkt został zakupiony w bloku o masie ok. 2 kg. Sery zapakowane były w czyste, nienaruszone i szczelne opakowania (folia typu CRYOVAC). Sery do czasu analiz przechowywano w warunkach chłodniczych (temperatura przechowywania 3°C). Bezpośrednio przed analizą sery rozpakowano z opakowań jednostkowych i pobrano reprezentatywne próbki [ISO 707:2012]. W celu wykonania analiz chemicznych próbki serów rozdrobniono za pomocą urządzenia Santos (Boska Holland, Nowy York, USA). Po rozdrobnieniu próbki poddano standaryzacji do temperatury 20°C i dokładnie wymieszano w celu rozdzielenia połączonych części startego sera.

Tabela 1. Skład chemiczny serów deklarowany przez producentów na opakowaniach jednostkowych produktów

<i>Rodzaj sera</i>	Serenada Gouda Lekka	Hit z Ryk	Piórko Ceko	Edamer Light	Boryna Ceko	Grand Gouda
<i>Wartości odżywcze podane są w przeliczeniu na 100 g produktu</i>						
Wartość energetyczna	1124 kJ / 269 kcal	1100 kJ / 263 kcal	703 kJ / 166 kcal	1065 kJ / 254 kcal	1342 kJ / 322 kcal	1409 kJ / 339 kcal
Tłuszcz	17 g	13,2 g	2,7 g	12 g	22 g	26 g
Węglowodany	0,1 g	2,93 g	0,5 g	2,5 g	0,5 g	0,1 g
Białko	29 g	33,05 g	35 g	24 g	30,5 g	26,2 g
Sól	1,5 g	-	-	-	1,1 g	-

W badanych serach określono podstawowy skład chemiczny: zawartość suchej masy (metoda 990.20; 33.2.44, AOAC 2007), chlorków (metoda 935.43; 33.7.10 AOAC 2007), tłuszczu (metodą ekstrakcyjną, metoda 989.05; 33.2.26, AOAC 2007), azotu ogółem (metodą Kjeldahla, metoda 991.20; 33.2.11, AOAC 2007). W próbkach serów dokonano pomiaru aktywności wody za pomocą ręcznego miernika Rotronic HygroPalm 23-A (Rotronic AG, Basserdorf, Szwajcaria). Urządzenie zostało podłączone do dwóch sond Rotronic z serii HygroClip2 (Rotronic AG). Kwasowość czynną (pH) serów oznaczano przy użyciu pH-metru Testo 205 Set (Testo, Lenzkirch, Niemcy).

Przemiany proteolityczne monitorowano oznaczając zawartość związków azotowych nierozpuszczalnych w wodzie, zawartość związków azotowych rozpuszczalnych w wodzie, w 12% TCA (kwas trichlorooctowy) i w 5% PTA (kwas fosforowolframowy) [Ayyash i in., 2012] z pewnymi modyfikacjami. Zawartość związków azotowych rozpuszczalnych w wodzie oznaczono metodą Kjeldahla w 2 ml przesączu frakcji rozpuszczalnej w wodzie (ang. water soluble fraction, WSF) przygotowanej według

Kuchroo i in. [1982]. Zawartość związków azotowych rozpuszczalnych w 12% TCA oznaczono w 5 ml przesączu z mieszaniny 15 ml WSF i 5 ml 48% roztworu TCA. Zawartość związków azotowych rozpuszczalnych w 5% PTA oznaczono w 5 ml przesączu z mieszaniny 20 ml WSF, 6 ml 33,3% wodnego roztworu PTA i 14 ml 3,95 M wodnego roztworu kwasu siarkowego, którą pozostawiono na dobę w temperaturze 4°C. Wyniki te zostały wyrażone jako zawartość związków azotowych rozpuszczalnych w odniesieniu do azotu ogółem.

Wyniki i dyskusja

Sery o obniżonej zawartości tłuszczu są produktami, w których zapewnienie właściwych cech fizykochemicznych i tekstury jest podstawowym kryterium oceny ich jakości i wyboru przez konsumenta. Zawierają one w swoim składzie więcej białka i wody niż sery pełnotłuste, co wpływa na obniżenie zawartości tłuszczu w tych serach [Brown i in., 2003]. Najwyższą zawartość wody oznaczono w serze Piórko Ceko 53,94%, natomiast najniższą w serze kontrolnym Grand Gouda 39,88%. Wszystkie sery o obniżonej zawartości tłuszczu wykazywały wyższą zawartość wody w porównaniu do sera kontrolnego Grand Gouda (Tab. 2). Zawartość tłuszczu we wszystkich badanych serach była niższa aniżeli w serze kontrolnym, którego zawartość tłuszczu wynosiła 28,00%. Spośród badanych serów najniższą zawartością tłuszczu (1,88%) charakteryzował się ser Piórko Ceko. Zgodnie z klasyfikacją Codex General Standard for Cheese [2011] analizowane sery należą do serów chudych: Piórko Ceko (zawartość tłuszczu w s.m. <10%), serów częściowo odtłuszczonych: Hit z Ryk i Edamer Light (zawartość tłuszczu w s.m. 10-25%) oraz serów półtłustych: Serenada Gouda Lekka i Boryna Ceko (zawartość tłuszczu w s.m. 25-45). Najwyższą zawartość białka oznaczono w serze Edamer Light 34,26%, najniższą w serze kontrolnym Grand Gouda 27,75%. Wyższa zawartość białka w serach niskotłuszczowych może wynikać z zastosowania zamienników białkowo-tłuszczowych, stosowanych w celu obniżenia zawartości tłuszczu w serach [Ma i in., 1997]. Zawartość NaCl w badanych serach kształtowała się na poziomie 0,65-1,04%. Aktywność wody mieściła się w przedziale 0,91-0,95. Aktywność wody wskazuje na stopień powiązania cząsteczek wody ze składnikami produkowanego sera. Jej wartość jest zależna od procesu produkcyjnego, stopnia dojrzewania i rodzaju sera [Bonczar i in., 2011]. Aktywność wody dla sera typu Gouda według danych podawanych w literaturze wynosi 0,924 [Bonczar i in., 2011]. Kwasowość czynna pH w badanych serach mieściła się w przedziale 5,54-5,81. O wartości tej decyduje stopień przemian fizykochemicznych mikroflory wtórnej zachodzący podczas dojrzewania sera. Na obniżenie wartości aktywności wody oraz kwasowości czynnej pH ma wpływ zawartość soli w serze [Bonczar i in., 2011].

Tabela 2. Charakterystyka fizykochemiczna serów o obniżonej zawartości tłuszczu i sera kontrolnego (Grand Gouda)

Rodzaj sera	Zawartość %					Aktywność wody	pH
	Woda	Tłuszcz	Tłuszcz w s.m.	Białko (Nx6,38)	NaCl		
Serenada Gouda Lekka	47,78	15,93	30,50	28,73	0,70	0,94	5,68
Hit z Ryk	45,88	11,25	20,79	32,39	0,90	0,94	5,54
Piórko Ceko	53,94	1,88	4,09	33,40	1,04	0,94	5,55
Edamer Light	44,09	12,69	22,70	34,26	0,65	0,94	5,81
Boryna Ceko	40,81	23,23	39,25	29,65	0,80	0,95	5,55
Grand Gouda	39,88	28,00	46,57	27,75	0,77	0,91	5,69

Monitorowanie przemian białkowych pozwala na ocenę jakości serów oraz przedstawia stopień rozkładu każdej grupy produktów białkowych od peptydów wysokocząsteczkowych o dużej masie cząsteczkowej do aminokwasów. Na stopień proteolizy w pierwszym etapie produkcji i dojrzewania serów o obniżonej zawartości tłuszczu mają głównie wpływ enzymy proteolityczne [Cichosz i in., 2005; Hassan i in., 2007]. Na intensywność tych przemian wpływa skład kultur starterowych, działanie enzymów koagulujących, enzymów rodzimych mleka oraz enzymów egzogennych stosowanych podczas produkcji serów. Za proteolizę białek sera oraz jego dojrzewanie odpowiedzialne są głównie proteiny i peptydazy.

Proces proteolizy w badanych serach niskotłuszczowych kontrolowany był poprzez oznaczenie zawartości związków azotowych nierozpuszczalnych w wodzie (ang. Water Insoluble Nitrogen, WIN). Najwyższą zawartością WIN w badanych serach charakteryzował się ser Piórko Ceko 74,07%, natomiast najniższą ser kontrolny Grand Gouda 42,46% (Tab. 3). Związki azotowe oznaczone w frakcji nierozpuszczalnej w wodzie reprezentują przede wszystkim nienaruszoną kazeinę oraz peptydy o dużej masie cząsteczkowej [McSweeney i in., 1997]. Wyniki badań przeprowadzone dla serów o obniżonej zawartości tłuszczu wykazały, że najwyższą procentową zawartość związków azotowych rozpuszczalnych w wodzie jako procent azotu ogółem (WSN-TN) oznaczono w serze Edamer Light 24,39%, natomiast najniższą w serze kontrolnym Grand Gouda 9,19%. Związki azotowe rozpuszczalne w wodzie (WSN-TN) były przedmiotem badań Macedo i in. [1997]. W serze Serra określono zmiany WSN-TN po upływie 7, 21 i 35 dni i kształtowały się one na poziomie 9,5% po 7 dniach do 30,1% po 35 dniach.

Badania zmian zawartości WSN-TN w procesie dojrzewania owczego sera Tulum prowadzili także Cakmaki i in. [2011]. Zawartość WSN-TN badana po 30, 60, 90 i 120 dniach dojrzewania mieściła się w przedziale 2,61-3,34%, przy czym zawartość WSN-TN wzrastała wraz z upływem okresu dojrzewania. Wytrącanie produktów degradacji parakazeiny roztworem TCA to bardzo często stosowana metoda frakcjonowania związków azotowych rozpuszczalnych w wodzie (WSF) [Cichosz i in., 2005]. W zależności od stężenia TCA wytrącane są peptydy o różnej masie cząsteczkowej [Singh i in., 1995]. Frakcja peptydów rozpuszczalnych w 12% TCA, to przede wszystkim niskocząsteczkowe peptydy (2 do 20 aminokwasów) i wolne aminokwasy [Yvon i in., 1989]. Najwyższą procentową zawartość związków azotowych rozpuszczalnych w 12% TCA-TN w badanych serach oznaczono w serze Edamer Light 19,52%, natomiast najniższą w serze kontrolnym Grand Gouda 5,86% (Tab. 3).

Tabela 3. Zawartość związków azotowych w serach o obniżonej zawartości tłuszczu i w serze kontrolnym (Grand Gouda) [%]

<i>Rodzaj sera</i>	WIN¹	WSN-TN²	TCA-TN³	PTA-TN⁴
Serenada Gouda Lekka	59,17	11,57	6,80	0,21
Hit z Ryk	60,47	11,52	5,83	0,12
Piórko Ceko	74,07	16,56	11,07	0,48
Edamer Light	60,65	24,39	19,52	1,34
Boryna Ceko	52,72	16,09	7,92	0,15
Grand Gouda	42,46	9,19	5,86	0,24

¹ WIN- Water insoluble nitrogen - zawartość związków azotowych nierozpuszczalnych w wodzie

² WSN-TN - zawartość związków azotowych rozpuszczalnych w wodzie jako procent azotu ogółem (ang. Total Nitrogen, TN)

³ TCA-TN - zawartość związków azotowych rozpuszczalnych w 12%TCA jako procent azotu ogółem (ang. Total Nitrogen, TN)

⁴ PTA-TN - Zawartość związków azotowych rozpuszczalnych w 5% PTA jako procent azotu ogółem (ang. Total Nitrogen, TN)

Sheibani i in. [2015] badali zakres proteolizy w serach o zredukowanej zawartości soli wyprodukowanych z dodatkiem kultur starterowych o wysokiej aktywności proteolitycznej. Zmiany TCA-TN dla tych serów kształtowały się na poziomie od 2,35 do 4,98%. Zbliżone wyniki dla sera Akawi uzyskali także Ayyash i in. [2012]. Zawartość TCA-TN dla sera Akawi wyprodukowanego z dodatkiem KCl i bakteriami probiotycznymi kształtowała się na poziomie 1,66%. Podczas frakcjonowania związków azotowych 5% roztworem PTA, można oznaczyć aminokwasy i peptydy o bardzo małej

masie cząsteczkowej [Rohm i in., 1997]. W skład tej frakcji wchodzi aminokwasy i peptydy o masie cząsteczkowej poniżej 600 Da [Cichosz i in., 2005]. Najwyższą zawartość PTA-TN oznaczono w serze Edamer Light 1,34%, najniższe wartości oznaczono w serach Hit z Ryk 0,12% oraz w serze Boryna Ceko 0,15% (Tab. 3). Badania frakcjonowania związków azotowych 5% roztworem PTA prowadzili także Macedo i in. [1997] oraz Ayyash i in. [2012], którzy uzyskali wyniki porównywalne do ocenianych serów niskotłuszczowych, kształtujące się na poziomie 0,93-1,2%.

Warto jednak nadmienić, iż nie dysponowano informacjami o stopniu dojrzałości badanych serów, w związku z czym badania mogły dotyczyć serów po różnym czasie dojrzewania. Stopień proteolizy serów nie jest jedynym kryterium decydującym o akceptacji serów przez konsumentów. Przemiany tłuszczu, czyli lipoliza, odgrywają bardzo istotną rolę w kształtowaniu cech smakowo-zapachowych sera.

Wnioski

1. Ze względu na rosnące zainteresowanie produktami mleczarskimi o obniżonej zawartości tłuszczu niezbędne są rozszerzone badania fizykochemiczne określające zawartość poszczególnych składników odżywczych w tych produktach.
2. Wyższa zawartość białka i niższa zawartość tłuszczu oznaczona w badanych serach niskotłuszczowych może wynikać z zastosowania zamienników białkowo-tłuszczowych stosowanych podczas produkcji sera.
3. Uwalnianie się dużej ilości produktów degradacji kazeiny świadczy o intensywnych przemianach proteolitycznych zachodzących w serach o obniżonej zawartości tłuszczu co wpływa na profil sensoryczny i jakość tych serów.

Literatura

1. AOAC. 2007. Official Methods of Analysis. 18th ed. AOAC, Gaithersburg, MD.
2. Ayyash M., Sherkat M., Shah N.P., The effect of NaCl substitution with KCl on Akawi cheese: Chemical composition, proteolysis, angiotensin-converting enzyme-inhibitory activity, probiotic survival, texture profile and sensory properties. *J. Dairy Sci.*, 2012, 95, 4747-4759.
3. Bonczar G., Wszolek M., Walczycka M., Żebrowska A., Maciejowski K., Wpływ wybranych czynników na aktywność wody i jakość mikrobiologiczną miękkich serów z mleka owczego. *ŻYWNOSĆ. Nauka. Technologia. Jakość*, 2011, 3 (76), 98-108.
4. Brown. J.A., Foegeding E.A., Daubert C.R., Drake M.A., Gumpertz M., Relationships Among Rheological and Sensorial Properties of Young cheeses, *J. Dairy Sci.*, 2003, 86, 3054-3067.
5. Cakmakci S., Gurses M., Gundogdu E., The effect of different packaging materials on proteolysis, sensory stores and gross composition of tulum cheese. *African Journal of Biotechnology*, 2011, 10 (12), 4444-4449.
6. Cichosz G., Konopka A., Zalecka A., Dojrzewanie sera Gouda – monitoring z zastosowaniem metody odwoławczej i metod alternatywnych. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2005, 4 (45), 52-61.
7. Eigel W.N., Keenan T.W., Identification of proteose peptone component 8-slow as a plasmin-derived fragment of bovine β -casein, *J. Biochem.*, 1979, 10, 529-535.

8. Hassan A., N., Awad S., Mistry M.,M., Reduced FAT process cheese made from Young reduced FAT Cheddar cheese manufactured with exopolysaccharide-producing cultures. *J. Dairy Sci.*, 2007, 90, 3604-3612.
9. <http://agro.apbiznes.pl/wp-content/uploads/2013/10/Nielsen-Forum-Technologii-Serowarskich-Elbl%C4%85g.pdf> (dostęp online 17.07.2015 r).
10. ISO 707:2012, Milk and milk products – Guide on sampling.
11. Jemioł G., Treszczyńska B., Żulewska J., Sposób na ser o obniżonej zawartości tłuszczu, *Przegląd Mleczarski*, 2015, 10, 22-24.
12. Kuchroo C.N, Fox P.F. Fractionation of the water-soluble-nitrogen from Cheddar cheese: chemical methods. *Milchwissenschaft*, 1982, 37, 651-653.
13. Ma L., Drake M., Barbosa-Canovas G., Swanson B., Rheology of full-fat and low-fat Cheddar Cheese as related to type of fat mimetics. *J. Food Sci.*, 1997, 62 (4), 748-751.
14. Macedo A.C., Malcata F.X., Secondary proteolysis in Serra Cheese during ripening and throughout the cheese-making season. *Zeitschrift für Lebensmitteluntersuchung und -Forschung A*, 1997, 204 (3), 173-179.
15. McSweeney P.L.H., Fox P.F., Chemical methods for the characterization of proteolysis in cheese during ripening. *Lait*, 1997,77, 41-76.
16. Mistry V. Low fat cheese technology. *Int. Dairy J.*, 2001, 11, 413-422.
17. Nelson B.K, Barbano D.M., Yield and aging of Cheddar cheeses manufactured from milks with different milk serum protein contents., *J. Dairy Sci.*, 2005, 88, 4183-4194.
18. PMMI Dairy Industry – A Market Assessment,2013, Dairy Industry Trends & Challenges. <http://www.pmmi.org/files/Research/ExecutiveSummaries/2013DairyExecSummary.pdf> (z dnia 24.04.2016).
19. Rodriguez J. Recent advances in the development of low-fat cheeses. *Trend. Food Sci.& Technol.*, 1998, 9, 249-254.
20. Rohm H., Jaros D., Riedler- Hellrigl M., A simple distillation method for the assessment of proteolysis in hard cheese. *Lebensm.- Wiss. U.-Technol.*, 1997, 30, 767-769.
21. Sheibani A., Ayyash M.,M., Shah N.,P., The effects of salt reduction on characteristics of hard type cheese made using high proteolytic starter culture, *International Food Research Journal*, 2015, 22(6), 2452-2459.
22. Rozporządzenie (WE) Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 20 grudnia 2006 r. w sprawie oświadczeń żywieniowych i zdrowotnych dotyczących żywności nr 1924/2006.
23. Singh T.,K., Fox P.F., Healy A., Water –soluble peptides In Cheddar cheese: isolation and identification of peptides In the diafiltrationretentate of the water – soluble fraction, *Journal of Dairy Research*, 1995, 62, 629-640.
24. Verdi, R.J., Barbano, D.M., Dellavalle, M.E., Senyk, G.F. Variability in true protein, casein, nonprotein nitrogen, and proteolysis in high and low somatic cell milks. *J. Dairy Sci.*, 1987, 70, 230-242.
25. Wierzbička A., Biller E., Plewicki T., Wybrane aspekty inżynierii żywności w tworzeniu produktów spożywczych, Wyd. SGGW, Warszawa 2003.
26. Yvon M., Chabenet C., Pelissier J.P.: Solubility of peptides in trichloroacetic acid (TCA) solutions. *Int. J. Peptide Protein Res.*, 1989, 39, 166-176.

MAGDALENA EFENBERGER-SZMECHTYK, AGNIESZKA NOWAK,
AGATA CZYŻOWSKA

*Institut Technologii Fermentacji i Mikrobiologii, Politechnika Łódzka,
e-mail: magdalena.efenberger@gmail.com*

**AKTYWNOŚĆ PRZECIWBAKTERYJNA EKSTRAKTÓW POLIFENOLOWYCH
POZYSKANYCH Z LIŚCI JABŁONI**

Streszczenie

Celem pracy było zbadanie aktywności przeciwbakteryjnej ekstraktów polifenolowych pozyskanych z liści jabłoni. W ramach badań wykonano ekstrakcję wodą i etanolem (o stężeniu 30% i 60%). W ekstraktach oznaczano ilość polifenoli ogółem, aktywność antyoksydacyjną i identyfikowano związki fenolowe metodami HPLC i LC-MS. Badano wpływ ekstraktów na wzrost bakterii charakterystycznych dla środowiska mięsnego. Najwyższą zawartość polifenoli stwierdzono w ekstrakcie etanolowym (60%), natomiast największą zdolność antyoksydacyjną wykazywał ekstrakt wodny. W ekstraktach zidentyfikowano związki z grupy: flawonoli, kwasów fenolowych, flawan-3-oli i chalkonów, przy czym wykazano różnice w ich składzie ilościowym w zależności od rodzaju rozpuszczalnika. Wszystkie rodzaje ekstraktów hamowały wzrost badanych bakterii, ale najaktywniejszy był ekstrakt wodny i etanolowy (60%). Wykazano, że bakterie Gram-dodatnie były bardziej wrażliwe niż Gram-ujemne.

Wprowadzenie

Polifenole występują we wszystkich częściach roślin. Największe ilości tych związków zawierają liście, natomiast najwyższą aktywność antyoksydacyjną wykazują pąki i owoce. Na zawartość polifenoli wpływa również odmiana rośliny oraz pora zbioru, przy czym najwięcej tych związków ekstrahowanych jest z liści czerwcowych [Vrhovsek i in., 2004; Tabart i in., 2011; Nour i in., 2014].

Polifenole charakteryzuje szereg właściwości farmakologicznych. Wykazują działanie przeciwnowotworowe, przeciwmiażdżycowe, przeciwzapalne, przeciwcukrzycowe, przeciwalergiczne, a także wpływają na obniżenie masy ciała. Dobrze udokumentowane jest przeciwutleniające działanie związków fenolowych, które polega m.in. na bezpośredniej reakcji z wolnymi rodnikami, „zmiataniu” wolnych rodników, hamowaniu aktywności enzymów odpowiedzialnych za tworzenie wolnych rodników, aktywacji enzymów antyoksydacyjnych, hamowaniu utleniania innych antyoksydantów. Aktywność przeciwdrobnoustrojowa polifenoli wciąż jest

natomiast stosunkowo słabo poznana. Badania coraz częściej wskazują jednak na możliwość wykorzystania przeciwutleniających i przeciwbakteryjnych właściwości związków fenolowych i wprowadzania ich do produktów spożywczych jako naturalnych konserwantów.

Zatem, celem pracy było zbadanie zdolności antyoksydacyjnej ekstraktów polifenolowych pozyskanych z liści jabłoni i ocena ich wpływu na wzrost wybranych szczepów bakterii powodujących psucie mięsa i produktów mięsnych, aby w późniejszych badaniach zastosować je do konserwacji produktów mięsnych.

Materiały i metody badań

Materiały badań

Materiał biologiczny badań stanowiły liście jabłoni zebrane w połowie sierpnia 2015 roku w miejscowości Tymianka (okolice Łodzi). Liście przechowywano w stanie zamrożonym (-20°C) do czasu przygotowania ekstraktów polifenolowych.

Do badań wybrano szczepy bakterii odpowiedzialne za procesy mikrobiologicznego psucia produktów mięsnych: *Escherichia coli* (ATCC 10536), *Enterobacter aerogenes* (PCM 532), *Proteus mirabilis* (ATCC 12453), *Pseudomonas fluorescens* (PCM 2123), *Enterococcus faecalis*, *Lactobacillus rhamnosus* (ŁOCK 908), *Brochothrix thermosphacta* (MMAP4).

Przygotowanie ekstraktów polifenolowych

Wykonano trzy rodzaje ekstraktów polifenolowych z liści jabłoni: ekstrakt wodny oraz ekstrakty etanolowe o różnych stężeniach etanolu (30% i 60%). W celu przygotowania każdego z ekstraktów, odważano 30 g liści i homogenizowano (Devimix, De Ville Biotechnology) przy użyciu 150 ml odpowiedniego rozpuszczalnika (10 min, 8 Hz, 20°C). Próby filtrowano i wirowano przez 10 min przy 10000 rpm (20913×g) w temperaturze 4°C. Zebrany supernatant przechowywano w temperaturze -20°C do czasu dalszych analiz.

Oznaczanie zawartości polifenoli ogółem w ekstraktach

Zawartość związków polifenolowych w otrzymanych ekstraktach oznaczano metodą Folin-Ciocalteu. W skład odczynnika Folin-Ciocalteu wchodzi kompleks związków wolframowo-molibdenowych ($H_3PW_{12}O_{40}$ i $H_3PMO_{12}O_{40}$), które ulegają redukcji w obecności polifenoli i przechodzą w formy o barwie niebieskiej (W_8O_{23} i Mo_8O_{23}). Intensywność zabarwienia jest proporcjonalna do ilości związków fenolowych w próbce.

Do próbek odmierzano 0,1 ml odpowiednio rozcieńczonego ekstraktu (w 3 powtórzeniach), dodawano 0,2 ml odczynnika Folin-Ciocalteu, 1 ml 20% Na_2CO_3

i 2 ml wody destylowanej. Równocześnie wykonano próbę zerową, która zamiast ekstraktu zawierała 0,1 ml wody destylowanej. Przygotowane próby mieszano i pozostawiano na 1 godzinę w temperaturze pokojowej, bez dostępu światła. Następnie mierzono absorbancję badanych prób w stosunku do próby zerowej przy długości fali 765 nm z użyciem spektrofotometru Cecil CE2041 (Cecil Instruments Limited, Cambridge, UK). Na podstawie przygotowanej uprzednio krzywej wzorcowej dla kwasu galusowego obliczano zawartość związków polifenolowych w ekstraktach, a wyniki wyrażano w $\text{mg}_{\text{GAE}}/100 \text{ ml}$.

Oznaczanie zdolności antyoksydacyjnej ekstraktów

Zdolność antyoksydacyjną ekstraktów polifenolowych określano metodą redukcji rodnika DPPH (rodnik 2,2-difenylo-1-pikrylohydrazydowy, Sigma). W roztworach alkoholowych rodnik DPPH ma barwę purpurową. W reakcji z antyoksydantem, wychwytuje elektrony i tworzy formę zredukowaną o słabszej barwie. Spadek barwy jest proporcjonalny do zdolności antyoksydacyjnej przeciwutleniacza.

Roztwór DPPH przygotowano rozpuszczając 2,4 mg odczynnika w 100 ml etanolu. Do probówek typu Eppendorf wprowadzano w 3 powtórzeniach po 1,95 ml roztworu DPPH i 0,05 ml badanego ekstraktu. Próbę zerową przygotowano odmierzając 0,05 ml wody destylowanej zamiast ekstraktu. Próby inkubowano w temperaturze pokojowej przez 30 min bez dostępu światła. Po upływie tego czasu mierzono ich absorbancję przy długości fali 517 nm względem etanolu, z użyciem spektrofotometru Cecil CE2041 (Cecil Instruments Limited, Cambridge, UK). Na podstawie uzyskanych wyników obliczano % inhibicji rodnika DPPH: % inhibicji = $100\%(A_0 - A_{\text{sr}})/A_0$, gdzie A_0 - absorbancja próby zerowej, A_{sr} – średnia absorbancja prób zawierających ekstrakt. Stosując roztwór wzorcowego antyoksydantu – Troloksu (kwas 6-hydroksy-2,5,7,8-tetrametylchroman-2-karboksylowy, Sigma) – wykonano także krzywą wzorcową. Zdolność antyoksydacyjną ekstraktów określano na podstawie równania krzywej i wyrażano w przeliczeniu na stężenie równoważników Troloksu ($\mu\text{mol}_{\text{TE}}/100 \text{ ml}$)

Identyfikacja związków polifenolowych

Polifenole identyfikowano metodami HPLC i LC-MS. Detekcję prowadzono przy długościach fali 280 nm (flawan-3-ole i chalkony), 320 nm (kwasy fenolowe) i 360 nm (flawonole).

HPLC

Rozdział chromatograficzny metodą HPLC przeprowadzano z użyciem kolumny z odwróconą fazą C-18: Waters Spherisorb 5 μm ODS2, 4,6 \times 250 i detektora

fotodiodowego Finnigan Surveyor PDA Plus Detector (Thermo Scientific, USA). Rozdział prowadzono w czasie 60 min w temperaturze pokojowej przy prędkości przepływu 0,80 ml/min, a objętość dozowanej próby wynosiła 50 µl. Eluentami były: A - kwas mrówkowy (5%) i B - acetonitryl (95%). Stosowano następujący gradient stężeń fazy ruchomej: 97% A przez 2 min, 97-85% A przez 13 min, 85-82% A przez 9 min, 82-75% A przez 31 min, 75-70% A przez 5 min.

LC-MS

Spektrometrię mas z jonizacją przez elektrorozpylanie prowadzono z użyciem spektrometru masowego MS LTQ Velos (ThermoScientific, Waltham, MA, USA). Widma uzyskiwano w ujemnym trybie jonizacji w zakresie 120-1000 *m/z*. Temperatura desulfatacji wynosiła 280°C, a temperatura źródła 350°C. Czas rozdziału wynosił 55 min, objętość dozowanej próby 10 µl, a prędkość przepływu 220 µl/min. Faza ruchoma składała się z eluentu A - kwas mrówkowy (0,01%) i B - acetonitryl (95%). Rozdział prowadzono w gradiencie stężeń: 96-85% A przez 8 min, 85-70% A przez 22 min, 70-60% A przez 10 min, 60-50 % A przez 4 min, 50% A przez 3 min, 50-96% A przez 2 min, 96% 6 minut.

Oznaczanie aktywności przeciwbakteryjnej ekstraktów polifenolowych

Wpływ ekstraktów z liści jabłoni na wzrost wybranych drobnoustrojów badano metodą densytometryczną z użyciem densytometru Biosan DEN-1 (Biogenet, Polska). Pomiar zmętnienia wykonywano przy długości fali 550 nm, a wyniki wyrażano w jednostkach McFarlanda. Próby właściwe wykonano wprowadzając do 9 ml pożywki TSB (Merck, nr kat. 1054590500), 1 ml ekstraktu i 0,1 ml 24-godzinnej hodowli bakterii. Próby kontrolne stanowiła pożywka TSB zawierająca odpowiednio: (a) 1 ml ekstraktu, (b) 0,1 ml zawiesiny bakteryjnej, (c) 1 ml etanolu (30%, 60%) + 0,1 ml zawiesiny bakteryjnej. Tak przygotowane hodowle inkubowano w temperaturze 30°C, a pomiar gęstości optycznej wykonywano w odstępach 24 godzinnych. Po 72 h inkubacji obliczano stopień zahamowania wzrostu drobnoustrojów ze wzoru: stopień zahamowania wzrostu = $100\% \cdot (OD_0 - OD_E) / OD_0$, gdzie OD_0 – gęstość optyczna hodowli bakteryjnej bez dodatku ekstraktu, OD_E – gęstość optyczna hodowli bakteryjnej z dodatkiem ekstraktu. W obliczeniach uwzględniono inhibitorowy efekt działania etanolu.

Analizy statystyczne

Analizy statystyczne przeprowadzono z wykorzystaniem oprogramowania STATISTICA 12 (StatSoft). Wykonywano test t-Studenta ($p < 0,05$).

Wyniki i dyskusja

Zawartość polifenoli w ekstraktach z liści jabłoni i aktywność antyoksydacyjna ekstraktów

Przeprowadzone badania pozwoliły określić różnice w zawartości przeciwutleniaczy w ekstraktach i ich aktywności przeciwdrobnoustrojowej, zależnie od użytego rozpuszczalnika.

Zawartość związków polifenolowych w ekstraktach wodnych i etanolowych oznaczona metodą Folin-Ciocalteu była statystycznie istotnie różna. Najwięcej polifenoli zawierał ekstrakt 60% etanolowy, a najmniej ekstrakt wodny. Ilość tych związków w ekstrakcie 60% etanolowym była prawie 6 razy większa niż w wodnym i prawie 1,4 razy większa niż w 30% etanolowym (Tab. 1). Zdolność antyoksydacyjną ekstraktów oznaczano metodą redukcji DPPH i wyrażano jako stężenie równoważników Troloksu (przeciwutleniaczy) oraz stopień inhibicji rodnika DPPH. Stwierdzono istotne statystycznie różnice w aktywności przeciwutleniającej między poszczególnymi roztworami. Największą aktywność przeciwutleniającą zaobserwowano dla ekstraktu wodnego, a najmniejszą dla ekstraktu 30% etanolowego. Różnice w zdolności antyoksydacyjnej ekstraktów nie były tak znaczne, jak różnice w ilości polifenoli ogółem (Tab. 1).

Tabela 1. Zawartość polifenoli ogółem i zdolność antyoksydacyjna ekstraktów polifenolowych z liści jabłoni

Rodzaj ekstraktu	Polifenole ogółem [mg _{GAE} /100ml]	DPPH [μmol _{TE} /100ml]	DPPH [% inhibicji]
Ekstrakt wodny	21,65±3,00 ^a	65,57±1,54 ^c	62,26±1,69 ^c
Ekstrakt etanolowy (30%)	93,64±1,57 ^b	58,14±1,88 ^a	54,13±2,06 ^a
Ekstrakt etanolowy (60%)	126,98±2,97 ^c	62,63±1,18 ^b	59,04±1,29 ^b

GAE – równoważnik kwasu galusowego

TE – równoważnik Troloksu

^{a, b, c} – różnice istotne statystycznie między poszczególnymi rodzajami ekstraktów (p < 0,05)

Dent i in. [2013] również analizowali wpływ różnych rozpuszczalników tj. wody destylowanej oraz roztworów wodnych etanolu i acetonu o stężeniach 30, 50, 70%, a także czasu i temperatury na wydajność ekstrakcji polifenoli. Wykazali, że najefektywniejszą ekstrakcję zapewnia zastosowanie dwuskładnikowych rozpuszczalników, gdyż związki polifenolowe wykazują różne własności polarne. Autorzy najlepszą wydajność ekstrakcji uzyskali stosując roztwory etanolu i acetonu o stężeniu 30% (30 min, 60°C). Podobne wyniki uzyskali Nour i in. [2014], którzy udokumentowali, że najsilniejszą aktywność antyoksydacyjną oraz najwyższą ilość

polifenoli zapewnia zastosowanie ekstrakcji przy użyciu 40% etanolu, niższą przy zastosowaniu wody (80°C), a najniższą z użyciem 80% etanolu. Wykazali również korelację między zdolnością przeciwutleniającą a stężeniem polifenoli w ekstraktach.

Identyfikację polifenoli przeprowadzano metodami HPLC i LC-MS. Na podstawie analizy dostępnych wzorców i danych literaturowych zidentyfikowano 12 związków fenolowych. W oparciu o wzorce zidentyfikowano kwas chlorogenowy i dikawowy z grupy kwasów hydroksycynamonowych, epigalokatechinę należącą do flawan-3-oli, kwercetyno-heksozyd z grupy flawonoli i florydzynę należącą do chalkonów. Korzystając z danych literaturowych, zidentyfikowano także inne kwasy fenolowe (kwas neochlorogenowy, kwas chinowy) flawonole (kwercetyno-ramnozyd, kwercetyno-pentozyd) flawan-3-ole (galokatechino-glukozyd) i chalkony (floretynę, 3-hydroksyflorydzynę) [Lommen i in., 2000; Vrhovsek i in., 2004; Sójka i in., 2009; Jiang i in., 2012; Teleszko, Wojdyło, 2015]. Obecność floretyny obserwowano jednak tylko w ekstrakcie 60% etanolowym (Tab. 2). Analiza chromatogramów HPLC nie wykazała obecności pików charakterystycznych dla kwasu chinowego, kwercetyno-heksozydu, epigalokatechiny (ekstrakty etanolowe 30 i 60%), które wykryto metodą LC-MS.

Tabela 2. Identyfikacja związków polifenolowych w ekstraktach z liści jabłoni metodą LC-MS

Związek polifenolowy	R _t [min]	λ _{max} [nm]	[M-H] ⁻	ms ²	Ekstrakt
Kwas chinowy ^a	2,22	220/260	191	173/127/85	W, 30, 60
Galokatechino-glukozyd ^a	5,73	229/283	467	305	W, 30, 60
Epigalokatechina	7,21	221/285	305	29/137/125	W, 30, 60
Kwas neochlorogenowy ^a	10,56	232/312	353	191	W, 30, 60
Kwas dikawowy	11,37	234/318	341	281/251/179/221	W, 30, 60
Kwas chlorogenowy	12,25	234/299/324	353	191	W, 30, 60
Kwercetyno-heksozyd	21,06	257/354/361	463	301	W, 30, 60
3-Hydroksyflorydzyzna ^a	23,72	229/287	453	291	W, 30, 60
Kwercetyno-pentozyd ^a	24,95	265/288/347	433	301	W, 30, 60
Kwercetyno-ramnozyd ^a	25,97	258/349	447	301	W, 30, 60
Florydzyzna	28,47	229/286	435	273	W, 30, 60
Floretyna ^a	37,61	230/286	273	167	60

W – ekstrakt wodny, 30 – ekstrakt 30% etanolowy, 60 – ekstrakt 60% etanolowy

^a – związki zidentyfikowane w oparciu o dane literaturowe

Według badań Teleszko i Wojdyło [2015], w liściach jabłoni obecne są następujące polifenole: flawan-3-ole (katechiny, procyanidyna B1, B2, C1, epikatechiny), chalkony (florydzyd, floretyno-2'-ksylo-glukozyd), kwasy fenolowe (kwas neochlorogenowy, kwas chlorogenowy, kwas kryptochlorogenowy, kwas kawowy, kwas *p*-kumarowo-chinowy), flawonole (kwercetyno-3-*O*-galaktozyd, kwercetyno-3-*O*-rutynozyd, kwercetyno-3-*O*-glukozyd, kemferolo-3-*O*-ramnozyd). Bonarska-Kujawa i in. [2011] wykryli natomiast: kwas chlorogenowy, florydzyd, floretyno-2'-ksyloglukozyl, kwercetyno-3-*O*-galaktozyd, kwercetyno-3-*O*-glukozyd, kwercetyno-3-*O*-arabinozyd, kwercetyno-3-*O*-ksylozyd, kwercetyno-3-*O*-ramnozyd, *p*-kumarylo-glukozyd i pochodne kwasu *p*-kumarowego oraz kawowego.

Stężenia polifenoli w ekstraktach obliczano na podstawie równań krzywych wzorcowych dla kwasu galusowego (280 nm), florydzydiny (280 nm), kwasu chlorogenowego (320 nm), kwasu kawowego (320 nm) i kwercetyno-glukozydu (360 nm) wykonanych metodą HPLC. We wszystkich rodzajach ekstraktów obserwowano najwyższe stężenie chalkonów, przy czym w największych ilościach występowała florydzydina. Jej stężenie wzrastało wraz ze wzrostem stężenia etanolu użytego do ekstrakcji. Podobną tendencję obserwowano dla flawonoli, natomiast odwrotną dla kwasów fenolowych i flawan-3-oli (Tab. 3).

Bonarska-Kujawa i in. [2011] wykazali natomiast, że w liściach jabłoni w największych stężeniach występuje kwercetyno-3-*O*-ramnozyd, a według Teleszko i Wojdyło [2015] najwięcej jest polifenoli z grupy kwasów fenolowych.

Wpływ ekstraktów z liści jabłoni na wzrost drobnoustrojów

Na podstawie uzyskanych wyników badań, określono wrażliwość wybranych szczepów bakterii odpowiedzialnych za psucie się produktów mięsnych, na działanie ekstraktów polifenolowych z liści jabłoni.

Wszystkie rodzaje ekstraktów z liści jabłoni hamowały wzrost badanych drobnoustrojów, lecz ich aktywność była różna. Najszerszym spektrum aktywności charakteryzował się ekstrakt wodny, który najskuteczniej ograniczał wzrost *E. faecalis*, *B. thermosphacta*, *E. coli* i *P. fluorescens*. Pozostałe bakterie, tj. *L. rhamnosus*, *P. mirabilis* i *E. aerogenes*, wykazywały największą wrażliwość na działanie ekstraktu 60% etanolowego. Ekstrakt 30% etanolowy był najmniej aktywny, gdyż jego zastosowanie nie spowodowało inhibicji wzrostu *E. coli* i *P. fluorescens*. Analizując wyniki zaobserwowano także, że najbardziej wrażliwe na działanie ekstraktów polifenolowych z liści jabłoni były bakterie Gram-dodatnie (*E. faecalis* i *L. rhamnosus*) (Tab. 4).

Tabela 3. Zawartość związków polifenolowych [mg/100 ml] w ekstraktach z liści jabłoni oznaczona metodą HPLC

Związek polifenolowy	Ekstrakt wodny	Ekstrakt etanolowy (30%)	Ekstrakt etanolowy (60%)
Kwasy fenolowe			
Kwas chinowy	Nie stwierdzono*	Nie stwierdzono*	Nie stwierdzono*
Kwas neochlorogenowy	0,96	1,47	0,63
Kwas dikawowy	2,0	1,49	0,81
Kwas chlorogenowy	1,07	0,52	0,65
Ogółem	4,03	3,48	2,09
Flawan-3-ole			
Galokatechino-glukozyd	4,81	3,66	1,07
Epigalokatechina	0,38	Nie stwierdzono*	Nie stwierdzono*
Ogółem	5,19	3,66	1,07
Flawonole			
Kwercetyno-heksozyd	Nie stwierdzono*	Nie stwierdzono*	Nie stwierdzono*
Kwercetyno-pentozyd	0,49	1,46	3,04
Kwercetyno-ramnozyd	0,49	1,35	1,61
Ogółem	0,98	2,81	4,65
Chalkony			
3-Hydroksyflorydzyzna	Nie stwierdzono*	2,04	2,02
Florydzyzna	18,91	25,5	28,3
Floretyna	Nie stwierdzono	Nie stwierdzono	3,16
Ogółem	18,91	27,54	33,48

* - związki wykryte metodą LC-MS (niezidentyfikowane metodą HPLC)

Aktywność przeciwdrobnoustrojowa polifenoli ekstrahowanych z liści jabłoni nie była dotychczas zbadana. Wykazano jednak, że związki fenolowe zawarte w skórce jabłka (*Golden delicious*) wykazują wysoką aktywność wobec patogenu *Listeria monocytogenes*, a minimalne stężenie inaktywujące tę bakterię wynosiło 1,5%. Nie stwierdzono natomiast wpływu polifenoli na *Salmonella enterica* i *Escherichia coli* O157:H7, nawet w stężeniu 10% [Du i in., 2011]. Przeciwnie, Fratianni i in. [2011] wykazali, że polifenole skórki jabłka (*Annurca*) hamują wzrost *Escherichia coli* O157:H7, jak również *Bacillus cereus*, nie działają natomiast na *Staphylococcus aureus* i probiotyczne szczepy *Lactobacillus*. Udokumentowano także silne działanie przeciwdrobnoustrojowe polifenoli skórki jabłka (*Royal Gala* i *Granny Smith*) wobec

szczepów chorobotwórczych: *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 i *Staphylococcus aureus* ATCC 29213. Dodatkowo zaobserwowano związek między ilością przeciwutleniaczy w ekstrakcie a aktywnością przeciwbakteryjną [Alberto i in., 2006].

Tabela 4. Wpływ ekstraktów z liści jabłoni na wzrost bakterii

Szczep bakterii	Stopień zahamowania wzrostu bakterii po 72 h inkubacji [%]		
	Ekstrakt wodny	Ekstrakt etanolewy (30%)	Ekstrakt etanolewy (60%)
<i>Enterococcus faecalis</i>	40,0	10,7	17,3
<i>Lactobacillus rhamnosus</i> (ŁOCK 908)	16,3	16,3	48,8
<i>Brochothrix thermosphacta</i> (MMA4)	16,05	11,11	13,58
<i>Escherichia coli</i> (ATCC 10536)	9,3	0,0	8,0
<i>Proteus mirabilis</i> (ATCC 12453)	1,3	7,5	11,3
<i>Enterobacter aerogenes</i> (PCM 532)	10,8	15,7	38,6
<i>Pseudomonas fluorescens</i> (PCM 2123)	22,2	0,0	8,3

Wnioski

Przeprowadzone badania wykazały, że najwięcej związków polifenolowych zawiera ekstrakt etanolewy (60%), natomiast najsilniejszą aktywność antyoksydacyjną wykazuje ekstrakt wodny. Ekstrakty nie różnią się znacznie składem jakościowym polifenoli, jednakże obserwuje się różnice w stężeniu poszczególnych związków. Najsilniejsze działanie przeciwdrobnoustrojowe wykazuje ekstrakt wodny, w którym najwięcej było kwasów fenolowych i flawan-3-oli, tuż za nim ekstrakt 60% etanolewy o najwyższym stężeniu flawonoli i chalkonów. Ekstrakty polifenolowe z liści jabłoni mogą być więc stosowane jako substancje przeciwdrobnoustrojowe i przeciwutleniające i pełnić rolę naturalnych konserwantów produktów mięsnych.

Literatura

1. Alberto M.R., Rinsdahl Canavosio M.A., Manca de Nadra MC. Antimicrobial effect of polyphenols from apple skins on human bacterial pathogens. *Electronic Journal of Biotechnology*, 2006, 9(3), DOI: 10.2225/vol9-issue3-fulltext-1.
2. Bonarska-Kujawa D., Cyboran S., Oszmiański J., Kleszczyńska H. Extracts from apple leaves and fruits as effective antioxidants. *Journal of Medicinal Plants Research*, 2011, 5(11), 2339-2347.
3. Dent M., Dragovic-Uzelac V., Penic M., Brncic M., Bosiljkov T., Levaj B. The effect of extraction solvents, temperature and time on the composition and mass fraction of polyphenols in Dalmatian wild sage (*Salvia officinalis* L.) extracts. *Food technology and biotechnology*, 2013, 51(1), 84-91.

4. Du W.X., Olsen C.W., Avena-Bustillos R.J., Friedman M., McHugh T.H. Physical and antibacterial properties of edible films formulated with apple skin polyphenols. *Journal of Food Science*, 2011, 76(2), M149-M155.
5. Fratianni F., Coppola R., Nazzaro F. Phenolic composition and antimicrobial and anti-quorum sensing activity of an ethanolic extract of peels from the apple cultivar Annurca. *Journal of Medicinal Food*, 2011, 14(9), 957-963.
6. Jiang X., Liu Y., Li W., et al. Tissue-specific, development-dependent phenolic compounds accumulation profile and gene expression pattern in tea plant [*Camellia sinensis*]. *PLoS One*, 2013, 8(4), e62315.
7. Lommen A., Godejohann M., Venema D.P., Hollman, P.C.H., Spraul M. Application of directly coupled HPLC-NMR-MS to the identification and confirmation of quercetin glycosides and phloretin glycosides in apple peel. *Analytical Chemistry*, 2000, 72(8), 1793-1797.
8. Nour V., Trandafir I., Cosmulescu S. Antioxidant capacity, phenolic compounds and minerals content of blackcurrant (*Ribes nigrum* L.) leaves as influenced by harvesting date and extraction method. *Industrial Crops and Products*, 2014, 53, 133-139.
9. Sójka M., Guyot S., Kołodziejczyk K., Król B., Baron A. Composition and properties of purified phenolics preparations obtained from an extract of industrial blackcurrant (*Ribes nigrum* L.) pomace. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 2009, 84(6), 100-106.
10. Tabart J., Kevers C., Evers D., Dommes J. Ascorbic acid, phenolic acid, flavonoid, and carotenoid profiles of selected extracts from *Ribes nigrum*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2011, 59(9), 4763-4770.
11. Teleszko M., Wojdyło A. Comparison of phenolic compounds and antioxidant potential between selected edible fruits and their leaves. *Journal of Functional Foods*, 2015, 14, 736-746.
12. Vrhovsek U., Rigo A., Tonon D., Mattivi F. Quantitation of polyphenols in different apple varieties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2004, 52(21), 6532-6538.

MAŁGORZATA MAKAREWICZ, ANNA BYLICA, IWONA DROŹDŹ,
URSZULA BŁASZCZYK, MAREK ZDANIEWICZ

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

**PRZEŻYWALNOŚĆ NATURALNEJ MIKROFLORY PIERZGI PSZCZELEJ
W MODELOWYM SOKU ŻOŁĄDKOWYM**

Streszczenie

Celem niniejszej pracy było wstępne sprawdzenie zdolności naturalnej mikroflory pierzgi pszczelej do przeżycia w warunkach symulujących środowisko żołądka człowieka. W pierwszym etapie badań przeprowadzono analizę ogólnej liczby mikroorganizmów, na podstawie której stwierdzono, że sok żołądkowy o pH 4 nie ma istotnego wpływu na rozwój mikroorganizmów, natomiast sok o pH 2 skutecznie hamuje ich wzrost. W drugim etapie badań wykazano, że dominującą w pierzdze pszczelej grupę drobnoustrojów stanowiły grzyby strzępkowe z rodzajów *Aspergillus* i *Penicillium*, które były niewrażliwe na działanie modelowego soku żołądkowego, niezależnie od jego pH. Drugą, pod względem ilościowym, grupą były drożdże, które po inkubacji w soku żołądkowym charakteryzowały się istotnymi zmianami w morfologii komórek. Najmniej liczne, w badanych pierzgach, były bakterie. Zarówno z prób kontrolnych, jak i badanych, niezależnie od pH, udało się wyizolować Gram-dodatnie ziarniaki oraz nieprzetrwalnikujące bakterie cylindryczne.

Wprowadzenie

Pierzga jest pożytkiem pszczelim bogatym w składniki odżywcze. Zależnie od rodzaju pyłku, z którego powstaje, zawartość węglowodanów mieści się w granicach 24-70%, białka 18-26%, a tłuszczów 0,7-1,5%. Skład ten różni się od składu pyłku i wynika z przemian zachodzących podczas przemiany pyłku w pierzgę [Kędzia i Hołderna-Kędzia, 2010]. Pierzga jest również źródłem wielu witamin (B1, B2, B3, B6, B8, B12, C, A, PP, E, D, K, H), makroelementów (K, Na, Ca, Mg, Cl) oraz mikroelementów (P, S, Fe, Cu, Zn, Co, Mo, Se, Cr, Ni, Si) [Isidorow, 2013]. Omawiany produkt pszczeli jest bogaty w kwasy linolowy oraz α -linolenowy, zaliczane do grupy niezbędnych nienasyconych kwasów tłuszczowych, które nie są syntetyzowane w organizmie człowieka i muszą być dostarczone wraz z pożywieniem [Otasz i Kondratowicz-Pietruszka, 2011]. Pyłek kwiatowy i pierzga są dla pszczoł podstawowym źródłem białka. Owady wykorzystują nie tylko główne substancje odżywcze pochodzące z pierzgi, ale też inne związki, które znajdują się w niej w niewielkich ilościach. Są one pszczołom konieczne do produkcji

mleczka pszczelego, enzymów, hormonów i feromonów. Pierzga jest również niezwykle istotna dla pszczół w okresie zimowli. Późną jesienią owady te odżywiają się pierzgą i pyłkiem w celu wytworzenia tkanki tłuszczowej, która zapewni im dobrą kondycję zimą. Pierzga pomaga też pszczołom przezwyciężyć choroby, które zagrażają im zimą i wiosną. Ponadto zapasy pierzgi pozostałe po zimie, są wykorzystywane zarówno do wykarmienia pszczół karmicielek, jak również larw [Kędzia i Hołderna-Kędzia, 2010]. Pomimo swojej wysokiej wartości odżywczej oraz zawartości wielu witamin, makro- i mikroelementów, pierzga jest obecnie stosunkowo mało popularnym wśród konsumentów produktem pszczelim. Korzystne właściwości pierzgi nie ograniczają się jednak tylko do jej właściwości odżywczych. Wyciąg z pierzgi ma udowodnione działanie antybiotyczne wobec standardowych patogenów, tj. *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* oraz *Pseudomonas aeruginosa*, a także działanie stymulujące układ odpornościowy [Kędzia i Hołderna-Kędzia, 2010 i 2012]. Pierzga, podobnie jak inne produkty pszczele, może być wykorzystywana w leczeniu niektórych dolegliwości i schorzeń człowieka, np.: choroby niedokrwiennej serca, nadciśnienia tętniczego oraz zapalenia mięśnia sercowego, przewlekłego zapalenia wątroby, niedokrwistości z niedoboru żelaza oraz przewlekłego zapalenia migdałków [Kędzia i Hołderna-Kędzia, 2010 i 2012].

Pierzga pszczela jest miejscem bytowania wielu różnorodnych drobnoustrojów: bakterii, drożdży i grzybów strzępkowych. Niskie pH oraz duża zawartość kwasu mlekowego sprawiają, że pierzga jest również doskonałym środowiskiem dla rozwoju bakterii kwasu mlekowego, między innymi z rodzajów *Lactobacillus* i *Bifidobacterium*. To one przeprowadzają fermentację, która jest głównym procesem przemiany pyłku w pierzgę. Wykazano, że w pierdze znajdują się również bakterie z rodzajów *Oenococcus* oraz *Paralactobacillus* [Matilla i in., 2012]. Drożdże stanowią drugą grupę drobnoustrojów obecną w pierdze. Szczególnie istotnym dla przemiany pyłku w pierzgę rodzajem drożdży jest *Saccharomyces*. Innymi rodzajami, które udało się wyizolować z pierzgi były między innymi: *Candida*, *Cryptococcus*, *Debaryomyces*, *Hansenula*, *Kloeckera*, *Rhodotorula*, *Torula*, *Torulopsis* oraz *Zygosaccharomyces* [Nogueira i in., 2012]. Pleśnie są najliczniejszą i najbardziej zróżnicowaną grupą mikroorganizmów obecną w pierdze pszczelej. Stwierdzono, że najliczniejszymi rodzajami pleśni obecnymi w pierdze są *Aspergillus* oraz *Penicillium* [Prest i in., 1989]. Ze względu na bogaty skład chemiczny oraz obecność bakterii mlekowych pierzga pszczela uznawana jest za jeden z prozdrowotnych suplementów diety człowieka. Zaleca się jej spożywanie w stanie surowym, bez ograniczeń zarówno małym dzieciom, jak i osobom starszym, kobietom w ciąży, rekonwalescentom i sportowcom. Należy jednak pamiętać, że część mikroorganizmów pochodzących z pierzgi, szczególnie grzyby strzępkowe, może mieć niekorzystny wpływ na organizm ludzki.

Żołądek to jeden z głównych elementów układu pokarmowego człowieka. Do jego zasadniczych funkcji zaliczane są magazynowanie pokarmu, trawienie go oraz wyjąławianie [Traczyk, 2010]. Dwie ostatnie są bezpośrednio związane z obecnością soków trawiennych, czyli mieszaniny wydzieliny okładzinowej o wysokim stężeniu jonów H^+ , K^+ , Cl^- oraz nieokładzinowej zawierającej głównie jony Na^+ , K^+ , Cl^- , HCO_3^- i pepsynogen. pH soku żołądkowego waha się od 1 do ponad 3 i jest zależne od spożytego posiłku [Konturek, 2007; McLaughlin i in., 2008]. Jednym z czynników hamujących wzrost mikroorganizmów w żołądku jest niskie pH. Silnie kwasowe środowisko powoduje uszkodzenie cząsteczek bioaktywnych oraz zaburzenia w transbłonowym gradiencie protonów, który jest związany z transportem substancji odżywczych do wnętrza komórki oraz syntezą ATP [Molenda, 2010]. Uważa się, że działanie bakteriobójcze soku żołądkowego jest najsilniejsze przy $pH < 4$, natomiast powyżej tej wartości znacznie spada [Martinsen i in., 2005]. Drugim czynnikiem mającym wpływ na rozwój mikroorganizmów jest pepsyna. Powoduje ona rozpad białek zlokalizowanych w obrębie błon komórkowych. Wykazano, że obecność wymienionego enzymu zwiększa antybakteryjne działanie soku żołądkowego w $pH 2,5-3,5$, natomiast w $pH 4,1$ efekt jest bardzo niewielki [Zhu i in., 2006]. Jest to związane z faktem, że optymalne pH dla działania pepsyny to $1,6-3,2$ [Jurkowska, 2010]. Bakterie, zależnie od gatunku, cechują się zróżnicowanymi optymalnymi warunkami środowiska potrzebnymi do wzrostu. Zwiększenie kwasowości środowiska nie prowadzi jednak od razu do śmierci komórki, ponieważ dysponują one różnymi systemami odpowiedzi na stres kwasowy. Wykazano, że mechanizm zwiększonej odporności bakterii kwasu mlekowego na duże zakwaszenie środowiska związany jest z działaniem F_0F_1 -ATPazy, enzymu wykorzystującego energię z hydrolizy ATP do czynnego transportowania jonów H^+ na zewnątrz komórki. Innym procesem jest deaminacja argininy do ornityny, amoniaku, karbamoilofosforanu oraz dwutlenku węgla. Powstały amoniak ma działanie alkalizujące. Ponadto wykazano, że w ochronie komórki przed kwasowym środowiskiem bierze udział małe białko szoku cieplnego Lo18, stabilizujące błony komórkowe oraz białko Ffh, biorące udział w transporcie komórkowym. Oba wymienione białka pełnią również funkcję białek opiekuńczych, odpowiedzialnych za fałdowanie i prawidłowe, ponowne zwinięcie innych białek, zdenaturowanych w efekcie działania czynników stresowych [Sadowska i Grajek, 2009].

Celem niniejszej pracy było wstępne sprawdzenie zdolności naturalnej mikroflory pierzgi pszczelej do przetrwania w warunkach symulujących środowisko żołądka człowieka.

Materiały i metody

Materiał badawczy stanowiły trzy handlowe pierzgi pszczele z różnych rejonów geograficznych Polski (woj. lubuskie, lubelskie oraz pomorskie). Z wymienionych pierzg sporządzano zawiesiny poprzez wymieszanie 10 g pierzgi z 90 cm³ jałowego 0,85% roztworu NaCl i pozostawiano na 24 h w temperaturze 37°C.

Modelowy sok żołądkowy wykonano w dwóch wariantach, jeden odzwierciedlający kwasowość w żołądku na czczo (pH 2), drugi po spożyciu posiłku (pH 4). Skład soku żołądkowego ustalono na podstawie Clavel i in. [2004] w sposób następujący [g]: NaCl – 2,40; NaHCO₃ – 0,78; KCl – 1,1; CaCl₂ – 0,11; H₂O – do 500 cm³; HCl – do ustalenia pH. Wymienione składniki mieszano do całkowitego rozpuszczenia, ustalano pH, a następnie sterylizowano w autoklawie (121°C, 15 min). Bezpośrednio przed analizą dodawano pepsynę (Sigma Aldrich; aktywność 3200 – 4500 U/mg) w ilości 10 mg/500 cm³. Następnie do zamkniętych, sterylnych probówek odmierzano po 9 cm³ odpowiedniego soku żołądkowego (próby badawcze) lub jałowego roztworu 0,85% NaCl (próba kontrolna). Dodawano 1 cm³ zawiesiny pierzgi i pozostawiano na 3 h w temperaturze 37°C.

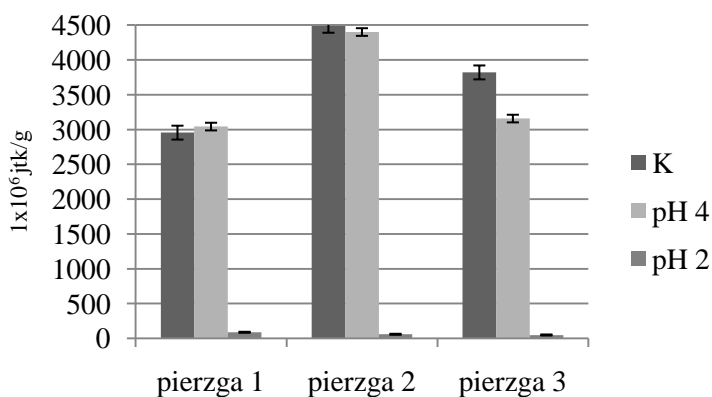
Ogólną liczbę mikroorganizmów określano w hodowli płynnej. Zastosowaną pożywką był bulion odżywczy (Nutrient Broth firmy Biocorp). Do jałowych probówek przenoszono 9 cm³ pożywki, następnie dodawano 1 cm³ zawiesiny pierzgi inkubowanego w odpowiednim soku żołądkowym lub roztworze fizjologicznym (próba kontrolna). Dla każdego wariantu wykonano 3 powtórzenia. Bezpośrednio po posiewie mierzono gęstość optyczną hodowli za pomocą densytometru Biosan Den-1B. Następnie próby inkubowano w temperaturze 37°C przez 24h, po czym wykonywano kolejny pomiar densytometryczny. Wyniki odczytane z densytometru w skali McFarlanda przeliczano na liczbę jednostek tworzących kolonie (jtk/cm³).

Do hodowli płytkowych wykorzystano następujące pożywki: agar odżywczy (Biocorp) dla bakterii, agar brzezkowy (Biocorp) dla grzybów oraz MRS (Biocorp) – podłoże selektywne dla bakterii kwasu mlekowego. Posiewy powierzchniowe (1 cm³) wykonywano bezpośrednio z zawiesiny pierzgi inkubowanej w 0,85% NaCl, soku żołądkowym o pH 4 lub soku żołądkowym o pH 2. Po inkubacji (temp. 37°C, 24-48 h) przeprowadzano obserwacje makroskopowe wyrosłych kolonii. Określano takie parametry jak kształt, rozmiar, barwa, struktura powierzchni oraz obrzeża kolonii. Z wybranych kolonii bakterii, drożdży i pleśni wykonywano preparaty mikroskopowe stosując standardowe barwienie metodą Grama (preparaty utrwalone) lub płynem Lugola (preparaty przyżyciowe). Do obserwacji wykorzystano optyczny mikroskop badawczy Nikon Eclipse E600. Następnie wybrano kultury do obserwacji w skaningowym mikroskopie elektronowym Hitachi S-3400N. Materiał biologiczny przeznaczony do obserwacji w mikroskopie elektronowym poddano następującym czynnościom:

utrwalenie (aldehyd glutarowy i czterotlenek osmu), odwodnienie (szereg alkoholowy o wzrastającym stężeniu, 100% aceton), suszenie w punkcie krytycznym (Quorum Technologies CPD E3000/E3100) i napylenie metalem szlachetnym (napyłarka Cressington Sputter Coater 108 auto).

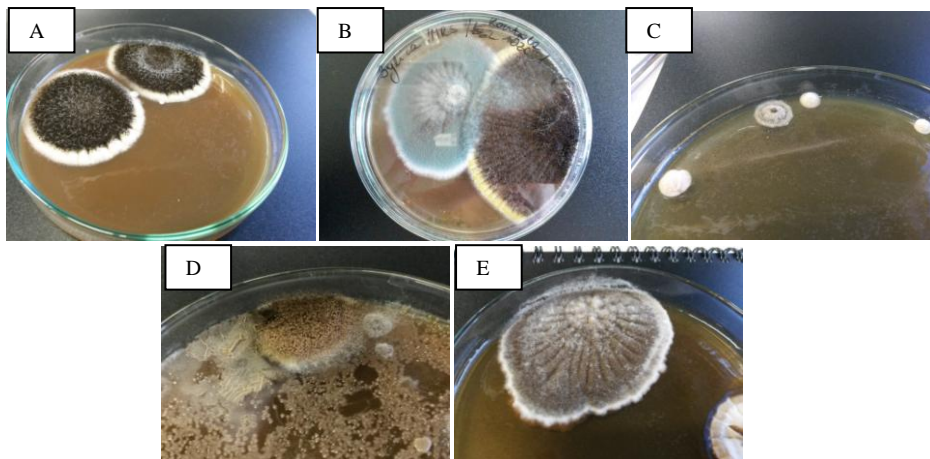
Wyniki i dyskusja

Badanie ogólnej liczby mikroorganizmów wykazało, że pomiędzy poszczególnymi pierzgami (próby kontrolne) występują różnice, jednak wszystkie wyniki należą do tego samego rzędu wielkości i mieszczą się w przedziale od 2900×10^6 do 4500×10^6 jtk/g pierzgi (Rys. 1). Na podstawie uzyskanych wyników (Rys. 1) można stwierdzić, że sok żołądkowy o pH 4 w niewielkim stopniu wpływał na liczbę mikroorganizmów w porównaniu do prób kontrolnych. Natomiast sok żołądkowy o pH 2 niemal całkowicie zahamował wzrost mikroorganizmów z każdej z badanych pierzg (Rys. 1).



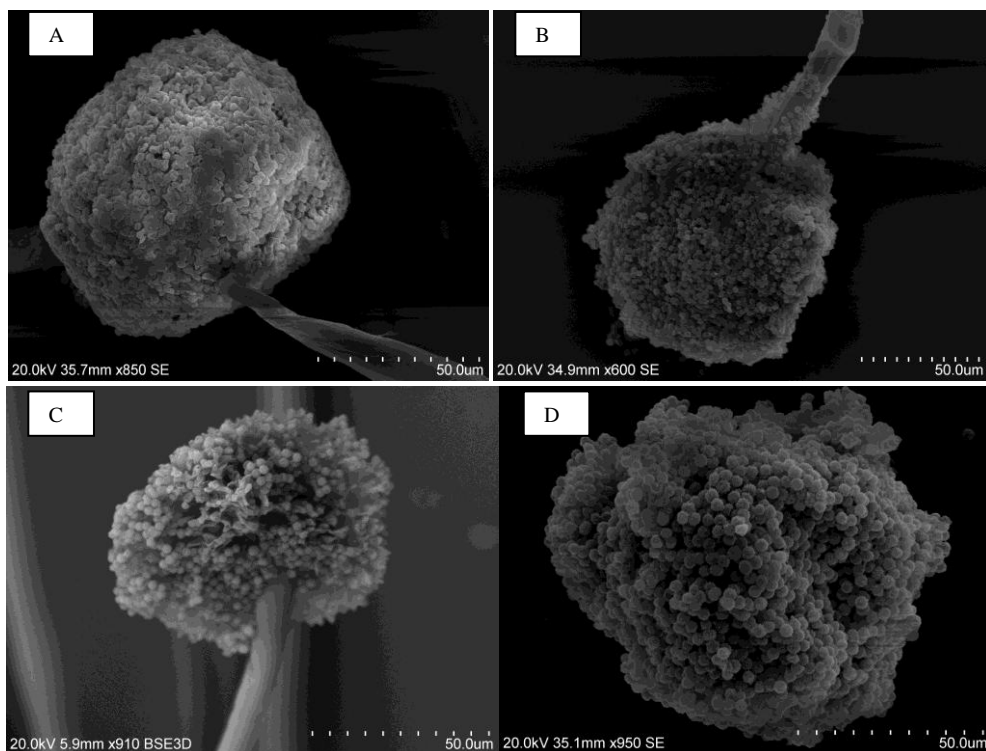
Rysunek 1. Wpływ soku żołądkowego na liczbę mikroorganizmów w badanych pierzgach

Jest to prawdopodobnie związane z faktem, że pierzga pszczyła charakteryzuje się niskim pH i drobnoustroje naturalnie w niej występujące są do takich warunków zaadaptowane. Najliczniejszą grupą mikroorganizmów zasiedlających pierzgę, niezależnie od traktowania jej sokiem żołądkowym, były grzyby pleśniowe. Na podstawie obserwacji makroskopowych wyróżniono dwa najczęstsze typy morfologiczne kolonii. Pierwszy stanowiły kolonie niskie, czarne z białą lub biało-żółtą obwódką. Drugi, kolonie zielone, również niskie i z białą obwódką (Rys. 2 A, B). W obu przypadkach kolonie miały średnicę od 1 do 5 cm. Opisane wyżej kolonie występowały zarówno w próbach kontrolnych, jak i poddanych inkubacji w soku żołądkowym. Ponadto zaobserwowano nieduże, niskie, białe, zwarte kolonie bez obwódki (Rys. 2 C) oraz dwa rodzaje brązowych kolonii – jedno jasne ze słabo widocznym białym obrzeżem, drugie ciemne z wyraźnie zaznaczoną białą obwódką (Rys. 2 D, E).



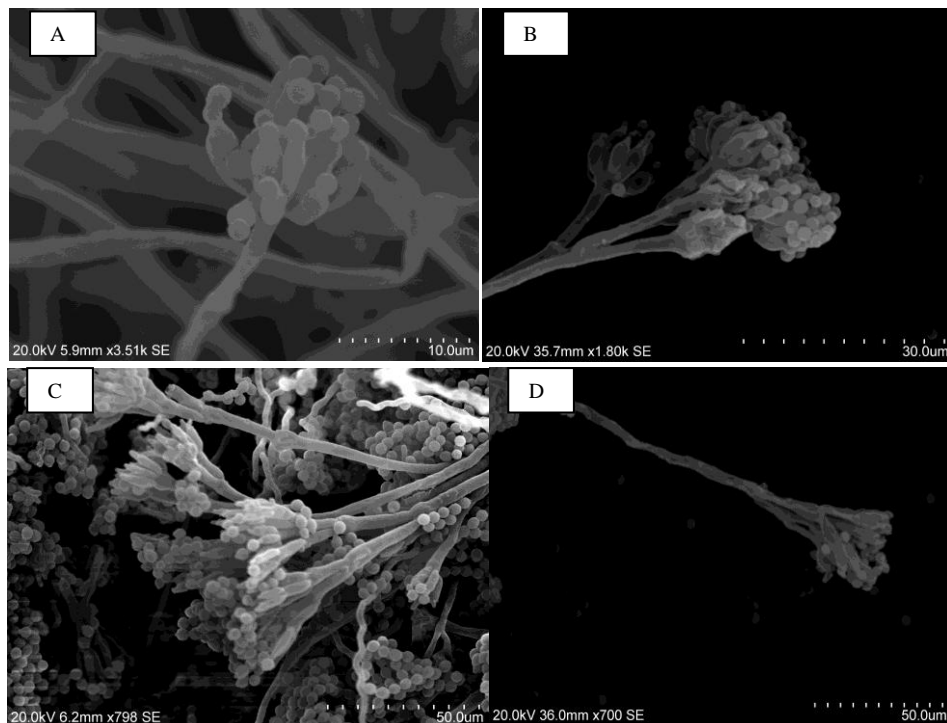
Rysunek 2. Morfologia kolonii grzybów strzępkowych

Z hodowli na podłożu stałym wybrano najliczniej reprezentowane kolonie, z których wykonano preparaty do obserwacji w mikroskopie skaningowym. Na rysunkach 3 i 4 przedstawiono zdjęcia charakterystycznych aparatów konidialnych (technika SEM).



Rysunek 3. Aparaty konidialne pleśni z rodzaju *Aspergillus* (A i C – próby kontrolne, B i D – próby poddane działaniu soku żołądkowego), technika SEM

Na podstawie analizy wyglądu makroskopowego kolonii oraz obrazów z mikroskopu optycznego stwierdzono, że grzyby tworzące czarne kolonie z białymi obwódkami, jak również białe, zwarte kolonie oraz luźne brązowe należały do rodzaju *Aspergillus*. Strzępki charakteryzowały się gładką powierzchnią. Konidia były kuliste bez zniekształceń o gładkiej lub szorstkiej powierzchni.

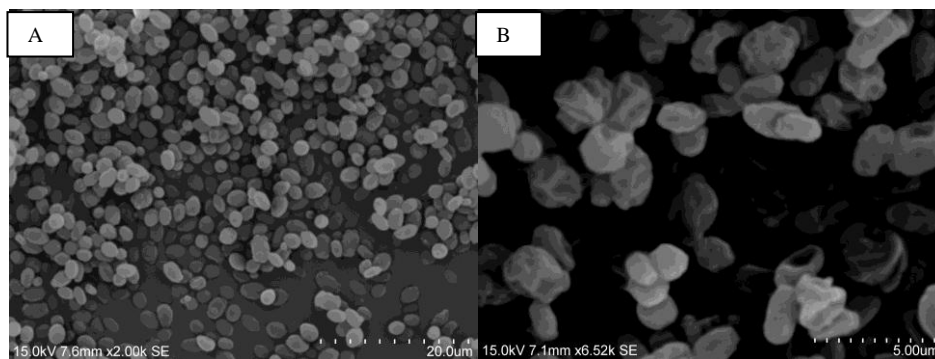


Rysunek 4. Aparaty konidialne pleśni z rodzaju *Penicillium* (A i C – próby kontrolne, B i D – próby poddane działaniu soku żołądkowego), technika SEM

Natomiast grzyby, tworzące zielone kolonie należały do rodzaju *Penicillium*. Ich strzępki były rozgałęzione, konidia gładkie, kuliste (Rys. 4). Na podstawie uzyskanych wyników można stwierdzić, że grzyby strzępkowe z rodzajów *Aspergillus* i *Penicillium* były odporne na warunki soku żołądkowego. Ich budowa była prawidłowa i niezależna od inkubacji w soku żołądkowym. Zwiększona odporność wymienionych rodzajów pleśni na sok żołądkowy może być związana z faktem, że są one zaliczane do tak zwanych pleśni acydofilnych [Kowal, 2007]. Należy zwrócić uwagę, że rodzaje *Aspergillus* i *Penicillium* znane są ze zdolności do syntezy mykotoksyn takich jak: aflatoksyny, ochratoksyna oraz patulina [Pokrzywa i in., 2007]. Pomimo, że obecność mikroorganizmów z wymienionych rodzajów w pierdze nie jest jednoznaczna z produkcją przez nie mykotoksyn, to konieczne są dalsze badania w tym kierunku, gdyż istnieje uzasadnione ryzyko, że pierzga może

być zanieczyszczona szkodliwymi substancjami. Warto również wziąć pod uwagę warunki przechowywania i magazynowania pierzgi, gdyż duża wilgotność oraz wysoka temperatura sprzyjają wytwarzaniu mykotoksyn.

Drożdże stanowiły znacznie mniej liczną grupę drobnoustrojów. Na pożywkach stałych tworzyły średniej wielkości (do 5 mm średnicy) białe lub beżowe kolonie o gładkich brzegach, błyszczącej powierzchni i mazistej konsystencji. Na płytkach z posiewami roztworów pierzgi po inkubacji w soku żołądkowym, zaobserwowano znacznie mniej kolonii drożdży, niż w hodowlach z posiewów kontrolnych. Morfologię komórek drożdży z prób kontrolnych oraz poddanych działaniu soku żołądkowego przedstawiono na rysunku 5.

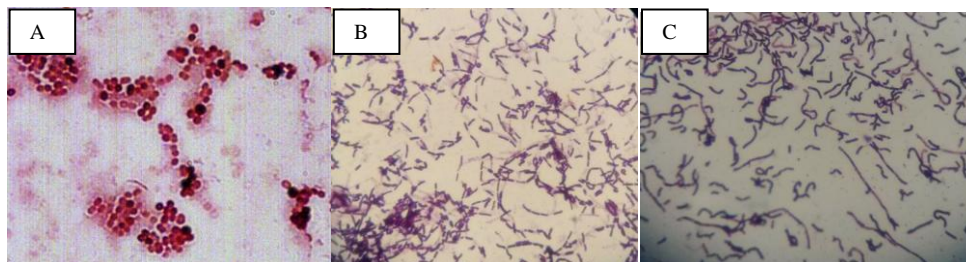


Rysunek 5. Morfologia komórek drożdży (A – próba kontrolna, B – próba poddana działaniu soku żołądkowego), technika SEM

Zdjęcia mikroskopowe (technika SEM) pokazują, że traktowanie sokiem żołądkowym miało duży wpływ na morfologię drożdży. Komórki pochodzące z próby kontrolnej (Rys. 5A) były owalne, jędrne, z gładką powierzchnią i licznymi pączkami. Stosunkowo niewiele było drożdży starych, z dużą ilością blizn pozostałych po pączkowaniu. Natomiast komórki drożdży pochodzących z prób po inkubacji w soku żołądkowym (Rys. 5B) niezależnie od pH, charakteryzowały się nieregularnym kształtem, były często wydłużone i poskręcane. Stosunkowo nieliczne były komórki o typowym, prawidłowym wyglądzie. Ściana komórkowa drożdży poddanych działaniu soku żołądkowego, w wielu przypadkach, była silnie pomarszczona, a ich powierzchnia bardzo nieregularna. Pączki tych komórek również wykazywały różnicę względem kontroli. Charakteryzowały się nieregularnym kształtem i powierzchnią (Rys. 5B). Na podstawie uzyskanych wyników nie można jednak jednoznacznie stwierdzić, że przyczyną tego stanu była inkubacja w soku żołądkowym. Zmiany w budowie morfologicznej komórek odnotowano przy traktowaniu ich sokiem żołądkowym o pH 4, natomiast nie zauważono ich w próbach kontrolnych z pierzgi, która zgodnie z danymi literaturowymi ma podobny odczyn. Możliwe więc, że za zły stan drożdży nie odpowiada kwasowość soku żołądkowego, ale

obecność pepsyny. Ponadto możliwe jest, że substancje obecne w pierzdze mają ochronne działanie na jej mikroflorę. Prawdopodobnie w soku żołądkowym stężenie tych substancji było znacznie mniejsze i ich działanie zostało skutecznie osłabione

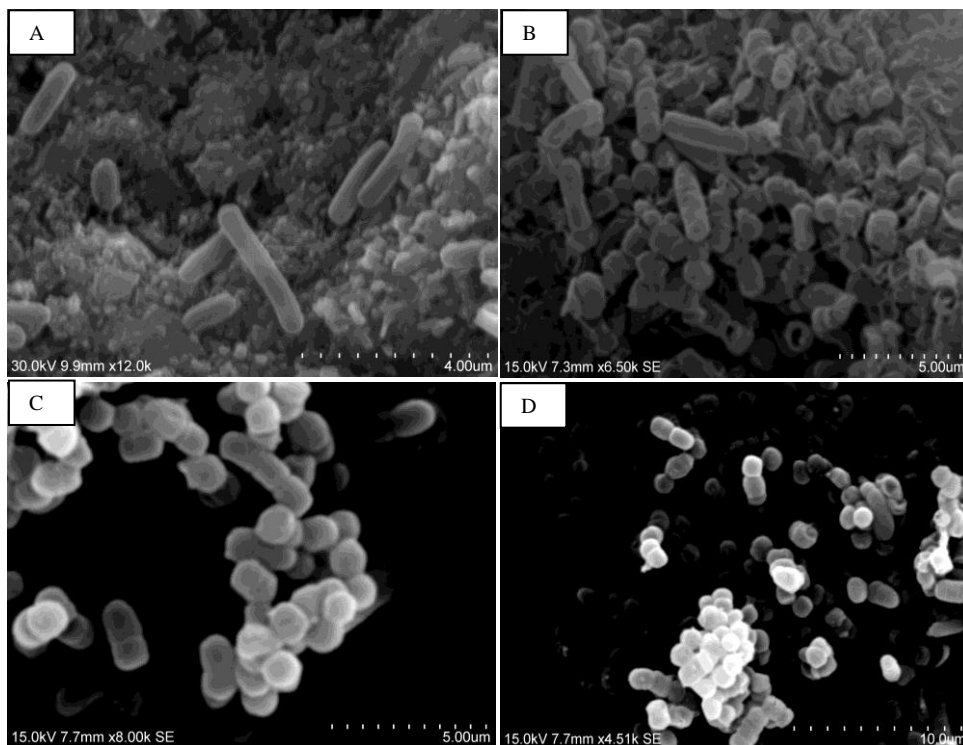
Bakterie pochodzące z pierzgi rosły na agarze odżywczym oraz na pożywce MRS. Uzyskano wzrost kolonii bakteryjnych zarówno w posiewach kontrolnych, jak i z prób badanych. Najczęściej były to płaskie, półprzezroczyste białe kolonie, porastające znaczną część pożywki. Ich powierzchnia była matowa, a brzegi nieregularne. Część bakterii rosła w postaci bardzo licznych, małych (średnica do 2 mm), półprzezroczystych białych kolonii. Ponadto, w nielicznych przypadkach, odnotowano wzrost żółtych, okrągłych, wypukłych kolonii o średnicy około 5 mm. Barwienie metodą Grama i obserwacja w mikroskopie optycznym wykazały, że wszystkie namnożone bakterie były Gram-dodatnie. Zaobserwowano wśród nich zarówno formy kuliste, jak i cylindryczne o zróżnicowanej wielkości. W żadnym z przypadków nie występowały komórki przetrwalnikujące (Rys. 6).



Rysunek 6. Morfologia komórek bakteryjnych (A – ziarniaki, B i C – formy cylindryczne), pow. 1000×

Na zdjęciach wykonanych techniką mikroskopii skaningowej można zaobserwować, że komórki bakterii po inkubacji w soku żołądkowym charakteryzowały się regularnym kształtem, bez widocznych uszkodzeń ściany komórkowej (Rys. 7). Ziarniaki pozostawały często w charakterystycznych parach (Rys. 7C i 7D). Badania Yuk i Scneider [2006] wykazały, że wstępna adaptacja bakterii do warunków panujących w kwaśnych sokach owocowych i warzywnych zwiększała również ich odporność na działanie soku żołądkowego. Możliwe, że podobny efekt wywołuje kwaśne środowisko pierzgi.

Podsumowując, autorzy zdają sobie sprawę, że prezentowane aktualnie wyniki badań nie rozwiązują złożonej problematyki przeżywalności naturalnej mikroflory pierzgi pszczelej w warunkach symulujących środowisko żołądka człowieka, a są jedynie wstępem do dalszych, dokładniejszych doświadczeń.



Rysunek 7. Morfologia komórek bakteryjnych (A i C – próby kontrolne, B i D – próby poddane działaniu soku żołądkowego), technika SEM

Wnioski

1. Mikroflora pierzgi pszczelej jest bogata i różnorodna.
2. Zarówno wśród grzybów strzępkowych, drożdży jak i bakterii stwierdzono gatunki odporne na działanie modelowego soku żołądkowego.
3. Grzyby strzępkowe są odporne na działanie soku żołądkowego i występują w pierzdze w dużej ilości.
4. Drożdże są w stanie przeżyć w warunkach soku żołądkowego, jednak ma on negatywny wpływ na budowę i powierzchnię ich ściany komórkowej.
5. Istnieje ryzyko, że pierzga jest skażona mykotoksynami.
6. Konieczne są dalsze, szczegółowe badania nad zdolnością mikroorganizmów pochodzących z pierzgi, do przeżycia w modelowym soku żołądkowym.

Projekt został sfinansowany ze środków DS-3706/KTFiMT/2015.

Literatura

1. Clavel T., Carlin F., Lairon D., Nguyen-The C., Schmitt P. Survival of *Bacillus cereus* Spores and Vegetative Cells in Acid Media Simulating Human Stomach. *Journal of Applied Microbiology*, 2004, 97, 214-219.

2. Isidorov V. A., Isidorova A. G., Szczepaniak L., Czyżewska U. Gas Chromatographic – Mass Spectrometric Investigation of the Chemical Composition of Beebread. *Food Chemistry*, 2013, 115, 1056-1063.
3. Jurkowska G. Fizjologia przewodu pokarmowego, w: *Fizjologia człowieka* (red. Górski J.) Wydawnictwo Lekarskie PZWL, 2010, Warszawa.
4. Kędzia B., Hołderna – Kędzia E. Pierzga. Najcenniejszy Produkt Pszczeli. Fundacja Pomocy Człowiekowi i Środowisku, Humana Divinis, 2010, Toruń.
5. Kędzia B, Hołderna- Kędzia E. Nowe badania nad biologicznymi właściwościami pyłku kwiatowego, *Postępy fitoterapii*, 2012, 1, 48-54.
6. Konturek S. Fizjologia układu pokarmowego, w: *Fizjologia człowieka. Podręcznik dla studentów medycyny* (red. Konturek S.), Elsevier Urban & Partner, 2007, Wrocław.
7. Kowal K. Wpływ czynników fizycznych i chemicznych na wzrost mikroorganizmów, w: *Mikrobiologia Techniczna Tom 1.* (red. Libudzisz Z., Kowal K., Żakowska Z.), PWN, 2007, Warszawa, 149-162.
8. Martinsen T. C., Bergh K., Waldum H. L. Gastric Juice: A Barrier Against Infectious Diseases. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology*, 2005, 96, 94-102.
9. Mattila H. R., Rios D., Walker – Sperling V. E., Roeselers G., Newton I. L. G. Characterization of the Active Microbiotas Associated with Honey Bees Reveals Healthier and Broader Communities when Colonies are Genetically Diverse. *PLoS ONE*, 2012, 7(3), e32962.
10. McLaughlin D., Stamford J., White D. Krótkie wykłady. *Fizjologia człowieka*. PWN, 2008, Warszawa.
11. Molenda J. *Mikrobiologia żywności pochodzenia zwierzęcego*. Wydawnictwo Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu, 2010, Wrocław.
12. Nogueira C., Iglesias A., Feás X., Estevinho L. M. Commercial Bee Pollen with Differential Geographical Origins: A Comprehensive Approach. *International Journal of Molecular Science*, 2012, 13, 11173-11187.
13. Ostasz L., Kondratowicz – Pietruszka E. Charakterystyka kwasów tłuszczowych omega – 3 oraz ocena poziomu wiedzy o ich działaniu zdrowotnym. *Zeszyty Naukowe Uniwersytetu Ekonomicznego w Krakowie*, 2011, 874, 139-161.
14. Pokrzywa P., Cieślak E., Topolska K. Ocena zawartości mikotoksyn w wybranych produktach spożywczych. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2007, 3, 52, 139-146.
15. Prest D., Lorenz J., Gilliam M. Microbiology of pollen and bee bread: taxonomy and enzymology of molds, *Apidology*, 1989, 20, 53-68.
16. Sadowska J., Grajek W. Odpowiedź komórkowa bakterii kwasu mlekowego na stresy środowiskowe. *Biotechnologia*, 2009, 4, 87, 115-132.
17. Traczyk W. Z. *Fizjologia człowieka w zarysie*. Wydawnictwo Lekarskie PZWL, 2010, Warszawa.
18. Yuk H. G., Schneider K. R. Adaptation of *Salmonella* spp. in juice stored under refrigerated and room temperature enhances acid resistance to simulated gastric fluid. *Food Microbiology*, 2006, 23, 694-700.
19. Zhu H., Hart C. A., Sales D., Roberts N. B. Bacterial killing in gastric juice – effect of pH and pepsin on *Escherichia coli* and *Helicobacter pylori*. *Journal of Medical Microbiology*, 2006, 55, 1265-1270.

WPLYW POZIOMU DODATKU OLEJÓW ROŚLINNYCH W MODELOWYCH ROZDROBNIONYCH PRZETWORACH MIĘSNYCH NA DYNAMIKĘ PRZEMIAN OKSYDACYJNYCH

Streszczenie

Celem pojętych badań była ocena wpływu poziomu dodatku olejów roślinnych na przebieg zmian oksydacyjnych podczas przechowywania chłodniczego rozdrobnionych przetworów mięsnych.

Badania przeprowadzono na rozdrobnionych przetworach mięsnych, w których dokonano modyfikacji składu surowca tłuszczowego. W miejsce 2, 5 lub 10% tłuszczu recepturowego wprowadzano mieszankę olejów roślinnych, rydzowego i rzepakowego. Do ww. badanych wariantów dodawano ponadto uwodniony w stosunku 1:4 preparat błonnika grochowego, w ilościach 1,5%, 2% i 3%. Próbkę do badań oceniano po wytworzeniu, 6 i 10 tygodniach chłodniczego przechowywania, bez dostępu tlenu i światła. W modelowych produktach wykonano oznaczenie liczby kwasowej wg PN-EN ISO 660:2010, nadtlencowej wg PN-EN ISO 3960:2012, anizydynowej wg PN-EN ISO 6885:2008 i wyliczono wskaźnik zmian oksydacyjnych TOTOX wg PN-93/A-86926 oraz TBA.

W ocenianych wariantach podczas przechowywania chłodniczego, stwierdzono wzrost wskaźników oksydacji tłuszczów TOTOX oraz TBA w odniesieniu do wariantu kontrolnego. Obserwowane zmiany były zróżnicowane. Najwyższy przyrost wskaźnika TOTOX podczas chłodniczego przechowywania odnotowano w wariantach zawierających najwyższy poziom olejów roślinnych w miejsce wymiany tłuszczu zwierzęcego. W wariacie o najwyższym poziomie oleju w składzie surowcowym wartość wskaźnika TOTOX wzrosła z poziomu 4,84 (oznaczonego po wytworzeniu) do 15,82 (po 10 tygodniach przechowywania). Rosnąca w składzie recepturowym zawartość preparatu błonnika nie miała wpływu w nasilenie zmian oksydacyjnych podczas przechowywania chłodniczego przez okres do 6 tygodni, natomiast po tym okresie tempo zmian oksydacyjnych istotnie wzrastało. Zastosowany sposób modyfikacji składu surowca tłuszczowego w przetworach drobno rozdrobnionych, celem wprowadzenia WNKT są obiecujące, jednak wymagają dalszych badań nad optymalizacją i doborem zamienników tłuszczu recepturowego dla praktycznego zastosowania.

Wprowadzenie

Mięso i przetwory mięsne należą do produktów, które podczas przechowywania narażone są na zmiany oksydacyjne. Ich przebieg oraz charakter uzależnione są od wielu czynników, spośród których wymienia się takie jak: zawartość tłuszczu w surowcu i/lub produkcie, rodzaj tłuszczu, skład recepturowy i rodzaj procesu technologicznego.

Opracowywanie funkcjonalnych przetworów mięsnych możliwe jest poprzez: usuwanie lub ograniczanie zawartości składników postrzeganych negatywnie (tłuszczu i cholesterolu), zastąpienie tłuszczu i tkanki mięśniowej substancjami balastowymi, zmniejszającymi wartość energetyczną przetworu, dodatek nowych składników, od których oczekuje się pozytywnych efektów zdrowotnych (probiotyków, prebiotyków lub tzw. wtórnych substancji roślinnych) [Cieślik i Topolska, 2002; Górecka i Krygier, 2004; Choi i in., 2009; Choi i in., 2010; Florowski i in., 2010].

Funkcjonalne przetwory mięsne, w porównaniu z tradycyjnymi, muszą cechować się wyższą wartością żywieniową, jednak muszą być takie same lub bardzo podobne pod względem sensorycznym. Mogą być w nich obecne probiotyki, substancje balastowe - błonnik, mogą charakteryzować się bardziej korzystnym składem kwasów tłuszczowych, jak również obniżoną wartością energetyczną. Mogą być do nich dodane nie występujące w mięsie lub obecne w niewielkich ilościach substancje np. likopen, wapń, rozmaryn, jod [Słowiński i Jankiewicz, 2010; Kryża i in., 2011; Alonso i in., 2012; Mapiye i in., 2012; Furlán i in., 2014].

Na etapie przetwórstwa do składników prozdrowotnych, w które można wzbogacać przetwory mięsne zalicza się: oligosacharydy, polifenole, fosfolipidy, białka i peptydy, polienowe kwasy tłuszczowe, składniki mineralne, witaminy, probiotyki, fitozwiązki i błonnik pokarmowy. Dzięki zastosowaniu różnego rodzaju substancji funkcjonalnych można podnieść wartość odżywczą produktów mięsnych. Część dodatków stosowanych w przetwórstwie mięsnym uznawana za prozdrowotne spełnia również funkcje technologiczne. Należą do nich m.in. inulina (działa jako czynnik teksturotwórczy oraz charakteryzuje się dobrymi właściwościami tworzenia żelu), błonnik pszenny (poprawia teksturę gotowego wyrobu oraz redukuje synerезę), mąka z szarłatu (powoduje zwiększenie zdolności utrzymania wody podczas obróbki termicznej) [Makała, 2002; Makała, 2003; Cegińska i Nadrowska, 2013; Gonzales i in., 2014].

Polienowe kwasy tłuszczowe, występujące m.in. w oleju rzepakowym i lniankowym wywierają największy wpływ na wartość odżywczą tłuszczu, przede wszystkim ze względu na kwas linolowy (LA) i α -linolenowy (ALA), które tworzą pulę tzw. niezbędnych nienasyconych kwasów tłuszczowych (NNKT). O szczególnej roli tych kwasów decyduje fakt, że są one materiałem wyjściowym do biosyntezy eikozanoidów, biorą udział w transporcie oraz utlenianiu cholesterolu, a także są składnikami lipidów błon komórkowych [Ziemiański i Budzyńska-Topolowska, 1991]. Są one konieczne do

prawidłowego rozwoju młodych organizmów i utrzymania dobrego stanu zdrowia przez całe życie [Przysławski i Bolesławska, 2006; Mińkowski i in., 2011].

Rekomendowany przez żywieniowców stosunek zawartych w diecie kwasów tłuszczowych omega-6 do omega-3 wynosi (4-5):1, a nawet mniej. W diecie współczesnego społeczeństwa stosunek ten wynosi (15-20):1 i jest znacznie wyższy od rekomendowanego. Nadmierna dysproporcja pomiędzy kwasami z rodziny *n-6* i *n-3* w diecie może zakłócić równowagę w ilości syntetyzowanych, często antagonistycznie działających, eikozanoidów, prowadząc do określonych stanów patofizjologicznych. Dlatego też żywność wzbogacona w kwasy tłuszczowe z rodziny omega-3 odgrywa korzystną rolę w diecie współczesnych społeczeństw [Achremowicz i Szary-Szworst, 2005; Przysławski i Bolesławska, 2006; Valencia i in., 2006; Mińkowski i in., 2011].

Dla funkcjonalności tego typu przetworów należy stabilność oksydacyjną podczas przechowywania. Z uwagi na to, iż niewiele prac poświęconych jest tej tematyce celem pojętych badań była ocena poziomu dodatku olejów roślinnych na przebieg zmian oksydacyjnych podczas przechowywania chłodniczego rozdrobnionych przetworów mięsnych.

Material i metodyka badań

Badania przeprowadzono na rozdrobnionych przetworach mięsnych, w których dokonano modyfikacji składu surowca tłuszczowego. W miejsce 2, 5 lub 10% recepturowego tłuszczu wieprzowego wprowadzono mieszankę olejów roślinnych, rydzowego (inaczej lniankowego) i rzepakowego. Do ww. badanych wariantów dodawano uwodniony w stosunku 1:4 preparat błonnika grochowego, w ilościach 1,5%, 2% i 3%. Oznakowanie wariantów doświadczalnych przedstawiono w tabeli 1.

Tabela 1. Oznakowanie wariantów doświadczalnych

Składniki i dodatki [kg]	K	W1	W2	W3	W4	W5	W6	W7	W8	W9
Wariant kontrolny	+									
Olej rydzowy i olej rzepakowy 2%		+	+	+						
Olej rydzowy i olej rzepakowy 5%					+	+	+			
Olej rydzowy i olej rzepakowy 10%								+	+	+
Błonnik grochowy 1,5 %		+			+			+		
Błonnik grochowy 2 %			+			+			+	
Błonnik grochowy 3 %				+			+			+

Drobno rozdrobniony produkt modelowy wytwarzano zgodnie ze stosowaną w przemyśle mięsnym technologią produkcji mortadeli. Surowce rozdrabniano na wilku, kutrowano, dodając wodę lodową, olej, uwodnione w stosunku 1:4 preparaty błonnika.

Farszem napełniano puszki o pojemności 200 g, które następnie pasteryzowano w wodzie o temperaturze 75°C, do uzyskania w centrum geometrycznym bloku 72°C. Po zakończeniu procesu ogrzewania, próbki schładzano zimną wodą i przechowywano w warunkach chłodniczych w temperaturze 2-4°C, skąd pobierano próbki do badań.

Ocenę stabilności oksydacyjnej wykonano na podstawie charakterystyki liczby kwasowej (LK) wg PN-EN ISO 660:2010, nadtlenkowej (LN) wg PN-EN ISO 3960:2012, anizydynowej (LA) wg PN-EN ISO 6885:2008, wyliczanego wskaźnika zmian oksydacyjnych TOTOX wg PN-93/A-86926 oraz TBA metodą ekstrakcyjną wg Shahidi [1990] wyrażony jako mg aldehydu malonowego/kg produktu. Próbkę do badań oceniano po 0, 6 i 10 tygodniach chłodniczego przechowywania, bez dostępu tlenu i światła.

Wykonano po dwie produkcje doświadczalne dla każdego wariantu. Oznaczenia liczby kwasowej, nadtlenkowej, anizydynowej, współczynnika TOTOX i TBA przeprowadzono w dwóch powtórzeniach w każdym z doświadczeń.

Uzyskane wyniki poddano analizie statystycznej za pomocą programu Statgraphic Plus 5.1. Do porównania wartości średnich zastosowano jednoczynnikową analizę wariancji (ANOVA, test Duncana przy $p \leq 0,05$).

Wyniki i dyskusja

W tabeli 2 przedstawiono wartości oznaczanych wyróżników zmian oksydacyjnych: liczby kwasowej, nadtlenkowej i anizydynowej oraz wyliczonych wskaźników TOTOX i TBA dla poszczególnych wariantów doświadczalnych oznaczonych po wytworzeniu.

Wskaźnik TBA, określający zawartość produktów oksydacji tłuszczu, jest miernikiem zmian zachodzących w tłuszczach podczas jego przechowywania. Szybkość tych zmian uwarunkowana jest wieloma czynnikami, m.in. składem kwasów tłuszczowych, obecnością prooksydantów i przeciwutleniaczy oraz warunkami przechowywania [Wroniak i in., 2006; Rycielska i Słowiński, 2012]. Wartości tego wskaźnika były najniższe w wariancie kontrolnym i w wariancie przy najniższym poziomie oleju i preparatu błonnika w modelowym wyrobie. We wszystkich pozostałych, wartość TBA była istotnie wyższa, zmieniając się w zakresie od 0,23 do 0,29.

Inną tendencję zmian wykazali w badaniach Rycielska i Słowiński [2012], którzy stwierdzili, że wymiana podgardla wieprzowego olejem rzepakowym tłoczonym na zimno powodowała poprawę stabilności oksydacyjnej oraz stosunku kwasów tłuszczowych omega-6 do omega-3 w modelowych kiełbasach homogenizowanych bezpośrednio po wytworzeniu i po 21-dniowym przechowywaniu.

Tabela 2. Charakterystyka wartości oznaczanych wyróżników zmian oksydacyjnych

Wariant doświadczalny	Liczba kwasowa [mg KOH/1 g] (LK)	Liczba nadtlenkowa [milirówn. O ₂ /kg] (LN)	Liczba anizydynowa (LA)	Wskaźnik TOTOX (2LN+LA)	TBA [mg/kg produktu]
K	0,91 ^b	2,04 ^a	0,16 ^a	4,83 ^a	0,16 ^a
W1	0,94 ^{bc}	2,07 ^a	0,17 ^a	4,45 ^a	0,18 ^a
W2	0,98 ^c	2,50 ^{ab}	0,17 ^a	5,1 ^{ab}	0,23 ^b
W3	0,96 ^{bc}	2,50 ^{ab}	0,18 ^a	5,28 ^{ab}	0,22 ^b
W4	0,85 ^a	2,81 ^{ab}	0,28 ^c	5,54 ^{ab}	0,29 ^b
W5	0,84 ^a	3,01 ^{ab}	0,26 ^{bc}	6,14 ^{ab}	0,28 ^b
W6	0,96 ^{bc}	4,03 ^{ab}	0,25 ^{bc}	7,37 ^{ab}	0,27 ^b
W7	0,92 ^b	4,33 ^b	0,26 ^{bc}	8,16 ^{ab}	0,29 ^b
W8	0,92 ^b	4,35 ^b	0,28 ^c	9,11 ^b	0,28 ^b
W9	0,91 ^b	4,28 ^b	0,24 ^b	7,37 ^{ab}	0,28 ^b
NIR	0,053	2,09	0,034	4,258	0,063

^{a, b} – średnie w kolumnach oznaczone różnymi indeksami różnią się istotnie ($\alpha \leq 0,05$)

Wpływ modyfikacji składu surowca tłuszczowego w przetworach drobno rozdrobnionych poprzez dodatek oleju roślinnego w miejsce tłuszczu zwierzęcego na wartości liczby kwasowej, nadtlenkowej i anizydynowej oraz wyliczonych wskaźników TOTOX i TBA dla badanych wariantów doświadczalnych przedstawiono w tabeli 3.

Tabela 3. Wpływ poziomu dodatku olejów roślinnych na wartości oznaczanych wyróżników

Poziom dodatku olejów roślinnych	Liczba kwasowa [mg KOH/1g] (LK)	Liczba nadtlenkowa [milirówn. O ₂ /kg] (LN)	Liczba anizydynowa (LA)	Wskaźnik TOTOX (2LN+LA)	TBA [mg/kg produktu]
0%	0,91 ^{ab}	2,04 ^a	0,16 ^a	4,83 ^a	0,16 ^a
2%	0,96 ^b	2,36 ^a	0,17 ^a	4,95 ^a	0,21 ^b
5%	0,88 ^a	3,28 ^{ab}	0,26 ^b	6,35 ^{ab}	0,28 ^c
10%	0,92 ^b	4,32 ^b	0,26 ^b	8,21 ^b	0,28 ^c
NIR	0,051	1,583	0,028	3,329	0,030

^{a, b} – średnie w kolumnach oznaczone różnymi indeksami różnią się istotnie ($\alpha \leq 0,05$)

Wzrost poziomu dodatku oleju roślinnego w miejsce wymiany zwierzęcego tłuszczu recepturowego spowodował w statystycznie istotny wzrost liczby nadtlenkowej, anizydynowej, wskaźnika TOTOX oraz TBA. 10% poziom wymiany tłuszczu recepturowego olejem roślinnym miał najwyższy wpływ na osłabienie stabilności oksydacyjnej i ten poziom wymiany w składzie recepturowym powodował największą intensyfikację niekorzystnych zmian. Związane jest to przede wszystkim z wyższą

zawartością wysokooleinowego oleju lnianego, który miał wpływ w poprawie wartości żywieniowej, poprawę profilu kwasów tłuszczowych, natomiast intensyfikował zmiany oksydacyjne.

Uzyskane wyniki są zgodne z założeniem doświadczenia, gdyż lipidy, szczególnie te nienasycone, które wprowadzono do modelowych przetworów, są związkami organicznymi stosunkowo niestabilnymi, które łatwo ulegają utlenianiu (oksydacji). Reakcje oksydacji lipidów zachodzą zarówno pod wpływem czynników fizycznych, jak i chemicznych. Prowadzić mogą do powstawania potencjalnie szkodliwych związków [Frankel, 2005; Achremowicz i Szary-Szworst, 2005; Dąbrowska i in., 2015].

W badanych wariantach oprócz substytucji tłuszczu zwierzęcego olejem wprowadzono dodatek preparatu błonnika grochowego, w ilościach 1,5%, 2% i 3%, którego wpływ na wartości oznaczanych wyróżników charakteryzujących procesy utleniania przedstawiono w tabeli 4.

Tabela 4. Wpływ poziomu dodatku preparatu błonnika na wartości oznaczanych wyróżników

Poziom dodatku preparatu błonnika	Liczba kwasowa [mg KOH/1g] (LK)	Liczba nadtlenkowa [milorówn. O₂/kg] (LN)	Liczba anizydynowa (LA)	Wskaźnik TOTOX (2LN+LA)	TBA [mg/kg produktu]
0%	0,91 ^{ab}	2,04 ^a	0,16 ^a	4,83 ^a	0,16 ^a
1,5%	0,90 ^a	3,07 ^a	0,23 ^b	6,05 ^a	0,25 ^b
2%	0,91 ^{ab}	3,29 ^a	0,24 ^b	6,79 ^a	0,27 ^b
3%	0,94 ^b	3,60 ^a	0,22 ^b	6,67 ^a	0,26 ^b
<i>NIR</i>	<i>0,055</i>	<i>1,737</i>	<i>0,047</i>	<i>3,540</i>	<i>0,042</i>

^{a, b} – średnie w kolumnach oznaczone różnymi indeksami różnią się istotnie ($\alpha \leq 0,05$)

Tabela 5. Wpływ czasu przechowywania na wartości oznaczanych wyróżników

Czas przechowywania	Liczba kwasowa [mg KOH/1g] (LK)	Liczba nadtlenkowa [milorówn. O₂/kg] (LN)	Liczba anizydynowa (LA)	Wskaźnik TOTOX (2LN+LA)	TBA [mg/kg produktu]
Po wytworzeniu	0,89 ^a	1,98 ^a	0,21 ^a	4,36 ^a	0,24 ^a
Po 6 tygodniach	0,91 ^a	2,57 ^a	0,22 ^{ab}	4,64 ^a	0,24 ^a
Po 10 tygodniach	0,96 ^b	5,03 ^b	0,25 ^b	10,00 ^b	0,28 ^b
<i>NIR</i>	<i>0,031</i>	<i>0,821</i>	<i>0,034</i>	<i>1,685</i>	<i>0,032</i>

^{a, b} – średnie w kolumnach oznaczone różnymi indeksami różnią się istotnie ($\alpha \leq 0,05$)

Wyniki przeprowadzonej analizy wariancji wskazują, iż rosnąca zawartość preparatu błonnika w obecności olejów roślinnych miała statystycznie istotny wpływ na wzrost liczby kwasowej, anizydynowej i wskaźnika TBA. Rosnąca w składzie recepturowym

zawartość preparatu błonnika, nie miała wpływu w nasilenie zmian oksydacyjnych podczas przechowywania chłodniczego przez do 6 tygodni. Po tym okresie tempo zmian oksydacyjnych istotnie wzrastało.

Podczas przechowywania chłodniczego w badanych wariantach stwierdzono wzrost wskaźników oksydacji tłuszczów, TOTOX oraz TBA w odniesieniu do wariantu kontrolnego. Obserwowane zmiany były zróżnicowane. Najwyższy przyrost wskaźnika TOTOX podczas chłodniczego przechowywania stwierdzono w wariantach zawierających najwyższy poziom olejów roślinnych w miejsce wymiany tłuszczu zwierzęcego po 10 tygodniach przechowywania (Tab. 5).

Dla konsumenta, który przetwory mięsne spożywa zazwyczaj w okresie do ok. 4 tygodni od wyprodukowania, w zależności od rodzaju produktu i sposobu pakowania, przedstawione wyniki zmian oksydacyjnych nie powinny być przyczyną niepokoju. Tego rodzaju produkty, o korzystnym oddziaływaniu na organizm człowieka i równocześnie bezpieczne są oczekiwane przez konsumenta XXI wieku [BabicZ-Zielinska i Zabrocki, 2007].

Podsumowanie

W ocenianych drobno rozdrobnionych produktach, w których dokonano modyfikacji surowca tłuszczowego, podczas przechowywania chłodniczego stwierdzono wzrost wskaźników oksydacji tłuszczów TOTOX oraz TBA w odniesieniu do wariantu kontrolnego. Obserwowane zmiany były zróżnicowane. Najwyższy przyrost wskaźnika TOTOX podczas chłodniczego przechowywania odnotowano w wariantach zawierających najwyższy poziom olejów roślinnych, na które wymieniono tłuszcz zwierzęcy.

W wariacie o najwyższym poziomie oleju w składzie surowcowym wartość wskaźnika TOTOX wzrosła z poziomu 4,84 oznaczonego po wytworzeniu do 15,82, po 10 tygodniach przechowywania. Rosnąca w składzie recepturowym zawartość preparatu błonnika nie miała wpływu na nasilenie się zmian oksydacyjnych podczas przechowywania chłodniczego przez okres do 6 tygodni, natomiast po tym okresie tempo zmian oksydacyjnych istotnie wzrastało.

Zastosowany sposób modyfikacji składu surowca tłuszczowego w przetworach drobno rozdrobnionych, celem wprowadzenia WNKT jest obiecujący, jednak wymaga dalszych badań nad optymalizacją i doбором zamienników tłuszczu zwierzęcego w recepturach produktów mięsnych dla praktycznego zastosowania.

Literatura

1. Achremowicz K., Szary-Szworst K. Wielonienasycone kwasy tłuszczowe czynnikiem poprawy stanu zdrowia człowieka. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2005, 3(44), 23-35.
2. Alonso V., Najes L., Provincial L., Guillén E., Gil M., Roncalés P., Beltrán J. Influence of dietary fat on pork eating quality. *Meat Science*, 2012, 92, 366-373.
3. Babicz – Zielinska E., Zabrocki R. *Konsument XXI wieku. Przemysł Spożywczy*, 2007, 1, 6-8.
4. Cegiłka A., Nadrowska I. wpływ dodatku inuliny na jakość Technologiczną i sensoryczną burgerów z mięsa indyczego oddzielonego mechanicznie. *Zeszyty Problemowe Postępów Nauk Rolniczych*, 2013, 573, 75-83.
5. Choi Y.S., Choi J.H., Han D.J., Kim H.Y., Lee M.A., Kim H.W. Characteristics of low-fat meat emulsion systems with pork fat replaced by vegetable oils and rice bran fibre. *Meat Science*, 2009, 82, 266-271.
6. 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 Science*, 2010, 84, 212-218.
7. Cieślak E., Topolska K. Funkcjonalne właściwości fruktanów. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2002, 3(32), 5-16.
8. Dąbrowska M., Zielińska A., Nowak I. Produkty utleniania lipidów jako potencjalny problem zdrowotny oraz analityczny, *Chemik*, 2015, 69, 2, 89-94.
9. Florowski T., Adamczak L., Fuertes Hernández I., Belen Moreno Franco M., Tyburcy A. Ocena wpływu stopnia substytucji tłuszczu inuliną na wybrane wyróżniki jakości modelowych kiełbas. *Nauka Przyroda Technologia*, 2010, 4, 5(57), 1-9.
10. Furlán R., Padilla A., Mercedes E., Campderrós M. Development of reduced fat minced meats using inulin and bovine plasma proteins as fat replacers. *Meat Science*, 2014, 96, 762–768.
11. Frankel E.N. *Lipid oxidation*. Woodhead Publishing, 2005.
12. González L., Moreno T., Bispo E., Dugan M., Franco D. Effect of supplementing different oils: Linseed, sunflower and soybean, on animal performance, carcass characteristics, meat quality and fatty acid profile of veal from “Rubia Gallega” calves. *Meat Science*, 2014, 96, 829–836.
13. Górecka A., Krygier K. zamienniki tłuszczu w produkcji żywności o obniżonej wartości energetycznej. *Przem. Spoż.*, 2004, 58 (5), 36-42.
14. Kryża K., Stodolnik L., Szczepanik G. Aktywność przeciwutleniająca wybranych emulgatorów i wodnych ekstraktów roślinnych w emulsjach w czasie przechowywania. *Zeszyty Naukowe Akademii Morskiej w Gdyni*, 2011, 68, 5, 57-66.
15. Makala H. Effect of fat substitutes on physico-chemical characteristics and rheological properties of meat product. *Acta Agrophysica*, 2002, 61-73.
16. Makala H. Zastosowanie inuliny jako zamiennika tłuszczu w przetworach mięsnych. *Rocz. Inst. Przem. Mięsn. Tłuszcz.*, 2003, 40, 125-133.
17. Mapiye C., Aldai N., Turner T.D., Aalhus J.L., Rolland D.C., Kramer J.K.G., Dugan M.E.R. The labile lipid fraction of meat: From perceived disease and waste to health and opportunity. *Meat Science*, 2012, 92, 210-220.
18. Mińkowski K., Grześkiewicz S., Jerzewska M. Ocena wartości odżywczej olejów roślinnych o dużej zawartości kwasów linolenowych na podstawie składu kwasów tłuszczowych, tokoferoli i steroli. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2011, 2 (75), 124-135.
19. PN – EN ISO 660:2010. Zwierzęce i roślinne tłuszcze i oleje. Oznaczanie liczby kwasowej i kwasowości.
20. PN – EN ISO 3960:2012. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Oznaczanie liczby nadtlenczkowej.
21. PN – EN ISO 6885:2008. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Oznaczanie liczby anizydynowej.
22. PN-93/ A- 86926. Tłuszcze roślinne jadalne. Obliczanie wskaźnika oksydacji tłuszczu Totox.
23. Przysławski J., Bolesławska I.: Tłuszcze pokarmowe – czynnik terapeutyczny czy patogenetyczny. *Tłuszcze Jadalne*, 2006, 41, 179-192.
24. Rycielska J., Słowiński M. Próba zastąpienia tłuszczu zwierzęcego olejem rzepakowym w kiełbasach homogenizowanych. *Acta Agrophysica*, 2012, 19 (1), 123-132.
25. Shahidi F. The 2-tiobarbituric acid (TBA) methodology for the evaluation of warmed-over flavour and rancidity in meat products, 36th ICoMST, Cuba, 1990, 1008.

26. Słowiński M., Jankiewicz L. Mięso i przetwory mięsne żywnością funkcjonalną. *Gospodarka Mięsna*, 2010, 62 (4), 10-13.
27. Wroniak M., Kwiatkowska M., Krygier K. Charakterystyka wybranych olejów tłoczonych na zimno. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2006, 47 (2), 46-57.
28. Valencia I., Ansorena D., Astiasarán I., Nutritional and sensory properties of dry fermented sausages enriched with n-3 PUFAs. *Meat Science*, 2006, 72, 727-733.
29. Ziemiański Ś., Budzyńska-Topolowska J. *Tłuszcze pożywienia i lipidy ustrojowe*. Wyd. Nauk. PWN, Warszawa 1991.

DOROTA OGRODOWSKA¹, MAŁGORZATA TAŃSKA¹, DOROTA DEREWIAKA²,
RAFAŁ WOŁOSIAK², SYLWESTER CZAPLICKI¹

¹*Katedra Przetwórstwa i Chemii Surowców Roślinnych, Wydział Nauki o Żywności,
Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie*

²*Zakład Oceny Jakości Żywności, Katedra Biotechnologii, Mikrobiologii i Oceny Jakości Żywności,
Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie*

CHARAKTERYSTYKA FRAKCJI BIAŁEK NOWYCH FORM NASION DYNI BEZŁUPINOWEJ

Streszczenie

Nasiona dyni bezłupinowej są wykorzystywane do produkcji oleju dyniowego. W wyniku jego otrzymywania uzyskujemy produkt uboczny – makuchy dyniowe, z których wytwarzana jest mączka dyniowa. Obecnie jest ona stosowana jako dodatek do wyrobów piekarskich i cukierniczych. W celu zwiększenia możliwości zastosowania mączki, należy przeprowadzić analizę jej głównych składników. Dlatego celem pracy była charakterystyka frakcji białkowej mączki dyniowej uzyskanej z nasion dyni bezłupinowej odmiany Olga. Doświadczenie polowe przeprowadzono w 2014 roku na Polu Doświadczalnym Przedsiębiorstwa „Szarłat” w Łomży. W analizowanych próbkach oznaczono zawartość białka metodą Kjeldahla, aminokwasów przy użyciu automatycznego analizatora aminokwasów Biochrom 20 plus oraz ekstrahowano według rozpuszczalności frakcje białek.

Badane nasiona charakteryzowały się wysoką zawartością białka, która mieściła się w zakresie od 39,74 do 46,17 g/100 g nasion. Suma wyekstrahowanych frakcji białek zawierała się w przedziale od 18,66 do 36,49 g/100 g, a w ich składzie w największej ilości występowała globulina. W analizowanej mączce dyniowej suma aminokwasów egzogennych była ok. dwukrotnie mniejsza niż endogennych. Wśród aminokwasów egzogennych w białkach nasion dyni dominowały: leucyna (6,91 g/100 g białka), walina (4,95 g/100 g białka), lizyna (4,06 g/100 g białka) i izoleucyna (4,03 g/100 g białka). W wyniku przeprowadzonych badań stwierdzono, że po uzupełnieniu niedoboru lizyny, mączka dyniowa może stanowić wartościowy surowiec w produkcji preparatów białkowych o wysokiej wartości odżywczej.

Słowa kluczowe: nasiona dyni bezłupinowej, białka, frakcje białek, aminokwasy

Wprowadzenie

Dynia bezłupinowa należy do rodziny dyniowatych (*Cucurbitaceae*) i jest odmianą botaniczną dyni zwyczajnej (*Cucurbita pepo* var. *oleifera* Pietsch. lub var. *styrica* Greb.)

[Korzeniewska i in., 2013]. Pierwsze nasiona bezłupinowe pojawiły się pomiędzy 1870 a 1880 rokiem w Styrii (Austria) w wyniku recesywnej mutacji, która spowodowała zredukowanie okrywy nasiennej do pergaminowej błonki [Baxter i in., 2012]. Obszar uprawy dyni oleistej z Styrii rozszerzył się na inne kraje, a obecnie w Europie olej dyniowy produkowany jest głównie w północno-wschodniej Austrii, północno-wschodniej Słowenii i południowo-zachodnich Węgrzech [Kreft i in., 2002]. Nasiona dyni bezłupinowej posiadają zielone zabarwienie i charakteryzują się mniejszymi rozmiarami w porównaniu do nasion pokrytych łupiną. Według Jafari i in. [2012] podstawowe cechy fizyczne nasion bezłupinowych (odmiana *C. pepo* Cv. Mashhadi), takie jak długość, szerokość i masa 1000 nasion wynoszą odpowiednio: 1,67 cm; 0,73 cm i 130,60 g. Natomiast wartości tych samych parametrów dla nasion posiadających łupinę (*C. maxima* Cv. Tanbal) wynoszą odpowiednio: 2,05 cm, 1,25 cm i 333,29 g. Nasiona dyni bezłupinowej odmiany Olga uprawianej w Polsce charakteryzują się długością wynoszącą 2,14 cm, natomiast szerokością 1,07 cm [Ogrodowska i in., 2016].

Nasiona dyni bezłupinowej bezpośrednio wykorzystywane są do produkcji oleju dyniowego. Produktem ubocznym przy produkcji oleju są makuchy dyniowe, wykorzystywane do produkcji mączki dyniowej. Obecnie mączka dyniowa ma ograniczone zastosowanie technologiczne. Zazwyczaj jest ona stosowana w produkcji wyrobów piekarskich i cukierniczych [Giarni i in., 2005; Atuonwu i Akobundu, 2010]. Można ją również wykorzystywać do zagęszczania lub przyprawiania zup, sosów, naleśników, pierogów i dań mięsnych. Jednym ze sposobów zagospodarowania makuchów dyniowych jest również produkcja preparatów białkowych [Caili i in., 2006; Popović i in., 2013].

Porównanie danych literaturowych wskazuje na znaczne różnice we właściwościach mączki dyniowej i popularnie wykorzystywanych izolatów białek grochu. Rozpuszczalność mączki dyniowej wynosi 21,22 g/100 g, podczas gdy parametr ten dla izolatu białek grochu przyjmuje wartości dwukrotnie wyższe. Mączka dyniowa charakteryzuje się natomiast dużo wyższą wodochłonnością, która sięga 83 ml/100 g i jest ponad czterdzieści razy mniejsza niż oznaczona dla wyizolowanych białek grochu. Mączka dyniowa charakteryzuje się również dwukrotnie wyższą zdolnością do stabilizacji emulsji (36 ml/100 g) niż ma to miejsce w przypadku izolatu białek grochu [Aydin i Gocmen, 2015; Stone i in., 2015].

Z danych literaturowych wynika również, że mączka dyniowa charakteryzuje się właściwościami antybakteryjnymi i przeciwwgrzybicznymi. El-Aziz i El-Kalek [2011] badali wrażliwość różnych bakterii i grzybów na działanie preparatów białkowych otrzymanych z nasion dyni (*Cucurbita moschata*) poprzez określenie wielkości stref hamowania wzrostu dla wybranych szczepów. Podają oni, że białka nasion dyni wykazują właściwości antybakteryjne wobec *Staphylococcus aureus* i *Bacillus subtilis*.

Obecnie do głównych źródeł białka zaliczyć należy nasiona roślin oleistych (soja, bawełna, rzepak, orzechy arachidowe), nasiona roślin strączkowych (groch i bobik) i zboża (pszenica, owies). Alternatywą dla dotychczasowych surowców może stać się odtłuszczona mączka dyniowa otrzymywana z nasion dyni bezłupinowej. Wprowadzenie do produkcji żywności składnika nowego typu, jakim są białka mączki dyniowej, stwarza potrzebę oceny ich jakości pod kątem przydatności w konkretnych układach produktów żywnościowych. Dlatego też, celem pracy było dokonanie badań charakteryzujących frakcję białkową mączki dyniowej. Potrzeba taka jest tym bardziej pilna, że do użytkowania wchodzi nowe formy tej rośliny, hodowane w kierunku pozyskania rodów, których nasiona cechować się będą wysoką przydatnością w technologii produkcji biooleju. W pracy charakteryzowano frakcję białkową nasion nowych form dyni bezłupinowej odmiany Olga.

Material i metody

Materiał badawczy stanowiły nasiona 9 nowych form hodowlanych dyni bezłupinowej odmiany Olga (71-79) oraz 2 odmiany wzorcowe: Junona (80) i Olga (81), wyhodowane przez pracowników Katedry Genetyki, Hodowli i Biotechnologii Roślin, SGGW w Warszawie. Doświadczenie polowe przeprowadzono w 2014 roku na Polu Doświadczalnym przedsiębiorstwa „Szarłat” z Łomży.

Nasiona wstępnie odłuszczano na prasie ślimakowej typu „Komet CA-59G” (IBG Monforts & Reiners, Niemcy), a uzyskane makuchy dyniowe odłuszczano stosując 24-godziną ekstrakcję heksanem. W uzyskanym materiale oznaczono zawartość białka i jego frakcji oraz skład aminokwasów.

Zawartość białka oznaczano metodą Kjeldahla wg PN-75/A-04018/AZ3:2002 wykorzystując aparat Tecator KJELTEC System 1026. Przeliczając zawartość azotu na białko stosowano przelicznik $N \times 6,25$.

Poszczególne frakcje białka otrzymywano według metody Osborn'a opisanej przez Tan i in. [2011].

Zawartość tryptofanu oznaczono wg PN-77/R-64820:1977. Hydrolizę prób przeprowadzono dodając 1,07 mol/l roztworu wodorotlenku baru w temp. 110°C w ciągu 16 godzin, w atmosferze azotu. Zasada oznaczania: pierścień indolowy tryptofanu daje w środowisku kwaśnym barwny produkt kondensacji z aldehydem *p*-dimetyloaminobenzoowym, którego absorbancję mierzy się spektrofotometrycznie przy długości fali 590 nm.

Zawartość pozostałych aminokwasów oznaczono przy użyciu automatycznego analizatora aminokwasów Biochrom 20 plus, z użyciem odczynników produkowanych przez Biochrom Ltd. (Cambridge, Wielka Brytania). Jako standardu aminokwasowego używano roztworu standardów aminokwasów (AASS-18), standardów aminokwasów

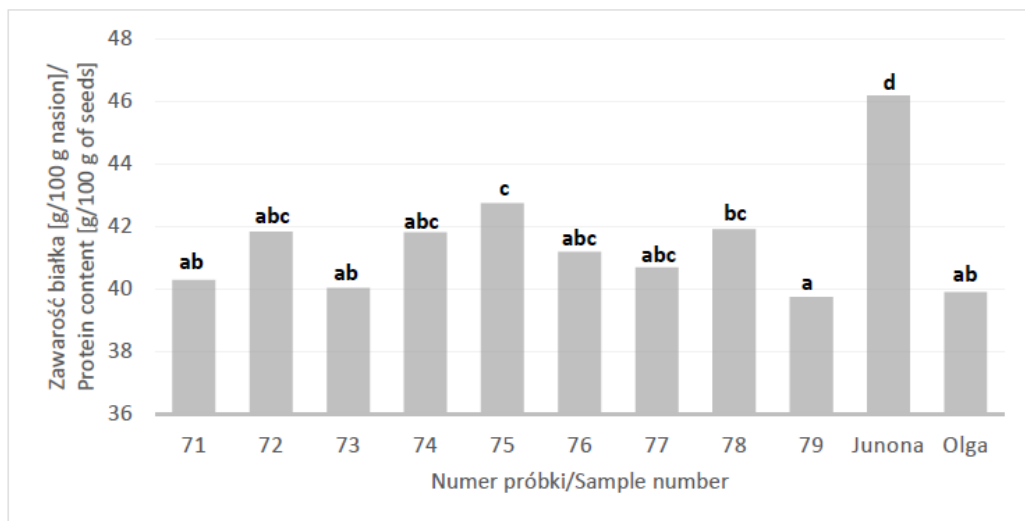
hydrolizatów białkowych (A 2908) oraz sulfonu L-metioniny, kwasu L-cysteinowego i L-norleucyny (Sigma, USA).

Zawartość aminokwasów siarkowych, cystyny i metioniny, oznaczono w postaci kwasu cysteinowego i sulfonu metioniny, po utlenieniu prób kwasem nadmanganowym (mieszanka kwasu mrówkowego HCOOH i perhydroflu H₂O₂).

Wyniki i dyskusja

Czynnikami warunkującymi przydatność technologiczną odtłuszczonej śrutki dyniowej jest jej skład chemiczny. Analizując jej przydatność do produkcji preparatów białkowych konieczne jest zwrócenie uwagi na zawartość białka oraz jego jakość. Surowcami stosowanymi w produkcji preparatów białkowych są te nasiona i rośliny, które zawierają co najmniej 20 % białka w suchej masie [Rutkowski i Kozłowska, 1981].

Rysunek 1 przedstawia wyniki dotyczące zawartości białka w nowych formach nasion dyni bezłupinowej oraz dwóch wzorcach.



Rysunek 1. Zawartość białka w nasionach dyni bezłupinowej

Wartości średnie oznaczone różnymi literami różnią się statystycznie istotnie ($p < 0,05$)/ mean values denoted by different letters differ statistically significantly at $p < 0.05$

Zawartość białka w analizowanych próbkach nasion odmiany Olga zawierała się w przedziale od 39,74 g (próbka 79) do 42,74 g/100 g nasion (próbka 75). Wzorcowe odmiany Junona i Olga charakteryzowały się ogólną zawartością białka mieszczącą się w tym samym zakresie i zawierały odpowiednio 46,17 g i 39,90 g/100 g nasion. Pod tym względem nasiona odmian wzorcowych różniły się między sobą statystycznie istotnie ($p < 0,05$). Analizowane próbki, z wyjątkiem próbek 75 (42,74 g/100 g nasion) i 78 (41,90 g/100 g nasion), były zbliżone do wzorca odmiany Olga i stanowiły grupę

statystycznie jednorodną. Natomiast wzorzec odmiany Junona różnił się statystycznie od wszystkich analizowanych próbek. Uzyskane wyniki są zbieżne z danymi przedstawionymi przez Nawirską-Olszańską i in. [2013], którzy charakteryzowali skład chemiczny sześciu odmian nasion dyni gatunku *C. pepo* i sześciu odmian nasion gatunku *C. maxima* uprawianych w Polsce. W ich eksperymencie zawartość białka w nasionach gatunku *C. pepo* zawierała się w przedziale od 32,0 (odmiana Junona) do 45,5% (odmiana Makaronowa Warszawska), natomiast w nasionach gatunku *C. maxima* od 30,9 (odmiana Uchiki Kiuri) do 46,6% (odmiana Ambar). Dużo wyższą zawartość białka (59,80%) oznaczyli w nasionach *C. pepo*, uprawianych w Polsce, Zduńczyk i in. [1998]. Dla porównania, zawartość białka w nasionach *C. pepo*, uprawianych w Egipcie, wynosiła 36,5 g/100 g nasion [El-Adawy i Taha, 2001], natomiast w *C. maxima*, uprawianych w Tunezji, 31,57 g/100 g nasion [Rezig i in., 2012].

Według Osborne'a, zależnie od rozpuszczalności, białka roślinne dzieli się na albuminy, globuliny, prolaminy i gluteliny rozpuszczalne odpowiednio w wodzie, rozcieńczonych roztworach soli obojętnych, rozpuszczalne w 70% etanolu oraz zasadach. Pierwsze dwie frakcje pełnią liczne funkcje fizjologiczne. Natomiast dla prolamin i glutelin, występujących w ziarniakach zbóż w ilości ok. 80% białek endospermu, nie są znane inne funkcje poza rezerwą aminokwasów, dlatego są one typowymi białkami zapasowymi [Kączkowski, 2002].

Białka nasion różnych roślin różnią się zawartością frakcji białkowych, co wpływa na ich różną wartość biologiczną i wypiekową. W tabeli 1 przedstawiono zawartość poszczególnych frakcji białek nasion dyni bezłupinowej odmiany Olga oraz dwóch wzorców. Suma wszystkich wyekstrahowanych białek zawierała się w przedziale od 18,66 (próbka 75) do 36,49 g/100 g (próbka 76), a w ich składzie dominująca była frakcja globuliny, która stanowiła średnio ok. 55% wszystkich wyekstrahowanych białek. W przypadku próbki 75 zawartość globulin wynosiła 11,18 g/100 g (ok. 60 % sumy wszystkich białek), natomiast w przypadku próbki 76 zawartość tej frakcji sięgała 23,31 g/100 g (ok. 64% sumy wszystkich białek). Analizowane wzorce różniły się znacząco pod względem zawartości globulin. Nasiona odmiany Junona były uboższe w omawianą frakcję (14,16 g/100 g) w porównaniu do nasion odmiany Olga (20,13 g/100 g). Kolejną co do wielkości frakcją były gluteniny, które występowały na poziomie od 6,12 g (próbka 71) do 11,80 g/100 g (próbka 74). Wyjątek stanowiła próbka 78, gdzie kolejną pod względem wielkości po frakcji globulin były albuminy (7,26 g/100 g). Frakcja albumin bardzo różnicowała badane próbki pod względem ilościowym. W próbkach 71, 78 i 79 zawartość albumin była na średnim poziomie 6,54 g/100 g, natomiast w pozostałych próbkach zawierała się w przedziale od 0,90 g (wzorzec odmiany Junona) do 3,43 g/100 g (próbka 73). W badanych próbkach nasion oznaczono niską zawartość frakcji prolamin, która wynosiła od 0,08 g (próbka 73) do

0,33 g/100 g (próbki 71 i 72). Ogólnie, nasiona odmiany Olga, charakteryzowały się dużo wyższą zawartością albumin, globulin i prolamin, natomiast niższą zawartością glutenin w porównaniu do nasion odmiany Junona. Dominujący udział frakcji globulin w białkach nasion dyni potwierdzają również badania Popović i in. [2013], którzy charakteryzowali właściwości antyoksydacyjne i funkcjonalne tej frakcji. Giarni [2004] charakteryzował frakcje białek nasion dyni gatunku *Telfairia occidentalis* uprawianych w Nigerii. W jego eksperymencie dominującą frakcją białek nasion były albuminy (8,51 g/100 g), natomiast na niewiele niższym poziomie występowały frakcje globulin (7,08 g/100 g) i glutenin (6,50 g/100 g). W tym przypadku suma wszystkich wyekstrahowanych frakcji białek wynosiła 25,8 mg/100 g i była zbliżona do średniej ilości otrzymanej w opisywanym eksperymencie.

Tabela 1. Frakcje białek odtłuszczonej mączki dyniowej

Forma lub odmiana/ Form or cultivar	Frakcje białek [g/100 g odtłuszczonej mączki dyniowej]/ Protein fractions [g/100 g of defatted pumpkin flour]				Suma wyekstrahowanych białek/ Total of extracted proteins	
	Albuminy/ Albumin	Globuliny/ Globulin	Gluteniny/ Glutelin	Prolaminy/ Prolamin		
71	\bar{x}	6,01 ^c	15,07 ^{ac}	6,12 ^b	0,33 ^d	27,54 ^{cf}
	SD	0,71	0,01	1,62	0,007	2,31
72	\bar{x}	1,68 ^b	10,83 ^b	7,35 ^c	0,33 ^d	20,18 ^b
	SD	0,07	0,76	0,96	0,039	1,82
73	\bar{x}	3,43 ^e	14,31 ^a	8,56 ^d	0,08 ^c	26,37 ^{de}
	SD	0,13	1,52	1,45	0,011	0,21
74	\bar{x}	1,60 ^b	15,84 ^c	11,80 ^e	0,18 ^{ab}	25,37 ^a
	SD	0,08	1,60	0,34	0,088	1,43
75	\bar{x}	1,09 ^a	11,18 ^b	6,20 ^b	0,19 ^{ab}	18,66 ^b
	SD	0,24	1,25	0,23	0,004	1,28
76	\bar{x}	2,49 ^d	23,31 ^f	10,26 ^a	0,42 ^c	36,49 ^h
	SD	0,02	1,25	0,41	0,113	1,56
77	\bar{x}	1,83 ^b	20,15 ^d	9,85 ^a	0,59 ^f	32,42 ^g
	SD	0,14	1,24	0,43	0,050	0,71
78	\bar{x}	7,26 ^f	14,25 ^a	6,81 ^{bc}	0,20 ^{ab}	28,52 ^{af}
	SD	0,50	0,83	0,17	0,011	1,51
79	\bar{x}	6,35 ^c	7,31 ^e	10,68 ^a	0,25 ^b	24,59 ^c
	SD	0,27	0,48	0,26	0,094	1,11
Junona	\bar{x}	0,90 ^a	14,16 ^a	10,25 ^a	0,08 ^c	25,38 ^{cd}
	SD	0,06	0,29	0,44	0,011	0,81
Olga	\bar{x}	1,08 ^a	20,13 ^d	8,86 ^d	0,14 ^{ac}	30,20 ^a
	SD	0,11	5,06	0,97	0,028	0,31

a, b, c, d... - wartości średnie oznaczone w tej samej kolumnie różnymi literami różnią się statystycznie istotnie ($p < 0,05$) / mean values designated by different letters and placed in the same column differ statistically significantly at $p < 0,05$

Aminokwasy są składnikiem niezbędnym do biosyntezy białka. Niektóre z nich (aminokwasy egzogenne), z uwagi na brak szlaków metabolicznych do ich syntezy w organizmie, muszą być dostarczane z pożywieniem. Źródłem pozostałych, czyli aminokwasów endogennych, jest zarówno pożywienie, jak i synteza w organizmie w procesie transaminacji [Mayes, 1995]. W mączce dyniowej uzyskanej z nasion dyni bezłupinowej odmiany Olga, suma aminokwasów egzogennych wynosiła 28,98 g/100 g białka i była ok. dwukrotnie mniejsza niż aminokwasów endogennych (Tab. 2). Wśród aminokwasów egzogennych w białkach nasion dyni dominowały: leucyna (6,91 g/100 g białka), walina (4,95 g/100 g białka), lizyna (4,06 g/100 g białka) i izoleucyna (4,03 g/100 g białka). Aminokwasy endogenne w białkach nasion dyni to głównie: kwas glutaminowy (16,07 g/100 g białka), arginina (13,66 g/100 g białka) i kwas asparaginowy (8,59 g/100 g białka).

Tabela 2. Skład aminokwasów w odtłuszczonej mączce dyniowej

Aminokwasy endogenne Essential amino acids	g/100 g białka g/100 g of protein
Kwas asparaginowy	8,59
Seryna	4,66
Kwas glutaminowy	16,07
Prolina	3,83
Cystyna	2,94
Glicyna	5,2
Alanina	4,2
Tyrozyna	3,43
Arginina	13,66
Suma	62,58
Aminokwasy egzogenne Exogenous amino acids	
Treonina	2,73
Walina	4,95
Metionina	2,14
Izoleucyna	4,03
Leucyna	6,91
Histydyna	2,61
Lizyna	4,06
Tryptofan	1,55
Suma	28,98

Podobne wartości uzyskali Glew i in. [2006] badając nasiona dyni uprawiane w Nigerii. W ich eksperymencie analizowana mączka dyniowa charakteryzowała się zbliżonymi zawartościami aminokwasów egzogennych: lizyny (3,8 g/100 g białka), treoniny (3,1 g/100 g białka), metioniny (2,1 g/100 g białka), izoleucyny (3,9 g/100 g białka), leucyny (6,9 g/100 g białka), histydyny (2,4 g/100 g białka) i waliny (4,7 g/100 g białka) oraz dodatkowo obecnością fenyloalaniny (5,5 g/100 g białka).

Charakterystyka wartości odżywczej mączki dyniowej (*C. pepo*) w eksperymencie Atuonwu i Akobundu [2010] wskazuje na zbliżone zawartości aminokwasów do obserwowanych w opisywanym eksperymencie.

Kompozycja aminokwasów w strukturze białka determinuje jego wartość odżywczą. Uwzględniając skład aminokwasowy, białka dzieli się na pełnowartościowe, częściowo niepełnowartościowe i niepełnowartościowe. Białka pełnowartościowe zawierają w swym składzie wszystkie niezbędne aminokwasy w ilości zbliżonej do zapotrzebowania organizmu człowieka. Do tej grupy należą m.in. białka jaj, mleka, mięsa i ryb. Białka częściowo niepełnowartościowe cechują się niższą wartością odżywczą, najczęściej spowodowaną brakiem jednego lub kilku aminokwasów egzogennych. Należą do nich m.in. uboższe w lizynę białka roślin zbożowych [Gąsiorowski, 2004].

Tabela 3. Zalecana dzienna dawka aminokwasów egzogennych w diecie oraz ilość mączki dyniowej odpowiadająca tej dawce

Aminokwasy/ Amino acids	Zalecana dawka dzienna/ Daily intake recommendation mg/kg ciała/dzień*	Ilość mączki dyniowej jaka pokrywa zalecane dzienne spożycie/ The amount of pumpkin flour covering daily intake recommendation g/kg masy ciała
Treonina	15	0,83
Walina	26	0,80
Metionina	10	0,71
Izoleucyna	20	0,76
Leucyna	39	0,86
Histydyna	10	0,58
Lizyna	30	1,13
Tryptofan	4	0,39

* Report of an FAO Expert Consultation 2011

Z przedstawionego w tabeli 3 zestawienia wynika, że mączka dyniowa spożywana w ilości 1,13 g/kg masy ciała jest w stanie zaspokoić zalecany dzienne zapotrzebowanie organizmu na lizynę. Przy średniej masie ciała osoby dorosłej ok. 70 kg wartość ta wynosi 79,1 g. Jest to wartość wysoka w porównaniu do innych egzogennych aminokwasów mączki dyniowej, których spożycie pokrywające dzienne zapotrzebowanie zawiera się w przedziale od 0,39 g/kg masy ciała (tryptofan) do 0,86 g/kg masy ciała (leucyna). Spostrzeżenia te potwierdzają również badania Zduńczyka i in. [1999], którzy analizowali skład chemiczny i wartość odżywczą makuchu nasion dyni. Stwierdzili oni, że badany makuch charakteryzuje się wysoką koncentracją białka (59,80% s. m.), natomiast jego wartość odżywczą ogranicza niska zawartość lizyny (3,21 g/100 g białka).

Wnioski

1. Dominującą frakcją białek nasion nowych form dyni bezłupinowej odmiany Olga stanowią globuliny.
2. Nasiona nowych form dyni bezłupinowej odmiany Olga charakteryzują się wysoką koncentracją białka, 39,74-42,74 g/100 nasion.
3. Wartość odżywcza białka nasion dyni jest ograniczana zawartością lizyny, która stanowi tylko 4,06 g/100 g białka.
4. Po uzupełnieniu niedoboru lizyny mączka dyniowa może stanowić wartościowy surowiec w produkcji preparatów białkowych o wysokiej wartości odżywczej.

Literatura

1. Atuonwu A.C., Akobundu E.N.T. Nutritional and sensory quality of cookies supplemented with defatted pumpkin (*Cucurbita pepo*) seed flour. Pakistan Journal of Nutrition, 2010, 9(7), 672-677.
2. Aydin E., Gocmen D. The influences of drying method and metabisulfite pre-treatment on the color, functional properties and phenolic acids contents and bioaccessibility of pumpkin flour. LWT-Food Science and Technology, 2015, 60(1), 385-392.
3. Baxter G.G., Murphy K., Paech A. The Potential to Produce Pumpkin Seed for Processing in North East Victoria, 2012, RIRDC Publication No. 11/145, RIRDC Project No. PRJ-005518,
4. Caili F.U., Huan S., Quanhong L.I. A review on pharmacological activities and utilization technologies of pumpkin. Plant Foods for Human Nutrition, 2006, 61(2), 70-77.
5. Consultation R.F.E. Dietary protein quality evaluation in human nutrition. FAO food and nutrition paper, 92. Rome 2011.
6. El-Adawy T.A., Taha K.M. Characteristics and composition of different seed oils and flours. Food Chemistry, 2001, 74(1), 47-54.
7. El-Aziz A.A., El-Kalek H.A. Antimicrobial proteins and oil seeds from pumpkin (*Cucurbita moschata*). Nature and Science, 2011, 9(3), 105-119.
8. Gąsiorowski H. Aspekty żywieniowe pszenicy i jej przetworów, w: Pszenica – chemia i technologia, (red. H. Gąsiorowski). PWRiL Poznań 2004, 527-555.
9. Giami S.Y. Effect of fermentation on the seed proteins, nitrogenous constituents, antinutrients and nutritional quality of fluted pumpkin (*Telfairia occidentalis* Hook). Food Chemistry, 2004, 88(3), 397-404.
10. Giami S.Y., Achinewhu S.C., Ibaakee C. The quality and sensory attributes of cookies supplemented with fluted pumpkin (*Telfairia occidentalis* Hook) seed flour. International Journal of Food Science & Technology, 2005, 40(6), 613-620.
11. Glew R.H., Glew R.S., Chuang L.T., Huang Y.S., Millson M., Constans D., Vanderjagt D.J. Amino acid, mineral and fatty acid content of pumpkin seeds (*Cucurbita spp.*) and *Cyperus esculentus* nuts in the Republic of Niger. Plant Foods for Human Nutrition, 2006, 61(2), 49-54 .
12. Jafari M., Goli S.A.H. Goli, Rahimmalek M. The chemical composition of the seeds of Iranian pumpkin cultivars and physicochemical characteristics of the oil extract. European Journal of Lipid Science and Technology, 2012, 114, 161-167.
13. Kaczkowski J. Nowe poglądy na strukturę i funkcje białek zapasowych zbóż na przykładzie pszenicy (*Triticum aestivum* L.). Biuletyn Instytutu Hodowli i Aklimatyzacji Roślin, 2002, 223/224, 3-31.
14. Korzeniewska A., Witek M., Gątecka T., Niemirowicz Szczyt K. Ocena wybranych cech dyni zwyczajnej (*Cucurbita pepo* subsp. *pepo* var. *styraca* Greb.) o nasionach bezłupinowych. Polish Journal of Agronomy, 2013, 12, 32-7.
15. Kreft I., Stibilj V., Trkov Z. Iodine and selenium contents in pumpkin (*Cucurbita pepo* L.) oil and oil-cake. European Food Research and Technology, 2002, 215(4), 279-281.
16. Mayes P.A. Zarys przemian pośrednich, w: Biochemia Harpera, wydanie III. Edycja 22, (red. Murray R.K., Granner D.K., Mayes P.A., Rodwell V.W.). Wyd. Lekarskie PZWL, Warszawa 1995, 443-453.

17. Nawirska-Olszańska A., Kita A., Biesiada A., Sokół-Łętowska A., Kucharska A.Z. Characteristics of antioxidant activity and composition of pumpkin seed oils in 12 cultivars. *Food Chemistry*, 2013, 139(1), 155-161.
18. Ogrodowska D., Tańska M., Roszkowska B. Geometrical features of seeds of new pumpkin forms. *Agricultural Engineering*, 2016, 20(1), 111-118.
19. PN-75/A-04018/AZ3:2002 Produkty rolniczo-żywnościowe. Oznaczanie azotu metodą Kjeldahla i przeliczanie na białko.
20. PN-R-64820:1977 Pasze - Oznaczanie tryptofanu.
21. Popović L., Peričin D., Vaštag Ž., Popović S., Krimer V., Torbica A. Antioxidative and functional properties of pumpkin oil cake globulin hydrolysates. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 2013, 90(8), 1157-1165.
22. Rezig L., Chouaibi M., Msaada K., Hamdi S. Chemical composition and profile characterisation of pumpkin (*Cucurbita maxima*) seed oil. *Industrial Crops and Products*, 2012, 37(1), 82-87.
23. Rutkowski A., Kozłowska H. Preparaty żywnościowe białka roślinnego, WNT, Warszawa 1981.
24. Stone A.K., Avarmenko N.A., Warkentin T.D., Nickerson M.T. Functional properties of protein isolates from different pea cultivars. *Food Science and Biotechnology*, 2015, 24(3), 827-833.
25. Tan S.H., Mailer R.J., Blanchard C.L., Agboola S.O. Extraction and residual antinutritional components in protein fractions of *Sinapis alba* and *Brassica napus* oil-free meals. 17th Australian Research Assembly on Brassicas (ARAB). Wagga Wagga, NSW, 2011, 107-114.
26. Zdunczyk Z., Minakowski D., Frejnagel S., Flis M. Skład chemiczny i wartość pokarmowa makuchu z dyni. *Rośliny Oleiste*, 1998, 19(1), 205-209.
27. Zduńczyk Z., Minakowski D., Frejnagel S., Flis M. Comparative study of the chemical composition and nutritional value of pumpkin seed cake, soybean meal and casein. *Food Nahrung*, 1999, 43(6), 392-395.

MARIA BALCEREK, KATARZYNA PIELECH-PRZYBYLSKA, PIOTR PATELSKI,
URSZULA DZIEKOŃSKA-KUBCZAK

*Zakład Technologii Spirytusu i Drożdży, Instytut Technologii Fermentacji i Mikrobiologii,
Wydział Biotechnologii i Nauk o Żywności, Politechnika Łódzka*

WPLYW TECHNIKI I PARAMETRÓW DESTYLACJI NA JAKOŚĆ OKOWIT ZBOŻOWYCH

Streszczenie

Oceniano wpływ techniki destylacyjnej, wielkości odbioru frakcji przedgonowych i pogonowych oraz mocy frakcji właściwych na skład chemiczny destylatów żytnich i jęczmiennych.

Spośród związków chemicznych oznaczonych w frakcjach odebranych w procesie destylacji spirytusu jęczmiennego i żytniego, charakter przedgonowy wykazywały aldehydy (oprócz furfuralu), estry oraz acetal dietylowy aldehydu octowego. Metanol i alkohole wyższe występowały w relatywnie wysokich stężeniach we wszystkich odbieranych frakcjach. Zaobserwowano, że zawartość produktów ubocznych w destylatach właściwych była skorelowana z ich mocą. Niższe stężenia zanieczyszczeń chemicznych występowały w frakcjach właściwych o wyższej zawartości etanolu. Porównując kwasowość frakcji środkowych dla destylacji jedno- oraz dwustopniowej, odnotowano niższe zawartości kwasu octowego na korzyść drugiej techniki. Nie stwierdzono wprost proporcjonalnej zależności między zastosowaną techniką destylacyjną a zawartością w frakcjach właściwych alkoholi i aldehydów.

Wprowadzenie

Zgodnie z obowiązującym Rozporządzeniem Parlamentu Europejskiego i Rady (We) Nr 110/2008, okowita zbożowa to napój spirytusowy wytwarzany wyłącznie w drodze destylacji sfermentowanego zacieru zbożowego, mający właściwości organoleptyczne użytych surowców. Minimalna zawartość alkoholu w okowicie zbożowej wynosi 35% obj.

Do czynników determinujących jakość destylatów rolniczych wykorzystywanych do wytwarzania okowit należą: rodzaj i jakość przerabianego surowca, metoda przygotowania zacieru, rasa drożdży i warunki prowadzenia fermentacji, jak również rodzaj aparatury odpędowej i parametry destylacji.

Żyto (*Secale cereale*) jest jednym z podstawowych zbóż uprawianych w Polsce. Jest to surowiec powszechnie wykorzystywany w polskim gorzelnictwie do produkcji destylatu rolniczego [Dobrzeńicka i in., 1996]. Inną popularną rośliną zbożową jest

jęczmień (*Hordeum vulgare*), uprawiany na terenie całej Europy. W polskich gorzelnianach jęczmień był wykorzystywany przede wszystkim jako surowiec do produkcji słodu. Jest również podstawowym składnikiem do produkcji whisky. Słód jęczmienny jest także dodawany do zacierów („small grain”) przy produkcji bourbonów [Bringhurst i in., 2003].

Kluczowym etapem produkcji destylatów wykorzystywanych do zestawiania okowit, whisky, bourbonów jest destylacja. Proces ten często odbywa się w miedzianych aparatach, zwanych alembikami. Dla przykładu szkocka whisky ze słodu jęczmiennego jest najczęściej destylowana dwukrotnie, natomiast whiskey irlandzka i niektóre amerykańskie są destylowane trzykrotnie. W przypadku produkcji destylatów whisky zbożowej, stosowane są do destylacji aparaty do pracy ciągłej. Destylaty ze zbóż niesłodowanych wykorzystywane są do sporządzania blendów z destylatami słodowymi [Lyons, 2003; Stewart, 2003].

Celem badań była ocena wpływu techniki destylacyjnej, wielkości odbioru frakcji przedgonowych i pogonowych oraz mocy frakcji właściwych na skład chemiczny destylatów żytnich i jęczmiennych.

Zakres eksperymentów obejmował:

- przygotowanie i fermentację zacierów żytnich i jęczmiennych,
- badanie wpływu metody destylacji (jednostopniowa i dwustopniowa) oraz wielkości odbioru przedgonów, pogonów i mocy frakcji środkowej na skład chemiczny otrzymanych destylatów.

Surowce i materiały

Jako surowce do otrzymania destylatów zbożowych wykorzystano: żyto odmiany Dańkowskie Diament o zawartości skrobi 52,06% i cukrów redukujących 9,09% oraz jęczmień jary odmiany Propino o zawartości skrobi 57,14% i cukrów redukujących 8,82% ("DANKO" Hodowla Roślin sp. z o.o.).

W procesie zacierania skrobi zastosowano preparaty enzymatyczne firmy Novozymes: Termamyl S.C. (α -amylaza), San Extra (amyloglukozydaza). Fermentację zacierów prowadzono z udziałem drożdży suszonych Ethanol Red (*S. cerevisiae*, Fermentis - Division of S. I. Lesaffre, Francja). Do zacierów dodawano wodorofosforan amonu $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$, jako pożywkę dla drożdży.

Metody badań

Badania składu chemicznego frakcji destylatów prowadzono na chromatografii gazowej (Agilent 7890A, USA) sprzężonej ze spektrometrem mas (Agilent MSD 5975C, USA) z pojedynczym kwadrupolem, z zastosowaniem kolumny kapilarnej HP-5 MS (30 m \times 0,25 mm \times 0,25 μm). Oznaczenie aldehydu octowego i metanolu

zostało przeprowadzone na chromatografie gazowych 7890A wyposażonym w detektor płomieniowo-jonizacyjny (FID), z zastosowaniem kolumny HP-Innowax (60 m × 0,32 mm × 0,5 μm).

Przebieg doświadczeń

Zacierzy do fermentacji przygotowywano metodą beczniennicowego uwalniania skrobi (BUS). Następnie do zacierów dodawano drożdże (po uwodnieniu i tzw. kąpeli kwasowej) [Balcerek i Pielech-Przybylska, 2009] w dawce 0,3 g/l zacieru słodkiego oraz pożywkę mineralną w ilości 0,2 g/l zacieru i poddawano fermentacji 3-dobowej, w temperaturze 35°C.

Proces destylacji alkoholu odbywał się z wykorzystaniem techniki destylacji:

- jednostopniowej w alembiku miedzianym pracującym na zasadzie przeciwprądu, wyposażonym w kolumnkę wypełnioną pierścieniami miedzianymi i deflegmator;
- dwustopniowej: I etap - destylacja w alembiku miedzianym współprądowym, II etap;
- destylacja w alembiku przeciwprądowym.

Charakterystykę otrzymanych frakcji przedstawiono w tabeli 1.

Zawartość metanolu i alkoholi wyższych (fuzli)

W otrzymanych destylatach oznaczono zawartość metanolu oraz alkoholi wyższych, m.in. 1-propanolu, izobutanolu, 1-butanolu, 3-metylo-1-butanolu oraz 2-metylo-1-butanolu. Uzyskane wyniki przedstawiono w tabeli 2.

Metanol to związek, który w spirytusach zbożowych obecny jest w śladowych ilościach, natomiast w największych stężeniach występuje w destylatach owocowych [Adam i Versini, 1996; Piggot, 2003]. Jego stężenie w frakcjach środkowych destylatów zbożowych mieściło się w granicach od 14,70 do 35,68 mg/l spirytusu 100% obj. (w przypadku destylacji jednostopniowej) oraz od 31,18 do 35,64 mg/l spirytusu 100% obj. (po destylacji dwustopniowej). Na podstawie temperatury wrzenia metanolu (64,7°C) można przypuszczać, iż największa koncentracja tego związku będzie miała miejsce w przedgonach. Jednak, w przypadku prowadzenia destylacji z roztworów etanolu o mocy poniżej 40% obj. związek ten występuje również w znaczących ilościach w frakcjach końcowych [Piggot, 2003], co znalazło potwierdzenie w uzyskanych wynikach badań. Jest to związane ze zjawiskiem asocjacji polegającym na tworzeniu wiązań wodorowych między cząsteczkami polarnymi, np. między cząsteczkami wody i alkoholi. Konsekwencją tego jest zwiększenie masy cząsteczkowej oraz zmniejszenie lotności związków (m.in. metanolu). Zachowanie typowo przedgonowe związek ten wykazuje dopiero

wówczas, gdy destylacji poddawane są roztwory o wyjściowym stężeniu alkoholu powyżej 40% obj.

Tabela 1. Charakterystyka frakcji odbieranych w procesie destylacji spirytusu jęczmiennego i żytniego

Technika destylacyjna	Wariant – moc frakcji środkowej	Frakcja	Moc destylatu [% obj.]	Udział procentowy [%]
Jęczmień				
Destylacja dwustopniowa	I	przedgony	89,24	8,02
		frakcja środkowa	90,95	80,18
		pogony	80,92	11,80
	II	przedgony	83,00	12,80
		frakcja środkowa	86,80	75,84
		pogony	44,20	11,36
Destylacja jednostopniowa	I	przedgony	85,12	8,20
		frakcja środkowa	90,30	80,76
		pogony	51,83	11,04
	II	przedgony	84,20	9,24
		frakcja środkowa	87,00	76,26
		pogony	47,62	14,50
Żyto				
Destylacja dwustopniowa	I	przedgony	89,63	8,25
		frakcja środkowa	89,42	76,75
		pogony	68,21	15,00
	II	przedgony	85,64	7,95
		frakcja środkowa	85,98	86,82
		pogony	73,28	5,23
Destylacja jednostopniowa	I	przedgony	81,50	9,10
		frakcja środkowa	89,41	77,05
		pogony	22,33	13,85
	II	przedgony	82,80	8,25
		frakcja środkowa	84,07	80,40
		pogony	70,27	11,34

Kolejna grupa zanieczyszczeń chemicznych obecnych w ocenianych destylatach to alkohole wyższe (fuzle), które współuczestniczą w tworzeniu walorów organoleptycznych wyrobów takich jak koniak, whisky czy startka [Stanisz i in., 2009]. Mimo iż związki te wykazują temperatury wrzenia wyższe od etanolu co wskazuje, że powinny koncentrować się głównie w frakcjach końcowych, to ich

zachowanie podczas frakcjonowania destylatów jęczmiennych i żytnich w ramach prowadzonych badań nie potwierdziło w pełni tej teorii. Należy jednak zauważyć, iż zasada ta dotyczy zachowania alkoholi wyższych przy wysokich stężeniach alkoholu w warunkach rektyfikacyjnych. Natomiast przy destylacji z roztworów o niższych stężeniach etanolu związki te mogą występować również w relatywnie dużych stężeniach w frakcjach przedgonów, jak i destylatach środkowych [Jarosz i Jarociński, 1994].

Zawartość 1-propanolu w destylatach właściwych o mocy ok. 90% wynosiła od 316,39 do 443,61 mg/l spirytusu 100% obj.; w tych wariantach destylacji najwyższa koncentracja 1-propanolu przypadała na pogony. Obniżenie mocy frakcji środkowych od 3 do 5% obj. spowodowało wzrost w nich stężenia 1-propanolu w stosunku do otrzymanych w analogicznym wariantcie frakcji o mocy ok. 90% obj. W konsekwencji obserwowano obniżenie stężeń tego związku w pogonach. Destylaty żytnie odznaczały się wyższym stężeniem 1-propanolu w porównaniu z jęczmiennymi.

W przypadku destylacji jednostopniowej, najwyższe stężenia izobutanolu odnotowano w przedgonach, frakcje środkowe zawierały ten związek w stężeniach średnio o połowę niższych niż przedgony, natomiast najuboższe pod tym względem były pogony. Z kolei destylacja dwustopniowa znajdowała odzwierciedlenie w mniejszym rozfrakcjonowaniu tego związku, jednak mimo tego destylaty właściwe nie zawierały więcej izobutanolu niż analogiczne próby otrzymane metodą destylacji jednostopniowej. W relatywnie niewielkich stężeniach, od 1,74 do 7,37 mg/l spirytusu 100% obj., obecny był również w otrzymanych frakcjach 1-butanol.

W ogólnej zawartości fuzli najwyższy udział przypada na alkohole izoamylowe [Stanisz i in., 2009]. Spośród alkoholi fuzlowych obecnych w frakcjach środkowych najwyższe stężenia odnotowano w przypadku 3-metylo-1-butanolu. Były one skorelowane z mocą prób właściwych, której obniżanie powodowało zwiększanie stężenia 3-metylo-1-butanolu. Nie stwierdzono wprost proporcjonalnej zależności między zastosowaną techniką destylacji a zawartością tego związku. Z kolei 2-metylo-1-butanol gromadził się w największych stężeniach w frakcjach środkowych i końcowych (Tab. 2). Lukić i in. [2011], którzy oceniali zachowanie związków lotnych podczas frakcjonowanej destylacji alembikowej odfermentowanych moszczów winnych wykazali, że większość alkoholi wyższych występowała w najwyższych stężeniach w przedgonach. Z kolei García-Llobodanin i in. [2011] wykazali, że destylacja kolumnowa daje destylaty o wyższych stężeniach alkoholi wyższych.

Tabela 2. Zawartość metanolu i alkoholi wyższych w otrzymanych frakcjach destylatów zbożowych

Technika destylacji	Wariant	Frakcja	Moc [% obj.]	Metanol	1-propanol	Izobutanol	1-butanol	3-metylo-1-butanol	2-metylo-1-butanol	
				[mg/l spirytusu 100% obj.]						
Jęczmień	Destylacja dwustopniowa	I	przedgony	89,24	37,99	232,54	1763,81	n.w.	621,55	406,07
		frakcja	90,95	33,41	374,80	1710,45	4,41	2613,03	1116,54	
		pogony	80,92	51,23	624,80	1982,93	2,88	15605,65	1460,43	
	Destylacja dwustopniowa	II	przedgony	83,00	37,86	251,78	1871,93	9,86	739,43	461,50
		frakcja	86,80	31,18	428,50	1870,69	1,74	2718,15	1264,23	
		pogony	44,20	46,77	340,58	329,38	8,89	5048,86	1197,61	
	Destylacja jednostopniowa	I	przedgony	85,12	22,27	176,60	2430,07	2,63	889,07	584,36
			frakcja	90,30	16,70	316,39	1148,17	7,37	2549,58	1194,34
			pogony	51,83	33,41	570,58	563,14	8,55	5048,86	1890,57
		II	przedgony	84,20	19,38	264,21	2919,58	7,86	5511,37	847,08
frakcja			87,00	14,70	435,26	1129,56	2,25	3383,64	1857,12	
pogony			47,62	31,18	456,33	457,34	8,04	939,64	1262,59	
Żyto	Destylacja dwustopniowa	I	przedgony	89,63	60,13	207,94	1288,834	6,37	1348,93	294,55
			frakcja	89,42	33,43	443,61	1009,80	4,92	2161,43	1436,44
		pogony	68,21	69,04	575,74	400,35	6,64	4580,25	1369,53	
		II	przedgony	85,64	51,25	265,19	1577,22	6,40	499,59	409,65
	frakcja		85,98	35,64	533,02	1033,07	2,54	2450,32	1541,79	
	Destylacja jednostopniowa	I	pogony	73,28	55,68	460,60	526,85	7,20	1316,56	1432,51
			przedgony	81,50	31,20	117,93	3056,48	2,93	1678,64	1227,94
			frakcja	89,41	35,68	414,38	1371,36	5,67	2397,34	2172,58
		II	pogony	22,33	43,01	540,92	70,42	7,89	4604,46	99,57
			przedgony	82,80	35,68	373,89	2773,16	6,36	1732,66	1251,87
frakcja			84,07	25,17	519,33	1056,48	2,49	2623,04	1511,11	
pogony	70,27	44,54	301,04	339,74	9,93	5212,76	1201,04			

n.w. - nie wykryto

Zawartość aldehydów, estrów i acetalu

Aldehydy to związki, które nadają często spirytusom ostry zapach i smak [Stanisz i in., 2009]. W ocenianych frakcjach destylatów jęczmiennych i żytnich dominujące stężenia przypadają na aldehyd octowy, który wykazywał charakter przedgonowy (Tab. 3). Dzięki efektywnemu wydzieleniu tego związku w frakcjach początkowych, destylaty właściwe zawierały go w ilościach od 2,74 do 11,13 mg/l spirytusu 100% obj. Niższe stężenia aldehydu octowego przypadają na destylaty właściwe o wyższej mocy (ok. 90% obj.). Związek ten obecny był również w pogonach, ale w relatywnie niskich ilościach. Nie stwierdzono wyraźnej korelacji między techniką destylacyjną a zawartością aldehydu octowego w odebranych frakcjach właściwych.

Niezależnie od zastosowanej metody destylacji nie zaobserwowano obecności furfuralu w przedgonach, jak i w próbach środkowych. Związek ten koncentrował się w końcowych partiach destylatów (45,87 do 340,58 mg/l spirytusu 100% obj.).

Aldehyd izomasłowy, podobnie jak aldehyd octowy, gromadził się głównie we frakcji przedgonów. Nie odnotowano jego obecności we frakcjach środkowych oraz pogonowych.

Estry to związki uczestniczące w tworzeniu walorów smakowo-zapachowych napojów spirytusowych [Cieślak i Lasik, 1979]. W badanych próbach destylatów jęczmiennych i żytnich w największych stężeniach obecny był octan etylu, który koncentrował się w przedgonach. W próbach właściwych stężenia te były znacznie niższe i wynosiły od 2,03 do 36,76 mg/l spirytusu 100% obj. W niższych stężeniach związek ten był obecny w destylatach właściwych po destylacji dwustopniowej i o wyższej mocy.

Octan izoamylu wykazywał charakter przedgonowy, natomiast nie odnotowano jego obecności w frakcjach środkowych oraz w pogonach.

W otrzymanych destylatach stwierdzono występowanie acetalu dietylowego aldehydu octowego, który prawie w całości gromadził się on w frakcjach przedgonów. Frakcje środkowe po destylacji dwustopniowej odznaczały się wyższymi stężeniami tego związku, jak również były one wyższe w destylatach właściwych o niższym stężeniu etanolu.

Tabela 3. Zawartość aldehydów, estrów i acetalu dietylowego aldehydu octowego [n.w.- nie wykryto]

Technika destylacji	Wariant	Fracja	Moc [% obj.]	Aldehyd octowy	Furfural	Aldehyd izomasłowy	Octan etylu	Octan izoamylu	Acetal dietylowy aldehydu octowego	
										[mg/L spirytusu 100% obj.]
Jęczmień	Destylacja dwustopniowa	przedgony	89,24	329,62	n.w.	19,22	1360,81	14,43	124,16	
		frakcja środkowa	90,95	4,20	n.w.	n.w.	5,22	n.w.	4,11	
		pogony	80,92	1,71	58,99	n.w.	1,426	n.w.	3,23	
		przedgony	83,00	297,09	n.z	16,38	1386,99	13,78	441,81	
		frakcja środkowa	86,80	7,11	n.w.	n.w.	7,99	n.w.	5,21	
		pogony	44,20	6,77	340,58	n.w.	8,89	5048,86	197,61	
	Destylacja jednostopniowa	I	przedgony	85,12	135,27	n.w.	8,22	922,46	10,85	1,29
			frakcja środkowa	90,30	3,94	n.w.	n.w.	4,14	n.w.	2,90
			pogony	51,83	5,82	46,36	n.w.	4,06	n.w.	2,67
		II	przedgony	84,20	107,02	n.w.	13,78	1077,87	9,56	53,42
			frakcja środkowa	87,00	10,27	n.w.	n.w.	21,14	n.w.	1,64
			pogony	47,62	4,97	45,87	n.w.	12,65	n.w.	1,24
Żyto	Destylacja dwustopniowa	przedgony	89,63	898,97	n.w.	12,71	1609,76	8,52	318,71	
		frakcja środkowa	89,42	9,84	n.w.	n.w.	2,03	n.w.	4,28	
		pogony	68,21	2,31	86,23	n.w.	7,08	n.w.	2,20	
		przedgony	85,64	648,12	n.w.	9,12	1069,41	8,95	133,67	
		frakcja środkowa	85,98	11,13	n.w.	n.w.	10,88	n.w.	6,98	
		pogony	73,28	2,83	54,65	n.w.	2,46	n.w.	2,03	
	Destylacja jednostopniowa	I	przedgony	81,50	29,97	n.w.	16,97	1039,76	11,05	56,92
			frakcja środkowa	89,41	2,74	n.w.	n.w.	7,29	n.w.	1,46
			pogony	22,33	4,37	109,03	n.w.	4,54	n.w.	n.w.
		II	przedgony	82,80	454,62	n.w.	3,24	1210,81	14,53	300,48
			frakcja środkowa	84,07	8,56	n.w.	n.w.	36,76	n.w.	n.w.
			pogony	70,27	6,42	51,37	n.w.	8,95	n.w.	n.w.

Podsumowanie

W ramach przeprowadzonych badań stwierdzono zależność między stężeniem alkoholu w frakcjach właściwych spirytusów a zawartością związków lotnych. Najniższe stężenia produktów ubocznych oznaczono w destylatach o mocy ok. 90% obj. Wszystkie otrzymane frakcje właściwe destylatów jęczmiennych i żytnich, niezależnie od zastosowanej techniki destylacji, charakteryzowały się niską zawartością aldehydów, spełniającą wymagania normatywne dla destylatów rolniczych ($\leq 0,1$ g/l spirytusu 100% obj.) i kwasowością na poziomie nie przekraczającym wymagań dla spirytusu rektyfikowanego zwykłego ($\leq 0,02$ g/l spirytusu 100% obj.) [PN-A-79522]. Wskazuje to, iż zastosowane metody i warunki destylacji pozwalają na uzyskanie spirytusu o pożądanym składzie chemicznym i walorach organoleptycznych, z przeznaczeniem na wytwarzanie okowit zbożowych.

Projekt został sfinansowany ze środków Narodowego Centrum Badań i Rozwoju przyznanych na podstawie decyzji nr PBS2/B8/9/2013.

Literatura

1. Rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 110/2008 z dnia 15 stycznia 2008 r. w sprawie definicji, opisu, prezentacji, etykietowania i ochrony oznaczeń geograficznych napojów spirytusowych oraz uchylające rozporządzenie Rady (EWG) nr 1576/89
2. Dobrzeńicka A., Haberowa H., Sobczak E. Porównanie jakości spirytusu surowego z żyta, pszenżyta i amarantusa. *Przemysł Fermentacyjny i Owocowo-Warzywny*, 1996, 3, 12-13.
3. Bringhurst T.A., Broadhead A.L., Brosnan J. Grain whisky: raw materials and processing, w: *Whisky technology*, (red. I. Russell, G. Stewart, Ch. Bamforth, I. Russell) Production and Marketing Elsevier 2003, 75-112.
4. Lyons T. P. Production of Scotch and Irish whiskeys: their history and evolution, w: *Alcohol-Textbook* (red. K.A. Jacques, T.P. Lyons, D.R. Kelsall) Nottingham, Alltech Inc 2003, 193-221.
5. Stewart G.G. Technological developments in the scotch whisky industry. *MBAA TQ*, 2005, 42(4), 305-308.
6. Balcerek M., Pielech-Przybylska K. Effect of supportive enzymes on chemical composition and viscosity of rye mashes obtained by PSL method and efficiency of their fermentation. *European Food Research and Technology*, 2009, 229, 141-151.
7. PN-A-79529-10:2005P Napoje spirytusowe i spirytus butelkowany. *Metody badań. Część 10: Oznaczanie kwasowości.*
8. Balcerek M., Pielech-Przybylska K., Strąg E., Patelski P., Dziekońska U. Comparison of fermentation results and quality of the agricultural distillates obtained by application of commercial amylolytic preparations and cereal malts. *European Food Research and Technology*, 2016, 242(3), 321-335.
9. PN-A-79522 Spirytus rektyfikowany.
10. Kłosowski G., Czupryński B., Sieliwanowicz B., Kotarska K., Wolska M. Charakterystyka zanieczyszczeń chemicznych obniżających jakość spirytusu surowego (2). *Przemysł Fermentacyjny i Owocowo-Warzywny*, 2003, 9, 37.
11. Piggot R. From pot stills to continuous stills: flavor modification by distillation 263 w: *Alcohol-Textbook* (red. K.A. Jacques, T.P. Lyons, D.R. Kelsall) Nottingham, Alltech Inc 2003, 263.
12. Adam, L., Versini, G. A study on the possibilities to lower the content of methyl-alcohol in eaux-de-vie de fruits. Directorate-General XII Science, Brussels, 1996.

13. Piggot R. From pot stills to continuous stills: flavor modification by distillation, w: Alcohol-Textbook (red. K.A. Jacques, T.P. Lyons, D.R. Kelsall) Nottingham, Alltech Inc 2003, 264.
14. Stanisław M., Sapińska E., Pielech-Przybylska K. Charakterystyka zanieczyszczeń występujących w spirytusach surowych. Zeszyty Naukowe PŁ, Chemia Spożywcza i Biotechnologia, 2009 1058(73), 2105-121.
15. Cieślak J., Lasik H. Technologia wódek, WNT W-wa 1979.
16. Jarosz K., Jarociński J. Gorzelnictwo i drożdźownictwo. Wyd. Szkolne i Pedagogiczne 1994.
17. Lukić I., Srećko T., Miličević B., Radeka S., Peršurić Đ. Behaviour of volatile compounds during traditional alembic distillation of fermented Muscat Blanc and Muškát Ruža Porečki Grape Marcs. Journal of the Institute of Brewing, 2011, 117(3), 440-450.
18. Garcia-Llobodanin L., Roca J., López J.R., Pérez-Correa J.R., López F. The lack of reproducibility of different distillation techniques and its impact on pear spirit composition. International Journal of Food Science & Technology, 2011, 46, 1956-1963.

JABŁKO – SUROWIEC DO PRODUKCJI NAPOJÓW ALKOHOLOWYCH

Streszczenie

Jabłoń domowa (*Malus domestica*) jest najczęściej uprawianym w naszym kraju drzewem owocowym. Ze względu m.in. na rosyjskie embargo oraz niskie ceny skupu jabłek, należy poszukiwać nowych rynków zbytu, a także nowych metod wykorzystania. Odpowiednią gałęzią przemysłu wydaje się być przemysł alkoholowy. W okolicach Zielonej Góry, już od lat 40-tych XX wieku, tradycyjnie wytwarzane są gatunkowe wina jabłkowe, których jakość ściśle zależy od jakości surowca. Warto wspomnieć o winach: „Reneta Kardynalska” otrzymywanej z jabłek tej odmiany, „Maślacz” barwy słomkowej, o miodowym smaku, uzyskanym dzięki aromatyzowaniu moszczu jabłkowego dodatkiem kminku i kopru włoskiego, „Apple-Zamkowe” produkowanym od lat 60. z odmiany Antonówka oraz „Frykas” wytwarzanym w latach 80., cenionym za bursztynową barwę oraz charakterystyczny dla win typu południowego smak uzyskany dzięki dodatkowej maderyzacji. W ostatnich latach najbardziej popularnym jabłkowym napojem alkoholowym jest cydr – jabłecznik o mocy 1,2-8,5%, o orzeźwiający smaku, stanowiący doskonałą alternatywę dla miłośników wina i piwa. Znacznie mocniejszym trunkiem, powstałym z oddestylowanego cydru, którego technologia produkcji i nazwa została zastrzeżona dla regionu Normandii jest calvados. Szukając w innych krajach alternatywy dla calvadosu, rozpoczęto produkcję jabłkowego brandy. Brandy w zależności od kraju produkcji, różnią się zapachem i smakiem, na które znacząco wpływają dobór odmiany jabłek oraz sposób i długość leżakowania trunku. Do najbardziej znanych, jabłkowych brandy należą Apple Brandy (Anglia), Applejack (USA) lub Apfelwasser (Niemcy).

Wprowadzenie

Jabłoń domowa (*Malus domestica*) jest najczęściej uprawianym drzewem owocowym w Polsce. Nasz kraj jest pierwszym producentem i eksporterem jabłek w Unii Europejskiej [Trajer i Dyngus, 2013], a od dwóch lat jest sklasyfikowany na drugim miejscu na świecie, po Chinach, w produkcji i eksporcie zagęszczonego soku jabłkowego i drzewek jabłoni. Osiągnięcia te powstały głównie dzięki producentom jabłek, polskiej nauce sadowniczej i różnym organizacjom oraz środkom pomocowym z Unii Europejskiej.

Na skutek zastosowanego przez Rosję embargo, od jesieni 2014 roku, sprzedaż jabłek na rynku w kraju i Europie diametralnie się zmieniła. Pojawiły się również zmiany w wymaganiach jakościowych i w sposobach dystrybucji jabłek. Ceny skupu są tak niskie, w ostatnich latach od 0,10 do 1 zł/kg, że w wielu przypadkach nie pokrywają kosztów zbioru i transportu. W związku z tym należy poszukiwać nowych rynków zbytu. Większość zebranych jabłek poddawanych jest procesom przetwórczym – wytwarzany jest głównie sok jabłkowy zagęszczony (około 90%), soki naturalne oraz musy, susze i napoje alkoholowe [Makosz, 2015]. W ciągu ostatnich dwóch lat najbardziej popularnym napojem alkoholowym produkowanym z jabłek stał się cydr. W ubiegłym roku napój ten spróbowało już 40% dorosłych, polskich konsumentów. W 2013 roku sprzedaż cydru wynosiła około 2 mln litrów, a w 2014 roku przekroczyła ją kilkukrotnie. Konsekwentnie jednak spada zainteresowanie konsumentów winami owocowymi, najczęściej z powodu ich niskiej jakości. W obliczu zmniejszonej konsumpcji win owocowych niektórzy producenci i nowe przedsiębiorstwa wyszły z propozycją wytwarzania win wysokiej jakości, często określanymi jako produkty ekologiczne lub regionalne, mogącymi konkurować z winami gronowymi. Znaczna ilość jakościowych win owocowych eksportowana jest za granicę, głównie do Niemiec, w których, według danych Euromonitor International, sprzedaje się ich rocznie około 60 mln litrów [Bernatek, 2014]. Jakość napojów alkoholowych jest ściśle uzależniona od jakości użytego surowca, zastosowanych drożdży i przebiegu procesu fermentacji. Owoce powinny wykazywać odpowiednią dojrzałość, podczas której dochodzi do wytworzenia związków odpowiedzialnych za aromat, pozytywnie wpływających na jakość produktu finalnego. Aromat owoców przejrzałych bardzo szybko zanika, natomiast owoce niedojrzałe i słabo wykształcone zawierają znacznie mniej cukrów i nie nadają się do produkcji trunków wysokogatunkowych [Pischl, 2010]. Profil aromatu jabłek tworzą głównie estry karboksylowe, alkohole, terpeny, aldehydy, ketony, etery oraz wolne kwasy, a głównymi związkami kojarzonymi z ich zapachem są octan etylu, o przyjemnym brzoskwiniowym zapachu, maślan etylu o aromacie jabłek oraz antranilan metylu o zapachu winogron. Niektóre substancje występują w małych stężeniach, ale znacząco wpływają na cechy sensoryczne jabłek, przykładem są terpeny: eugenol (zapach goździków), geraniol (zapach róż), limonen (aromat cytrusowy), linalool (aromat drzewa różanego) oraz myrcen (odpowiedzialny za aromat moreli, orzechów włoskich i pomarańczy) [Dixon i Hewett, 2000; Fraternali, 2011; El Hadi i in., 2013].

Wina jabłkowe

Definicja wina, zawarta w obecnie obowiązujących przepisach Unii Europejskiej, określa wino jako produkt otrzymywany wyłącznie w drodze częściowej lub całkowitej fermentacji alkoholu ze świeżych winogron (miażdżonych lub całych) lub z moszczu

gronowego (Rozporządzenie Rady nr 1493/1999, załącznik I, ust. 10). W przypadku win uzyskanych z fermentacji owoców innych niż winogrona należy stosować termin „wino” w połączeniu z określeniem użytego do produkcji owocu (np. „wino jabłkowe”, „wino z leśnych owoców” itp.). Możliwość stosowania określenia „wino owocowe” jest uzależnione od władz poszczególnych krajów członkowskich i nie wszędzie jest dozwolone. Określenie to, wzbudza największe kontrowersje w krajach winiarskich basenu Morza Śródziemnego, w których praktycznie nie produkuje się win owocowych, a te nieliczne sprzedawane są pod inną nazwą (moszcz, cydr) [Bosak, 2008].

Jabłka wykorzystywane do produkcji win, powinny być w pełni dojrzałe. Takie wina charakteryzują się na ogół mniejszą zawartością kwasów organicznych i niższym ekstraktem. Pożądane są owoce średniej wielkości, z których otrzymany produkt jest najbardziej aromatyczny. Jabłka deserowe wykazują stosunkową niską kwasowość ogólną (od 1,5 - Szampion do 4,7 g/l - Gloster), stąd zwyczaj dokwaszania win do normatywnego poziomu [Satora i in., 2008]. Istotnym czynnikiem wpływającym na skład win są związki azotowe. Soki jabłkowe z krajowych odmian jabłek zawierają średnio od 108 (Idared) do 227 (Gloster) mg N/l, a ilość tych związków zależy od wieku sadu, obszaru uprawy i stopnia nawożenia drzew, a owoce drzew silnie nawożonych mogą mieć nawet pięciokrotnie wyższe stężenie tych związków. Zawartość azotu w jabłkach może być niska < 75 mg/l lub wysoka > 150 mg/l [Manginot i in., 1998; Alberti i in., 2001].

Istotnym czynnikiem wpływającym na otrzymanie wysokiej jakości surowca, a w konsekwencji odpowiedniego wina, jest klimat i region uprawy. Jabłoń jest drzewem klimatu umiarkowanego, aczkolwiek jej odmiany znacząco różnią się wymaganiami cieplnymi w okresie wegetacji i odpornością na mróz. W ostatnich latach spotykamy się z intensyfikacją produkcji poprzez zwiększenie plonów z powierzchni uprawy i zredukowaniem nakładów finansowych [Sadowski i in., 2004; Czynczyk i Jakubowski, 2007]. Jednakże, nadmierne zagęszczenie drzew skutkuje silnym konkutowaniem o światło, wodę, składniki pokarmowe, co w efekcie powoduje zmniejszenie plonu i obniżenie jakości jabłek. W celu uzyskania wysokiej wydajności oraz pożądanego surowca, należy używać podkładek karłowatych, odpowiednich systemów sadzenia i pielęgnacji drzew [Wrona i in., 2012]. Sprzyjające warunki uprawy jabłoni w Zielonej Górze i okolicach sprawiły, że wytwarzane tam wino jabłkowe w 2014 roku zostało wpisane na listę produktów tradycyjnych. Po drugiej wojnie światowej tereny obecnego województwa lubuskiego słynęły ze swoich sadów owocowych i były zaliczane do sześciu największych regionów sadowniczych w Polsce. Drzewa jabłoni uprawiały państwowe gospodarstwa rolne oraz indywidualni plantatorzy. W 1948 roku rozpoczęto produkcję pierwszych wyrobów winiarskich, otrzymując białe wino słodkie o nazwie „Reneta Kardynalska” wytwarzane z jabłek tej odmiany. W latach 1949-1952

wyprodukowano wino „Maślacz” barwy słomkowej, o miodowym smaku, uzyskanym dzięki aromatyzowaniu moszczu jabłkowego dodatkiem kminku i kopru włoskiego. Jednakże największe uznanie wśród konsumentów uzyskało wino markowe eksportowane pod dwujęzyczną nazwą „Apple-Zamkowe”, produkowane od lat 60. z odmiany Antonówka. Warto również wspomnieć o winie „Frykas” wytwarzanym w latach 80. i cenionym za bursztynową barwę oraz charakterystyczny dla win typu południowego smak uzyskany dzięki dodatkowej maderyzacji. Zielonogórskie tradycje winiarskie przetrwały do dnia dzisiejszego i wciąż są kultywowane przez mieszkańców. Ponadto, wino jabłkowe jest prezentowane i nagradzane na różnych wydarzeniach promujących kulinarne dziedzictwo województwa lubuskiego. W celu zachęcenia klientów do produkowanego trunku, zielonogórcy winiarze reklamowali swoje wina jako smaczne, całkiem dobre (ganz guter), bądź bardzo dobre (sehr guter), stare i wyleżane (alten abgelagerten), lśniące (glanzhell), a co najważniejsze – pozbawione dodatku spirytusu (ohne Spritt; spritfreier), którym nieuczciwi producenci wzmacniali wino [Kuleba, 2013]. Na rynku polskim, dostępne są również tańsze zamienniki win owocowych. Należy tu wspomnieć o Jabłuszku Sandomierskim - dwikoskim nektarze z okolic Sandomierza, spożywanym na terenie całego województwa lubelskiego. Wino ma charakterystyczny kwiatowy bukiet i jest to jeden z najtańszych napojów alkoholowych na rynku, gdyż można go kupić już za 3,50 zł. W wypadku braku trunku w sklepie, często zastępowany nieco mocniejszym i bardziej cierpkim Sandomierskim Mocnym [Libera, 2008].

Cydr

Największym konsumentem (blisko 1 mld litrów rocznie, 50% konsumpcji światowej) i producentem cydru jest Wielka Brytania, głównie Kornwalia, Devon, Somerset i Herefordshire (południowo-zachodnia Anglia); w mniejszym stopniu Walia, Szkocja i wschodnia Anglia. W Anglii cydr ma również największy udział w całym rynku alkoholowym – prawie 10%. Produkcja jabłek na cydr, obok truskawek, uważana jest w Anglii za najbardziej rentowną gałąź rolnictwa. Z jednego hektara można uzyskać nawet 75 ton jabłek, a cena skupu w 2013 roku wyniosła £113 za tonę, dla porównania w Polsce – ok. 370 zł. Cydr jest tradycyjnym produktem regionów północnej Francji – Normandii i Bretanii oraz północnej Hiszpanii – Asturii (80% produkcji krajowej) i Kraju Basków. Związana z tradycją cydru jest także Belgia, Niemcy (okolice Frankfurtu), Finlandia, Austria (Mostviertel, okręg w Dolnej Austrii). Poza Europą cydr jest popularny w USA, Kanadzie i Australii. Francja eksportuje jedynie 10% własnej produkcji cydru, Anglia musi importować cydr i sok jabłkowy, by zaspokoić popyt. Cydr otrzymuje się w wyniku fermentacji moszczu jabłkowego, cukru i drożdży, z możliwą domieszką kwasu cytrynowego i innych dodatków. Cydr jest lekki, świeży, orzeźwiający,

a jego słodko-kwaskowaty smak świetnie gasi pragnienie, stanowiąc doskonałą alternatywę dla miłośników piwa. Jakość polskiego cydru jest regulowana przez ustawę o wyrobie i rozlewie wyrobów winiarskich z 2011 r., według której zawartość moszczu jabłkowego lub soku jabłkowego nie może być w nim mniejsza niż 60%. Smak, który jest najważniejszym wyróżnikiem jakościowym cydru, zależy od jego rodzaju. Cydr tradycyjny (naturalny) jest wytrawny, kwaskowaty, delikatnie cierpki. Oprócz smaku jabłek pojawiają się w nim posmaki korzenne, ziemiste, niekiedy wręcz nabiałowe, będące wynikiem zastosowania fermentacji spontanicznej. Cydr słodki ma delikatniejszy, bardziej jabłkowy w smaku i zapachu. Cydru przemysłowe są najczęściej półsłodkie lub słodkie, o intensywnym aromacie jabłek. Cydr, podobnie jak piwo, sam w sobie nie jest sztucznie gazowany, a stopień wysycenia CO₂ zależy od regionu produkcji. Cydru hiszpańskie zazwyczaj nie mają gazu, angielskie – mało, podobnie jak angielskie piwa, a najbardziej musujące są cydru francuskie, których fermentacja kończy się często w szampańskich butelkach zamkniętych korkiem (*cidre bouché*). Cydru przemysłowe są zwykle mocno gazowane.

Dawniej, do produkcji cydru używano specjalnych odmian jabłek cydrowych, dzielonych na cztery kategorie, pod względem zawartości kwasu i tanin, na słodkie, kwaśne, gorzko-słodkie i gorzko-kwaśne. Obecnie najczęściej wykorzystuje się jabłka deserowe, a cydru przemysłowe produkowane są z koncentratu soku jabłkowego (dzięki temu można je wytwarzać cały rok, a nie tylko w sezonie). Produkcja cydru niewiele różni się od produkcji wina jabłkowego. Moszcz jabłkowy przetłaczany jest do zbiorników fermentacyjnych, gdzie odbywa się właściwa fermentacja spontaniczna, z wykorzystaniem szczepów drożdży naturalnie występujących na skórce owocu i trwa od tygodnia do 10 dni. Kiedy cały cukier zawarty w owocach zostanie zamieniony przez drożdże w alkohol, następuje odwirowanie osadu drożdżowego z nastawu. Czysty cydr transportowany jest do zbiornika leżakowego gdzie, ze względu na niską zawartość alkoholu, przechowywany jest tylko przez kilka dni. Następnie, poddawany jest procesowi kupażowania i wzbogacania o dodatki, takie jak cukier i regulator kwasowości. Przepisy dotyczące produkcji cydru są bardzo liberalne – zezwalają na jego słodzenie po fermentacji, mieszanie z sokiem jabłkowym, stosowanie dodatków smakowych, a stabilizacja produktu odbywa się poprzez siarkowanie, pasteryzację i/lub dodatek konserwantów [Nogueira i in., 2003; Bońkowski, 2014].

Calvados

Calvados to napój alkoholowy otrzymany z przedestyłowanego cydru. Pierwsza destylacja calvadosu miała miejsce w XVI wieku, kiedy to agronom de Gouberville rozpoczął w 1554 roku destylację moszczu jabłkowego w swoim gospodarstwie w Mensil-au-Val. Według legendy, nazwa „calvados” pojawiła się dopiero 30 lat później,

w 1588 roku, gdy u wybrzeży Normandii rozbił się hiszpański galeon „El Calvador”. Skały, o które rozbił się ów statek nazwano Calvados, później nazwa objęła cały region i trunek tam produkowany. Aktualnie calvados może być produkowany jedynie w Normandii, a jego nazwa i pochodzenie objęte są od 1942 roku apelacją AOC (Appellation d'Origine Controlée).

Obecnie istnieją trzy różne nazwy dla calvadosu, które znacząco różnią się m.in. sposobem produkcji i obszarem geograficznym w którym są wytwarzane.

Rodzaje calvadosu:

- AOC Calvados – wytwarzany z różnych odmian jabłek z regionu Calvados, poddawany procesowi destylacji ciągłej z użyciem destylatora kolumnowego,
- AOC Calvados Pays d'Auge – najbardziej kontrolowany proces produkcji, a sam trunek najwyższej jakości. Moszcz jabłkowy, jabłek z regionu Pays d'Auge, jest dwukrotnie destylowany w miedzianym alembiku,
- AOC Calvados Domfrontais – uzyskany z jabłek z 30% udziałem gruszek z regionu Domfrontais, poddawany procesowi destylacji ciągłej z zastosowaniem destylatora kolumnowego.

Technologia produkcji calvadosu rozpoczyna się od zbiorów jabłek (istnieje 48 przemysłowych odmian jabłek uprawianych w Normandii, dopuszczonych do produkcji trunku). Wybiera się małe jabłka o bardzo intensywnym aromacie, gwarantujące produkcję moszczu zawierającego wymaganą ilość cukru, tanin oraz odpowiednią kwasowość. Przygotowaną miazgę z jabłek pozostawia się na parę godzin, aby zapewnić możliwie najwyższą zawartość tanin i cukru w moszczu. Następnie, miazgę tłoczy się w prasie hydraulicznej. Proces fermentacji zachodzi w dużych dębowych beczkach, uzyskując wino o mocy 5-6%.

Tradycyjne procesy destylacji w Europie były owiane tajemnicą, prowadzili je głównie duchowni i medycy. Misjonarze i aptekarze, sprzedawali alkohol nie jako trunek, ale jako medykament, „aqua viate” (woda życia) - lekarstwo na wszystko lub eliksir wydłużający życie. Sam proces destylacji, rozpoczyna się zwykle destylacją prostą, a kończy frakcyjną. Podwójna destylacja okresowa w alembikach zapewnia znacznie bardziej złożony smak napoju alkoholowego, niż wielokrotna destylacja ciągła w destylatorze kolumnowym. Aczkolwiek nie wszystkie rodzaje calvadosu produkowane są w destylatorach do pracy okresowej. Proces destylacji prowadzi się zazwyczaj pomiędzy styczniem a czerwcem, niekiedy również następnego roku po fermentacji. W produkcji uzyskuje się 70% zawartość alkoholu. Calvados powinien leżakować przez okres minimum dwóch lat, jednakże bardzo często proces ten jest znacznie dłuższy. Docelowo trunek rozcieńcza się wodą do 40-50%. W ciemnych i wilgotnych piwnicach calvados leżakuje najpierw w małych, nowych, dębowych beczkach, później w używanych i większych. Wielkość beczki ma wpływ na tworzenie się bukietu smakowo-

zapachowego, im mniejsza beczka, w której leżakuje trunek, tym większa powierzchnia drewna przypada na jednostkę objętości produktu. Przechowywanie trunku w starych beczkach wpływa na wytworzenie bardziej złożonych i mniej intensywnych cech. Najbardziej cierpkie składniki, które nadają calvadosowi ostry smak, ustępują przyjemnym dla podniebienia aromatom. Calvados wydobywa różne związki chemiczne z drewna, przykładem mogą być nadające goryczkę taniny, dlatego warto leżakować trunek w beczkach po sherry i porto. Co więcej, proces leżakowania wpływa również na barwę trunku, nadając mu bursztynowy, bądź słomkowy kolor. Z samym leżakowaniem kojarzone jest określenie „udział aniołów” (The Angels share), tłumaczone odparowaniem części trunku z beczki podczas leżakowania. Ubytek ten stanowi od 1 do 3% objętości rocznie (w małych beczkach nawet 6%) i zależy od wielkości użytej beczki, stopnia jej wypełnienia oraz temperatury [Miler, 2012].

Brandy jabłkowe

Brandy to naturalna wódka wytrawna, otrzymana z destylatu winnego, poddana procesowi leżakowania w dębowych beczkach. Trunek ten wywodzi się od francuskich koniaków i obecnie jest produkowany w wielu krajach, pod różnymi nazwami, np. Metaxa (Grecja), Stock (Włochy), Brandy de Jerez (Hiszpania). Sama nazwa „brandy” wywodzi się od holenderskiego słowa „brandevijn”, co w średniowieczu tłumaczono jako wypalanka winna. Brandy w zależności od kraju produkcji, różnią się zapachem i smakiem, co wynika z rodzaju zastosowanych owoców oraz sposobu i czasu prowadzenia procesu starzenia trunku. Również w wielu krajach można spotkać jabłkowe brandy, a do najbardziej znanych należą Apple Brandy (Anglia), Applejack (USA) lub Apfelwasser (Niemcy) [Tuszyński i Poreda, 2003].

Applejack jest jabłkowym alkoholem najwyższej jakości, wytwarzanym według tradycyjnych receptur. Podobnie jak w calvadosie procesowi destylacji poddaje się cydr. Cider spirit lub Apple brandy od początku XIX wieku jest rozpowszechniony w Stanach Zjednoczonych i dość powszechnie nazywany Applejack, jednak oryginalnie właścicielem marki jest firma Laird’s. W 1698 roku William Laird przybył ze Szkocji na nowy kontynent i osiedlił się w Monmouth County, w stanie New Jersey, gdzie jako pierwszy rozpoczął destylację cydru. Laird’s Applejack jest mieszanką (blendem), wytworzonym poprzez kupażowanie słodkich jabłkowych brandy, leżakowanych przez okres 4-6 lat w dębowych beczkach, mieszanych ze zbożowym alkoholem, co sprawia, że otrzymujemy smak finalny mieści się pomiędzy Apple brandy, a Bourbonem. Aromat napoju określany jest jako bardzo szlachetny, głęboki, z ostrą zbożową nutą, sam trunek ma miodową barwę i moc 40%.

Apfelwasser jest niemieckim i austriackim odpowiednikiem calvadosu. Jest bardzo aromatyczną brandy destylowaną z jabłek i leżakowaną w beczkach. Jej smak w dużym

stopniu zależy od gatunku jabłek, sposobu destylacji, czasu starzenia, mocy (zwykle powyżej 40%). Te najwyższej jakości mają złotą barwę i bardzo głębokie aromaty jabłkowo-gruszkowe, gorzko-słodkie. Wyroby oznaczone jako Alter Apfelbrand leżakują przez okres, co najmniej pięciu lat, są bardzo smaczne, aczkolwiek drogie (nawet ponad 100 euro za 0,5 l). Do najlepszych należą: Guglhof Alter Apfelbrand, Altländer Elstar Apfelbrand, Schwechower Obstbrand Apfelbrand, Roter Elstar Apfelbrand, Jonagold Apfelbrand, Ziegler Gravensteiner Apfelbrand i Ziegler Alter Apfel [Gołębiewski, 2012].

Podsumowanie

Pozycja Polski na europejskim i światowym rynku produkcji jabłek jest wysoka. Jednakże, należy poszukiwać metod poprawy opłacalności produkcji i zwiększania atrakcyjności polskich jabłek dla konsumentów i producentów. Ze względu m.in. na rosyjskie embargo, powinno się poszukiwać nowych rynków zbytu. Poszerzenie gamy napojów alkoholowych z jabłek, zwiększy przetwarzanie tych owoców w kraju. Jabłko stanowi odpowiedni surowiec do produkcji wysokiej jakości napojów alkoholowych, a otrzymane trunki cechują się unikatowym, pożądanym profilem aromatu, odpowiednim składem chemicznym i dzięki procesowi leżakowania – atrakcyjną, bursztynową barwą.

Literatura

1. Alberti A., Giovanetti Vieira R., Françoise Drilleau J., Wosiacki G., Nogueira A. Apple Wine Processing with Different Nitrogen Contents. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 2011, 54 (3), 551-558.
2. Bernatek A. Cydr i perry. Rynek napojów alkoholowych w Polsce, KPMG 2014, 56-57.
3. Bońkowski W. 12 rzeczy o cydrze...które warto wiedzieć o najmłodniejszym napoju tego lata, <http://winiacjatywa.pl/12-rzeczy-o-cydrze/>, 2014.
4. Bosak W. Definicja wina. *Rynki alkoholowe*, 2008, 3.
5. Czynczyk A., Jakubowski T. Value of standard and New rootstocks for apple in Poland, *Acta Horticulturae*, 2007, 732, 51-57.
6. Dixon J., Hewett E.W. Factors affecting apple aroma/flavor volatile concentration: A Review. *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science*, 2000, 28 (3), 155-173.
7. El Hadi, M.A.M., Zhang, F.J., Wu, F.F., Zhou, C.H., Tao, J. Advances in fruit aroma volatile research. *Molecules*, 2013, 18. 8200-8229.
8. Fraternali, D., Ricci, D., Flamini, G., Giomaro, G. Volatiles profile of red apple from Marche region (Italy). *Records of natural products*, 2011, 5 (3), 202-207.
9. Gołębiewski Ł. Okowita. http://spirits.com.pl/spirit_tags/okowita/page/6, 2012.
10. <http://www.open-bar.pl/index.php/articles/index/id/58/page/4>
11. Kuleba M. *Enographii Thalloris- historia zielonogórskiego winiarstwa*. Wydawnictwo: Fundacja Gloria Monte Verde, 2013.
12. Libera P. Szampan po (staro)polsku. *Rynki Alkoholowe*, 2008, 12.
13. Makosz E. Przyszłość polskich jabłek. *Biuletyn Informacyjny, Agencja Rynku Rolnego*, 2015, 3, 10-16.
14. Manginot, C., Roustan, J. L., Sablayrolles, J. M. Nitrogen demand of different yeast strains during alcoholic fermentation. Importance of the stationary phase. *Enzyme Microb. Technol.*, 1998, 23 (7-8), 511-517.
15. Miler T. *Sempiternum wiedzy o alkoholach i koktajlach*, 2012.
16. Nogueira A., LeQuéré J. M., Buldin R. Oxygene et stabilité des cidres. *Rev. Pomme a cidre*, 2003, 5, 16 -17.

17. Pischl, J. Destylaty alkoholowe. Wytwarzanie, teoria i praktyka. Warszawa: Borus & InterPolonus, 2010.
18. Sadowski A., Dziuban R. Jabłoński K. Growth and cropping of Tyree Apple cultivars on different rootstocks over a 7-year period, *Acta Horticulturae*, 2004, 658, 257-263.
19. Satora P., Sroka P., Duda-Chodak A., Tarko T., Tuszyński T. The profile of volatile compounds and polyphenols in wines produced from dessert varieties of apples. *Food Chemistry*, 2008, 111, 513-519.
20. Trajer M., Dyngus M. Krajowa produkcja, spożycie oraz promocja owoców i warzyw. *Biuletyn Informacyjny, Agencja Rynku Rolnego*, 2013, 3, 14-25.
21. Tuszyński T., Poreda A. Narodowe i regionalne napoje alkoholowe. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2003, 3 (36), 141-159.
22. Wrona D., Kowalczyk W., Przybyłko S., Sitarska P. Ocena przydatności podkładów podkładki M.9 dla jabłoni Elise na podstawie wieloletnich badań. Czynniki wpływające na plonowanie i jakość owoców roślin sadowniczych, *Hortpress Sp. z o.o., Wilanów*, 2012, s. 25.

KATARZYNA TUREK, JACEK SŁUPSKI, MAŁGORZATA TABASZEWSKA,
ŁUKASZ SKOCZYLAŚ, ANNA TOMF-SARNA, RADOSŁAWA SKOCZEŃ-SŁUPSKA

*Katedra Technologii Owoców, Warzyw i Grzybów,
Wydział Technologii Żywności, Uniwersytet Rolniczy w Krakowie*

SOKI JABŁKOWE NATURALNIE MĘTNE - PRODUKTY BOGATE W ZWIĄZKI BIOLOGICZNIE CZYNNY

Polska jest krajem o stosunkowo niskim spożyciu owoców w porównaniu do pozostałych krajów Europejskich. Zgodnie z danymi FAOSTAT średnie spożycie owoców w Europie na osobę wynosi 100 kg na rok, na świecie 70 kg na osobę na rok, a w Polsce jest to niemalże połowa tej wartości – około 50 kg [Strojewska, 2013]. Według statystyk GUS konsumpcja owoców i ich przetworów w latach 2000-2014 wynosiła średnio 50,9 kilograma na mieszkańca, przy czym należy zwrócić uwagę na spadek, gdyż przed przystąpieniem Polski do Unii Europejskiej było to 55,1 kg w latach 2000-2004, a w latach 2010-2014 o 17% mniej, bo tylko 45,6 kg [Strojewska, 2015].

Najniższe spożycie owoców w ostatnich piętnastu latach odnotowano w 2011 roku (39,5 kg/osobę), jednak od tamtej pory systematycznie wzrasta – w 2014 było wyższe o 9% i wynosiło 43,1 kg na osobę na rok. W związku ze spadkiem cen owoców związanych z embargiem nałożonym przez Rosję szacuje się, że konsumpcja owoców i ich przetworów będzie rosła. W latach 2000-2004 w strukturze konsumpcji owoców dominowały jabłka (46,9%), w latach 2010-2014 spożycie tych owoców zmniejszyło się o kilkanaście procent (do 34,4%), zwiększyła się natomiast ilość spożywanych owoców cytrusowych i bananów zbliżając Polskę do modelu konsumpcji w krajach Europy Zachodniej. Średnie spożycie warzyw i ich przetworów w Polsce wg danych bilansowych w latach 2000-2014 wynosiło 110,8 kg, wg danych GUS (nie uwzględniających zużycia w placówkach żywienia zbiorowego) był o 40-45% niższy i wynosił 59,1 kg. Ich konsumpcja także spada na przestrzeni lat i najniższa obserwowana była w 2013 roku. W 2014 roku wzrosła i szacuje się, że w kolejnych latach będzie także rosła [Strojewska, 2015].

Zgodnie z rekomendacjami Światowej Organizacji ds. Zdrowia [WHO, 2003] dzienne spożycie warzyw i owoców (wyłączając ziemniaki i inne produkty roślinne wysokoskrobiowe) nie powinno być niższe niż 400 gramów, docelowo powinno wynosić 800 gramów na osobę na dzień. Mnożąc tę wartość przez ilość dni w roku otrzymujemy dawkę 146-292 kilogramów na rok. Wielkość spożycia warzyw i owoców zależy od wielu czynników: socjodemograficznych, ekonomicznych, płci oraz stylu życia badanych. Najmniejszą ilość owoców spożywają mężczyźni z podstawowym

wykształceniem i nieuprawiający żadnych sportów [Markowski i in., 2012].

W 2003 roku WHO [2003] szacowało, że wspomniana wyżej ilość owoców i warzyw mogłaby uchronić 2,7 mln osób rocznie od śmierci z powodu chorób układu krążenia, nowotworów, cukrzycy oraz otyłości i jej powikłań. W kolejnym oświadczeniu z 2009 roku eksperci WHO oszacowali, że 2,4% obciążenia chorobami w krajach europejskich można uznać za skutek niskiego spożycia owoców i warzyw [WHO 2009b]. Większość korzyści płynących ze spożywania produktów roślinnych jest efektem obniżenia ryzyka zapadalności na choroby układu sercowo-naczyniowego, ale warzywa i owoce mogą także obniżyć ryzyko zachorowania na pewne rodzaje raka. W raporcie stwierdzono także, że niewystarczające spożycie warzyw i owoców powoduje w skali ogóln światowej

około 14% przypadków śmierci na raka żołądka lub jelit, około 11% przypadków śmierci z powodu choroby niedokrwiennej serca oraz około 9% przypadków śmierci w wyniku udaru [WHO, 2003, 2009a, 2009b].

Pomimo funkcjonowania programu „5 porcji warzyw, owoców i soku dziennie”, którego pierwsza edycja rozpoczęła się w Polsce już w 1996 roku, przeciętny konsument nie zdaje sobie sprawy jak dobroczynny wpływ może mieć na jego zdrowie codzienne spożycie warzyw i owoców. Jeszcze dekadę temu tylko 6-7% badanych deklarowało spożycie rekomendowanych pięciu porcji produktów roślinnych dziennie [Chyłek, 2007]. Pojawiają się też opinie przeciwko spożywaniu większych ilości owoców, które mogłyby się wiązać z dużą ilością spożywanego cukru, a co za tym idzie także większym prawdopodobieństwem występowania otyłości (założenia między innymi diety niskowęglowodanowej, diety Dukana, diety paleo, diety stosowanej u diabetyków). Nie każdy zdaje sobie sprawę z tego, że warzywa i owoce są bardzo dobrym źródłem witamin, składników mineralnych i błonnika pokarmowego. Ponadto warzywa, owoce i ich przetwory dostarczają wielu substancji o charakterze prozdrowotnym, których nie znajdziemy w tabelach wartości odżywczej jak na przykład polifenole czy fitoestrogeny [Markowski i in., 2012].

Jabłka należą do najczęściej konsumowanych owoców na świecie. Polska jest największym producentem jabłek w Unii Europejskiej. W 2013 roku zbiory jabłek w naszym kraju wynosiły 3,1 mln ton i stanowiły 26% produkcji jabłek w UE (GUS 2015). W kraju jada się je jako owoce świeże lub po przetworzeniu: w postaci soków, koncentratów, puree, cydru, galaretek, kiszzonek czy owoców suszonych lub w puszkach [Brzozowski, 2009; Chabłowska i in., 2013; Turek i in., 2015, 2016]. Wartość prozdrowotna jabłek i niektórych przetworów jabłkowych wynika z zawartości w nich rozpuszczalnych frakcji błonnika pokarmowego oraz związków o charakterze przeciwutleniającym. Dodając do tego fakt, jabłka są stosunkowo tanie i dostępne cały rok zarówno w postaci świeżej, jak i przetworzonej, owoce te oraz przetwory z nich

wyprodukowane są jednym z głównych źródeł przeciwutleniaczy w diecie Polaków [Duda-Chodak i in., 2010].

Jabłka zawierają duże ilości związków o silnym działaniu chroniącym przed wolnymi rodnikami. Dwie najistotniejsze grupy związków fenolowych, które można w nich znaleźć to flawonoidy oraz kwasy fenolowe. Wśród flawonoidów w największych ilościach występują: kwercetyna - w postaci glikozydów oraz katechina i epikatechina. Najpowszechniej występujące w jabłkach kwasy fenolowe to kwas kawowy i kwas *p*-kumarowy znajdujące się głównie w postaci zestryfikowanej z kwasem chinowym (kwas chlorogenowy i *p*-kumarylochinowy. Inną grupą związków fenolowych, które można znaleźć w jabłkach są glikozydy floretyny (dihydrochalkony) [Markowski i in., 2006]. Nie należy także zapominać o prozdrowotnych właściwościach rozpuszczalnych w wodzie frakcji błonnika pokarmowego [Anderson i in., 2009]. Zawartość poszczególnych związków fenolowych zależy od gatunku owoców oraz sposobu uprawy, wszystkie jednak wywierają pozytywny wpływ na zdrowie człowieka. Są znane między innymi z redukcji ryzyka występowania nowotworów i chorób układu krążenia, astmy, cukrzycy typu II oraz są powiązane z utrzymaniem prawidłowej masy ciała [Song i in., 2005; He i Liu, 2007; Jędrychowski i in., 2009; Reagan-Shaw i in., 2010]. Według Song i in. [2005], spożycie co najmniej jednego jabłka dziennie o 28% zmniejszało ryzyko rozwoju cukrzycy typu II w porównaniu do osób nie spożywających jabłek. A to wszystko powiązane jest z ich właściwościami: aktywnością przeciwproliferacyjną, zdolnością spowalniania utleniania wolnych kwasów tłuszczowych oraz obniżania poziomu cholesterolu we krwi [Boyer i in., 2004; Markowski i in., 2006; Willers i in., 2007; Jędrychowski i in., 2009; Oszmiański, 2009; Duda-Chodak i in., 2010; Teleszko i in., 2010a,b; Markowski i in., 2012; Candrawinata i in., 2013; Francini i Sebastiani, 2013; Płocharski i in., 2013].

Mimo stosunkowo wysokiej kaloryczności w porównaniu do niektórych owoców zawierających większą ilość wody jabłka zawierają pewną ilość składników mineralnych, które przy większym spożyciu tych owoców i ich przetworów mogą mieć pozytywny wpływ na funkcjonowanie organizmu (Tab. 1).

W związku z tym, że nie wszyscy konsumenci mogą i chcą spożywać duże ilości jabłek ze skórką, w której znajduje się największa ilość związków o działaniu prozdrowotnym, dobrą alternatywą wydaje się być picie przez nich codziennie porcji soku. Nie każdy jednak sok będzie miał takie same właściwości prozdrowotne. Sposób produkcji soku klarownego powoduje głębokie różnice w składzie chemicznym w stosunku do surowca: jest on bardzo ubogi w polifenole i wykazuje małą aktywność przeciwutleniającą. Dodatkowo pozbawiony jest zupełnie pektyn oraz witaminy C. Zawartość związków polifenolowych ulega obniżeniu nawet 30-krotnie w porównaniu do surowca wyjściowego, co jest związane z jednej strony z utlenianiem enzymatycznym

polifenoli w rozdrobnionej tkance owocowej, z drugiej strony z ich pozostaniem w wyłokach [Oszmiański, 2007, 2009; Wojdyło, 2011].

Tabela 1. Wartość odżywcza jabłek [Kiczorowska i Kiczorowski, 2005; Kunachowicz i in., 2010, Souci i in., 2015]

Składnik	Zawartość [w 100 g jabłek]	Składnik	Zawartość [w 100 g jabłek]
Energia [kcal]	46	Magnez [mg]	3-5
Białko [g]	0,06-0,45	Żelazo [mg]	0,14-0,85
Tłuszcz [g]	0,06-0,58	Krzem [mg]	0,1-1,0
Węglowodany [g]	11,4-12,1	Witamina A [μg]	4,0-4,8
W tym cukry [g]	3,1	β-karoten [μg]	24-35
Błonnik pokarmowy [g]	1,0-2,0	Witamina D [μg]	0
Popiół ogółem [g]	0,26-0,36	Witamina E [μg]	490
Sód [mg]	1-4	Tiamina [μg]	15-60
Potas [mg]	79-134	Ryboflawina [μg]	20,50
Wapń [mg]	4-11	Niacyna [μg]	100-500
Fosfor [mg]	6-19	Witamina C [mg]	3-25

Zabieg rozdrabniania powoduje zniszczenie naturalnej bariery, jaką jest skórka owoców, przez co enzymy łatwo reagują z substratami. Zmiany wynikające z uszkodzenia struktur komórkowych są następstwem złożonych reakcji utleniania i hydrolizy, zachodzących w wyniku kontaktu z powietrzem i uwolnieniem enzymów obecnych w tkankach. W większości przypadków za brunatnienie odpowiedzialna jest polifenolooksydaza (PPO) lub inne enzymy mające kation miedzi w swoim łańcuchu. Optimum ich działania przypada na pH zbliżone do obojętnego i temperaturę około 40°C. W razie obniżenia pH lub dodania kwasu askorbinowego proces ten jest spowalniany lub nawet zatrzymany. Inhibitory muszą być nietoksyczne, aktywne w niewielkich stężeniach, nie mieć ujemnego wpływu na smak i zapach utrwalanego produktu oraz być odpornymi na działanie wysokiej temperatury i innych procesów technologicznych [Oszmiański, 2007, 2009; Wojdyło, 2011]. W związku z często nieumiejętnie prowadzonym procesem technologicznym duża ilość polifenoli – zwłaszcza skórce i w tkance tuż pod nią w nieuszkodzonych komórkach – oraz polifenoli słabo rozpuszczalnych w niskich temperaturach, pozostaje w wyłokach stanowiących część odpadową procesu produkcyjnego.

Dobrą alternatywą są soki naturalnie mętne. W ich produkcji nie stosuje się enzymatycznej obróbki miazgi, klarowania i filtracji, co pozwala na zachowanie większej ilości pektyn i polifenoli niż w sokach klarownych produkowanych z tego samego surowca. Nie można jednak dopuścić do utleniania związków polifenolowych, ponieważ

wiązałoby się to z niekorzystną zmianą barwy. W celu ochrony przed utlenieniem i brunatnieniem soku proces otrzymywania soków powinien odbywać się w środowisku gazu obojętnego, po wcześniejszym dodaniu do pulpy kwasu askorbinowego. Istotny w trakcie procesu produkcyjnego soków jabłkowych naturalnie mętnych jest także stopień dojrzałości surowca. Z owoców niedojrzałych powstaje sok mętny o dużych zawieszonych cząsteczkach miąższu, co wiąże się z szybką sedymentacją osadów. Lepsze parametry otrzymuje się również, gdy użyta jest odpowiednia dawka kwasu askorbinowego; nie powinna być bardzo wysoka, ok. 200-250 mg/kg. Dzięki pominięciu procesu klarowania za pomocą żelatyny lub bentonitu w produkcie końcowym znajduje się nawet dwukrotnie więcej polifenoli w porównaniu do soków klarownych. Ważna jest także szybka pasteryzacja soku, powodująca między innymi inaktywację enzymów, co wiąże się również z wytrącaniem termolabilnych białek – niestabilnych części stałych [Oszmiański, 2007; Płocharski i in., 2009; Begić-Akagić i in., 2011; Wojdyło, 2011].

Bardzo istotne jest z jakiej odmiany wyprodukowany jest sok [Markowski i in., 2006; Teleszko i in., 2010a,b; Turek i in. 2015]. W kilku badaniach zaobserwowano różnicę w zawartości związków polifenolowych nie tylko w świeżych owocach, ale również gotowym produkcie. W porównaniu przecierów, soków mętnych oraz soków klarownych z jabłek, soki, które były poddane procesowi filtracji charakteryzowały się niższymi właściwościami przeciwutleniającymi. Zawartość tych związków ma także wpływ na barwę gotowego produktu – lepiej sprawdziły się odmiany: Fantazja, Ozark Gold, Szampion [Teleszko i in., 2010a]. Dobre odmiany pod względem zawartości związków polifenolowych w gotowym soku to np. Topaz [Markowski i in., 2006].

Soki naturalnie mętne NFC, przecierowe czy smoothies są dobrą alternatywą dla osób chcących zwiększyć spożycie produktów owocowych mających więcej składników prozdrowotnych. Zwłaszcza w przypadku dzieci lub osób o obniżonej odporności, które nie powinny pić soków niepasteryzowanych NFC (tzw. jednodniowych), które poprzez ominięcie procesu pasteryzacji mogłyby być niebezpieczne ze względu na zagrożenie mikrobiologiczne: niedokładnie umyty surowiec owocowy może być źródłem zakażenia bakteriami *Salmonella*, *Escherichia coli* czy *Yersinia*. Soki pasteryzowane NFC mimo mocno zbliżonej do naturalnej postaci charakteryzują się dość długim terminem przydatności do spożycia – nawet sześć miesięcy. Umiarkowane spożycie soków będzie miało pozytywny wpływ na zdrowie człowieka i jest rekomendowane przez między innymi uznaną za jedną z najzdrowszych diet dietę DASH. Warto wybierać soki, które producenci poddali Dobrowolnemu Systemowi Kontroli soków i nektarów (DSK) [Czerwińska, 2011; Hoffmann, 2011; Cendrowski i in., 2015; Groele i in., 2015; Płocharski i in., 2015].

Jeszcze inną alternatywą jest tworzenie smoothie – wzbogacanie soków jabłkowych mętnych w dodatek przecieru jabłkowego (np. w stosunku 40% do 60%). Dzięki temu

produkt jest jeszcze bardziej zbliżony do świeżego owocu i zawiera dwukrotnie więcej polifenoli niż sam sok, a jego aktywność przeciwutleniająca jest większa nawet o 50% [Oszmiański, 2009]. Kolejną możliwością jest dodawanie do soków jabłkowych naturalnie mętnych soków z innych surowców, także bogatych w związki przeciwutleniające, dzięki czemu można jeszcze bardziej podwyższyć wartość biologiczną produktu. Dobrym surowcem wydają się być owoce bogate w polifenole oraz antocyjany: maliny, rokitnik, śliwki [Fastyn i in., 2010; Cendrowski i in., 2015]. Warto także rozważyć przechowywanie gotowych produktów w temperaturach chłodniczych – zmniejsza obniżenie zawartości związków polifenolowych oraz pojemności przeciwutleniającej w trakcie ich magazynowania [Płuciennik i in., 2011].

Badania zostały sfinansowane z dotacji przyznanej przez MNiSW na działalność statutową.

Literatura

1. Anderson J., Baird P., Davis R., Ferreri S., Knudtson M., Koraym A., Waters V., Williams C. Health benefits of dietary fiber. *Nutrition Reviews*, 2009, 67, 188-205.
2. Begić-Akagić A., Spaho N., Orucević S., Drkenda P., Kurtović M., Gasić F., Kopjar M., Pilizota V. Influence of cultivar, storage time, and processing on the phenol content of cloudy apple juice. *Croat. J. Food Sci. Technol.*, 2013, 3, 1-8.
3. Boyer J., Hai Liu R. Apple phytochemicals and their health benefits. *Nutrition Journal*, 2004, 3.
4. Brzozowski P. The utilization of apple production in Poland in the last 40 years. *Zeszyty Naukowe Instytutu Sadownictwa i Kwiaciarnictwa w Skierniewicach*, 2009, 17, 41-52.
5. Candrawinata W. I., Golding J. B., Roach P. D., Stathopoulos C. E. From apple to juice – the fate of polyphenolic compounds. *Food Reviews International*, 2003, 29, 276-293.
6. Cendrowski A., Łokietek A., Mitek M. Jakość soków naturalnie mętnych w okresie przydatności do spożycia. VII Ogólnopolska Konferencja Technologów Przetwórstwa Owoców i Warzyw „Owoce i warzywa od świtu do zmierzchu“, Poznań 28-29 maja 2015.
7. Chabłowska, B., Piasecka-Jóźwiak, K., Rozmierska, J., Szkudzińska-Rzeszowiak, E., Kliszcz, M. Fermentacja mlekowa jabłek z upraw ekologicznych sposobem na otrzymanie nowego asortymentu produktów – biosoków. *Journal of Research and Applications in Agricultural Engineering*, 2013, 58 (3), 71-77.
8. Chyłek D. 5 razy dziennie warzywa i owoce. *Przemysł Spożywczy*, 2007, 6, 71-77.
9. Czerwińska D. Smakowite źródło zdrowia. *Przegląd Gastronomiczny*, 2011, 5, 6-7.
10. Duda-Chodak A., Tarko T., Satora P., Sroka P., Tuszyński T. The profile of polyphenols and antioxidant properties of selected apple cultivars grown in Poland. *Journal of Fruit and Ornamental Plant Research*, 2010, 18(2), 39-50.
11. Fastyn M., Markowski J., Mieszczakowska-Frać M., Płocharski W. Możliwości zwiększenia konsumpcji soków owocowych. *Przemysł Fermentacyjny i Owocowo-Warzywny*, 2010, 4, 10-12.
12. Francini A., Sebastiani L. Phenolic compounds in apple: compounds characterization and stability during postharvest and after processing. *Antioxidants*, 2013, 2, 181-193.
13. Groele B., Płocharski W. Jakość polskich soków w świetle badań dobrowolnego systemu kontroli soków i nektarów oraz inspekcji kontrolnych. VII Ogólnopolska Konferencja Technologów Przetwórstwa Owoców i Warzyw „Owoce i warzywa od świtu do zmierzchu“, Poznań 28-29 maja 2015.
14. GUS, 2015. Rocznik Statystyczny Rolnictwa 2015. http://stat.gov.pl/download/gfx/portalinformacyjny/pl/defaultaktualnosci/5515/6/9/1/rocznik_statystyczny_rolnictwa_2015.pdf.

15. He X, Liu RH. Triterpenoids Isolated from Apple Peels Have Potent Antiproliferative Activity and May Be Partially Responsible for Apple's Anticancer Activity. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 2007, 55, 11, 4366-4370.
16. Hoffmann M. Soczysty temat. *Przegląd Gastronomiczny*, 2009, 10: 10-11.
17. Jędrychowski W., Maugeri U. An apple a day may hold colorectal cancer at bay: Recent evidence from a case-control study. *Reviews of Environmental Health*, 2009, 24, 59-74.
18. Kiczorowska B., Kiczorowski P. Comparison of some chemical components in apples „Szampion” variety produced in the Lublin province. *Acta Scientiarum Polonorum. Technologia Alimentaria*, 2005, 4(2), 37-45.
19. Kunachowicz H., Nadolna I., Iwanow K., Przygoda B. Wartość odżywcza wybranych produktów spożywczych i typowych potraw. PZWL, 2010.
20. Markowski J., Płocharski W. Zmiany składu związków fenolowych przy przerobieniu jabłek na soki i przeciery. *Przemysł Fermentacyjny i Owocowo-Warzywny*, 2006, 4, 33-36.
21. Markowski J., Płocharski W., Pytasz U., Rutkowski K. Owoce, warzywa, soki – ich kaloryczność i wartość odżywcza na tle zapotrzebowania na energię i składniki odżywcze. Cz. 1. Kaloryczność i mit o wpływie na otyłość. *Przemysł Fermentacyjny i Owocowo-Warzywny*, 2012, 4, 22-29.
22. Oszmiański J. Nowe trendy w produkcji soków i nektarów jabłkowych. *Przemysł Fermentacyjny i Owocowo-Warzywny*, 2009, 4, 12-15.
23. Oszmiański J. Soki owocowe o wysokiej aktywności biologicznej. *Przemysł Fermentacyjny i Owocowo-Warzywny*, 2007, 4, 12-14.
24. Płocharski W., Groele B. Soki i ich wartości odżywcze i zdrowotne w świetle badań naukowych. VII Ogólnopolska Konferencja Technologów Przetwórstwa Owoców i Warzyw „Owoce i warzywa od świtu do zmierzchu”, Poznań 28-29 maja 2015.
25. Płocharski W., Markowski J., Jesionkowska K., Mieszczakowska M. Możliwość zwiększenia konsumpcji soków jabłkowych w UE. *Przemysł Fermentacyjny i Owocowo-Warzywny*, 2009, 11, 19-22.
26. Płocharski W., Markowski J., Pytasz U., Rutkowski K. Owoce, warzywa, soki – ich kaloryczność i wartość odżywcza na tle zapotrzebowania na energię i składniki odżywcze. Cz.2. Wartość odżywcza i zdrowotna w świetle dozwolonych oświadczeń zdrowotnych. *Przemysł Fermentacyjny i Owocowo-Warzywny*, 1/2013.
27. Pluciennik E., Kolniak-Ostek J., Oszmiański J. Jakość i aktywność przeciwutleniająca handlowych soków jabłkowych. *Przemysł Fermentacyjny i Owocowo-Warzywny*, 2011, 4, 17-19.
28. Reagan-Shaw S., Eggert D., Mukhtar H., Ahmad N. Antiproliferative effects of apple peel extract against cancer cells. *Nutrition and Cancer*, 2010, 62, 4, 517-524.
29. Song Y, Manson, JE., Buring, JE., Sesso, HD., Liu, S. Associations of dietary flavonoids with risk of type 2 diabetes, and markers of insulin resistance and systemic inflammation in women: a prospective study and cross-sectional analysis. *Journal of the American College of Nutrition*, 2005, 24, 376-384.
30. Souci S.W., Fachmann W., Kraut H. Food composition and nutrition tables. Medpharm Scientific Publishers, Stuttgart. <http://www.sfk.online/> Dostęp 2015.01.26.
31. Strojewska I. Spożycie owoców, warzyw i ich przetworów oraz soków na świecie, w Unii Europejskiej i w Polsce. Wydawnictwo IERiGŻ-PIB, 2013.
32. Strojewska I. Spożycie owoców, warzyw i ich przetworów w Polsce. *Biuletyn Informacyjny Agencji Rynku Rolnego*, 3/2015.
33. Teleszko M., Kolniak J., Oszmiański J. Wpływ odmiany jabłek na zmętnienie i barwę naturalnie mętnych soków; W: Wojtatowicz M., Kawa-Rygielska J. Jakość i prozdrowotne cechy żywności, Wydawnictwo Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu, 2010b, 27-38.
34. Teleszko M., Kolniak J., Wojdyło A., Oszmiański J. Wpływ odmiany jabłek na zawartość polifenoli i aktywność przeciwutleniającą w sokach mętnych. *Przemysł Fermentacyjny i Owocowo-Warzywny*, 2010a, 7-8: 40-42.
35. Turek, K., Słupski, J., Gębczyński, P., Skoczeń-Słupska, R., Skoczylas, Ł., Tomf, A. Lactic acid fermentation of apples; W Staruch L. (red.) *Laboralim 2015. Zbornik vedeckých prác. Fakulta Chemickej a Potravinárskej Technológie STU, Bratislava*, pp 367-372. ISBN 978-80-89597-23-9.

36. Turek, K., Słupski, J., Tabaszewska M., Gębczyński, P., Skoczeń-Słupska, R., Skoczylas, Ł., Tomf, A. Zawartość polifenoli w naturalnie mętnych sokach jabłkowych. IX Ogólnopolska Konferencja Naukowa Technologów Przetwórstwa Owoców i Warzyw „Owoce, Warzywa, Grzyby – Żywność i Technologia. Lublin, 10-20 maja 2016.
37. WHO. Global Health Risks Summary Tables; WHO, 2009a; Geneva, Switzerland.
38. WHO .Global Health Risks; WHO, 2009b; Geneva, Switzerland.
39. WHO. Report of a Joint WHO/FAO Expert Consultation. Diet, nutrition and the prevention of chronic diseases. WHO Technical Report Series Ser, 916, 2003.
40. WHO. WHO Fruit and Vegetable Promotion Initiative – report of the meeting, Geneva, 23-27 August 2003; http://www.sochinut.cl/pdf/fruit_and_vegetable_report.pdf
41. Willers S.M., Devereux G., Craig L.C.A., McNeill G., Wijga A.H., Abou El-Magd W., Turner S.W., Helms P.J., Seaton A. Maternal food consumption during pregnancy and asthma, respiratory and atopic symptoms in 5-year-old children. *Thorax*, 2007, 62, 9, 773-779.
42. Wojdyło A. Ocena możliwości zastosowania owoców pigwy pospolitej w produkcji przetworów o wysokiej zawartości polifenoli i aktywności przeciwutleniającej. Monografia, Wydawnictwo Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu, 2011, 27-38.

ZWIĄZKI BIOAKTYWNE W NAPOJACH OWOCOWYCH I WARZYWNYCH

Wprowadzenie

Związki bioaktywne to substancje, które występują w niewielkich ilościach w żywności, ale wykazują wpływ na zdrowie człowieka w wyniku oddziaływania na czynności fizjologiczne i komórkowe zachodzące w organizmie. Do związków o działaniu prozdrowotnym można zaliczyć m.in.: błonnik pokarmowy, alkohole wielowodorotlenowe, oligosacharydy, polifenole, białka i peptydy, fosfolipidy, wielonienasycone kwasy tłuszczowe, witaminy, składniki mineralne oraz probiotyki [Gawlik-Dziki, 2004].

Produkty spożywcze, w tym napoje, zawierają znaczne ilości związków bioaktywnych, które mogą wywierać korzystny wpływ na organizm człowieka, jeżeli spożywane są regularnie [Granato i in., 2015a]. Dieta bogata w owoce i warzywa może opóźnić proces starzenia się i zmniejszać ryzyko rozwoju stanów zapalnych oraz stresu oksydacyjnego. Stres oksydacyjny jest przyczyną wielu chorób, m.in. zaburzeń układu sercowo-naczyniowego, miażdżycy, nowotworów, cukrzycy, katarakty i chorób neurologicznych. Korzyści ze spożywania warzyw i owoców wynikają z obecności związków biologicznie czynnych, w tym witamin, karotenoidów, związków polifenolowych oraz błonnika [Murador i in., 2016].

Celem niniejszej pracy jest usystematyzowanie wiedzy na temat związków bioaktywnych obecnych w sokach owocowych i warzywnych oraz ich wpływu na organizm człowieka.

Składniki bioaktywne napojów owocowych i warzywnych

Soki oraz inne napoje owocowe cieszą się w Polsce dużą popularnością. Wytwarzane są zarówno z owoców bardzo popularnych w danym kraju, jak również z egzotycznych. Producenci napojów wykorzystują do napojów mało znane surowce o udowodnionych właściwościach prozdrowotnych, aby zwiększyć konkurencyjność swoich wyrobów na rynku. Duża różnorodność surowcowa wynika również z oczekiwań klientów. Rosnąca świadomość społeczeństwa, dotycząca zdrowego odżywiania, wymusza opracowywanie wciąż nowych produktów o właściwościach zapobiegających niektórym schorzeniom.

Coraz częściej na polskim rynku można spotkać przetwory z owoców jagodowych, gdyż słyną one ze swoich prozdrowotnych właściwości.

Sok z aronii, ze względu na bogactwo związków bioaktywnych, może przyczyniać się do obniżania we krwi stężenia cholesterolu całkowitego, frakcji LDL-C i triglicerydów [Valcheva-Kuzmanova i in., 2007] oraz ciśnienia tętniczego [Hellström i in., 2010]. Stanowi także obiecujący dodatek w terapii zaburzeń występujących w zespole metabolicznym [Jurgoński i in., 2008]. Ponadto związki bioaktywne aronii działają przeciwwzapalnie [Appel i in., 2015] oraz ograniczają zakażenia dróg moczowych [Handeland i in., 2014]. Jedną z głównych zalet soku z aronii jest wysokie stężenie polifenoli, które może wynosić nawet 10 g/l [Sosnowska i in., 2015]. Związki te reprezentowane są głównie przez cyjanoglikozydy, pochodne kwercetyny oraz kwas 3-*O*-kawoilochinowy. Dominującą grupą substancji są antocyjany w ilości 612,5 mg/l oraz flawonole – 218,2 mg/l i pochodne kwasu hydroksycynamonowego – 124,7 mg/l [Girones-Vilaplana in., 2012].

W przemysłowej produkcji soku z porzeczki etapem niezbędnym jest zastosowanie enzymatycznych preparatów pektynolitycznych, w celu zwiększenia wydajności pozyskiwania soku i jak największej ilości związków bioaktywnych. Pomimo tego zabiegu znaczna część polifenoli pozostaje w skórce tych owoców. Dlatego poszukuje się innych metod, które pozwoliłyby na zwiększenie ilości ekstrahowanych związków fenolowych, w tym antocyjanów. Ogólna zawartość polifenoli w sokach porzeczkowych wynosi ok. 2120 mg/l [Landbo i Meyer, 2004]. Napój ten wykazuje stężenie antocyjanów na poziomie 572,5 mg/l, wśród których dominującym związkiem jest cyjanidyno-3-rutynozyd (238,7 mg/l). Zawiera także 12,5 mg/l flawonoli, głównie mirycetyny (8,5 mg/l). Proces technologiczny produkcji soku powoduje straty tych związków na poziomie 50% [Pap i in., 2010]. Natomiast stężenie witaminy C waha się w znacznym zakresie (42-1500 mg/l), zależnym od użytego surowca oraz technologii wytwarzania napoju [Andrews, 1979].

Czarny bez, ze względu na swoje lecznicze właściwości, od bardzo dawna cieszył się uznaniem ludzi na całym świecie. W aptekach i sklepach zielarskich dostępnych jest wiele preparatów na bazie tej rośliny, przygotowywanych zarówno z kwiatów jak i owoców. Istnieje znacząca różnica w zawartości i profilu składników fenolowych w soku z czarnego bzu, zależna od m.in. od odmiany. Zawartość kwasów fenolowych waha się w przedziale 65-260 mg/l, a antocyjanów 7,8-12,4 g/l. W sokach obecne są takie związki jak kwas chlorogenowy, neochlorogenowy, cyjanidyno-3-sambubiozyd-5-glukozyd, cyjanidyno-3,5-diglukozyd, cyjanidyno-3-sambubiozyd, cyjanidyno-3-glukozyd oraz kwercetyno-3-rutynozyd i kwercetyno-3-glukozyd [Kaack i in., 2008].

Z kolei sok żurawinowy, podobnie jak same owoce, charakteryzuje się wysokim stężeniem kwasów fenolowych, antocyjanów, proantocyjanidyn i flawonoli [Vu i in.,

2012]. Całkowita zawartość proantocyjanidyn w sokach żurawinowych wynosi około 1000 mg/l, a flawonoidów 106-174 mg/l [Granato i in., 2015b]. W przypadku witaminy C komercyjne soki mogą zawierać do 130 mg/l tego związku [Bazinet i in., 2012].

Sok truskawkowy jest produktem wykazującym stosunkowo wysoką zawartość kwasu askorbinowego oraz antocyjanów, które odpowiadają za barwę napoju. Głównym związkiem z tej grupy, występującym w soku truskawkowym, jest pelargonidyno-3-glukozyd. Stężenie witaminy C w sokach truskawkowych mieści się w przedziale 529-537 mg/l, a antocyjanów, kwercetyny i kwasów elagowych odpowiednio 298-317, 38-43 i 6-8 mg/l [Tiwari i in., 2009].

Do owoców jagodowych należą także winogrona. Są one surowcem głównie do produkcji win, lecz wytwarza się z nich także soki. Spożywane są na całym świecie i cenione ze względu na bogactwo związków bioaktywnych, takich jak polifenole oraz mikroelementy. Napoje te wykazują wysokie stężenia takich pierwiastków jak magnez, wapń, potas i sód. Soki charakteryzują się także wysoką zawartością manganu, żelaza, cynku, miedzi i glinu [Toaldo i in., 2015]. Związki fenolowe w napojach winogronowych to głównie flawanole, flawonole i antocyjany. Obecne są także kwasy fenolowe i stilbeny, m.in. rezweratrol. Flawonole reprezentowane są przez kemferol, kwercetynę i mirycetynę. Natomiast w grupie antocyjanów dominują: malwidyna, cyjanidyna, delfinidyna, petunidyna, peonidyna i pelargonidyna. Kwas askorbinowy w sokach winogronowych występuje w niskich stężeniach (4,8-15,5 mg/l) [Lima i in., 2014].

Na polskim rynku dostępne są także owoce egzotyczne, lecz ich cena powoduje, że nie wszyscy mogą sobie pozwolić na ich konsumpcję. Alternatywą dla świeżych surowców są napoje z nich wytworzone. Ostatnio na rynek zostały wprowadzone nowe produkty z egzotycznych owoców, takie jak sok z kaktusa i granatu. W owocach granatu zidentyfikowano 48 związków polifenolowych, w których skład wchodzi m.in. antocyjany, elagotaniny, kwasy hydroksybenzoesowe i hydroksycynamonowe oraz dihydroflawony w stężeniach 2015-5186 mg/l soku [Fischer i in., 2011]. Inne badania [Tezcan i in., 2009] wykazują, że zawartość związków fenolowych w tych sokach może sięgać nawet 10 g/l. Natomiast napoje z dodatkiem soku z owocu kaktusa na naszym rynku są dostępne od niedawna. Jest on bardzo ceniony ze względu na bogactwo różnorodnych związków bioaktywnych, takich jak: błonnik, witamina C, czy związki fenolowe. Roślina ta charakteryzuje się dużą różnorodnością genetyczną, co przejawia się zabarwieniem owocu od zielonego przez żółty i czerwony do fioletowego. Sok z tych owoców charakteryzuje się wysoką zawartością błonnika (75-120 g/kg) i kwasu askorbinowego (1,14-7,06 g/kg).

Związki fenolowe oznaczono na poziomie 2,39-6,56 g/kg, a zawartość betalain nie przekraczała 9,39 g/kg [Jiménez-Aguilar i in., 2015].

Spośród soków z owoców cytrusowych najczęściej spożywanym na całym świecie jest sok pomarańczowy. Oprócz przyjemnego smaku, barwy i zapachu ceniony jest za zawartość istotnych związków odżywczych i nieodżywczych, takich jak karotenoidy, związki fenolowe i witamina C. Sok pomarańczowy nie jest bogaty w karotenoidy (ok. 3 mg/l), a w innych napojach cytrusowych, np. grapefruitowym nie występują one w ogóle [Gardner i in., 2000]. Soki pomarańczowe zawierają względnie duże ilości kwasu askorbinowego (425-633 mg/l), a stężenie związków fenolowych mieści się w przedziale 308-476 mg/l [Stinco i in., 2015]. Reprezentowane są one głównie przez kwasy hydroksycynamonowe i flawonoidy [Gattuso i in., 2007]. Z kolei napoje otrzymane z grapefruitów wykazują podobne stężenie kwasu askorbinowego jak inne soki z owoców cytrusowych. Zawartość witaminy C kształtuje się na poziomie 567-570 mg/l soku, a ogólne stężenie związków fenolowych w granicach 630-798 mg/l [La Cava i Sgroppo, 2015].

Wraz ze wzrostem wiedzy konsumenci szukają smacznych i wygodnych produktów żywnościowych, które byłyby pożywne i bezpieczne, zachowując jednocześnie naturalny smak i świeżość. Przykładem są soki jabłkowe, które, podobnie jak same owoce, uznano za dobre źródło związków o dużej pojemności przeciwutleniającej, takich jak: kwasy fenolowe, flawonoidy czy flawonole, ze względu na ich wysokie spożycie. Ogólna zawartość tych związków w napojach wynosi około 760 mg/l, a dominującą grupą są flawonoidy (około 470 mg/l). Obecna jest także witamina C, lecz jej ilość, 39-45 mg/l, w porównaniu do innych omawianych soków, jest znikoma. W napojach jabłkowych są także, ale w niewielkich stężeniach, karotenoidy (ok. 1,22 mg/l) oraz antocyjany (ok. 1,08 mg/l). Soki te bogate są w takie makroelementy jak potas (ok. 1068 mg/l) i fosfor (111 mg/l). Występuje w nich także sód, wapń, magnez miedź i cynk [Abid i in., 2014].

Sok z buraka znany jest z wysokiego poziomu dostępnych przeciwutleniaczy oraz wielu innych związków prozdrowotnych, takich jak: składniki mineralne (potas, magnez, żelazo, cynk, wapń, fosfor, sód), witaminy z grupy B (kwas foliowy, niacyna, biotyna, pirydoksyna) oraz rozpuszczalna frakcja błonnika pokarmowego. Napój ten ceniony jest nie tylko ze względu na bogactwo składników biologicznie czynnych, ale również za wygodę spożycia, w przeciwieństwie do całego warzywa. Soki buraczane mogą zawierać 0,8-1,3 g/l betalain. Obecne są także związki fenolowe, reprezentowane przez kwasy hydroksycynamonowe [Wruss i in., 2015].

Sok z marchwi jest popularnym napojem spożywanym na całym świecie i powszechnie uważanym za źródło ważnych dla zdrowia składników, takich jak

karotenoidy, witaminy i związki fenolowe. Wraz ze wzrostem liczby dowodów potwierdzających dobroczynne działanie tego napoju na organizm człowieka wzrósł także popyt na niego. Dominującymi składnikami są karotenoidy, których stężenie wynosi około 175 mg/l. Obecne są również kwas askorbinowy (w ilości 48 mg/l) oraz związki fenolowe (20 mg/l). Wśród karotenoidów dominującą substancją jest β -karoten, ponadto obecny jest także α -karoten oraz luteina [Martínez-Flores i in., 2015].

Pomidory na rynkach światowych dostępne są w postaci świeżej oraz przetworzonej. Oprócz soków spotkać się można z takimi produktami, jak pomidory w puszkach, suszone, keczupy, pasty, przeciery, sałatki, sosy i zupy [Sánchez-Moreno i in., 2006]. Naukowcy uważają, że owoce te mogą stać się dogodną matrycą, dostarczającą ludziom wielu składników bioaktywnych, do których zaliczyć można witaminę C, likopen i β -karoten (prowitamina A). Ponadto są one dobrym źródłem kwasu foliowego i potasu. Obecne są również inne związki korzystne dla zdrowia człowieka, m.in. witamina E, pierwiastki śladowe, flawonoidy, fitosterole i kilka witamin rozpuszczalnych w wodzie [Beecher, 1998]. Ogólna zawartość karotenoidów w tradycyjnych sokach pomidorowych sięga 144 mg/l, a dominującym związkiem jest likopen w stężeniu 71,3-78,4 mg/l. Obróbka cieplna, np. pasteryzacja, zwiększa biodostępność tych związków. W soku pomidorowym obecne są także związki fenolowe w ilości około 90 mg/l, a dominującą substancją jest kwas chlorogenowy [Odrizola-Serrano i in., 2009]. Sok pomidorowy jest również źródłem witaminy C; w komercyjnych napojach zawiązek ten osiąga stężenie 92-676 mg/l [Sánchez-Moreno i in., 2006].

W ostatnich czasach coraz bardziej popularne stają się butelkowane wody smakowe. Napoje te wytwarzane są z wód mineralnych z dodatkiem aromatów, soków, cukrów lub innych substancji słodzących, odpowiadających za odczuwanie określonego smaku i zapachu. Biorąc pod uwagę, że dodawane substancje to również ekstrakty owoców bogatych w przeciwutleniacze, oczekuje się, że stosowanie tej praktyki skutkuje dostępnością na rynku napojów o właściwościach przeciwutleniających. W badaniach przeprowadzonych przez Barroso i in. [2009] wykazano, że wody smakowe charakteryzują się wyższą zawartością takich pierwiastków jak potas, sód, żelazo i miedź. Ponadto autorzy stwierdzili, że sok owocowy i środki zakwaszające powodują wzrost stężenia magnezu, potasu, sodu, żelaza i miedzi w napoju. Wody smakowe mogą stać się dobrą alternatywą dla osób, które nie lubią wód naturalnych. Są one cenne w diecie ze względu na obecność witamin, przeciwutleniaczy i niektórych związków bioaktywnych, pochodzących z użytego soku, czy ekstraktów owocowych. Należy mieć jednak na uwadze, aby zapoznać się z treścią etykiety, w celu uniknięcia niepożądanych reakcji ze strony

organizmu na którykolwiek ze składników użyty do wyprodukowania tego typu napojów.

Podsumowanie

Związki bioaktywne pod względem chemicznym nie stanowią jednorodnej grupy substancji. Oddziałują one na organizm człowieka, regulując jego pracę i powodując wiele korzyści zdrowotnych. Owoce, warzywa oraz ich przetwory, takie jak soki i napoje są bogatym źródłem substancji, do których można zaliczyć błonnik pokarmowy, związki fenolowe, witaminy, składniki mineralne i inne.

Na polskim rynku dostępne są napoje, zarówno owocowe jak i warzywne. Najbardziej popularnymi napojami, otrzymanymi z polskich surowców, są soki wyprodukowane z jabłek. Ze względu na korzyści jakie za sobą niosą oraz bogactwo substancji aktywnych biologicznie, dużą aprobatą konsumentów cieszą się napoje wyprodukowane z owoców jagodowych, takich jak aronia, żurawina, porzeczka, winogrona, malina, truskawka, czy czarny bez. Spośród napojów otrzymanych z egzotycznych owoców można wyróżnić pomarańczowe, grapefruitowe, z kaktusa czy granatu. W ostatnich latach wzrósł także popyt na wody smakowe, zwłaszcza wśród młodych konsumentów. Ze względu na wygodę spożycia cenione są także soki warzywne, zwłaszcza marchwiowe, pomidorowe i buraczane.

W zależności od stosowanego surowca napoje te charakteryzują się różną zawartością składników bioaktywnych. Przetwory z owoców jagodowych wykazują wysokie stężenia kwasu askorbinowego oraz związków fenolowych. Najlepszym źródłem witaminy C jest sok z czarnej porzeczki, a w polifenole najbogatszy jest sok z aronii. Z kolei soki jabłkowe charakteryzują się dużą różnorodnością związków aktywnych biologicznie (witaminy z grupy B, kwas askorbinowy, polifenole i składniki mineralne).

Soki warzywne, takie jak marchwiowe czy pomidorowe, bogate są w karotenoidy (β -karoten i likopen). W przypadku napojów pomidorowych, na co warto zwrócić szczególną uwagę, obróbka termiczna zwiększa biodostępność tych związków. Natomiast sok z czerwonych buraków jest bardzo dobrym źródłem przeciwutleniaczy, jakimi są betalainy.

Publikacja została sfinansowana z dotacji na utrzymanie potencjału badawczego przyznanego przez MNiSW.

Literatura

1. Abid M., Jabbar S., Wu T., Hashim M.M., Hu B., Lei S., Zeng X. Sonication enhances polyphenolic compounds, sugars, carotenoids and mineral elements of apple juice. *Ultrasonics Sonochemistry*, 2014, 21(1), 93-97.

2. Andrews G.R. A rapid colorimetric method for screening black currant juices for vitamin C content. *Euphytica*, 1979, 28(3), 751-753.
3. Appel K., Meiser P., Millán E., Collado J.A., Rose T., Gras C.C., Carle R., Muñoz E. Chokeberry (*Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliot) concentrate inhibits NF- κ B and synergizes with selenium to inhibit the release of pro-inflammatory mediators in macrophages. *Fitoterapia*, 2015, 105, 73-82.
4. Barroso M.F., Silva A., Ramos S., Oliva-Teles M.T., Delerue-Matos C., Sales M.G.F., Oliveira M.B.P.P. Flavoured versus natural waters: Macromineral (Ca, Mg, K, Na) and micromineral (Fe, Cu, Zn) contents. *Food Chemistry*, 2009, 116(2), 580-589.
5. Bazinet L., Brianceau S., Dubé P., Desjardins Y. Evolution of cranberry juice physico-chemical parameters during phenolic antioxidant enrichment by electrodialysis with filtration membrane. *Separation and Purification Technology*, 2012, 87, 31-39.
6. Beecher G.R.. Nutrient content of tomatoes and tomato products. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*, 1998, 218, 98-100.
7. Fischer U.A., Carle R., Kammerer D.R. Identification and quantification of phenolic compounds from pomegranate (*Punica granatum* L.) peel, mesocarp, aril and differently produced juices by HPLC-DAD-ESI/MSn. *Food Chemistry*, 2011, 127(2), 807-821.
8. Gardner P.T., White T.A.C., McPhail D.B., Duthie G.G. The relative contributions of vitamin C, carotenoids and phenolics to the antioxidant potential of fruit juices. *Food Chemistry*, 2000, 68(4), 471-474.
9. Gattuso G., Barreca D., Gargiullo C., Leuzzi U., Caristi C. Flavonoid Composition of Citrus Juices. *Molecules*, 2007, 12, 1641-1673.
10. Gawlik-Dziki U. Fenolokwasy jako bioaktywne składniki żywności. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2004, 4, 29-40.
11. Girones-Vilaplana A., Valentão P., Andrade P.B., Ferrere F., Moreno D.A., Garcia-Viguera C. Phytochemical profile of a blend of black chokeberry and lemon juice with cholinesterase inhibitory effect and antioxidant potential. *Food Chemistry*, 2012, 134(4), 2090-2096.
12. Granato D., Alezandro M.R., Nazzaro F. Food bioactive compounds: Quality control and functional properties. *Food Research International*, 2015a, 77, 73-74.
13. Granato D., Karnopp A.R., van Ruth S.M. Characterization and comparison of phenolic composition, antioxidant capacity and instrumental taste profile of juices from different botanical origins. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2015b, 95(10), 1997-2006.
14. Handeland M., Grude N., Torp T., Slimestad R. Black chokeberry juice (*Aronia melanocarpa*) reduces incidences of urinary tract infection among nursing home residents in the long term—a pilot study. *Nutrition Research*, 2014, 34(6), 518-525.
15. Hellström J.K., Shikov A.N., Makarova M.N., Pihlanto A.M., Pozharitskaya O.N., Ryhänen E.L., Kivijärvi P., Makarov V.G., Mattila P.H. Blood pressure-lowering properties of chokeberry (*Aronia mitchurinii*, var. *Viking*). *Journal of Functional Foods*, 2010, 2(2), 163-169.
16. Jiménez-Aguilar D.M., López-Martínez J.M., Hernández-Brenes C., Gutiérrez-Urbe J.A., Welti-Chanes J. Dietary fiber, phytochemical composition and antioxidant activity of Mexican commercial varieties of cactus pear. *Journal of Food Composition and Analysis*, 2015, 41, 66-73.
17. Jurgoński A., Juśkiewicz J., Zduńczyk Z. Ingestion of Black Chokeberry Fruit Extract Leads to Intestinal and Systemic Changes in a Rat Model of Prediabetes and Hyperlipidemia. *Plant Foods for Human Nutrition*, 2008, 63(4), 176-182.
18. Kaack K., Frotte X.C., Christensen L.P., Landbo A.K., Meyer A.S. Selection of elderberry (*Sambucus nigra* L.) genotypes best suited for the preparation of juice. *European Food Research and Technology*, 2008, 226(4), 843-855.
19. La Cava E.L.M., Sgroppo S.C. Evolution during refrigerated storage of bioactive compounds and quality characteristics of grapefruit [*Citrus paradisi* (Macf.)] juice treated with UV-C light. *LWT - Food Science and Technology*, 2015, 63(2), 1325-1333.
20. Landbo A.K., Meyer A.S. Effects of different enzymatic maceration treatments on enhancement of anthocyanins and other phenolics in black currant juice. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 2004, 5(4), 503-513.
21. Lima M.S., Silani I.S.V., Toaldo I.M., Corrêa L.C., Biasoto A.C.T., Pereira G.E., Luiz M.T.B., Ninow J.L. Phenolic compounds, organic acids and antioxidant activity of grape juices produced from new Brazilian varieties planted in the Northeast Region of Brazil. *Food Chemistry*, 2014, 161, 94-103.

22. Martínez-Flores H.E., Garnica-Romo Ma.G., Bermúdez-Aguirre D., Pokhrel P.R., Barbosa-Cánovas G. Physico-chemical parameters, bioactive compounds and microbial quality of thermo-sonicated carrot juice during storage. *Food Chemistry*, 2015, 172, 650-656.
23. Murador D.C., Mercadante A.Z., Vera de Rosso V. Cooking techniques improve the levels of bioactive compounds and antioxidant activity in kale and red cabbage. *Food Chemistry*, 2016, 196, 1101-1107.
24. Odriozola-Serrano I., Soliva-Fortuny R., Hernández-Jover T., Martín-Belloso O. Carotenoid and phenolic profile of tomato juices processed by high intensity pulsed electric fields compared with conventional thermal treatments. *Food Chemistry*, 2009, 112(1), 258-266.
25. Pap N., Mahosenah M., Pongracz E., Mikkonen H., Jaakkola M., Virtanen V., Myllykoski L., Horváth-Hovorka Z., Hodúr C. Vatai G., Keiski R.L. Effect of Ultrafiltration on Anthocyanin and Flavonol Content of Black Currant Juice (*Ribes nigrum* L.). *Food and Bioprocess Technology*, 2010, 5(3), 921-928.
26. Sánchez-Moreno S., Plaza L., de Ancos B., Cano M.P. Nutritional characterisation of commercial traditional pasteurised tomato juices: carotenoids, vitamin C and radical-scavenging capacity. *Food Chemistry*, 2006, 98(4), 749-756.
27. Sosnowska D., Podśędek A., Kucharska A.Z., Redzynia M., Opęchowska M., Koziółkiewicz M. Comparison of in vitro anti lipase and antioxidant activities, and composition of commercial chokeberry juices. *European Food Research and Technology*, 2015, DOI 10.1007/s00217-015-2561-4
28. Stinco C.M., Baroni M.V., Di Paola Naranjo R.D., Wunderlin D.A., Heredia F.J., Meléndez-Martínez A.J., Vicario I.M. Hydrophilic antioxidant compounds in orange juice from different fruit cultivars: Composition and antioxidant activity evaluated by chemical and cellular based (*Saccharomyces cerevisiae*) assays. *Journal of Food Composition and Analysis*, 2015, 37, 1-10.
29. Tezcan F., Gültekin-Özgülven M., Diken T., Özçelik B., Erim F.B. Antioxidant activity and total phenolic, organic acid and sugar content in commercial pomegranate juices. *Food Chemistry*, 2009, 115(3), 873-877.
30. Tiwari B.K., O'Donnell C.P., Patras A., Brunton N., Cullen P.J. Effect of ozone processing on anthocyanins and ascorbic acid degradation of strawberry juice. *Food Chemistry*, 2009, 113, 1119-1126.
31. Toaldo I.M., Cruz F.A., de Lima Alves T., de Gois J.S., Borges D.L.G., Cunha H.P., da Silva D.L., Bordignon-Luiz M.T. Grape juices from the Southern Region of Brazil: Phenolic and elemental composition and effect on lipid peroxidation in healthy subjects. *Food Chemistry*, 2015, 173, 527-535.
32. Valcheva-Kuzmanova S., Kuzmanov K., Tsanova-Savova S., Mihova V., Krasnaliev I., Borisova P., Belcheva A. Lipid-lowering effects of Aronia melanocarpa fruit juice in rats fed cholesterol-containing diets. *Journal of Food Biochemistry*, 2007, 31, 589-602.
33. Vu K.D., Carlettini H., Bouvet J., Côté J., Doyon G., Sylvain J.F., Lacroix M. Effect of different cranberry extracts and juices during cranberry juice processing on the antiproliferative activity against two colon cancer cell lines. *Food Chemistry*, 2012, 132(2), 959-967.
34. Wruss J., Weldenberger G., Huemer S., Uygun P., Lanzerstorfen P., Müller U., Höglinger O., Weghuber J. Compositional characteristics of commercial beetroot products and beetroot juice prepared from seven beetroot varieties grown in Upper Austria. *Journal of Food Composition and Analysis*, 2015, 42, 46-55.

ZAWARTOŚĆ SKŁADNIKÓW BIOAKTYWNYCH W SOKU Z OWOCÓW GRANATU (*PUNICA GRANATUM*) W ZALEŻNOŚCI OD METODY WYTWARZANIA

Streszczenie

Celem badań była ocena zawartości składników bioaktywnych w soku z granatów (*Punica granatum*) w zależności od sposobu otrzymania w warunkach domowych. Granaty, importowane z Indii, zakupiono w lokalnych supermarketach. Dla każdej partii (3 owoce) otrzymano sok przez wyciskanie (A) oraz z użyciem sokowirówki (B). W próbkach soku analizowano barwę, pH, kwasowość ogólną, zawartość ekstraktu, witaminy C, antocyjanów oraz związków fenolowych. Aktywność antyoksydacyjną soków oceniono w teście FRAP i DPPH. Wykazano zróżnicowanie właściwości soków w zależności od jakości/partii owoców. Dla partii III uzyskano najwyższą wydajność (400-500 ml soku/kg) oraz najlepsze właściwości fizykochemiczne i antyoksydacyjne soku. Generalnie, soki uzyskane metodą A charakteryzowały się lepszą jakością pod względem analizowanych parametrów. Zastosowanie sokowirówki powoduje utratę składników antyoksydacyjnych, głównie witaminy C (o 35-64%) oraz antocyjanów (o 11-38%).

Wprowadzenie

Granat, owoc granatowca (*Punica granatum* L.), jest jednym z najstarszych owoców o uznanych właściwościach prozdrowotnych. Uprawiany był już w starożytnym Egipcie, wspomina o nim Stary Testament. Owoce granatu, nazywany również rajskim owocem, w wielu religiach świata określany był jako symbol obfitości, zmysłowości i płodności, oznaczał nieśmiertelność i świętość [Jacob i Jacob, 2006; Bhandari, 2012].

Owoc granatowca, z zewnątrz podobny do jabłka, jest jagodą o kulistym kształcie, średnicy nawet do 12 centymetrów i ciężarze sięgającym 1 kg. Jego zewnętrzna skórka ma około 5 mm grubości, w dojrzałym stadium przybiera kolory od żółci do czerwieni, a z czasem staje się brązowa, przy czym miąższ pozostaje soczysty i świeży. Wewnątrz owocu znajdują się soczyste ziarenka otoczone przez włókniste błonki zawierające garbniki, odpowiadające za cierpki smak soku. Nasiona otoczone są osnówkami (*arillus*) o czerwonej barwie i galaretowatej konsystencji. Są one niezwykle soczyste i stanowią jadalną część owocu [Teixeira da Silva i in., 2013]. Skład chemiczny soku granatu różni się w zależności od odmiany, klimatu, regionu

uprawy, stopnia dojrzałości owocu, czy systemu jego produkcji [Akpınar-Bayzıt, 2010].

Granatowiec właściwy pochodzi z Azji Środkowej, jednakże ze względu na swoje zdolności adaptacyjne uprawiany jest na całym świecie, a w szczególności w obszarach tropikalnych i subtropikalnych. Globalna produkcja osiąga 1,5 miliona ton granatu rocznie, a największym jego eksporterem jest Iran (47% światowej produkcji), a w Europie – Hiszpania [Rumpel, 2012].

O wartości odżywczej owoców granatu decyduje ich niska kaloryczność (70-80 kcal/100 g), przy wysokiej zawartości cukrów (10-20%), białka (1,5%), kwasów organicznych (2-5%) oraz aminokwasów (prolina, walina, metionina) [Jacob i Jacob, 2006]. Nasiona są bogatym źródłem tłuszczów, a olej z nasion stanowi 12-20% ich masy [Akpınar-Bayzıt i in., 2016]. Dominujące składniki mineralne to potas i fosfor, a wśród witamin - witamina C i niacyna. O wartości żywieniowej granatów decyduje także wysoka zawartość błonnika [Mercure, 2007].

Granat jest jednym z najobfitszych źródeł przeciwutleniaczy, wśród owoców wyprzedza go tylko dzika róża [Halvorsen i in., 2002]. Owoc ten znany jest z wysokiej zawartości związków fenolowych: antocyjanin (3- i 3,5-glikozydy delfinidyny, cyjanidyny i pelargonidyny), elagotanin (punikalagina, punikalina), flawonoidów (kwercetyna, luteolina i kempferol), katechin (galusan epigallokatechiny) oraz kwasów fenolowych (kwas elagowy). Czerwony kolor soku granatu zależy od stężenia i rodzaju antocyjanów obecnych w owocach [Hernández i in., 2000]. Udowodniono, że sok granatu poddany żywej fermentacji ma nawet 75-krotnie wyższą zawartość bioaktywnych przeciwutleniaczy [Rumpel, 2012]. Antyoksydanty występują we wszystkich częściach owocu, tj. skórce, nasionach i miąższu [Rumpel, 2012; Shiban i in., 2012].

Owoc granatu od ponad tysiąca lat stosowany jest w medycynie. Jego bioaktywne składniki nadają mu działanie przeciwwirusowe, przeciwnowotworowe, przeciwzapalne, przeciwbakteryjne, przeciwutleniające [Rumpel, 2012]. Główne działania prozdrowotne granatu to: leczenie chorób układu krążenia (miażdżycy, nadciśnienie), cukrzycy, ochrona mózgu i układu nerwowego (choroba Alzheimera), hamowanie rozwoju raka prostaty, piersi, jelit i płuc, hamowanie czynników aktywujących stany zapalne, szczególnie w chorobach reumatycznych. Już w starożytności granat stosowany był jako środek robakobójczy oraz jako inhibitor kaszlu. Stosowany był do leczenia infekcji, ran czy zapaleń. Jest środkiem łagodzącym podrażnienia, pobudzającym krążenie i przeciwdziałającym miażdżycy [Bhandari, 2012].

Oprócz szerokiego wykorzystania w medycynie, owoc granatu ma również zastosowanie w przemyśle spożywczym (produkcja soków, galaretek, wina).

Ze względu na garbniki zawarte w skórce owocu, stanowi on surowiec przemysłowy w farmacji i garbarstwie, a ostatnio stosowany jest w produkcji kosmetyków, głównie ze względu na działanie ochronne wobec wolnych rodników, zdolność do regeneracji skóry i przyspieszania gojenia podrażnień [Kulczyński i Gramza-Michałowska, 2015].

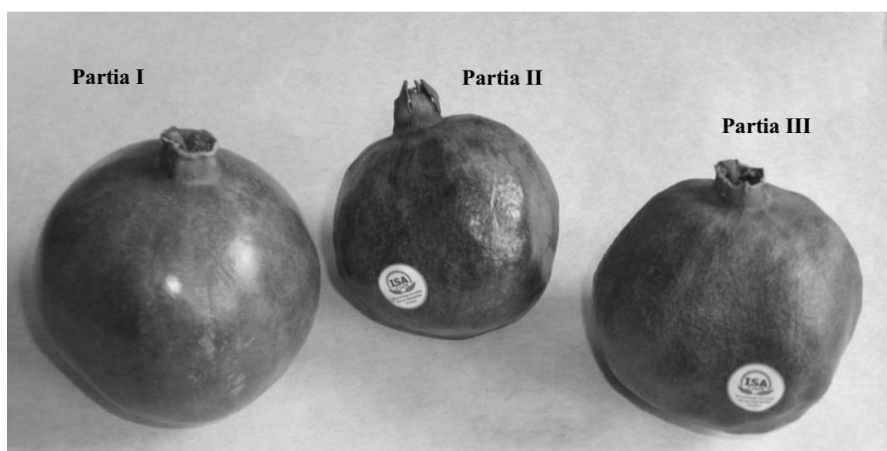
W Polsce granat zdobywa dopiero popularność. Zarówno owoce, jak i sok z granatu pochodzą z importu, owoce najczęściej są importowane z Indii, natomiast sok z Turcji, Izraela, Rosji i Azerbejdżanu. Na rynku możemy spotkać soki z granatu z domieszką soku z innych owoców, np. winogron. Jakość soku można sprawdzić organoleptycznie, prawdziwy ma cierpki smak. Granat jest owocem sezonowym, jego duże ilości występują na rynku w okresie zimowym, wówczas cena jest 2-3 krotnie niższa niż w pozostałych miesiącach (obserwacje własne).

Celem pracy była ocena zawartości składników bioaktywnych w soku z granatu w zależności od sposobu pozyskania soku w warunkach domowych.

Materiały i metody

Materiał badawczy stanowiły 3 partie owoców granatu (I, II i III), zakupione na lokalnym rynku (3 szt./partię) w tym samym czasie (fot. 1).

Z owoców pozyskano miąższ wraz z nasionami, próbkę podzielono na dwie części o jednakowej masie i delikatnie zblendowano. Sok otrzymano dwoma sposobami: (A) – na drodze wyciśnięcia miąższu przez gazę oraz (B) – z użyciem sokowirówki Zelmer ZJE 1200W. Surowe soki otrzymane ww. sposobami dla poszczególnych partii granatów (IA, IB, IIA, IIB, IIIA, IIIB), użyto bezpośrednio do badań. Wszystkie analizy wykonano w dwóch niezależnych powtórzeniach.



Fot. 1. Cechy zewnętrzne granatów wykorzystanych do produkcji soków

Barwę soków porównano w oparciu o pomiar absorbancji dla 5-krotnie rozcieńczonego soku (przefiltrowanego przez sącze MCE 0,4 μm) przy długości fali 510 nm (λ_{max} wyznaczona w oparciu o widmo soku w przedziale 400-700 nm), z użyciem aparatu BioMate 3 (Thermo Sci., Polska). Zawartość ekstraktu ogólnego ($^{\circ}\text{Bx}$) określono refraktometrycznie. Wyznaczono pH (CP-411, Elmetron) oraz kwasowość miareczkową na drodze miareczkowania pH-metrycznego (0,1 M NaOH do pH 8,1), wyrażając wyniki w g kwasu cytrynowego/100 ml soku. Indeks dojrzałości granatów obliczono jako stosunek zawartości ekstraktu i kwasowości miareczkowej [Tehranifar i in., 2010].

Zawartość barwników antocyjanowych oznaczano metodą spektrofotometryczną wg Curtright i in. [1996]. Do 100 μl nierozcieńczonego soku dodawano 2400 μl buforu o pH 1 (25 mM KCl/HCl). W ten sam sposób przygotowano roztwory soków w buforach o pH 4,5 (0,4M $\text{CH}_3\text{COOH}/\text{CH}_3\text{COONa}$) i pH 8,6 (0,1 M glicyna/NaOH). Pomiar absorbancji przygotowanych roztworów wykonano przy długościach fali 510 nm i 800 nm, wobec wody destylowanej. Zawartość antocyjanów [% w/v] w przeliczeniu na cyjanidyno-3-glukozyd (główny składnik soku granatu) obliczono z zależności:

$$(A \times M \times R) \times 100 / \varepsilon$$

gdzie $A = (A_{510} - A_{800})_{\text{pH}1,0} - (A_{510} - A_{800})_{\text{pH}4,5}$,

$M = 449,2$ (masa molowa),

R – współczynnik rozcieńczenia próbki,

$\varepsilon = 26900$ (molowy współczynnik absorpcji dla cyjanidyno-3-glukozydu) [Curtright i in., 1996].

Zawartość witaminy C w soku wyznaczono metodą miareczkowania redoksymetrycznego z użyciem 2,6-dichlorofenoloindofenolu wg PN-71/A/75101.

Do oznaczenia całkowitej zawartości związków polifenolowych zastosowano metodę Folina-Ciocalteu w modyfikacji Li i in. [2006], stosując do kalibracji kwas galusowy (Sigma-Aldrich, USA) w zakresie stężeń 0-30 mg/ml. Wyniki podano w równoważnikach kwasu galusowego (mg GAE/ml soku).

Właściwości antyoksydacyjne soku badano metodą FRAP (ang. Ferric Ion Reducing Antioxidant Power) jako zdolność do redukcji jonu żelaza(III) kompleksowanego przez TPTZ (Sigma-Aldrich, USA) wg Piljac-Zegarac i in. [2009]. Krzywą wzorcową wykonano dla 0,1mM etanolowego roztworu Troloksu (TE; Sigma, USA) w zakresie stężeń 0-50 μmol /próbkę. Całkowitą zdolność redukcyjną obliczono w równoważnikach Troloksu (μmol TE/ml soku).

Pomiar całkowitej zdolności antyoksydacyjnej został przeprowadzony z użyciem testu DPPH, jako zdolność przeciwutleniaczy obecnych w próbce do inaktywacji

wolnego rodnika DPPH (1,1-difenylo-2-pikrylohydrazyl, Sigma-Aldrich, USA). Oznaczenie wykonano wg metody zaproponowanej przez Zych i Krzepińko [2010]. Na podstawie absorbancji (przy $\lambda=517$ nm) wyznaczonej dla próby właściwej (A_p) i ślepej (A_0) obliczono zdolność antyoksydacyjną soku wyrażoną jako:

$$\% \text{ inhibicji} = 100 \times (A_0 - A_p) / A_0.$$

Wyniki zostały przedstawione jako średnie arytmetyczne z dwóch lub trzech (z uwzględnieniem odchylenia standardowego \pm SD) niezależnych oznaczeń. Korelację wyników analiz parametrów aktywności antyoksydacyjnej obliczono przy użyciu testu Spearmana. Obliczenia wykonano z wykorzystaniem programu Statistica 10.

Wyniki i dyskusja

Jakość soku w znacznym stopniu zależy od stanu surowca, z którego został on otrzymany [Tzulker i in., 2007]. Dojrzały owoc granatu powinien mieć ciekłą, gładką i błyszczącą skórkę. Przy zakupie owoców należy wybierać owoce cięższe, ponieważ ponad 50% stanowią wytloki (odpad w warunkach domowych). Wśród badanych partii owoców granatu, w ocenie wizualnej najlepszą jakością charakteryzowały się owoce partii I, jednakże zawartość miąższu w tych owocach była najmniejsza. Dla owoców z partii II i III, mimo niższej masy i pomarszczonej skórki stwierdzono niższą zawartość części odpadowych, odpowiednio o 15 i 10%.

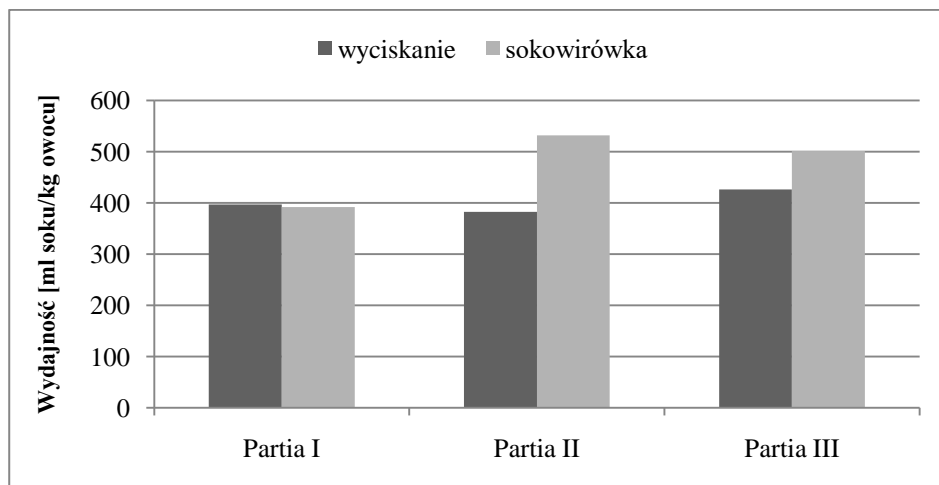
Tabela 1. Charakterystyka owoców granatu wykorzystanych do produkcji soków

Partia granatów	Kraj pochodzenia	Odmiana	Wygląd skórki	Średnia masa owocu [g]	% udział			
					skórka	błony	nasiona	miąższ +sok
I	Indie	Bagwra	błyszcząca, gładka	277,5 \pm 24,3	30,6	7,5	17,7	44,2
II	Indie	Brak danych	błyszcząca, chropowata	200,5 \pm 2,6	22,5	6,7	19,6	51,2
III	Indie	Brak danych	matowa, chropowata	230,0 \pm 7,6	22,3	7,3	21,7	48,7

Z badanych partii owoców pozyskano sok dwoma sposobami: (A) wyciskanie – w warunkach laboratoryjnych ręcznie przez gazę oraz (B) – w sokowirówce. Na rysunku 1 porównano wydajność obu procesów. W przeliczeniu na wyjściową masę owoców największą wydajność uzyskano w przypadku owoców z partii III, przy

czym wydajność produkcji soku z użyciem sokowirówki była o 39 i 18% wyższa dla owoców z odpowiednio partii II i III oraz porównywalna dla partii I.

Zachowanie właściwości prozdrowotnych świeżych owoców wymaga odpowiedniego przygotowania soku. Ostatnio upowszechnia się stosowanie wyciskarek (jedno- lub dwuślimakowych) w domowej produkcji soków z owoców i warzyw. Sok uzyskany przy wykorzystaniu wyciskarek jest gęsty, mętny, z małą ilością piany i większą zawartością substancji odżywczych (tj. witamin, soli mineralnych czy enzymów), wynikającą z braku nagrzewania surowca podczas pracy urządzenia. Otrzymywanie soku z wyciskarki trwa dłużej, ale dzięki temu sam proces przebiega z większą wydajnością. Sokowirówka, w odróżnieniu od wyciskarki, nie miażdży komórek, a rozcina je za pomocą wirujących ostrzy, następnie dzięki sile odśrodkowej pozyskiwany jest sok, który jest klarowny, ale mocno napowietrzony (piana), a poza tym generowane w czasie pracy urządzenia ciepło, redukuje niestabilne termicznie enzymy i witaminy [<http://www.bestcoldpressjuicers.com>].



Rysunek 1. Wydajność procesu pozyskiwania soku z badanych partii granatów w zależności od sposobu wytwarzania

Dla otrzymanych dwoma sposobami soków wyznaczono podstawowe parametry fizykochemiczne (Tab. 2).

Barwa to jeden z podstawowych wyróżników jakościowych soków, szczególnie w ocenie konsumenckiej. Kolor soków może jednak ulegać zmianie w zależności od czasu i warunków przechowywania. Otrzymane wyniki potwierdzają różnice w barwie pozyskanych soków w zależności od jakości surowca. Najbardziej intensywną barwą charakteryzował się sok I i II, przy czym podwyższona

absorbancja obserwowana dla soków A wskazuje na większą mętność soków uzyskanych przez ręczne wyciśnięcie granatów.

Tabela 2. Właściwości fizykochemiczne soków z granatu w zależności od partii owoców (I-III) i metody otrzymywania (A i B).

Parametr	Partia I		Partia II		Partia III	
	A	B	A	B	A	B
Barwa (A_{510nm})	0,642	0,538	0,453	0,370	0,813	0,475
pH soku	3,51	3,73	3,48	3,86	3,47	3,90
Zawartość ekstraktu cukrowego [°Bx]	14,4	14,0	13,7	14,1	14,5	14,2
Kwasowość [g kw. cytrynowego/100 ml]	0,358	0,371	0,397	0,384	0,384	0,384
Indeks dojrzałości*	39,0		35,6		37,4	

* stosunek zawartości ekstraktu i kwasowości ogólnej

Zawartość ekstraktu ogólnego w badanych sokach nie zależała od rodzaju owoców ani sposobu wytwarzania (Tab. 2). Soki charakteryzowały się kwaśnym pH, przy czym pH soków wyciskanych było o 0,2-0,4 jednostki niższe, co może wskazywać na uwalnianie dodatkowych składników o charakterze zasadowym podczas wytwarzania soku w sokowirówce. Znajduje to potwierdzenie w analizie kwasowości badanych soków, która utrzymywała się na stabilnym poziomie (średnio 0,380 g kwasu cytrynowego/100 g soku).

Wyznaczone dla analizowanych soków parametry znajdują potwierdzenie w dostępnej literaturze. Al-Maiman i Ahmad [2002] wykazali, że niezależnie od stadium dojrzałości granatu pH soku wynosi ok. 3,48, a zawartość ekstraktu nieznacznie wzrasta podczas dojrzewania owoców. Podobnie Tehranifar i in. [2010], porównując właściwości soków uzyskanych z 20 odmian granatów produkowanych w Iranie, wykazali zbliżone wartości parametrów, odpowiednio pH 3,16-4,09; ekstrakt ogólny 11,37-15,07 oraz kwasowość miareczkową 0,36-2,44 g kwasu cytrynowego/100 g soku. Ci sami autorzy stosowali indeks dojrzałości jako wskaźnik smaku i zapachu granatów. Wg klasyfikacji stosowanej do oceny dojrzałości owoców granatu indeks dojrzałości dla słodkich odmian granatu powinien wynosić 31-98. Wyznaczona dla badanych partii owoców wartość tego parametru wskazuje, że wszystkie mogą być zaliczone do odmian słodkich, w pełni dojrzałych.

W tabeli 3. przedstawiono wyniki analiz zawartości składników bioaktywnych decydujących o wartości zdrowotnej soków. Antocyjany to jedna z ważniejszych grup przeciwutleniaczy organicznych z klasy flawonoidów, będących glikozydami, w których barwnymi aglikonami są antocyjanidyny. Należą one do związków mało stabilnych [Saluk-Juszczak, 2010]. Zawartość antocyjanów w badanych sokach

kształtowała się na poziomie 6,75-18,74 mg/100 g, co odpowiada wartościom podanym w pracy Tehranifar i in. [2010], którzy obserwowali duże zróżnicowanie odmianowe pod względem zawartości tych barwników (w przedziale 5,56 do 30,11 mg/100 g). Zawartość antocyjanów była zbliżona w soku uzyskanym dla partii I i III, podczas gdy dwukrotnie niższa w soku z granatów II. Ponadto, obserwowano negatywny wpływ zastosowania sokowirówki (soki B) na poziom analizowanych składników, spadek o 38, 11 i 12% odpowiednio dla soku I, II i III.

Tabela 3. Zawartość składników bioaktywnych w sokach z granatu w zależności od partii owoców (I-III) i metody otrzymywania (A i B)

Parametr	Partia I		Partia II		Partia III	
	A	B	A	B	A	B
Antocyjany [mg/100 g]	18,74	11,73	8,77	6,75	18,01	15,84
Witamina C [mg/100 ml]	26,76	9,60	16,91	11,10	15,66	9,09
Związki polifenolowe [mg GAE/100 ml]	675	643	614	479	744	679
Aktywność antyoksydacyjna						
FRAP [μ mol TE/ml]	24,89	27,00	22,09	26,91	25,68	25,33
DPPH [% inhibicji]	69,99	42,58	35,98	31,00	44,46	37,90

Analizowane soki stanowią cenne źródło witaminy C, najbardziej obfite w przypadku soku z partii I (Tab. 3). W zależności od odmiany granatów zawartość witaminy C waha się od 9,91 do 20,92 mg/100 g [Tehranifar i in., 2010], ponadto podczas dojrzewania owoców następuje naturalny spadek zawartości tej witaminy [Kulkarni i in., 2005]. Wykazano, że użycie sokowirówki powoduje straty witaminy C w badanych sokach na poziomie 35-64%. Jest to spowodowane niską stabilnością termiczną witaminy oraz łatwością utleniania (napowietrzanie) szczególnie w kontakcie z elementami tnącymi sokowirówki (śladowe ilości żelaza katalizują utlenianie witaminy C).

Całkowita zawartość związków fenolowych w analizowanych sokach kształtowała się na poziomie 479-774 mg GAE/100 ml, co jest zgodne z wynikami przedstawianymi w innych pracach [Kulkarni i in., 2005; Tehranifar i in., 2010]. Zawartość tych składników była zróżnicowana, zbliżona dla soku I i III, niższa dla soków II. Podczas wytwarzania soku w sokowirówce (B) obserwowano straty związków fenolowych (w granicach 5-22%). Zawartość związków fenolowych była istotnie skorelowana z pozostałymi parametrami opisującymi właściwości antyoksydacyjne soków, z wyjątkiem wyników testu FRAP i zawartości witaminy C (Tab. 4).

Przyczyną może być odmienny mechanizm, na którym oparte są metody FRAP i DPPH, co sprawia że korelacja pomiędzy wynikami jest mocno uzależniona od profilu antyoksydantów, w tym związków polifenolowych, obecnych w analizowanej próbce [Cybul i Nowak, 2008; Zych i Krzepińko, 2010]. Ograniczeniem testu DPPH jest fakt, że odczynnik rozpuszcza się wyłącznie w rozpuszczalnikach organicznych, co nie pozwala na oznaczenie antyoksydantów hydrofilowych (witamina C, antocyjany). Alternatywę dla tego testu, opartą na analogicznym mechanizmie wygaszania barwnego rodnika przez antyoksydanty zawarte w próbce, stanowi analiza z zastosowaniem kationorodnika ABTS, umożliwiająca określenie zdolności antyoksydacyjnych zarówno hydrofobowych, jak i hydrofilowych przeciwutleniaczy [Cybul i Nowak, 2008]. Z kolei metoda FRAP jest bardzo czuła ale mało selektywna, uczestniczą w niej wszystkie obecne w próbce związki redukujące, także te nie będące antyoksydantami [Cybul i Nowak, 2008].

Zdolność redukująca soków analizowana testem FRAP kształtowała się na średnim poziomie 25,32 $\mu\text{mol TE/ml}$ soku. Nie stwierdzono wpływu jakości owoców ani sposobu wytwarzania na poziom analizowanego parametru. Inną tendencję wykazano dla wyników testu DPPH, które były istotnie skorelowane z wynikami pozostałych analiz, za wyjątkiem FRAP (Tab. 4). Z danych umieszczonych w tabeli 3. wynika, że największą zdolność redukcji rodnika DPPH wykazywał sok IA, natomiast najmniejszy % inhibicji wykazywał sok IIB, co może świadczyć z jednej strony o wysokiej zawartości związków przeciwutleniających w granatach partii I, a z drugiej – o destrukcyjnym wpływie procesu wytwarzania soku w sokowirówce na składniki antyoksydacyjne występujące w owocach granatu.

Tabela 4. Współczynniki korelacji Spearmana dla parametrów aktywności antyoksydacyjnej analizowanych soków z granatu

	<i>DPPH</i>	<i>FRAP</i>	<i>TPC</i>	<i>Antocyjany</i>	<i>Witamina C</i>
<i>DPPH</i>	1				
<i>FRAP</i>	-0,066	1			
<i>TPC</i>	0,491	-0,177	1		
<i>Antocyjany</i>	0,734	0,023	0,873	1	
<i>Witamina C</i>	0,840	-0,440	0,274	0,467	1

Wyniki potwierdzające wysoką zdolność soków z granatu do zmiatania wolnego rodnika DPPH znajdują potwierdzenie w dostępnej literaturze. Tezcan i in. [2009] badali 7 rodzajów soków gotowych dostępnych na rynku tureckim w oparciu o test DPPH, FRAP i całkowitą zawartość polifenoli. Wykazali duże zróżnicowanie badanych soków pod kątem badanych parametrów (wskaźnik inhibicji w teście DPPH

dla badanych soków zawierał się w przedziale 10,4-67,5%), przy czym uzyskali istotną statystycznie korelację wyników uzyskanych różnymi metodami ($r > 0,98$).

Zróżnicowana zawartość antyoksydantów w sokach zależy w istotny sposób od zastosowanej technologii produkcji soku [Teixeira da Silva i in., 2013]. W warunkach przemysłowych soki tłoczone są z całego owocu, co umożliwia przechodzenie do soku polifenoli zawartych nie tylko w miąższu, ale także w błonach i skórce. Wykazano, że punikalagina, występująca w skórce jest najbardziej aktywnym antyoksydantem, podczas gdy antocyjany obecne w miąższu odgrywają mniejszą rolę. Tzulker i in. [2007] wykazali, że zawartość polifenoli wzrasta 6,5-krotnie, a aktywność antyoksydacyjna 20-krotnie w soku uzyskanym z całych owoców, w porównaniu do soków uzyskanych przez ręczne wyciskanie w warunkach laboratoryjnych.

Reasumując, prezentowane rezultaty badań stanowią potwierdzenie obserwacji innych autorów, że za aktywność antyoksydacyjną soków z granatu odpowiada szereg związków bioaktywnych, których występowanie jest silnie uwarunkowane jakością surowca. Ponadto, przeprowadzone badania wskazują, że wytwarzanie soku z użyciem sokowirówki powoduje straty składników aktywnych występujących w granatach, lepszym sposobem jest wyciskanie soku, np. w wyciskarce wolnoobrotowej.

Wnioski

1. Pochodzenie i/lub odmiana granatów mają znaczący wpływ na wydajność procesu pozyskiwania soku oraz właściwości antyoksydacyjne soku uzyskanego sposobem domowym.
2. Wytwarzanie soku z użyciem sokowirówki powoduje straty składników antyoksydacyjnych, w tym głównie witaminy C i antocyjanów, w porównaniu do soków uzyskanych przez wyciskanie.
3. Istotna korelacja pomiędzy zdolnością analizowanych soków do neutralizacji rodnika DPPH a zawartością antocyjanów, witaminy C i związków fenolowych wskazuje, że te składniki kształtują antyoksydacyjne właściwości soku z granatu.
4. Niezależnie od jakości surowca i sposobu wytwarzania sok z granatu charakteryzuje się wysoką wartością prozdrowotną.

Literatura

1. Akpınar-Bayazit A., Özcan T., Yılmaz-Ersan L., Yıldız E. Evaluation of Antioxidant Activity of Pomegranate Molasses by 2,2-Diphenyl-1-Picrylhydrazyl (DPPH) Method. *International Journal of Chemical Engineering and Applications*, 2016, 7 (1), 71-74.
2. Akpınar-Bayazit A. Analysis of mineral content in pomegranate juice by ICP-OES. *Asian Journal of Chemistry*, 2010, 22, 6542-6546.

3. Al-Maiman S. A., Ahmad D. Changes in physical and chemical properties during pomegranate (*Punica granatum* L.) fruit maturation. *Food Chemistry*, 2002, 76, 437-441.
4. Bhandari P. R. Pomegranate (*Punica granatum* L). Ancient seeds for modern cure review of potential therapeutic applications. *International Journal of Nutrition, Pharmacology, Neurological Diseases*. 2012, 2, 171-184.
5. Cutright R., Rynearson J. A., Markwell J. Anthocyanins: model compounds for learning about more than pH. *Journal of Chemical Education*, 1996, 73 (4), 306.
6. Cybul M., Nowak R. Przegląd metod stosowanych w analizie właściwości antyoksydacyjnych wyciągów roślinnych. *Herba Polonica*, 2008, 54(1), 68-78.
7. Halvorsen B. L. Zestawienie zawartości przeciwutleniaczy (antyoksydantów) w wybranych produktach spożywczych. *Journal of Nutrition*, 2002, 132, 461-471.
8. Hernández F., Martínez J., Melgarejom P. Evolution of pomegranate juice anthocyanins during the ripening of fruit of three clones: ME16 , VA1 and BA1. *CIHEAM – Options Méditerranéennes*, 2000, 42, 123-127.
9. <http://www.bestcoldpressjuicers.com/>
10. Jacob K. O., Jacob L. M. Granat owoc życia. Wydawnictwo Purana, Majapur, 2006.
11. Kulczyński B., Gramza-Michałowska A. Granat-tropikalny owoc bogaty w związki bioaktywne o właściwościach prozdrowotnych. *Nauka Przyroda Technologia*, 2015, 9 (3), 1-13.
12. Kulkarni A.P., Aradhya S.M. Chemical changes and antioxidant activity in pomegranate arils during fruit development. *Food Chemistry*, 2005, 93, 319-324.
13. Li Y., Guo Ch. Yang J., Wei J., Xu J., Cheng S. Evaluation of antioxidant properties of pomegranate peel extract in comparison with pomegranate pulp extract. *Food Chemistry*, 2006, 96, 254-260.
14. Mercure E. W. The pomegranate: a new look at the fruit of paradise. *HortScience*, 2007, 42, 1088-1092.
15. Pilijac-Zegarac J., Stipcevic T., Belcak A. Antioxidant properties and phenolic content of different floral origin honeys. *Journal of ApiProduct and ApiMedical Science*, 2009, 1 (2), 43-50.
16. PN-71/A/75101. Przetwory owocowe i warzywne. Przygotowanie próbek i metody badań fizykochemicznych. 3.14. Oznaczanie zawartości witaminy C.
17. Rumpel L. Granat – bogate źródło antyutleniaczy. *Panacea*, 2012, 1, 16-17.
18. Saluk-Juszczak J. Antocyjany jako składnik żywności funkcjonalnej stosowanej w profilaktyce chorób układu krążenia. *Postępy Higieny Medycyny Doświadczalnej*, 2010, 64, 451-458.
19. Shiban M.S., Al-Otaibi M.M., Al-Zoreky N.S. Antioxidant activity of pomegranate (*Punica granatum* L.) fruit peels. *Food and Nutrition Sciences*, 2012, 3, 991-996.
20. Tehranifar A., Zarei M., Nemati Z., Esfadiyari B., Vazifeshenas M.R. Investigation of physico-chemical properties and antioxidant activity of twenty Iranian pomegranate (*Punica granatum* L.) cultivars. *Scientia Horticulturae*, 2010, 126, 180-185.
21. Teixeira da Silva J.A., Rana T.S., Narzary D., Verma N., Meshram D.T., Ranade S.A. Pomegranate biology and biotechnology: a review. *Scientia Horticulturae*, 2013, 160, 85-107.
22. Tezcan F., Gultekin-Ozguven M., Diken T., Ozcelik B., Erim F.B. Antioxidant activity and total phenolic, organic acid and sugar content in commercial pomegranate juices. *Food Chemistry*, 2009, 115, 873-877.
23. Tzulker R., Glazer I., Bar-Ilan I., Holland D., Aviram M., Amir R. Antioxidant activity, polyphenol content, and related compounds in different fruit juices and homogenates prepared from 29 different pomegranate accessions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2007, 55, 9559-9570.
24. Zych I., Krzepiłko A. Pomiar całkowitej zdolności antyoksydacyjnej wybranych antyoksydantów i naparów metodą redukcji rodnika DPPH. *Chemia. Dydaktyka. Ekologia. Metrologia*. 2010, 15, 51-54.

WPŁYW RÓŻNYCH ŹRÓDEŁ ŚWIATŁA LED NA WYBRANE WYRÓŻNIKI JAKOŚCI MŁODYCH LIŚCI OWSA I RUKOLI

Streszczenie

Światło należy do najważniejszych czynników wpływających na rozwój roślin. Poza naturalnym światłem słonecznym, rośliny mogą z powodzeniem rosnąć przy sztucznym oświetleniu. W ostatnich latach zwiększa się zainteresowanie wykorzystaniem technologii LED (Light Emitting Diodes) do prowadzenia uprawy tylko i wyłącznie z użyciem sztucznego światła. Na rynku występuje wiele różnych diod LED, różniących się barwą emitowanego światła, a tym samym jego widmem.

Celem podjętych badań była porównawcza ocena wpływu naświetlania lampami LED i rozproszonym światłem słonecznym na zawartość wybranych składników w liściach owsa i rukoli. Ocenie poddano zawartości chlorofilu *a* i *b*, sumy karotenów i ksantofili, suchej masy, białka oraz witaminy C. Fioletowe światło emitowane przez diody RGB (Red, Green, Blue), pozwoliło na uzyskanie roślin charakteryzujących się zwiększoną zawartością barwników, tj. chlorofilu *a* i *b*, a także karotenoidów w porównaniu do światła zimnego i ciepłego. Ponadto obie analizowane rośliny charakteryzowały się obniżoną zawartością witaminy C, w przypadku wariantu uprawianego przy dostępie ciepłego światła LED. Zaobserwowano również, choć w mniejszym stopniu, wpływ sztucznego źródła światła na zawartość białka. W przypadku obu badanych roślin najwięcej tego składnika zawierał wariant uprawiany przy świetle RGB, a najmniej przy świetle ciepłym.

Słowa kluczowe: Diody LED, liście owsa i rukoli, chlorofile, karotenoidy, witamina C

Wprowadzenie

W ostatnim okresie obserwuje się wzrastające zainteresowanie rozwiązaniami LED-owymi w systemach oświetlania jako technologicznie bardziej zaawansowanymi od stosowanych dotychczas. Źródła LED-owe mogą być stosowane nie tylko do oświetlania pomieszczeń czy dróg, ale również podczas wzrostu roślin, zapewniając im optymalny rozwój oraz bardziej wydajne plony. To

wszystko, przy wysokiej oszczędności zużycia energii elektrycznej i długiej żywotności lamp. Dodatkowym atutem jest znaczne obniżenie emisji energii cieplnej emitowanej przez diody LED.

Powszechnie wiadomo, że światło jest jednym z podstawowych czynników warunkujących prawidłowy wzrost i jakość roślin. Istotnym elementem wpływającym na skład komponentów suchej masy jest dobranie optymalnych warunków oświetlenia dla konkretnej rośliny. Rośliny wykorzystują energię świetlną w procesie fotosyntezy, przetwarzając ją na energię chemiczną, w konsekwencji czego powstają węglowodany, białka, lipidy i inne związki organiczne [Woźny, 2012]. Proces ten jest bardzo złożony, podzielony na wiele etapów, wśród których wyróżnić można tzw. fazę świetlną (jasną) oraz fazę nocną (ciemną).

Doświetlanie roślin, a przede wszystkim roślin ozdobnych, jest przedmiotem licznych badań naukowych. W tym celu jako źródło światła powszechnie zastosowanie znalazły nisko i wysokoprężne lampy sodowe. Jak podaje Kurpaska [2004] lampy te charakteryzują się dobrą skutecznością świetlną, a także dużą bezawaryjnością sięgającą ok. 12000 godzin. Ze względu jednak na znaczne zużycie energii elektrycznej, która w ich przypadku w dużym stopniu zamieniana jest na ciepło, a także brak możliwości regulacji charakterystyki spektralnej, wypierane są one powoli przez technologie LED [Grzesiak i in., 2011]. Półprzewodnikowe lampy LED znajdują coraz szersze zastosowanie w doświetlaniu roślin, również dlatego, że charakteryzuje je możliwość łatwej optymalizacji widma promieniowania. Specyfiką diod LED, jest bowiem widmo o wąskim zakresie pasma, tym samym można dobrać taki ich typ aby zakres długości fal świetlnych był optymalny dla określonej rośliny, w danej fazie wzrostu. Dzięki temu mogą one znaleźć zastosowanie jako alternatywne źródło w stosunku do światła słonecznego [Fiutak i in., 2015].

Wiele zielonych roślin jadalnych, potrzebuje odpowiednio długiego naświetlania, aby uzyskać plony wysokiej jakości. Polska znajduje się w strefie klimatu umiarkowanego, charakteryzującego się najdłuższym dniem w miesiącach czerwiec-lipiec, wynoszącym ok. 16 h, natomiast dużo krótszym w miesiącach jesiennych i zimowych. Z tego względu uzasadnione jest prowadzenie badań mających na celu porównanie naświetlania sztucznego z naturalnym światłem słonecznym. Dodatkowym, bardzo ważnym atutem sztucznego oświetlenia, jest możliwość wykorzystania lamp LED również od późnej jesieni do wczesnej wiosny, kiedy występuje deficyt naturalnego światła słonecznego (z punktu widzenia potrzeb roślin), dzięki czemu jakość upraw sztucznie oświetlanych nie jest zależna od pory roku.

Zielone rośliny m.in. liście owsa jak również rukoli są źródłem chlorofili, a także karotenoidów. Związki te są znanymi antyoksydantami, zapobiegają wielu chorobom

i wpływają na prawidłowe funkcjonowanie wzroku [Yeum i in., 1995; Bernstein i in., 2001]. Rukola, dodatkowo jest dobrym źródłem wapnia, żelaza i magnezu. Jak wszystkie warzywa o zielonych liściach obfituje ona w kwas foliowy, a poza tym jest doskonałym źródłem witaminy C [Villatoro-Pulido i in., 2012].

Celem pracy była ocena wpływu naświetlania lampami LED o zróżnicowanej charakterystyce spektralnej na zawartość chlorofilu *a* i *b*, sumy karotenów oraz ksantofili, suchej masy, białka i witaminy C w liściach owsa i rukoli oraz porównanie uzyskanych efektów z plonami wzrastającymi w środowisku rozproszonego światła słonecznego.

Materiał i metody

Materiał badawczy stanowiły uprawiane z nasion: trawa owsa (*Avena L.*) oraz rukieta siewna (*Eruca vesicaria L. subsp. sativa*) potocznie zwana rukolą. Nasiona wysiano do ziemi, do doniczek o wymiarach (26 × 16 × 12 cm), a następnie umieszczono w czterech wariantach oświetlenia. Sztuczne źródło światła stanowiły lampy LED, o różnej charakterystyce spektralnej. Jako pierwszy wariant, zastosowano 54 diody LED RGB o symbolu SMD5050, w których załączono dwa chipy: czerwony i niebieski (z mocą 100%) uzyskując barwę fioletową. Dwa kolejne warianty stanowiły 54 diody o symbolu SMD5630 w kolorze białym ciepłym oraz białym zimnym. Lampy te różnią się między sobą przede wszystkim charakterystyką spektralną (temperatura barwowa: diody ciepłe 3279 K, diody zimne 10032 K). Doświadczenie przeprowadzono w listopadzie. Długość dnia wynosiła ok. 9,5 godziny, z tego względu naświetlanie diodami LED prowadzono również 9,5 godziny każdego dnia. Diody, w równych odległościach, naklejono na powierzchni 20 × 18 cm. Aby ograniczyć emisję ciepła z lamp, dodatkowo chłodzono je wentylatorem o średnicy 6 cm (Intel, 0.27 A). Źródło światła umieszczono w pojemniku kartonowym (wys. 34 cm, szer. 33 cm, dł. 22 cm) wyklejonym folią aluminiową. Kontrolę stanowiła próba rosnąca przy dostępie rozproszonego światła słonecznego (wystawa wschodnia).

Chlorofile oraz karotenoidy oznaczano metodą spektrofotometryczną [Lichtenthaler i Buschmann, 2001]. Do 70-110 mg świeżego produktu, dodawano 100-200 mg tlenu magnezu oraz 4,5 cm³ acetonu i całość homogenizowano przez 60 s homogenizatorem Heidolph Diax 900 (Niemcy). Następnie homogenat odwirowano (2500×g, 10 min) w wirówce MPW-330 (Polska) i mierzono absorbancję supernatantu przy użyciu spektrofotometru PERKIN ELMER Lambda Bio+ (USA), przy długościach fal: 662 nm, 645 nm i 470 nm. Stężenia barwników w ekstrakcie (μg/cm³) obliczano korzystając z następujących wzorów:

$$\text{Chlorofil}_a = 11,24 A_{662} - 2,04 A_{645}$$

Chlorofil_b = 20,13 A₆₄₅ – 4,19 A₆₆₂

Karotenoidy = (1000 · A₄₇₀ – 1,90 · Chlorofil_a – 63,14 · Chlorofil_b)/214

Zawartości poszczególnych barwników w badanym materiale wyrażono w jednostce mg·(100 g)⁻¹ świeżej masy uwzględniając rozcieńczenia wykonywane przy ekstrakcji.

Suchą masę oznaczano w temp. 105°C zgodnie z normą PN-90/A-75101/03, a białko metodą Kjeldahla wykorzystując piec do spalań CH-9230 oraz aparat destylacyjny B-324 (Büchi Labortechnik AG, Szwajcaria) [PN-75/A-04018]. Witaminę C analizowano z wykorzystaniem 2,6-dichloroindofenolu wg PN-A-04019:1998.

Otrzymane wyniki stanowią średnią z 3 niezależnych powtórzeń (4 niezależnych powtórzeń w przypadku barwników roślinnych). Wykonano jednoczynnikową analizę wariancji wykorzystując program Statistica 12.5 StatSoft, istotność różnic porównano testem Tukey'a, przy poziomie istotności $p < 0,05$.

Wyniki i dyskusja

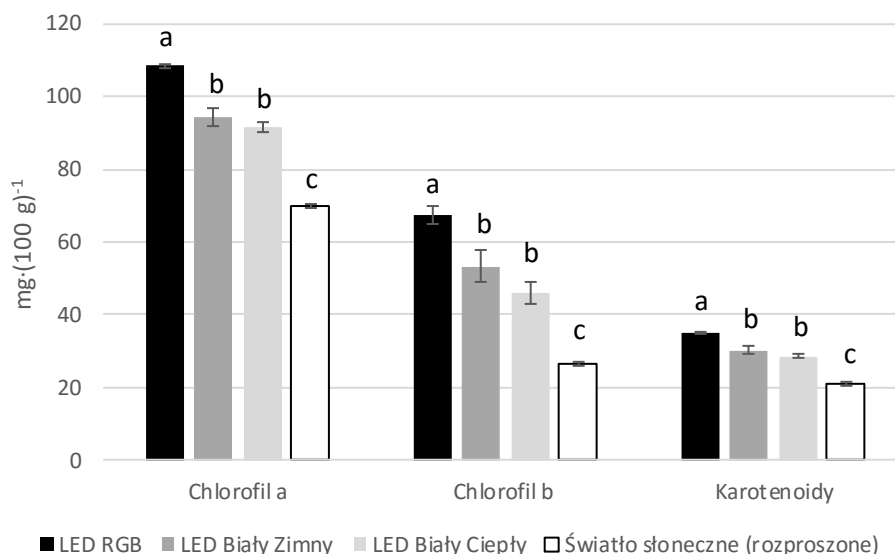
Większość roślin czerpie tzw. energię promienistą, bezpośrednio z promieniowania słonecznego, które jest podstawowym źródłem energii wykorzystywanej przez rośliny w procesie fotosyntezy. Widmo światła widzialnego mieści się w zakresie od 380 nm do 770 nm [Woźny, 2012]. Najbardziej rozpowszechnionymi barwnikami zdolnymi do przeprowadzenia fotosyntezy są chlorofile. Zlokalizowane są one w chloroplastach zielonych komórek liści [Dżugan, 2006]. Razem z karotenoidami biorą udział w przekształcaniu energii słonecznej na energię chemiczną magazynowaną w metabolizowanych związkach organicznych. Rośliny zawierają dwa rodzaje chlorofilu: *a* i *b*. Maksimum absorpcji dla chlorofilu *a* znajduje się w zakresie 430-440 nm, a dla chlorofilu *b* (453-470 nm) (tzw. „maksimum niebieskie”), natomiast „maksimum czerwone” to 660-670 nm dla chlorofilu *a* i 635-645 nm dla chlorofilu *b* [Taiz, 2011, Żupnik i in., 2012]. W badaniach własnych wykazano, że największą koncentracją chlorofilu *a*, charakteryzowały się rośliny uprawiane przy świetle fioletowym, emitowanym przez diody LED RGB, co być może wiąże się z charakterystycznym spektrum tych lamp. Diody RGB maksimum niebieskie mają przy ok. 445 nm, a czerwone ok. 630 nm. Są to wartości bardzo zbliżone do maksimum zielonych barwników, jakie podają Taiz [2011] oraz Żupnik i in. [2012]. Inaczej wygląda sytuacja w przypadku światła białego, emitowanego przez diody LED. Zarówno światło zimne (charakteryzujące się większym udziałem barwy niebieskiej), jak i ciepłe (w którym przeważa światło o długości fali 570-612 nm, co odpowiada barwie pomarańczowej), charakteryzują się spektrum, które odbiega od maksimum absorpcji dla chlorofilu. Różnice te są zwłaszcza widoczne, w przypadku „maksimum czerwonego”, u których jak

wspomniano wyżej dla chlorofili zawiera się w przedziale ok. 635-670 nm. Różnice w charakterystyce spektralnej zastosowanych źródeł światła, przełożyły się na koncentrację barwników chlorofilowych (Rys. 1 i 2). Liście owsa uprawiane w sztucznym świetle białym (LED zimny i LED ciepły), zawierały o 13-15,7% mniej chlorofilu *a*, w porównaniu do wariantu z lampą LED RGB. W przypadku rukoli, różnica ta była jeszcze większa i wynosiła 21,7-23,4%. Powyższa tendencja występowała także w przypadku drugiego chlorofilu. Zarówno owies, jak i rukola zawierały również najwięcej chlorofilu *b* w przypadku uprawy przy dostępie światła fioletowego (LED RGB) było to odpowiednio $67,52 \pm 2,58$ i $40,08 \pm 4,83$ $\text{mg} \cdot (100 \text{ g})^{-1}$ ś.m. Analogicznie jak miało to miejsce dla chlorofilu *a*, uprawy ze sztucznego białego światła charakteryzowały się także mniejszą jego zawartością o 21,7-31,7% w przypadku owsa i o 22,6-25,8% dla rukoli.

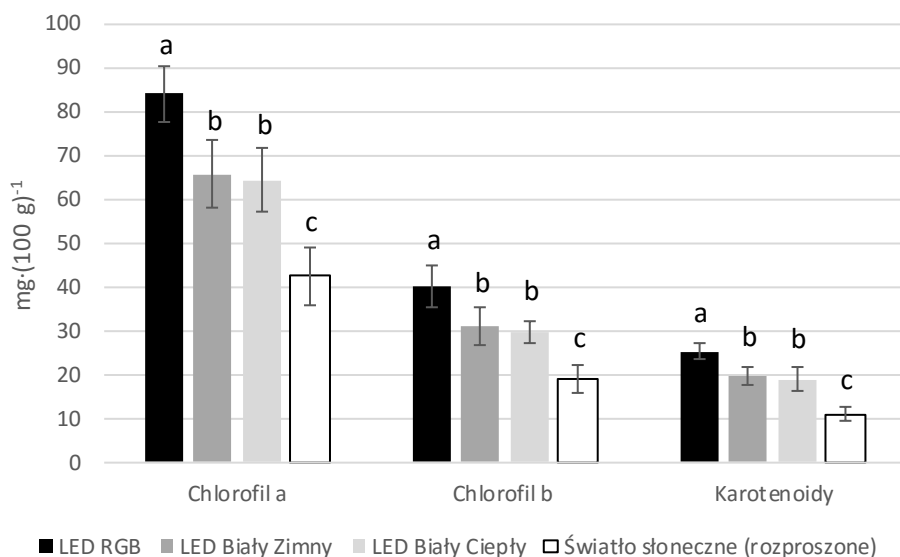
Polska znajduje się w środkowej Europie, gdzie w miesiącach jesiennych występuje deficyt światła słonecznego. Przekłada się to na niższe plony roślin uprawianych w tym czasie., zarówno w polu jak i w pomieszczeniu. Przeprowadzone doświadczenie potwierdza ten deficyt świetlny, gdyż w każdym badanym przypadku wariant uprawiany w rozproszonym świetle słonecznym zawierał zdecydowanie mniej zielonych barwników. Owies z naturalnego światła charakteryzował się mniejszą koncentracją sumy barwników chlorofilowych o 45,4; 35,0 i 30,1% odpowiednio od owsa wyhodowanego przy dostępie LED-owego światła: RGB, białego zimnego i białego ciepłego. Analogiczne relacje wystąpiły w przypadku rukoli, gdzie stężenie chlorofili w roślinie rosnącej przy naturalnym świetle było mniejsze odpowiednio o 50,4; 36,3 i 34,6%.

Zielone rośliny, poza dominującymi barwnikami zielonymi, są także źródłem barwników karotenoidowych. Zawartości tych związków są również uzależnione od warunków oświetlenia [Pilarski i in., 2012]. Ich funkcje można podzielić w zależności od intensywności oświetlenia. W warunkach silnego światła chronią roślinę przed jego nadmiarem, natomiast gdy występuje niedosyt oświetlenia, absorbują promieniowanie i przekazują energię na chlorofil, wspomagając w ten sposób energetycznie układ fotosyntetyczny. Poza ochronną funkcją u roślin, związki te są bardzo ważne w ludzkiej diecie, pełnią kluczową rolę w prawidłowym odżywianiu funkcjonowaniu organizmu [Schwartz i in., 1997; Cunningham i Gantt, 1998; Havaux, 1998; Ledford i Niyogi, 2005]. Karotenoidy, podobnie jak chlorofile syntetyzowane są przy odpowiednim spektrum świetlnym. Jak podaje Pilarski i in. [2012], zakres absorpcji dla karotenoidów mieści się w zakresie 400-500 nm z maksymami przy około 420 nm, 450 nm i 480 nm. A zatem, rośliny w różny sposób reagują na różne długości fal światła [Goins i in., 1997; Xu i in., 2011; Jung i in., 2013 r.]. Wu i in. [2007] twierdzą, że zawartość karotenoidów w siewkach grochu

była większa w grupie naświetlanej światłem czerwonym, w porównaniu do próby ze światła niebieskiego. W badaniach własnych, różnice w widmie widoczne były głównie w obrębie światła niebieskiego. Zarówno diody emitujące światło białe ciepłe, jak również białe zimne charakteryzowały się zbliżonymi wartościami zakresu absorpcji w przedziale 514-600 nm, maksimum czerwone dla diod RGB było bardziej przesunięte w stronę czerwieni (598-654 nm), co mogło mieć wpływ na większą koncentrację tych barwników. Największą koncentrację karotenoidów odnotowano w liściach owsa ($34,95 \pm 0,42 \text{ mg} \cdot (100 \text{ g})^{-1} \text{ ś.m.}$) uprawianych przy dostępie fioletowego światła LED, a najmniejszą w rukoli rosnącej w rozproszonym świetle słonecznym ($11,03 \pm 1,51 \text{ mg} \cdot (100 \text{ g})^{-1} \text{ ś.m.}$). W obydwu analizowanych roślinach, sztuczne światło pozwoliło na uzyskanie surowca charakteryzującego się wyższą koncentracją tych barwników. Owies z naturalnego światła zawierał odpowiednio o 40,3; 31,0 i 27,1% mniej karotenoidów w porównaniu z owsem ze światła RGB fioletowego, LED zimnego i ciepłego, natomiast w drugiej analizowanej roślinie różnice te były jeszcze większe i wynosiły 56,5; 43,8 i 41,8%. Tak duże rozbieżności między światłem naturalnym i sztucznym mogły wynikać, z deficytu światła słonecznego (częste zachmurzenia) w okresie uprawy roślin. Z tego względu, niewątpliwym atutem uprawy roślin z udziałem sztucznego światła jest niezależność od warunków atmosferycznych.



Rysunek 1. Porównanie zawartości barwników roślinnych: chlorofilu *a* i *b* oraz sumy karotenów i ksantofili w liściach owsa (*Avena L.*), uprawianych przy dostępie światła z różnych źródeł (a, b, c - wartości średnie oznaczone różnymi literami w obrębie jednego barwnika różnią się statystycznie istotnie, $p < 0,05$).



Rysunek 2. Porównanie zawartości barwników roślinnych: chlorofilu *a* i *b* oraz sumy karotenów i ksantofili w liściach rukoli (*Eruca vesicaria* L. subsp. *sativa*), uprawianych przy dostępie światła z różnych źródeł (a, b, c - wartości średnie oznaczone różnymi literami w obrębie jednego barwnika różnią się statystycznie istotnie, $p < 0,05$).

W trakcie wzrostu roślin, poza zmianami w obrębie barwników, zarówno chlorofilowych jak i karotenoidów, zmienna była zawartość suchej masy, białka i witaminy C. W pracy wykazano, że sucha masa zależała od warunków oświetlenia w jakich wzrastały rośliny (Tab 1.). Ponadto stwierdzono, że w obydwu analizowanych przypadkach, więcej suchej masy miały rośliny, uprawiane na świetle charakteryzującym się widmem z większym udziałem barwy niebieskiej (diody RGB, jak również LED białe zimne). Owies z ciepłego światła, zawierał mniej suchej masy odpowiednio o 16,2 i 12,5% niż ze światła filetowego i białego zimnego, a rukola mniej o 9,4 i 9,3%. Najmniejszą suchą masę liści owsa stwierdzono w próbie ze światła naturalnego ($8,15 \pm 0,62 \text{ g} \cdot (100 \text{ g})^{-1}$ ś.m.), natomiast w przypadku rukoli nie udało się uzyskać na tyle dużo surowca, aby oznaczyć suchą masę. Podobne tendencje ilościowe odnotowano w przypadku zawartości białka w liściach analizowanych roślin. Ten ważny składnik odżywczy występował w największej ilości również w obiektach pozyskanych z uprawy na świetle LED RGB, a najmniej było go w plonie zebranym ze światła naturalnego. Rośliny rosące przy niedoborze światła, charakteryzowały się wydłużoną łodygą, co przekładało się na wysokość rośliny, a także na jej sztywność. Długa łodyga była wiotka, co w konsekwencji powodowało łamanie się roślin pod ciężarem liści i gnicie w kontakcie z wilgotnym podłożem. Problem ten nie występował w przypadku upraw w sztucznym świetle,

gdzie rośliny były niższe i o zdecydowanie mocniejszej i sztywniejszej łodydze. Różnice w zawartości witaminy C w wariantach uprawy prowadzonych przy dostępie różnych rodzajów światła były znaczące. Wyraźnie większe wartości stwierdzono w świetle charakteryzującym się większą składową niebieskiej barwy (światło RGB i zimne LED) w porównaniu do światła ciepłego, a szczególnie światła naturalnego.

Tabela 1. Zawartość suchej masy, białka i witaminy C w świeżych liściach owsa (*Avena L.*) i rukoli (*Eruca vesicaria L. subsp. sativa*)

Roślina	Wariant oświetlenia	Sucha masa [g·(100g) ⁻¹ ś.m.]	Białko [g·(100g) ⁻¹ ś.m.]	Witamina C [mg·(100g) ⁻¹ ś.m.]
OWIES	LED RGB	11,20 ^a ± 0,48	3,39 ^a ± 0,04	97,88 ^a ± 3,21
	LED Zimny	10,73 ^a ± 0,29	2,99 ^b ± 0,05	94,54 ^a ± 2,42
	LED Ciepły	9,39 ^b ± 0,56	2,48 ^c ± 0,03	66,58 ^b ± 2,16
	Światło słoneczne	8,15 ^c ± 0,22	2,37 ^d ± 0,04	49,64 ^c ± 1,81
	rozproszone			
RUKOLA	LED RGB	8,23 ^a ± 0,33	1,93 ^a ± 0,04	106,21 ^a ± 2,95
	LED Zimny	8,22 ^a ± 0,48	1,87 ^{ab} ± 0,09	104,09 ^a ± 6,17
	LED Ciepły	7,46 ^b ± 0,62	1,77 ^b ± 0,02	87,58 ^b ± 8,93
	Światło słoneczne	–	–	–
	rozproszone			

a, b, c - wartości średnie oznaczone różnymi literami w obrębie jednego wyróżnika i rośliny różniącą się statystycznie istotnie (p < 0,05)

Podsumowanie i wnioski

Stwierdzono znaczący wpływ rodzaju oświetlenia na wyróżniki jakości (chlorofile, karotenoidy, witaminę C i białka), zielonych roślin, owsa i rukoli. Odnotowano pozytywny wpływ fioletowego światła, emitowanego przez diody LED RGB, na koncentrację barwników roślinnych. Obydwie analizowane rośliny uprawiane w tym świetle charakteryzowały się największą zawartością wszystkich analizowanych barwników. Ponadto, wykazano że światło o większym udziale, w charakterystyce spektralnej, barwy niebieskiej wpływa na większą koncentrację w roślinach suchej masy i białka, a także witaminy C. W miesiącach, w których występuje deficyt świetlny, uzasadnione jest doświetlanie lub całkowita uprawa w świetle emitowanym przez źródła sztuczne. Mogą to być diody LED, których widmo jest zbliżone do maksimum absorpcji chlorofilu *a* i *b*. W pracy odnotowano, że w przypadku uprawy traw owsa i rukoli najlepszym rozwiązaniem jest użycie diod RGB skonfigurowanych na fioletowy kolor światła, a w następnej kolejności diod emitujących światło białe zimne lub białe ciepłe.

Badania zostały sfinansowane z dotacji przyznanej przez MNiSW na działalność statutową.

Literatura

1. Bernstein P.S., Khachik F., Carvalho L.S., Muir G.J., Zhao D.Y., Katz N.B. Identification and quantitation of carotenoids and their metabolites in the tissues of the human eye. *Experimental Eye Research*, 2001, 72, 215-223.
2. Cunningham, F.X., Gantt, E. Genes and enzymes of carotenoid biosynthesis in plants. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 1998, 49, 557-583.
3. Dżugan M.: Czynniki wpływające na stabilność zielonych barwników roślin. *Zeszyty Naukowe* 2006, 7, Południowo-Wschodni Oddział PTIE, PTG Oddział Rzeszów.
4. Fiutak G., Macura R., Surówka K., Majcherczyk J. Effect of LED lighting on the nutritional value of young oat grass. *Mladí vedci – bezpečnosť potravínového reťazca zborník abstraktov*, 2015, 94-97.
5. Goins, G.D., Yorio, N.C., Sanwo, M.M., Brown, C.S. Photomorphogenesis, photo-synthesis, and seed yield of wheat plants grown under red light-emitting diodes (LEDs) with and without supplemental blue lighting. *Journal of Experimental Botany*, 1997, 48, 1407-1413.
6. Grzesiak W., Bieńkowski A., Żupnik M., Wojciechowska R., Kołtun A., Kurpaska S. Nowoczesne systemy doświetlania roślin oparte o najnowsze osiągnięcia technologii SSL LED. *Elektronika: konstrukcje, technologie, zastosowania*, 2011, 52(6), 137-139.
7. Havaux, M. Carotenoids as membrane stabilizers in chloroplasts. *Trends Plant Sci.* 1998, 3, 147–151.
8. Jung, E.S., Lee, S., Lim, S.H., Ha, S.H., Liu, K.H., Lee, C.H. Metabolite profiling of the short-term responses of rice leaves (*Oryza sativa* cv. *Illi*) cultivated under different LED lights and its correlations with antioxidant activities. *Plant Science*, 2013, 210, 61-69.
9. Kurpaska S. Technika doświetlania roślin. *Hasło Ogrodnicze*, 2004, 07, 1-14
10. Ledford, H.K., Niyogi, K.K. Singlet oxygen and photo-oxidative stress management in plants and algae. *Plant Cell Environ.* 2005, 28, 1037-1045.
11. Lichtenthaler H.K., Buschmann C. Extraction of photosynthetic tissues: Chlorophylls and Carotenoids. *Mesurment and characterization by UV-VIS spectroscopy. Current Protocols in Food Analytical Chemistry*, 2001. F4.2.1-F4.2.6, F4.3.1-F4.3.8.
12. Pilarski J., Tokarz K. Kocurek M. Adaptacja roślin do składu spektralnego i intensywności promieniowania. *Prace Instytutu Elektrotechniki*, 2012, 256, 223-236.
13. PN-75/A-04018. Produkty rolniczo-żywnościowe. Oznaczanie azotu metodą Kjeldahla i przeliczanie na białko.
14. PN-90/A-75101/03. Przetwory owocowe i warzywne. Przygotowanie próbek i metody badań fizykochemicznych. Oznaczanie zawartości suchej masy metodą wagową.
15. PN-A-04019:1998. Produkty spożywcze. Oznaczanie zawartości witaminy C.
16. Schwartz, S.H., Tan, B.C., Gage, D.A., Zeevaert, J.A., McCarty, D.R. Specific oxidative cleavage of carotenoids by VP14 of maize. *Science* 1997, 276, 1872-1874.
17. Taiz L., Zeiger E. *Plant Physiology*, 5th Ed. Sinauer Associates Inc., Sunderland, Massachusetts, 2011, 126-131.
18. Villatoro-Pulido M., Font R., Saha S., Obregón-Cano S., Anter J., Muñoz-Serrano A., De Haro-Bailón A., Alonso-Moraga A., Del Río-Celestino M. In vivo biological activity of rocket extracts (*Eruca vesicaria* subsp. *sativa* (Miller) Thell) and sulforaphane. *Food and Chemical Toxicology*, 2012, 50(5), 1384-1392.
19. Woźny A. Zastosowanie światła w kontroli wzrostu i rozwoju roślin ozdobnych. *Prace Instytutu Elektrotechniki*, 2012, 255, 225-234.
20. Wu, M.C., Hou, C.Y., Jiang, C.M., Wang, Y.T., Wang, C.Y., Chen, H.H., Chang, H.M. A novel approach of LED light radiation improves the antioxidant activity of pea seedlings. *Food Chemistry*, 2007, 101, 1753-1758.
21. Xu, J., Liu, B.Z., Liu, X., Gao, H.J., Deng, X.X. Carotenoids synthesized in citrus callus of different genotypes. *Acta Physiologiae Plantarum*, 2011, 33, 745-753.
22. Yeum K.J., Taylor A., Tang G., Russell R.M. Measurement of carotenoids, retinoids, and tocopherols in human lenses. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 1995 36, 2756-2761.
23. Żupnik M., Grzesiak W., Wojciechowska R., Kurpaska S. Programowalny system doświetlania roślin zbudowany w oparciu o technologię SSL LED. *Inżynieria Rolnicza*, 2012, 2(136), 361-369.

WYBRANE WŁAŚCIWOŚCI FUNKCJONALNE I PRZECIWIUTLENIAJĄCE IZOLATU BIAŁKOWEGO PESTEK ARBUZA (*CITRULLUS LANATUS*)

Streszczenie

Celem badań była charakterystyka składu chemicznego nasion arbuza (*Citrullus lanatus*) oraz wybranych właściwości funkcjonalnych i przeciwutleniających wyizolowanego z nich białka.

Analiza składu chemicznego nasion arbuza potwierdziła, że są one dobrym źródłem białka oraz tłuszczu. Proces izolacji białka pozwolił uzyskać preparat o wysokiej jego zawartości (73%) w stosunku do surowca (20% s.m.).

W celu zidentyfikowania frakcji białkowych w nasionach, izolacie białka, w miąższu i skórce arbuza wykorzystano metodę elektroforetycznego rozdzielania białek techniką SDS-PAGE. Wykazano, że główną frakcją białek nasion oraz izolatu stanowi kwasowa podjednostka 11S globuliny o masie cząsteczkowej 32 kDa. W miąższu i skórce stwierdzono brak wyróżniających się pasm, które odpowiadałyby dominującej frakcji o jednej, określonej masie cząsteczkowej. Potwierdzono również (metodami FRAP, ABTS i DPPH), że nasiona i izolat wykazują aktywność przeciwutleniającą.

Badanie właściwości funkcjonalnych pokazało, że izolat białkowy ma znikome właściwości pianotwórcze, ale dobre właściwości emulgujące. Zawiesiny otrzymane z izolatu białka w porównaniu do homogenatu surowca łatwiej tworzyły emulsje, które były jednocześnie bardziej trwałe.

Wprowadzenie

Arbuz (*Citrullus lanatus*), inaczej zwany kawonem, jest gatunkiem rośliny z rodziny dyniowatych (*Cucurbitaceae*). Pochodzi z centralnej i południowej Afryki, gdzie występują formy dzikie o owocach gorzkich, a także pastewne oraz jadalne. Choć uprawa arbuza, ze względu na wysokie wymagania cieplne, jest dość trudna, od kilku lat obserwuje się wzrastające zainteresowanie jego uprawą również w Polsce [Razavi i Milani, 2006; Wichrowska i in., 2007; Hanan i Ahmed, 2013].

Owoce arbuza mają w swoim składzie około 90% wody, a ich wartość energetyczna wynosi zaledwie 30 kcal na 100 g. Są więc doskonałym pokarmem dietetycznym i środkiem tonizującym, zalecanym osobom dbającym o sylwetkę. Dzięki obecności

kwasów organicznych, takich jak jabłkowy i cytrynowy, owoce mają przyjemny, słodki i orzeźwiający smak. Arbuza, obok pomidora i różowego grapefruta jest głównym źródłem likopenu, zawiera także wiele witamin [Charoensiri i in., 2009; Isabelle i in., 2010; Jayaprakasha i in., 2011; Rawson i in., 2011; Fernández-García i in., 2012; Kim i in., 2014].

W miąższu owoców znajdują się liczne nasiona, bogate w białko, nienasycone kwasy tłuszczowe (białko i tłuszcz stanowią łącznie ok. $\frac{3}{4}$ masy nasion), witaminy z grupy B oraz znaczące ilości minerałów, przede wszystkim fosforu, magnezu, manganu i cynku, a także potasu i wapnia. W niektórych rejonach świata, m.in. w Nigerii i krajach Środkowego Wschodu, z nasion arbuza pozyskuje się olej, w innych z kolei stosuje się je jako przyprawę, środek zagęszczający do zup, materiał do dekorowania potraw lub jako przekąskę. Wykorzystywane są one również od wieków w medycynie alternatywnej. Na atrakcyjność nasion arbuza ma wpływ korzystny skład aminokwasowy oraz obecność wielu związków o działaniu potencjalnie prozdrowotnym oraz funkcjonalnym, a także stosunkowo nieduża ilość czynników antyżywnościowych, takich jak inhibitor trypsyny i kwas fitynowy [El-Adaway i Taha, 2001; Iakshmi i Kaul, 2011; Shan i in., 2011; Wani i in., 2011a].

Spośród aminokwasów białko z pestek arbuza zawiera najwięcej kwasu glutaminowego oraz argininy, której jest więcej niż w innych nasionach roślin oleistych, między innymi w soi czy orzeszkach ziemnych. Arginina korzystnie wpływa na stan osób cierpiących na chorobę wieńcową oraz podwyższone ciśnienie krwi. Ważna jest także dla osób czynnie uprawiających sport, ponieważ przyspiesza regenerację komórek mięśniowych dzięki ich lepszemu dotlenieniu. Ponadto wpływa na zwiększenie syntezy hormonu wzrostu - somatotropiny, odpowiedzialnej za regenerację organizmu człowieka. Wśród innych aminokwasów, wchodzących w skład nasion arbuza, szczególne znaczenie mają tryptofan, kwas glutaminowy i lizyna, gdyż wpływają korzystnie na układ nerwowy, polepszając koncentrację oraz zmniejszając zmęczenie wynikające z wyczerpanej pracy intelektualnej [Gopalan i in., 1989; El-Adaway i Taha, 2001; Iakshmi i Kaul, 2011; Jayaprakasha i in., 2011; Wani i in., 2011a; Wani i in., 2011b].

Celem badań była charakterystyka składu chemicznego nasion arbuza (*Citrullus lanatus*) oraz wybranych właściwości funkcjonalnych i przeciwutleniających wyizolowanego z nich białka.

Materiały i metody

Materiał badawczy stanowiły oczyszczone nasiona arbuza zwyczajnego (*Citrullus lanatus*), które po wyodrębnieniu z owoców zmielono w urządzeniu Thermomix (Vorwerk) i przechowywano w szczelnym pojemniku w temperaturze -30°C do momentu wykorzystania w dalszych badaniach.

Ze zmielonych nasion arbuza przygotowano izolat białkowy metodą strącenia białka w punkcie izoelektrycznym z zasadowego ekstraktu (pH 10, temp. 30°C) stosując modyfikacje własne [El-Adawy i in., 2001]. Otrzymany precypitat białka zawieszono w wodzie dejonizowanej w stosunku 1:9, a następnie zobojętniono do pH 7,0. Tak przygotowany izolat zamrożono, a następnie poddano liofilizacji. Uzyskany preparat przechowywano w szczelnym pojemniku w temp. -30°C do momentu wykorzystania w dalszych badaniach.

W izolacie białkowym oznaczono procentową zawartość: białka ogólnego - na podstawie ilości azotu ogólnego oznaczonego metodą Kjeldahla w zautomatyzowanym zestawie Büchi Distillation Unit B-324 (Szwajcaria) wg PN-75/A-04018. Zbadano także wybrane właściwości funkcjonalne: emulgujące i pianotwórcze.

Właściwości emulgujące zbadano metodą turbidymetryczną z modyfikacjami własnymi [Pearce i Kinsella 1978]. Badany produkt w ilości odpowiadającej 5 g białka/dm³ rozpuszczono w 50 cm³ buforu fosforanowego o stężeniu 0,1 mol/dm³ i pH 7,0. Następnie pobrano 15 cm³ tak sporządzonego roztworu i dodano 5 cm³ oleju rzepakowego. Powstałą mieszaninę homogenizowano przez 1 min (homogenizatorem DiAx 900, Heidolph, Schwabach, Niemcy). Następnie pobrano próbki emulsji w ilości 0,05 cm³, jedną bezpośrednio po zakończonym procesie, drugą po 5 minutach. Próbkę tę rozcieńczono 10 cm³ 1% roztworu SDS i niezwłocznie mierzono turbidancję, odpowiednio A0 i A5, względem roztworu SDS użytego do rozcieńczenia. Do pomiaru turbidancji wykorzystano spektrofotometr Helios Delta (Thermo Electron Corporation) oraz kuwety o długości drogi optycznej 1 cm. Pomiar wykonano przy długości fali $\lambda = 500$ nm.

Uzyskane wyniki pomiarów wykorzystano do obliczenia:

- aktywności emulgowania: $EA = 2T$, przy czym $T = 2,303A_0/l$, gdzie T – mętność, l - długość drogi optycznej [cm], A₀ – turbidancja mierzona niezwłocznie po homogenizacji;

- stabilność emulsji: $ES = A_0 \times 5 \text{min} / (A_0 - A_5)$, gdzie A₀ – turbidancja mierzona niezwłocznie po homogenizacji, A₅ – turbidancja mierzona 5 min po homogenizacji.

Właściwości pianotwórcze badano w następujący sposób. Sporządzono 100 cm³ roztworu odpowiadającego 2% stężeniu białka (w/v) i pozostawiono na 15 min. Następnie do otwartej butelki z podziałką, u dołu której zamocowany był wlot gazu z przepływającym powietrzem (24 cm³/s), wiano górnym otworem 100 cm³ badanego roztworu i rozpoczęto pomiar czasu. Oznaczenie polegało na pomiarze czasu osiągnięcia przez pianę objętości 1000 cm³ (τ [s]), następnie niezwłocznym ściągnięciu strzykawką cieczy, z której nie wytworzyła się piana v_1 [cm³]. Utworzoną pianę pozostawiono na 5 min, po czym ściągnięto uwolnioną ciecz v_2 [cm³]. W ten sposób uzyskano dane do wyznaczenia: zdolności pienienia (FC - objętość utworzonej piany w stosunku

do wtłoczonego w nią powietrza), wydajności pienienia (FO - stosunek objętości gazu w pianie do objętości cieczy, z udziałem której ona powstała), stabilności piany (FS jako LD5 - ilość cieczy zawartej w pianie wydzielonej w ciągu 5 min w stosunku do całej cieczy zawartej w pianie tuż po zakończeniu napowietrzania).

Na podstawie uzyskanych wyników obliczono:

- zdolność pienienia: $FC[\%] = (1000 - v_1) \times 100\% / 5,2 \times \tau$, gdzie v_1 [cm^3] – objętość cieczy, z której nie została utworzona piana po napowietrzeniu, τ [s] – czas potrzebny do napowietrzenia piany do objętości 1000 cm^3 ;

- wydajność pienienia: $FO = 900 / (100 - v_1)$;

- stabilność piany: $LD_5 = v_2 \times 100\% / (100 - v_1)$, gdzie v_1 [cm^3] – objętość cieczy, z której nie została utworzona piana po napowietrzeniu, v_2 [cm^3] – objętość cieczy, która uwolniła się z piany po upływie 5 min od napowietrzenia [Waniska i Kinsella, 1979].

Próbki do elektroforezy przygotowano w następujący sposób: do odważonego produktu dodano wodę dejonizowaną w stosunku 1:9 (zarówno w przypadku nasion, jak i izolatu białka z nasion), następnie całość odstawiono na 30 minut. Po tym czasie roztwór poddano homogenizacji przez 1 minutę (Homogenizator DiAx 900, Heidolph, Schwabach, Niemcy). Z tak przygotowanej zawiesiny pobrano $0,1 \text{ cm}^3$, przeniesiono do próbówki Eppendorfa i dodano w stosunku 1:1 bufor denaturujący, zawierający merkaptoetanol i SDS. Po szczelnym zamknięciu próbówki Eppendorfa próbkę dokładnie wymieszano i umieszczono na 90 sekund we wrzącej łaźni wodnej. Po upływie tego czasu próbkę schłodzono i przechowywano w temperaturze -40°C aż do momentu przeprowadzenia rozdziału elektroforezy.

Elektroforezę SDS-PAGE przeprowadzono z wykorzystaniem standardowej procedury i użyto zestawu Hoefer Mighty Small II SE 260 [Laemmli, 1970]. Rozdział białek prowadzono w żelu o stężeniu akrylamidu 12,5% i zastosowano stałe natężenie prądu 40 mA. Po zakończeniu rozdziału żele wybarwiono w roztworze Coomassie Blue R-250 i odbarwiano do momentu całkowitego odbarwienia tła żelu. Następnie żele zeskanowano i poddano analizie z wykorzystaniem programu Image Master TotalLab firmy Amersham Pharmacia Biotech. Do wyznaczenia mas cząsteczkowych białek wykorzystano krzywą kalibracyjną wykonaną na podstawie rozdziału białek wzorcowych (SDS6H2 SIGMA Molecular Weight Marker i SDS7 SIGMA Molecular Weight Marker).

Aktywność antyoksydacyjną 5% ekstraktów wodnych zmielonych nasion arbuza i izolatu białkowego zbadano trzema metodami:

- 1) z użyciem trwałego wolnego rodnika DPPH[•] (2,2-difenylo-1-pikrylohydrazylu) na podstawie metody Brand-Williams i in. [1995],

- 2) z użyciem trwałego wolnego kationorodnika ABTS^{•+} (2,2'-azyno-bis(3-etylobenzotiazolino-6-sulfonian)) według Re i in. [1999],

3) FRAP (Ferric Iron Reducing Antioxidant Parameter) według Benzie i Strain [1996].

Do pomiarów absorbancji wykorzystano spektrofotometr Super Aquarius 9500 (Cambridge, Anglia).

Wyniki i dyskusja

Proces izolacji białka przez jego wytrącenie z ekstraktu alkalicznego w punkcie najmniejszej rozpuszczalności przyczynił się do uzyskania preparatu o zawartości protein 73%, znacznie przekraczającej ich poziom w surowcu (10%). Odnosząc się do danych zawartych w literaturze [Iakshmi, 2011], otrzymano nieco niższą efektywność izolacji, niż autorzy cytowanych badań, którzy uzyskali preparat zawierający 87,93% białka. Metoda izolacji białka zastosowana w doświadczeniu umożliwiła mimo tego pozyskanie wysoko skoncentrowanego preparatu białka.

Właściwości funkcjonalne nasion arbuza oraz ich izolatu białkowego

Uzyskany w ramach niniejszych badań izolat białka nasion arbuza wykazał znikome właściwości pianotwórcze. Spienienie 100 cm³ 2% roztworu izolatu białka spowodowało utworzenie zaledwie 50 cm³ bardzo nietrwałej piany. Badania przeprowadzone przez El-Adawy i Taha [2001] również wskazują na niską zdolność pienienia izolatu białka nasion arbuza oraz znikomą stabilność piany. Tak słaba zdolność pienienia może być spowodowana niską rozpuszczalnością białek zawartych w nasionach arbuza. Prawdopodobnie znaczenie miał również fakt, iż surowiec przed izolacją białka nie był odtłuszczany.

Wyniki przeprowadzonych badań wskazują, że badane preparaty izolatu białka nasion arbuza oraz zmielonego surowca wykazują zdolność tworzenia emulsji. W przypadku izolatu aktywność emulgowania wynosiła $1,89 \pm 0,09$ cm² i wartość ta jest wyższa niż w przypadku rozdrobnionych pestek ($1,67 \pm 0,07$ cm²). Iakshmi [2011] w swoich badaniach również wykazał, że izolat białka z nasion arbuza ma większą aktywność emulgowania niż mąka z odtłuszczonych nasion. Otrzymane przez niego wartości są jednak niższe: ok. 0,7 cm² w przypadku izolatu oraz ok. 0,5 cm² dla nasion arbuza. Stabilność badanych w ramach niniejszej pracy emulsji wynosiła: $19,29 \pm 0,96$ min dla izolatu białkowego i $12,55 \pm 0,75$ min dla nasion. W literaturze podawane są wyższe wartości i w obu przypadkach, niezależnie od stężenia białka, wynosiły tyle samo – 30 min. Różnice pomiędzy danymi literaturowymi, a otrzymanymi wynikami badań można uzasadnić tym, że w badaniach opisanych w powyższej literaturze nasiona były uprzednio odtłuszczone, a proces izolacji białka przeprowadzono w bardziej zasadowym pH=11.

Właściwości przeciwutleniające nasion arbuza oraz ich izolatu białkowego

Przeprowadzone w ramach niniejszej pracy badania potwierdziły, że w nasionach arbuza oraz uzyskanym z nich izolacie białkowym zawarte są substancje cechujące się zdolnością do przerywania łańcuchowych reakcji utleniania dzięki przekształceniu wolnych rodników w bardziej stabilne produkty.

Zdolność badanych preparatów do dezaktywacji rodników DPPH[•] przedstawia się w obu przypadkach na wyrównanym poziomie. Niewiele wyższą aktywność przeciworodnikową wykazały nasiona arbuza ($86,37 \pm 4,37\%$) w porównaniu do izolatu białkowego uzyskanego z nasion ($85,68 \pm 4,29\%$).

Porównanie wyników do uzyskanych przez Rezig [2012] pokazuje, że zdolność do inaktywacji wolnych rodników DPPH[•] przez badane preparaty z pestek arbuza jest większa niż w przypadku nasion dyni ($63,78\%$). Brak jest niestety danych literaturowych dotyczących bezpośrednio właściwości przeciwutleniających nasion arbuza lub uzyskanego z nich izolatu białkowego.

Zastosowanie metody FRAP (Ferric Iron Reducing Antioxidant Parameter) potwierdziło właściwości antyoksydacyjne badanych preparatów. Podobnie jak w przypadku metody z zastosowaniem rodnika DPPH[•], aktywność przeciwutleniająca w nasionach arbuza była nieznacznie większa ($1,10 \pm 0,08 \mu\text{mol}/\text{cm}^3$ ekstraktu) w porównaniu do wyniku uzyskanego dla izolatu białkowego ($1,01 \pm 0,06 \mu\text{mol}/\text{cm}^3$ ekstraktu). Uzyskane wyniki są bardzo zbliżone do otrzymanych przez Guo i in. [2003], którzy badając nasiona arbuza tą metodą uzyskali wynik $1,01 \mu\text{mol}/\text{cm}^3$ ekstraktu. W badanych przez tych autorów nasionach melona wynik był trzykrotnie niższy i wynosił $0,31 \mu\text{mol}/\text{cm}^3$ ekstraktu.

Antyoksydacyjne właściwości ekstraktów oznaczono również badając zdolność do dezaktywacji kationorodnika ABTS^{•+}. Badane preparaty wykazały silne właściwości przeciwutleniające wobec kationorodnika ABTS^{•+}, osiągające poziom $60,99 \pm 3,97\%$ w przypadku izolatu białkowego i $62,01 \pm 4,26\%$ w przypadku nasion. Wynik ten jest znacznie wyższy niż np. uzyskany w przypadku podobnych morfologicznie nasion tykwy z rodziny dyniowatych, gdzie stopień redukcji ABTS^{•+} wyniósł $13,83\%$ [Yeh i in., 2005].

Wyniki badań właściwości przeciwutleniających nasion arbuza i jego izolatu białkowego, przeprowadzonych trzema różnymi metodami, wykazały nieco silniejsze właściwości w przypadku surowca – zmielonych nasion arbuza. Jest to najprawdopodobniej związane z obecnością w tym preparacie przeciwutleniaczy rozpuszczalnych w tłuszczach (np. tokoferole, karotenoidy).

Elektroforeza SDS-PAGE

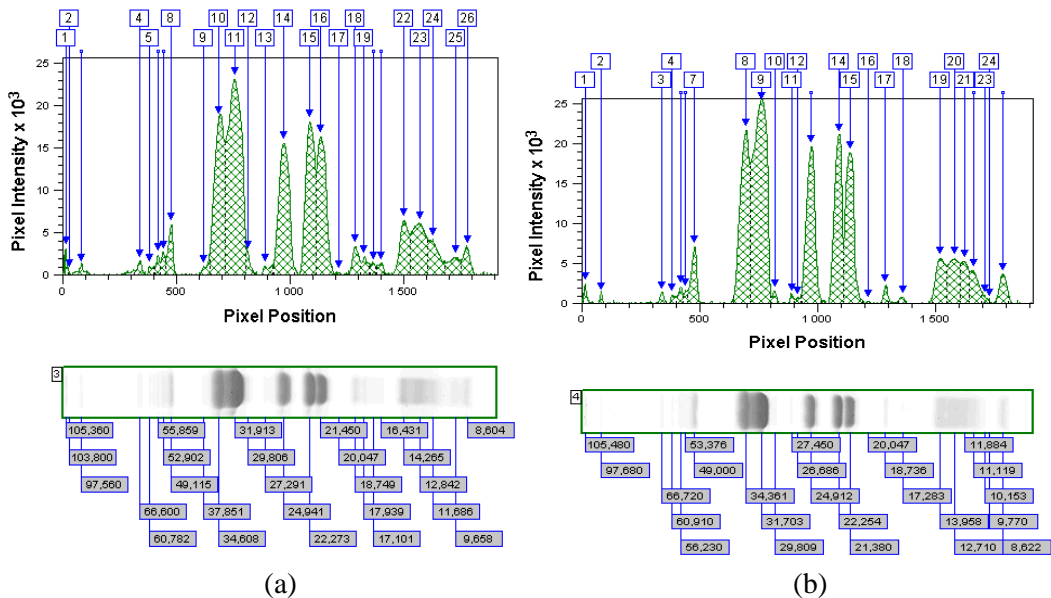
W wyniku rozdziału elektroforetycznego techniką SDS-PAGE otrzymano szereg danych pozwalających scharakteryzować profile białkowe nasion arbuza oraz uzyskanego z nich izolatu białka. Dane określające masy cząsteczkowe oraz procentowy udział poszczególnych frakcji białkowych analizowanych preparatów zamieszczono w Tabeli 1. Rysunek 1 przedstawia z kolei elektroforegramy poszczególnych linii.

Tabela 1. Porównanie profili białkowych pestek arbuza (surowiec) oraz izolatu białkowego pestek arbuza (uwzględniono najważniejsze białka)

Pestki arbuza (surowiec)		Izolat białkowy pestek arbuza	
MW [kDa]	Względny udział [%]	MW [kDa]	Względny udział [%]
49,1	2,04	49,0	2,88
34,6	12,81	34,4	14,5
31,9	23,94	31,7	25,62
29,8	0,99	29,8	0,5
24,9	12,02	24,9	12,37
22,3	11,91	22,3	11,76
21,5	10,97	21,4	11,98
18,7	1,53	18,7	0,61
17,9	0,95	17,3	0,31
14,3	4,14	14,0	4,02
12,8	5,88	12,7	4,4
11,7	3,39	11,9	2,77
		11,1	2,69
9,7	1,89	9,8	0,15
8,6	1,77	8,6	1,96

Przeprowadzony rozdział elektroforetyczny wskazuje na niewielkie zmiany w zawartości procentowej poszczególnych frakcji białka w izolacie w porównaniu z surowcem. W obu przypadkach masy cząsteczkowe mieszczą się w zakresie 8,6-105 kDa. Zauważyć można, iż większość pasm białek w linii izolatu nasion arbuza jest nieco bardziej intensywna w porównaniu z surowcem – zmielonymi nasionami, co świadczy o dobrym ich wyodrębnieniu w wyniku procesu izolacji.

Analizując uzyskane elektroforegramy obserwuje się frakcje, które występują zarówno w surowcu, jak i izolacie białka. Większość intensywnych pasm reprezentuje białka o stosunkowo niskiej masie cząsteczkowej – do ok. 35 kDa. Z danych zawartych w Tabeli 1 wynika, że największy udział białek nasion arbuza (ok. 24%) oraz izolatu (26%) stanowi frakcja o masie cząsteczkowej ok. 32 kDa. Na podstawie danych literaturowych uznano, że reprezentuje ona podjednostki 11S globulin, których masy cząsteczkowe zawierają się w zakresie 30-40 kDa [Shewry i in., 1995].



Rysunek 1. Elektroforegramy: pestek arbuza (a) oraz izolatu białkowego pestek arbuza (b)

W izolacie białkowym oraz nasionach arbuza występuje także frakcja o masie cząsteczkowej 34 kDa (odpowiednio 14,5% oraz 13%), reprezentująca najprawdopodobniej podjednostkę 12S globulin, zwanych kukurbitynami [Bučko i in., 2016]. Podjednostką tych białek może być również frakcja o masie cząsteczkowej ok. 24-25 kDa. Widoczne na elektroforegramach frakcje, także powtarzające się zarówno w surowcu, jak i izolacie, to białka o masach ok. 21-23 kDa. W nasionach arbuza jest ich łącznie ok. 23%, a w izolacie 24%. W skład tych frakcji mogą wchodzić: podjednostka kwaśna krucyferyny (19-22 kDa), inhibitor tripsyny (21-22 kDa), a także albumina 2S – roślinne białko zapasowe [Shewry i in., 1995; Bučko i in., 2016].

Na elektroforegramach zaobserwowano również kilka mało intensywnych pasm występujących w surowcu, które z kolei nie pojawiły się w izolacie, co sugeruje, że w wyniku procesu izolacji nie udało się wyodrębnić wszystkich białek występujących w nasionach arbuza.

Powyższe dane świadczą o tym, że technika SDS-PAGE stanowi cenne narzędzie umożliwiające identyfikację poszczególnych frakcji białkowych oraz charakterystykę zmian zachodzących na skutek izolacji białka z pestek arbuza. Fakt ten jest istotny ze względu na konieczność uzyskania pełnej informacji na temat skuteczności przeprowadzonego procesu.

Wnioski

1. Proces izolacji białka z nasion arbuza przez jego ekstrakcję alkaliczną i wytrącenie w punkcie izoelektrycznym pozwolił na uzyskanie preparatu o wysokiej zawartości białka (73%) w stosunku do surowca wyjściowego (20% s.m.).

2. Główną frakcję białek nasion arbuza oraz izolatu stanowi podjednostka 11S globuliny o masie cząsteczkowej 32 kDa, która zawiera się we frakcji o przedziale mas cząsteczkowych 31-35 kDa, stanowiącej łącznie ok. 1/3 białek nasion arbuza. Dużą część stanowi także frakcja 21-25 kDa (podjednostki kwaśne krucyferyny, inhibitor trypsyny oraz albumina 2S).

3. Badany surowiec oraz jego izolat białkowy wykazały silne właściwości przeciwutleniające wobec stabilnego rodnika DPPH[•] i kationorodnika ABTS^{•+}. Ekstrakty wykazywały również wysoką siłę redukującą oznaczaną metodą FRAP.

4. Izolat białkowy nasion arbuza wykazał znikome właściwości pianotwórcze.

5. Zawiesiny izolatu białka badanych nasion łatwiej, w porównaniu do homogenatu surowca, tworzyły emulsje, które były jednocześnie bardziej trwałe. Właściwości emulgujące badanych próbek są wysokie, dlatego nasiona arbuza, a zwłaszcza uzyskany z nich izolat białkowy, mogą znaleźć zastosowanie w przemyśle spożywczym jako dodatek funkcjonalny.

Literatura

1. Benzie I.F., Strain J.J. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. *Anal Biochem.* (1996) 15, 239(1), 70-6.
2. Brand-Williams W., Cuvelier M.E., Berset C. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie. Food Science Technology* (1995) 28(1), 25-30.
3. Bučko S., Katona J., Popović L., Petrovič L., Milinković J. Influence of enzymatic hydrolysis on solubility, interfacial and emulsifying properties of pumpkin (*Cucurbita pepo*) seed protein isolate. *Food Hydrocolloids* (2016) 60. 271-278.
4. Charoensiri R., Kongkachuichai R., Suknicom S., Sunpuang P. Beta-carotene, lycopene, and alpha-tocopherol contents of selected Thai fruits. *Food Chemistry* (2009) 113, 202-207.
5. El-Adawy T.A., Taha K.M. Characteristics and composition of different seed oils and flours. *Food Chemistry* (2001) 74, 1, 47-54.
6. El-Adawy T.A., Rahma E.H., El-Bedawey A.A., Gafar A.F. Nutritional potential and functional properties of sweet and bitter lupin seed protein isolates. *Food Chemistry* (2001) 74, 455-462.
7. Fernández-García E., Carvajal-Lérida I., Jarén-Galán M., Garrido-Fernández J., Pérez-Gálvez A., Hornero-Méndez D. Carotenoids bioavailability from foods: From plant pigments to efficient biological activities. *Food Research International* (2012) 46, 438-450.
8. Gopalan C., Rama Sastri B.V., Balasubramanian S.C. Nutritive value of Indian foods. National Institute of Nutrition. Indian Council of Medical Research. 1989, 156.
9. Guo C., Yang J., Wei J., Li Y., Xu J., Jiang Y. Antioxidant activities of peel, pulp and seed fractions of common fruits as determined by FRAP assay. *Nutrition Research* (2003) 23, 1719-1726.
10. Hanan M.A.Al-S., Ahmed A.R. Utilization of watermelon rinds and sharlyn melon peels as a natural source of dietary fiber and antioxidants in cake. *Annals of Agricultural Science* (2013) 58(1), 83-95.

11. Iakshmi A.J., Kaul P. Nutritional potential, bioaccessibility of minerals and functionality of watermelon (*Citrullus vulgaris*) seeds. *LWT - Food Science and Technology* (2011) 44, 1821-1826.
12. Isabelle M., Lee B.L., Lim M.T., Koh W.-P., Huang D., Ong C.N. Antioxidant activity and profiles of common fruits in Singapore. *Food Chemistry* (2010) 123, 77-84.
13. Jayaprakasha G.K., Chidambara Murthy K.N., Bhimanagouda S. Patil. Rapid HPLC-UV method for quantification of L-citrulline in watermelon and its potential role on smooth muscle relaxation markers. *Food Chemistry* (2011) 127, 240-248.
14. Kim S.-J., Matsushita Y., Fukushima K., Aoki D., Yagami S., Yuk H.-G., Lee S.-C. Antioxidant activity of a hydrothermal extract from watermelons. *LWT - Food Science and Technology* (2014) 59, 361-368.
15. Laemmli U.K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature* (1970) 227(5259), 680-685.
16. Pearce K.N., Kinsella J.E. Emulsifying properties of proteins: evaluation of a turbidimetric technique. *J Agric Food Chem* (1978) 26, 716-723.
17. Rawson A., Tiwari B.K., Patras A., Brunton N., Brennan C., Cullen P.J., O'Donnell C. Effect of thermosonication on bioactive compounds in watermelon juice. *Food Research International* (2011) 44, 1168-1173.
18. Razavi S.M.A., Milani E. Some physical properties of the watermelon seeds. *Afr. J. Agric. Res* (2006) 1 (3), 065-069.
19. Re R., Pellegrini N., Proteggente A., Pannala A. Yang M., Rice-Evans C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic Biol Med.* (1999) 26(9-10), 1231-1237.
20. Rezig L., Chouaibi M., Msaada K., Hamdi S. Chemical composition and profile characterization of pumpkin (*Cucurbita maxima*) seed oil. *Industrial Crops and Products* (2012) 37, 82-87.
21. Shan L., Lianzhou J., Yang L. Research of aqueous enzymatic extraction of watermelon seed oil of ultrasonic pretreatment assisted. *Procedia Engineering* (2011) 15, 4949-4955.
22. Shewry P.R., Napier J.A., Tatham A.S. Seed Storage Proteins: Structures and Biosynthesis. *The Plant Cell* (1995) 7, 945-956.
23. Wani A.A., Sogi D.S., Singh P., Wani I.A., Shivhare U.S. Characterisation and functional properties of watermelon (*Citrullus lanatus*) seed proteins. *J Sci Food Agric* (2011a) 91, 113-121.
24. Wani A.A., Sogi D.S., Singh P., Shivhare U.S. Characterization and functional properties of watermelon (*Citrullus lanatus*) seed protein isolates and salt assisted protein concentrates. *Food Sci. Biotechnol.* (2011b) 20(4), 877-887.
25. Waniska R.D., Kinsella J.E. Foaming properties of proteins: evaluation of a column aeration apparatus using ovalbumin. *Journal of Food Science* (1979) 44(5), 1398-1402.
26. Wichrowska D., Wojdyła T., Rolbiecki S., Rolbiecki R., Piszczek P. Content of selected components in fruits of Polish watermelon cultivar "Bingo" as dependent on the method of seedling production and irrigation. *Pol. J. Food Nutr. Sci.* (2007) 57, 3(A), 147-149.
27. Yeh Y.M., Chiu K.Y., Chen C.L., Sung J.M. Partial vacuum extends the longevity of primed bitter gourd seeds by enhancing their anti-oxidative activities during storage. *Scientia Horticulturae* (2005) 104(1), 101-112.

ANNA MAGDALENA AMBROSZCZYK¹, EWA LIWIŃSKA¹,
RENATA BIEŻANOWSKA-KOPEĆ²

¹ Katedra Roślin Warzywnych i Zielarskich, Wydział Biotechnologii i Ogrodnictwa,

² Katedra Żywności Człowieka, Wydział Technologii Żywności,
Uniwersytet Rolniczy im. H. Kollątaja w Krakowie

ZRÓŻNICOWANIE WARTOŚCI ODŻYWCZEJ ORAZ PROZDROWOTNEJ OWOCÓW POMIDORA W ZALEŻNOŚCI OD ZASTOSOWANYCH STYMULATORÓW WZROSTU

Streszczenie

Celem pracy było zbadanie wartości odżywczej oraz zawartości składników bioaktywnych w owocach pomidora, w zależności od zastosowanych stymulatorów wzrostu. Materiał badawczy stanowiły pomidory odmiany Abigail F₁. Do badań użyto trzy różne preparaty: LIGNOhumat Super, Nano-Gro®, Asahi SL. Czwartą kombinację stanowiła kontrola (rośliny bez zastosowania preparatów). Stymulatory zastosowano dwukrotnie: po postawieniu roślin na matach z wełny mineralnej i 4 tygodnie później.

Pomidory traktowane biostymulatorem Asahi SL, charakteryzowały się najwyższą zawartością suchej masy, P, K, Mg, Na oraz Zn. Dodatkowo wyróżniały się najwyższą ilością witaminy C, polifenoli oraz najwyższym potencjałem antyoksydacyjnym. W owocach pomidora roślin traktowanych Nano-Gro®, uzyskano najwyższy poziom zawartości cukrów ogółem, kwasów organicznych, suchej masy oraz likopenu. Najniższymi wartościami wszystkich analizowanych składników wyróżniały się owoce pomidora po zastosowaniu preparatu LIGNOhumat Super .

Słowa kluczowe: owoce pomidora, stymulatory wzrostu, składniki odżywcze, składniki bioaktywne

Wprowadzenie

Pomidor (*Lycopersicon esculentum* Mill.) to jeden z najbardziej popularnych gatunków warzyw w Polsce, a nawet na świecie [Borowiak, 2007]. Jego owoce produkowane są do bezpośredniego spożycia oraz na przetwory: pomidory suszone oraz w puszkach: całe lub krojone, ze skórką lub bez oraz przeciera i keczupy [Polese, 2008].

Owoce pomidora charakteryzują się niską kalorycznością, bogactwem składników mineralnych, w szczególności potasu oraz wysoką zawartością cennych, z żywieniowego punktu widzenia, składników bioaktywnych, takich jak: błonnik pokarmowy, polifenole, witaminy antyoksydacyjne: tokoferole, witamina C oraz karotenoidy [Fanasca i in., 2006; Hallmann i Rembiałkowska, 2007]. Błonnik pokarmowy zawarty w pomidorach przyspiesza trawienie, zapobiega nowotworom jelit oraz normalizuje poziom cukru we krwi [Buchter-Weisbrodt, 2009]. Likopen, nadający pomidorom barwę czerwoną,

stanowi 80-90% wszystkich karotenoidów zawartych w dojrzałych owocach [Shi, 2000]. Badania innych autorów, wskazują na korelację pomiędzy zwiększoną zawartością likopenu w diecie a zmniejszeniem ryzyka zachorowalności na choroby nowotworowe [Omoni i Aluko, 2005; Fornelli i in., 2007; Skiepmo i in., 2015].

Zawartość substancji odżywczych oraz związków o właściwościach prozdrowotnych w owocach pomidora jest cechą odmianową, ale również ulega zmianom pod wpływem warunków uprawowych (rodzaj gleby, warunki klimatyczne, zabiegi pielęgnacyjne) czy stopnia dojrzałości owoców. Producenci poszukują nowych środków i metod, które pozwolą na zwiększenie plonu, polepszenie jakości owoców, w tym również zwiększenie zawartości składników odżywczych. Jedną z takich metod jest stosowanie różnego rodzaju preparatów (stymulatorów). Ich zadaniem jest synteza naturalnych hormonów oraz zwiększenie ich aktywności, usprawnienie pobierania składników mineralnych z podłoża, wpływanie na wzrost korzeni oraz zwiększenie odporności na niekorzystne warunki (susza, niska lub zbyt wysoka temperatura, zasolenie, zbyt wysokie promieniowanie UV, patogeny), które wywołują stres u roślin [Knaflowski, 2010]. Często do produkcji stymulatorów wykorzystuje się organizmy morskie, szczególnie algi oraz wodorosty [Michalski, 2010]. W ich skład mogą również wchodzić hormony roślinne: auksyny oraz cytokininy. Innymi składnikami mogą być chitozan, wyciągi z grapefruta, skrzypu, czosnku, chrzanu czy cebuli.

Stymulatory wzrostu są stosowane najczęściej w postaci oprysku roślin, jednakże można też je wykorzystywać jako dodatek do fertygacji roślin oraz do zaprawiania nasion i posypowo na glebę. Zgodnie z polskim prawem, dopuszczenie do obrotu biostymulatorów reguluje ustawa z dnia 18 grudnia 2003 r. o ochronie roślin (Dz. U. z dnia 27 stycznia 2004 r.). Zalicza ona niektóre stymulatory do środków ochrony roślin [Słowiński, 2007].

Celem pracy było zbadanie wartości odżywczej oraz zawartości składników bioaktywnych w owocach pomidora, w zależności od zastosowanych stymulatorów wzrostu.

Materiał i metody badań

Materiał badawczy stanowiły owoce pomidora odmiany Abigail F₁, uprawiane w szklarni doświadczalnej Katedry Roślin Warzywnych i Zielarskich Uniwersytetu Rolniczego w Krakowie w 2013 r. Siewki pikowane były do pierścieni ogrodniczych o średnicy 10 cm, wypełnionych substratem torfowym. Rozsada, na miejsce stałe, postawiona została na matach z włókna kokosowego, umieszczonych na rynnach uprawowych. Na jednej macie znajdowały się 2 rośliny w rozstawie 80 × 50 cm. Doświadczenie prowadzone było w 4 powtórzeniach, na jednym poletku znajdowało się

8 roślin. System nawadniania został połączony z nawożeniem, które było odpowiednio dopasowane do wymagań odmiany oraz do fazy rozwoju rośliny.

Podczas trwania doświadczenia, prowadzone były typowe zabiegi pielęgnacyjne. Dodatkowo stosowano chemiczne środki ochrony roślin, według zaleceń, w postaci oprysków.

Do badań użyto trzy różne preparaty: LIGNOhumat Super (preparat oparty na kwasach humusowych), Nano-Gro® (stymulator zawierający nanomolowe stężenia siarczanów metali), Asahi SL (preparat oparty na nitrofenolu sodu i 5-nitroguajakolu sodu). Czwartą kombinację stanowiła kontrola (rośliny bez zastosowania preparatów). Stymulatory zastosowano dwukrotnie: po postawieniu roślin na matach kokosowych i 4 tygodnie później.

Zbiór owoców przeprowadzano systematycznie, w miarę ich dojrzewania. W pełni owocowania przeprowadzono analizy laboratoryjne owoców. Do analiz wybierano losowo owoce dojrzałe, dobrze wykształcone, zdrowe, bez jakichkolwiek uszkodzeń.

W dojrzałych, świeżych owocach, oznaczano zawartość następujących składników: suchej masy – metodą suszarkową [Pijanowski i in., 1973]; cukrów ogółem – metodą antronową [Yemm i Wills, 1954]; kwasowość ogólną – metodą miareczkową [Pijanowski i in., 1973], a zawartość makro- i mikroelementów – poprzez spalanie próbek na mokro, a następnie dokonując pomiaru w spektrofotometrze Varian Spectr AA-20. Zawartość kwasu L-askorbinowego analizowano metodą Tillmansa, z wykorzystaniem 2,6-dichlorofenoloindofenolu, zgodnie z PN-90/A-75101/03 a likopenu – metodą spektrofotometryczną, przy zastosowaniu ekstrakcji mieszaniną acetonu i heksanu (4:6) [Nagata i Yamashita 1992]. Zawartość polifenoli ogółem oznaczano w 80% ekstraktach metanolowych przy użyciu odczynnika Folin-Ciocalteu [Swain i Hillis, 1959]. Wyniki wyrażano jako równoważnik kwasu chlorogenowego w mg/100 g produktu. Aktywność antyoksydacyjną, wyrażoną jako $\mu\text{mol TEAC}/100\text{ g}$ produktu, oznaczano z zastosowaniem trwałego wolnego rodnika ABTS⁺ [Re i in., 1999].

Analizę statystyczną wyników oraz istotność różnic pomiędzy średnimi, określono na podstawie analizy wariancji testem NIR Fishera, przy użyciu programu Statistica 10. Zastosowano poziom istotności $\alpha = 0,05$.

Wyniki i dyskusja

Szczegółowe wyniki oznaczeń składu chemicznego owoców pomidora, zamieszczono w tabeli 1. Zawartość suchej masy w owocach roślin kontrolnych wynosiła 5,8%. Porównywalną wartość odnotowano w owocach roślin poddanych działaniu preparatu LIGNOhumat Super. Zawartość suchej masy istotnie wzrosła w owocach po aplikacji roślin preparatem Nano-Gro® oraz Asahi SL (odpowiednio o 7,1 i 7,4% w porównaniu z kontrolą). Według Jarczyka i Płocharskiego [2010] zawartość suchej masy w owocach

pomidora wynosi od 3,7 do 7,5%. W literaturze naukowej większość badań związanych ze stymulatorami wzrostu, dotyczy innych preparatów lub innych surowców. Podobne badania, z wykorzystaniem stymulatora Asahi SL, wykonały Kowalczyk i Zielony [2008], na sałacie odmiany Brigade. W tym doświadczeniu, również zaobserwowano pozytywny wpływ preparatu na zawartość suchej masy. Natomiast odmienne wyniki otrzymali: Maciejewski i in. [2007] oraz Sawicka i Mikos-Bielak [2008], którzy po zastosowaniu środka Asahi SL na bulwach ziemniaka, nie zanotowali pozytywnego wpływu na zawartość suchej masy. Jak wynika z badań innych autorów, zawartość suchej masy uzależniona była od zastosowanych stymulatorów wzrostu, rodzaju badanych roślin oraz ich odmian [Łyczakowska i Gajc-Wolska, 2008; Gawlik i Gołębiowska, 2008].

Tabela 1. Skład chemiczny owoców pomidora [% św.m.]

Obiekt	Sucha masa	Cukry ogółem	Kwasowość ogólna
Kontrola	5,80 a*	2,47 a	0,27 a*
LIGNOumat Super	5,94 a	2,42 a	0,33 b
Nano-Gro®	6,21 b	2,76 b	0,35 bc
Asahi SL	6,23 b	2,43 a	0,36 c

*wartości średnie oznaczone różnymi literami różnią się istotnie przy $p \leq 0,05$

Zawartość cukrów w pomidorach wpływa na smak owoców. W niniejszej pracy, najwięcej cukrów ogółem, wytworzyły rośliny traktowane Nano-Gro® (2,76% św.m.). Dla pozostałych obiektów stwierdzano istotnie niższe wartości, wynoszące średnio 2,44%. Według Jarczyka i Płocharskiego [2010], zawartość cukrów w owocach pomidora mieściła się w przedziale 1,5-4,0%, natomiast w badaniach Zalewskiej-Korona i in. [2013], średnia ilość cukrów ogółem wynosiła 1,74%. Jak wynika z badań Kositorna i Smolińskiego [2008], w uprawie buraka cukrowego po zastosowaniu Asahi SL, istotnie zwiększyła się ilość cukrów w korzeniu, co wpłynęło pozytywnie na ich przydatność technologiczną.

W pomidorach kwasowość ogólna jest tym mniejsza, im większa jest dojrzałość owoców. Zawartość kwasów organicznych w owocach pomidora z roślin kontrolnych była najniższa (0,27%). Stwierdzono, że zastosowane stymulatory wzrostu wpływały istotnie na wzrost kwasowości ogólnej, w każdym badanym przypadku. Najwięcej kwasów organicznych zaobserwowano w owocach roślin opryskiwanych biostymulatorem Asahi SL oraz Nano-Gro® (odpowiednio o 33 i 30% więcej). Według Jarczyk i Płocharskiego [2010], kwasowość ogólna w owocach pomidora jest niewielka i wynosi 0,2-0,8% świeżej masy (św.m.). W badaniach innych autorów, kwasowość owoców pomidora mieściła się w zakresie 0,21-0,4% [Zalewska-Korona i in., 2013]. W dostępnej literaturze brak jest jednak danych na temat wpływu zastosowanych biostymulatorów na kwasowość ogólną warzyw. Nieliczne dane dotyczą innego surowca

albo innych preparatów. Grajkowski i Ochmian [2007] w swoich badaniach nad wpływem takich biostymulatorów jak: Atonik SL, Tytanit, czy Biochikol 020 PC, na wzrost malin wykazali, że dwa z nich istotnie wpływały na wzrost kwasowości tych owoców.

Tabela 2. Zawartość makroskładników w owocach pomidora [mg/100 g s.m.]

Obiekt	P	K	Ca	Mg
Kontrola	25,39 a*	233,6 b	20,63 b	5,61 b
LIGNOhumat Super	24,83 a	221,5 a	11,63 a	5,24 a
Nano-Gro®	26,26 b	241,3 b	15,73 ab	5,67 b
Asahi SL	29,10 c	263,8 c	13,57 ab	6,51 c

*wartości średnie oznaczone różnymi literami różnią się istotnie przy $p \leq 0,05$

Pomidory są bardzo dobrym źródłem soli mineralnych, szczególnie potasu. W 100 g dojrzałego owocu znajduje się 200-330 mg potasu, 20-25 mg fosforu, 10-25 mg wapnia, 8-20 mg magnezu [Rumpel, 2007]. Rodzaj zastosowanych biostymulatorów wzrostu miał istotny wpływ na zawartość składników mineralnych w owocach pomidora. Owoce roślin kontrolnych charakteryzowały się najniższą zawartością fosforu (Tab. 2), porównywalną z owocami po aplikacji preparatem LIGNOhumat Super. Istotnie największą zawartość tego składnika odnotowano w owocach z roślin, u których stosowano preparat Asahi SL (29,10 mg/100 g s.m.). Preparat Asahi SL wpłynął również istotnie na zwiększenie zawartości potasu w owocach. Wartość ta była wyższa o 12%, w porównaniu z obiektem kontrolnym. Natomiast istotnie najniższą zawartość tego makroelementu, zaobserwowano w owocach pomidora po użyciu preparatu LIGNOhumat Super. Poziom wapnia w owocach roślin kontrolnych był najwyższy i wynosił 20,63 mg/100 g s.m. Zastosowane stymulatory wzrostu wpłynęły tendencyjnie na niższą kumulację Ca w owocach pomidora, jednak istotnie najniższy poziom tego pierwiastka, o 44% mniej niż w kontroli, stwierdzono po opryskiwaniu roślin preparatem LIGNOhumat Super. W przypadku magnezu, po opryskiwaniu roślin biostymulatorami wykazano zarówno niższe (LIGNOhumat Super), porównywalne (Nano-Gro®), jak i wyższe (Asahi SL) ilości tego pierwiastka w owocach pomidora, w odniesieniu do roślin uprawianych bez stosowania preparatów.

Tabela 3. Zawartość mikroskładników w owocach pomidora [mg/100 g s.m.]

Obiekt	Fe	Na	Zn	Mn
Kontrola	0,37 ^{bc}	1,73 ^b	0,27 ^{ab}	0,12 ^b
LIGNOhumat Super	0,25 ^a	1,66 ^a	0,26 ^a	0,03 ^a
Nano-Gro®	0,33 ^{bc}	1,75 ^b	0,28 ^{ab}	0,12 ^b
Asahi SL	0,31 ^b	2,08 ^c	0,29 ^b	0,03 ^a

*wartości średnie oznaczone różnymi literami różnią się istotnie przy $p \leq 0,05$

Zaobserwowano, że zawartość żelaza w owocach z roślin kontrolnych była najwyższa i wynosiła 0,37 mg/100 g s.m. (Tab. 3). Porównywalne poziomy tego mikroelementu stwierdzano po oprysku roślin Nano-Gro® i Asahi SL. Najniższą ilość Fe, mniejszą o 32% w porównaniu z kontrolą, odnotowano w przypadku preparatu LIGNOhumat Super. Zawartość sodu w kontroli oraz po zastosowaniu Nano-Gro® była zbliżona (średnio 1,74 mg/100 g s.m.). Aplikacja Asahi SL, wpłynęła istotnie na wyższe ilości tego pierwiastka w owocach pomidora o 20%, w porównaniu z kontrolą. Potraktowanie roślin preparatem LIGNOhumat Super spowodowało obniżenie poziomu Na w owocach. Zawartość cynku w pomidorach, po zastosowaniu wszystkich preparatów, była porównywalna z obiektem kontrolnym i wynosiła średnio 0,275 mg/100 g s.m. Istotne różnice w zawartości cynku stwierdzono jedynie pomiędzy preparatem LIGNOhumat Super (0,26 mg/100 g s.m.) a Asahi SL (0,29 mg/100 g s.m.). W przypadku manganu, owoce roślin kontrolnych wraz z pomidorami poddanymi działaniu Nano-Gro®, wykazywały najwyższą zawartość tego mikroelementu (0,12 mg/100 g s.m.). Niższe aż o 75% ilości manganu, stwierdzano po zastosowaniu pozostałych dwóch stymulatorów wzrostu.

W dostępnej literaturze nie znaleziono żadnych innych badań oceniających wpływ analizowanych stymulatorów (LIGNOhumat Super, Nano-Gro®, Asahi SL), na zawartość składników mineralnych w owocach pomidora. Kowalczyk i Zielony [2008] stosowały preparat Asahi SL na sałacie liściowej odmiany 'Brigade'. Stwierdzono, że koncentracja wapnia po użyciu preparatu Asahi SL, uzależniona była od cyklu uprawy. W uprawie zimowej uzyskane wartości były niższe w porównaniu z kontrolą, natomiast w wiosennej wyższe. Inni autorzy przedstawiają zmiany zawartości składników mineralnych w różnych warzywach (por, seler korzeniowy, papryka słodka, ogórek, ziemniaki, cebula), ale pod wpływem innych biostymulatorów (Atonik-Asahi, Goteo, BM 86) [Czeczko i Mikos-Bielak, 2001; Gajc-Wolska i Zielony, 2008].

Prozdrowotne właściwości żywności, wynikają m.in. z dużej zawartości związków przeciwutleniających, w tym witaminy: C, E, A, karotenoidy, polifenole czy kwasy organiczne [Szajdek i Borowska, 2004]. Substancje te obniżają lub zapobiegają szkodliwemu wpływowi wolnych rodników na żywe tkanki, hamując m.in. proces starzenia oraz rozwój niektórych chorób [Stolarzewicz i in., 2013]. Witamina C jest przeciwutleniaczem o dużej efektywności działania [Stolarzewicz i in., 2013]. W przedstawionych badaniach, w większości przypadków, poziom witaminy C w owocach pomidora był porównywalny we wszystkich kombinacjach i wynosił średnio 19,08 mg/100 g produktu (Tab. 4). Najwyższą zawartość kwasu L-askorbinowego (wzrost o 23% w porównaniu z obiektem kontrolnym), stwierdzano w owocach pomidora po zastosowaniu preparatu Asahi SL. Wartości te mieszczą się w zakresie podawanym przez innych autorów: 12,8-20,5 mg/100 g świeżego surowca [Zalewska-Korona i in.,

2013]. Jak podają Liptay i in. [1986], na gromadzenie witaminy C w owocach pomidora, istotny wpływ ma dostęp światła.

Tabela 4. Zawartość składników bioaktywnych w świeżej masie owoców pomidora

Obiekt	Kwas L-askorbinowy [mg/100 g św.m.]	Likopen [mg/100 g św.m.]	Polifenole ogółem [mg kwasu chlorogenowego /100 g św.m.]	Aktywność antyoksydacyjna [μmol Troloxu/100 g św.m.]
Kontrola	19,08 ^a	5,89 ^b	27,2 ^{bc}	271 ^a
LIGNOhumat Super	18,84 ^a	5,46 ^a	25,2 ^a	264 ^a
Nano-Gro®	19,33 ^a	5,96 ^b	26,9 ^b	263 ^a
Asahi SL	23,43 ^b	5,59 ^{ab}	29,4 ^c	271 ^a

*wartości średnie oznaczone różnymi literami różnią się istotnie przy $p \leq 0,05$

W grupie warzyw, istotną rolę jako źródło przeciwutleniaczy odgrywa właśnie pomidor, ze względu na zawarty w nim likopen [Stolarzewicz i in., 2013; Skiepmo i in., 2015]. W niniejszym doświadczeniu, pomidory z roślin kontrolnych zawierały 5,89 mg/likopenu w 100 g produktu. Zastosowane preparaty, w większości przypadków, nie miały wpływu na koncentrację tego składnika w owocach. Istotnie najniższą zawartością likopenu, charakteryzowały się owoce roślin poddanych działaniu LIGNOhumat Super (5,46 mg/100 g). Dane te mieszczą się w zakresie 2,64-12,00 mg/100 g, podawanym przez Zalewską-Koronę i in. [2013], natomiast są wyższe od prezentowanych przez Hallmann i Rembiałkowską [2007]. Synteza karotenoidów związana jest z obecnością azotu w glebie [Hallmann i Rembiałkowska, 2007]. Dodatkowo, jak podają Toor i in. [2006] wysoka temperatura negatywnie wpływa na formowanie się likopenu w pomidorach.

Polifenole wykazują prozdrowotne oddziaływanie, zarówno w prewencji chorób sercowo-naczyniowych, jak również nowotworów. Najwyższy poziom polifenoli ogółem w analizowanych owocach pomidora, odnotowano w przypadku potraktowania roślin preparatem Asahi SL (29,4 mg kwasu chlorogenowego/100 g produktu). Zawartość ta, jak również w pomidorach nawożonych preparatem Nano-Gro®, nie różniła się istotnie ($p > 0,05$), w porównaniu z owocami roślin z obiektu kontrolnego. Zastosowanie preparatu LIGNOhumat Super spowodowało obniżenie zawartość tego składnika o 7%, w odniesieniu do kontroli (Tab. 4). Hallmann i Rembiałkowska [2007] przedstawiły wyniki zawartości kwasów fenolowych ogółem w owocach pomidora różnych odmian, w przeliczeniu na kwas galusowy. Średnia wartość tych związków wynosiła 33,07 mg/100 g św.m. Jak podają inni autorzy, rośliny wytwarzają więcej cennych związków bioaktywnych, w tym flawonoli, im mają do dyspozycji mniej łatwo

dostępnego azotu. Dodatkowo, zawartość flawonoli w owocach jest silnie zależna od odmiany pomidorów [Hallmann i Rembiałkowska, 2007].

Polifenole oraz witaminy antyoksydacyjne zawarte w żywności, wpływają na jej potencjał antyoksydacyjny, który stanowi dodatkową ochronę organizmu przed stresem oksydacyjnym [Różańska i in., 2014]. W niniejszym doświadczeniu, aktywność antyoksydacyjna owoców pomidora z obiektu kontrolnego oraz potraktowanego Asahi SL była taka sama i wynosiła 271 μmol Troloxu/100 g. Nieznacznie niższy potencjał antyoksydacyjny ($p > 0,05$), stwierdzano w odniesieniu do pozostałych dwóch biostymulatorów wzrostu (263 μmol Troloxu/100 g). Dwukrotnie niższy potencjał antyoksydacyjny owoców pomidora odmiany Armada, przedstawili w swoich badaniach Toor i in. [2006]. Jego wartość, po przeliczeniu na świeżą masę, wynosiła 115-134 μmol TEAC/100 g.

W dostępnej literaturze nie znaleziono badań oceniających wpływ zastosowania stymulatorów wzrostu na zawartość polifenoli oraz aktywność antyoksydacyjną w owocach pomidora.

Podsumowanie

W owocach pomidora roślin traktowanych Nano-Gro®, uzyskano najwyższy poziom zawartości cukrów ogółem i likopenu oraz wysoką zawartość kwasów organicznych i suchej masy. Pomidory traktowane biostymulatorem Asahi SL, charakteryzowały się najwyższą zawartością suchej masy, P, K, Mg, Na oraz Zn. Dodatkowo wyróżniały się najwyższą ilością składników bioaktywnych, tj. witaminy C, polifenoli oraz najwyższym potencjałem antyoksydacyjnym. Najniższymi wartościami wszystkich analizowanych składników wyróżniały się owoce pomidora po zastosowaniu preparatu LIGNOhumat Super.

Zastosowane stymulatory wzrostu wpływały na istotny wzrost kwasowości ogólnej, w każdym przypadku. Użyte preparaty obniżyły zawartość wapnia w owocach pomidora.

Literatura

1. Borowiak J. Pomidory w polu. Wyd. Hortpress, Warszawa 2007.
2. Buchter-Weisbrodt H. Pomidor. Odmiany i uprawa. Wydanie I. Wyd. RM, Warszawa 2009.
3. Czeżko R., Mikos-Bielak M. Modyfikacja zawartości potasu, wapnia i magnezu w wybranych gatunkach warzyw pod wpływem syntetycznego stymulatora wzrostu Atonik-Asahi. *Annales UMCS, Sec.E.*, 2001, 59 (3), 1073-1079.
4. Fanasca S., Colla G., Maiani G., Venneria E., Roupheal Y., Azzini E., Saccardo F. Changes in antioxidant content of tomato fruits in response to cultivar and nutrient solution composition. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 2006, 54 (12), 4319-4325.
5. Fornelli, F., Leone, A., Verdesca, I., Minervini, F., Zacheo, G. The influence of lycopene on the proliferation of human breast cell line (MCF-7). *Toxicology In Vitro*, 2007, 21, 217-223.
6. Gajc-Wolska J., Zielony T. The influence of grafting and biostimulators on the yield and fruit quality of greenhouse tomato CV. Biostymulatory w nowoczesnej uprawie roślin- materiały

- konferencyjne, Samodzielny Zakład Przyrodniczych Podstaw Ogrodnictwa Wydział Ogrodnictwa i Architektury SGGW, Warszawa 2008.
7. Gawlik A., Gołębiowska D. Wpływ opryskiwań roztworem kwasów huminowych na wzrost roślin grochu odmiany Ramrod. Biostymulatory w nowoczesnej uprawie roślin- materiały konferencyjne, Samodzielny Zakład Przyrodniczych Podstaw Ogrodnictwa Wydział Ogrodnictwa i Architektury SGGW, Warszawa 2008.
 8. Grajkowski J., Ochmian I. Influence of tree biostimulants on yielding and fruit quality of tree primocane raspberry cultivars. *Acta Scientiarum Polonorum Hortorum Cultus*, 2007, 6 (2), 29-36.
 9. Hallmann E., Rembiałkowska E. Estimation of nutritive and sensory value of tomatoes and tomato juices from organic and conventional production. *Journal of Research and Applications in Agricultural Engineering*, 2008, 53 (3), 88-95.
 10. Jarczyk A., Płocharski W. Technologia produktów owocowych i warzywnych. T. I/II. Wyd. Wyższa Szkoła Ekonomiczno-Humanistyczna im. Prof. Szczepana A. Pieniążka w Skierniewicach, Skierniewice 2010, 171-174
 11. Knaflewski M. (red.). Uprawa warzyw w pomieszczeniach. Wydawnictwo PWRiL, Poznań 2010.
 12. Kowalczyk K., Zielony T. Effect of Aminoplant and Asahi on yield and quality of lettuce grown on rockwool. Biostymulatory w nowoczesnej uprawie roślin- materiały konferencyjne, Samodzielny Zakład Przyrodniczych Podstaw Ogrodnictwa Wydział Ogrodnictwa i Architektury SGGW, Warszawa 2008.
 13. Liptay A., Papadopoulos P., Bryan H.H., Gull D. Ascorbic acid levels in tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) at low temperatures. *Agricultural and Biological Chemistry*, 1986, 50 (12), 3185-3187.
 14. Łyszkowska M., Gajc-Wolska J. Wpływa biostymulatorów na plonowanie i jakość sałaty listowej i kruchej. Biostymulatory w nowoczesnej uprawie roślin- materiały konferencyjne, Samodzielny Zakład Przyrodniczych Podstaw Ogrodnictwa Wydział Ogrodnictwa i Architektury SGGW, Warszawa 2008.
 15. Maciejewski T., Szukała J., Jarosz A. Influence of biostimulator Asahi SL and Atonik SL on qualitate tubers of potatoes. *Journal of Research and Applications in Agricultural Engineering*, 2007, 52 (3), 109-112.
 16. Michalski T. Biostymulatory i możliwość ich zastosowania. *Siewca Wielkopolski*, 2010, 6 (104), <http://www.wir.org.pl/archiwum/siewca/biostymulatory.htm>
 17. Nagata M., Yamashita I. Simple method for simultaneous determination of chlorophyll and carotenoids in tomato fruit. *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaish*, 1992, 39 (10), 925-928.
 18. Omoni A.O., Aluko R. The anti-carcinogenic and anti-atherogenic effects of lycopene: a review. *Trends in Food Science & Technology*, 2005, 16(8), 344-350.
 19. Pijanowski E., Mroewski S., Horubała A., Jarczyk A.: Technologia produktów owocowych i warzywnych. t.I. PWRiL. Warszawa 1973.
 20. PN-90/A-75101/03. Oznaczanie zawartości suchej masy metodą wagową. Przetwory owocowe i warzywne.
 21. Polese J.M. Uprawa pomidorów. Wyd. RM, Warszawa 2008.
 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 Radical Biology and Medicine*, 1999, 26, 1231-1237.
 23. Rumpel J. Uprawa pomidorów polowych. Plantpress, Kraków 2007.
 24. Sawicka B., Mikos-Bielak M. Modification of potato tuber chemical composition by applications of the Asahi SL biostimulator. Biostymulatory w nowoczesnej uprawie roślin- materiały konferencyjne, Samodzielny Zakład Przyrodniczych Podstaw Ogrodnictwa Wydział Ogrodnictwa i Architektury SGGW, Warszawa 2008.
 25. Shi J., Le Maguer M. Lycopene in tomatoes: chemical and physical properties affected by food processing. *Critical Review in Food Science and Nutrition*, 2000, 40 (1), 1-42.
 26. Skiepkó N., Chwastowska-Siwiecka I., Kondratowicz J. Właściwości likopenii jego wykorzystanie do produkcji żywności funkcjonalnej. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2015, 6 (103), 20-32.
 27. Słowiński A. Biostymulator Asahi SL w programie Poprawy Jakości Warzyw. *Owoce Warzywa Kwiaty*, 2007, 10, 17.

28. Stolarzewicz I.A., Jakub Ciekot J., Fabiszewska A.U., Białecka-Florjańczyk E. Roślinne i mikrobiologiczne źródła przeciwutleniaczy. *Postepy Higieny i Medycyny Doświadczalnej*, 2013, 67, 1359-1373.
29. Swain T., Hillis W.E. The phenolic constituents of *Prunus domestica*. The quantitative analysis of phenolic constituents. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 1959, 10, 63-68.
30. Szajdek A., Borowska J. Właściwości przeciwutleniające żywności pochodzenia roślinnego. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2004, 4 (41), 5-28.
31. Toor R.K., Savage G.P., Heeb A. Influence of different types of fertilisers on the major antioxidant components of tomatoes. *Journal of Food Composition and Analysis*, 19 (1), 20-27.
32. Yemm E.W., Wills A.J. The estimation of carbohydrates in plant extracts by antrone. *Biochemical Journal*, 1954, 57, 508-514.
33. Zalewska-Korona M., Jabłońska-Ryś E., Michalak-Majewska M. Wartości odżywcze i prozdrowotne owoców pomidora gruntowego. *Bromatologia i Chemia Toksykologiczna*, 2013, 46 (2), 200-205.

SKŁAD CHEMICZNY I WŁAŚCIWOŚCI PRZECIWUTLENIAJĄCE MŁODYCH PĘDÓW RÓŻNYCH ODMIAN ORKISZU, GRYKI I SZARŁATU

Wprowadzenie

W dzisiejszych czasach, kiedy niezwykle często występują nietolerancje pokarmowe, ludzie zaczynają poszukiwać nowych produktów i zamienników tych, które wywołują u nich alergię. Ponadto, coraz więcej osób interesuje się jakością zdrowotną wybieranych produktów, chcąc aby spożywane posiłki nie tylko dostarczały energii i zaspokajały głód, ale zawierały korzystne dla ich zdrowia związki i pierwiastki.

Pszenica znana była człowiekowi już 17000 lat p.n.e., kiedy to zapoznawano się z dziko rosnącym ziarnem tego zboża. Pierwsze odmiany pszenicy zaczęto uprawiać około 10000 lat p.n.e., a były to przede wszystkim pszenice jednoziarniste: samopsza oraz einkorn (*Triticum monococcum*), jak również płaskurka (*Triticum dicoccum*) [Rachoń i in., 2011]. Do najstarszych roślin hodowanych w Europie zalicza się również pszenicę orkisz [*Triticum aestivum* ssp. *spelta*] – jeden z podgatunków pszenicy heksaploidalnej [Jurga, 2012]. Obecnie orkisz, stanowiący gatunek reliktowy, znów cieszy się dużą popularnością, zarówno wśród rolników ekologicznych, naukowców, jak i konsumentów. Wynika to z rozkwitu rolnictwa alternatywnego, nastawionego na produkcję tzw. zdrowej żywności, bez stosowania chemicznych środków ochrony roślin czy nawozów mineralnych, a także ze starań związanych z zachowaniem bioróżnorodności. Zboże to ma stosunkowo niewielkie wymagania agrotechniczne – jest odporne na niekorzystne warunki atmosferyczne oraz nadaje się do uprawiania na ziemiach ubogich w składniki mineralne – a także znakomicie radzi sobie w konkurencji z chwastami. Fakt ten sprawia, że orkisz doskonale sprawdza się w hodowli ekologicznej, jak również w hodowli konwencjonalnej o niskich nakładach finansowych, gdzie uprawa orkiszu daje możliwość powiększenia przychodów z produkcji roślinnej [Biel i in., 2010].

Gryka, należąca do rodziny rdestowatych (*Polygonaceae*), w Polsce zaliczana do zbóż, to nieco zapomniana i niedoceniana roślina, jednakże może ona być wykorzystana na bardzo wiele sposobów. Z obłuszczonego ziarna gryki produkowana jest najbardziej znana kasza gryczana, coraz większe zastosowanie znajduje mąka gryczana, z której produkuje się makarony, chleby i inne produkty mączne, niezawierające glutenu i doskonale nadające się dla osób cierpiących na nietolerancję glutenu. Dużą popularnością cieszy się również miód gryczany. Od niedawna zaczęto wykorzystywać produkty odpadowe obłuskiwania ziarna gryki i łuskę gryczaną do produkcji m.in.

poduszek, materacy, czy siedzisk, doskonałych dla osób cierpiących na bóle kręgosłupa, czy bóle naczyniowo- ruchowe głowy [Borkowska i Robaszewska, 2012].

Szarłat, zwany również amarantusem, należy do rodziny szarłatowatych (*Amaranthaceae*). Podobnie do gryki, roślina ta odznacza się niezwykle wysoką wartością odżywczą, dzięki czemu cieszy się coraz większą popularnością. Z mąki z amarantusa można przyrządzić m.in. różnego rodzaju chleby, bułeczki, wafle, precelki, naleśniki, makarony, tortille, puddingi czy imitacje majonezu i masła z orzeszków ziemnych. Skrobia otrzymana z nasion szarłatu może być wykorzystywana jako składnik zagęszczaczy żywnościowych, pudrów kosmetycznych, aerozoli hipoałergicznym, krochmali, a nawet folii ulegających biodegradacji [Ceglińska i Kordialik, 2007].

Szerokie zastosowanie gryki oraz szarłatu, a także orkisz w przemyśle pozwala stwierdzić, że rośliny te są niezwykle interesujące i warto skupić się na dalszych badaniach innych, niezbadanych dotąd ich części, jak na przykład pędów, czy kielków. Kielki roślinne oraz młode pędy roślin, mają wysokie walory odżywcze ze względu na większą koncentrację wielu cennych dla zdrowia ludzkiego składników w młodych roślinach niż w ich dorosłych postaciach. Na dodatek ich wartość energetyczna jest znacznie niższa od nasion lub wyrobów, które są z nich produkowane [Tomiło, 2004].

Celem badań było określenie podstawowego składu chemicznego i oznaczenie aktywności przeciwutleniającej młodych pędów gryki, różnych odmian szarłatu i orkiszu.

Material i metody

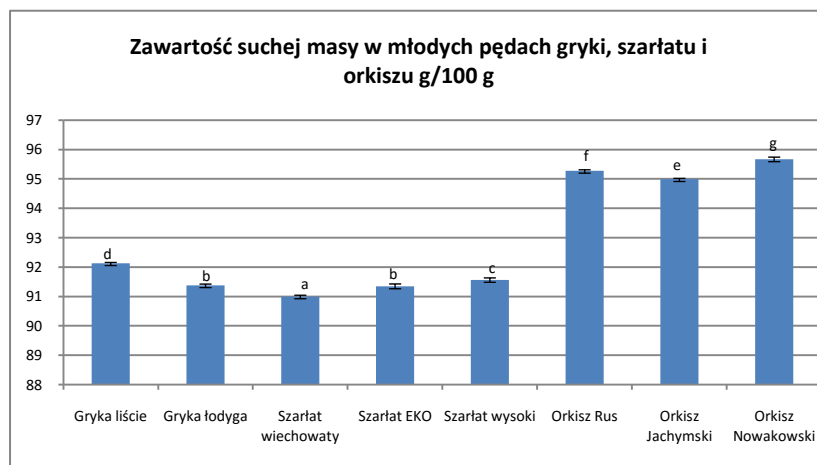
Materiał badawczy stanowiły młode pędy gryki (odmiana Kora), szarłatu (wysoki, wiechowaty, Eko) i orkisz (odmiany Jachymski, Nowakowski oraz Rus), posiane na tacy do wysiewu nasion, na podłożu glebowym i zebrane po upływie 7 dni. Ziarno orkisz otrzymano z Wytwórni Makaronu Bio Aleksandra Babalska, Pokrzydowo 99. Ziarno gryki zakupiono w Małopolskiej Hodowli Roślin, Spółka z o.o. w Krakowie. Nasiona szarłatu Eko zakupiono w sklepie z żywnością ekologiczną, a szarłatu wiechowatego i wysokiego w sklepie ogrodniczym.

W liofilizacie z ziarna i nasion oznaczono zawartość suchej masy, białka, tłuszczu, popiołu i błonnika pokarmowego metodami AOAC [2006], natomiast zawartość węglowodanów ogółem wyliczono z różnicy zawartości poszczególnych składników odżywczych. W materiale świeżym oznaczono zawartość suchej masy i witaminy C metodą Tillmansa w modyfikacji Pijanowskiego [Rutkowska, 1981], następnie sporządzono ekstrakty metanolowe, wykorzystane do oznaczenia zawartości polifenoli ogółem metodą Folina-Ciocalteu [Swain i Hillis, 1959], a zdolność do wygaszania wolnych rodników oznaczono metodą z wykorzystaniem kationorodnika ABTS⁺ [Pekkarinen i in., 1999].

Każde oznaczenie wykonano w trzech powtórzeniach. Wszystkie dane dotyczące badanych parametrów poddano analizie statystycznej z wykorzystaniem jednoczynnikowej analizy wariancji ANOVA (Statistica 10.0). Istotność różnic pomiędzy średnimi oceniano, testem Duncana, przy poziomie istotności $p \leq 0,05$.

Wyniki i dyskusja

W literaturze autorzy nie znaleźli informacji na temat podstawowego składu chemicznego (zawartości suchej masy, popiołu, białka, tłuszczu i błonnika) czy właściwości przeciwutleniających młodych pędów gryki, szarłatu czy orkisz. Do tej pory niewiele osób interesowało się młodymi roślinami oraz ich wartościami odżywczymi. Większość publikacji dotyczy ziarniaków i nasion tych roślin, dlatego otrzymane wyniki porównano do wyników badań na tej części rośliny.

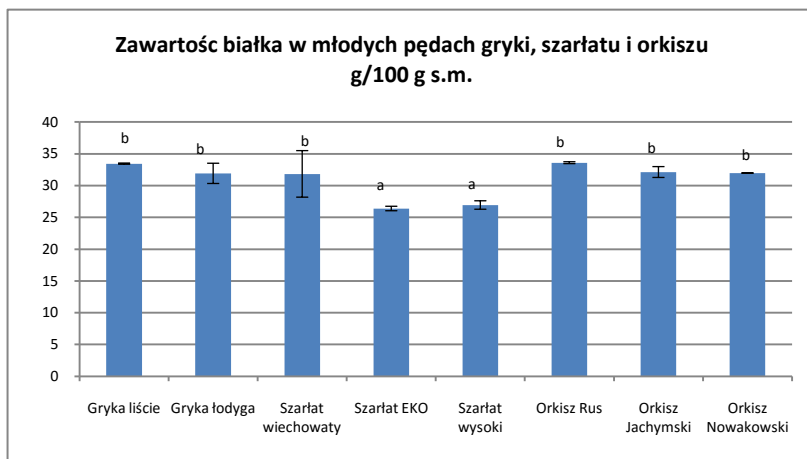


Rysunek 1. Zawartość suchej masy w liofilizatach młodych pędów gryki, szarłatu i orkisz; (a, b, c) – wartości średnie oznaczone różnymi literami różnią się statystycznie istotnie przy $p \leq 0,05$

Największą zawartość suchej masy oznaczono w pędach orkisz odmiany Nowakowski (95,7 g/100 g). Najmniejszą zawartością suchej masy charakteryzowały się pędy szarłatu wiechowatego (91,00 g/100 g). Jednoczynnikowa analiza wariancji wykazała istotne statystycznie różnice w zawartości suchej masy pomiędzy badanymi roślinami (jedynie pomiędzy szarłatem EKO a łodygami gryki nie stwierdzono statystycznie istotnych różnic) (Rys. 1.).

Podobne wyniki uzyskano w badaniach dojrzałych liści gryki [Piątkowska i in., 2015]. Według nich odmiana Kora zawierała 91,3% suchej masy w materiale liofilizowanym. Z badań De Francisci i in. z 1994 roku wynika, że zmielone ziarno gryki ma nieco mniejszą zawartość suchej masy (89,6%).

Według Biel i Jaskowskiej [2010] sucha masa nasion szarłatu wynosi 88,17%. Ratusz i Wirkowska [2006] uzyskały podobny wynik suchej masy (89%). Nieco inne wyniki uzyskali Escudero i in. [2004]. Według tych badań ilość suchej masy w ziarnie szarłatu wynosi 89,7%, natomiast Piecyk i in. [2009] podają, że mąka z szarłatu zawiera 91,09% s.m.

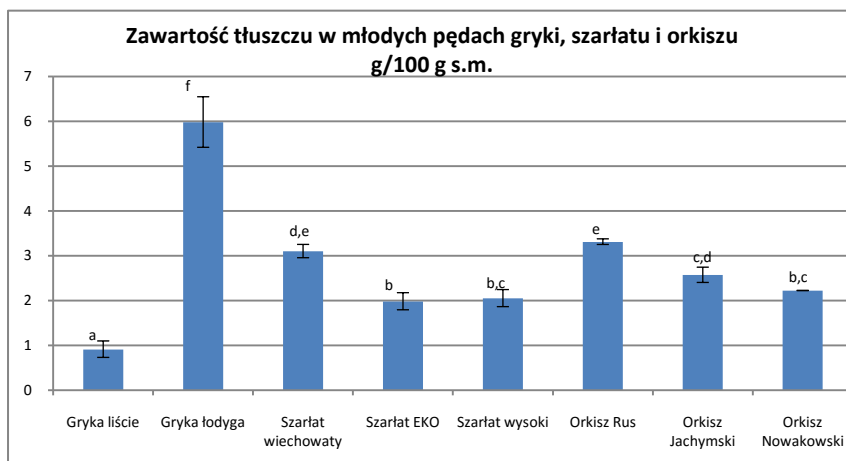


Rysunek 2. Zawartość białka w liofilizatach młodych pędów gryki, szarłatu i orkiszu; (a, b, c) – wartości średnie oznaczone różnymi literami różnią się statystycznie istotnie przy $p \leq 0,05$

Z rysunku 2. wynika, że zawartość białka we wszystkich badanych roślinach jest dość duża i mieści się w przedziale 26,4-33,6 g/100 g. Największą zawartością charakteryzowały się młode pędy orkiszu odmiany Rus, a najmniej tego składnika oznaczono w młodych pędach szarłatu Eko.

Podawana w literaturze zawartość białka w ziarnie gryki jest dość zróżnicowana. Według Steadman i in. [2001] jest to 12,3 % s.m., Li i Zhang [2001] podają wartość 12,11% s.m., według Wei i in. [2003] zawartość ta jest nieco większa i wynosi 13,3-15,55% s.m. Biel i Jaskowska [2010] w swoich badaniach wykazały, że ilość białka w nasionach szarłatu wynosi 16,9% s.m., co jest wynikiem znacznie mniejszym od uzyskanego w badaniach młodych pędów. Piecyk i in. [2009] w badaniach dotyczących mąki z szarłatu uzyskali niemalże identyczne wyniki (16,85% s.m.). Ratusz i Wirkowska [2006] uzyskały podobną zawartość białka w nasionach szarłatu, wynoszącą 14,5%. Według różnych badań białko gryki, w porównaniu do innych zbóż, wyróżnia się najkorzystniejszym, z żywieniowego punktu widzenia, składem aminokwasowym. Białka gryki są bogate w argininę i lizynę, które są głównymi aminokwasami ograniczającymi pozostałych zbóż. Białka nasion szarłatu również odznaczają się niezwykle wysoką wartością biologiczną, głównie ze względu na wysoką strawność rzeczywistą i znaczące ilości lizyny [Wei i in., 2003; Tomotake i in., 2006].

W porównaniu z zawartością białka w ziarniaku pszenicy orkisz, która według Banaszekiewicz [2011] wynosi 13,2 g/100 g, ilość białka w młodych pędach jest bardzo duża (średnio 33 g/100 g).



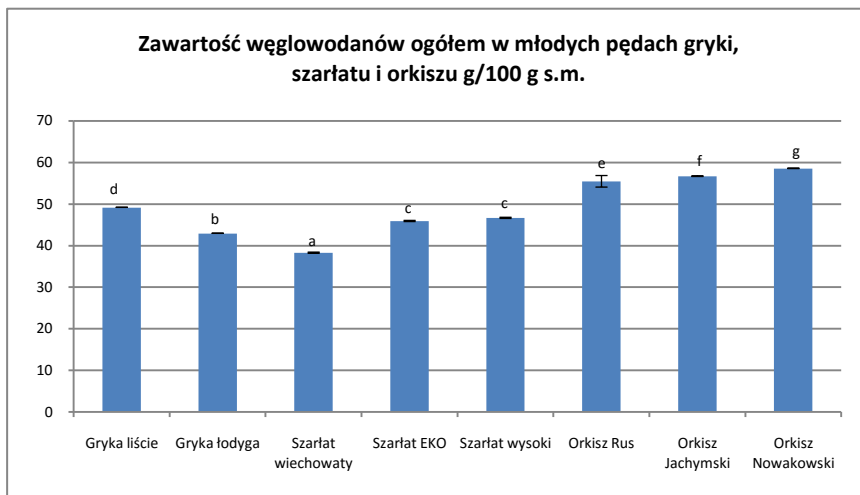
Rysunek 3. Zawartość tłuszczu w liofilizatach młodych pędów gryki, szarłatu i orkiszu; (a, b, c) – wartości średnie oznaczone różnymi literami różnią się statystycznie istotnie przy $p \leq 0,05$

Na rysunku 3. wyraźnie widać, że największą ilością tłuszczu charakteryzowała się w łodyga gryki (5,86 g/100 g s.m.). Statystycznie istotnie najmniej tego składnika znajdowało się w liściach gryki, jedynie 0,88 g/100 g s.m.

Z badań Li i Zhang [2001] wynika, że ziarna gryki zawierają 2,3% tłuszczu w suchej masie. Steadman i in. [2001] podają nieco większą zawartość tłuszczu w ziarnie, wynoszącą 3,8% s.m. Badania Piątkowskiej i in. [2015] określają znacznie mniejszą zawartość tego składnika w liściach gryki (0,9% tłuszczu w suchej masie).

W badaniach nasion szarłatu, Biel i Jaskowska [2010] podają, że ta część rośliny zawiera 8,29% tłuszczu w suchej masie. Jest to ilość znacznie przewyższająca wyniki uzyskane w badaniach młodych pędów tej rośliny. W przypadku mąki ilość tłuszczu jest zbliżona i wynosi 7,91% s.m. [Piecyk i in., 2009]. Ratusz i Wirkowska [2006] oznaczyły podobną zawartość tłuszczu, wynoszącą 7,1% s.m.

Największą zawartością węglowodanów charakteryzowały się młode pędy orkiszu odmiany Nowakowski. Najmniejszą zawartością tego składnika odznaczał się natomiast szarłat wiechowaty (Rys. 4.).



Rysunek 4. Zawartość węglowodanów ogółem w liofilizatach młodych pędów gryki, szarłatu i orkiszu; (a, b, c) – wartości średnie oznaczone różnymi literami różnią się statystycznie istotnie przy $p \leq 0,05$

Badania przeprowadzone przez Li i Zhang [2001] wykazały, że w ziarnie znajduje się o wiele więcej węglowodanów, niż w młodych pędach gryki. Z badań tych autorów wynika, że węglowodany stanowią znaczną część ziarna (73,3% s.m.). De Francischi i in. [1994], badający zmielone ziarno gryki wykazali, że ilość węglowodanów w tym produkcie jest nieco większa od całego ziarna i wynosi 75,80% s.m. Wyniki badań liści gryki są znacznie bardziej zbliżone do wyników uzyskanych w danym doświadczeniu. Piątkowska i in. [2015] podają, że w liściach badanej odmiany znajduje się 48,7% węglowodanów ogółem w suchej masie. Badania Escudero i in. [2004] pokazują, że ziarno szarłatu zawiera 62,76% węglowodanów ogółem w s.m. Jest to ilość znacznie większa od uzyskanej z badań na młodych pędach. Pedersen i in. [1987] otrzymali podobne wyniki (63,2% s.m.). Badania przeprowadzone przez Ratusz i Wirkowską [2006] potwierdziły te dane – oznaczyły one 62,8% węglowodanów ogółem w suchej masie. Zawartość tłuszczu w młodych pędach orkiszu jest porównywalna z jego zawartością w ziarniaku (2,6 g/100 g s.m.) [Banaszkiewicz 2011].

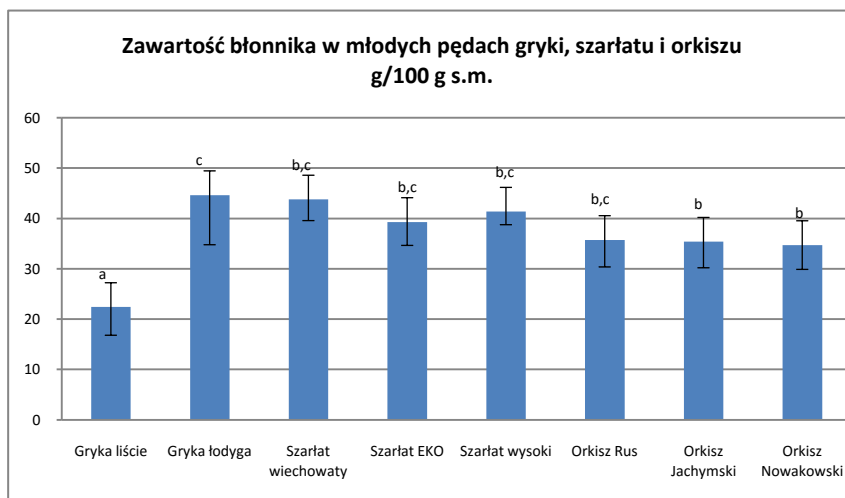
Ilość błonnika w młodych pędach badanych roślin mieściła się w przedziale 22,4% (liście gryki) – 44,6% (łodyga gryki) (Rys. 5.). Z badań Li i Zhang [2001] wynika, że ziarno gryki zawiera znacznie mniej błonnika (10,9% s.m.), niż młode pędy tej rośliny. Steadman i in. [2001] wykazali, że ziarno zawiera 7,0% błonnika, natomiast Dziadek i in. [2016] uzyskali wyniki znacznie wyższe (23,85% s.m.) – porównywalne z zawartością badanego składnika w młodych pędach.

Według badań Biel i Jaskowskiej [2010] w ziarnie szarłatu znajduje się 6,49% błonnika pokarmowego w suchej masie. Wyniki badań Pedersen i in. [1990] różnią się od

poprzednich, uzyskano w nich większą ilość błonnika w nasionach szarłat, wynoszącą 9,2%.

W pszenicy orkisz dominuje frakcja nierozpuszczalna włókna pokarmowego. Według badań Marconiego i in. [1999] zawartość frakcji nierozpuszczalnej w ziarnie orkiszu odmiany Ebners Rotkorn wynosi 8,7 g/100 g, zaś rozpuszczalnej 1,8 g/100 g.

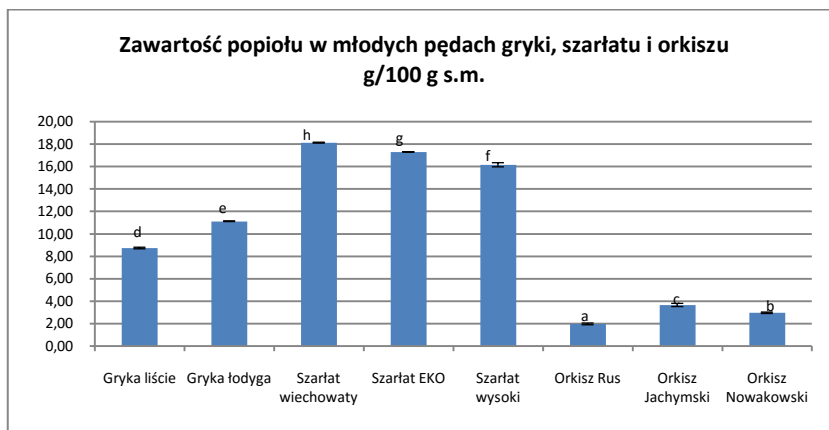
Największą zawartością popiołu w suchej masie charakteryzował się szarłat wiechowaty (18,1%), najmniejsze ilości tego składnika stwierdzono w orkiszu odmiany Rus (2,0%). Różnice w zawartości popiołu pomiędzy poszczególnymi odmianami były statystycznie istotne (Rys. 6.). Według badań Dziadek i in. [2016] roku, pełne ziarno gryki zawiera 4,18 % popiołu w suchej masie. Mniejsze zawartości uzyskali De Francischi i in. [1994], (3,0% s.m.). Natomiast Steadman i in. [2001] podają, że zawartość popiołu w całym ziarnie wynosi 2,4% s.m. W badaniach liści gryki uzyskano wynik 14,7% s.m. [Piątkowska i in., 2015].



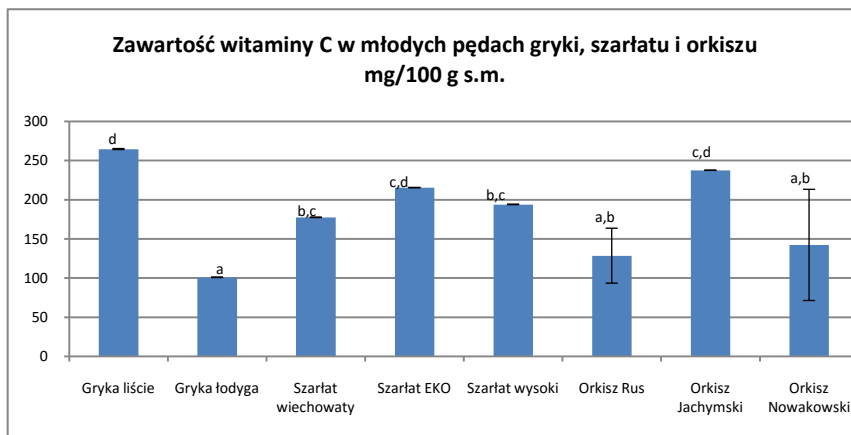
Rysunek 5. Zawartość błonnika w liofilizatach młodych pędów gryki, szarłat i orkiszu; (a, b, c) – wartości średnie oznaczone różnymi literami różnią się statystycznie istotnie przy $p \leq 0,05$

Zawartość popiołu w ziarnie orkiszu zbadanym przez Jurgę [2012], wyniosła 1,8 g/100 g. Podobne wyniki uzyskali również Marconi i in. [1999] – 1,9 g/100 g.

Rysunek 7. pokazuje, że młode pędy badanych roślin są dość dobrym źródłem witaminy C. Najwięcej tego składnika występowało w liściach gryki (264,84 mg/100 g s.m.), najmniej zaś w łodydze gryki (100,72 mg/ 100 g s.m.).

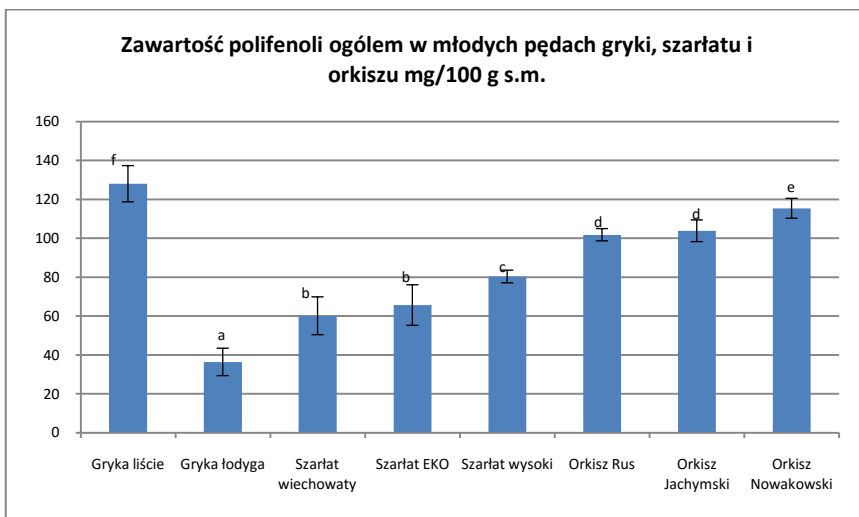


Rysunek 6. Zawartość popiołu w liofilizatach młodych pędów gryki, szarłatu i orkisz; (a, b, c) – wartości średnie oznaczone różnymi literami różnią się statystycznie istotnie przy $p \leq 0,05$



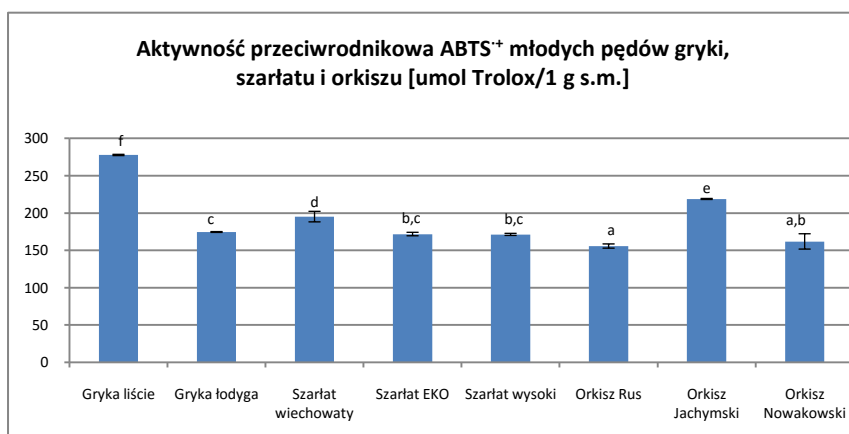
Rysunek 7. Zawartość witaminy C w młodych pędach gryki, szarłatu i orkisz; (a, b, c) – wartości średnie oznaczone różnymi literami różnią się statystycznie istotnie przy $p \leq 0,05$

Młode pędy są zdecydowanie lepszym źródłem witaminy C, niż ziarna czy nasiona rozpatrywanych roślin, ze względu na to, że w tych częściach roślin, brak jest tej witaminy.



Rysunek 8. Zawartość polifenoli w młodych pędach gryki, szarłat i orkisz;
(a, b, c) – wartości średnie oznaczone różnymi literami różnią się statystycznie istotnie przy $p \leq 0,05$

Jak wynika z rysunku 8., liście gryki są bardzo dobrym źródłem polifenoli. Badania wykazały, że zawierały ich 134,64 mg/100 g s.m. Najmniej polifenoli zawierała łodyga gryki (36,35 mg/100 g s.m.). Piątkowska i in. [2015] wykazali, że w łodygach gryki znajduje się 94,3 mg związków przeciwutleniających/100 g s.m. Natomiast w liściach było ich o wiele więcej, bo aż 497 mg/100 g. Badania Worobiej i in. [2009] dotyczące mąki z szarłat wykazały podobną ilość polifenoli, jaką uzyskano w powyższych badaniach młodych pędów (130 mg/100 g s.m.).



Rysunek 9. Aktywność przeciwutleniająca wobec kationorodnika ABTS⁺ młodych pędów gryki, szarłat i orkisz; (a, b, c) – wartości średnie oznaczone różnymi literami różnią się statystycznie istotnie przy $p \leq 0,05$

Zawartość związków polifenolowych w ziarniakach pszenicy orkisz wynosi 170 mg/100 g [Worobiej i in., 2009]. Według Pauličkovej i in. [2007] ilość polifenoli w młodych pędach jęczmienia waha się w granicach 172-356 mg/100 g. Największą aktywność przeciwutleniającą stwierdzono w liściach gryki (277,62 $\mu\text{mol Trolox/g s.m.}$), pozostałe badane rośliny wykazały znacznie mniejsze właściwości antyoksydacyjne (Rys. 9.).

Stempińska i in. [2007] w badaniach ziarna gryki uzyskali bardzo niską aktywność przeciwrodnikową w porównaniu do młodych pędów (20,22 $\mu\text{mol Trolox/g s.m.}$). Badania dojrzałych liści gryki wykazały, że odznaczają się one niezwykle wysoką aktywnością przeciwrodnikową wobec kationorodników ABTS⁺⁺. Uzyskane wyniki (1123 $\mu\text{mol Trolox/g}$ w liściach oraz 101 $\mu\text{mol Trolox/g}$ w łodydze) potwierdzają wcześniejsze dane, że to w liściach znajduje się najwięcej związków przeciwutleniających. Paško i in. [2007] podają, że aktywność przeciwrodnikowa ziaren szarłatki wynosi 12,84 $\mu\text{mol Trolox/g}$, co jest wartością dość niską. Porównując aktywność przeciwrodnikową wobec kationorodników ABTS⁺⁺ młodych pędów orkiszu z ziarniakami tego zboża, która w ziarnie jest dość niska i wynosi 3,23 mg Trolox/g [Worobiej i in., 2009], możemy wnioskować, że młode pędy *Triticum spelta* L. są dobrym źródłem antyoksydantów.

Podsumowując, młode pędy zawierają znaczną ilość składników pokarmowych oraz dość duże właściwości przeciwutleniające, jednakże biorąc pod uwagę ilość, jaką należałoby spożyć, aby dostarczyć odpowiednie ilości tych składników, należy stwierdzić, że młode pędy badanych roślin nie mogą być traktowane jako dobre źródło składników pokarmowych, ani antyoksydantów. Mogą natomiast stanowić cenne uzupełnienie i urozmaicenie codziennej diety.

Badania zostały sfinansowane z dotacji przyznanej przez MNiSW na działalność statutową.

Literatura

1. Banaszkiwicz T. Pszenica orkisz w żywieniu człowieka. Przegląd Zbożowo-Młynarski, 2011, 9, 18–21.
2. Biel W., Hury G., Maciorowski R., Kotlarz A., Jaskowska I. Wpływ zróżnicowanego nawożenia azotem na skład chemiczny ziarna dwóch odmian orkiszu (*Triticum aestivum* ssp. *spelta* L.) Acta Scientiarum Polonorum, Zootechnica, 2010, 9(4), 5–17.
3. Biel W., Jaskowska I. Właściwości żywieniowe nasion szarłatki (*Amaranthus cruentus*), Folia Pomeranae Universitatis Technologiae Stetinensis, Agricultura, Alimentaria, Piscaria et Zootechnica, 2010, 16, 5–12
4. Borkowska B, Robaszewska A. Zastosowanie ziarna gryki w różnych gałęziach przemysłu. Zesz Nauk Akad Mor,Gdynia 2012, 73: 43-55.
5. Ceglińska A, Kordialik J. Możliwości wykorzystania szarłatki. Przegląd Zbożowo-Młynarski, 2007, 8, 28-30.
6. De Francischi M.L.P., Salgado J.M., Leitao R.F.F. Chemical, nutritional and technological characteristics of buckwheat and non- prolamine buckwheat flours in comparison of wheat flour, Plant Foods for Human Nutrition, 1994, 46, 323- 329.

7. Dziadek K., Kopeć A., Pastucha E., Piątkowska E., Leszczyńska T., Pisulewska E., Witkowicz R., Francik R. Basic chemical composition and bioactive compounds content in selected cultivars of buckwheat whole seeds, dehulled seeds and hulls. *Journal of Cereal Science*, 2016, 69, 1–8.
8. Escudero N.L., DeArellano M.L., Luco J.M., Gimenez M.S., Mucciarelli S.I. Comparison of the chemical composition and nutritional value of *Amaranthus cruentus* flour and its protein concentrate. *Plant Foods for Human Nutrition*, 2004, 59, 15 – 21.
9. Jurga R. Pszenica orkisz – wartość żywieniowa i wypiekowa oraz możliwości wykorzystania przetworów. *Przegląd Zbożowo-Młynarski*, 2012, 11, 7–9.
10. Li S., Zhang Q.H. Advances in the development of functional foods from buckwheat. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 2001, 41, 451–464.
11. Official methods of analysis of AOAC. 18th edition. Gaithersburg Association of Official Analytical Chemists International, 2006.
12. Pekkarinen S.S., Stoeckmann H., Schwarz K., Heininen I.M., Hopia A.I. Atioxidant activity and partitioning of phenolic acids in bulk and emulsified methyl linoleate, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1999, 47, 3036-3043.
13. Piątkowska E., Witkowicz R., Janeczko Z., Kopeć A., Leszczyńska T., Pisulewska E., Suchecki Sz. Skład postawowy i właściwości przeciwutleniające liści wybranych odmian gryki zwyczajnej oraz tatarski. *Fragmenta Agronomica*, 2015, 32, 92–100.
14. Piecyk M., Worobiej E., Rębiś M., Rębiś Ż. Zawartość i charakterystyka składników odżywczych w produktach z szarłat. *Bromatologia i chemia toksykologiczna*, 2009, 2, 147 – 153.
15. Rachoń L., Szumiło G., Stankowski S. Porównanie wybranych wartości technologicznej pszenicy zwyczajnej (*Triticum aestivum* ssp. *vulgare*), twardej (*Triticum durum*) i orkiszowej (*Triticum aestivum* ssp. *spelta*), *Fragmenta Agronomica*, 2011, 28 (4), 52–59.
16. Ratusz K., Wirkowska M. Charakterystyka nasion i lipidów amarantusa. *Rośliny Oleiste*, 2006, 27, 243-250.
17. Rutkowska U. Wybrane metody badania składu i wartości odżywczej żywności. PZWL, Warszawa, 1991, 294-297.
18. Sawicka B., Krochmal-Marczak B. Pszenica orkiszowa (*Triticum aestivum* ssp. *spelta*) jako alternatywa dla gospodarstw ekologicznych. Współczesne dylematy polskiego rolnictwa. Cz. 2. Biała Podlaska, 2012, 344–357.
19. Steadman K. J., Burgoon M.S., Lewis B.A., Edwardson S.E., Obendorf R.L. Buckwheat seed milling fraction: description, macronutrient composition and dietary fibre. *Journal of Cereal Science*, 2001, 33, 271–278.
20. Swain T., Hillis W.E. The phenolic constituents of *Purmus domestica*. I. The quantitative analysis of phenolic constituents, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 1959, 10, 63-68.
21. Tomiło J. Zmiany właściwości nasion podczas kiełkowania. Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie. Wydział Inżynierii Produkcji. Zakład Techniki Ciepłej, 2004, 1–12.
22. Tomotake H., Yamamoto N., Yanaka N., Ohinata H., Yamazaki R., Kayashita J., Kato N. High protein flour supresses hypercholesterolemia in rats and gallstone formation in mice by hypercholesterolemic diet and body fat in rats because of its low protein digestibility. *Nutrition*, 2006, 22, 166–173.
23. Waga J., Węgrzyn S., Boroś D., Cygankiewicz A. Wykorzystanie orkisz (*Triticum aestivum* ssp. *spelta*) do poprawy właściwości odżywczych pszenicy zwyczajnej (*Triticum aestivum* ssp. *vulgare*). *Biuletyn Instytutu Hodowli i Aklimatyzacji Roślin*, 2002, 221, 3–16.
24. Wei Y., Hu X., Zhang G., Ouyang S. Studies on the amino acid and mineral content of buckwheat protein fractions. *Nahrung/Food*, 47, 2003, 114–116.
25. Worobiej E., Piecyk M., Rębiś M., Rębiś Ż. Zawartość naturalnych związków nie odżywczych i właściwości przeciwutleniające produktów z szarłat, *Bromatologia i Chemia Toksykologiczna*, 2009, 2, 154 – 161.

CHARAKTERYSTYKA *IN SILICO* WYBRANYCH BIAŁEK ZBÓŻ JAKO PREKURSORÓW PEPTYDÓW O DZIAŁANIU INHIBITORA ENZYMU KONWERTUJĄCEGO ANGIOTENSYNĘ

Streszczenie

Białka żywności są podstawowym elementem diety każdego człowieka, przyczyniającym się do utrzymania homeostazy organizmu. Ponadto udowodniono ich znaczącą rolę w przebiegu wielu procesów zachodzących w organizmach zwierząt i ludzi, dzięki występowaniu w ich strukturze fragmentów (bioaktywnych peptydów) o różnych aktywnościach. Najlepiej poznaną grupą bioaktywnych peptydów są inhibitory enzymu konwertującego angiotensynę I (ang. ACE; angiotensin converting enzyme; EC 3.4.15.1) odpowiedzialne za redukcję ciśnienia krwi. Z punktu widzenia profilaktyki prozdrowotnej, peptydowe inhibitory ACE pochodzące z białek żywności, mogą być doskonałymi składnikami diety wspomagającymi leczenie chorób układu krążenia [Iwaniak i in., 2014c].

Celem badań była ocena wybranych sekwencji białek owsa (*Avena sativa*) i pszenicy (*Triticum aestivum*) jako potencjalnego źródła inhibitorów ACE za pomocą metod *in silico*.

Badania obejmowały analizę sekwencji białek owsa i pszenicy pod kątem częstości występowania inhibitorów ACE (parametr A) oraz komputerową symulację proteolizy w aspekcie uwalniania peptydowych inhibitorów ACE. Oba zadania wykonano za pomocą bazy danych sekwencji białek i peptydów bioaktywnych BIOPEP (<http://www.uwm.edu.pl/biochemia>) wyposażonej w funkcje obliczeniowe. Zastosowano enzymy układu pokarmowego człowieka tj. pepsynę, trypsynę i chymotrypsynę działające w kombinacjach: substrat (sekwencja białka): jeden enzym, substrat: dwa enzymy oraz substrat: trzy enzymy jednocześnie.

Wśród białek owsa największą wartością parametru A charakteryzowała się awenina-3 (A=0,3318), zaś dla białek pszenicy była to glutelina HMW (A=0,5091). Wyniki komputerowej symulacji hydrolizy sekwencji białek owsa i pszenicy wskazywały, że najwięcej biopeptydów, szczególnie o aktywności obniżającej ciśnienie krwi, uzyskano stosując łączne działanie trzech enzymów. Wśród białek owsa największą liczbą uwolnionych fragmentów o aktywności inhibitora ACE

odznaczała się sekwencja globuliny 11S, natomiast w przypadku białek pszenicy była to ω -gliadyna.

Otrzymane wyniki wskazują, że korzystanie z metod analizy bioinformatycznej pozwala na ocenę białek jako potencjalnego źródła bioaktywnych peptydów oraz przewidywanie możliwości ich uwalniania z sekwencji białek.

Takie badania stanowią wstępne wskazanie do wyboru surowca (białka), enzymu(ów) przed przystąpieniem do badań w układzie *in vitro*, *in vivo* oraz *ex vivo*. Dodatkową zaletą badań bioinformatycznych (*in silico*) jest ich niska czasowa i kosztowność.

Słowa kluczowe: bioaktywne peptydy, bioinformatyka, analiza *in silico*, inhibitory ACE

Wprowadzenie

Zapadalność na choroby związane z niewłaściwą dietą są aktualnym problemem współczesnego świata. Wynika to z nieodpowiedniej ilości i proporcji składników odżywczych pochodzących z pożywienia, a także zbyt małej aktywności fizycznej człowieka (tj. prowadzenie siedzącego trybu życia). W ciągu ostatnich kilkudziesięcioleci, dzięki rozwojowi badań naukowych, przybywa dowodów potwierdzających pozytywny wpływ dobrze zbilansowanej diety, sposobu odżywienia oraz aktywności fizycznej na poprawę stanu zdrowia człowieka [Bednarski 2010; Halldorsdottir i in., 2014].

W ostatnich latach współczesny rynek artykułów żywnościowych uległ znaczącej ewolucji. Współczesny konsument jest coraz bardziej zainteresowany nowościami rynkowymi oferowanymi przez producentów żywności, którzy nieustannie poszerzają gamę produktów spożywczych zgodnie z aktualnymi trendami żywieniowymi [Goryńska-Goldman i Ratajczak, 2010]. Każdy konsument ma zróżnicowane wymagania dotyczące żywności, a ponadto zwraca uwagę na inne jej cechy jak np. korzyści zdrowotne, smakowość, atrakcyjność, gotowość do spożycia, tradycyjność, ekologiczność i in. Promocja zdrowia oraz edukacja żywieniowa przyczyniły się do kształtowania postaw i preferencji żywieniowych konsumentów. Dlatego naukowcy z całego świata stale poszukują oraz udoskonalają technologie wytwarzania żywności, by sprostać rosnącym oczekiwaniom żywieniowym konsumentów [Baryłko-Pikielna i Kostyra, 2004; Szpakowska i Tymoszuć, 2012].

Jedną z ważniejszych cech innowacyjnych produktów spożywczych, docenianych przez konsumenta, są jej podwyższone walory zdrowotne w stosunku do porównywalnego produktu tradycyjnego. Żywność dostosowana do aktualnych zaleceń żywieniowych, wykazująca tzw. wartość dodaną oraz charakteryzująca się udokumentowanym korzystnym wpływem na organizm człowieka nazywamy

„żywnością funkcjonalną” [Świdorski, 2005; Hooper i Cassidy, 2006]. Zawiera ona składniki, które korzystnie oddziałują na organizm człowieka oraz jest dobrym rozwiązaniem w profilaktyce i wspomaganiu terapii chorób dietozależnych takich jak np.: choroby sercowo-naczyniowe, cukrzyca oraz nadwrażliwość pokarmowa o podłożu immunologicznym i nieimmunologicznym [Górecka 2009; Iwaniak 2011; Iwaniak i in., 2014b]. Przykładem składników żywności, które odpowiadają powyższemu kryterium, są bioaktywne peptydy otrzymane na drodze hydrolizy enzymatycznej, bądź w czasie procesów technologicznych [Iwaniak i Dziuba, 2009]. Bioaktywne peptydy są definiowane jako krótkie fragmenty łańcucha polipeptydowego, które są uwalniane przez enzymy proteolityczne i poprzez oddziaływanie z odpowiednimi receptorami wykazują korzystny lub niekorzystny wpływ na organizm [Darewicz i Dziuba, 2009; Darewicz i in. 2013]. Przykładem pozytywnego działania biopeptydów jest obniżanie ciśnienia krwi, redukcja poziomu cholesterolu, hamowanie agregacji płytek krwi i in. Peptydy poza wykazywaniem aktywności biologicznych również mogą wpływać na smak żywności [Kim i Li-Chan, 2006; Korhonen i Philanto, 2006; Schlimme i Meisel, 2006; Iwaniak i in., 2013; Iwaniak i in., 2014a].

Instytut Żywności i Żywienia (IŻŻ) podczas I Narodowego Kongresu Żywieniowego pod hasłem: „Żywność i żywienie w prewencji i leczeniu chorób – postępy 2016” opublikował zmodyfikowaną Piramidę Zdrowego Żywienia i Aktywności Fizycznej, która różni się od poprzedniej wersji opublikowanej w roku 2009. Znacząca zmiana dotyczy przeniesienia wyrobów mącznych i zbożowych (które do niedawna znajdowały się u podstaw piramidy zdrowego żywienia) na drugie miejsce, ustępując tym samym grupie owoców i warzyw [Całtyniuk i in., 2011; Instytut Żywności i Żywienia, 2016]. Mimo wprowadzonych zmian, nadal głównymi założeniami Światowej Organizacji Zdrowia (WHO) jest zachęcenie do zwiększenia udziału w diecie błonnika pochodzącego z produktów zbożowych, które stanowią bardzo ważny element żywienia człowieka.

Liczne badania dowodzą, że produkty zbożowe są bogatym źródłem wielu cennych bioaktywnych peptydów, w tym inhibitorów ACE. Inhibitory ACE odpowiadają za redukcję ciśnienia krwi i należą do kategorii peptydów najbardziej poznanych pod kątem struktury, mechanizmu działania oraz pełnionej funkcji. Dotychczas w białkach żywności zidentyfikowano najwięcej inhibitorów ACE w porównaniu z peptydami o innych aktywnościach biologicznych [Iwaniak i in., 2014a]. Wiele sekwencji peptydów aktywnych biologicznie, w tym inhibitorów ACE, jest katalogowanych w bazach danych informacji chemicznych i biologicznych. Bazy danych są cennym uzupełnieniem wiedzy na temat niskocząsteczkowych składników

żywności i stanowią podstawę do tworzenia zbiorów danych poddawanych analizie bioinformatycznej oraz chemometrycznej (*in silico*) [Iwaniak i in., 2015].

Postęp technologiczny, automatyzacja procesów oraz analiz, potrzeba archiwizacji danych przyczyniły się do powstania bioinformatyki. Jest to stosunkowo młoda dyscyplina nauki, której dynamiczny rozwój przypada na przełom XX i XXI wieku, co związane jest z doskonaleniem oraz powszechnością technologii informacyjnych. Bioinformatyka wykorzystuje techniki obliczeniowe do analizowania zjawisk biologicznych poprzez łączenie wiedzy z różnych dziedzin, takich jak: matematyka, statystyka, informatyka, biologia molekularna, biochemia, genetyka oraz genomika [Higgs i Attwood, 2004]. Metody bioinformatyczne są użyteczne w rozwiązywaniu problemów przyrodniczych, środowiskowych, biologicznych, chemicznych, żywieniowych i in. Analizę bioinformatyczną można zastosować m.in. do poszukiwania wzajemnych powiązań między właściwościami fizykochemicznymi biologicznie aktywnych substancji [Iwaniak, 2011], projektowania leków lub składników żywności funkcjonalnej, analizy ewolucyjnych podobieństw między cząsteczkami czy do badań proteomicznych i peptydomicznych [Pawłowski, 2009]. Definicji bioinformatyki towarzyszy często termin „*in silico*” oznaczający, że badania prowadzone są za pomocą maszyn obliczeniowych (komputerów) wykorzystujących sztuczną inteligencję [Iwaniak, 2011]. Jednym z przykładów zastosowania analizy *in silico* w badaniach żywności jest symulacja hydrolizy białek mięsa kurczaka w celu pozyskiwania bioaktywnych peptydów [Iwaniak i in., 2014d]. W nauce o żywności badania bioinformatyczne są uznawane za innowacyjne i zyskują coraz większą popularność wśród naukowców zajmujących się funkcjonalnymi i bioaktywnymi składnikami żywności. Należy jednak pamiętać, że badania *in silico* należy traktować jako etap wstępny wymagający dalszej weryfikacji w układach eksperymentalnych [Iwaniak i in., 2014c].

Biorąc pod uwagę wskazania żywieniowców dotyczące obecności produktów zbożowych w diecie oraz coraz większy wachlarz dostępnych baz danych i programów komputerowych podjęto badania, których celem była charakterystyka sekwencji wybranych białek zbóż, tj. owsa (*Avena sativa*) i pszenicy (*Triticum aestivum*) z wykorzystaniem narzędzi bioinformatycznych dostępnych w bazie danych sekwencji białek i biologicznie aktywnych peptydów – BIOPEP [<http://www.uwm.edu.pl/biochemia>]. Realizacja celu badań obejmowała m. in. ocenę ww. białek zbóż jako źródła inhibitorów ACE oraz przewidywanie możliwości uwalniania peptydów o ww. aktywności pod wpływem działania endopeptydaz o znanej specyficzności.

Material i metody badań

Analizie *in silico* poddano łącznie 20 sekwencji białek (lub ich krótszych fragmentów) owsa (*Avena sativa*) i pszenicy (*Triticum aestivum*). Sekwencje białek pochodziły z bazy danych BIOPEP (<http://www.uwm.edu.pl/biochemia>; dostęp: styczeń 2016), a dane na temat długości ich łańcuchów oraz numerów identyfikacyjnych zestawiono w tabeli 1.

Tabela 1: Podstawowe dane na temat sekwencji analizowanych białek. Baza danych BIOPEP [dostęp: styczeń 2016]

Lp.	Białko	Numer identyfikacyjny (tzw. BIOPEP ID)	Liczba reszt aminokwasowych
Owies (<i>Avena sativa</i>)			
1.	Awenina- γ -3	1450	29
2.	Awenina-3	1451	220
3.	Awenina	1452	214
4.	Awenina	1458	222
5.	Awenina A	1459	36
6.	Awenina E	1460	52
7.	Awenina N9	1462	182
8.	Globulina 11S	1463	551
9.	Globulina 11S	1464	527
10.	Globulina 12S	1465	313
Pszenica (<i>Triticum aestivum</i>)			
1.	α/β -Gliadyna	1278	286
2.	Glutelina HMW (o dużej masie cząsteczkowej)	1281	660
3.	Glutelina-3 LMW (o niskiej masie cząsteczkowej)	1298	375
4.	α -Gliadyna	1305	313
5.	γ -Gliadyna	1309	279
6.	Glutelina LMW (o niskiej masie cząsteczkowej)	1315	298
7.	γ -Gliadyna	1319	311
8.	ω -Gliadyna	1418	280
9.	α -Gliadyna	1420	290
10.	Prolamina	1431	24

Niektóre z analizowanych sekwencji liczyły kilkadziesiąt reszt aminokwasowych (Tab. 1) i według ogólnie przyjętych zasad klasyfikacji zaliczane są do peptydów [Lintner, 2010]. Takie sekwencje w repozytorium UniProt [<http://www.expasy.org>, dostęp: grudzień 2015] opisano jako „fragmenty białek” lub „białka”, dlatego w bazie danych BIOPEP zostały umieszczone w zakładce „Proteins” („Białka”) i poddane

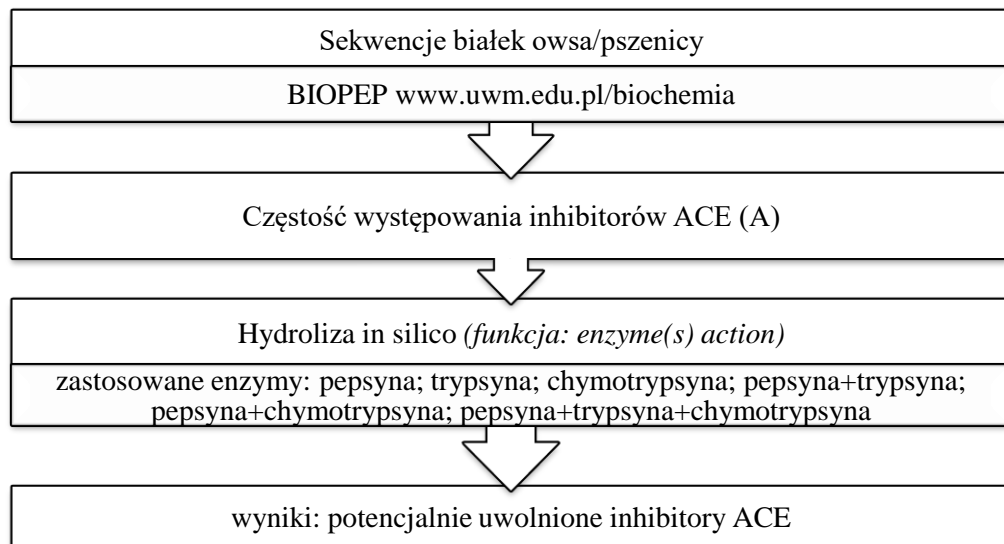
operacjom typowym dla oceny białek jako potencjalnego źródła bioaktywnych peptydów.

Sekwencje białek zbóż analizowano przy użyciu funkcji obliczeniowych udostępnionych w bazie danych BIOPEP. Obliczono częstość występowania fragmentów o aktywności inhibitora ACE (parametr A) definiowanej za pomocą wzoru $A=a/N$, gdzie a – liczba fragmentów o aktywności inhibitora ACE, N- liczba reszt aminokwasowych w łańcuchu białka [Iwaniak i Dziuba, 2009]. Funkcja ta znajduje się w zakładce „Calculations”, po uprzednim kliknięciu w zakładkę „Analysis”. Kolejnym etapem badań było przeprowadzenie komputerowej symulacji hydrolizy białek owsa i pszenicy pod kątem uwalniania inhibitorów ACE (zakładka o nazwie „Enzyme(s) action”). W tym celu zastosowano trzy enzymy przewodu pokarmowego: pepsynę, trypsynę oraz chymotrypsynę. Wymienione enzymy zastosowano według układu automatycznie „narzuconego” przez program komputerowy, czyli: „sekwencja białka: jeden enzym”, „sekwencja białka: dwa enzymy” oraz „sekwencja białka: trzy enzymy”. Dane na temat specyficzności pepsyny, trypsyny oraz chymotrypsyny przedstawiono w tabeli 2. Schemat postępowania zastosowanego do badania sekwencji białek zbóż (owsa i pszenicy) przedstawiono na rysunku 1.

Tabela 2. Specyficzność enzymów proteolitycznych zastosowanych w przeprowadzonym doświadczeniu [Baza danych BIOPEP; dostęp: styczeń 2016]

Enzym	EC	Numer identyfikacyjny (tzw. BIOPEP ID)	Specyficzność*
Pepsyna	3.4.23.1	13	Phe-; Tyr-; Trp-
Trypsyna	3.4.21.4	12	Lys-; Arg-
Chymotrypsyna	3.4.21.1	11	Tyr-; Phe-; Trp-; Leu-

* myślnik następujący po nazwie aminokwasu oznacza hydrolizę wiązania peptydowego przy C-końcowej reszcie aminokwasowej

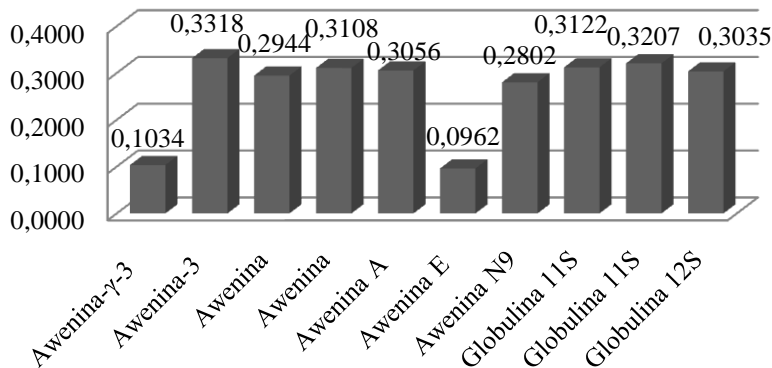


Rysunek 1. Schemat postępowania zastosowany do analizy *in silico* białek zbóż jako źródła inhibitorów ACE. Źródło: rysunek własny

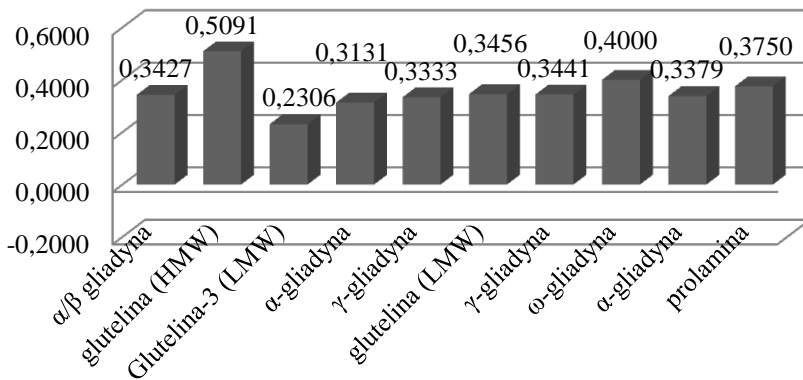
Wyniki i dyskusja

Na rysunku 2. i 3. przedstawiono wartości częstości występowania fragmentów o aktywności inhibitora ACE (redukującej ciśnienie krwi) (parametr A) obliczone dla sekwencji aminokwasowych białek owsa (*Avena sativa*) i pszenicy (*Triticum aestivum*). Wśród białek owsa największą wartością parametru A odznaczała się awenina-3 ($A=0,3318$), najmniejszą zaś awenina E ($A=0,0962$). W przypadku sekwencji białek pszenicy najwyższą wartością parametru A charakteryzowała się glutelina HMW ($A=0,5091$), natomiast najniższą glutelina-3 LMW ($A=0,2306$). Parametr A jest ilościową miarą oceny białek jako prekursorów peptydów o danej aktywności biologicznej. Pozwala on określić, która sekwencja białka jest lepszym źródłem biopeptydów (według zasady wyższa wartość - bogatsze źródło peptydów). Rozpatrując wartości A należy mieć na uwadze zarówno długość sekwencji białka, jak i peptydów oraz dane odnośnie populacji peptydów o określonej aktywności biologicznej. Dwa ostatnie czynniki wpływają na wielkość parametru A, tzn. im więcej fragmentów krótszych (np. di- lub tripeptydów), tym większe prawdopodobieństwo wystąpienia ich w sekwencji białka. Podobna reguła odnosi się do populacji peptydów o danej aktywności zgromadzonych w repozytoriach internetowych (im jest ich więcej, tym wzrasta prawdopodobieństwo ich wystąpienia w białku) [Minkiewicz i in., 2008]. Obecnie w bazie danych BIOPEP (dostęp: kwiecień 2016) znajduje się 691 sekwencji inhibitorów ACE i stanowią one najliczniejszą reprezentację bioaktywnych sekwencji na 3263 peptydów ogółem. Mimo wpływu wymienionych czynników na wielkość parametru A, jest on przydatny

do porównywania sekwencji białek jako źródła peptydów aktywnych biologicznie i pozwala m.in. na podjęcie decyzji o wyborze sekwencji „najlepszej, optymalnej” do weryfikacji wyników w układzie doświadczalnym.



Rysunek 2. Częstość występowania fragmentów o aktywności inhibitora ACE (parametr A) obliczona dla sekwencji białek owsa (*Avena sativa*). Źródło: rysunek własny.



Rysunek 3. Częstość występowania fragmentów o aktywności inhibitora ACE (parametr A) obliczona dla sekwencji białek pszenicy (*Triticum aestivum*). Źródło: rysunek własny.

Kolejnym etapem badań było przeprowadzenie komputerowej symulacji hydrolizy analizowanych sekwencji białek. Wykazano, że zależnie od zastosowanego enzymu, ich kombinacji, substratu (sekwencji białka) pozyskiwano inhibitory ACE w różnej ilości. Działając jednym enzymem (pepsyną/trypsyną/chymotrypsyną) uzyskiwano od jednego do maksymalnie trzech inhibitorów ACE. Dotyczyło to również tych sekwencji, dla których otrzymano najwyższe wartości parametru A (dane niezamieszczone). Najbardziej efektywna okazała się kombinacja „jedna sekwencja: trzy enzymy” (tj. pepsyna+trypsyna+chymotrypsyna) w stosunku do globuliny 11S

owsa oraz ω -gliadyny pszenicy. Wyniki proteolizy *in silico* wymienionych białek zestawiono w tabeli 3. Jednoczesne działanie pepsyny, trypsyny i chymotrypsyny na globulinę 11S owsa spowodowało uwolnienie 27 inhibitorów ACE, zaś na ω -gliadynę pszenicy 21. Działając dwoma enzymami na wymienione białka, tj.: pepsyną i trypsyną, uwolniono odpowiednio 22 i 19 inhibitorów ACE, a działanie pepsyny i chymotrypsyny spowodowało uwolnienie odpowiednio 10 i 8 peptydów.

Podsumowując, zastosowanie większej liczby enzymów w odpowiedniej kombinacji miało wpływ na liczbę uwolnionych inhibitorów ACE. W zależności od zastosowanego enzymu oraz jego specyficzności, uwolnione inhibitory ACE były przeważnie zbudowane z dwóch lub trzech reszt aminokwasowych. Badania wykazują, że di- oraz tripeptydy są łatwiej absorbowane z przewodu pokarmowego do krwi [Iwaniak i in., 2005].

Poza inhibitorami ACE, z analizowanych białek uwolnione zostały także peptydy o innych aktywnościach, takich jak: antyoksydacyjna, stymulująca absorpcję glukozy, celiakiotoksyczna, antyamnezyjna (dane niezamieszczone).

Tabela 3 Wyniki komputerowej symulacji proteolizy globuliny 11S owsa (*Avena sativa*) i ω -gliadyny (*Triticum aestivum*) w aspekcie uwalniania inhibitorów ACE (BIOPEP, dostęp: styczeń 2016)

Enzym/kombinacja	Inhibitory ACE potencjalnie uwolnione podczas hydrolizy <i>in silico</i>	Liczba uwolnionych peptydów *
<i>Globulina 11S (Avena sativa)</i>		
Pepsyna	IF, QK, TF, RL	5
Trypsyna	IAK, GR, QK, AR	6
Chymotrypsyna	IF, KW, QK, VF, VY, TF, RL	10
Pepsyna+Trypsyna	AF, IF, TF, IAK, QK, GF, GR, NF, AR	22
Pepsyna+Chymotrypsyna	IF, KW, QK, VF, VY, TF, RL	10
Pepsyna+Trypsyna+Chymotrypsyna	AF, IF, TF, IAK, EY, QK, VF, VY, GF, GR, NF, AR	27
<i>ω-Gliadyna (Triticum aestivum)</i>		
Pepsyna	VF, PL, IF	6
Trypsyna	GK	1
Chymotrypsyna	PL, VF, IF, SY	8
Pepsyna+Trypsyna	TE, GK, PR, AR, YL, NF, VF, PL, IF	19
Pepsyna+Chymotrypsyna	PL, VF, IF, SY	8
Pepsyna+Trypsyna+Chymotrypsyna	PL, TF, GK, PR, AR, PQR, NF, VF, IF, SY	21

* Podana liczba uwzględnia sekwencje powtarzające się

Podsumowując wyniki badań można potwierdzić użyteczność narzędzi analizy bioinformatycznej w badaniu składników żywności, w tym bioaktywnych peptydów. Pozyskiwanie bioaktywnych peptydów z białek żywności jest zagadnieniem wieloaspektowym. Jednym z nich jest projektowanie żywności o określonych/sprecyzowanych właściwościach prozdrowotnych, funkcjonalnych oraz sensorycznych przy pomocy różnorodnych systemów obliczeniowych, wspomagających pracę naukowca/technologa żywności. Zaletą badań komputerowych (*in silico*) jest ich niska kosztochłonność oraz czasochłonność w porównaniu do eksperymentów prowadzonych w laboratoriach, stosunkowo łatwy dostęp do informacji oraz powtarzalność wyników. Naukowcy stosujący analizę *in silico* sugerują również, by wykorzystywane zbiory danych porównywać z informacjami skatalogowanymi w innych bazach danych, co pozwala na dokładniejszą weryfikację uzyskanych wyników. Tak uzyskana i pogłębiona wiedza zwiększa prawdopodobieństwo zgodności wyników otrzymanych za pomocą badań *in silico* oraz *in vitro* [Iwaniak i in., 2015].

Wnioski i stwierdzenia końcowe

1. Białka zbóż mogą być potencjalnym źródłem biologicznie aktywnych peptydów, które w korzystny sposób oddziałują na regulację i funkcjonowanie procesów metabolicznych w ciele człowieka.

2. Wśród białek owsa awenina-3 cechowała się największą wartością częstości występowania inhibitorów ACE (parametr A), zaś awenina E – najmniejszą. Wśród białek pszenicy najwyższą wartość parametru A zaobserwowano dla gluteliny HMW, zaś najniższą dla gluteliny LMW-3.

3. Proteoliza *in silico* globuliny 11S owsa i ω -gliadyny pszenicy za pomocą trzech enzymów tj. pepsyny, trypsyny i chymotrypsyny była najefektywniejsza w kontekście liczby uwalnianych inhibitorów ACE.

*Badania zostały sfinansowane ze środków Katedry Biochemii Żywności Uniwersytetu
Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie.*

Literatura

1. Baryłko-Pikielna N., Kostyra E. Współczesne trendy wyboru i akceptacji żywności. *Przemysł Spożywczy*, 2004, 58, 12, 3-10.
2. Baza danych sekwencji białek i biologicznie aktywnych peptydów - BIOPEP: (<http://www.uwm.edu.pl/biochemia>, (dostęp on-line: styczeń-kwiecień 2016).
3. Bednarski W. Perspektywy produkcji żywności z uwzględnieniem wymagań żywieniowych i możliwości technologicznych. I Kongres Nauk Rolniczych Nauka – Praktyce, 2010, 41-42.
4. Całyniuk B., Grochowska-Niedworok E., Białek A., Czech N., Kukielczak A. Piramida żywienia – wczoraj i dziś. *Probl Hig Epidemiol*, 2011, 92 (1): 20-24.
5. Darewicz M., Borawska J., Minkiewicz P., Iwaniak A. Peptydy biologicznie aktywne jako składniki żywności funkcjonalnej. *Przemysł Spożywczy*, 2013, 67, 38-40.

6. Darewicz M., Dziuba J. Biologicznie aktywne peptydy i białka żywności (red. Dziuba J., Fornal Ł.) Peptydy funkcjonalnie aktywne. WNT Warszawa 2009, 72-78.
7. Goryńska-Goldman E., Ratajczak P. Świadomość Żywnościowa a Zachowania Żywnościowe Konsumentów. *Journal of Agribusiness and Rural Development*, 2010 4 (18), 41-48.
8. Górecka D. Błonnik pokarmowy korzyści zdrowotne i technologiczne. *Przemysł Spożywczy*, 2009, 63, 12, 16-20.
9. Halldorsdottir S. M., Sveinsdottir H., Gudmundsdottir A., Thorkelsson G., Kristinsson H. G. High quality fish protein hydrolysates prepared from byproduct material with *Fucus vesiculosus* extract. *Journal of Functional Foods*, 2014, 9, 10-17.
10. Higgs P. G., Attwood T. K. Bioinformatyka i ewolucja molekularna. PWN Warszawa 2004, 10-13.
11. Hooper L., Cassidy A. A review of the health care potential of bioactive compounds. *Journal of Science of Food and Agriculture*, 2006, 86, 1805-1813.
12. Instytut Żywności i Żywienia, <http://www.izz.waw.pl/pl/zasady-prawidowego-ywienia> (dostęp on-line: 15.03.2016).
13. Iwaniak A., Dziuba J., Niklewicz M. The BIOPEP database - a tool for the in silico method of classification of food proteins as the source of peptides with antihypertensive activity. *Acta Alimentaria*, 2005, 34 (4), 417-425.
14. Iwaniak A., Dziuba J., Biologicznie aktywne peptydy i białka żywności, (red. Dziuba J., Fornal Ł.): Bioaktywne sekwencje w białkach żywności. WNT Warszawa 2009, 176-267.
15. Iwaniak A., Analiza zależności między strukturą peptydów pochodzących z białek żywności a ich aktywnością inhibitorową wobec enzymu konwertującego angiotensynę. Ocena przydatności metod in silico w badaniach nad białkowymi prekursorami bioaktywnych peptydów. UWM Olsztyn 2011, 162, 1-152.
16. Iwaniak A., Dąbrowski K., Darewicz M., Analiza in silico białek wybranych gatunków ryb jako źródła peptydów bioaktywnych. *Komunikaty Rybackie*, 2013, 5 (136), 8-12.
17. Iwaniak A., Darewicz M., Minkiewicz P., Peptydowe inhibitory enzymu konwertującego angiotensynę jako składniki żywności wspomagające terapię nadciśnienia tętniczego. *Lekarz Wojskowy*, 2014a, 92, 89-95.
18. Iwaniak A., Darewicz M., Minkiewicz P., Protasiewicz M., Borawska J. Biologicznie aktywne peptydy pochodzące z białek żywności jako składniki diety o właściwościach kardioprotekcyjnych. *Polski Merkuriusz Lekarski*, 2014b, XXXVI, 216, 403-406.
19. Iwaniak A., Minkiewicz P., Darewicz M. Food-Originating ACE Inhibitors, Including Antihypertensive Peptides, as Preventive Food Components in Blood Pressure Reduction. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 2014c, 13 (2), 114-134.
20. Iwaniak A., Pasemko D., Darewicz M., Protasiewicz M. Hydroliza enzymatyczna in silico wybranych sekwencji białek mięsa kurczaka w aspekcie pozyskiwania peptydów biologicznie aktywnych. *Nauka. Przyroda. Technologie*, 2014d, 8, 4 (49) 1-11.
21. Iwaniak A., Minkiewicz P., Darewicz M., Protasiewicz M., Mogut D. Chemometrics and cheminformatics in the analysis of biologically active peptides from food sources. *Journal of Functional Foods*, 2015, 16, 334-351.
22. Kim H., Li-Chan E. C. Y. Application of Fourier Transform Raman Spectroscopy for Prediction of Bitterness of Peptides. *Applied Spectroscopy*, 2006, 60 (11), 1297-1306.
23. Korhonen H., Philanto A. Bioactive peptides: Production and functionality. *International Dairy Journal*, 2006, 16, 9, 945-960.
24. Lintner K. *Cosmetic Dermatology: Products and Procedures*, (red. Draeols Z. D.): Peptides and Proteins. Wiley Blackwell Oxford, 2010, 292-301.
25. Minkiewicz P., Dziuba J., Iwaniak A., Dziuba M., Darewicz M. BIOPEP and other programs for processing bioactive peptide sequences. *Journal of AOAC International*, 2008, 91, 965-980.
26. Pawłowski K. Bioinformatyka w poszukiwaniu nowych leków. *Kosmos*, 2009, 58, 1-2, 127-134.
27. Schlimme E., Meisel H. Bioactive peptides derived from milk proteins. Structural, physiological and analytical aspects. *Nahrung*, 2006, 39, 1, 1-20.
28. Szpakowska M., Tymoszek E. Wybrane aspekty oceny jakości produktów żywnościowych. *Zarządzanie i Finanse*, 2012, 10, 3, 104-113.
29. Świderski F., Waszkiewicz-Robak B. Składniki bioaktywne w żywności funkcjonalnej. *Przemysł Spożywczy*, 2005, 59, 04.
30. Baza danych sekwencji białek UniProt, <http://www.expasy.org>, (dostęp on-line: 01.12.2015).

OCENA WŁAŚCIWOŚCI PROZDROWOTNYCH TRADYCYJNYCH KAW ZBOŻOWYCH PRODUKOWANYCH NA PODLASIU

Streszczenie

Zarówno kawy zbożowe, jak i inne substytuty kawy naturalnej cieszą się obecnie dużym zainteresowaniem. Zawierają one wiele substancji bioaktywnych, w tym związki o właściwościach przeciwutleniających i przeciwrodnikowych, redukujących stres oksydacyjny, który jest powodem szeregu chorób.

Celem pracy była analiza ogólnej zawartości polifenoli oraz aktywności przeciwutleniającej naparów z wybranych kaw zbożowych, kawy z topinamburu oraz kaw z żołądzi produkowanych tradycyjnymi metodami na Podlasiu, z dodatkiem różnych surowców: żeń-szenia, kardamonu, cynamonu, imbiru, owoców głogu i tarniny, korzeni mniszka lekarskiego i wiesiołka dwuletniego. Aktywność przeciwrodnikową określono na podstawie redukcji stabilnego rodnika DPPH[•] oraz pomiaru kinetyki procesu jego wygaszania w naparach, w zależności od zawartości surowca. Analizowano również zdolność otrzymanych naparów do redukcji jonów żelaza(III) z zastosowaniem metody FRAP. Całkowitą zawartość związków fenolowych oznaczono metodą Folina-Ciocalteu i wyrażono w mg kwasu galusowego w przeliczeniu na 100 ml naparu. Przeprowadzono analizę powyższych parametrów w porównaniu do tych uzyskanych dla kawy naturalnej. Na podstawie przeprowadzonych badań można stwierdzić, że kawy produkowane z żołądzi sposobem tradycyjnym: żołądziówka (z dodatkiem kardamonu, imbiru, cynamonu i goździków) i żołądziówka z żeń-szeniem charakteryzowały się największą zawartością polifenoli jak również wykazywały największą aktywność przeciwutleniającą. Napary z kaw naturalnych oraz kaw produkowanych na bazie żołądzi z różnymi dodatkami charakteryzowały się najniższymi wartościami EC₅₀ (parametr określający stężenie naparu pozwalające na 50% redukcję wolnych rodników stosowanych w badaniach), co wskazuje na ich wysoką aktywność przeciwrodnikową.

Słowa kluczowe: substytuty kawy, DPPH, FRAP, polifenole

Wprowadzenie

Wyniki badań dostępne w literaturze światowej wyraźnie wskazują, że odżywianie człowieka ma ogromny wpływ na jego zdrowie [Parkinson i Keast, 2014; Samsonowicz i Regulska, 2016]. Szereg chorób (w tym nowotwory) powodowane są przez nadmiar wolnych rodników w żywności, która trafia do organizmu. Stosowanie odpowiedniej diety bogatej w naturalne związki o właściwościach przeciwutleniających ma ogromny wpływ na kondycję zdrowotną społeczeństwa. Aktywne przeciwutleniacze występują w owocach, warzywach, produktach zbożowych, a także w ziołach, przyprawach, a przede wszystkim w herbatach i kawie naturalnej

Kofeina jest najbardziej znaną substancją pobudzającą w kawie, jednak jej silne działanie farmakologiczne spowodowało wzrost zainteresowania napojami będącymi substytutami kawy. Kawy zbożowe dzięki właściwościom sensorycznym zbliżonym do kawy naturalnej są chętnie spożywane przez osoby, które z przyczyn zdrowotnych nie powinny spożywać kawy naturalnej.

Główną zaletą tych kaw jest brak kofeiny w ich naparach, które dodatkowo charakteryzują się bogatym i zróżnicowanym składem związków bioaktywnych w tym przeciwutleniaczy polifenolowych, zawierają polisacharydy, witaminy, związki mineralne [Komes i in., 2015], co nadaje im charakter prozdrowotny. W tabeli 1. przedstawiono występowanie kwasów fenolowych i polifenoli w głównych składnikach substytutów kawy naturalnej. Kawa jako produkt zbożowy jest źródłem błonnika pokarmowego, który w szczególnie dużej ilości występuje w jęczmieniu. Cykoria często wchodząca w skład kaw zbożowych posiada szeroki wachlarz właściwości leczniczych w szczególności ze względu na obecność naturalnego polisacharydu – inuliny, która między innymi reguluje metabolizm lipidów i węglowodanów oraz działa przeciwnowotworowo [Luzina, 2013]. Nowym surowcem do produkcji substytutu kawy jest topinambur, który charakteryzuje się wysoką zawartością błonnika pokarmowego, w tym inuliny. Inne substancje prozdrowotne występujące w bulwach tej rośliny to: oligosacharydy, alkohole wielowodorotlenowe, aminokwasy, peptydy, białka, witaminy, cholina i lecytyna, składniki mineralne, wielonienasycone kwasy tłuszczowe oraz substancje fitochemiczne [Sawicka i in., 2013]. Dane literaturowe wskazują, że zawartość związków fenolowych w bulwach różnych odmian topinamburu jest wysoka, zależy od terminów zbioru i wynosi średnio 221 mg/100 g surowca w przeliczeniu na kwas chlorogenowy [Florkiewicz i in., 2007]. Ze względu na wymienione powyżej walory napary z substytutów kawy można zaliczyć do żywności funkcjonalnej [Worobiej i Redlińska, 2011].

Tradycyjne surowce do produkcji kawy zbożowej to żyto (*Secale L.*), jęczmień (*Hordeum L.*), orkisz, (*Triticum aestivum* ssp. *spelta L.*), cykoria (*Cichorium intybus*), buraki cukrowe (*Beta vulgaris L.*). Oprócz tych podstawowych składników dodaje się również inne surowce poprawiające smak, kolor i aromat kawy, np. suszone figi, żołądziejce, ciecierzycę, fasolę sojową, mniszek lekarski czy migdały [Komes i in., 2015]. Nowe surowce stosowane jako składniki kaw zbożowych, np. aronia, lubczyk czy karczochy mogą być cennym źródłem kwasu chlorogenowego i jego pochodnych [Zawirska-Wojtasiak i in., 2014], które pozytywnie wpływają na aromat kawy oraz na jej aktywność przeciwutleniającą.

Tabela 1. Występowanie wybranych kwasów fenolowych i polifenoli w głównych składnikach substytutów kawy i w kawach tradycyjnych z Podlasia

Składnik	Fenolokwasy	Polifenole
Ziarno zbóż (jęczmień, żyto, pszenica)	protokatechowy, <i>p</i> -hydroksybenzoesowy, salicylowy, wanilinowy, kawowy, galusowy, elagowy, <i>p</i> -kumarowy, ferulowy, synapinowy [Zieliński, 2012]	proantocyjanidyny, katechiny, flawonole [Zieliński, 2012], flawony (apigenina, luteolina [Yao i in., 2004]
Żołądziejce	katechinowy, galusowy, elagowy [Rakic i in., 2006]	taniny [Rakic i in., 2006]
Cykoria	kwasy: dikawoilochinowe i kawoilochinowe, kawowy, chlorogenowy [Street i in., 2013]	Flawonole: kwercetyna, kempferol, mirycetyna; flawony: apigenina [Street i in., 2013]
Buraki cukrowe	ferulowy [Szwajger i Targoński, 2006]	
Topinambur	chlorogenowy, galusowy, salicylowy, kawowy [Bach i in., 2014]	

Kwasy fenolowe w roślinach występują głównie w formie związanej, jako elementy złożonych struktur lignin i tanin hydrolizujących oraz w postaci estrów i glikozydów.

Za właściwości przeciwutleniające napojów będących substytutami kawy naturalnej mogą odpowiadać również związki będące produktami tzw. reakcji Maillarda zachodzących w żywności pod wpływem obróbki cieplnej (np. melanoidyny) [Michalska i Zieliński, 2007].

Celem pracy była ocena ogólnej zawartości związków polifenolowych oraz właściwości przeciwutleniających naparów z kaw zbożowych, żołądziowych oraz kawy z topinamburu produkowanych tradycyjnymi sposobami na terenie Podlasia w porównaniu do wybranych kaw dostępnych na polskim rynku. Została ona

zrealizowana w ramach grantu uzyskanego z NCN dotyczącego poszukiwania nowych suplementów diety, między innymi poprzez modyfikację składników żywnościowych oraz związków biologicznie aktywnych w celu poprawy zdolności jej składników do dezaktywacji i wygaszania wolnych rodników. Dane literaturowe oraz nasze wcześniejsze badania wykazały istnienie zależności pomiędzy strukturą molekularną układów modelowych (kwasy fenolowe, polifenole) a ich właściwościami przeciwutleniającymi czy mikrobiologicznymi [Samsonowicz i in., 2015]

Materiały i metody badań

Materiał badawczy stanowiły kawy różniące się składem surowcowym, w tym kawy mielone i rozpuszczalne. Były to kawy zbożowe: ziołowo-zbożowa (I), orkiszowa (II), kawa Inka (III); kawy produkowane z żołądzi: żołądziówka (IV) i żołądziówka z dodatkiem żeń-szenia (V) oraz kawa z topinamburu (VI). W celach porównawczych analizowano również po jednej kawie rozpuszczalnej – Jacobs Cronat Gold (VII) i mielonej – Maxwell House (VIII). Skład poszczególnych kaw podano w tabeli 2. zgodnie z deklaracją producenta.

Tabela 2. Skład analizowanych kaw wg danych producenta

Nazwa kawy	Producent	Skład
ziołowo-zbożowa	„Dary Natury”, Koryciny	prażone ziarna zbóż (żyto, jęczmień, pszenica), prażone owoce głogu i tarniny, prażone korzenie cykorii podróżnik i wiesiołka dwuletniego (w różnych proporcjach)
orkiszowa	„Dary Natury”, Koryciny	prażone ziarna orkisz 100%
„Inka”	„Grana” Skawina	zboża (jęczmień, żyto) 72%, prażona cykoria i burak cukrowy
żołądziówka	„Dary Natury”, Koryciny	prażone żołądzie (98,5%), kardamon, imbir, cynamon, goździki (w różnych proporcjach)
żołądziówka z żeń-szeniem	„Dary Natury”, Koryciny	żołądzie prażone 97%, żeń-szeń 3%
z topinamburu	„Dary Natury”, Koryciny	prażone kłącze topinamburu, prażony korzeń mniszka lekarskiego, kardamon, cynamon, goździki (w różnych proporcjach)

Przygotowanie próbek do analizy

Ekstrakty (napary wodne) z kaw otrzymano poprzez zalanie naważki kawy w ilości 1 g wodą redestylowaną (100 ml) o temperaturze 90°C. Następnie napary pozostawiano

pod przykryciem przez 10 minut, po czym (w razie potrzeby) przesączano przez średni sączek i schładzano do temperatury pokojowej. Ekstrakty do badań rozcieńczano wodą destylowaną w stosunku 1:1. Wszystkie badania wykonano w trzech seriach i w trzech powtórzeniach w każdej serii.

Ogólna zawartość związków fenolowych

Całkowitą zawartość polifenoli wyrażoną jako ekwiwalent kwasu galusowego (mg GA/g surowca) [Singleton, 1965] oznaczano metodą spektrofotometryczną z zastosowaniem odczynnika Folina-Ciocalteu (F-C). W tym celu odmierzano 0,1 ml ekstraktu i dodawano 0,3 ml odczynnika F-C. Tak otrzymany roztwór mieszano i pozostawiano na 3 minuty. Po upływie tego czasu alkalizowano środowisko reakcji dodając 0,5 ml 14% (w/w) wodnego roztworu węgla sodu, a następnie 4 ml wody redestylowanej. Przygotowane w ten sposób próbki pozostawiano w ciemności na 1 godzinę, a następnie mierzono ich absorbancję przy długości fali 764 nm wobec próby zerowej. Wartości absorbancji przeliczano na całkowitą zawartość związków fenolowych korzystając z krzywej wzorcowej przygotowanej dla kwasu galusowego ($y = 3,4349x - 0,002$; $R = 0,9959$).

Aktywność antyoksydacyjna ekstraktów

Metoda DPPH Oznaczanie polegało na ocenie zdolności badanych naparów do wygaszania stabilnego rodnika DPPH, czego skutkiem było zmniejszenie absorbancji metanolowego roztworu tego rodnika. Aktywność przeciwutleniającą (AA) wyrażono, jako procent redukcji rodnika DPPH po inkubacji z badanymi roztworami w odniesieniu do próby kontrolnej i obliczono ze wzoru [Samsonowicz i Regulska, 2016]:

$$AA[\%] = \frac{A_{DPPH} - A_t}{A_{DPPH}} \cdot 100\%$$

gdzie: A_{DPPH} – absorbancja próbki kontrolnej, A_t – absorbancja badanej próbki.

Oznaczenie wykonano według zmodyfikowanej metody Brand-Williams z użyciem syntetycznego rodnika DPPH (1,1-difenylo-2-pikrylohydrazyl) [Brand-Williams i in., 1995]. Pobierano 2,5 ml metanolowego roztworu DPPH (A ok. 1,2) i dodawano 0,05 ml próbki lub ekstraktu. Próby inkubowano w ciemności w temperaturze pokojowej przez 30 minut. Absorbancję roztworów mierzono przy długości fali $\lambda = 515$ nm. Próbkę kontrolną stanowił metanol w miejsce badanego naparu. Wszystkie oznaczenia wykonano w trzech seriach i w trzech powtórzeniach. Wyniki przedstawiono jako procent wygaszonego rodnika DPPH po 30 minutowej inkubacji badanych naparów.

Badania przeprowadzono dla różnych stężeń surowca w naparach. Na ich podstawie dla każdego naparu wyznaczano parametr EC_{50} – stężenie naparu potrzebne do obniżenia początkowego stężenia DPPH o 50%.

Badania kinetyki reakcji z rodnikiem Testu DPPH użyto również do badań kinetyki reakcji ekstraktów o różnych stężeniach (w przeliczeniu na masę surowca) ze stabilnym rodnikiem. Mierzono zmiany natężenia absorbancji roztworu DPPH co 3 sekundy przez 10 minut. Z krzywej wzorcowej, przedstawiającej zależność absorbancji metanolowego roztworu DPPH od jego stężenia, odczytano stężenie DPPH pozostałego w układzie reakcyjnym, a następnie procentową jego zawartość.

Metoda FRAP (oznaczanie zdolności redukowania jonów żelaza). Metoda ta polega na ocenie zdolności redukcji kompleksu żelaza Fe^{3+} -TPTZ (kompleks żelazowo-2,4,6-tripirydylo-s-traizyny) do kompleksu Fe^{2+} -TPTZ przez badaną substancję o właściwościach przeciwutleniających. Redukcji tej towarzyszy zmiana absorbancji mieszaniny reakcyjnej. Oznaczenie wykonano według metody opisanej przez Benzie i Strain [1996]. Do 0,05 ml ekstraktu dodawano 2,5 ml reagenta FRAP i po wymieszaniu inkubowano w temperaturze pokojowej przez 15 minut, a następnie mierzono absorbancję roztworu przy długości fali $\lambda = 596$ nm. Otrzymane wartości absorbancji przeliczano na podstawie krzywej wzorcowej ($y = 0,3741x + 0,0763$; $R=0,9954$) jako ilość mmoli jonów Fe^{2+} na 1000 cm^3 naparu. Odczynnik FRAP sporządzono mieszając ze sobą w stosunku 10 : 1 : 1 odpowiednio: bufor octanowy o pH 3,6; 0,01 M TPTZ oraz 0,02 M $FeCl_3$.

Wszystkie pomiary wykonywano przy użyciu spektrofotometru DR 5000 HACH-LANGE z rozdzielczością 1 nm.

Wyniki badań poddano analizie statystycznej przy użyciu programu Office Excel 2013.

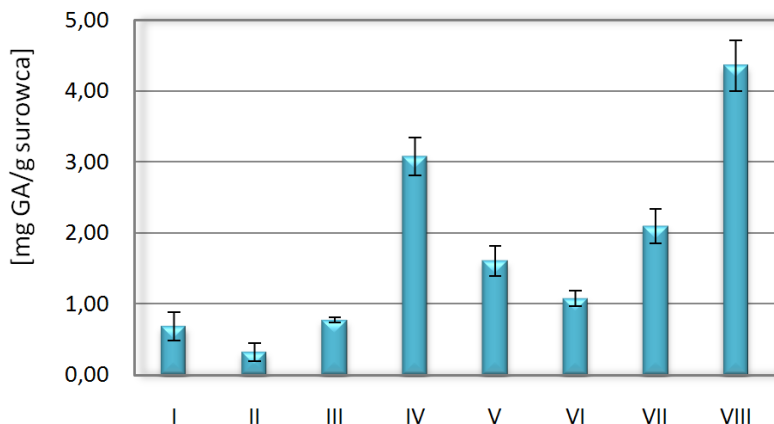
Wyniki i dyskusja

Całkowita zawartość związków fenolowych

Na rysunku 1. przedstawiono wyniki dotyczące ogólnej zawartości związków fenolowych w naparach wodnych pozyskanych z analizowanych kaw.

Na podstawie otrzymanych wyników stwierdzono, że w kawach zbożowych oraz kawie z topinamburu występują znacznie mniejsze ilości polifenoli w porównaniu z kawami naturalnymi. Największą zawartością tych związków charakteryzowały się napary z kawy żołądziówki ($3,08 \pm 0,27$ mg GA/g surowca), której składnikami są m.in. cynamon i imbir oraz kawy żołądziówki z dodatkiem żeń-szenia ($1,61 \pm 0,21$ mg GA/g surowca), ale zawierały one mniej związków fenolowych niż badana w celach porównawczych kawa rozpuszczalna Jacobs Cronat Gold ($4,36 \pm 0,36$ mg GA/g

surowca). Najmniej związków fenolowych oznaczono w naparze z kawy orkiszowej, ziołowo-zbożowej i kawy „Inki”.



I – ziołowo-zbożowa, II – orkiszowa, III – zbożowa „Inka”, IV – żołądziówka, V – żołądziówka z żeń-szeniem, VI – z tapinamburu, VII – mielona Maxwell House, VIII – rozpuszczalna Jacobs Cronat Gold

Rysunek 1. Całkowita zawartość związków fenolowych w ekstraktach analizowanych kaw w przeliczeniu na kwas galusowy (w mg GA/g surowca)

Aktywność przeciwutleniająca mierzona metodą redukcji rodnika DPPH

Na podstawie wyników oznaczania aktywności przeciwutleniającej metodą redukcji DPPH zamieszczonych w tabeli 3. stwierdzono, że największą zdolność do redukcji rodnika DPPH wykazywały napary z kawy żołądziówki i żołądziówki z dodatkiem żeń-szenia oraz kawa rozpuszczalna Jacobs Cronat Gold i kawa mielona Maxwell House. Najmniejszą aktywnością przeciwutleniającą charakteryzowały się napary z następujących kaw: orkiszowej, ziołowo-zbożowej oraz „Inki”.

Aktywność przeciwutleniająca mierzona metodą FRAP

Zdolność redukcji jonów żelaza naparów z analizowanych kaw przedstawiono w tabeli 3. Na podstawie otrzymanych wyników stwierdzono, że napary z kaw zawierających żołądzie wykazały największą zdolność do redukcji jonów żelaza, natomiast najmniejszą zdolnością charakteryzowała się kawa orkiszowa oraz zbożowo-ziołowa.

Duża aktywność przeciwutleniająca kawy żołądziowej stwierdzona zarówno metodą DPPH jak i FRAP nie jest zaskakująca z uwagi na fakt, że w jej skład wchodzi również imbir, który zawiera wiele substancji determinujących jego właściwości przeciwutleniające, np. gingerole. Newrli-Guz i Pych [2012] badając

próbki imbiru różnego pochodzenia stwierdzili ich wysoką zdolność zmiatania stabilnych rodników DPPH średnio na poziomie 54%.

Tabela 3. Aktywność przeciwutleniająca naparów z analizowanych kaw

	AA [%] ±SD	FRAP [μmolFe ²⁺ /ml naparu] ±SD	EC₅₀ [mg _{surowca} /ml naparu] ±SD (n=3)
Ziołowo-zbożowa	55,81±0,84	1,79±0,25	34,14±6,36
Orkiszowa	52,23±0,67	0,47±0,21	-
Zbożowa "Inka"	57,24±0,77	2,28±0,31	22,83±1,69
Żołędziówka	95,85±0,24	7,17±0,53	0,58±0,11
Żołędziówka z żeńszaniem	91,29±0,67	6,40±0,42	3,14±0,08
Z topinamburu	63,44±0,62	3,43±0,39	10,60±1,18
Maxwell House (mielona)	87,92±1,03	5,93±0,52	3,62±0,12
Jacobs Cronat Gold (rozpuszczalna)	94,20±0,39	7,09±0,55	1,12±0,23

W celu doświadczalnego określenia oraz porównania aktywności przeciwrodnikowej naparów z wybranych kaw zastosowano pomiar szybkości procesu wygaszania rodnika DPPH' przez te napary w zależności od ich stężenia.

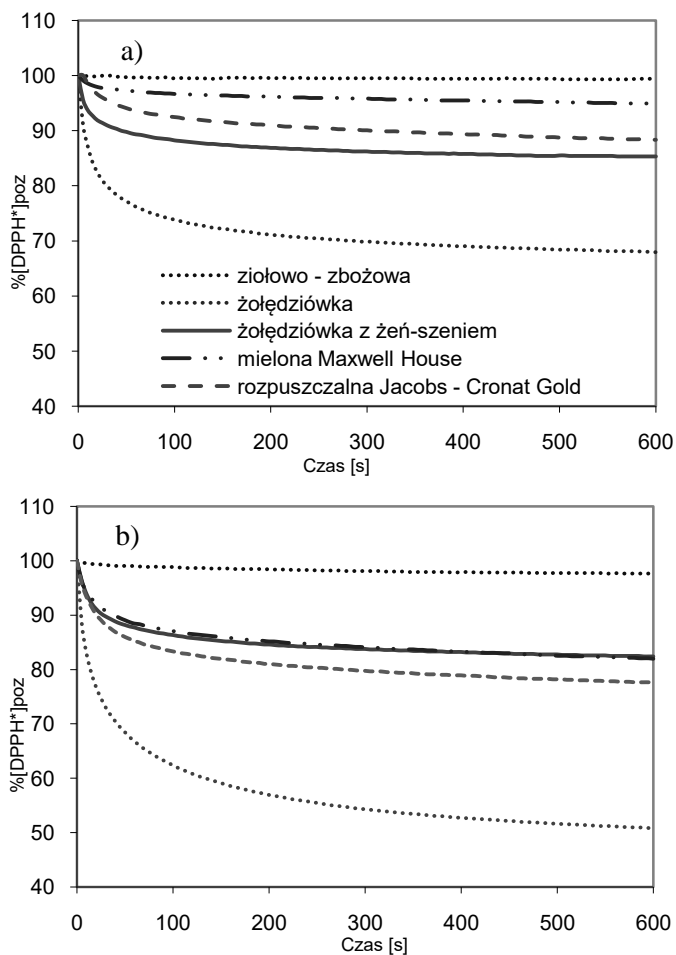
Na podstawie otrzymanych wyników stwierdzono, że napary z kaw zawierających żołędzie wykazały największą zdolność do redukcji jonów żelaza, natomiast najmniejszą zdolnością charakteryzowała się kawa orkiszowa oraz zbożowo-ziołowa.

Duża aktywność przeciwutleniająca kawy żołędziowej stwierdzona zarówno metodą DPPH, jak i FRAP nie jest zaskakująca z uwagi na fakt, że w jej skład wchodzi również imbir, który zawiera wiele substancji determinujących jego właściwości przeciwutleniające, np. gingerole. Newrli-Guz i Pych [2012] badając próbki imbiru różnego pochodzenia stwierdzili ich wysoką zdolność zmiatania stabilnych rodników DPPH średnio na poziomie 54%.

W celu doświadczalnego określenia oraz porównania aktywności przeciwrodnikowej naparów z wybranych kaw zastosowano pomiar szybkości procesu wygaszania rodnika DPPH' przez te napary w zależności od ich stężenia.

Napary różnych kaw o tym samym stężeniu wykazywały zróżnicowaną zdolność do wygaszania rodnika DPPH. Na rysunku 2. przedstawiono przykładowe krzywe obrazujące zmiany stężenia pozostałego rodnika DPPH (w %) uzyskane po dodaniu analizowanych naparów o stężeniu a) 0,5 g b) 1,0 g surowca/100 ml naparu w zależności od czasu.

Zdolność do wygaszania rodnika DPPH dla wszystkich analizowanych naparów zależała od zawartości surowca (Rys. 3). Napary z kawy żołądziówki oraz kawy rozpuszczalnej Jacobs wykazywały około 80% redukcję rodnika DPPH przy zawartości surowca 3 mg/ml, natomiast napar z kawy żołądziówka z żeń-szeniem tę samą wartość redukcji rodnika uzyskał przy zawartości surowca 5 mg/ml. Inne analizowane napary z kaw zbożowych oraz kawy z topinamburu wykazywały niższą redukcję rodnika DPPH – maksymalnie około 60%, nawet przy największej zawartości surowca w naparze – 10 mg/ml.

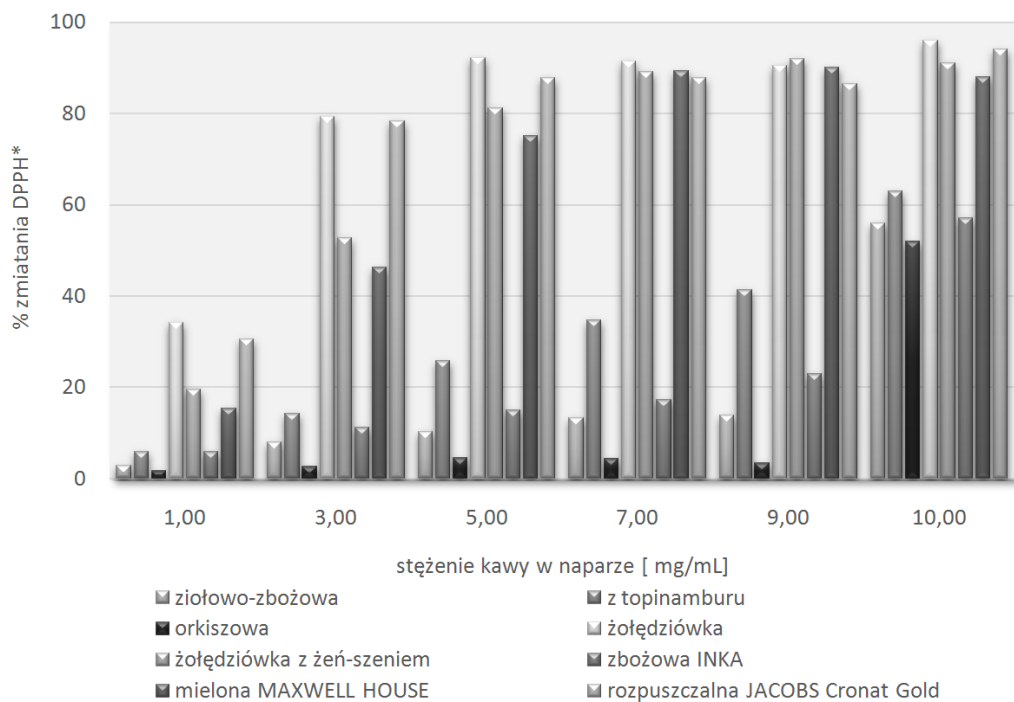


Rysunek 2. Kinetyka zmian pozostałego rodnika DPPH wyznaczona dla zawartości a) 0,5 g, b) 1 g surowca/100 ml naparu

Najmniejszym stopniem dezaktywacji rodników charakteryzował się napar z kawy orkiszowej. Kawa orkiszowa nie wykazywała również zbyt wysokiej aktywności przeciwrodnikowej wobec kationorodników ABTS^{•+} w badaniach prowadzonych

przez Worobiej i Relidzyńską [2011], pomimo stosunkowo dużych zawartości polifenoli i kwasu fitynowego.

Dla każdego naparu obliczono parametr EC_{50} , wyniki zamieszczono w tabeli 3. Niższa wartość tego parametru wskazuje na wyższą aktywność przeciwrodnikową. Analizowane napary różniły się statystycznie istotnie przy $p \leq 0,05$ pod względem wartości parametru EC_{50} . Najwyższą wartością tego parametru charakteryzowały się napary z kawy ziołowo-zbożowej i kawy „Inki”, najniższą zaś napary z kawy żołądziówki, rozpuszczalnej Jacobs Cronat Gold i kawy żołądziówki z dodatkiem żeń-szenia.



Rysunek 3. Zdolność do wygaszania rodnika DPPH [%] przez napary analizowanych kaw w zależności od ich stężenia

Wnioski

1. Kawy produkowane z żołądzi: żołądziówka (z dodatkiem kardamonu, imbiru, cynamonu i goździków) i żołądziówka z żeń-szeniem charakteryzowały się największą zawartością polifenoli, jak również wykazywały największą aktywność przeciwutleniającą mierzoną zarówno metodą FRAP, jak i DPPH.

2. Zdolność do wygaszania rodnika DPPH dla wszystkich analizowanych naparów zależała od zawartości surowca.

3. Napary z kaw naturalnych oraz kaw produkowanych na bazie żołądździ z różnymi dodatkami charakteryzowały się najniższymi wartościami parametru EC₅₀.

4. Analizowane substytuty kawy, których głównym składnikiem są prażone żołądździe i topinambur dzięki dobrym właściwościom przeciwrodnikowym i przeciwutleniającym oraz zawartości związków biologicznie aktywnych można zaliczyć do żywności prozdrowotnej.

Projekt został sfinansowany ze środków np. Narodowego Centrum Nauki przyznanych na podstawie decyzji nr 2015/17/B/NZ9/03581.

Literatura

1. Bach V., Clausen M.R., Edelenbos M.: Production of Jerusalem Artichoke (*Helianthus tuberosus L.*) and Impact on Inulin and Phenolic Compounds. Processing and Impact on Active Components in Food, 2015, 97-102, doi:10.1016/B978-0-12-404699-3.00012-3.
2. Benzie I. F.F., Strain I.J.: The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of "Antioxidant Power": The FRAP Assay. Analytical Biochemistry, 1996, 239, 70-76.
3. 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.
4. Florkiewicz A., Cieślak E., Filipiak-Florkiewicz A.: Wpływ odmiany i terminu zbioru na skład chemiczny bulw topinamburu (*Helianthus tuberosus L.*). Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 2007, 3 (52), 71-81.
5. Komes D., Busic A., Vojvodic A., Belscak-Cvitanovic A., Hruskar M.: Antioxidative potential of different coffee substitute brews affected by milk addition. Eur Food Res Technol, 2015, 241, 115-125.
6. Luzina E.V.: Food value of Cichorium intybus. Vaprosy Pitaniia, 2013, 82 (2), 62-65.
7. Parkinson L. Keast R., Oleocanthal, a Phenolic Derived from Virgin Olive Oil: A Review of the Beneficial Effects on Inflammatory Disease, Int J Mol Sci, 2014, 15(7), 12323-12334.
8. Michalska A., Zieliński H.: Produkty reakcji Maillarda w żywności. Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 2007, 2 (51), 5-16.
9. Noweli-Guz J., Pych M.: Właściwości przeciwutleniające imbiru (*Zingiber officinale roscoe*). Zeszyty Naukowe Akademii Morskiej w Gdyni, 2012, 73
10. Rakic S., Pavrenovic D., Tesevic V., Simic M., Maletic R.: Oak acorn, polyphenols and antioxidant activity in functional food. J Food Eng, 2006, 74, 416-423.
11. Samsonowicz M., Kamińska, I., Kalinowska, M., Lewandowski, W.: Alkali metal salts of rutin - Synthesis, spectroscopic (FT-IR, FT-Raman, UV-VIS), antioxidant and antimicrobial studies. Spectrochim Acta - Part A, 2015, 151, 926-938.
12. Samsonowicz M., Regulska E.: Evaluation of influence of selected metal cations on antioxidant activity of extracts from savory (*Satureja hortensis*). Chem Pap, 2016, 70(6), 811-819.
13. Sawicka B., Bienia B., Krochmal-Marczak B.: Prozdrowotne znaczenie słonecznika bulwiastego (*Helianthus tuberosus L.*). Materiały naukowe z I Międzynarodowej Konferencji „Ziołolecznictwo, biokosmetyki i żywność funkcjonalna” Krosno, 18–19 kwietnia 2013
14. Singleton V.L., Rossi J.A.: Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic -phosphotungstic acid reagents. American Journal of Enology and Viticulture, 1965, 16, 144-158.
15. Street R.A., Sidana J., Prinsloo G.: Cichorium intybus: Traditional Uses, Phytochemistry, Pharmacology, and Toxicology. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 2013, <http://dx.doi.org/10.1155/2013/579319>.

16. Sz wajger D., Targoński Z., charakterystyka enzymów pochodzenia mikrobiologicznego biorących udział w degradacji arabinoksy lanów i ich rola w pozyskiwaniu kwasu ferulowego z wysłodzin piwowarskich, *Zywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2006, 1 (46), 5-20.
17. Worobiej E., Relidzińska K.: Kawy zbożowe – charakterystyka i właściwości przeciwutleniające. *Bromat. Chem. Toksykol.* – XLIV, 2011, 3, 625-629.
18. Yao L.H., Jiang Y.M., Shi J., Tomas-Barberan F.A., Datta N., Singanusong R., Chen S.S.: Flavonoids in food and their health benefits. *Plant Foods Hum. Nutr.*, 2004, 59, 113-122.
19. Zawirska-Wojtasiak R., Wojtowicz E., Przygoński K., Olkowicz M.: Chlorogenic acid in raw materials for the production of chicory coffee. *J Sci Food Agric*, 2014, 94, 2118-2123.
20. Zieliński H., Achremowicz B., Przygodzka M.: Przewutlenia cze ziarniaków zbóż. *Zywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2012, 1 (80), 5-26.

MAŁGORZATA BĄCZKOWICZ¹, JOANNA SOBOLEWSKA-ZIELIŃSKA², JACEK ROŻNOWSKI², TERESA FORTUNA², KLAUDIA HAJDUK², MAGDA MACHOTA²

¹Katedra Technologii Gastronomicznej i Konsumpcji, ²Katedra Analizy i Oceny Jakości Żywności, Wydział Technologii Żywności, Uniwersytet Rolniczy w Krakowie

WPŁYW RODZAJU CZEKOLADY NA ZAWARTOŚĆ WYBRANYCH SKŁADNIKÓW MINERALNYCH

Streszczenie

Celem pracy było zbadanie wpływu rodzaju czekolady na zawartość składników mineralnych w jej 8 rodzajach (41 próbkach), zakupionych w różnych cenach za 100 g w sklepach na terenie Krakowa. W próbkach oznaczono zawartość Mg, K, Na, Ca, Fe i Zn. W przypadku Mg, w produktach nadziewanych było go niewiele (ok. 40 mg w 100 g), a spośród czekolad pełnych, jedynie w gorzkich stwierdzono znaczną jego zawartość (ok. 230 mg w 100 g). Pomiedzy ceną a zawartością Mg tylko w białych czekoladach zaobserwowano korelację ujemną. Zawartość Na nie przekraczała wartości deklarowanej, a najmniej zawierały go czekolady gorzkie, które charakteryzowały się również największą zawartością K, Fe i Zn, ale ok. dwukrotnie mniejszą Ca niż w mlecznych i białych. W 100 g próbki z nadzieniem mlecznym, dedykowanym dzieciom, było go znacznie mniej niż w szklance mleka. Zawartość Fe i Zn w próbkach innych niż gorzkie stwierdzono na poziomie granicy oznaczalności.

Wprowadzenie

Czekolada należy do najpopularniejszych produktów spożywczych ze względu na atrakcyjność sensoryczną, dużą wartość energetyczną oraz długi okres trwałości. Jest ona środkiem uzyskanym z wyrobów kakaowych oraz cukrów, zawierającym nie mniej niż 35% suchej masy kakaowej ogółem, w tym minimum 18% tłuszczu kakaowego i minimum 14% beztłuszczowej suchej masy kakaowej [Dyrektywa 2000/36/WE]. Chętnie jest spożywana przez konsumentów we wszystkich grupach wiekowych [Szponar i Ryżko-Skiba, 2001; Dobczyński, 2011]. Według danych KPMG [2016] Polak zjada ok. 4,5 kg czekolady rocznie, a najczęściej spożywa on czekolady mleczne, które stanowią 70% całego krajowego rynku, a także nadziewane, głównie o smaku truskawkowym i karmelowym. Czekolady gorzkie oraz deserowe spożywane są rzadziej, chociaż postrzegane są jako zdrowsze od pozostałych. Po wyroby białe sięga zaledwie 4% konsumentów.

Oprócz składników odżywczych czekolada zawiera wiele substancji czynnych biologicznie – witamin, acylogliceroli oraz antyoksydantów [Wolgast i Anklam, 2000; Flammer i in., 2007; Kowalska, 2009; Szafulera, 2010; Lewis i in., 2011, Carnésecchi i in., 2012; Jabłońska-Ryś, 2012; Dąbrowski, 2015; Skrajda, 2015]. Polecana jest także jako źródło cennych składników mineralnych, które są niezbędne do prawidłowego funkcjonowania organizmu człowieka i wpływają pozytywnie na nastrój [Brzozowska, 2002; Grembecka i in., 2005; Nebesny i Żyżelewicz, 2007; Stefańska i in., 2014]. Zawarty w czekoladzie magnez, zależny od obecności miazgi kakaowej, odgrywa podstawową rolę w profilaktyce i w leczeniu chorób na tle nerwowym [Czerwińska, 2009, Stefańska i in., 2014]. Istotnym makroelementem jest potas, który podobnie jak magnez, wpływa na stan układu krążenia, odpowiadając za jego prawidłowego funkcjonowanie [Vlachopoulos i in., 2006; Lewis, 2011]. Ważnym pierwiastkiem występującym w czekoladach jest żelazo, pierwiastek niezbędny do produkcji czerwonych krwinek oraz transportu tlenu, a także cynk i selen, odpowiedzialne są za zwiększenie wydzielania endorfin, które są służą jako naturalne substancje znieczulające i osłabiające niszczące działanie stresu [Kolanowski, 2004; Krysiak i in., 2007; Stefańska i in., 2014]. Cynk konieczny jest do działania wielu enzymów obecnych w ustroju człowieka, bierze udział w ekspresji genów oraz tworzeniu się nowych komórek. Obecność wapnia, cennego pierwiastka budulcowego kości oraz uczestniczącego w procesach krzepnięcia krwi i przewodzenia impulsów nerwowych, szczególnie podkreślana jest w czekoladach dedykowanych dzieciom [Bawa, 2005; Gajewska i Myszkowska-Ryciak, 2006].

Cel pracy

Celem pracy było zbadanie czy rodzaj czekolady oferowanej na polskim rynku wpływa na zawartość w niej wybranych składników mineralnych oraz sprawdzenie czy istnieje korelacja pomiędzy ceną czekolady określonego rodzaju a obecnością badanych makro i mikroelementów.

Materiał badawczy

Materiał badawczy stanowiły czekolady: gorzkie o różnej zawartości miazgi kakaowej, mleczne, białe, „biało-czarne”, a także z różnymi nadzieniami: orzechowym, owocowym (truskawkowym), karmelowym/toffi i mlecznym. Próbkę (po trzy tabliczki każdego z 41 produktów) zastały zakupione w krakowskich supermarketach, gdzie oferowane były w cenie od 1,35 do 9,45 zł za 100 g produktu. Wszystkie czekolady w trakcie badań były w okresie przydatności do spożycia. Czekolady dokładnie rozdrabniano, ujednolicono i przechowywano w szklanych, szczelnie zamkniętych pojemnikach bez dostępu światła. Próbkę zakodowano, oznaczając dużą literą rodzaj

czekolady i liczbą w kolejności od najdroższej do najtańszej: G1-G7 – gorzkie, M1-M7 – mleczne, B1-B4 – białe, BC1-BC4 – biało-czarne, O1-O5 – orzechowe, T1-T5 – truskawkowe, K1-K5 – karmelowe/toffi, L1- L4 – z nadzieniem mlecznym.

Metodyka badań

Oznaczenie zawartości popiołu wykonano zgodnie z normą [PN-A-88022:1959], wynik podano jako średnią z trzech powtórzeń.

Do oznaczenia zawartości wybranych składników mineralnych: magnezu, sodu, potasu, wapnia, żelaza oraz cynku posłużono się metodą atomowej spektrometrii absorpcyjnej (ASA), przy zastosowaniu spektrometru absorpcyjnego firmy Avanta Sigma (GBC, Australia). Próbkę do badań przygotowano w procesie mineralizacji „na mokro”, zgodnie z normą [PN-R-04014:1991]. Do oznaczenia zawartości pierwiastków w próbkach zastosowano odpowiednią długość fali oraz rodzaj płomienia (Tab. 1).

Tabela 1. Parametry pomiaru dla określonych pierwiastków

Analizowany pierwiastek	Roztwór wzorcowy [wzorec Merck]	Stężenia wzorców [$\mu\text{g}/\text{cm}^3$]	Długość fali λ [nm]	Typ płomienia
Magnez	Roztwór wzorcowy w odniesieniu do SRM z NIST 1000 mg/dm^3 $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ w 0,5 mol/dm^3 HNO_3	1,0; 2,0; 4,0; 7,0; 12,0	285,2	Powietrze - acetylen
Sód	Roztwór wzorcowy w odniesieniu do SRM z NIST 1000 mg/dm^3 NaNO_3 w 0,5 mol/dm^3 HNO_3	0,5; 1,0; 3,0; 5,0; 7,0	589,6	Powietrze - acetylen
Potas	Roztwór wzorcowy w odniesieniu do SRM z NIST 1000 mg/dm^3 KNO_3 w 0,5 mol/dm^3 HNO_3	0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5; 3,0	766,5	Powietrze - acetylen
Wapń	Roztwór wzorcowy w odniesieniu do SRM z NIST 1000 mg/dm^3 $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ w 0,5 mol/dm^3 HNO_3	2,0; 4,0; 7,0; 9,0; 12,0	422,7	Podtlenek azotu - acetylen
Żelazo	Roztwór wzorcowy w odniesieniu do SRM z NIST 1000 mg/dm^3 $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$ w 0,5 mol/dm^3 HNO_3	0,1; 0,3; 0,4; 0,6; 0,8	248,3	Powietrze - acetylen
Cynk	Roztwór wzorcowy w odniesieniu do SRM z NIST 1000 mg/dm^3 $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2$ w 0,5 mol/dm^3 HNO_3	0,1; 0,2; 0,3; 0,4; 0,5	213,9	Powietrze - acetylen

Każdą próbkę zmineralizowano w czterech powtórzeniach wykonując równolegle próby ślepe. Oznaczenie zawartości pierwiastków w próbkach wykonywano poprzez pomiar absorpcji badanego zestawu próbek, który poprzedzały analizy wstępne, dobór stężeń wzorców, zmierzenie absorpcji serii roztworów wzorcowych odpowiednich dla określonego pierwiastka oraz prób odczynnikowych.

Stężenie składników mineralnych wyliczono na podstawie równania krzywej wzorcowej wyznaczonej dla każdego analizowanego pierwiastka. Na podstawie uzyskanych wartości absorbancji zmineralizowanych prób ślepych, dla każdego oznaczanego pierwiastka wyznaczono [Antanasopoulos, 2004]:

- graniczną absorbancję wykrywalności (AOD),
- graniczną absorbancję oznaczalności (AOQ),
- granicę wykrywalności (LOD),
- granicę oznaczalności (LOQ).

Pomiar absorbancji każdej próbki czekolady wykonano w trzech powtórzeniach, za wynik przyjęto średnią powtórzeń.

Analizę statystyczną wyników wykonano przy użyciu arkusza kalkulacyjnego Microsoft Excel 2007. W celu weryfikacji hipotezy o równości średnich zastosowano jednoczynnikową analizę wariancji. Istotność różnic pomiędzy wartościami średnimi została zweryfikowana testem Tukeya na poziomie istotności $\alpha = 0,05$.

Wyniki i dyskusja

Wyniki oznaczenia zawartości popiołu w poszczególnych rodzajach czekolad przedstawiono w tabeli 2.

Na podstawie otrzymanych wyników stwierdzono, że największą zawartością popiołu charakteryzowały się czekolady gorzkie (ponad 1,5 g w 100 g), wśród nich próbka G3 (3,1 g w 100 g) zawierała dwukrotnie więcej popiołu niż G7 (1,5 g w 100 g), co wyniknęło z różnic w zawartości masy kakaowej. Pomiedzy czekoladami pozostałych rodzajów występowały statystycznie istotne różnice pod względem zawartości popiołu.

Wyniki oznaczenia zawartości wybranych składników mineralnych; Mg, K, Na, Ca, Fe i Zn w czekoladach pełnych przedstawiono w tabeli 3., a w czekoladach nadziewanych w tabeli 4.

Pod względem zawartości magnezu, spośród wszystkich rodzajów czekolad największą zawartością tego makroelementu wyróżniały się produkty gorzkie. Według Czerwińskiej [2006] oraz Kunachowicz [2005] zawartość Mg w czekoladach gorzkich wynosi ok. 165 mg w 100 g produktu, natomiast wg Ieggli [2011] ilość w granicach od 100 mg do 183 mg w 100 g produktu. Uzyskane wyniki badań w zdecydowanej większości są zbliżone do danych literaturowych. Największą zawartością magnezu, zarówno w grupie czekolad gorzkich, jak i wśród wszystkich badanych produktów,

charakteryzowała się próbka G3 (228 mg/100 g), natomiast najtańsza z gorzkich, G7, zawierała Mg prawie czterokrotnie mniej, a w pozostałych z tego rodzaju wynosiła od 149 mg do 162 mg w 100 g. Spośród wszystkich badanych próbek, najmniejszą zawartością Mg charakteryzowała się próbka biała najdroższa B1 (13 mg/100 g). W pozostałych białych również stwierdzono bardzo niewielkie ilości tego składnika – do 21 mg w 100 g produktu.

Tabela 2. Zawartość popiołu w badanych próbach czekolad

Typ	Próbka	Zawartość popiołu [g/100 g produktu]	Średnia NIR	Typ	Próbka	Zawartość popiołu [g/100 g produktu]	Średnia NIR
Gorzkie	G1	1,97±0,02	G _{sr} = 2,28 NIR _{0,05} = 0,13	Orzechowe	O1	1,67±0,01 ^f	O _{sr} = 1,77 NIR _{0,05} = 0,10
	G2	2,26±0,06 ^{a,b}			O2	1,83±0,02	
	G3	3,09±0,04			O3	1,57±0,06 ^f	
	G4	2,37±0,08 ^b			O4	1,97±0,02	
	G5	2,49±0,01			O5	1,74±0,05	
	G6	2,24±0,04 ^a		Truskawkowe	T1	1,60±0,02	T _{sr} = 1,40 NIR _{0,05} = 0,09
	G7	1,52±0,02			T2	1,44±0,03 ^{k,l}	
Mleczne	M1	1,84±0,11 ^c	M _{sr} = 1,89 NIR _{0,05} = 0,17	T3	1,14±0,02	K _{sr} = 1,50 NIR _{0,05} = 0,17	
	M2	1,63±0,03 ^d		T4	1,37±0,01 ^k		
	M3	1,86±0,08 ^c		T5	1,47±0,07 ^l		
	M4	1,35±0,02		Karmelowe	K1		1,83±0,04 ^j
	M5	1,90±0,09 ^c			K2		1,12±0,08
	M6	1,66±0,02 ^d			K3		1,33±0,01
	M7	1,64±0,02 ^d			K4		1,53±0,04 ^m
Białe	B1	1,49±0,03	B _{sr} = 1,55 NIR _{0,05} = 0,05	K5	1,68±0,04 ^{i,m}		
	B2	1,75±0,02		Z nadzieniem mlecznym	L1	1,43±0,04	L _{sr} = 1,48 NIR _{0,05} = 0,17
	B3	1,39±0,01			L2	1,98±0,07	
	B4	1,55±0,00			L3	1,26±0,10 ^h	
Biało-czarne	BC1	1,74±0,03	BC _{sr} = 1,55 NIR _{0,05} = 0,14		L4	1,24±0,02 ^h	
	BC2	1,56±0,07 ^e		<i>Wartości liczbowe dla danego typu czekolady oznaczone tą samą literą nie różnią się w sposób statystycznie istotny (α = 0,05)</i>			
	BC3	1,55±0,03 ^e					
	BC4	1,33±0,08					

Według „Tabeli składu i wartości odżywczej żywności” [Kunachowicz, 2005] zawartość Mg w białych czekoladach kształtuje się na średnim poziomie 32 mg w 100 g produktu. Czerwińska [2006] podaje zawartość Mg w czekoladzie białej na poziomie

26 mg w 100 g, a wyniki Ieggli [2011] wskazują na dwukrotnie większą zawartość tego pierwiastka.

Tabela 3. Zawartość wybranych pierwiastków w próbkach czekolad bez nadzienia

Próbka	Mg [mg/100g]	Na [mg/100g]	K [mg/100g]	Ca [mg/100g]	Fe [mg/100g]	Zn [mg/100g]
G1	162±4	18,9±1,2	437±10	65,9±1,7	8,9±0,3	1,40±0,05
G2	158±1	4,7±0,8	483±7	66,6±1,5	13,4±0,4	1,58±0,07
G3	228±2	w	671±3	96,9±0,6	16,0±0,5	2,41±0,12
G4	149±1	4,7±0,1	543±13	65,0±0,7	9,6±0,2	1,76±0,05
G5	162±1	5,8±0,2	439±4	65,4±0,9	11,6±0,4	1,99±0,10
G6	152±2	4,8±0,9	424±5	67,0±0,6	12,7±0,3	1,26±0,04
G7	59±2	63,5±2,8	213±14	55,3±6,6	13,0±0,8	0,72±0,05
M1	31±1	88,1±1,0	258±10	146,6±3,3	nw	1,01±0,05
M2	25±2	78,7±2,6	180±8	113,9±0,5	w	0,72±0,01
M3	45±3	68,9±2,0	261±16	149,2±0,8	w	0,47±0,05
M4	51±2	54,6±2,4	249±3	124,1±3,4	w	0,53±0,07
M5	39±4	74,6±4,3	276±18	182,2±0,9	w	0,58±0,06
M6	36,0±2	74,0±0,6	259±2	145,9±1,3	3,1±0,1	0,36±0,03
M7	33±1	91,2±2,2	258±3	125,0±1,7	4,1±0,4	nw
B1	13±1	74,5±2,4	200 ±8	114,4±8,7	nw	nw
B2	14±1	82,3±1,2	203±5	177,3±4,3	nw	0,75±0,03
B3	17±1	55,4±2,5	159±7	156,0±0,3	nw	0,35±0,10
B4	21±4	74,2±1,5	239±2	132,6±3,5	w	w
BC1	38±2	71,1±0,3	282±1	191,3±2,7	w	0,46±0,02
BC2	45±1	69,7±1,8	298±6	157,5±4,2	3,1±0,1	0,49±0,05
BC3	27±3	63,8±1,6	192±8	99,3±2,9	5,8±0,3	w
BC4	46±1	91,4±1,5	239±4	100,4±1,6	7,8±0,3	w

nw – nie wykryto; w- wykryto, poniżej granicy oznaczenia

W próbkach mlecznych oraz biało-czarnych wyniki oznaczenia Mg w 100 g mieściły się odpowiednio w przedziałach 25-51 mg i 27-46 mg i były wyraźnie niższe w porównaniu z danymi Kunachowicz [2005], według której ilość magnezu w tego rodzaju czekoladach wynosi 97 mg w 100 g produktu. Ieggli [2011] i Grembecka [2005] także podają wyższe wartości – 47-78 mg w 100 g czekolad mlecznych. Na podstawie uzyskanych wyników stwierdzono ujemną liniową korelację ($r = -0,861$) pomiędzy

zawartością Mg a ceną produktu wśród czekolad białych, wśród innych rodzajów nie stwierdzono istotnej zależności.

Tabela 4. Zawartość wybranych pierwiastków w próbkach czekolad nadziewanych

Próbka	Mg [mg/100 g]	Na [mg/100 g]	K [mg/100 g]	Ca [mg/100 g]	Fe [mg/100 g]	Zn [mg/100 g]
O1	47,6±2,6	56±1	223±5	120±4	nw	1,62±0,04
O2	56,3±3,5	53±3	355±36	146,1±3,6	3,9±0,4	0,79±0,15
O3	39,9±6,0	36±1	182±12	104,5±4,8	w	w
O4	48,3± 5,9	57±3	252±35	w	w	w
O5	58,2±3,1	49±2	273±27	0,86±0,10	w	0,76±0,04
T1	38±3	71±2	289±29	141,1±2,6	w	w
T2	24±2	54±3	151±5	90,5±5,8	nw	0,93±0,42
T3	18±3	50±5	162±14	90,5±11,7	w	w
T4	36±3	64±1	223±10	114,7±2,8	3,6±0,1	w
T5	29±1	69±4	231±19	133,3±3,4	3,2±0,1	nw
K1	22±3	100±3	195±3	93,5±4,1	w	1,70±0,46
K2	24±4	50±2	143±3	59,1±1,4	6,9±2,5	w
K3	21±4	71±6	138±7	84,1±5,6	nw	2,76±2,69
K4	19±9	78±2	197±26	79,1±4,5	w	nw
K5	58±3	49±2	273±26	115,6±4,9	w	0,76±0,04
L1	19±1	68±4	205±19	98,6±9,3	nw	w
L2	23±4	75±6	206±7	160,1±9,6	nw	w
L3	38±1	58±3	266±9	122,4±0,6	3,2±0,2	0,31±0,01
L4	19±1	62±2	145±5	61,9±3,1	nw	nw

nw – nie wykryto, w – wykryto, poniżej granicy oznaczenia

Pod względem zawartości sodu, spośród badanych prób czekolad największe zróżnicowanie zaobserwowano w produktach gorzkich, od poziomu wykrywalności wynoszącego 1,34 mg w 100 g G2 do 65 mg w 100 g najtańszej G7. Niskie wartości podaje również Ieggi [2011] i Kunachowicz [2005], według których średnia zawartość sodu wynosi 4-5 mg w 100 g czekolad gorzkich. W 100 g czekolad mlecznych, białych oraz biało-czarnych oznaczona zawartość Na była zróżnicowana i kształtowała się na poziomie od 55 mg do 92 mg. Najwięcej oznaczono w próbce najtańszej biało-czarnej (G4) oraz najtańszej mlecznej (M7). Ieggi [2011] i Kunachowicz [2005] podają nieco wyższe wyniki dla mlecznych - 95 mg w 100 g produktu, podobnie dla białych. Wśród

czekolad tego samego rodzaju nie stwierdzono istotnej korelacji pomiędzy ceną a zawartością sodu w produkcie.

Na podstawie uzyskanych wyników stwierdzono, iż największą zawartością potasu charakteryzowały się czekolady gorzkie, wśród których wyraźnie odbiegającą od pozostałych była próbka o najniższej zawartości masy kakaowej - G7. Największą zawartością tego składnika cechowała się czekolada najbogatsza w kakao - G3. Wyniki te są zbliżone do wyników Ieggli [2011] oraz Kunachowicz [2005], natomiast zawartość K stwierdzona przez Krysiak i Żyżelewicz [Krysiak i Żyżelewicz, 2007] była mniejsza i wynosiła 365 mg w 100 g produktu. W analizowanych czekoladach mlecznych zawartość K mieściła się w zakresie od 180 mg (M2) do 276 mg (M5) w 100 g, co jest zbliżone do wyników uzyskanych przez Ieggli i in. [2011] oraz do Czerwińską i in. [2006]. Wartości podane w „Tabelach składu i wartości odżywczej żywności” [Kunachowicz i in., 2005] są ponad dwukrotnie wyższe (607 mg/100 g produktu). Zawartość potasu w próbkach czekolad białych była nieco mniejsza niż w czekoladach biało-czarnych i wynosiła odpowiednio od 160 mg (B3) do 240 mg (B4) i od 190 mg (BC3) do 300 mg (BC2) w 100 g próbki. Ilość tego składnika w produktach biało-czarnych była zbliżona do jego zawartości w czekoladach mlecznych. Najmniejszą zawartością K spośród wszystkich badanych próbek charakteryzowała się czekolada biała w niskiej cenie (B3). Produkty białe okazały się najuboższym źródłem tego makroelementu. Porównując otrzymane wyniki z danymi literaturowymi stwierdzono, iż zawartość potasu w analizowanych czekoladach białych była zdecydowanie mniejsza od podawanej przez Kunachowicz [2005] - 409 mg/100 g. Również Czerwińska [2006] podaje więcej K w tego rodzaju czekoladach (350 mg/100 g produktu). Najbliższe uzyskanym wynikom dotyczącym czekolad białych są wartości, które podczas badań otrzymali Ieggli i in. [2011]. Czekolady nadziewane charakteryzowały się bardzo zróżnicowaną zawartością tego makroelementu. Najwięcej stwierdzono go w 100 g najdroższego produktu truskawkowego (T1 – 289 mg) oraz najtańszego karmelowego (K1 – 273 mg). Na poziomie ok. 200 mg, podawanym przez Kunachowicz [2005], były pozostałe czekolady truskawkowe i z nadzieniem mlecznym. Czekolady orzechowe wyróżniały się bardzo małą zawartością tego makroelementu, nawet na granicy oznaczalności. Wśród czekolad jednego rodzaju nie stwierdzono istotnej korelacji pomiędzy ceną a zawartością potasu w produkcie.

Czekolady gorzkie spośród wszystkich badanych rodzajów czekolad charakteryzowały się najmniejszą zawartością wapnia, którego ilość mieściła się w granicach od 55,26 mg w 100 g (G7) do 97 mg w 100 g (G3). Otrzymane wyniki znajdują się w przedziale wartości podawanych przez Ieggli [2011]. Według Kunachowicz [2005] zawartość Ca w czekoladach gorzkich jest nieco mniejsza i wynosi 42 mg w 100 g. Natomiast Krysiak i Żyżelewicz [2007] stwierdzili znacznie większe

wartości – 220 mg Ca w 100 g. W badanych próbkach czekolad mlecznych oznaczono blisko dwukrotnie większą zawartość Ca niż w czekoladach gorzkich, co wynika z ich składu, bowiem podczas produkcji czekolady mlecznej dodawane jest mleko, będące głównym źródłem tego pierwiastka [Bawa, 2005]. Najwięcej tego makroelementu miał produkt M5 (182 mg/100 g), natomiast najmniej – M2 (114 mg/100 g). Pozostałe próbki tego rodzaju znajdowały się w powyższym przedziale. Według Kunachowicz [2005] ilość Ca w czekoladach mlecznych wynosi 294 mg w 100 g, bliższe uzyskanym wynikom są wartości podawane przez Ieggli [2011]. Zawartość Ca w analizowanych czekoladach białych oraz biało-czarnych mieściła się odpowiednio w następujących przedziałach: 114-177 mg i 99-191 mg w 100 g BC1, w której składzie były sproszkowane mleko, śmietanka i maślanka. Według „Tabel składu i wartości odżywczej żywności” [Kunachowicz, 2005] zawartość omawianego makroelementu w czekoladach białych znajduje się na poziomie 304 mg w 100 g produktu. Inne źródła [Ieggli 2011] podają stężenia wapnia w granicach od 320 mg do 453 mg w 100 g produktu. Wartości otrzymane w czasie badań czekolad białych są niższe od danych literaturowych [Liang i Hartel, 2004]. Nie stwierdzono korelacji pomiędzy ceną a zawartością wapnia w produkcji.

Spśród badanych czekolad największą zawartością żelaza cechowały się próbki gorzkie, na poziomie od 9 mg w 100 g G1 do 16 mg w 100 g G3. Dane te były zgodne z wynikami Ieggli [2011]. Według Kunachowicz [2005] i Czerwińskiej [2006] zawartość Fe w czekoladach gorzkich kształtuje się na poziomie 2 mg w 100 g produktu. Natomiast Krysiak i Żyżlewicz [2007] podają o wiele większe zawartości tego pierwiastka, ok. 60 mg w 100 g produktu. W czekoladach mlecznych stwierdzono obecność Fe podobną lub większą niż wartości podane przez Kunachowicz [2005] i Czerwińską [2006], według których zawartość Fe w 100 g tego rodzaju czekolad wynosi 1,2 mg. W przypadku próbek czarno-białych oznaczono zawartość Fe na poziomach od 1 mg w najdroższej do 8 mg w najtańszej. W próbkach pozostałych rodzajów czekolad twardych i nadziewanych zawartość Fe oscylowała wokół granicy oznaczalności.

Uzyskane wyniki oznaczenia zawartości cynku pozwoliły stwierdzić obecność tego pierwiastka we wszystkich próbkach czekolad twardych z wyjątkiem najdroższej białej B1, najtańszej mlecznej M7 oraz we wszystkich czekoladach nadziewanych z wyjątkiem najtańszych T5 i L4, a także karmelowej K4. Największą zawartością Zn wyróżniała się próbka karmelowa – 2,8 mg/100 g p., jednakże porównując pomiędzy sobą rodzaje czekolad, najwięcej tego składnika w 100 g zawierały czekolady gorzkie, chociaż bardzo różniły się między sobą – od 0,7 mg do 2,4 mg. Podobne wyniki uzyskano w badaniach Ieggli [2011] oraz Krysiak i Żyżlewicz [2007], natomiast Kunachowicz [2005] podaje zawartość tego mikroelementu na poziomie 2,4 mg/100 g produktu. W pozostałych

rodzajach czekolad otrzymane wartości oscylują wokół granicy wykrywalności lub oznaczalności. Wśród czekolad tego samego rodzaju nie zaobserwowano istotnych korelacji pomiędzy ceną a zawartością cynku w produkcji.

Wnioski

1. Na podstawie uzyskanych wyników można stwierdzić, że różnice w zawartości składników mineralnych w oznaczonych próbkach były znaczne.
2. Czekolady gorzkie charakteryzowały się największą zawartością magnezu, potasu, żelaza i cynku, a także najmniejszą zawartością wapnia i sodu. W pozostałych czekoladach pełnych i nadziewanych stwierdzono niewielką zawartość magnezu, a żelaza i cynku na poziomie granicy oznaczalności.
3. Spośród badanych składników mineralnych na etykietach deklarowana była tylko zawartość sodu, którego oznaczona zawartość w badanych produktach była niższa niż deklarowana.
4. Czekolady białe, ze względu na niewielką zawartość wapnia i magnezu, nie są dobrym ich źródłem.

Badania zostały sfinansowane z dotacji przyznanej przez MNiSW na działalność statutową.

Literatura

1. Antanasopoulos N. Flame methods manual for atomic absorption, GBC Scientific Equipment PTY LTD, 2004.
2. Bawa S. Odżywczy smakołyk. Pokarm bogów cz. III. Bezpieczeństwo i Higiena Żywności, 2005, 12, 36-37.
3. BN-90/8095-02 Norma Branżowa. Wyroby Przemysłu Spożywczego – Wyroby cukiernicze trwałe. Czekolada pełna i nadziewana.
4. Brzozowska A. Składniki mineralne w żywieniu człowieka Wyd. Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu, Poznań 2002.
5. Carnésecechi S., Schneider Y., Lazarus S. A., Coehlo D., Gossé F., Raul F. Flavanols and procyanidins of cocoa and chocolate inhibit growth and polyamine biosynthesis of human colonic cancer cells. Cancer Letters, 2002, 175, 147-155.
6. Czerwińska D. Kusząca tabliczka. Przegląd Gastronomiczny, 2006, 1, 21-22.
7. Czerwińska D. Czekolada na szczęście. Przegląd Gastronomiczny, 2009, 9, 26-27.
8. Dobeżyński T. Technologia produkcji czekolady. Logistyka Produkcji, 2011, 3, 30-31.
9. Dyrektywa 2000/36/WE z dnia 23 czerwca 2000 r. – Wyroby kakaowe i czekoladowe. 2000. Dz. U. L 197, 3. 8: 19.
10. Gajewska D., Myszkowska-Ryciak J. Słodki smakołyk, czy lekarstwo? Przegląd Gastronomiczny, 2006, 5, 26-27.
11. Grembecka M., Zdrojewska I., Hendożko E., Kusik A., Szefer P. Czekolada – źródło magnezu. Nowiny Lekarskie, 2005, 74, 4, 401-403.
12. Hii C. L., Law C. L., Suzannah S., Misnawi and Cloke M. Polyphenols in cocoa (Theobroma cacao L.) Asian Journal of Food and Agro – Industry, 2009, 2(04), 702-722.
13. Ieggli C. V. S., Bohrer D., do Nascimento P. C., de Carvalho L. M. Determination of sodium, potassium, calcium, magnesium, zinc and iron in emulsified chocolate samples by flame atomic absorption spectrometry. Food Chemistry, 2011, 124, 1189-1193.

14. Jabłońska-Ryś E. Zawartość polifenoli w czekoladach. *Nauka Przyroda Technologie*, 2012, 6 (2), 30.
15. Kowalska J., Bzducha A., Derewiaka D., Kopańska K., Nitek A. Ocena autentyczności wybranych czekolad. *Żywność, Nauka, Technologia, Jakość*, 2008, 4 (59), 74-79.
16. Kowalska J., Małoszewska E., 2009. Ocena towaroznawcza czekolad wysoko kakaowych. *Nauka Przyroda Technologie*. 3,4, 141.
17. Raport KPMG 2015. Rynek słodczy w Polsce/www.czekolada.com/tag/podzial-ryнку-czekolady (dostęp on-line: 01.05.2016).
18. Krysiak W., Żyżelewicz D. Zdrowotne walory czekolady. *Cukiernictwo i Piekarstwo*, 2007, 11, 88-92.
19. Kunachowicz H., Nadolna I., Iwanow K., Przygoda B. Tabele składu i wartości odżywczej produktów spożywczych. Wartość odżywcza wybranych produktów spożywczych i typowych potraw. Wyd. V rozszerzone, Wydawnictwo Lekarskie PZWL, Warszawa 2009.
20. Lewis J. R., Prince R. L., Zhu K., Devine A., Thompson P. L., Hodgson J. M. Habitual chocolate intake and vascular disease: a prospective study of clinical outcomes in older women. *Archival Internal Medicine*, 2011, 170 (20), 1857-1858.
21. Liang B., Hartel R. W. Effects of milk powders in milk chocolate. *Journal of Dairy Science*, 2004, 87 (1), 20-31.
22. Nebesny E., Żyżelewicz D. Słodka, kaloryczna i jednocześnie zdrowa, czyli kilka słów o czekoladzie. *Przegląd Piekarski i Cukierniczy*, 2007, 03, 58-63.
23. PN-59/A-88022 Wyroby cukiernicze – Oznaczenie zawartości popiołu.
24. PN-A-88000:2005. Wyroby cukiernicze. Terminologia.
25. PN-R-04014:1991 Analiza chemiczno-rolnicza roślin - Metody mineralizacji materiału roślinnego do oznaczania makro- i mikroelementów.
26. Skrajda M., Dąbrowski G. Czekolada jako źródło związków bioaktywnych oddziałujących na organizm. *Journal of Education, Health and Sport*. 2015, 5(9), 429-442.
27. Stefańska E. i in. Czy zwyczajowy sposób żywienia pacjentów z depresją wymaga suplementacji witaminami i składnikami mineralnymi? *Psychiatria Polska* 2014, 48(1), 75-88.
28. Szponar L., Ryzko – Skiba M. 2001. Współczesne poglądy na właściwości żywieniowe czekolady. *Żywnienie Człowieka i Metabolizm*, XXVIII, 3, 264-275.
29. Vlachopoulos Ch., Alexopoulos N., Stefanadis Ch. Effect of dark chocolate on arterial function in healthy individuals: Cocoa instead of ambrosia? *Current Hypertension Reports*, 2006, 08, 205-211.

KATARZYNA NEFFE-SKOCIŃSKA¹, JOANNA STADNIK², PAULINA KĘSKA²,
DANUTA KOŁOŻYŃ-KRAJEWSKA¹

¹*Katedra Technologii Gastronomicznej i Higieny Żywności Wydział Nauk o Żywieniu Człowieka i Konsumpcji, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie*

²*Katedra Technologii Mięsa i Zarządzania Jakością, Wydział Nauk o Żywności i Biotechnologii, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie*

JAKOŚĆ EKOLOGICZNYCH POŁĘDWIC SUROWO DOJRZEWAJĄCYCH W ZALEŻNOŚCI OD ZASTOSOWANEJ TECHNOLOGII PRODUKCJI

Streszczenie

Celem badań była ocena jakości ekologicznych połędwic surowo dojrzewających w zależności od zastosowanej technologii produkcji oraz dodatków surowcowych, w tym serwatki kwasowej, jako zamiennika związków azotowych w procesie peklowania.

Zakres pracy obejmował analizy mikrobiologiczne przeprowadzone w celu określenia liczby bakterii fermentacji mlekowej, bakterii z rodziny *Enterobacteriaceae*, *S. aureus* oraz ogólnej liczby drożdży i pleśni. Wykonano pomiar pH, aktywności wody, parametrów barwy w systemie CIE L*a*b* i ocenę QDA badanych wyrobów. Badania przeprowadzono po zakończeniu 21 dniowego dojrzewania połędwic. W układzie doświadczenia zaplanowano 4 warianty połędwic wieprzowych różniących się przygotowaniem surowca mięsnego i dodatkami technologicznymi.

Stwierdzono, że sposób przygotowania surowca do produkcji połędwic dojrzewających i rodzaj zastosowanych dodatków ma istotny wpływ na jakość wyrobów końcowych oraz że jest możliwe zastosowanie serwatki kwasowej w produkcji surowo dojrzewających połędwic wieprzowych.

Wprowadzenie

Solenie i peklowanie mięsa to jedne z najstarszych metod utrwalania produktów pochodzenia zwierzęcego. Peklowanie jest to proces utrwalania mięsa, którego celem jest nadanie charakterystycznej różowo-czerwonej barwy przetworom mięsnym, zahamowanie rozwoju niekorzystnych drobnoustrojów, nadanie typowego dla mięsa peklowanego smaku i zapachu oraz spowolnienie procesów utleniania. Na prawidłowy przebieg procesu peklowania oraz jakość wędlin surowych mają wpływ zarówno rodzaj i ilość dodatków funkcjonalnych, jak również jakość użytego surowca i warunki zewnętrzne procesu, takie jak temperatura, pH, czas jego przebiegu [Słowiński, 2011; Kalinowska-Dohojda i in., 2011]. Azotany chronią przed niepożądanym działaniem drobnoustrojów, przedłużając trwałość produktów spożywczych. Dzięki tej właściwości znalazły zastosowanie jako substancje konserwujące w przetwórstwie żywności.

W produkcji ekologicznej wyrobów mięsnych, poszukuje się alternatywnych metod peklowania prowadzących do wytworzenia pożądanej czerwonej barwy zbliżonej do nitrozylomioglobiny i specyficznych cech smakowo-zapachowych bez stosowania azotanów III i V [Ministerstwo Rolnictwa i Rozwoju Wsi, 2015]. Serwatka jest produktem ubocznym powstającym przy produkcji sera lub kazeiny. Obecnie stanowi ważny w technologii żywności surowiec ze względu na zawarte w niej składniki odżywcze i działanie utrwalające [Ciołkowska i in., 2015]. W produktach z dodatkiem serwatki w wyniku działania bakterii kwasu mlekowego (LAB; ang. *lactic acid bacteria*) i proteolizy białek, uwalniana jest L-arginina, z której może powstawać tlenek azotu odpowiedzialny za wytworzenie pożądanej barwy wyrobów mięsnych [Ministerstwo Rolnictwa i Rozwoju Wsi, 2015].

Podczas produkcji wędlin dojrzewających w surowcu mięsnym zachodzą liczne zmiany biochemiczne, mikrobiologiczne i fizyczne. Wszystkie etapy produkcji polędwic dojrzewających mają wpływ na kształtowanie odpowiedniej jakości produktu finalnego, począwszy od właściwości surowca, poprzez rodzaj i ilość dodatków chemicznych i mikrobiologicznych, a skończywszy na doborze parametrów fizycznych w czasie produkcji. Dodatkowo ważnym aspektem jest nacisk na rozwój rolnictwa i wyrobów ekologicznych. Celem niniejszych badań była ocena jakości ekologicznych polędwic dojrzewających w zależności od zastosowanej technologii produkcji i dodatków surowcowych, w tym serwatki kwasowej, jako zamiennika związków azotowych w procesie peklowania.

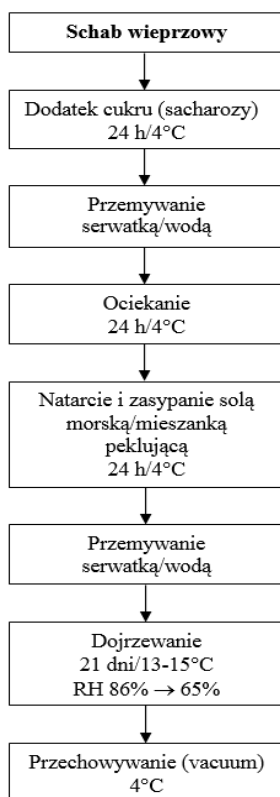
Materiały i metody

Materiał badawczy stanowiły ekologiczne polędvice dojrzewające wyprodukowane w warunkach przemysłowych w zakładzie przetwórstwa mięsnego „Jasiołka” w Dukli. Schemat produkcji badanych wyrobów przedstawiono na rysunku 1.

W układzie doświadczenia zaplanowano 4 warianty polędwic wieprzowych, różniących się zastosowaną technologią i dodatkami surowcowymi:

- P1 - surowiec mrożony w -18°C przez 24 h, z solą morską i serwatką;
- P2 - surowiec chłodzony, z solą morską i wodą;
- P3 - surowiec chłodzony, z solą morską i serwatką;
- P4 - surowiec chłodzony, z mieszanką peklującą i wodą.

Analizy mikrobiologiczne, fizykochemiczne i sensoryczne przeprowadzono po 21 dniach dojrzewania mięsa.



Rysunek 1. Schemat produkcji ekologicznych polędwic surowo dojrzewających

Analiza mikrobiologiczna

Analizy mikrobiologiczne przeprowadzono za pomocą automatycznego systemu do liczenia drobnoustrojów - TEMPO[®] (bioMerieux, Francja). Użyto testów TEMPO[®] LAB, EB, STA oraz YM. Testy służą kolejno do określania liczby bakterii fermentacji mlekowej (LAB), bakterii z rodziny *Enterobacteriaceae*, *Staphylococcus aureus* (STA) oraz ogólnej liczby drożdży i pleśni (YM). Inkubację prowadzono według zaleceń producenta dla każdego z testów. W zależności od liczby i typu cel dodatnich system określił całkowitą liczbę badanych mikroorganizmów obecnych w próbce na podstawie metody Najbardziej Prawdopodobnej Liczby (NPL). System podaje wyniki zgodne ze standardem NF ISO 15214 [1998]. Uzyskane wyniki przedstawiono w jtk/g.

Wartość pH

Pomiaru pH dokonywano zgodnie z normą PN-ISO 2917:2001 przy użyciu pH-konduktometru CPC-501 (Elmetron, Polska) wyposażonego w elektrodę zespoloną typu ERH-111 (Hydromet, Polska).

Aktywność wody

Pomiaru aktywności wody (a_w) dokonywano przy użyciu aparatu LabMaster-aw (Novasina, Szwajcaria) w 20°C.

Parametry barwy CIE L* a* b*

Pomiar parametrów barwy w systemie CIE L* a* b* przeprowadzano przy użyciu spektrofotometru X-Rite Color® Premiere 8200 (X-Rite Incorporated, USA). Stosowano źródło światła D65 i standardowy obserwator kolorymetryczny o polu widzenia 10° [AMSA, 2012].

Analiza sensoryczna

Analizy sensoryczne przeprowadzono metodą Ilościowej Analizy Opisowej – QDA. Analiza wykonywana była zgodnie z wymaganiami normy PN-ISO 8586-2 [2008] przez przeszkolony zespół oceniający. Badane wyróżniki sensoryczne wybrano w dyskusji panelowej i dotyczyły one zapachu, barwy i smaku. Oceniano 5 wyróżników zapachu (wędzonego mięsa, suszonego mięsa, zapachu ostrego, starego tłuszczu oraz innego), 2 wyróżniki barwy (ton i jednolitość), 8 wyróżników smaku (wędzonego mięsa, suszonego mięsa, smaku słonego, gorzkiego, przechowalniczego - jełkiego, kwaśnego, piekącego, innego), soczystość i jakość ogólną. Wyróżniki były oceniane ilościowo na nieustrukturyзовanych skalach liniowych o długości 10 cm. Brzegi skal oceniających intensywność smak i zapach były oznaczone – „niewyczuwalna” przy biegunie lewym oraz „bardzo intensywna” przy biegunie prawym. Analogicznie oceniano ton barwy (ciemny - jasny), jednolitość barwy (niejednolita - jednolita), soczystość (sucha - bardzo soczysta) oraz jakość ogólną (zła - bardzo dobra).

Analiza statystyczna

Analizę statystyczną otrzymanych wyników przeprowadzono za pomocą programów Microsoft Excel i Statistica 10. Dla porównania średnich użyto testu t-Tukey, przy poziomie istotności $p < 0,05$. Wyniki analizy sensorycznej poddano jednoczynnikowej analizie wariancji.

Wyniki i dyskusja

Analiza wyników analiz mikrobiologicznych wskazuje, że sposób przygotowania surowca do produkcji wędlin dojrzewających wpływa istotnie na jakość mikrobiologiczną wyrobów gotowych (Tab. 1). Uzyskane wyniki badań pozwalają wnioskować, że zarówno mrożenie surowca przed procesem technologicznym, jak i dodatki w postaci soli morskiej, związków azotowych i serwatki uniemożliwiły rozwój badanym grupom bakterii (EB, STA). Wyjątek stanowił wzrost drożdży i pleśni

w badanych produktach, który wynosił średnio 4-5 log jtk/g bez względu na zastosowany wariant technologiczny.

Tabela 1. Liczba mikroorganizmów w polędwicach wieprzowych po 21 dniach dojrzewania (średnia \pm odchylenie standardowe)

Próba	Liczba mikroorganizmów (log jtk/g)			
	LAB	EB	STA	YM
P1	0	0	0	4,10 \pm 0,38
P2	2,40 \pm 0,43	0	0	5,09 \pm 0,49 *
P3	2,67 \pm 0,36	0	0	4,07 \pm 0,34
P4	4,76 \pm 0,33*	0	0	4,34 \pm 0,12

LAB – bakterie fermentacji mlekowej, EB – bakterie z rodziny *Enterobacteriaceae*, STA – *Staphylococcus aureus*, YM – ogólna liczba drożdży i pleśni.

* wartości w tej samej kolumnie różnią się statystycznie istotnie ($p < 0,05$)

Inną sytuację zaobserwowano w przypadku bakterii LAB. Surowiec mięsny charakteryzuje się własną, naturalną mikroflorą bakteryjną, w tym mlekową, której wyeliminowanie przed rozpoczęciem procesu produkcyjnego jest niemożliwe. Surowe mięso stanowi dla tych bakterii dobre środowisko i zapewnia optymalne warunki do rozwoju [Kołozyn-Krajewska i Dolatowski, 2012; Hać-Szymańczuk, 2012].

W czasie procesu produkcyjnego nie stosowano przemysłowych kultur startowych. Zewnętrzne źródło LAB mógł stanowić dodatek serwatki do próby P1 i P3. Wzrost LAB w próbie P1, czyli w surowcu uprzednio poddanemu mrożeniu, po zakończeniu dojrzewania nie został zaobserwowany, mimo dodatku serwatki. W polędwicy P2, w technologii której zastosowano chłodzenie surowca, a następnie dodatek soli morskiej i wody, liczba LAB wynosiła 2,40 log jtk/g. Dodatkowo w tym wariancie badawczym stwierdzono najniższą aktywność wody (Tab. 2). W próbie P3, czyli polędwicy, która przed procesem została schłodzona, a następnie dodano do niej serwatkę i sól morską, stwierdzono wzrost LAB na poziomie 2,67 log jtk/g. W polędwicy P4, czyli w produkcie z dodatkiem związków azotowych liczba LAB po zakończeniu dojrzewania była średnio o dwa rzędy logarytmiczne wyższa i wynosiła 4,76 log jtk/g.

Potwierdzeniem wyników analiz mikrobiologicznych jest pH, które było najniższe w polędwicy peklowanej związkami azotowymi (Tab. 2). Również w tym przypadku zaobserwowano najwyższą aktywność wody, co nie jest bez znaczenia dla optymalnego rozwoju LAB (Tab. 2). W innych pracach dotyczących badań polędwic dojrzewających, w tym z dodatkiem azotanów(III), jako substancji peklujących mięso, zaobserwowano liczbę LAB na poziomie średnio 4,00 log jtk/g po zakończeniu 21 dni procesu dojrzewania [Kołozyn-Krajewska i Dolatowski, 2012; Neffe-Skocińska i in., 2013]. Można zatem wnioskować, że czynnikiem najbardziej ograniczającym rozwój mikroflory

mlekowej w badanych produktach była temperatura przechowywania surowca mięsnego przed produkcją oraz dodatek soli morskiej.

Tabela 2. Wartość pH i aktywność wody polędwic wieprzowych po 21 dniach dojrzewania (średnia \pm odchylenie standardowe)

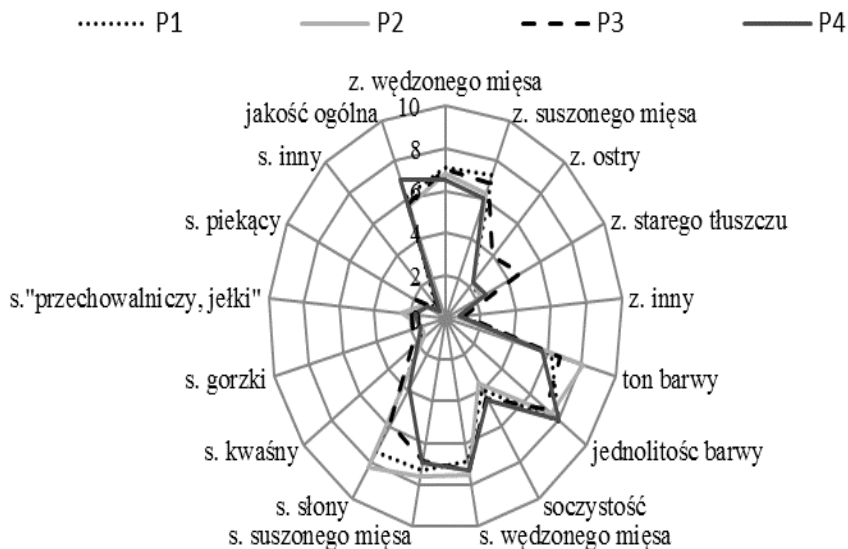
Próba	pH	a_w
P1	5,93 \pm 0,03	0,830 \pm 0,10
P2	5,81 \pm 0,01	0,792 \pm 0,13
P3	5,81 \pm 0,03	0,857 \pm 0,18
P4	5,60 \pm 0,02	0,906 \pm 0,11

Przeprowadzone pomiary parametrów barwy w systemie CIE L*a*b* również wskazują, że zastosowane procesy technologiczne wpływają na jakość badanych wariantów polędwic dojrzewających (Tab. 3). Dodatek soli morskiej i serwatki spowodował znaczny wzrost jasności barwy. Najniższą wartość parametru L* charakteryzowała się próba z solą morską i wodą. Udział barwy czerwonej był najwyższy w próbie P4 z dodatkiem związków azotowych. Próby z udziałem serwatki (P1 i P3) charakteryzowały się wyższą wartością parametru a* w porównaniu do próby przemywanej wodą. Próba z solą morską i serwatką cechowała się najwyższym udziałem barwy żółtej. Wartość parametru b* dla pozostałych prób była zbliżona.

Tabela 3. Parametry barwy CIE L*a*b* polędwic wieprzowych po 21 dniach dojrzewania (średnia \pm odchylenie standardowe)

Próba	L*	a*	b*
P1	41,75 \pm 3,18	2,10 \pm 0,38	5,55 \pm 1,29
P2	39,96 \pm 1,44	1,00 \pm 0,34	5,39 \pm 0,73
P3	49,17 \pm 1,78	1,69 \pm 0,47	8,19 \pm 0,57
P4	44,55 \pm 1,30	5,00 \pm 0,29	5,93 \pm 0,48

Podsumowując wyniki analizy sensorycznej stwierdzono, że jakość ogólna wszystkich produktów była porównywalna i kształtowała się na poziomie 5-6 j.u. (Rys. 2). Najlepszą jakością ogólną charakteryzowała się polędwica P4, czyli z dodatkiem mieszanki peklującej. Profil sensoryczny tej próby odznaczał się słabą wyczuwalnością negatywnych cech: zapach ostry, starego tłuszczu, inny oraz smak gorzki, przechowalniczy (jelki), piekący i inny. W porównaniu do pozostałych polędwic, również próba P4 była najmniej słona, co wpływało ostatecznie na jakość ogólną tego wariantu badawczego. Pozostałe polędwice były ocenione w zbliżony sposób, z czego na uwagę zasługuje duża intensywność odczuwania smaku słonego.



Rysunek 2. Profile sensoryczne połówiec wieprzowych po 21 dniach dojrzewania

Istotnym etapem produkcji wędlin dojrzewających jest sposób peklowania mięsa. Zgodnie z Dyrektywą 52/2006 dozwolona ilość azotynów i azotanów dodawanych do surowca mięsnego wynosi od 100 do 150 mg/kg. Podczas procesu peklowania do mięsa dodaje się mieszaninę, której główne składniki to azotan(III) sodu i chlorek sodu. Azotan(III) sodu, oprócz działania antybakteryjnego, odpowiada też za różową lub ciemno różową barwę mięsa peklowanego. Barwa ta jest wynikiem reakcji tlenu azotu z mioglobina i powstawaniem nitrozylomioglobiny. Natomiast chlorek sodu wpływa na smak produktów i wzmacnia aromat mięsny. Obniża także aktywności wody w produkcie, a zatem ma również działanie konserwujące. Sól powoduje rozluźnienie tkanki mięśniowej, dzięki czemu zwiększa się podatność surowca na działanie azotanu(III) sodu [Kalinowska-Dohojda i in., 2011; Ministerstwo Rolnictwa i Rozwoju Wsi, 2015]. Smakowitość produktów peklowanych jest bardziej znana i akceptowalna sensorycznie przez społeczeństwo, czego dowodem mogą być wyniki analizy QDA przeprowadzonej w niniejszej pracy.

Z drugiej strony spożywanie żywności wysoko przetworzonej, w tym za pomocą związków azotowych niesie za sobą ryzyko występowania wielu chorób, m.in. nowotworów wątroby, jelita grubego, żołądka, czy trzustki oraz zaburzenia w składzie mikroflory w układzie pokarmowym człowieka [Raport WHO, 2015]. W badaniach naukowych wykazano, że istnieje skuteczna alternatywa dla tradycyjnego peklowania mięsa. Przeprowadzone badania naukowe wskazują na możliwość wykorzystania serwatki kwasowej w przetwórstwie mięsa [Wójciak i in., 2015]. Udowodniono, że za

powstawanie charakterystycznej barwy wyrobów dojrzewających bez dodatku związków azotowych, są odpowiedzialne kultury bakterii, w tym bakterie fermentacji mlekowej. W literaturze przedmiotu można odnaleźć informacje na temat mikrobiologicznej konwersji metmioglobiny do nitrozylomioglobiny, odpowiedzialnej za charakterystyczną czerwono-różową barwę wyrobów dojrzewających. Inni badacze dowodzą, iż tlenek azotu, w fermentowanych wyrobach mięsnych, może powstawać w wyniku prowadzonej przez bakterie proteolizy łańcuchów polipeptydowych z wytworzeniem NO z argininy [Arihara i in., 1994; Cammack i in., 1999]. W niniejszych badaniach barwa produktów z dodatkiem serwatki, mierzona instrumentalnie w systemie CIE L*a*b* była odczytywana jako jaśniejsza w porównaniu do pozostałych wariantów badawczych. Natomiast barwa produktów z dodatkiem serwatki oceniana sensorycznie nie odbiegała istotnie od polędwic z dodatkiem mieszanki peklującej.

Ważnym etapem produkcji wędlin dojrzewających jest samo przygotowanie surowca do procesu fermentacji i dojrzewania. Wykazano, że sam proces chłodzenia lub mrożenia surowca ma wpływ na jakość końcową wędzonki, która kształtowała się podczas procesu dojrzewania. Według Skwarek i Dolatowskiego [2013] celem dojrzewania jest świadome sterowanie procesami fizycznymi, biochemicznymi i mikrobiologicznymi, w tym osiągnięcie stabilności mikrobiologicznej, która w dużym stopniu przyczynia się do możliwości długiego przechowywania wędzonek surowych. Zmiany zachodzące podczas dojrzewania produktów mięsnych, wpływają na ich jakość sensoryczną i teksturę m.in. poprzez reakcje proteolityczne. Rozkład białek zachodzi w wyniku działalności endogennych enzymów, jak również proteaz wytwarzanych przez mikroorganizmy [Stadnik i in., 2012; Okoń i Dolatowski, 2014]. Wewnątrzkomórkowe enzymy, wytwarzane przez bakterie fermentacji mlekowej, są odpowiedzialne za powstawanie wolnych aminokwasów i peptydów o małej masie cząsteczkowej, które przyczyniają się do właściwego przebiegu dojrzewania i wytworzenia charakterystycznego bukietu smakowo-zapachowego mięsnych produktów fermentowanych. Dodatkowo niskie pH środowiska, spowodowane produkcją kwasu mlekowego przez bakterie LAB powoduje aktywację tych enzymów [Fadda i in., 2010]. O'Halloran i in. [1997] w swoich badaniach zaobserwowali, że niskie pH mięsa wpływa na uwalnianie katepsyn i wzrost ich aktywności. Na zawartość wolnych aminokwasów w produkcie ma wpływ szybkość ich rozkładu przez enzymy proteolityczne, którą można ograniczyć poprzez zwiększenie zawartości soli kuchennej, czy obniżenie aktywności wody [Ruiz-Ramírez i in., 2005; Okoń i Dolatowski, 2014].

Stwierdzenia i wnioski

1. Na podstawie wyników badań mikrobiologicznych we wszystkich próbach polędwic, po 21 dni dojrzewania, nie stwierdzono wzrostu bakterii z rodziny *Enterobacteriaceae* i *S. aureus*, a ogólna liczba drożdży i pleśni wynosiła średnio 4-5 log jtk/g.

2. Stwierdzono wzrost LAB na poziomie 2 log jtk/g w próbie P2 i P3 oraz 4,76 log jtk/g w próbie P4, czyli tylko w polędwicach wyprodukowanych ze schłodzonego surowca mięsnego.

3. Próba z dodatkiem soli morskiej i wody charakteryzowała się najniższą aktywnością wody. Dodatek soli morskiej i serwatki spowodował znaczny wzrost jasności barwy. Próby z udziałem serwatki charakteryzowały się wyższą wartością parametru a^* w porównaniu do próby przemywanej wodą.

4. Najlepszą jakością ogólną charakteryzowała się polędwica z dodatkiem mieszanki peklującej. Pozostałe polędwice były ocenione w zbliżony sposób, na co wpływ mogła mieć intensywność odczuwania smaku słonego.

Wniosek końcowy

Stwierdzono, że sposób przygotowania surowca do produkcji polędwic dojrzewających i rodzaj zastosowanych dodatków ma istotny wpływ na jakość wyrobów końcowych oraz że jest możliwe zastosowanie serwatki kwasowej w produkcji surowo dojrzewających polędwic wieprzowych.

*Projekt został sfinansowany ze środków Ministerstwa Rolnictwa i Rozwoju Wsi
na podstawie decyzji nr HORre-msz-0780-13/15(458)*

Literatura

1. Arihara K., Cassens R.G., Luchansky J.B. Metmyoglobin reduktion durch Enterokokken. *Fleischwirtschaft*, 1994, 74, 1249-1250.
2. Cammack R., Joannou C.L., Cui X.Y., Martínez C.T., Maraj S.R., Hughes M.N. Nitrite and nitrosy compounds in food preservation. *Biochem. Biophysic. Acta –Bioenerget.*, 1999, 1411(2-3), 475-88.
3. Ciołkowska A., Gustaw W., Skrzypczak K., Michalak-Majewska M., Radzki W., Sławińska A., Jabłońska-Rys E., Zalewska-Korona M. Wpływ ogrzewania preparatów białek serwatkowych na właściwości reologiczne otrzymanych z nich żeli, w: *Technologiczne kształtowanie jakości żywności* (red. Wójciak K., Dolatowski Z.). Wyd. Naukowe PTTŻ, Kraków 2015, 27-40.
4. Dyrektywa 2006/52/WE Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 5 lipca 2006 r. w sprawie dodatków do żywności innych niż barwniki i substancje słodzące.
5. Fadda S., López C., Vignolo G. Role of acid bacteria during meat conditioning and fermentation: Peptides generated as sensorial and hygienic biomarkers. *Meat Science*, 2010, 86, 66-79.
6. Hać-Szymańczuk E. Bakterie fermentacji mlekowej w technologii mięsa. *Gospodarka Mięsna*, 2012, 12, 20-23.
7. Kalinowska-Dohojda A., Banaszekiewicz T., Tyburcy A. Charakterystyka wybranych czynników wpływających na jakość kielbas surowych. *Gospodarka Mięsna*, 2011, 3, 16-20.

8. Kołożyn-Krajewska D., Dolatowski Z.J. Probiotic meat products and human nutrition. *Process Biochemistry*, 2012, 47 (12), 1761-1772.
9. Neffe-Skocińska K., Kołożyn-Krajewska D., Goryl A. Wpływ dodatku szczepu *Lactobacillus casei* LOCK 0900 i warunków dojrzewania na jakość fermentowanych polędwic podczas przechowywania. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2013, 6(91), 45-59.
10. NF ISO 15214:1998. Microbiology of food and animal feeding stuffs. Horizontal method for the enumeration of mesophilic lactic acid bacteria. Colony count technique at 30 °C.
11. O'Halloran G. R., Troy D. J., Buckley D. J., Reville W. J. The role of endogenous proteases in the tenderization of fast glycolysing muscle. *Meat Science*, 1997, 47, 187-210
12. Okoń A., Dolatowski Z. Wpływ bakterii probiotycznych na profil wolnych aminokwasów i cechy sensoryczne polędwic wieprzowych surowo dojrzewających podczas przechowywania. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2014, 3(94), 92-107.
13. PN-ISO 2917:2001. Mięso i przetwory mięsne – Pomiar pH – Metoda odwoławcza.
14. PN-ISO 8586-2:2008. Analiza sensoryczna – Ogólne wytyczne wyboru, szkolenia i monitorowania ocenających.
15. Ministerstwo Rolnictwa i Rozwoju Wsi. Sprawozdanie z badań podstawowych na rzecz rolnictwa ekologicznego w roku 2015.
16. Ruiz-Ramírez J., Arnau J., Serra X., Gou P. Relationship between water content, NaCl content, pH and texture parameters in dry-cured muscles. *Meat Science*, 2005, 70, 579-587.
17. Skwarek M., Dolatowski Z.J. Wpływ bakterii probiotycznych na wybrane właściwości fizykochemiczne szynki surowo dojrzewających w: *Probiotyki w żywności* (red. Kołożyn-Krajewska D., Dolatowski Z.J.). Wyd. PTTŻ, Kraków 2010, 141-160.
18. Słowiński M. Proces technologiczny produkcji wędzonek w: *Mięso- podstawy nauki i technologii* (red. Pisula A., Pospiech E.). Wyd. SGGW, Warszawa 2011, 429-439.
19. Stadnik J., Dolatowski Z.J. Biogenic amines content during extended ageing of dry-cured pork loins inoculated with probiotics. *Meat Science*, 2012, 91, 374-377.
20. Raport WHO. Q&A on the carcinogenicity of the consumption of red meat and processed meat. WHO, 2015, <http://www.who.int/features/qa/cancer-red-meat/en/>
21. Wójciak, K.M., Dolatowski, Z.J., Kołożyn-Krajewska, D. (2015). Use of acid whey and probiotic strains to improve microbiological quality and sensory acceptance of organic fermented sausage. *J Food Process. Preserv.*, 39, 539-547.

WPLYW ZMIENNOŚCI PODSTAWOWEGO SKŁADU CHEMICZNEGO NA WYBRANE PARAMETRY TECHNOLOGICZNE SZPROTÓW BAŁTYCKICH

Streszczenie

Celem pracy było określenie wpływu zmian podstawowego składu chemicznego, w tym tłuszczu, na wyciek termiczny i twardość prób farszu ze szprotów bałtyckich. Materiałem do badań było 8 prób szprotów złowionych w 2015 roku przez jednostki rybackie w określonych miesiącach i rejonach połowowych Bałtyku południowego. W szprotach oznaczono zawartości białka ogólnego, tłuszczu, wody oraz popiołu całkowitego. W próbach farszu z tuszek szprotów o zawartości 0; 0,5; 1,0; 1,5 i 2,0% chlorku sodu, poddanych wstępnej obróbce cieplnej w 100°C, oznaczono wielkość swobodnego wycieku termicznego oraz twardość metodą instrumentalną. Badania wykazały, że zawartości białka, tłuszczu, wody i popiołu całkowitego w szprotach, pochodzących z określonych rejonów połowowych Bałtyku południowego, charakteryzowały się sezonową zmiennością i mieściły się w przedziałach, odpowiednio: 15,1-16,6%; 5,9-14,9%, 67,9-77,1% i 1,4-1,7%. W próbach farszu z tuszek szprotów wraz ze wzrostem zawartości tłuszczu z 5,9% do 14,9% wielkość wycieku termicznego ulegała obniżeniu z 15,6% do 9,1%, a stopień twardości zmniejszył się z 12,0 N do 2,5 N. Wzrost zawartości chlorku sodu w próbach od 0,5% do 2,0% wpłynął na zmniejszenie wielkości wycieku termicznego w zakresie 33,9-57,8%, oraz wzrost twardości w zakresie 11,1-88,9%. Stwierdzono statystycznie istotne korelacje prostoliniowe między zawartością tłuszczu a wielkością wycieku termicznego, zawartością tłuszczu a twardością oraz twardością a wielkością wycieku termicznego w próbach farszu ze szprotów.

Słowa kluczowe: szprot, podstawowy skład chemiczny, farsz, wyciek termiczny, twardość

Wprowadzenie

Szproty bałtyckie są wartościowymi surowcami pochodzenia morskiego, o szerokich możliwościach wykorzystania w przetwórstwie rybnym [Anonim, 2005]. Mięso tych ryb jest źródłem cennego pod względem biologicznym i sensorycznym białka, tłuszczu, witamin, w tym A, D, E, niacyny, B₁, B₂, B₆, B₁₂, oraz substancji mineralnych, jak potas,

wapń, fosfor i magnez [Kunachowicz i in., 2005]. Obecny w szprotach tłuszcz jest źródłem niezbędnych w diecie ludzi wielonienasyconych kwasów tłuszczowych z rodziny n-3 [Balas i in., 2001]. Zmiany zawartości głównych składników, tj. białka, tłuszczu i wody, są związane z cyklem rozwojowym ryb i zależą od stanu odżywienia, rejonu i sposobu połowu, cech osobniczych oraz przemian, jakie zachodzą w surowcach po złowieniu [Sikorski 1980; Timberg i in., 2011].

Stopień wykorzystania szprotów w krajowym przetwórstwie na cele konsumpcyjne nie przekracza 50% całkowitej masy złowionych ryb [Anonim, 2009]. Surowiec ten od lat stanowi główny gatunek ryb kierowanych na cele paszowe [Kuzebski i Janusz, 2013]. Do podstawowych czynników ograniczających możliwości wykorzystania szprotów na cele konsumpcyjne należą: niska zawartość tłuszczu, duże zróżnicowanie wymiarów i masy osobniczej ryb oraz znaczny udział ryb mechanicznie uszkodzonych, wskutek stosowania niewłaściwych metod połowu, przechowywania i transportu [Pawlikowski i Szulecka, 2011]. Stosowane obecnie metody przetwarzania szprotów bałtyckich są pracochłonne i nieefektywne ze względu na niską wydajność produkcyjną oraz nieodpowiednią jakość uzyskiwanych z nich wyrobów [Pawlikowski, 2010b; Pawlikowski i Dowgiałło, 2010].

Szproty należą do ławicowych ryb pelagicznych o niewielkich wymiarach i masie, charakteryzujących się delikatną, uwodnioną strukturą tkanki mięśniowej [Anonim, 2009]. Podczas obróbki cieplnej (parowanie, sterylizacja) w surowcach tych, wskutek denaturacji białek mięśniowych, występują duże ubytki masy spowodowane wyciekami termicznymi [Pawlikowski, 2010a]. Wyciek termiczny jest jednym z podstawowych wskaźników określających przydatność technologiczną surowców rybnych, ponieważ ma istotny wpływ na jakość oraz wydajność produktów z nich wytwarzanych. Wyciek termiczny z tkanki ryb, poza wodą, zawiera określone ilości składników odżywczych, w tym białko, tłuszcz, węglowodany oraz makro- i mikroelementy. Ubytek masy ryb wskutek obróbki cieplnej, który zależy od składu chemicznego surowca, a zwłaszcza zawartości tłuszczu, może wynosić powyżej 20% w stosunku do masy ryb surowych [Kołakowski, 2007]. Rozwiązaniem ograniczającym wielkość wycieku termicznego z ryb może być stosowanie metod tzw. łagodnego przetwarzania, polegających np. na prowadzeniu cieplnej sterylizacji konserw w możliwie niskiej temperaturze i dłuższym czasie procesu (ang. *Low Temperature Long Time*) [Ohlsson i Beugtsson, 2002; Nowicka i in., 2014].

Jednym z kierunków przetwarzania drobnych ryb pelagicznych, w tym szprotów, może być produkcja wyrobów formowanych na bazie farszu z mięsa ryb, w których fizyczna integralność tkanki nie odgrywa istotnej roli [Pawlikowski, 2010b; Pawlikowski i Szulecka, 2012]. Reologiczna charakterystyka farszu zależy min. od stężenia białek i ich właściwości, udziału i jakości lipidów, zawartości i rodzaju soli oraz parametrów

obróbki cieplnej [Sikorski, 1980]. Największy wpływ na teksturę farszów rybnych mają zmiany białek miofibrylarnych, spowodowane ich denaturacją. Zmiany kolagenu odgrywają drugorzędą rolę w kształtowaniu tekstury, w przypadku gdy mięso ryb, pozbawione ości i skóry, jest ubogie w kolagen [Kołakowski, 1986]. Z kolei nadmierny wyciek termiczny spowodowany ciepłą denaturacją białek mięśniowych ryb bardzo pogarsza teksturę tkanki rybnej [Kołakowski i in., 2008].

Badania wpływu zmian podstawowego składu chemicznego szprotów, w zależności od sezonu i rejonu połowu, na parametry technologiczne, mogą wpłynąć korzystnie na racjonalizację połowów oraz optymalizację procesów przetwarzania tych surowców.

Celem pracy było określenie wpływu zmian podstawowego składu chemicznego, w tym tłuszczu, na wyciek termiczny i twardość prób farszu ze szprotów bałtyckich.

Materiały i metody badań

Materiałem do badań było 8 prób szprotów złowionych przez jednostki rybackie w określonych miesiącach i rejonach połowowych Bałtyku południowego w 2015 roku (Tab. 1).

Tabela 1. Miesiące i rejon połowu szprotów bałtyckich

Nr próby	Miesiąc połowu	Rejon połowu
1.	luty	39G6/J8
2.	marzec	38G8/R8
3.	kwiecień	39G7/M9
4.	maj	39G7/M10
5.	czerwiec	38G8/S6
6.	wrzesień	38G8/R7
7.	listopad	37G8/S4
8.	grudzień	40G6/K11

Próby szprotów, o masie 3-4 kg, były losowo pobierane bezpośrednio po ich połowie, z ładowni jednostki rybackiej, do izotermicznych pojemników, chłodzonych rozdrobnionym lodem wodnym. Następnie próby ryb dostarczone były w warunkach chłodniczych do Morskiego Instytutu Rybackiego – Państwowego Instytutu Badawczego i poddane badaniom w ciągu 48 godz., licząc od daty ich połowu.

W tkance szprotów oznaczono podstawowy skład chemiczny: zawartość wody/suchej masy metodą suszenia [PN-ISO 1442:2000], zawartość białka metodą Kjeldahla w analizatorze Kjeltec [PN-A-04018:1975/Az3:2002P], zawartość tłuszczu metodą ekstrakcyjno-wagową Soxhleta w aparacie SOXTEC [PN-ISO 1444:2000, PN-67/A-6734], zawartość popiołu całkowitego metodą spalania [PN-ISO 936:2000].

Sposób wykonania prób farszu był następujący: tuszki szprotów rozdrabniano 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 do farszu dodawano chlorek sodu (NaCl) w ilościach 0,0; 0,5; 1,0; 1,5 i 2,0%. Próbkę farszu, każda o masie po 50 g, pakowano do próbek (n=3) z polipropylenu, o średnicy 26 mm, poddano parowaniu w temperaturze 100°C przez 15 minut, a następnie usuwano z nich wyciek termiczny na sicie, w czasie 20 min. Względny wyciek termiczny (% masowy) przedstawiono jako stosunek różnicy pomiędzy masą próbki surowego farszu przed obróbką cieplną a masą próbki farszu po obróbce cieplnej i po usunięciu wycieku termicznego, do masy próbki surowego farszu. Po usunięciu wycieku próbki farszu przechowywane były w temperaturze 2-4°C, przez 24 godz. Następnie uformowane batony farszu były dzielone na próbki (n=10), o średnicy 25 mm i wysokości 20 mm, przeznaczone do badań reologicznych.

W próbkach farszu oznaczano 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 polega na dwukrotnym ściskaniu, za pomocą tarcz o średnicy 150 mm, przy prędkości przesuwu głowicy 2 mm/s i czasie relaksacji 20 s. Pomiar twardości wykonano dla n=10 próbek farszu, a dla uzyskanych wyników obliczano średnie wartości wraz z odchyleniem standardowym.

Wyniki oznaczeń przedstawiono jako średnie arytmetyczne z pomiarów n próbek wraz z odchyleniem standardowym, obliczonym z rozstępu uzyskanych wyników. Analizę statystyczną uzyskanych wyników badań przeprowadzono wykorzystując program statystyczny STATISTICA ver. 9.0.

Wyniki i dyskusja

W tabeli 2. zamieszczono podstawowy skład chemiczny szprotów bałtyckich, a na rysunku 1. zmiany zawartości białka i tłuszczu w szprotach w zależności od miesiąca ich połowu.

Z tabeli 2. wynika, że zawartość białka w szprotach mieściła się w przedziale od 15,1% (próba 8, rejon połowowy 40G6/K11, grudzień) do 16,6% (próba 5, rejon połowowy 38G8/S6, czerwiec). Udział tłuszczu w szprotach wynosił od 5,9% (próba 4, rejon połowowy 39G7/M10, maj) do 14,9% (próba 6, rejon połowowy 38G8/R7, wrzesień).

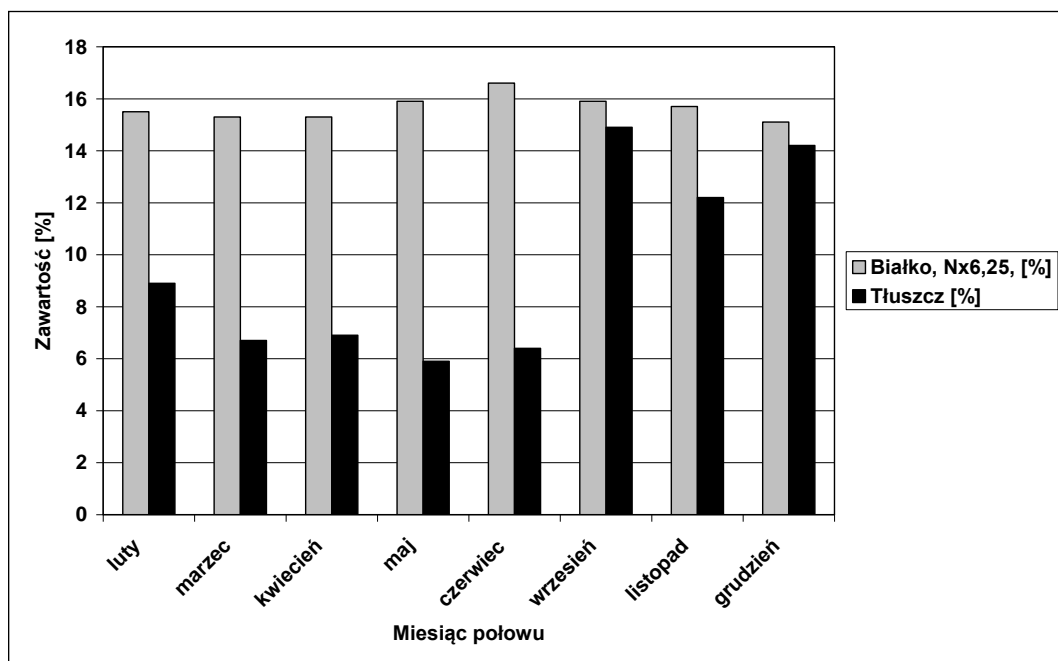
Natomiast zawartość wody w mięsie szprotów mieściła się w przedziale od 67,9% (próba 6, rejon połowowy 38G8/R7, wrzesień) do 77,1% (próba 4, rejon połowowy 39G7/M10, maj). Analiza wykazała, że zawartość tłuszczu w szprotach tworzy istotną statystycznie prostoliniową korelację ujemną z zawartością wody (współczynnik

korelacji wyniósł $r=0,99$, dla $p \leq 0,05$). Zawartość popiołu mieściła się w zakresie od 1,4% (próba 8, rejon połowowy 40G6/K11, grudzień) do 1,7% (próba 5, rejon połowowy 38G8/S6, czerwiec).

Tabela 2. Podstawowy skład chemiczny szprotów bałtyckich

Nr próby	Białko (N×6,25) [%]	Tłuszcz [%]	Zawartość wody [%]	Popiół całkowity [%]
1.	15,5±0,3	8,9±0,2	74,4±0,1	1,5±0,0
2.	15,3±0,1	6,7±0,0	76,7±0,3	1,6±0,1
3.	15,3±0,0	6,9±0,1	76,5±0,2	1,6±0,0
4.	15,9±0,1	5,9±0,2	77,1±0,1	1,6±0,1
5.	16,6±0,1	6,4±0,1	75,7±0,0	1,7±0,0
6.	15,9±0,0	14,9±0,1	67,9±0,0	1,6±0,1
7.	15,7±0,0	12,2±0,2	70,8±0,3	1,6±0,0
8.	15,1±0,0	14,2±0,1	69,7±0,4	1,4±0,0

Z analizy zawartości składników odżywczych w szprotach, złowionych w określonych miesiącach, wynika, że największym zmianom w cyklu rocznym uległa zawartość tłuszczu (Rys. 1).



Rysunek 1. Zmiany zawartości białka i tłuszczu w szprotach w zależności od miesiąca połowu

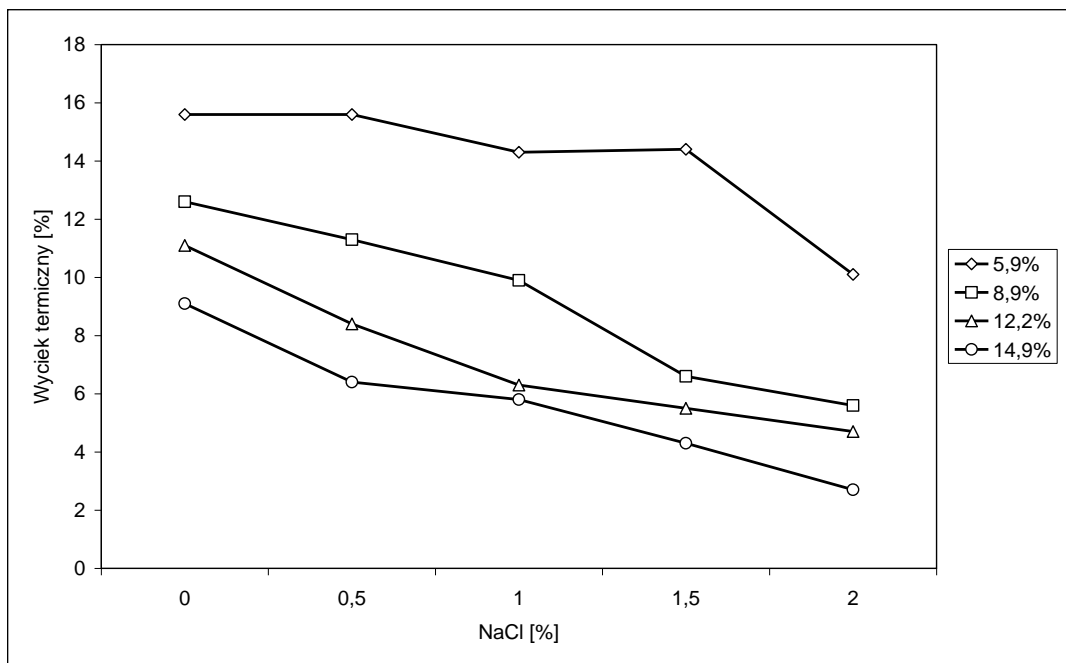
Tabela 3. Wyciek termiczny i twardość prób farszu z tuszek szprotów z dodatkiem NaCl

Próba	Parametr	Zawartość NaCl [%]				
		0,0	0,5	1,0	1,5	2,0
1.	Wyciek[%]	12,6±3,5	11,3±2,9	9,9±0,6	6,6±2,0	5,6±0,5
	Twardość[N]	7,7±0,9	8,6±0,5	8,9±0,6	9,2±0,7	9,9±0,8
2.	Wyciek [%]	13,1±1,7	12,7±1,1	11,9±3,4	8,7±3,2	8,4±6,6
	Twardość[N]	10,2±0,9	10,6±0,8	11,2±0,6	12,4±0,7	13,7±0,6
3.	Wyciek [%]	13,8±3,0	12,6±2,4	10,6±1,4	8,4±1,2	6,6±2,8
	Twardość[N]	9,8±1,1	10,4±1,6	10,7±1,1	11,2±1,0	11,7±1,8
4.	Wyciek [%]	15,6±2,8	15,6±2,6	14,3±0,9	14,4±0,7	10,1±1,9
	Twardość[N]	12,0±1,1	12,8±1,7	13,5±0,6	14,1±0,9	15,0±0,6
5.	Wyciek [%]	15,7±5,3	13,2±1,9	12,5±0,5	9,9±2,3	6,8±2,2
	Twardość[N]	11,5±0,8	12,3±1,0	12,8±0,6	13,2±0,9	14,0±0,6
6.	Wyciek [%]	9,1±2,2	6,4±1,8	5,8±0,8	4,3±1,8	2,7±0,5
	Twardość[N]	2,5±0,6	3,2±0,4	3,8±1,0	4,1±1,1	5,9±1,1
7.	Wyciek [%]	11,1±2,2	8,4±1,8	6,3±0,8	5,5±1,8	4,7±0,5
	Twardość[N]	4,3±0,5	5,1±1,7	5,3±2,0	5,8±1,0	6,9±1,0
8.	Wyciek [%]	12,4±2,2	7,2±2,6	5,9±1,4	5,2±1,9	3,7±0,7
	Twardość[N]	5,1±0,5	5,4±1,7	5,3±2,0	6,2±1,0	6,2±1,0

W tabeli 3. zamieszczono wielkości wycieku termicznego i twardości prób farszu ze szprotów o zawartości 0; 0,5; 1,0; 1,5 i 2,0% chlorku sodu. Udział tłuszczu w próbach farszu ze szprotów mieścił się w przedziale od 5,9% (próba 4) do 14,9% (próba 6). Wraz ze wzrostem zawartości tłuszczu w próbach farszu malała wielkość wycieku termicznego. Np. w próbie 4. o zawartości tłuszczu 5,9% wielkość wycieku termicznego wyniosła 15,6%, podczas gdy w próbie 8. o zawartości tłuszczu 14,2% wielkość wycieku termicznego była mniejsza i wynosiła 12,4%. Wyniki te są zbieżne z pracami innych autorów. Według Kołakowskiego [1986] wielkość wycieku termicznego z tkanki śledzi jest dodatnio skorelowana z właściwościami białek mięśniowych, ale w surowcu o dużej zawartości tłuszczu prawidłowość ta jest zakłócona przez przechodzenie do wycieku termicznego znacznej ilości tłuszczu. Np. według Kołakowskiego [2007] minimalne ubytki masy sardynek o zawartości tłuszczu 1% po obróbce cieplnej wynoszą 24%, a sardynek o zawartości 12% tłuszczu nie przekraczają 19%. Z kolei Sikorski [1980] podaje, że wielkość ubytku masy i objętości rozdrobnionej tkanki rybnej wskutek obróbki cieplnej mieści się w przedziale 15-25%. Analiza wykazała, że w próbach farszu ze szprotów bez dodatku NaCl, zawartość tłuszczu jest statystycznie istotnie skorelowana (korelacja prostoliniowa ujemna) z wielkością wycieku termicznego (współczynnik korelacji wyniósł $r = 0,85$, dla $p \leq 0,05$).

We wszystkich próbach farszu ze szprotów dodatek 0,5% chlorku sodu (NaCl) wpływał na obniżenie wielkości wycieku termicznego (Rys. 2). Np. w próbie 2. spowodował on zmniejszenie wielkości wycieku termicznego z 13,1% do 12,7%,

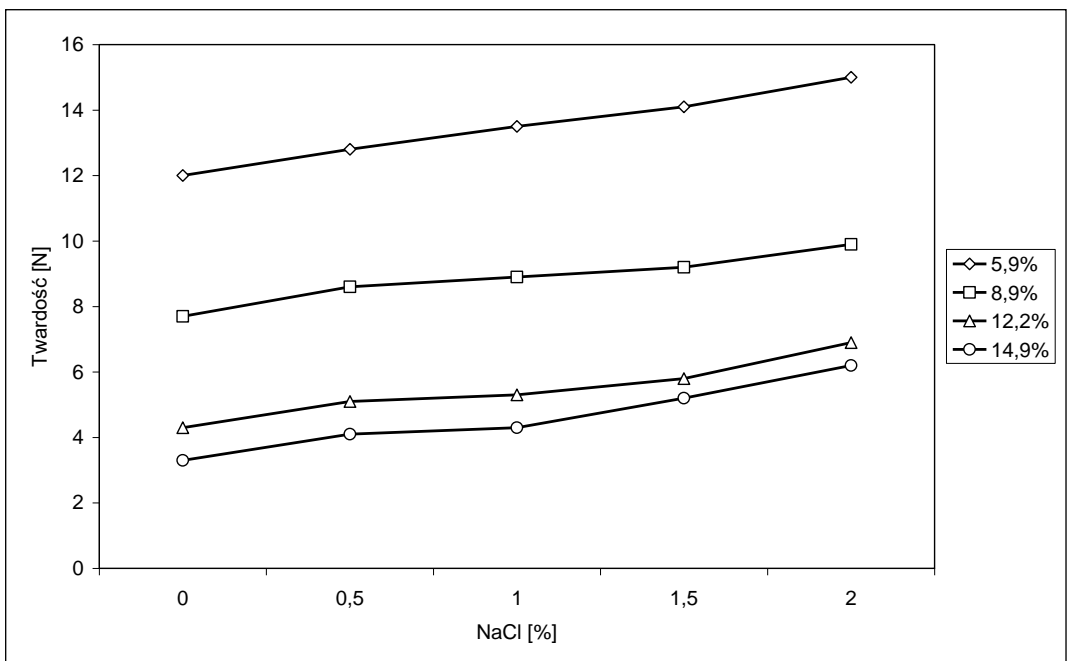
a w próbie 5. zmniejszenie wielkości termicznego z 15,7% do 13,2%. Badania wykazały, że wzrost zawartości NaCl od 0,5% do 2,0% przyczyniał się do dalszego spadku wielkości wycieku termicznego w próbach farszu ze szprotów. Np. w próbie 3. wzrost zawartości NaCl od 0,5 do 2,0% powodował zmniejszenie się wielkości wycieku termicznego z 12,6% do 6,6%, tj. o ponad 50%. Według Tokarczyka [2007] dodatek chlorku sodu w zakresie 1,5-3,0% powoduje wzrost lepkości i wodochłonności farszu rybnego po obróbce cieplnej, w wyniku czego wielkość wycieku termicznego jest niższa o około 40% w stosunku do farszu bez dodatku chlorku sodu. Zdaniem Sikorskiego [1980] zmniejszenie wielkości wycieku termicznego może wynikać z wchłonięcia przez tkankę rybną wody hydratacyjnej otaczającej jony soli oraz wiązania części chlorku sodowego przez białka mięśniowe.



Rysunek 2. Zmiany wielkości wycieku termicznego w próbach farszu ze szprotów

W próbach farszu ze szprotów wraz ze wzrostem zawartości tłuszczu malała ich twardość. Np. w próbie 4. o zawartości tłuszczu 5,9% twardość farszu wyniosła 12 N, podczas gdy w próbie 6. o zawartości tłuszczu 14,9% twardość była znacznie mniejsza i wyniosła 2,5 N. W próbach farszu ze szprotów bez dodatku NaCl, stwierdzono istotną statystycznie prostoliniową korelację ujemną między twardością a zawartością tłuszczu (współczynnik korelacji wyniósł $r = 0,96$, dla $p \leq 0,05$), a także prostoliniową korelację dodatnią między twardością a wielkością wycieku termicznego (współczynnik korelacji wyniósł $r = 0,92$, dla $p \leq 0,05$).

We wszystkich próbach farszu ze szprotów, dodatek NaCl powodował wzrost ich twardości (Rys. 3). Np. w próbie 4. dodatek 0,5% NaCl spowodował wzrost twardości z 12,0 N do 12,8 N. Dalszy wzrost zawartości NaCl od 0,5% do 2,0% w próbie farszu powodował wzrost twardości. Np. wzrost zawartości NaCl od 0,5% do 2,0%, w próbie farszu 2. powodował wzrost twardości z 10,6 do 13,7 N, a w próbie farszu 8. twardość wzrosła z 5,4 N do 6,2 N. Wyniki te są zgodne z pracami innych autorów, w tym Greiff'a i in. [2015] którzy wykazali, że wzrost zawartości soli prowadzi do wzrostu stopnia twardości farszów rybnych. Inni z kolei, np. Corsado i in. [2009] stwierdzili, że twardość farszu z rozdrobnionego mięsa dorsza wzrosła ze spadkiem zawartości soli. Zdaniem Jafarpour i Gorczycy [2012] rozbieżności te mogą wynikać z odmiennej ekstrakcyjności białek, których siła jonowa jest zróżnicowana dla poszczególnych gatunków ryb.



Rysunek 3. Zmiany twardości w próbach farszu ze szprotów

Wnioski

1. Zawartości białka, tłuszczu, wody i popiołu całkowitego w szprotach, pochodzących z określonych rejonów połowowych Bałtyku południowego, charakteryzowały się sezonową zmiennością i mieściły się w przedziałach, odpowiednio: 15,1-16,6%; 5,9-14,9%, 67,9-77,1% i 1,4-1,7%.

2. W próbach farszu ze szprotów ze wzrostem zawartości tłuszczu z 5,9% do 14,9% wielkość wycieku termicznego ulegała obniżeniu z 15,6% do 9,1%, natomiast twardość zmniejszyła się z 12,0 N do 2,5 N.

3. Wzrost zawartości chlorku sodu od 0,5% do 2,0% w próbach farszu ze szprotów wpłynął na zmniejszenie wielkości wycieku termicznego w zakresie 33,9-57,8%, oraz wzrost twardości w zakresie 11,1-88,9%.

4. W próbach farszu ze szprotów stwierdzono statystycznie istotne korelacje prostoliniowe między zawartością tłuszczu a wielkością wycieku termicznego, zawartością tłuszczu a twardością oraz twardością a wielkością wycieku termicznego.

Literatura

1. Anonim. Kompleksowa ocena segmentu pelagicznego polskiego rybołówstwa bałtyckiego celem wskazania możliwości podniesienia jego efektywności poprzez wdrażanie Programu Operacyjnego „Zrównoważony rozwój sektora rybołówstwa i nadbrzeżnych obszarów rybackich 2007- 2013”. Opracowanie przygotowane na zlecenie Departamentu Rybołówstwa MRiRW (praca zbiorowa). Morski Instytut Rybacki w Gdyni, Gdynia 2009.
2. Anon. 2005. Wykorzystanie bałtyckiego śledzia i szprota na cele konsumpcyjne. Ministerstwo Rolnictwa i Rozwoju Wsi. Departament Rybołówstwa, Warszawa 2005.
3. Balas J., Pawlicka M., Jacórzyński B., Filipek A., Domina P., Mielniczuk E., Daniewski M. Zawartość tłuszczu i skład kwasów tłuszczowych w wybranych rybach morskich. Roczniki Państwowego Zakładu Higieny, 2001, 52, 4, 1-5.
4. Bourne M. C. Texture profile analysis. Food Technology, 1978, 32 (7), 62-72.
5. Cardoso C., Mendes R., M.L. Nunes M.L. Instrumental texture and sensory characteristic of cod frankfurter sausages International Journal of Food Properties, 2009, 12, 625-643.
6. Greiff K., Aursland L. g., Erikson U., Kjell D., Rustad T. Effects of type and concentration of salts on physicochemical properties in fish mince. Food Science and Technology, 2015, 64 (1), 220-226.
7. A. Jafarpour A., Górczyca E. M., Contribution of sarcoplasmic proteins to myofibrillar proteins gelation. Journal of Food Science, 2012, 77 (2), R73-R81.
8. Kołakowski E., Wianecki M., Milewska I. Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 2008, 6 (61), 95-104.
9. Kołakowski E. Wstępne obróbki cieplne w technologii konserw rybnych. Postępy w technologii konserw rybnych. [w:] Materiały konferencyjne. Wydział Nauk o Żywności i Rybactwa. Akademia Rolnicza. Szczecin, 2007, 7-17.
10. Kołakowski E., Technologia farszów rybnych. PWN. Warszawa 1986.
11. Kunachowicz H., Nadolna I., Przygoda B., Iwanow K. Tabele składu i wartości odżywczej żywności. Wydawnictwo Lekarskie PZWL. Warszawa 2005.
12. Kuzebski E., Janusz M. Wzrost cen ryb pelagicznych. Małe ryby – wysokie ceny – niska konsumpcja. Wiadomości Rybackie, 2013, 3-4 (192), 10-13.
13. Nowicka P., Wojdyło A., Oszmiański J. Zagrożenia powstające w żywności minimalnie przetworzonej i skuteczne metody ich eliminacji. ŻYWNOSĆ. Nauka. Technologia. Jakość, 2014, 2 (93), 5-18.
14. Ohlsson T., Beugtsson N. Minimal processing technologies in the food industry. Woodhead Publishing Limited. Cambridge, England 2002.
15. Pawlikowski B. Influence of heat sterilization on the content of selected physicochemical indicators of canned sprat. New trends of research in agricultural engineering [in:] Technique and technologies in agricultural engineering (monograph). Published by Editorial House Wieś Jutra. Warsaw 2010a, 32-40.
16. Pawlikowski B. Trends and possibilities within Baltic sprat processing. Eurofish Magazine, 2010b, 4, 50-52.
17. Pawlikowski B., Dowgiałło A. Technologiczne uwarunkowania wzrostu przetwórstwa szprotów bałtyckich na cele konsumpcyjne. Postępy Techniki Przetwórstwa Spożywczego, 2010, 2, 33-36.
18. Pawlikowski B., Szulecka O. Kształtowanie jakości i wartości odżywczej produktów ze śledzi bałtyckich o obniżonej przydatności technologicznej. [w:] Żywność projektowana. Designed food

- (monografia). Wydawca: Oddział Małopolski Polskiego Towarzystwa Technologów Żywności. Kraków 2011, 46-59.
19. Pawlikowski B., Szulecka O. Wpływ składu surowcowego na kształtowanie właściwości reologicznych farszów ze śledzi bałtyckich. *Postępy Techniki Przetwórstwa Spożywczego*, 2012, 2, t. 22, 41, 79-83.
 20. PN-A-04018:1975/Az3:2002P Produkty rolniczo-żywnościowe. Oznaczanie azotu metodą Kjeldahla i przeliczanie na białko.
 21. PN-67/A-86734 Ryby, przetwory rybne i produkty uboczne z ryb. Oznaczenia zawartości tłuszczu.
 22. PN-ISO 936:2000 Mięso i przetwory mięsne. Oznaczanie popiołu całkowitego.
 23. PN-ISO 1444:2000 Mięso i przetwory mięsne. Oznaczenia zawartości tłuszczu wolnego.
 24. PN-ISO 1442:2000 Mięso i przetwory mięsne. Oznaczanie zawartości wody (metoda odwoławcza).
 25. Sikorski Z. E. *Technologia żywności pochodzenia morskiego*. Wydawnictwo Naukowo-Techniczne, Warszawa 1980.
 26. Timberg L., Koppel K., Kuldjäv L., Paalme T. Sensory and chemical properties of Baltic Sprat (*Sprattus sprattus balticus*) and Baltic Herring (*Clupea harengus membras*) in Different Catching Seasons. *Agronomy Research* 9 (Special Issue II), 2011, 489-494.
 27. Tokarczyk G. *Technologia konserw rybnych z farszów rybnych*. [w:] *Postępy w technologii konserw rybnych (Materiały konferencyjne)*. Wydział Nauk o Żywności i Rybactwa. Akademia Rolnicza. Szczecin 2007, 19-30.

WPŁYW INULINY JAKO ZAMIENNIKA TŁUSZCZU NA SKŁAD CHEMICZNY, WARTOŚĆ KALORYCZNA, KWASOWOŚĆ ORAZ STOPIEŃ UTLENIEŃ LIPIDÓW PASZTETÓW Z MIĘSA INDYKA

Wprowadzenie

Produkty mięsne są źródłem cennych składników odżywczych i z tego powodu pełnią ważną rolę w diecie człowieka. Pomimo, że tłuszcz jest jednym ze składników kształtujących właściwości produktów mięsnych oraz istotnie wpływa na akceptację konsumentów, to jednak wysoka zawartość nasyconych kwasów powoduje ograniczenie spożycia tych produktów. Światowa Organizacja Zdrowia od wielu lat postuluje o ograniczenie poziomu spożycia tłuszczu. W tej sytuacji wyzwaniem dla przemysłu mięsnego jest wytworzenie produktów o niskiej zawartości tego składnika, bez pogorszenia ich cech jakościowych.

Obniżenie zawartości tłuszczu zwierzęcego w produktach mięsnych można osiągnąć stosując chude mięso lub substytucję tłuszczu zwierzęcego różnymi składnikami niemięsnymi, np. olejami roślinnymi [Beriaín i in., 2011], białkami serwatki czy soi, hydrokoloidami [Fuentes-Zaragoza i in., 2010], składnikami zbóż i owoców [Weiss i in., 2010]. Dobrym sposobem na ograniczenie zawartości tłuszczów zwierzęcych w produktach mięsnych może być dodatek inuliny [Álvarez i Barbut, 2013], naturalnego oligosacharydu zapasowego wielu roślin. Handlowa inulina zawiera polimery o różnym stopniu polimeryzacji i różnej liczbie oligosacharydów [Juszczak i in., 2012]. Długość łańcucha determinuje jej właściwości technologiczne i aktywność prozdrowotną [Glibowski, 2010]. W przemyśle spożywczym inulina wykorzystywana jest jako substytut tłuszczu, wypełniacz i składnik teksturotwórczy, a także jako substancja poprawiająca właściwości reologiczne i smakowitość [Meyer i in., 2011]. Dobrze stabilizuje emulsje i piany oraz reguluje retencję wody. Te właściwości wynikają głównie z jej zdolności do tworzenia trwałych żeli [Meyer i in., 2011; Juszczak i in., 2012], które mają kremową konsystencję przypominającą tłuszcz stały [Glibowski, 2010].

Inulina wykazuje prebiotyczne działanie stymulujące wzrost *Bifidobacterium sp.* w jelicie grubym [Barclay i in., 2010], zwiększa absorpcję wapnia i magnezu pozytywnie działając na układ kostny [Meyer i Stasse-Wolthuis, 2006], zmniejsza poziom cholesterolu i lipidów w surowicy krwi [Roberfroid, 2007], potęguje uczucie sytości [Parnell i Reimer, 2009] oraz stymuluje układ odpornościowy [Lomax i Calder, 2009].

Inulinę można również bezpiecznie stosować w żywieniu dzieci [Closa-Monasterolo i in., 2013]. Ze względu na strukturę chemiczną, inulina nie może być trawiona w przewodzie pokarmowym stąd też jej wartość kaloryczna jest niska i wynosi 2 kcal/g [EFSA, 2010].

Właściwości funkcjonalne oraz prozdrowotne sprawiają, że inulina ma szerokie zastosowanie jako zamiennik tłuszczu w produktach zbożowych, nabiałowych i innych [Gonzalez-Tomás i in., 2009; Juszczak i in., 2012; Mittal i Bajwa, 2012]. Jej wysoka zdolność do wiązania wody oraz tworzenia żeli, jak również sensoryczne i technologiczne naśladownictwo tłuszczu zwierzęcego, znalazły zastosowanie w wielu produktach mięsnych [Florowski i in., 2008; Flaczyk i in., 2009; Florowski i Adamczak, 2010; Beriain i in., 2011; Dragan i in., 2011; Cegiełka i Tambor, 2012; Cegiełka i Nadrowska, 2013; Menegas i in., 2013; Rodriguez-Furlan i in., 2014; Méndez-Zamora i in., 2015]. Jednak w żadnym z tych badań nie wykorzystano mięsa drobnego z podudzia indyka jako surowca go produkcji pasztetów.

Potencjalnie pasztety można by uznać za żywność funkcjonalną. Produkty te zawierają wątrobę, która jest ważnym źródłem witaminy A, witamin grupy B oraz żelaza i innych składników mineralnych. Niestety pasztety charakteryzują się wysoką, około 30-procentową, zawartością tłuszczu zwierzęcego, która jest niezbędna do uzyskania pożądaných cech sensorycznych. W tej sytuacji chude mięso drobne z podudzia indyka może stanowić alternatywę dla innych bardziej tłustych rodzajów mięsa. Ogólnie mięso drobiowe (bez skóry) zawiera więcej białka, mniej tłuszczu i cholesterolu niż mięso innych zwierząt rzeźnych. Jednak mięso z indyków posiada pod tym względem bardziej pożądaný skład chemiczny niż mięso kurcząt i stanowi dobre źródło składników odżywczych.

Użycie do produkcji pasztetu mięsa indyczego o niskiej zawartości tłuszczu oraz zastąpienie tłuszczu zwierzęcego inuliną może przyczynić się do zaklasyfikowania tego produktu do grupy żywności funkcjonalnej. W dostępnej literaturze brak jest badań nad wykorzystaniem inuliny w produkcji pasztetów z udziałem drobnego mięsa indyczego. Dlatego też, celem badań było określenie wpływu dodatku inuliny do pasztetu z mięsa indyka na jego skład chemiczny, kaloryczność oraz wybrane cechy chemiczne.

Materiały i metody

Materiały

Surowce mięsne: mięso drobne z podudzia indyka uzyskane przez ręczne oddzielenie mięsa od kości, wątroba drobiowa oraz słonina pochodziły z bieżących dostaw sklepowych. Mięso ogrzewano w woreczkach foliowych, zamkniętych próżniowo, we wrzącej wodzie przez 30 min. Pozostałe składniki: rosół (z gotowania wątroby, słoniny, marchwi i cebuli), ugotowane surowce mięsne oraz marchew i cebulę bulkę tartą, sól, pieprz i gałkę muszkatołową dodawano w ilościach podanych w tabeli 1. Preparat

Orafti®HPX (BENEIO Ltd. Orafiti, Tienen, Belgia), którego użyto jako substytut tłuszczu zawierał 100% inuliny, której stopień polimeryzacji wynosił ≥ 23 i poziom słodkości w porównaniu z sacharozą 0%. W doświadczeniu inulinę zastosowano w postaci uwodnionej (25 g sproszkowanej inuliny na 100 ml wody). Zawiesinę ogrzewano na mieszadle magnetycznym (temp. 85°C) do rozpuszczenia, a następnie schładzano do 50°C otrzymując żel.

Tabela 1. Warianty pasztetów z mięsa indyka z dodatkiem inuliny jako zamiennika tłuszczu.

Składniki (%)	Wariant badawczy			
	T0	T1	T2	T3
Gotowanie mięso drobne z podudzia indyka	41,10	41,10	41,10	41,10
Gotowana słonina	22,40	14,95	7,45	-
Żel inuliny (25 g/100 g wody)	-	7,45	14,95	22,40
Rosół	18,70	18,70	18,70	18,70
Wątroba drobiowa	7,50	7,50	7,50	7,50
Bułka tarta	3,70	3,70	3,70	3,70
Gotowana marchew	1,87	1,87	1,87	1,87
Gotowana cebula	3,70	3,70	3,70	3,70
Sól	0,75	0,75	0,75	0,75
Pieprz	0,20	0,20	0,20	0,20
Gałka muszkatołowa	0,08	0,08	0,08	0,08

Przygotowanie pasztetów

Ugotowane surowce mięsne oraz warzywa wstępnie rozdrobniono w wilku przez siatkę o średnicy oczek 4 mm. Przygotowane składniki, w odpowiednich proporcjach w zależności od wariantu (kontrolny T0 zawierający standardową ilość tłuszczu (22,5% słoniny), dwa z częściową substytucją tłuszczu T1 (14,95% słoniny i 7,45% żelu inuliny) i T2 (7,45% słoniny i 14,95% żelu inuliny) oraz T3 z całkowitą substytucją słoniny przez inulinę), kutowano w kutrze laboratoryjnym (R3 V.V., Robot Coupe, Francja) dodając je w następującej kolejności: słonina, mięso z indyka, warzywa, składniki płynne: bulion i żel inuliny (50°C), wątrobę i przyprawy. Otrzymanym farszem napełniano aluminiowe formy (300 ml) i pieczono w piekarniku (XF135, Unox S.p.A., Włochy) w temperaturze 180°C, do osiągnięcia temperatury wewnętrznej 72°C. Próbkę chłodzono w temperaturze pokojowej przez 1 h, a następnie przechowywano przez 24 h w lodówce (4°C), po tym czasie przeprowadzono ocenę.

Zakres badań obejmował następujące oznaczenia:

- a) ilość wycieku po obróbce termicznej (%), który obliczono na podstawie różnicy między masą farszu przed obróbką, a masą pasztetu po obróbce i 24-godzinnym przechowywaniu w lodówce (4°C), w stosunku do masy początkowej farszu,
- b) zawartość wody metodą suszarkową (zgodnie z normą ISO 1442: 1997),
- c) zawartość białka ogółem (metodą Kjeldahla, zgodnie normą PN-75/A-04018),
- d) zawartość tłuszczu całkowitego (metodą Soxhleta, zgodnie z normą ISO 1444: 2000),
- e) kaloryczność produktu (kcal) obliczono w odniesieniu do 100 g próby przyjmując, że 1 g tłuszczu dostarcza 9 kcal, 1 g białka – 4 kcal, zaś 1 g inuliny – 2 kcal [Dyrektywa Komisji 2008/100/WE],
- f) kwasowość czynną (pH) (zgodnie z normą ISO 2917:2001),
- g) stopień utleniania lipidów określono wskaźnikiem TBA-rs (substancje reagujące z kwasem TBA) stosując metodę Raharjo i in. [1992] wyrażonym w miligramach aldehydu malonowego (MDA) na kg pasztetu.

Analiza statystyczna

Pasztety produkowano trzykrotnie, każdorazowo zachowując uprzednio opisane warunki. Uzyskane wyniki poddano analizie statystycznej za pomocą analizy wariancji ANOVA ($p < 0,05$) i testu post hoc Tukey'a wykorzystując pakiet StatSoft Statistica.

Wyniki i dyskusja

Wyciek termiczny

Poziom wycieku termicznego zależy od wielu czynników m. in. od ilościowego i jakościowego składu surowcowego i parametrów obróbki termicznej [Álvarez i Barbut, 2013; Keenan i in., 2014; Ktari i in., 2014; Méndez-Zamora i in., 2015]. W niniejszych badaniach parametry obróbki były takie same dla wszystkich prób. Czynnikiem różnicującym była zawartość tłuszczu oraz dodatek inuliny, które w istotny sposób wpłynęły na badany parametr (Tab. 2). W literaturze brak jest jednoznacznych wyników dotyczących roli inuliny w kształtowaniu poziomu wycieków termicznych. Cegiełka i Tambor [2012] nie obserwowali wpływu dodatku inuliny do produktów mięsnych niskotłuszczowych na ten parametr. Inni autorzy [Keenan i in., 2014; Ktari i in., 2014; Méndez-Zamora i in., 2015] stwierdzili zwiększoną wydajność produktów zawierających inulinę. W tym badaniu zmniejszenie zawartości tłuszczu z 22,4% do 0% i zastąpienie go żelazem inuliny spowodowało statystycznie istotne ($p < 0,05$) zwiększenie ubytków termicznych. Uzyskane wyniki są zgodne z obserwacjami innych autorów, którzy stosowali inulinę w celu redukcji zawartości tłuszczu [Florowski i in., 2008; Florowski i Adamczak, 2010; Cegiełka i Tambor, 2012; Álvarez i Barbut, 2013]. Według Barbut

i Álvarez [2013] małe ubytki termiczne obserwowane w produktach wysokotłuszczowych są wynikiem wysokiej stabilizacji tłuszczu w farszach mięsnych, w których tłuszcz działa jak element dystansowy w sieci białka.

Skład chemiczny

Skład chemiczny i wartość energetyczną pasztetów przedstawiono w tabeli 2. Inulina jest najczęściej dodawana do żywności w postaci 20-25% roztworów wodnych. Z tego względu oraz z powodu jej zdolności wiązania wody, ogólna zawartość wody na ogół zwiększa się wraz ze wzrostem stężenia inuliny w produkcie [Flaczyk i in., 2009; Florkowski i in., 2010; Dragan i in., 2011; Cegiełka i Tambor 2012; Menegas i in., 2013; Keenan i in., 2014; Méndez-Zamora i in., 2015]. Niniejsze badania potwierdzają tą zależność.

Tabela 2. Skład chemiczny, wartość kaloryczna i kwasowość oraz stopień utlenienie lipidów pasztetów z mięsa indyka

Parametr	Wariant badawczy			
	T0	T1	T2	T3
Wyciek termiczny [%]	16,03±0,79 ^a	14,74±0,66 ^b	18,13±1,05 ^c	18,35±0,93 ^c
Zawartość wody [%]	52,93±0,78 ^a	56,36±0,09 ^b	58,30±0,07 ^c	61,11±0,93 ^d
Zawartość tłuszczów ogółem [%]	22,23±0,27 ^a	14,34±0,31 ^b	8,31±0,54 ^c	4,52±0,10 ^d
Białko ogółem [%]	19,00±0,36 ^a	18,40±0,23 ^a	17,61±0,69 ^a	17,17±0,76 ^a
Kaloryczność [kcal/100 g]	273,84±25,40 ^a	205,10±5,70 ^b	152,15±16,27 ^c	120,43±12,99 ^d
Kwasowość czynna [pH]	6,37±0,09 ^a	6,36±0,05 ^a	6,34±0,07 ^a	6,35±0,09 ^a
TBA-rs [mg MDA/kg]	0,038±0,01 ^a	0,104±0,03 ^b	0,113±0,03 ^b	0,112±0,02 ^b

Średnie ± odchylenie standardowe oznaczone w tym samym wierszu różnymi małymi literami różnią się istotnie (p<0,05) (n = 9)

Zgodnie z oczekiwaniami, próby w których zastąpiono całkowicie lub częściowo tłuszcz cechowały się mniejszą zawartością tłuszczu w porównaniu do próby kontrolnej. Substytucja 1/3 słoniny inuliną spowodowała obniżenie zawartości tłuszczu o 35,5%, podczas gdy w próbce, w której 100% słoniny zostało zastąpione, zawartość tłuszczu obniżyła się o 79,7% (w tym przypadku oznaczony tłuszcz był naturalnym składnikiem mięsa). Obniżenie zawartości tłuszczu wiąże się ze znacznym zmniejszeniem wartości energetycznej produktu – o 25% w próbce T1, 44% w próbce T2 oraz 56% w próbce T3. Odwrotną zależność pomiędzy zawartością tłuszczu i wody zaobserwowano także w innych produktach mięsnych z dodatkiem inuliny [Florowski i in., 2008; Flaczyk i in.,

2009; Dragan i in., 2011; Cegielka i Tambor 2012; Keenan i in., 2014; Ktari i in., 2014; Rodriguez-Furlan i in., 2014; Méndez-Zamora i in., 2015].

Najwyższą zawartość białka oznaczono w próbie kontrolnej (T0). Zastąpienie tłuszczu inuliną spowodowało nieznaczne, statystycznie nieistotne ($p < 0,05$), obniżenie zawartości tego składnika w próbach T1, T2 i T3. Podobne wyniki uzyskali Flaczyk i in. [2009], Dragan i in. [2011] oraz Menegas i in. [2013].

Wartość pH

Zmniejszenie zawartości tłuszczu i dodanie inuliny nie wpłynęły istotnie ($p < 0,05$) na kwasowość czynną pasztetów (Tab. 2). Jest to zgodne z wynikami badań otrzymanymi przez Menegas i in. [2013] i Keenan i in. [2014] w innych produktach mięsnych z dodatkiem inuliny. W przeciwieństwie do tego, Mendez-Zamora i in. [2015] stwierdzili, że dodanie inuliny i pektyny miało istotny wpływ ($p < 0,05$) od wartość pH frankfurterek. Autorzy przypisywali ten wynik m. in. interakcjom elektrostatycznym pomiędzy polisacharydami i białkami w żywności.

Wskaźnik TBA-rs

Stabilność utleniającą pasztetów z mięsa indyka z dodatkiem inuliny mierzono na podstawie indeksu TBA-rs, który często stosowany jest jako wskaźnik utleniania lipidów. Produkty mięsne poddane obróbce cieplnej wykazują zwykle podwyższony poziom TBA-rs. Wynika to z faktu, że wysoka temperatura (powyżej 70°C) jest silnym promotorem utleniania lipidów [Jayawardana i in., 2011]. W tych badaniach stwierdzono jedynie niewielkie wartości TBA-rs we wszystkich wariantach (Tab. 2). Wskaźnik TBA-rs wynosił od 0,025 mg MDA/kg produktu w próbie T0 kontrolnej do 0,103 mg MDA/kg w próbie T3 (z całkowitą substytucją tłuszczu inuliną). Niektórzy autorzy uważają, że pasztety zawierające więcej tłuszczu cechują się wyższym poziomem produktów jego utleniania [Lorenzo i in., 2014], ale te badania nie potwierdzają tej tezy. Wartość TBA-rs w próbie T0 była znacząco niższa ($p < 0,05$) niż w próbach z dodatkiem inuliny. Próby te jednak nie różniły się istotnie między sobą. Pomimo, że maksymalna dopuszczalna zawartość aldehydu malonowego nie została przekroczona (1 mg MDA/kg produktu), badania nad wpływem inuliny na procesy utlenianie tłuszczów w pasztecce wymagają kontynuacji.

Podsumowanie

Analiza składu chemicznego pasztetów z mięsa drobnego z podudzia indyczego z dodatkiem żelu inuliny jako zamiennika tłuszczu wykazała korzystniejsze cechy żywieniowe tego produktu w porównaniu z próbą kontrolną. Pasztesy z inuliną charakteryzowały się obniżoną zawartością tłuszczu zwierzęcego od 35% (próba,

w której 1/3 słoniny zastąpiono żelem inuliny) do 80% (próba, w której całkowicie wyeliminowano słoninę na rzecz żelu inuliny), co wiązało się także ze znacznym spadkiem wartości energetycznej produktu (odpowiednio o 25% i 56%). Pasztety wyprodukowane z niskotłuszczowego mięsa indyczego, z dodatkiem bogatej w składniki odżywcze wątroby oraz wyeliminowanie tłuszczu zwierzęcego na rzecz inuliny, która w tym przypadku może stanowić nie tylko czynnik teksturotwórczy, ale także składnik prozdrowotny posiadający cechy prebiotyczne, mogą spowodować, że produkt ten będzie można zaliczyć grupy żywności funkcjonalnej.

Literatura

1. Álvarez D., Barbut S. Effect of inulin, β -glucan and their mixtures on emulsion stability, color and textural parameters of cooked meat batters. *Meat Science*, 2013, 94 (3), 320-327.
2. Barclay T., Ginic-Markovic M., Cooper P., Petrovsky N. Inulin - A versatile polysaccharide with multiple pharmaceutical and food chemical uses. *Journal of Excipients and Food Chemistry*, 2010, 1 (3), 27-50.
3. Beriain M.J., Gómez I., Petri E., Insausti K., Sarriés M.V. The effects of olive oil emulsified alginate on the physico-chemical, sensory, microbial, and fatty acid profiles of low-salt, inulin-enriched sausages. *Meat Science*, 2011, 88 (1), 189-197.
4. Cegiełka A., Tambor K. Effect of inulin on the physical, chemical and sensory attributes of Polish chicken burgers. *Journal of Food Research*, 2012, 1 (1), 169-178.
5. Cegiełka A., Nadrowska I. Wpływ dodatku inuliny na jakość technologiczną i sensoryczną burgerów z mięsa indyczego oddzielonego mechanicznie. *Zeszyty Problemowe Postępów Nauk Rolniczych*, 2013, 573, 75-83
6. Closa-Monasterolo R., Gispert-Llaurado M., Luque V., Ferre N., Rubio-Torrents C., Zaragoza-Jordana M., Escribano J. Safety and efficacy of inulin and oligofructose supplementation in infant formula: Results from a randomized clinical trial. *Clinical Nutrition*, 2013, 32 (6), 918-927.
7. Dragan V., Ilija V., Snezana S. Some quality parameters of functional, fermented, cooked and liver sausages. *Tehnologija mesa*, 2011, 52 (1), 141-153 .
8. EFSA, Panel on Dietetic Products, Nutrition, and Allergies (NDA). Scientific Opinion on Dietary Reference Values for carbohydrates and dietary fibre. *EFSA Journal*, 2010, 8(3), 1462.
9. Flaczyk E., Górecka D., Kobus J., Szyrander-Buszka K. The influence of inulin addition as fat substitute on reducing energy value and consumer acceptance of model pork meatballs. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2009, 16 (4), 41-46.
10. Florowski T., Adamczak L. Influence of fat replacement with inulin on selected quality traits of model canned meat products. *Zeszyty Problemowe Postępów Nauk Rolniczych*, 2010, 553, 91-98.
11. Florowski T., Adamczak L., Fuertez-Hernández I., Moreno-Franco M.B., Tyburcy A. Effect of fat replacement by inulin on quality of baked poultry liver pâté. *Roczniki Instytutu Przemysłu Mięsnego i Tłuszczowego*, 2008, 46 (2), 119-126.
12. Fuentes-Zaragoza E., Riquelme-Navarrete M.J., Sánchez-Zapata E., Pérez-Álvarez J.A. Resistant starch as functional ingredient: a review. *Food Research International*, 2010, 43, 931-942.
13. Glibowski P. Effect of thermal and mechanical factors on rheological properties of high performance inulin gels and spreads. *Journal of Food Engineering*, 2010, 99 (1), 106-113.
14. González-Tomás Bayarri S., Costell E. Inulin-enriched dairy desserts: physicochemical and sensory aspects. *Journal of Dairy Science*, 2009, 92, 4188-4199.
15. Jayawardana B.C., Hirano T., Han K.-H., Ishii H., Okada T., Shibayama S., Fukushima M., Sekikawa M., Shimada K.-I. Utilization of adzuki bean extract as a natural antioxidant in cured and uncured cooked pork sausages. *Meat Science*, 2011, 89, 150-153.
16. Juszczak L., Witczak T., Ziobro R., Korus J., Cieślik E., Witczak M. Effect of inulin on rheological and thermal properties of gluten-free dough. *Carbohydrate Polymers*, 2012, 90 (1), 353-360.

17. Keenan D.F., Resconi V.C., Kerry J.P., Hamill R.M. Modelling the influence of inulin as a fat substitute in comminuted meat products on their physico-chemical characteristics and eating quality using a mixture design approach. *Meat Science*, 2014, 96, 1384-1394.
18. Ktari N., Smaoui S., Trabelsi I., Nasri M., Salah R.B. Chemical composition, techno-functional and sensory properties and effects of three dietary fibers on the quality characteristics of Tunisian beef sausage. *Meat Science*, 2014, 96, 521-525.
19. Lomax A., Calder P.C. Prebiotics, immune function, infection and inflammation: a review of the evidence. *British Journal of Nutrition*, 2009, 101, 633-658.
20. Lorenzo J.M., Pateiro M., García Fontán M.C., Carballo J. Effect of fat content on physical, microbial, lipid and protein changes during chill storage of foal liver pâté. *Food Chemistry*, 2014, 155, 57-63.
21. Méndez-Zamora G., García-Macías J.A., Santellano-Estrada E., Chávez-Martínez A., Durán-Meléndez L.A., Silva-Vázquez R., Quintero-Ramos A. Fat reduction in the formulation of frankfurter sausages using inulin and pectin. *Food Science Technology Campinas*, 2015, 35 (1), 25-31.
22. Menegas L.Z., Pimentel T.C., Garcia S., Prudencio S.H. Dry-fermented chicken sausage produced with inulin and corn oil. Physicochemical, microbiological and textural characteristics and acceptability during storage. *Meat Science*, 2013, 93 (3), 501-506.
23. Meyer D., Stasse-Wolthuis M. Inulin and bone health. *Current Topics in Nutraceutical Research*, 2006, 4, 211-226.
24. Meyer D., Bayarri S., Tárrega A., Costell E. Inulin as a texture modifier in dairy products. *Food Hydrocolloids*, 2011, 25, 1881-1890.
25. Mittal S., Bajwa U. Effect of fat and sugar substitution on the quality characteristics of low calorie milk drinks. *Journal of Food Science and Technology*, 2012, 49 (6), 704-712.
26. Parnell J.A., Reimer R.A. Weight loss during oligofructose supplementation is associated with decreased ghrelin and increased peptide YY in overweight and obese adults. *American Journal of Clinical Nutrition*, 2009, 89, 1751-175
27. Raharjo S., Sofos J.N., Schmidt G.R. Improved speed, specificity, and limit of determination of an aqueous acid extraction thiobarbituric acid-C18 method for measuring lipid peroxidation in beef. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1992, 40 (11), 2182-2185.
28. Roberfroid M.B. Inulin-type fructans: functional food ingredients. *Journal of Nutrition*, 2007, 137 (11 Suppl.), 2493-2502.
29. Rodriguez-Furlán L.T., Pérez Padilla A., Campderrós M.E. Development of reduced fat minced meats using inulin and bovine plasma proteins as fat replacers. *Meat Science*, 2014, 96 (2A), 762-768.
30. Weiss J., Gibis M., Schuh V., Salminen H. Advances in ingredient and processing systems for meat and meat products. *Meat Science*, 2010, 86 (1), 196-213.

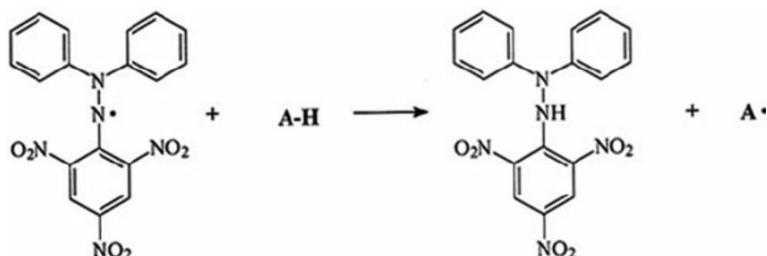
WPŁYW WYBRANYCH PEPARATÓW BIAŁKOWYCH NA WŁAŚCIWOŚCI SENSORYCZNE, TEKSTURĘ I STABILNOŚĆ OKSYDACYJNĄ PIECZYWA PSZENNEGO

Wprowadzenie

Obecnie wiedza konsumenta o zapotrzebowaniu organizmu na spożywanie produktów o jak najwyższej jakości jest coraz większa. Według Światowej Organizacji Zdrowia, zdrowe odżywianie może przyczynić się do utrzymania stanu zdrowia przez całe życie. Spożywanie roślin strączkowych jest ważnym elementem codziennej diety, ponieważ dostarczają one wiele składników odżywczych [Campos-Vega i in., 2010]. Największe znaczenie dla celów konsumpcyjnych ma pszenica [Masuda, 2016]. Mąka pszenna jest najczęściej wykorzystywana do wyrobu pieczywa. W chlebie białym znajduje się jedynie bielmo ziarna pszenicy, natomiast wyróżniamy także chleb z kiełków pszenicy oraz chleb pełnoziarnisty, wypiekany z mąki całościowej, lub taki, do którego dodawane są całe ziarna pszenicy, aby zwiększyć zawartość błonnika [Touré i in., 2010]. Ziarna pszenicy zawierają szereg związków fenolowych [Naczka i in., 2006], które są uważane za naturalne antyoksydanty i stanowią ważną grupę związków bioaktywnych w żywności [Duenas i in., 2005] Istnieje wiele metod określania całkowitej aktywności antyoksydacyjnej substancji. Jedną z nich jest spektrofotometryczne oznaczanie metodą DPPH [Brand-Williams i in., 1995] Antyoksydanty redukują stabilny rodnik azotowy 2,2-difenylo-1-pikrylohydrazyl (DPPH), co powoduje zmniejszenie absorpcji, która jest mierzona przy długości fali 517 nm (Rys. 1). Im większe jest zmniejszenie absorpcji, tym większa jest aktywność przeciwutleniająca w cząsteczce. Poniżej przedstawiono schemat redukcji rodnika DPPH przez antyoksydanty.

Pieczywo jest produktem nietrwałym i cechuje się krótkim okresem trwałości do spożycia. Zachodzące w nim procesy fizykochemiczne wpływają niekorzystnie na jakość sensoryczną oraz strukturę przestrzenną miękkiszu stosunkowo niedługo po wypieku [Black, 1993]. W 1998 roku został wyjaśniony mechanizm czerstwienia chleba. Polega on na tworzeniu się wiązań krzyżowych między napęczniałą skrobią i zdenaturowanym glutenem. Im bardziej napęczniałe są ziarna skrobi, tym większa

jest ilość wiązań i powierzchnia kontaktu. Zazwyczaj słabe wiązania wodorowe, szybko ulegają rozerwaniu w wysokiej temperaturze [Hoseney i in., 1998].



Rysunek 1. Reakcja redukcji rodnika DPPH przez antyutleniacz

W analizie przeprowadzonej przy użyciu mikroskopu elektronowego zauważono, że główny wpływ na proces czerstwienia chleba wykazują duże ziarna skrobiowe, które w pieczywie świeżym przylegają szczelnie do białka w siatce glutenu, natomiast podczas badania pieczywa kilkudniowego, takiej szczelności nie zauważono. Wówczas w wolnych przestrzeniach między warstwami skrobi występują warstwy powietrza [Pomeranz i in., 1984].

Dobrze wyrośnięty i pulchny chleb, o równomiernej porowatości miękiszu można otrzymać z mąki, która cechuje się liczbą glutenową w przedziale 40-60. Funkcją glutenu jest zlepianie ziarenek skrobiowych w chlebie, ma on jednak mniejsze znaczenie w procesie hamowania twardnienia miękiszu [Morgan i in., 1997].

Na poprawę jakości wypieku ma wpływ dodatek białka w ilości nieprzekraczającej 3% całkowitej zawartości mąki. Zwiększa on ilość wapnia w mące, przez co zwiększona zostaje wartość odżywcza pieczywa. Udoskonaleniu ulega również porowatość miękiszu, barwa skórki, smak oraz walory zapachowe [Erdogdu-Arnoczky i in., 1996; Mannie i in., 1999].

Materialy i metody

Produkty i odczynniki

Tabela 1. Produkty stosowane do wypieku pieczywa

Produkt	Ilość	Firma
drożdże	20 g	Fermico
sól	13 g	o'Sole
cukier	56 g	Diamant
olej	60 ml	Kujawski
woda	330 ml	
mąka pszenna	500 g	Basia
hydrolizat kazeiny	5 g (1%) lub 15 g (3%)	Pure Bulk

Tabela 2. Odczynniki stosowane do oznaczeń właściwości antyoksydacyjnych

Produkt	Firma	Czystość
1,1-difenylo-2-pikrylo- hydrazyl (DPPH)	Sigma – Aldrich	99,8%
alkohol etylowy 96%	Chempur	99,7%

Wypiek chleba

Wypiek chleba przeprowadzono według metody standardowej ICC MTK 131 (1980) z pewnymi modyfikacjami. Wypieczono chleb wzorcowy bez dodatku białkowego oraz z hydrolizatem kazeiny, który stanowił 1%, a także 3% całkowitej masy mąki stosowanej do wypieku. W parownicy równomiernie rozprowadzono 20 g drożdży z 56 g cukru, 82 g mąki i 50 ml wody o temperaturze 40°C. Uzyskany w ten sposób jednorodny roztwór pozostawiono na 15 minut. Kolejno naważono odpowiednie ilości pozostałych składników. Do foremki wyposażonej w mieszadła dodawano kolejno: pozostałą ilość ciepłej wody (280 ml), 13 g soli, 42 g cukru i 60 ml oleju. Jeżeli chleb wzbogacano hydrolizatem kazeiny, to dodatkowo dodano jego odpowiednią ilość (1% dodatku – 5 g, 3% dodatku – 15 g). Całość zasypano mąką, na powierzchnię której dodano wcześniej przygotowany roztwór drożdży. Parametry w urządzeniu pomocniczym do wypieku ustawione były na gramaturę 1000 g i średnie wypiekanie skórki. Wypiek chleba prowadzono w urządzeniu firmy Moulinex serii B11-A. Czas wypieku każdego z trzech chlebów, wynosił 2 godziny 57 minut. Każdy z otrzymanych bochenków pozostawiony był po wypieku do ostygnięcia. Pomiary wykonywano po 24 godzinach.

Aby wyniki były powtarzalne wszystkie trzy chleby były wypiekane w jednym urządzeniu. Każdy z nich następnie analizowano pod względem wielkości, tekstury, a także właściwości przeciwutleniających.

Analiza organoleptyczna

Ocena organoleptyczna jest to ocena jakości produktów spożywczych wykonana za pomocą zmysłów wzroku, węchu, dotyku i smaku.

Ocenię podlegają następujące cechy fizyczne: objętość pieczywa, porowatość miękiszu, masa właściwa miękiszu oraz zawartość skórki w pieczywie.

W niniejszym artykule przedstawiono wyniki analizy organoleptycznej przeprowadzonej przez 15 osób (studentów i pracowników Uniwersytetu Ekonomicznego we Wrocławiu). Badający oceniali dziewięć właściwości chleba wymienionych poniżej w tabeli 3., według pięciostopniowej skali. Każdej z nich przyporządkowany był odpowiedni współczynnik ważkości (w_k).

Tabela 3. Właściwości chleba poddane ocenie sensorycznej i ich współczynniki ważkości

Lp.	Wyróżnik jakości	Współczynnik ważkości (w_k)
1.	kształt i wygląd zewnętrzny	0,15
2.	barwa skórki	0,05
3.	grubość skórki	0,05
4.	pozostałe cechy skórki	0,10
5.	barwa i wygląd miękiszu	0,18
6.	porowatość miękiszu	0,12
7.	elastyczność miękiszu	0,10
8.	smak i zapach skórki	0,10
9.	smak i zapach miękiszu	0,15

Analiza tekstury

Analizę profilu tekstury (TPA) wypieczonego chleba prowadzono z użyciem teksturometru EZ-Test-SX firmy Shimadzu wyposażonego w sondę o średnicy 35 mm. Przeprowadzono analizę sześciu kromek każdego z chlebów, o grubości 1 cm każda. Bochenki zostały pocięte na równe jednocentymetrowe plastry przy użyciu krajalnicy firmy Zelmer typ 493.5. Przy pomiarze chleb został tak ułożony, aby sonda wchodziła w środek każdej kromki. Podstawowe parametry zostały przedstawione w tabeli 4.

Tabela 4. Podstawowe parametry testu TPA dotyczące tekstury miękiszu badanych chlebów.

Parametr testu	Jednostka	Wartość
Próg wyczuwalności próbki	[N]	0,1
Prędkość pierwszej kompresji próbki	[mm/min]	100
Stopień pierwszej kompresji próbki	[%]	40
Przestój głowicy między naciskami	[s]	5
Prędkość drugiej kompresji próbki	[mm/min]	100
Stopień drugiej kompresji próbki	[%]	40

Uzyskane dane zarejestrowano korzystając z oprogramowania do analizy tekstury Trapezium X Texture. Wykonano pomiar i analizę twardości i sprężystości każdego z wypieków.

Właściwości przeciwutleniające

Ocenę aktywności antyoksydacyjnej przeprowadzono metodą DPPH. W celu oznaczeń, 5 g próbki zmieszano z 50 ml 96% roztworu etanolu, następnie odwirowano za pomocą wirówki firmy Thermo Scientific, model Sorvall Legend X1R. Prędkość

wirowania to 4600 obr./min, czas wirowania 20 min od startu, temperatura wewnątrz komory wynosiła 20°C.

Do przeprowadzenia pomiarów zdolności wychwytywania wolnych rodników przygotowano roztwór DPPH (1,1-difenylo-2-pikrylo-hydrazyl) o stężeniu 0,03 mM o barwie ciemnofioletowej. W tym celu nważono 0,012 g DPPH wprowadzono ilościowo do kolby miarowej o pojemności 100 ml i dopełniono do końcowej objętości 96% roztworem etanolu.

Pomiary spektrofotometryczne przeprowadzono przy użyciu spektrofotometru UV-VIS firmy Shimadzu model UV-1800. Reakcja była monitorowana przez odczyt absorbancji przy 517 nm, co 2 minuty, w czasie 30 minut. Roztwór do uzyskania linii bazowej przygotowano poprzez dodanie do kuwety kwarcowej 2,25 ml 96% roztworu etanolu i 0,75 ml 0,03 mM etanolowego roztworu DPPH. Roztwór analizowany sporządzono poprzez dodanie do kuwety kwarcowej 0,75 ml odwirowanej wcześniej frakcji, 1,5 ml 96 % roztworu etanolu oraz 0,75 ml 0,03 mM etanolowego roztworu DPPH.

Aktywność antyoksydacyjną (AA) wyrażano jako procent redukcji DPPH i obliczano z równania:

$$AA [\%] = \frac{(Abs_{zero} - Abs_{próbka})}{Abs_{zero}} \cdot 100\%$$

gdzie:

AA – stopień inhibicji DPPH*,

Abs_{zero} – absorbancja próby zerowej,

Abs_{próbka} – absorbancja próby właściwej.

Oznaczenie wykonano w trzech powtórzeniach.

Wyniki i dyskusja

Wpływ dodatku hydrolizatu kazeiny na objętość, wygląd i teksturę chleba

Fotografie badanych chlebów przestawiono na rysunkach 2 i 3. Na zdjęciach widoczne są znaczące różnice między wypiekami. Zauważalne jest, że dodatek hydrolizatu białkowego spowodował zmniejszenie objętości właściwej chleba. Zmniejszenie wielkości bochenka jest ogólnie zgłaszanym działaniem spowodowanym przez dodatek elementów białkowych [Ktenioudaki, 2012]. Według ostatnich teorii, składniki błonnika rozcieńczają białka glutenu i współdziałają z jego matrycą, jak np. monomery kwasu ferulowego, które są powiązane przez łańcuchy arabinoksylianowe i odgrywają ważną rolę w interakcji włókien glutenu. Mąka pszenna zawiera pewną ilość arabinoksylianów i te interakcje mogą mieć duży wpływ na wzrost ciasta [Noort i in., 2010].



Rysunek 2. Zestawienie trzech wypieczonych chlebów, kolejno: chleb bez dodatku, z 1% dodatku i z 3% dodatku hydrolizatu kazeiny



Rysunek 3. Porównanie miękkiszu trzech chlebów, kolejno: bez dodatku, z 1% dodatku i z 3% dodatku hydrolizatu kazeiny

W celu oceny organoleptycznej wypieczonego chleba przeprowadzono badania ankietowe. Piętnaście osób biorących w nich udział analizowało pieczywo w skali pięciopunktowej. Ocenę jakościową produktu liczone według wzoru:

$$Q = \sum_{k=1}^n (a_k \cdot w_k)$$

gdzie:

a_k - ilość punktów przyznanych przez oceniającego k-tej cesze,

w_k - współczynnik ważkości k-tej cechy,

n – ilość wyróżników jakościowych.

Wyniki ankiet przedstawiono w tabelach 5 do 7: chleb bez dodatku kazeiny (Tab. 5), chleb z 1% dodatkiem kazeiny (Tab. 6), a chleb z 3% dodatkiem kazeiny (Tab. 7).

Tabela 5. Ocena organoleptyczna chleba bez dodatku hydrolizatu kazeiny

Numer cechy i jej nazwa	Ilość punktów (a_k)	Współczynnik ważkości (w_k)	$a_k \cdot w_k$
1. Kształt i wygląd zewnętrzny	62	0,15	9,30
2. Barwa skórki	47	0,05	2,35
3. Grubość skórki	56	0,05	2,80
4. Pozostałe cechy skórki	62	0,10	6,20
5. Barwa i wygląd miękkiszu	65	0,18	11,70
6. Porowatość miękkiszu	51	0,12	6,12
7. Elastyczność miękkiszu	61	0,10	6,10
8. Smak i zapach skórki	60	0,10	6,00
9. Smak i zapach miękkiszu	68	0,15	10,20
SUMA			60,77

Tabela 6. Ocena organoleptyczna chleba z 1% dodatkiem hydrolizatu kazeiny

Numer cechy i jej nazwa	Ilość punktów (a_k)	Współczynnik ważkości (w_k)	$a_k \cdot w_k$
1. Kształt i wygląd zewnętrzny	66	0,15	9,90
2. Barwa skórki	66	0,05	3,30
3. Grubość skórki	64	0,05	3,20
4. Pozostałe cechy skórki	69	0,10	6,90
5. Barwa i wygląd miękkiszu	66	0,18	11,88
6. Porowatość miękkiszu	64	0,12	7,68
7. Elastyczność miękkiszu	66	0,10	6,60
8. Smak i zapach skórki	61	0,10	6,10
9. Smak i zapach miękkiszu	64	0,15	9,60
SUMA			65,16

Tabela 7. Ocena organoleptyczna chleba z 3% dodatkiem hydrolizatu kazeiny

Numer cechy i jej nazwa	Ilość punktów (a_k)	Współczynnik ważkości (w_k)	$a_k \cdot w_k$
1. Kształt i wygląd zewnętrzny	56	0,15	8,40
2. Barwa skórki	29	0,05	1,45
3. Grubość skórki	55	0,05	2,75
4. Pozostałe cechy skórki	60	0,10	6,00
5. Barwa i wygląd miękkiszu	51	0,18	9,18
6. Porowatość miękkiszu	45	0,12	5,40
7. Elastyczność miękkiszu	58	0,10	5,80
8. Smak i zapach skórki	58	0,10	5,80
9. Smak i zapach miękkiszu	39	0,15	5,85
SUMA			50,63

Według powyższych wyników najlepsze oceny ze względu na kształt i wygląd zewnętrzny pieczywa uzyskał chleb wypieczony z 1% dodatkiem hydrolizatu kazeiny, porównywalne oceny według oceniających przyznano chlebowi wzorcowemu, natomiast wyniki oceny chleba zawierającego 3% dodatku odbiegały od pozostałych i były dużo niższe. Podobnie było w przypadku analizy barwy skórki, wyglądu i barwy miękkiszu, elastyczności miękkiszu oraz smaku i zapachu skórki. Grubość skórki została najlepiej oceniona w pieczywie z 1% dodatkiem hydrolizatu kazeiny, natomiast wyniki porównywalnie niższe wykazała ocena pieczywa bez, oraz z 3% dodatkiem. Pozostałe cechy skórki w ocenie konsumentów uplasowały się na podobnych poziomach punktowych dla wszystkich chlebów. Najlepszą porowatość miękkiszu według ankietowanych wykazywał chleb z 1% dodatkiem, nieco gorszą chleb bez dodatku, a najgorszą 3% dodatkiem kazeiny. Od powyższych wyników odbiega nieco analiza smaku i zapachu miękkiszu, ponieważ najlepsze wyniki uzyskał chleb bez dodatku, tuż za nim uplasował się chleb z 1% dodatkiem, natomiast najniższe wyniki uzyskał chleb zawierający 3% hydrolizatu kazeiny.

W przeprowadzonych badaniach obliczono również średnią ocenę jakości badanych chlebów według wzoru:

$$Q_{sr} = \sum_{j=1}^n Q_j / n$$

gdzie:

n - ilość osób oceniających produkt,

Q_j - wartość liczbowa jakości produktu jednego z ankietowanych.

Średnia ocena obliczona dla pieczywa bez dodatku:

$$Q_{sr} = \frac{60,77}{15} = 4,05$$

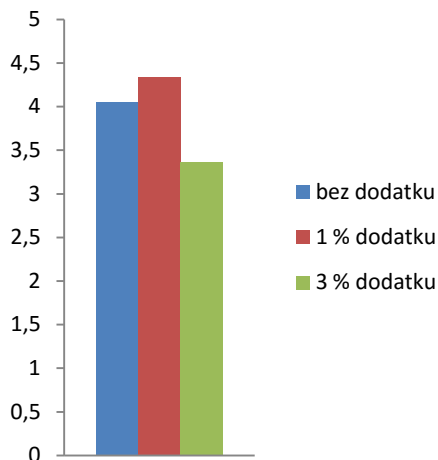
dla pieczywa z 1% dodatkiem hydrolizatu kazeiny:

$$Q_{sr} = \frac{65,17}{15} = 4,34$$

a także dla pieczywa z 3% dodatkiem hydrolizatu kazeiny:

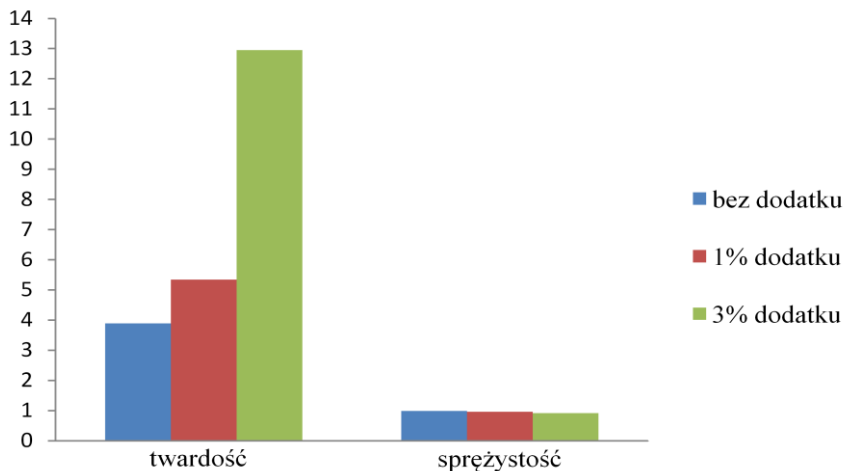
$$Q_{sr} = \frac{50,63}{15} = 3,36$$

Na rysunku 4, przedstawiono zestawienie średniej oceny jakości badanego pieczywa.



Rysunek 4. Średnia ocena jakości badanego pieczywa bez dodatku hydrolizatu kazeiny, z 1% dodatkiem hydrolizatu kazeiny i z 3% dodatkiem hydrolizatu kazeiny

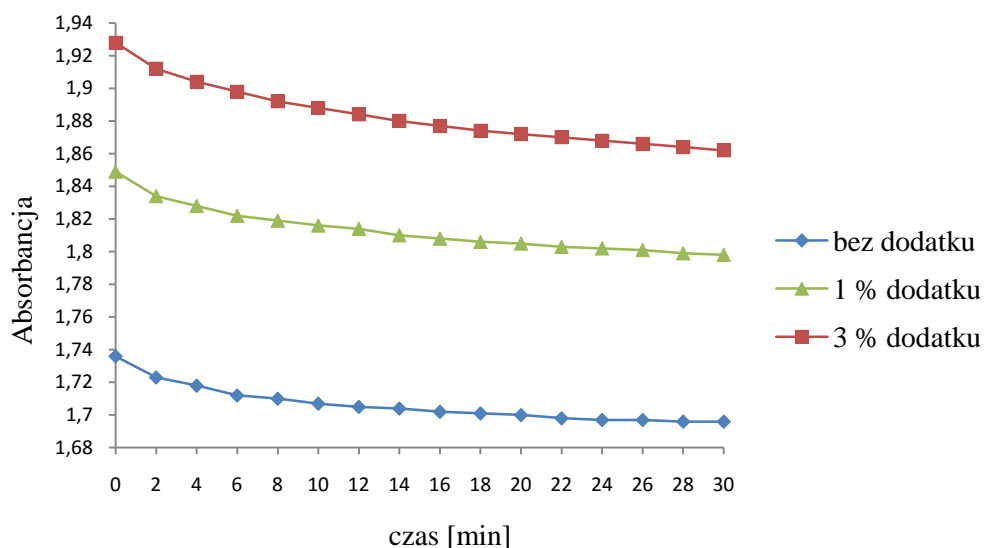
Aby sprawdzić jak dodatek białkowy wpływa na teksturę mięksizu przeprowadzono test TPA. Wyniki pomiaru tekstury przedstawione na rysunku 5 wskazują wyraźny wpływ dodatku hydrolizatu białkowego na jakość mięksizu. Widoczny jest wzrost twardości mięksizu a także spadek jego sprężystości, w miarę zwiększania dodatku hydrolizatu kazeiny.



Rysunek 5. Wartości pomiaru tekstury oraz sprężystości odpowiednio dla chleba wzorcowego, z 1% dodatkiem hydrolizatu kazeiny oraz z 3% dodatkiem hydrolizatu kazeiny

Wpływ hydrolizatu kazeiny na właściwości antyoksydacyjne pieczywa

Stosowane dodatki białkowe są naturalnymi oksydantami poprawiającymi właściwości funkcjonalne żywności, bowiem hamują peroksydację lipidów [Lin i in., 2009]. Stosując do oznaczania antyutleniaczy metodę DPPH zauważono spadek absorbancji w próbkach przy długości fali 517 nm. Pomiar prowadzono przez 30 min, mierząc absorbancję co 2 minuty. Wraz z upływem czasu zauważono, że we wszystkich trzech próbkach absorbancja z biegiem czasu malała (Rys. 6). W badaniu roztworu z dodatkiem 3% hydrolizatu kazeiny spadek absorbancji był największy, co świadczy o największej zdolności wychwytywania wolnych rodników, w porównaniu do pozostałych dwóch prób. W próbce wzorcowej (bez dodatku hydrolizatu) po 26 minutach wartość absorbancji utrzymywała się na stałym poziomie. Oznacza to całkowitą redukcję rodnika DPPH przez antyutleniacz.



Rysunek 6. Zależność absorpcyjności od czasu dla trzech chlebów z różną ilością dodatku białkowego

Podsumowanie

Zawartość białka wywiera znaczący wpływ na wartość odżywczą chleba. Poza ilością ważnym elementem jest wartość biologiczna tego białka [Rizzello i in., 2014]. W celu zwiększenia wartości żywieniowej, do wypieku chleba pszennego stosowany był dodatek hydrolizatu białkowego - hydrolizatu kazeiny.

Wyniki badań organoleptycznych przeprowadzone przez piętnastu panelistów wykazały, że najlepszą oceną organoleptyczną wykazał się chleb z 1% dodatkiem hydrolizatu kazeiny. Tuż po nim uplasował się chleb bez dodatku. Najniższe oceny punktowe uzyskał chleb z 3% dodatkiem kazeiny.

Objętość chleba uważana jest za główną cechę w określaniu jakości pieczywa. Ze względu na tę cechę można stwierdzić, że zbyt duży dodatek białka (3%) obniża jego jakość, natomiast jego optymalna ilość poprawia właściwości organoleptyczne.

Dodatek 3% hydrolizatu kazeiny poprawia natomiast właściwości antyoksydacyjne. Im większy był procent tego dodatku, tym oznaczono większe obniżenie absorpcyjności, co wskazuje na większą aktywność przeciwutleniającą w próbce.

Literatura

1. Black R.G., Quail K.J., Reyes V., Kuzyk M., Ruddick L. Shelf-life extension of pita bread by modified atmosphere packing. Food Australia, 1993, 45 (8), 387-391.
2. Brand-Williams W., Cuvelier M., Berset C. Use of free radical method to evaluate the antioxidant activity. Lebensmittel Wissenschaft and Technologie-Food Science and Technology, 1995, 28, 25-30.

3. Campos-Vega R., Loarca-Piña G., Oomah B.D. Minor components of pulses and their potential impact on human health. *Food Research Interationl*, 2010, 43, 461-482.
4. Dhinda F., Lakshmi J.A., Prakash J., Dasappa I. Effect of ingredients on rheological, nutritional and quality characteristics of high protein, high fibre and low carbohy-drate bread. *Food and Bioprocess Technology*, 2011, 5, 2998-3006.
5. Duenas M., Fernandez D., Hernandez T., Estrella I. Bioactive phenolic compounds of cowpeas (*Vigna sinensis* L.). Modifications by fermentation with natural microflora and with *Lactobacillus plantarum* ATCC 14917. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2005, 85, 297-304.
6. Erdogdu-Arnoczky N., Czuchajowska Z., Pomeranz Y. Functionality of whey and casein in fermentation and in breadbaking by fixed and optimized procedures. *Cereal Chemistry*, 1996, 73 (3), 309-316.
7. Hosoney C., Miller R. Current understanding of staling of bread. *Technical Bulletin (American Institute of Baking Research Department)*, 1998, 20 (6), 1-6.
8. Ktenioudaki A., Gallagher E. Recent advances in the development of high-fibre baked products. *Trends in Food Science & Technology*, 2012, 28 (1), 4-14.
9. Lin L.Y., Liu H.M., Yu Y.W., Lin S.D., Mau J.L. Quality and antioxidant property of buckwheat enhanced wheat bread. *Food Chemistry*, 2009, 112, 987-991.
10. Mannie E., Asp E.H. Dairy ingredients for bread baking. *Cereal Foods World*, 1999, 44 (3), 143-146.
11. Masuda K., Kiyotaka M. Measuring eco-efficiency of wheat production in Japan: a combined application of life cycle assessment and data envelopment analysis. *Journal of Cleaner Production*, 2016, 126, 373-381.
12. Morgan K.R., Gerrard J., Every D., Ross M., Gilpin M. Staling in starch breads: the effect of antistaling alpha-amylase. *Starch/Stärke*, 1997, 49 (2), 54-59.
13. Naczki M., Shahidi F. Phenolics in cereals, fruits and vegetables: occurrence, extraction and analysis. *Journal of Pharmaceutical Biomedical Analysis*, 2006, 41, 1523-1542.
14. Noort M.W.J., Haaster D., Hemery Y., Schols H.A. The effect of particle size of wheat bran fractions on bread quality e evidence for fibreprotein interactions. *Journal of Cereal Science*, 2010, 52 (1), 59-64.
15. Pomeranz Y., Meyer D., Seibel W. Wheat, wheat-rye dough and bread studied by scanning electron microscopy. *Cereal Chemistry*, 1984, 61, 53-59.
16. Rizzello C.G., Di Cagno R., Silano M., Gobbetti M., Coda R., Curiel J.A., Nionelli L., Vincentini O. Use of fungal proteases and selected sourdough lactic acid bacteria for making wheat bread with an intermediate content of gluten. *Food Microbiology*, 2014, 37, 59-68.
17. Touré A., Xueming X. Flaxseed lignans: source, biosynthesis, metabolism, antioxidant activity, bioactive components, and health benefits. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 2010, 9, 261-269.

MICHAŁ ŚWIECA, BARBARA BARANIAK, URSZULA GAWLIK-DZIKI,
ANNA JAKUBCZYK, URSZULA ŻŁOTEK

*Katedra Biochemii i Chemii Żywności, Wydział Nauk o Żywności i Biotechnologii,
Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, autor do korespondencji Tel.: +48-81-4623327 fax.: +48-81-4623324
e-mail: michal.swieca@up.lublin.pl*

ŻYWE I MARTWE KULTURY *LACTOBACILLUS RHAMNOSUS* JAKO CZYNNIK MODYFIKUJĄCY POTENCJAŁ ODŻYWCZY I PROZDROWOTNY KIEŁKÓW SOCZEWICY

Wprowadzenie

Kiełki soczewicy są źródłem związków biologicznie aktywnych, takich jak polifenole, fitosterole, saponiny, oligosacharydy oraz inhibitory hydrolaz, które wykazują działanie chemoprewencyjne, immunomodulacyjne, przeciwbakteryjne, w dużej mierze wynikające z ich wysokiego potencjału przeciwutleniającego [Vidal-Valverde i in., 2002]. Zawierają one także wysokowartościowe białko oraz skrobię, przy czym charakteryzuje je niski indeks glikemiczny oraz duża zawartość błonnika [Mudryj i in., 2014]. W związku z powyższym, żywność ta dobrze wpisuje się w trend tzw. żywności funkcjonalnej, która prócz zaspokajania podstawowych potrzeb energetycznych organizmu może modyfikować oraz regulować procesy metaboliczne i fizjologiczne, co w zamierzeniu prowadzi do obniżania ryzyka wystąpienia w organizmie stanów patologicznych. Dodatkowo, z uwagi na unikalny skład i bioaktywność, kiełki soczewicy mogą wspomagać leczenie i/lub prewencję chronicznych chorób niezakaźnych.

Kiełkowanie nasion stanowi jedną z tanich i wydajnych technologii, która pozwala na otrzymanie żywności niskoprzetworzonej o pożądanym właściwościach [Vidal-Valverde i in., 2002]. W przypadku soczewicy kiełkowanie prowadzi do zwiększenia biodostępności składników odżywczych i mineralnych, jednak często wiąże się ze znacznym obniżeniem zawartości związków polifenolowych, w dużej mierze odpowiadających za ich działanie antyoksydacyjne, przeciwzapalne i przeciwnowotworowe [Świeca i in., 2012; Świeca i in., 2014]. Poziom i aktywność składników bioaktywnych oraz właściwości odżywcze kiełków soczewicy można modyfikować na wszystkich etapach ich otrzymywania. Zabiegi te zwykle obejmują dobór odpowiednich nasion (odmiana), modyfikację warunków ich otrzymywania oraz późniejszego przechowywania. Jedną z technologii, która efektywnie modyfikuje biodostępność składników odżywczych oraz właściwości nutraceutyczne kiełków, stanowi elicytacja [Radman i in., 2003; Świeca, 2016]. Jest to proces bazujący na indukcji metabolizmu wzrastającej rośliny z wykorzystaniem czynników abiotycznych

oraz biotycznych, który uaktywnia mechanizmy obrony systemicznej (nabytej (SAR) oraz indukowanej (ISR)). Stosowne elicytory można podzielić na trzy główne grupy:

- biotyczne - pochodzące ze źródeł biologicznych, głównie składniki ścian komórkowych bakterii, grzybów lub/ oraz wytwarzane przez nie enzymy i lipidy,
- substancje syntetyzowane konstytutywnie lub dodane endogennie, pełniące rolę mediatorów,
- czynniki abiotyczne – fizykochemiczne jak: promieniowanie, temperatura itp. [Matkowski, 2008].

Jednym ze szlaków metabolicznych, który ulega indukcji w warunkach stresu [elicytacji] jest szlak fenylopropanoidowy, którego metabolity biorące udział w generowaniu reakcji obronnej (fenole, fitoaleksyny, ligniny) równocześnie zwiększają odporność roślin oraz jej potencjał nutraceutyczny. Szlak fenylopropanoidowy obejmuje ciąg reakcji, wśród których do kluczowych należą katalizowane przez amoniakoliazę fenyloalaninową oraz tyrozynową, prowadzące do syntezy odpowiednio kwasu *trans*-cynamonowego i *p*-kumarowego. Kwasy polifenolowe, powstające w pierwszych reakcjach tego szlaku, mogą zostać w dalszych etapach przekształcone do chalkonu naringeniny, stanowiącego metabolit wyjściowy dla flawonoidów, które charakteryzuje wysoki potencjał nutraceutyczny [Shetty, 2004].

W opracowaniu dokonano oceny możliwości modyfikacji składu i bioaktywności kiełków soczewicy jadalnej poprzez indukcję ich metabolizmu z zastosowaniem żywych i martwych kultur *Lactobacillus rhamnosus*. Analizy obejmowały ocenę zmian we frakcji polifenolowej, zmiany potencjału antyoksydacyjnego oraz zawartości i strawności białka oraz skrobi.

Materiały i metody

Material

Do badań wykorzystano nasiona soczewicy jadalnej (*Lens culinaris*) odmiany Tina, pozyskane z Przedsiębiorstwa Nasiennictwa, Ogrodnictwa i Szkółkarstwa w Ożarowie Mazowieckim.

Warunki kiełkowania

Suche nasiona soczewicy poddano sterylizacji 1% roztworem podchlorynu sodu, w celu usunięcia powierzchniowych zanieczyszczeń. Sterylizację prowadzono w temperaturze 25°C przez 10 minut. Nadmiar podchlorynu sodu usunięto poprzez 10-krotne przepłukiwanie wodą destylowaną. Nasiona namaczano przez 6 godzin, w temperaturze 25°C, w wodzie redestylowanej. Około 150 nasion przeniesiono na płytki Petriego (φ 125 mm) wyłożone 3 warstwami bibuły filtracyjnej. Proces kiełkowania prowadzono w komorze badań cieplnych w temperaturze 25°C, w ciemności przy

względnej wilgotności 65%. Kielki podlewano każdego dnia 5 ml wody destylowanej. Próby zbierano w 2., 3., 4. i 6. dniu hodowli. W celu zahamowania przemian biochemicznych w kiełkujących nasionach pobrane próby zostały zamrożone w temperaturze -20°C [de Man i in., 1960]. Sterylną pożywkę (20 ml) inokulowano bezpośrednio poprzez dodanie 100 mg liofilizatu preparatu Dicoflor 60. Hodowle prowadzono w temperaturze 30°C wytrząsając kolby z szybkością 100 obr./ min. Hodowle pasażowano każdorazowo co 24 godziny.

W celu przygotowania czynników biotycznych hodowle w logarytmicznej fazie wzrostu odwirowywano przez 10 minut przy szybkości 6700 rcf. Pellet zawieszono w wodzie destylowanej i rozcieńczono do gęstości optycznej 1 oraz 0,1. W celu unieczynnienia bakterii rozcieńczone hodowle autoklawowano 30 minut w 123°C.

Kielki elicytowano według następującego schematu:

- K - kielki hodowane w warunkach kontrolnych
- LB0.1m - kielki indukowane martwymi kulturami *L. rhamnosus* o gęstości optycznej 0,1
- LB0.1ż - kielki indukowane żywymi kulturami *L. rhamnosus* o gęstości optycznej 0,1
- LB1m - kielki indukowane martwymi kulturami *L. rhamnosus* o gęstości optycznej 1
- LB1ż - kielki indukowane żywymi kulturami *L. rhamnosus* o gęstości optycznej 1.

Kielki z hodowli, stanowiące materiał badawczy, przygotowano do dalszych analiz wg procedury opisanej przez Griffith i in. [1998]. Zebrane kielki zamrożono w -20°C, po czym suszono w komorze badań cieplnych w temperaturze 50°C przez 24 godziny. Wyszuszone kielki zmielono w młynku laboratoryjnym i przesiano na sicie o kontrolowanej średnicy oczek (0,5 mm). Otrzymane mąki przechowywano w torbach polipropylenowych, w ciemności, w temperaturze 4°C.

Analiza zawartości związków polifenolowych i aktywności przeciwutleniającej

Ekstrakcja

Ekstrakcję związków fenolowych przeprowadzono wg metody opisanej przez Xu i Chang [2007]. Suchy preparat kiełków soczewicy o masie 200 mg ekstrahowano 4 ml 60 mM HCl w 70% acetonie, wytrząsając próby (240 obr./min) przez 2 godziny. Następnie próby odwirowano przez 10 minut przy szybkości 4000 obr./min w temperaturze 4°C. Ekstrakcję przeprowadzono trzykrotnie, zebrane frakcje połączono, uzupełniono do objętości 14 ml i przechowywano w temp. -20°C. Tak przygotowane ekstrakty przeznaczono do dalszych analiz.

Oznaczenie całkowitej zawartości związków fenolowych (TPC)

Zawartość całkowitą związków fenolowych określono wg metody opracowanej przez Singleton i in. [1965]. Stężenie tych związków odczytywano z krzywej wzorcowej,

sporządzonej dla kwasu galusowego i wyrażono w mg/g s.m., jako ekwiwalent kwasu galusowego (GAE). W metodzie wykazano zależność liniową w zakresie stężeń od 1-500 µg/ml ($r = 0,996$).

Analiza potencjału przeciwutleniającego

Oznaczenie siły redukcji (RP)

Siłę redukcji oznaczono wg metody opisanej przez Pulido i in. [2000], bazującej na zdolności badanych substancji do redukcji Fe^{3+} do Fe^{2+} . Siłę redukcji poszczególnych preparatów wyrażono w µg/g s.m., jako ekwiwalent kwercetyny (QE).

Oznaczenie zdolności do neutralizacji wolnych rodników (ABTS)

Zdolność do neutralizacji wolnych rodników określono jako zdolność do neutralizowania kationorodnika $ABTS^{\bullet+}$ wg metody opisanej przez Re i in. [1999].

Kationorodnik $ABTS^{\bullet+}$ otrzymano w wyniku utlenienia ABTS w reakcji z nadsiarczanem potasu. Wykazano liniową zależność neutralizacji kationorodnika $ABTS^{\bullet+}$ w stosunku do ilości ekstraktu użytego w oznaczeniu. Zależność ta pozwoliła na wyznaczenie wartości IC_{50} , która określa stężenie preparatu potrzebne do neutralizacji 50% rodników.

Analiza składników odżywczych

Analiza białek rozpuszczalnych

Przygotowanie ekstraktów

Białka soczewicy ekstrahowano przy użyciu 0,5 M NaCl w 50 mM buforze TRIS-HCl o pH=7,0. Suchy preparat kielków soczewicy o masie 500 mg ekstrahowano 2,5 ml buforu wytrząsając próby (240 obr./min) przez 2 godziny w temperaturze 4°C. Po tym czasie próby odwirowano z szybkością 4000 obr./min przez 10 minut. Ekstrakcję przeprowadzano trzykrotnie, zebrane frakcje połączono i przechowywano w temp. -20°C.

Oznaczenie poziomu białka

Ilościowe oznaczanie zawartości białka wykonano wg metody opracowanej przez Lowry i in. [1951]. Zawartość tego składnika odczytywano z krzywej wzorcowej sporządzonej dla albuminy wołowej i wyrażono w mg/g s.m. W metodzie wykazano zależność liniową w zakresie stężeń od 1-1500 µg/ml ($r = 0,998$).

Określenie poziomu skrobi całkowitej (TS)

Poziom skrobi całkowitej określono wg metody opracowanej przez Goni i in. [1997], w modyfikacji dotyczącej metody pomiaru zawartości cukrów. Oznaczenie zawartości skrobi całkowitej przeprowadzono po dyspersji granul skrobi w 2 M roztworze KOH.

Preparat kiełków o masie 100 mg wytrząsano (200 obr./min) przez 30 minut w temperaturze pokojowej z 4 ml 2 M KOH. Hydrolizę rozpuszczonej skrobi przeprowadzono przy użyciu amyloglukozydazy grzybowej (Sigma Aldrich, St. Louis). Próby (0,1ml) zmieszano z 0,1 ml 2 M roztworu HCl, po czym dodano 0,8 ml roztworu glukoamylazy o aktywności 60 U/ml, przygotowanego w 0,2 M buforze octanowym o pH= 5,0. Hydrolizę prowadzono w temperaturze 60°C przez 60 minut. Ilość uwolnionej glukozy oznaczono w reakcji z kwasem dinitrosalicylowym (DNS), wg metody opisanej przez Miller [1959]. Do mieszaniny reakcyjnej dodano 1ml DNSu. Próby gotowano przez 10 minut i następnie rozcieńczono 10 ml wody destylowanej. Zmierzono absorbancję przy długości fali 540 nm. Ilość uwolnionej glukozy odczytano z krzywej wzorcowej. W metodzie wykazano zależność liniową w zakresie stężeń od 1-2500 µg/ml ($r = 0,982$).

Zawartość skrobi całkowitej została obliczona ze wzoru:

$$TS = (C_s - C_f) \times 0,9$$

gdzie:

TS - zawartość skrobi całkowitej,

C_s - ilość glukozy uwolnionej ze skrobi,

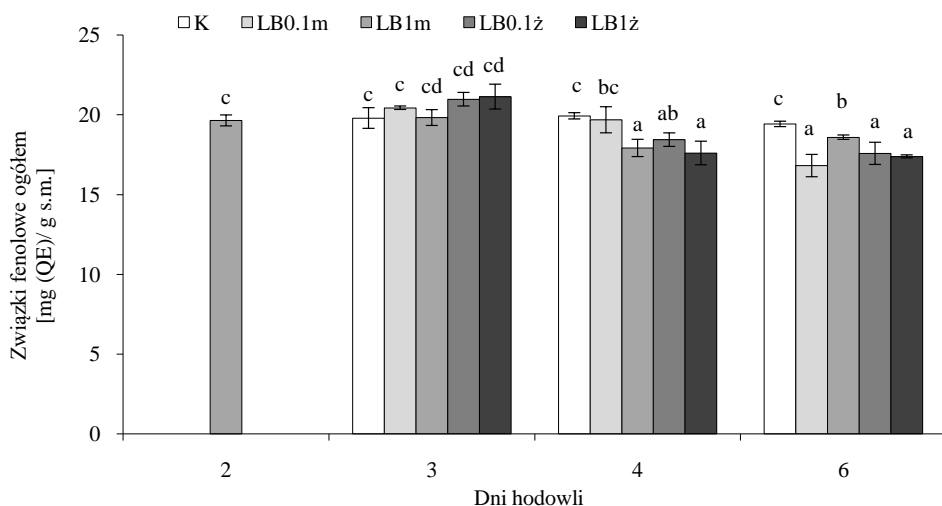
C_f - ilość wolnych cukrów redukujących w próbce.

Analiza statystyczna

Wszystkie dane dotyczące badanych parametrów zostały poddane analizie statystycznej, z wykorzystaniem procedury analizy wariancji. Istotność różnic pomiędzy wartościami średnimi weryfikowano, stosując test Tukey'a dla $P \leq 0,05$ ($n = 9$).

Wyniki i dyskusja

Indukcja metabolizmu przy użyciu martwych oraz żywych kultur organizmów probiotycznych nie spowodowała statystycznie istotnych zmian ilościowych w zawartości związków fenolowych w 3-dniowych kiełkach. Należy również podkreślić, że modyfikacja procesu kiełkowania przy użyciu kultur *L. rhamnosus* spowodowała obniżenie zawartości polifenoli w 4- i 6-dniowych kiełkach (Rys. 1). Najniższą zawartością polifenoli charakteryzowały się kiełki indukowane żywymi kulturami (OD= 1) bakterii – w odniesieniu do odpowiednich kontroli spadek wynosił około 11%.



Rysunek 1. Zmiany zawartości związków fenolowych ogółem w kiełkach indukowanych zawiesinami bakterii probiotycznych. Średnie oznaczone takimi samymi literami nie różnią się istotnie przy $\alpha = 0,05$

Zastosowanie żywych oraz martwych bakterii *L. rhamnosus* w hodowli kiełków soczewicy istotnie zmodyfikowało ich potencjał przeciwutleniający (Tab. 1). W przypadku kiełków kontrolnych ich zdolności redukcyjne ulegały obniżeniu w kolejnych dniach hodowli. Zastosowanie bakterii probiotycznych pozwoliło na istotne zwiększenie analizowanej aktywności w przypadku kiełków 3-dniowych, przy czym najlepsze wyniki uzyskano po aplikacji zawiesiny martwych bakterii (OD = 0,1).

Tabela 1. Zmiany zawartości potencjału przeciwutleniającego kiełków indukowanych zawiesinami bakterii probiotycznych

		Wariant hodowli					
		Dzień	K	LB0.1m	LB1m	LB0.1ż	LB1ż
Potencjał redukcyjny [mg (QE)/g s.m.]	2	5,52±0,1 ^e	5,52±0,1 ^e	5,52±0,1 ^e	5,52±0,1 ^e	5,52±0,1 ^e	
	3	5,55±0,1 ^e	6,02±0,1 ^f	5,84±0,1 ^f	5,96±0,1 ^{fg}	5,93±0,0 ^{fg}	
	4	4,90±0,2 ^d	4,76±0,2 ^{cd}	4,39±0,2 ^{bc}	4,27±0,1 ^{bc}	4,15±0,1 ^b	
	6	4,32±0,04 ^b	3,77±0,1 ^a	4,21±0,1 ^b	4,32±0,1 ^{cb}	4,45±0,1 ^c	
Potencjał przeciwrodnikowy IC 50 [mg s.m./ml]	2	13,56±0,3 ^b	13,56±0,3 ^b	13,56±0,2 ^b	13,56±0,2 ^b	13,56±0,2 ^b	
	3	13,38±0,1 ^b	12,70±0,4 ^{ab}	12,67±0,2 ^a	12,76±0,7 ^{ab}	13,06±0,3 ^a	
	4	18,08±0,4 ^c	18,15±1,1 ^{cd}	20,09±0,0 ^d	19,07±0,8 ^{cd}	21,1±0,3 ^e	
	6	21,43±0,6 ^{ef}	22,63±0,1 ^f	21,22±1,1 ^{ef}	21,15±0,7 ^e	21,39±0,3 ^e	

Średnie oznaczone takimi samymi literami w obrębie danej cechy nie różnią się istotnie przy $\alpha = 0,05$

Podobnie jak w przypadku zawartości polifenoli w dalszych dniach hodowli, zarówno dodatek martwych jak i żywych (ko-kultura) probiotyków powodował obniżenie potencjału redukcyjnego. Z drugiej strony indukcyjny wpływ bakterii *L. rhamnosus* na zdolność do neutralizacji wolnych rodników był najlepiej widoczny w przypadku 3-dniowych kiełków. W przypadku kiełków kontrolnych w kolejnych dniach hodowli zaobserwowano istotny spadek zawartości skrobi całkowitej. Co ciekawe, w kiełkach indukowanych w 4- oraz 6-dniu hodowli oznaczono istotny wzrost zawartości skrobi całkowitej. Wzrost ten był najwyższy w kiełkach otrzymanych w hodowli, do której wprowadzono żywe bakterie probiotyczne. W przypadku białka w kiełkach 3- i 6-dniowych zaobserwowano wzrost jego zawartości w porównaniu do kiełków 2-dniowych. Najniższym poziomem białka charakteryzowały się kiełki 4-dniowe indukowane żywymi kulturami *L. rhamnosus* (OD = 1).

Tabela. 2. Zmiany zawartości skrobi i białka w kiełkach indukowanych zawiesinami bakterii probiotycznych

		Dzień hodowli	Wariant hodowli				
			K	LB0,1m	LB1m	LB0,1ż	LB1ż
Zawartość skrobi [mg/g s.m.]	2	253±2,8 ^c	253±2,8 ^c	253±2,8 ^c	253±2,8 ^c	253±2,8 ^c	
	3	253±5,6 ^c	250±5,5 ^c	250±5,5 ^c	240±5,3 ^{bc}	250±5,5 ^c	
	4	247±5,4 ^{bc}	265±5,8 ^d	263±6,4 ^d	276±6,1 ^d	291±6,4 ^e	
	6	243±5,3 ^{bc}	223±4,9 ^a	221±4,9 ^a	254±5,6 ^{cd}	272±6,0 ^d	
Zawartość białka [mg/g s.m.]	2	273±0,5 ^c	273±0,5 ^c	273±0,5 ^c	273±0,5 ^c	273±0,5 ^c	
	3	289±11 ^{de}	294±1,2 ^e	294±1,2 ^e	288±18,7 ^{cde}	298±2,6 ^e	
	4	270±1,2 ^b	259±19,1 ^b	263±12,6 ^{bc}	267±7,7 ^b	230±6,1 ^a	
	6	301±8,1 ^{ef}	293±9,9 ^e	291±6,1 ^e	308±0,3 ^f	282±0,1 ^d	

Średnie oznaczone takimi samymi literami w obrębie danej cechy nie różnią się istotnie przy $\alpha = 0,05$

Oznaczona zawartość związków polifenolowych w hodowli kontrolnej była porównywalna z wynikami przedstawionym we wcześniejszych opracowaniach dotyczących kiełków soczewicy [Świeca i in., 2012; Świeca i in., 2013; Świeca i Baraniak, 2014]. Adaptacja roślin do warunków stresowych, które mogą być wywołane poprzez ko-hodowlę kiełków z probiotykiem, może być związana ze stymulacją szlaków metabolicznych, odpowiedzialnych za biosyntezę idiolitów, w tym związków polifenolowych. Efekt indukcyjny był widoczny tylko w przypadku kiełków 3-dniowych, przy czym zaobserwowany wzrost był istotnie niższy niż ten oznaczony przez Gawlik-Dziki i in. [2013] w przypadku kiełków brokuła oraz przez Duneas i in. [2015] w przypadku kiełków fasoli. Obniżenie zawartości polifenoli w kiełkach otrzymanych w hodowlach indukowanych probiotykiem mogło być związane z ich zwiększonym

wykorzystaniem do syntezy ścian komórkowych oraz innych elementów zwiększających szczelność komórek [Shetty, 2004]. Wzrost zawartości polifenoli przełożył się na istotne zwiększenie potencjału przeciwutleniającego i redukującego, co dobrze koresponduje z wcześniejszymi badaniami dotyczącymi kiełków roślin strączkowych [Świeca i in., 2012; Świeca i Baraniak, 2014; Dueñas i in., 2015]. Oznaczony poziom skrobi całkowitej oraz białka w analizowanych kiełkach był zbliżony do wartości oznaczonych we wcześniejszych badaniach [Świeca i in., 2013; Świeca i in., 2014]. Zmiany zawartości skrobi całkowitej w kiełkach otrzymanych w ko-hodowli z *L. rhamnosus* mogą być związane ze zmianami poziomu oraz aktywności czynników związanych z jej mobilizacją, a w szczególności ze zwiększoną zawartością skrobi odpornej [Cevallos-Casals i Cisneros-Zevallos, 2010].

Podsumowując, dodatek żywych i martwych bakterii *L. rhamnosus* istotnie modyfikował skład i potencjalną bioaktywność kiełków soczewicy. Wykazano, że wybrane cechy ulegają dynamicznym zmianom w czasie hodowli, a ich poziom jest uzależniony od rodzaju zastosowanego czynnika.

Projekt częściowo został sfinansowany ze środków Narodowego Centrum Nauki przyznanych na podstawie decyzji nr UMO-2015/17/B/NZ9/0179.

Literatura

1. Cevallos-Casals B.A., Cisneros-Zevallos L. Impact of germination on phenolic content and antioxidant activity of 13 edible seed species. *Food Chemistry*, 2010, 119 (4), 1485-1490.
2. de Man J., Rogosa M., Sharpe, M.A. Medium for the cultivation of Lactobacilli. *Journal of Applied Bacteriology*, 1960, 23, 130-135.
3. Dueñas M., Martínez-Villaluenga C., Limón R.I., Peñas E., Frias J. Effect of germination and elicitation on phenolic composition and bioactivity of kidney beans. *Food Research International*, 2015, 70, 55-63.
4. Gawlik-Dziki U., Świeca M., Dziki D., Sugier, D. Improvement of nutraceutical value of broccoli sprouts by natural elicitors. *Acta Scientiarum Polonorum, Hortorum Cultus*, 2013, 12 (1), 129-140.
5. Goñi I., Garcia-Alonso A., Saura-Calixto F. A starch hydrolysis procedure to estimate glycemic index. *Nutrition Research*, 1997, 17 (3), 427-437.
6. Lowry O., Rosebrough N., Farr A., Randall R. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *Journal of Biological Chemistry*, 1951, 1 (93), 265-275.
7. Matkowski, A. Plant in vitro culture for the production of antioxidants - A review. *Biotechnology Advances*, 2008, 26 (6), 548-560.
8. Miller, G.L. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Analytical Chemistry*, 1959, 31 (3), 426-428.
9. Mudryj A.N., Yu N., Aukema, H.M. Nutritional and health benefits of pulses. *Applied Physiology, Nutrition and Metabolism*, 2014, 1-8.
10. Pulido R., Bravo L., Saura-Calixto F. Antioxidant activity of dietary polyphenols as determined by a modified ferric reducing/antioxidant power assay. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2000, 48 (8), 3396-3402.
11. Radman R., Saez T., Bucke C., Keshavarz T. Elicitation of plants and microbial cell systems. *Biotechnology and Applied Biochemistry*, 2003, 37 (1), 91.

12. Re R., Pellegrini N., Proteggente A., 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.
13. Shetty K. Role of proline-linked pentose phosphate pathway in biosynthesis of plant phenolics for functional food and environmental applications: A review. *Process Biochemistry*, 2004, 39 (7), 789-784.
14. Singleton V., Rossi J. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 1965, 16, 144-158.
15. Świeca M., Sęczyk L., Gawlik-Dziki U. Elicitation and precursor feeding as tools for the improvement of the phenolic content and antioxidant activity of lentil sprouts. *Food Chemistry*, 2014, 161, 288-295.
16. Świeca, M. Potentially bioaccessible phenolics, antioxidant activity and nutritional quality of young buckwheat sprouts affected by elicitation and elicitation supported by phenylpropanoid pathway precursor feeding. *Food Chemistry*, 2016, 192, 625-632.
17. Świeca M., Baraniak B. Nutritional and antioxidant potential of lentil sprouts affected by elicitation with temperature stress. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2014, 62 (14), 3306-3313.
18. Świeca M., Baraniak B., Gawlik-Dziki U. In vitro digestibility and starch content, predicted glycemic index and potential in vitro antidiabetic effect of lentil sprouts obtained by different germination techniques. *Food Chemistry*, 2013, 138 (2-3), 1414-1420.
19. Świeca M., Baraniak B., Gawlik-Dziki U. Effect of selected divalent cations on protein mobilization in lentil (*Lens Culinaris*) sprouts. *Journal of Elementology*, 2014, 19 (2), 577-586.
20. Świeca M., Gawlik-Dziki U., Jakubczyk A. Impact of density of breeding on the growth and some nutraceutical properties of ready-to-eat lentil (*Lens culinaris*) sprouts. *Acta Scientiarum Polonorum, Hortorum Cultus*, 2013, 12 (4), 19-29.
21. Świeca M., Gawlik-Dziki U., Kowalczyk D., Złotek U. Impact of germination time and type of illumination on the antioxidant compounds and antioxidant capacity of *Lens culinaris* sprouts. *Scientia Horticulturae*, 2012, 140, 87-95.
22. Vidal-Valverde C., Frias J., Sierra I., Blazquez I., Lambein F., Kuo Y.H. New functional legume foods by germination: Effect on the nutritive value of beans, lentils and peas. *European Food Research and Technology*, 2002, 215 (6), 472-477.
23. Xu B.J., Chang S.K.C. A comparative study on phenolic profiles and antioxidant activities of legumes as affected by extraction solvents. *Journal of Food Science*, 2007, 72 (2), 159-166.

WPŁYW DODATKU MALTODEKSTRYN NA WŁAŚCIWOŚCI FIZYKOCHEMICZNE I SENSORYCZNE CHRZANOWYCH SOSÓW MAJONEZOWYCH

Streszczenie

Celem badań było sprawdzenie, czy maltodekstrynę niskoscukorzoną można uznać za efektywny mimetyk tłuszczu w smakowych emulsjach tłuszczowych. Wprowadzenie hydrolizatu do emulsji majonezowej i częściowe zastąpienie nim tłuszczu pozwoliło uzyskać produkt, który zgodnie z PN-A-86950:1995 dotyczącą majonezów można zaliczyć do produktów niskotłuszczowych. Wszystkie otrzymane majonezy, zarówno standardowy, jak i niskoscukrzony, charakteryzowały się wysoką stabilnością od momentu ich wytworzenia, jak i podczas przechowywania. W analizie sensorycznej zarówno wysokotłuszczowy, jak i niskotłuszczowej majonezy chrzanowe zostały wysoko ocenione, czyli skład recepturowy produktu został odpowiednio dobrany.

Wprowadzenie

Hydrolizaty skrobiowe w przemyśle spożywczym odgrywają bardzo istotną rolę. Wśród nich powszechnie używane w wielu gałęziach przemysłu żywnościowego są maltodekstryny [Fortuna i Sobolewska, 2000]. Maltodekstryna powstaje w wyniku częściowej hydrolizy skrobi poprzez upłynnianie skrobi bakteryjną α -amylazą, rozkładającą wiązania α -1,4-glikozydowe w sposób przypadkowy, pomijając zaś wiązania α -1,6-glikozydowe [Kączkowski, 1974]. Termin maltodekstryny używany jest tylko do tych hydrolizatów, których wartość równoważnika glukozowego (DE) nie przekracza 20 [Anonim, 1991; Roller, 1996]. W zależności od wartości DE maltodekstryny mają różnorodny skład węglowodanowy, w miarę jego wzrostu wzrasta udział cząsteczek glukozy i oligosacharydów o mniejszej masie cząsteczkowej. Jednak hydroliza skrobi na krótsze łańcuchy, o przypadkowej długości powoduje, że produkty o tym samym równoważniku glukozowym mogą mieć inny skład cząsteczkowy [Kuntz, 1997]. Zmienność składu węglowodanowego maltodekstryn sprawia, że mają one różnorodne właściwości funkcjonalne. W przemyśle spożywczym pełnią funkcje emulgujące, wypełniające, stabilizujące, klejące, spulchniające, przedłużające świeżość [Kuntz, 1997; Fortuna i Sobolewska, 2000]. Niskoscukrzony maltodekstryny, ze względu na zdolność do tworzenia termoodwracalnych żeli o konsystencji bardzo zbliżonej do

tłuszczów, z powodzeniem mogą być stosowane jako niskokaloryczne zamienniki tłuszczowe [Roller, 1996; Gibiński i Korus, 2006].

Jednym z powszechnie stosowanych w żywności produktem o wysokiej zawartości tłuszczu jest majonez. Zgodnie z Polską Normą [1995] jest wyrobem otrzymanym przez emulgowanie oleju roślinnego w fazie wodnej, w obecności żółtka jaja kurzego, a jego charakterystyczny smak uzyskiwany jest dzięki zastosowaniu różnych dodatków smakowych, jak np. chrzanu w majonezie chrzanowym. Wg Mrozowskiej [2015] w Polsce sprzedaje się rocznie majonezów za 599,7 mln złotych. Aż w 93% gospodarstw domowych kupuje się majonez, co oznacza, że rynek ten w Polsce jest bardzo dojrzały. Wzrasta zainteresowanie sosami majonezowymi smakowymi [Mrozowska, 2016]. Szczególnie wzrasta popyt na te produkty w okresie świątecznym, jak i w okresie grillowym, kiedy to konsumenci poprzez ten dodatek urozmaicają swoje dania.

Wg Kudelki i Jachny [2009] obecnie na rynku trudno znaleźć produkty spożywcze bez odpowiednika niskoenergetycznego. Tak też jest w segmencie majonezów i sosów majonezowych. Biorąc pod uwagę fakt, że przeciętnie tradycyjny majonez w swoim składzie zawiera 70-80% tłuszczu, a jego wartość energetyczna wynosi ok. 2288 kJ/100 g [Bortnowska i Makiewicz, 2006], jego wysoka konsumpcja może stanowić zagrożenie dla naszego zdrowia. Nadmiar niektórych składników żywieniowych może stanowić często podłoże dla różnego rodzaju przewlekłych chorób niezakaźnych takich jak: otyłość, cukrzyca, miażdżyca, choroby serca, czy choroby nowotworowe [Żukiewicz-Sobczak i in., 2011]. Wyeliminowanie tłuszczu z żywności niesie za sobą problemy technologiczne, ponieważ właśnie ten składnik żywności jest nośnikiem związków smakowych, zapachowych i oddziałuje na pozytywne odczucie w jamie ustnej, kremistość, wygląd, smakowitość, teksturę i smarowność produktu [Górecka i Krygier, 2004; Gibiński i Korus, 2006; Zychnowska i in., 2015].

Cel pracy

Celem pracy było zbadanie wpływu dodatku maltodekstryn na właściwości fizykochemiczne i sensoryczne chrzanowych sosów majonezowych

Materiał badawczy

Materiałem badawczym były majonezy chrzanowe zróżnicowane pod względem zawartości tłuszczu, który zastępowano maltodekstryną. Wyprodukowano je na skalę laboratoryjną w Katedrze Analizy i Oceny Jakości WTŻ UR w Krakowie, przy zachowaniu odpowiednich warunków higienicznych.

Do produkcji materiału badawczego wykorzystano następujące surowce: olej rzepakowy „Kujawski” z pierwszego tłoczenia (ZT Kruszwica S.A.), żółtko ze świeżych

jaj L, jakości A (Ferma Niosek Prawda), ocet spirytusowy 10% (SPOŁEM Kielce), cukier biały (Krajowa Spółka Cukrowa S.A.), sól jodowana z Kopalni Soli „Wieliczka” (Kotányi), chrzan tarty (ZPOW POLONAISE Mastalercz), maltodekstryna niskoscukrzona (PPZ NOWAMYL S.A.), guma guar (REGIS), guma ksantanowa (REGIS).

Każdy rodzaj sosu stanowiącego materiał badawczy wykonywano oddzielnie, w plastikowym, pojemniku przy zastosowaniu miksera firmy Zelmer. Próbkę przechowywano w szklanych, zamykanych słoikach, w warunkach chłodniczych, w temperaturze 8°C. Oznaczenia wykonywano w przeciągu 3 dni od ich produkcji.

Tabela 1. Zawartość poszczególnych składników w badanych majonezach chrzanowych

Skład majonezu [g/100g]	Rodzaj majonezu chrzanowego			
	M	M1	M2	M3
Olej	63,83	45,83	35,19	24,55
Żółtko jaja	6,14	6,14	6,14	6,14
Musztarda	3,10	3,1	3,1	3,1
Ocet	1,21	1,21	1,21	1,21
Cukier	0,99	0,99	0,99	0,99
Sól	0,81	0,81	0,81	0,81
Woda	5,32	15,46	22,70	29,95
Maltodekstryna	-	7,45	10,84	14,24
Gumy*	-	0,41	0,41	0,41
Chrzan	18,6	18,6	18,6	18,6

*Mieszanka gumy guar i gumy ksantanowej w stosunku 2:1

M – majonez standardowy; M1 – majonez z najmniejszą ilością maltodekstryny;

M2 – majonez ze średnią ilością maltodekstryny; M3 – majonez z największą ilością maltodekstryny

Majonez standardowy wyprodukowano poprzez rozpuszczenie w wodzie kilku kropelek octu, soli, cukru, musztardy i żółtka oraz zmieszaniu w/w składników mikserem, przy najwyższych obrotach. Następnie przy wolnych obrotach miksera, dodawano porcjami olej, zwiększając sukcesywnie obroty oraz dodając kolejne porcje oleju i pozostałą część octu. Na końcu dodano chrzan i całość miksowano przez 2 minuty.

Emulsje niskotłuszczowe sporządzano analogicznie, a odpowiednią porcję maltodekstryny i gum wprowadzano w pierwszym etapie produkcji majonezu smakowego. Wszystkie emulsje były sporządzane kontrolując czas dodawania poszczególnych składników i zachowując te same prędkości obrotów miksera.

Metodyka badań

Otrzymane majonezy chrzanowe poddano analizie składu chemicznego oznaczając:

- zawartość wody i substancji lotnych [PN-A-86950:1995],

- zawartość popiołu całkowitego [PN-EN ISO 2171:2010]
- zawartość białka metodą Kjeldahla,
- zawartość tłuszczu metodą Soxhleta z wcześniejszą hydrolizą w 1M HCl.

Na podstawie uzyskanych wyników obliczono wartość energetyczną produktów, stosując współczynniki Atwatera [PN-A-79011-6:1998].

Ponadto oznaczono kwasowość aktywną i ogólną emulsji [PN-A-86950:1995], stabilność emulsji metodą wirówkową [Le Denmat i in., 2000] oraz przeprowadzono ocenę sensoryczną, zachowując odpowiednie wymagania zgodne z normami: PN-EN ISO 8589:2010; PN-ISO 8586-1:1996; PN-EN ISO 8586-2:2008. W analizie wziął udział odpowiednio przeszkolony 15 osobowy panel, o wysokiej wrażliwości sensorycznej. W celu określenia jakości sensorycznej wytworzonych sosów majonezowych zastosowano metodę profilowania sensorycznego. Doboru wyróżników smakowo-zapachowych dokonano na podstawie normy PN-ISO 6564:1999. Ustalono następujące deskryptory: barwa, konsystencja, gęstość, rozplýwalność w ustach, zapach chrzanowy, zapach obcy, smak chrzanowy, nuta tłuszczowa, ogólne wrażenie. Zakodowane próbki paneliści oceniali posługując się 5-cio punktową skalą Likerta. W celu określenia, w jakim stopniu maltodekstryna wpływa na odczucie nuty tłuszczowej, w analizowanych emulsjach majonezowych przeprowadzono analizę metodą parzystą [PN-EN ISO 5495:2007].

Analizę statystyczną wyników wykonano przy użyciu arkusza kalkulacyjnego Microsoft Excel 2007. Zastosowano jednoczynnikową analizę wariancji na poziomie istotności $\alpha = 0,05$.

Wyniki i dyskusja

Głównym składnikiem produktów spożywczych jest woda, która wpływa na ich jakość i trwałość. Zawartość tego składnika w badanych majonezach kształtowała się w granicach 22,16-48,10% (Tab. 2). Wynika to ze składu recepturowego otrzymanych emulsji. Zgodnie z Polską Normą [1995] odnośnie wymagań fizykochemicznych, zawartość wody i substancji lotnych w majonezach z dodatkami smakowymi mieści się w przedziale do 20% w produkcie wysokotłuszczowym, do nawet 60% w majonezie niskotłuszczowym. Uzyskany wynik w majonezie wysokotłuszczowym, bez dodatku maltodekstryny nieznacznie wykracza poza zakres normy. Może to być spowodowane dodatkiem smakowym. Użyty do produkcji chrzan tarty był produktem spożywczym zakupionym w sklepie, a nie surowcem roślinnym. Wg deklaracji producenta w składzie chrzanu znajduje się dodatkowo woda, a sam chrzan stanowi 62 g/100 g produktu (nie uwzględniano tego przy składzie recepturowym wytwarzanych emulsji ze względu na to, że do każdej próbki dodawano taki sam dodatek tego składnika). Podobne rezultaty odnośnie zawartości wody w majonezach niskotłuszczowych handlowych, dostępnych na

polskim rynku, kształtujące się na poziomie 42,7-48,6% uzyskała w swoich badaniach Gruczyńska i in. [2005].

Tabela 2 Skład chemiczny otrzymanych majonezów

Zawartość oznaczanych składników [%]	Rodzaj majonezu chrzanowego				
	M	M1	M2	M3	NIR
Woda i substancje lotne	22,16±0,02	32,76±0,12	40,25±0,03	48,10±0,03	0,10
Popiół całkowity	1,53±0,08	1,93±0,01	2,11±0,02	2,50±0,03	0,03
Białko	1,37±0,03	1,38±0,04	1,37±0,04	1,39±0,03	0,02
Tłuszcz surowy	66,35±0,07	49,51±0,58	39,08±0,33	27,36±0,18	0,61

W tabeli 2. przedstawiono zawartość popiołu w poszczególnych analizowanych próbkach. Najmniejszą zawartością popiołu charakteryzował się majonez wysokotłuszczowy. Do kolejnych próbek majonezów (M1-M3) dodawane były takie same ilości gum roślinnych, lecz wzrastał udział maltodekstryny. W badaniach Ghulam i in. [2013] oznaczono zawartość popiołu w majonezach również na poziomie 2%. Kolejnym badanych składnikiem odżywczym w otrzymanych emulsjach było białko. Jego zawartość we wszystkich próbkach, bez względu na udział maltodekstryny była taka sama. Głównym źródłem tego składnika było z pewnością żółtko jaja kurzego. Zgodnie z tabelami wartości odżywczej [Kunachowicz i in., 2005] ilość białka w majonezie domowym z olejem rzepakowym wynosi 1,3 g/100 g, co jest zgodnie z niniejszymi badaniami. Podobnie w badaniach przeprowadzonych przez Liu i in. [2007] zawartość tego składnika zarówno w emulsji majonezowej wysokotłuszczowej i niskotłuszczowej nie różniła się od siebie statystycznie istotnie i wynosiła ok. 1,35 g/100 g. Natomiast nieznacznie niższe wyniki odnośnie zawartości białka otrzymali Ghulam i in. [2013] w majonezie wyprodukowanym na bazie oleju kukurydzianego (1,0-1,2%). W tradycyjnym produkcie spożywczym tłuszcz wywiera decydujący wpływ na jego właściwości organoleptyczne, sensoryczne oraz funkcjonalne [Ratusz i Wroniak, 2000]. W tabeli 2. zamieszczono zawartość tłuszczu we wszystkich wytworzonych emulsjach, która mieściła się w granicach od 27,36-66,35%. Zróżnicowana zawartość tłuszczu w finalnym produkcie wynikała ze składu recepturowego. Wprowadzając do emulsji majonezowej coraz większe ilości maltodekstryny i stabilizując dodatkowo układ mieszaniną gumy guar i ksantanowej [Sobolewska-Zielińska i in., 2015], zmniejszono udział tłuszczu, w celu otrzymania produktu niskoenergetycznego. Zgodnie z Polską Normą [1995] majonezy dzieli się na: niskotłuszczowe, stołowe i wysokotłuszczowe. Jedynie próbkę M, do której nie dodano maltodekstryny, można zaliczyć do „majonezu stołowego z dodatkiem smakowym”, a pozostałe próbki M1-M3 są produktami

niskotłuszczowymi. Może to świadczyć o tym, że maltodekstryna może być stosowana jako mimetyk tłuszczu w majonezach smakowych.

Na podstawie składu chemicznego obliczono wartość energetyczną otrzymanych majonezów chrzanowych. Wartość energetyczna majonezu M wynosi 2690,62 kJ/100 g. Otrzymana wartość jest zbliżona do wartości umieszczonej w tablicach wartości odżywczej dla majonezu domowego [Kunachowicz i in., 2005]. Wraz ze zmniejszeniem zawartości tłuszczu w kolejnych badanych próbkach (M1-M3) wartość energetyczna zmniejszała się i wynosiła kolejno: 2149,98 kJ/100 g; 1800,56 kJ/100 g; 1414,36 kJ/100 g.

Kwasowość jest jednym z podstawowych parametrów żywności wpływających na jej jakość. Jej zmiany w produktach spożywczych mogą być wskaźnikiem m.in. ich świeżości. Kwasowość aktywną i ogólną badanych produktów przedstawia tabela 3.

Tabela 3. Kwasowość aktywna i ogólna badanych majonezów chrzanowych

Oznaczany parametr	Rodzaj majonezu chrzanowego				
	M	M1	M2	M3	NIR
Kwasowość aktywna - pH	4,05±0,02	4,05±0,02	4,06±0,01	4,07±0,01	0,01
Kwasowość ogólna [% kwasu octowego]	0,41±0,01	0,42±0,02	0,45±0,01	0,44±0,02	0,01

Wszystkie badane emulsje charakteryzowały się tą samą kwasowością aktywną. W składzie recepturowym różniły się zawartością oleju i maltodekstryny oraz gum, więc nie spodziewano się znacznych różnic. Wartość pH wyprodukowanych majonezów jest zbliżona do kwasowości aktywnej majonezów niskotłuszczowych, które badali Su i in. [2010] oraz majonezów z udziałem żółtka kurzego i jego substytutów badanych przez Herald i in. [2009] oraz majonezów niskotłuszczowych, w których zmniejszono udział żółtka stosując jako zamiennik skrobię OSA [Ghazaei i in. 2015]. W Polskiej Normie [1995] znajdują się wymagania odnośnie kwasowości ogólnej. Kwasowość ogólna majonezów nie może być większa niż 0,8% (m/m) w przeliczeniu na kwas octowy, a majonezów z dodatkami smakowymi nie większa niż 0,9% (m/m) w przeliczeniu na kwas octowy, niezależnie czy są to produkty wysoko-, czy niskotłuszczowe. W niniejszych badaniach wymagania te zostały spełnione, a otrzymane wartości kwasowości miareczkowej są zbliżone do danych literaturowych [Ghulam, 2013].

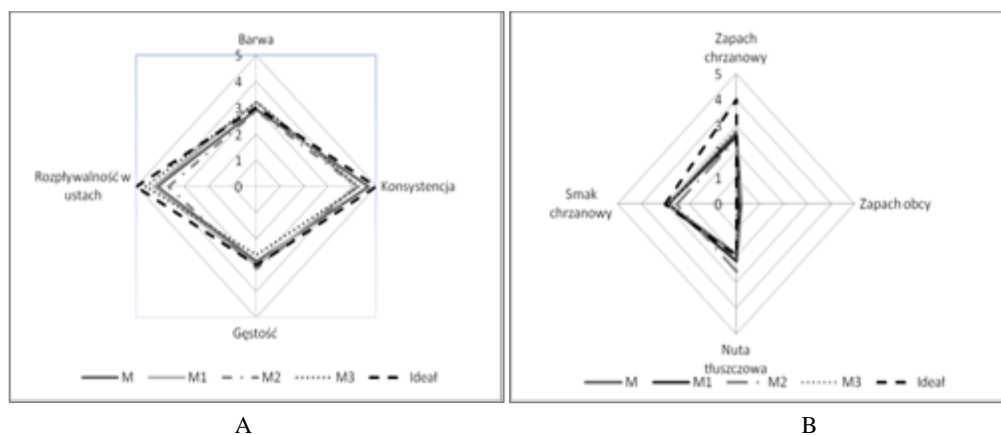
Stabilność wytworzonych emulsji chrzanowych badano po 3 i 21 dniach przechowywania. Wszystkie próbki cechowały się 100% stabilnością przez cały okres badań. Nie zauważono wydzielania fazy niezemulgowanej po zakończonym procesie odwirowywania, zgodnym z przyjętą metodyką [Le Denmat i in. 2000]. W badaniach prowadzonych przez Jędrzejkiewicz i Florowską [2007] analizowano trwałość emulsji majonezowych zawierających inulinę jako zamiennik tłuszczu. W próbce zawierającej

15% dodatek tego zamiennika wykazano stabilność na poziomie 83,8%, natomiast pozytywnie na stabilizację wpłynął dodatek gumy guar. W niniejszych badaniach we wszystkich próbkach, w których zastosowano maltodekstryn wprowadzono dodatkowo mieszaninę gumy guar i gumy ksantanowej, ponieważ układ zastąpienie tłuszczu samą maltodekstryną pod względem stabilności nie daje zadawalających efektów [Sobolewska-Zielińska, 2015].

Ocenę sensoryczną majonezów chrzanowych przeprowadzono stosując metodę profilowania sensorycznego (Rys. 1). Do każdego deskryptora ustalono notę, która jest odpowiednia dla idealnego produktu (ideał). Oceniając barwę ustalono, że powinna mieć ona odcień jasnokremowy do jasnożółtego, z dopuszczalnymi przebarwieniami pochodzącymi od dodatku chrzanu. Stwierdzono, że majonezy chrzanowe pod względem barwy nie różniły się między sobą, co nie pokrywa się z badaniami Liu i in. [2007], według których barwa majonezu wysokotłuszczowego została oceniona wyżej niż produktu niskotłuszczowego. Należy podkreślić jednak fakt, że w niniejszych badaniach zastosowano dodatkowy składnik, jakim był chrzan. W przypadku konsystencji ustalono, że sosy powinny być jednolite, bez rozwarstwień i widocznych kropeł oleju. Wg Grodzkiej i in. [2005] tłuszcz w produktach spożywczych wpływa na właściwy profil sensoryczny, w tym smak i prawidłową konsystencję. Znalazło to potwierdzenie w wynikach analizy sensorycznej, gdzie majonez M uzyskał najwyższą notę pod względem konsystencji. Jednak pozostałe próbki, w których zmniejszono zawartość oleju na korzyść dodatku maltodekstryny wprawdzie zostały nieco niżej ocenione, ale niezależnie od zawartości tłuszczu. Analizę gęstości wykonano biorąc emulsję na łyżeczkę i ustalając, czy nie jest ona za gęsta lub za rzadka (odnoszono się do najpopularniejszego na rynku majonezu kieleckiego). W tym przypadku zauważono stopniowe pogorszenie ocen dla tego deskryptora, ale nadal wartości te nie odbiegały znacznie od wyobrażonego idealnego produktu.

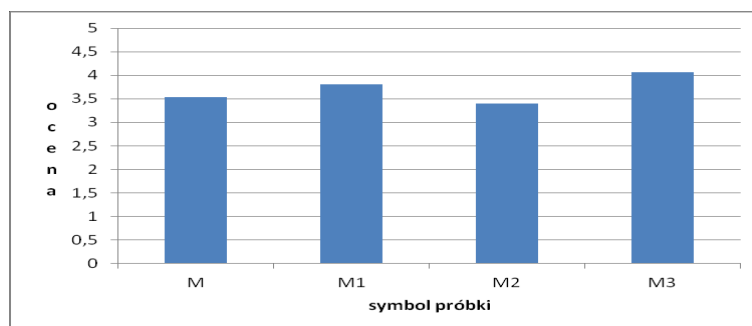
Na rysunku 1B przedstawiono profil zapachowo-smakowy badanych majonezów chrzanowych. Analizując zapach chrzanowy ustalono, że ma być on czysty i charakterystyczny dla tej rośliny. Nie może być zbyt drażniący lub za słaby, a idealny produkt powinien otrzymać notę 4. Wszystkie wytworzone emulsje zostały ocenione poniżej produktu idealnego, ale nie różniły się między sobą znacząco. Natomiast istotne było wyprodukowanie takiego produktu spożywczego, który wolny byłby od obcych zapachów i cel ten osiągnięto. Biorąc pod uwagę, że majonez jest produktem wytworzonym na bazie oleju, oceniano obecność nuty tłuszczowej, która w tego typu produktach powinna być wyczuwalna, ale oczywiście nie powinna tuszować innych posmaków. W badanych emulsjach jedynie M2 wyróżniała się nieco bardziej wyczuwalną nutą tłuszczową, chociaż jest to już produkt niskotłuszczowy, ale wyniki wszystkich badanych próbek oscylują wokół produktu idealnego. Zdaniem Dłużewskiej

i in. [2003], aby uzyskać pożądane cechy organoleptyczne gotowego wyrobu, niezbędny jest odpowiedni dobór rodzaju, połączenia i stężenia stabilizatorów. Można stwierdzić, że skład recepturowy wytworzonych emulsji majonezowych chrzanowych został właściwie dobrany, a zastosowany zamiennik – maltodekstryna niskotłuszczowa korzystnie wpłynęła na odczucie nuty tłuszczowej w produkcie. Paneliści oceniali również smak chrzanowy badanych produktów. Biorąc pod uwagę fakt, że we wszystkich próbkach dodawano taką samą ilość chrzanu można się spodziewać zbliżonych ocen. Ustalono, że produkt idealny powinien mieć notę 3, jednak uzyskane próbki otrzymały oceny nieznacznie niższe, a próbka M2 najbardziej odbiegała od pozostałych swoim profilem zapachowo-smakowym.



Rysunek 1. Metoda profilowania smakowości majonezów chrzanowych: A - cechy fizyczne; B – profil zapachowo-smakowy

Zadaniem panelistów było również określenie ogólnego wrażenia sensorycznego. Wyniki przedstawiono na rysunku 2.



Rysunek 2. Ogólne wrażenie sensoryczne badanych majonezów chrzanowych

Najlepszym produktem pod względem sensorycznym okazała się próbka o najmniejszej ilości tłuszczu.

W celu określenia wpływu maltodekstryny na intensywność odczucia nuty tłuszczowej przeprowadzono ocenę sensoryczną metodą parzystą. Opierając się na Polskiej Normie [PN-EN ISO 5495:2007] stwierdzono, że istnieje dostrzegalna różnica między obecnością nuty tłuszczowej na poziomie istotności $\alpha = 0,05$ dla następujących par próbek: M i M2 oraz M i M3. Nuta tłuszczowa była bardziej wyczuwalna w produkcie wysokotłuszczowym. Natomiast na podstawie tego testu nie można stwierdzić, porównując próbki M i M1, która z nich ma większą zawartość tłuszczu i nie jest to też wyczuwalne pomiędzy próbkami M1, M2 i M3, pomimo tego, że w produktach tych stopniowo usuwany był olej na korzyść maltodekstryny.

Wnioski

Maltodekstrynę niskoscukrzoną można uznać za efektywny zamiennik tłuszczu w majonezach chrzanowych. Zmniejszając zawartość oleju w wytwarzanych emulsjach i wprowadzając do nich maltodekstrynę z niewielkim dodatkiem gumy guar i gumy ksantanowej, uzyskano produkt cechujący się wysoką stabilnością. Jednocześnie otrzymana emulsja odznaczała się niższą wartością energetyczną, niż jej wysokotłuszczowy odpowiednik. Niskotłuszczowe majonezy chrzanowe w ocenie sensorycznej uzyskały dobre noty, zarówno pod względem wyglądu zewnętrznego, jak i profilu zapachowo-smakowego.

Badania zostały sfinansowane z dotacji przyznanej przez MNiSW na działalność statutową.

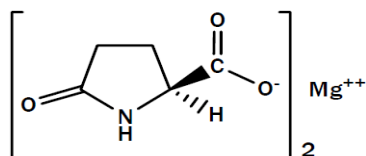
Literatura

1. Anonim Definition and specification for maltodextrin, Starch/Stärke, 1991, 43, 247.
2. Bortnowska G., Makiewicz A. Technological utility of guar gum and xanthan for the production of low-fat inulin-enriched mayonnaise. Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria, 2006, 5 (2), 135-146.
3. Dłużewska E., Gazda B., Leszczyński K. Wpływ wybranych hydrokoloidów polisacharydowych na jakość koncentratów lodów owocowych. Acta Scientiarum Polonorum, Technologia Alimentaria, 2003, 2 (1), 97-107.
4. Fortuna T., Sobolewska J. Maltodekstryny i ich wykorzystanie w przemyśle spożywczym. Żywność.Nauka.Technologia.Jakość, 2000, 2(23), 100-109.
5. Ghazaei S. Mizani M., Piravi-Vanak Z., Alimi M. Particle size and cholesterol content of a mayonnaise formulated by OSA-modified potato starch. Food Science and Technology, 2015, 35(1), 150-156.
6. Ghulam R., Sarfraz H., Zafar A., Muhammad S.I. The effect of corn oil on the quality characteristics of mayonnaise. American Journal of Food Science and Technology. 2013, (1) 3, 45-49.
7. Gibiński M., Korus J. Maltodekstryny jako skrobiowe zamienniki tłuszczu. Biuletyn Instytutu Hodowli i Aklimatyzacji Roślin 2006, 239, 303-318.
8. Górecka A., Krygier K. Zamienniki tłuszczu w produkcji żywności o obniżonej wartości energetycznej. Przemysł Spożywczy, 2004, 5, 36-42.
9. Grodzka K., Maciejec A., Krygier K. Próby zastosowania celulozy mikrokrystalicznej jako zamiennika tłuszczu w emulsjach majonezowych. Żywność. Nauka. Technologia. Jakość. 2005, 2 (43), supl. 52-61.

10. Gruczyńska E., Faszczka E., Koczoń P., Kowalski B. Oznaczanie zawartości tłuszczu i wody w majonezach metodą spektroskopii w podczerwieni z transformacją Fouriera *Żywność. Nauka, Technologia. Jakość.* 2005, 2 (43), 95-107.
11. Herald T., Abugoush M., Aramouni F. 2009. Physical and sensory properties of egg yolk and egg yolk substitutes in a model mayonnaise system. *Journal of Texture Studies*, 2009, 40, 692-709.
12. Jędrzejkiewicz K., Florowska A. Stabilność i jakość bezcholesterolowych, niskotłuszczowych emulsji majonezowych zawierających inulinę. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość.* 2007, 5 (54), 346-359.
13. Kączkowski J. *Podstawy biochemii*, WNT, Warszawa 1974.
14. Kudelka W., Jachna D. Charakterystyka żywności o obniżonej wartości energetycznej, *Zeszyty Naukowe UEK, Kraków* 2009.
15. Kunachowicz H., Nadolna I., Przygoda B., Iwanow K. *Tabele składu i wartości odżywczej żywności*. Wydawnictwo Lekarskie PZWL, Warszawa 2005, 442.
16. Kuntz L.A. Making the most of maltodextrins, *Food Product Design* 1997, 89-104.
17. Le Denmat M., Anton M., Beaumal V. Characterisation of emulsion properties and of interface composition in O/W emulsions prepared with hen egg yolk, plasma and granules. *Food Hydrocolloids*, 2000, 14, 539-549.
18. Liu H., Xu X.M., Guo Sh.D. Rheological, texture and sensory properties of low-fat mayonnaise with different FAT mimetics. *LWT*, 2007, 40, 946-954.
19. Mrozowska I. Klasycznie, ale ze smakiem. *Magazyn Handel*, kwiecień 2015, <http://magazynhandel.pl/2015/04/03/klasycznie-ale-ze-smakiem/> (dostęp on-line 2.05.2016 r.).
20. Mrozowska I. SPPH „Majonezy”: Konsumenci wracają do tradycyjnych smaków. Kwiecień 2016 <http://magazynhandel.pl/2016/02/22/spph-majonezy-konsumenci-wracaja-do-tradycyjnych-smakow/> (dostęp on-line 2.05.2016 r.).
21. PN-A-79011-6: 1998. Koncentraty spożywcze – Metody badań – Oznaczanie wartości kalorycznej.
22. PN-A-869650:1995 Majonez.
23. PN-EN ISO 2171:2010. Ziarno zbóż, nasiona roślin strączkowych i ich przetwory – Oznaczanie zawartości popiołu metodą spalania.
24. PN-EN ISO 5495:2007. Analiza sensoryczna – Metodologia – Metoda parzysta.
25. PN-EN ISO 8586-2:2008. Analiza sensoryczna – Ogólne wytyczne wyboru, szkolenia i monitorowania ocenianych – Część 2: Eksperti oceny sensorycznej.
26. PN-EN ISO 8589:2010. Analiza sensoryczna – Ogólne wytyczne dotyczące projektowania pracowni analizy sensorycznej.
27. PN-ISO 6564:1999, Analiza sensoryczna – Metodologia – Metody profilowania smakowości.
28. PN-ISO 8586-1: 1996. Analiza sensoryczna – Ogólne wytyczne wyboru, szkolenia i monitorowania ocenianych – Część 1: Wybrani ocenianych.
29. Ratusz K., Wroniak M. Próby ograniczenia tłuszczu w wyrobach biszkoptowo-tłuszczowych. *Bromatologia Chemia Toksykologiczna* 2009, 3 (42), 329-333.
30. Roller S. Starch-derived fat mimetics: maltodextrin w: *Handbook of Fat Replacers*. CRC Boca Raton, New York, London, Tokyo 1996.
31. Sobolewska-Zielińska J., Gałkowska D., Laskowska K. Effect of addition of maltodextrins and plant gums on the properties of low-fat mayonnaise. *Proceedings of the 11th International Conference on Polysaccharides-Glycoscience*. Praga 2015, 165-169.
32. Su H-P., Lien Ch-P., Lee T-A., Ho J-H. 2009 Development of low-fat mayonnaise containing polysaccharide gums as functional ingredients. *J. Sci, Food Agric.* 2010, 90, 806-812.
33. Zychnowska M., Onacik-Gür S, Krygier K. Właściwości i możliwości wykorzystania zamienników tłuszczu dostępnych na rynku. *Problemy Higieny i Epidemiologii* 2015, 96 (1), 42-50.
34. Żukiewicz-Sobczak W., Sobczak P., Panasiewicz M. Współczesne trendy usuwania tłuszczu z żywności w aspekcie zdrowej diety człowieka. *Medycyna Ogólna i Nauki o Zdrowiu*, 2011, 1 (17), 23-27.

WPŁYW CZASU PRZECHOWYWANIA I FORTYFIKACJI L-PIDOLANEM MAGNEZU NA JAKOŚĆ KEFIRÓW PRODUKOWANYCH METODĄ TERMOSTATOWĄ

L-pidolan magnezu (magnesium (S)-2-pyrrolidone-5-carboxylate magnesium 5-oxo-L-proline) to sól magnezowa L-pirolidonu karboksylowego (L-PCA). L-PCA otrzymuje się przez cyklizację kwasu L-glutaminowego, aminokwasu pochodzenia roślinnego. Struktura chemiczna L-PCA umożliwia lepsze przyswajanie, transport i biodostępność magnezu, optymalizując jednocześnie tolerancję i wchłanianie w organizmie. Masa cząsteczkowa L-pidolanu magnezu, o wzorze $C_{10}H_{12}N_2MgO_6$, wynosi 280,52 g/mol (Rys. 1). Dzienna zalecana dawka dla człowieka wynosi 300 mg magnezu i jest równoważna 3,46 g L-pidolanu magnezu (1 g magnezu \cong 11,6 g L-pidolanu magnezu) [Farma Solabia, 2008].



Rysunek 1. L-pidolan magnezu

Zalecane dzienne spożycie magnezu zależy od wieku, płci i jest różne w zależności od kraju. Od 1 do 20 roku życia średni dzienny przyrost ilości magnezu w ciele człowieka wynosi 3,2 mg. Wraz ze wzrostem organizmu zwiększa się zapotrzebowanie na magnez. Uważa się, że na przyrost każdego kilograma ciała potrzeba 300 mg magnezu, a każdego kilograma mięśni – 200 mg. W przypadku zdrowych dorosłych ludzi dodatni bilans magnezu obserwowano przy spożyciu tego składnika w ilości 3,0-4,5 mg/kg m.c./d [Jarosz, 2012; Bancierz, 2012; Karmańska i in., 2015]. Organizm człowieka przyswaja magnez w zależności od rodzaju związków, w których on występuje. Wskazane są związki organiczne, takie jak cytrynian, glukonian, mleczan, asparaginian magnezu, które są najbardziej podobne do związków magnezu obecnych w pożywieniu [Bancierz, 2012; Coudray i in., 2005].

Ponieważ w polskiej kulturze żywieniowej mleko i chleb są podstawowymi składnikami codziennej diety, nie bez znaczenia byłoby rozważenie możliwości dostarczania brakujących składników mineralnych właśnie w takim produkcie, np. w kefirze. Kefir to jeden z najstarszych napojów fermentowanych powstały w wyniku fermentacji mlekowo – alkoholowej, o właściwościach prozdrowotnych i preferowanych

przez Polaków cechach smakowo-zapachowych [Gaweł, 2011; Glibowski i in., 2012; Żbikowski, 2013a,b]. Wzbogacanie kefiru magnezem staje się uzasadnione, ponieważ stwierdza się coraz większe spożycie różnych form mleka fermentowanego w Polsce [Platta i Suszek-Namroży, 2015; Dąbrowska i in., 2014].

Celem pracy była ocena możliwości wykorzystania L-pidolanu magnezu jako substancji wzbogacającej w magnez kefirów z mleka krowiego. Przeanalizowano wpływ L-pidolanu magnezu na właściwości fizykochemiczne, organoleptyczne i teksturę kefirów podczas 21 dni przechowywania.

Material i metody badań

Kefiry wyprodukowano z mleka krowiego, mikrofiltrowanego, pasteryzowanego w 72-73°C przez 15 s, o zawartości 2% tłuszczu (OSM Piątnica) z użyciem szczepionki kefir Vital o następującym składzie: grzybki kefirowe (zawierające drożdże kefirowe oraz *Leuconostoc* subsp.), *Lactococcus lactis* subsp., *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus* (Danisco, Polska). Do wzbogacenia w suchą masę (3 g/100 g mleka) zastosowano mleko w proszku, odtłuszczone (SM Gostyń). Mleko przed repasteryzacją (72°C przez 15 s) fortyfikowano L-pidolanem magnezu (C₁₀H₁₂N₂MgO₆, CAS: 62003-27-4, Sigma-Aldrich), aby uzyskać wzbogacenie: 5 mg, 10 mg, 15 mg i 20 mg Mg/100 g mleka. Wykonano także próby kontrolne bez dodatku magnezu oznaczone jako 0 mg. Fermentację przeprowadzono w temperaturze 26°C przez 16 godzin, po czym kefirów schłodzono do 10°C utrzymując tę temperaturę przez 24 godziny. Następnie obniżono temperaturę do 6°C, w której przechowywano próbki do czasu zakończenia doświadczenia. Ocenę jakości kefirów przeprowadzono w następujących terminach po zakończeniu fermentacji: w 1, 7, 14, 21 dniu przechowywania chłodniczego. W każdym terminie do oceny wybierano losowo po 6 prób każdego stężenia magnezu. Oceniono: pH (pH-metr FiveEasy, Toledo), kwasowość ogólną (°SH, metodą miareczkową), synerezę (%; wagowo określono masę serwatki odsączaną z naważki 25 g napoju, po 120 min, w temp. 5°C), twardość (Analityczny Tekstury Brookfield CT3 z programem Texture Pro CTV 1.2). Ocenę sensoryczną, metodą profilowania sensorycznego przeprowadził przeszkolony zespół składający się z dwudziestu pięciu osób. Badający oceniali próbki w skali 9-stopniowej, 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 w programie Statistica ver.12 obliczono średnią, odchylenie standardowe i współczynnik korelacji. Istotność różnic pomiędzy średnimi oznaczono testem RIR Tukeya, przy $p \leq 0,05$.

Analiza wyników

Ziarno i in. [2009] stwierdzili, że związki nierozpuszczalne w wodzie można dodawać do mleka przed pasteryzacją bez obaw o wytrącenie czy obniżenie stabilności białek. Natomiast związki rozpuszczalne w wodzie często w wysokich stężeniach doprowadzają do koagulacji białek mleka w podwyższonej temperaturze [Ziarno, 2004; Ziarno, 2008].

Mleko wzbogacone L-pidolanem magnezu poddano obróbce termicznej (85°C, 60 s) i stwierdzono, że zastosowane dawki wzbogacenia magnezem nie powodowały ścięcia białek podczas pasteryzacji. Wprowadzenie do mleka większych dawek L-pidolanu magnezu istotnie obniżało stabilność termiczną prowadząc do koagulacji podczas pasteryzacji (badania niepublikowane).

W tabeli 1. zamieszczono wyniki pH kefirów oznaczone podczas przechowywania w warunkach chłodniczych. Wprowadzenie L-pidolanu magnezu do mleka w produkcji kefirów istotnie podwyższało pH tylko w pierwszym dniu analiz w porównaniu do pH kefirów kontrolnych.

Tabela 1. Kwasowość czynna (pH) kefirów

Lp.	Dawka magnezu [mg/100 g]	pH kefirów			
		1dzień	7 dni	14 dni	21 dni
1.	0	4,48±0,01 ^{aA}	4,50±0,00 ^{abA}	4,56±0,00 ^{ab}	4,45±0,01 ^{aA}
2.	5	4,52±0,01 ^{bA}	4,49±0,01 ^{aA}	4,59±0,02 ^{ab}	4,44±0,01 ^{aC}
3.	10	4,51±0,01 ^{bA}	4,51±0,01 ^{abA}	4,57±0,01 ^{ab}	4,46±0,00 ^{bC}
4.	15	4,50±0,00 ^{bA}	4,51±0,01 ^{abA}	4,58±0,02 ^{ab}	4,47±0,00 ^{bC}
5.	20	4,52±0,01 ^{bA}	4,52±0,01 ^{bA}	4,57±0,00 ^{ab}	4,48±0,00 ^{bC}
	r	0,5567	0,6765	0,7367	0,8343

a, b – średnie oznaczone różnymi literami w kolumnach różnią się statystycznie istotnie przy $p \leq 0,05$
A,B,C – średnie oznaczone różnymi literami w wierszach różnią się statystycznie istotnie przy $p \leq 0,05$
r – współczynnik korelacji istotny przy $p \leq 0,05$ oznaczono pogrubioną czcionką

Tabela 2. Kwasowość ogólna kefirów

Lp.	Dawka magnezu [mg/100 g]	kwasowość ogólna kefirów [°SH]			
		1dzień	7 dni	14 dni	21 dni
1.	0	33,80±0,20 ^{aD}	38,40±0,40 ^{aC}	40,60±0,20 ^{ab}	42,40±0,40 ^{aA}
2.	5	34,00±0,40 ^{aC}	39,60±0,80 ^{ab}	39,80±0,20 ^{bb}	42,20±0,80 ^{aA}
3.	10	35,80±0,20 ^{bC}	38,60±0,20 ^{ab}	39,40±0,20 ^{bA}	41,60±0,40 ^{aA}
4.	15	35,20±0,00 ^{bD}	38,40±0,40 ^{aC}	39,80±0,20 ^{bb}	43,00±1,00 ^{aA}
5.	20	38,00±5,01 ^{cd}	39,00±0,20 ^{aC}	40,80±0,40 ^{ab}	42,20±0,60 ^{aA}
	r	0,5699	0,3325	0,0993	0,1045

a, b, c – średnie oznaczone różnymi literami w kolumnach różnią się statystycznie istotnie przy $p \leq 0,05$
A,B,C,D – średnie oznaczone różnymi literami w wierszach różnią się statystycznie istotnie przy $p \leq 0,05$
r – współczynnik korelacji istotny przy $p \leq 0,05$ oznaczono pogrubioną czcionką

W pierwszym dniu badań (Tab. 2) kwasowość ogólna kefirów uzależniona była od dawki wzbogacenia magnezem i wraz ze zwiększaniem ilości wprowadzonego magnezu przyjmowała coraz wyższe wartości ($r = 0,5699$, $p \leq 0,05$). Wraz z wydłużaniem czasu przechowywania kwasowość ogólna systematycznie zwiększała się w każdej grupie doświadczalnej.

W tabeli 3. zamieszczono wyniki synerезy kefirów w zależności od dawki fortyfikacji i czasu przechowywania. Kefiry niewzbogacone cechowały się tendencją wzrostu wycieku serwatki wraz z wydłużaniem czasu przechowywania. Natomiast w kefirach z magnezem zaobserwowano istotne zmniejszenie intensywności synerезy w kolejnych terminach składowania. Kefiry te odznaczały się również mniejszym stopniem synerезy w porównaniu do prób kontrolnych po 14 i 21 dniach przechowywania. W 21. dniu przechowywania wykazano istotne, ujemne zależności korelacyjne pomiędzy ilością wprowadzonego magnezu, a synerезą kefirów ($r = -0,5860$, $p \leq 0,05$). Ilość wydzielonej serwatki i czynniki kształtujące synerезę mlek fermentowanych były przedmiotem wielu badań. Jak twierdzi Baranowska [2009] zjawisko synerезy w mniejszym stopniu występuje w produktach, które zostały wzbogacone proszkiem mlecznym oraz zawierających tłuszcz. Skrzypczak i Gustaw [2012] uważają, że tłuszcz zawarty w mleku zmniejsza podciek serwatki mleka fermentowanego. Ponadto na wielkość synerезy ma wpływ temperatura i czas fermentacji [Bensmira i Jiang, 2012]. Montanuci i in. [2012] wzbogacając kefir w inulinę dowiedli, że podatność na synerезę zmniejsza się wraz z wydłużaniem czasu przechowywania.

Tabela 3. Synerезa (%) kefirów

Lp.	Dawka magnezu [mg/100 g]	synerезa kefirów [%]			
		1dzień	7 dni	14 dni	21 dni
1.	0	34,17±0,17 ^{aA}	34,08±1,92 ^{aA}	34,92±0,53 ^{aA}	35,27±0,05 ^{aB}
2.	5	35,67±0,28 ^{bA}	34,54±0,16 ^{aB}	32,27±0,12 ^{bC}	29,30±1,28 ^{bD}
3.	10	35,99±0,43 ^{bA}	34,70±1,37 ^{aA}	32,70±1,47 ^{bB}	31,34±0,49 ^{bB}
4.	15	34,21±0,23 ^{aA}	35,55±0,32 ^{aA}	32,45±2,06 ^{bB}	29,07±0,15 ^{cC}
5.	20	35,27±1,16 ^{bA}	35,85±0,41 ^{aA}	33,93±0,50 ^{bB}	30,64±1,01 ^{bC}
	r	-0,2336	-0,3731	-0,0705	-0,5860

a, b, c – średnie oznaczone różnymi literami w kolumnach różnią się statystycznie istotnie przy $p \leq 0,05$

A,B,C,D – średnie oznaczone różnymi literami w wierszach różnią się statystycznie istotnie przy $p \leq 0,05$

r – współczynnik korelacji istotny przy $p \leq 0,05$ oznaczono pogrubioną czcionką

Według PN-A-86061:2002 skrzep kefiru powinien być płynny, z obecnością pęcherzyków dwutlenku węgla, o lekko kremowej lub białej barwie i lekko kwaśnym smaku. Jednak należy pamiętać, że cechy organoleptyczne zależą od metody produkcji

i warunków dojrzewania kefiru [Baranowska, 2009; Krelowska-Kułas, 2011; Mojka, 2013]. Atrakcyjność kefiru w dużej mierze zależy od jego konsystencji definiowanej jako stopień zwartości, gęstości lub lepkości produktu [Siemianowski i in., 2011]. W badanych kefirach konsystencja oceniana była w skali 9-cio stopniowej. Niższe noty za konsystencję (8,80 pkt.) przyznano kefirom z wszystkich grup doświadczalnych jedynie w pierwszym terminie analiz, natomiast w kolejnych dniach oceny, kefiry za konsystencję uzyskały maksymalną liczbę punktów (9 pkt.). W opinii oceniających fortyfikacja magnezem nie wpływa na konsystencję.

Podczas fermentacji mlekowo-alkoholowej kefiru wytwarzany jest alkohol i dwutlenek węgla [Magalhaes i in., 2011]. Tradycyjny kefir z mleka krowiego zawiera 0,04-0,3% etanolu [Beshkova i in., 2002; Sarkar, 2008]. Dobre nasycenie CO₂ jest bardzo pożądane i może sięgać 0,2%. Po spożyciu kefiru daje typowe lekkie odczucie mrowienia języka [Garrote i in., 1998]. Wyniki oceny stopnia nasycenia CO₂ analizowanych kefirów w poszczególnych grupach doświadczalnych zamieszczono w tabeli 4. W kefirach wzbogaconych w 20 mg magnezu stwierdzono istotnie intensywniejsze nasycenie CO₂ przez cały okres badań. Należy również dodać, że wraz z wydłużaniem czasu przechowywania wzrastały noty za nasycenie CO₂ kefirów przyznawane przez oceniających. Gronnevik i in. [2011] stwierdzają, że zbyt wysoki poziom CO₂ powoduje uwolnienie gazów i zakłócenia w konsystencji kefiru poprzez oddzielanie się serwatki. Ponadto ilość metabolitów drożdży (alkoholu i CO₂) rośnie wraz z wydłużaniem czasu przechowywania [Guzel-Seydim i in., 2000]. Według Żbikowskiego [2013b] końcowa zawartość CO₂ w kefirze nie tylko zależy od fermentacji prowadzonej przez drożdże, ale także od techniki pakowania.

Tabela 4. Ocena nasycenia CO₂ kefirów

Lp.	Dawka magnezu [mg/100 g]	Nasycenie CO ₂ kefirów [pkt.]			
		1dzień	7 dni	14 dni	21 dni
1.	0	2,40±0,89 ^{aA}	2,56±0,81 ^{aA}	3,00±2,00 ^{aA}	3,00±0,71 ^{aA}
2.	5	2,60±1,51 ^{aA}	2,66±0,81 ^{aA}	3,00±2,13 ^{aA}	3,80±0,54 ^{aA}
3.	10	2,60±1,64 ^{aA}	2,66±0,75 ^{aA}	3,00±1,54 ^{aAB}	3,80±0,44 ^{aB}
4.	15	2,60±1,94 ^{aA}	3,33±1,03 ^{abA}	3,73±1,02 ^{bA}	3,80±0,70 ^{aA}
5.	20	2,90±1,92 ^{bA}	4,00±1,41 ^{bB}	4,33±2,73 ^{bB}	4,40±0,70 ^{bB}
	r	0,3866	0,4243	0,3545	0,5260

a, b – średnie oznaczone różnymi literami w kolumnach różnią się w statystycznie przy p ≤ 0,05

A,B – średnie oznaczone różnymi literami w wierszach różnią się statystycznie istotnie przy p ≤ 0,05

r – współczynnik korelacji istotny przy p ≤ 0,05 oznaczono pogrubioną czcionką

Smak drożdżowy kefiru to wynik działania mikroflory drożdży zawartych w kulturach starterowych. W zależności od zastosowanej szczepionki i od przebiegu fermentacji może być bardziej lub mniej wyczuwalny [Sarkar, 2008; Guzel-Seydim i in., 2000].

W badanych kefirach po siedmiu dniach przechowywania oceniający stwierdzili delikatny smak drożdżowy, który stawał się jeszcze bardziej wyczuwalny po 14. dniu, chociaż nie stwierdzono istotnych różnic w poziomie tej cechy pomiędzy 7., 14. i 21. dniem przechowywania (Tab. 5).

Tabela 5. Wyniki oceny smaku drożdżowego kefirów

Lp.	Dawka magnezu [mg/100 g]	smak drożdżowy kefirów [pkt.]			
		1dzień	7 dni	14 dni	21 dni
1.	0	1,00±0,00 ^{aA}	1,67±0,81 ^{aB}	2,50±1,38 ^{aB}	2,40±1,51 ^{aB}
2.	5	1,00±0,00 ^{aA}	2,00±1,26 ^{aB}	2,53±1,60 ^{aB}	2,40±1,51 ^{aB}
3.	10	1,00±0,00 ^{aA}	2,16±1,16 ^{aB}	2,50±1,38 ^{aB}	2,20±1,09 ^{aB}
4.	15	1,00±0,00 ^{aA}	2,16±1,16 ^{aB}	2,17±1,16 ^{aB}	2,20±1,09 ^{aB}
5.	20	1,00±0,00 ^{aA}	1,83±0,75 ^{aB}	2,50±0,88 ^{aB}	2,40±1,09 ^{aB}
	r	0,0000	0,1485	0,1678	0,0000

a – średnie oznaczone tymi samymi literami w kolumnach nie różnią się statystycznie istotnie przy $p \leq 0,05$

A,B – średnie oznaczone różnymi literami w wierszach różnią się statystycznie istotnie przy $p \leq 0,05$

r – współczynnik korelacji we wszystkich przypadkach nieistotny ($p > 0,05$)

Kefir charakteryzuje się specyficznym „bukietem” smakowo – zapachowym. Często opisuje się go jako: kwaśny, lekko drożdżowy, szczypiący czy musujący [Żbikowski, 2013b]. Tratnik i in. [2006] podkreślają, że w kefirze z mleka krowiego i owczego podczas fermentacji powstaje: kwas mlekowy, kwas octowy, kwas pirogronowy, kwas hipurowy, kwas propionowy, kwas masłowy, diacetyl, acetoina i aldehyd octowy. Związki te nadają kefirom smak i aromat [Otels i Cagindi, 2003; Kemenkes i in., 2011; Ahmed i in., 2013]. Podczas przechowywania stężenie aldehydu octowego wzrasta podczas gdy acetoiny zmniejszenia się [Guzel-Seydim i in., 2000].

Wyniki oceny smaku kwaśnego kefirów zamieszczone w tabeli 6. wskazują, że na intensywność smaku kwaśnego nie wpływa fortyfikacja magnezem i czas przechowywania.

Tabela 6. Wyniki oceny smaku kwaśnego kefirów

Lp.	Dawka magnezu [mg/100 g]	smak kwaśny kefirów [pkt.]			
		1dzień	7 dni	14 dni	21 dni
1.	0	3,20±2,28 ^{aA}	3,00±1,26 ^{aA}	3,13±1,17 ^{aA}	3,00±1,22 ^{aA}
2.	5	3,20±1,79 ^{aA}	2,83±1,16 ^{aA}	3,50±1,51 ^{aA}	3,20±0,83 ^{aA}
3.	10	3,00±1,41 ^{aA}	3,16±0,75 ^{aA}	3,33±0,81 ^{aA}	3,00±0,71 ^{aA}
4.	15	2,60±0,54 ^{aA}	3,17±0,75 ^{aA}	3,33±0,81 ^{aA}	3,00±0,70 ^{aA}
5.	20	2,60±1,14 ^{aA}	3,17±0,75 ^{aA}	2,83±1,72 ^{aA}	2,40±0,54 ^{aA}
	r	-0,3143	0,1381	-0,0460	-0,1037

a – średnie oznaczone tymi samymi literami w kolumnach nie różnią się w statystycznie przy $p \leq 0,05$

A – średnie oznaczone tymi samymi literami w wierszach nie różnią się statystycznie istotnie przy $p \leq 0,05$

r – współczynnik korelacji we wszystkich przypadkach nieistotny ($p > 0,05$)

Wzbogacanie kefirów coraz wyższymi dawkami L-pidolanu magnezu intensyfikowało smak słony (Tab. 7). W pierwszym dniu lekko słony smak stwierdzono w kefirach fortyfikowanych 10 mg magnezu, a bardziej intensywny w kefirach wzbogaconych w 15 mg i 20 mg magnezu. W 21. dniu przechowywania oceniający przyznali wyższe noty za smak słony kefirom wzbogaconym w magnez w porównaniu do ocen tego smaku w dniu pierwszym. Stwierdzono istotne zależności korelacyjne pomiędzy ilością wprowadzonego magnezu a intensywnością smaku słonego.

Tabela 7. Wyniki oceny smaku słonego kefirów

Lp.	Dawka magnezu [mg/100g]	smak słony kefirów [pkt.]			
		1dzień	7 dni	14 dni	21 dni
1.	0	1,00±0,00 ^{aA}	1,00±0,00 ^{aA}	1,00±0,00 ^{aA}	1,00±0,00 ^{aA}
2.	5	1,00±0,00 ^{aA}	1,26±0,21 ^{aB}	1,46±0,41 ^{bB}	1,80±0,40 ^{bB}
3.	10	1,20±0,47 ^{bA}	1,66±0,21 ^{bA}	1,50±0,54 ^{bA}	1,80±0,25 ^{bA}
4.	15	1,60±0,89 ^{bA}	1,66±0,81 ^{bA}	1,66±0,51 ^{bA}	1,86±0,20 ^{bA}
5.	20	1,60±0,24 ^{bA}	1,66±0,81 ^{bA}	1,68±0,75 ^{bA}	1,86±0,20 ^{bA}
r		0,5909	0,4350	0,6307	0,6654

a, b – średnie oznaczone różnymi literami w kolumnach różnią się w statystycznie przy $p \leq 0,05$

A,B – średnie oznaczone różnymi literami w wierszach różnią się w statystycznie przy $p \leq 0,05$

r – współczynnik korelacji istotny przy $p \leq 0,05$ oznaczono pogrubioną czcionką

W pierwszym dniu oceny nie stwierdzono smaku obcego (Tab. 8), jednak już po 7 i 14 dniach przechowywania smak ten zidentyfikowano w kefirach z dodatkiem 15 mg i 20 mg magnezu w 100 g. Natomiast w 21. dniu przechowywania smak obcy był wyczuwalny we wszystkich kefirach wzbogaconych w magnez.

Tabela 8. Wyniki oceny smaku obcego kefirów

Lp.	Dawka magnezu [mg/100 g]	smak obcy kefirów [pkt.]			
		1dzień	7 dni	14 dni	21 dni
1.	0	1,00±0,00 ^{aA}	1,00±0,00 ^{aA}	1,00±0,00 ^{aA}	1,00±0,00 ^{aA}
2.	5	1,00±0,00 ^{aA}	1,00±0,00 ^{aA}	1,00±0,00 ^{aA}	1,20±0,14 ^{bB}
3.	10	1,00±0,00 ^{aA}	1,00±0,00 ^{aA}	1,00±0,00 ^{aA}	2,80±1,30 ^{bB}
4.	15	1,00±0,00 ^{aA}	1,20±0,89 ^{bB}	1,16±0,40 ^{bB}	2,80±1,30 ^{bB}
5.	20	1,00±0,00 ^{aA}	1,20±0,44 ^{bB}	1,83±0,40 ^{bB}	2,80±0,89 ^{bB}
r		0,0000	0,3482	0,3482	0,6679

a, b – średnie oznaczone różnymi literami w kolumnach różnią się w statystycznie przy $p \leq 0,05$

A,B – średnie oznaczone różnymi literami w wierszach różnią się w statystycznie przy $p \leq 0,05$

r – współczynnik korelacji istotny przy $p \leq 0,05$ oznaczono pogrubioną czcionką

Noty przyznane za zapach kwaśny kefirom naturalnym nie różniły się istotnie od ocen przyznanych napojom wzbogaconym w magnez przez cały okres przechowywania

(Tab. 9). Nie stwierdzono zapachu obcego w kefirach przez cały okres trwania doświadczenia.

Tabela 9. Wyniki oceny zapachu kwaśnego kefirów

Lp.	Dawka magnezu [mg/100 g]	zapach kwaśny kefirów [pkt.]			
		1 dzień	7 dni	14 dni	21 dni
1.	0	3,80±1,78 ^{aA}	5,00±1,19 ^{aB}	5,33±1,06 ^{aB}	5,20±0,83 ^{aA}
2.	5	3,60±1,81 ^{aA}	4,83±1,04 ^{aB}	5,00±1,60 ^{aB}	3,60±0,54 ^{aA}
3.	10	3,60±1,14 ^{aA}	4,50±1,64 ^{aA}	5,16±1,40 ^{aB}	2,80±0,54 ^{aA}
4.	15	3,20±1,83 ^{aA}	4,66±1,33 ^{aB}	4,50±1,42 ^{aB}	2,80±0,83 ^{aA}
5.	20	3,20±1,83 ^{aA}	4,83±2,48 ^{aB}	4,83±3,12 ^{aB}	2,60±0,83 ^{aA}
	r	-0,5330	-0,0220	-0,1631	-0,2831

a – średnie oznaczone różnymi literami w kolumnach różnią się w statystycznie przy $p \leq 0,05$

A,B – średnie oznaczone różnymi literami w wierszach różnią się w statystycznie przy $p \leq 0,05$

r – współczynnik korelacji istotny przy $p \leq 0,05$ oznaczono pogrubioną czcionką

Zmiany twardości kefirów w zależności od dawki magnezu i czasu przechowywania, przedstawiono w tabeli 10. Wykazano statystycznie istotny wpływ czasu przechowywania i dawki magnezu na twardości kefirów. Również Montanuci i in. [2012] w swoich badaniach dotyczących wzbogacania kefiru inuliną stwierdzają wzrost twardości podczas czternastu dni chłodniczego przechowywania. W badaniach własnych obliczono istotne ujemne współczynniki korelacji pomiędzy ilością wprowadzonego magnezu, a twardością kefirów, które wskazują że wraz ze wzrostem dawki magnezu maleje twardość kefirów ($r > -0,5$; $p \leq 0,05$).

Tabela 10. Twardość kefirów

Lp.	Dawka magnezu [mg/100 g]	twardość kefirów [N]			
		1 dzień	7 dni	14 dni	21 dni
1.	0	1,44±0,05 ^{aA}	1,80±0,02 ^{aB}	1,76±0,05 ^{bB}	1,99±0,05 ^{aC}
2.	5	1,51±0,00 ^{bA}	1,79±0,06 ^{aB}	1,89±0,09 ^{bB}	2,00±0,17 ^{aC}
3.	10	1,42±0,06 ^{aA}	1,61±0,04 ^{bB}	1,70±0,09 ^{bC}	1,71±0,03 ^{bC}
4.	15	1,31±0,01 ^{cA}	1,45±0,05 ^{cB}	1,56±0,04 ^{aC}	1,69±0,06 ^{bD}
5.	20	1,36±0,05 ^{cA}	1,53±0,09 ^{cB}	1,49±0,27 ^{aB}	1,65±0,09 ^{bC}
	r	-0,5866	-0,8142	-0,6505	-0,7658

a, b, c – średnie oznaczone różnymi literami w kolumnach różnią się w statystycznie przy $p \leq 0,05$

A,B,C,D – średnie oznaczone różnymi literami w wierszach różnią się w statystycznie przy $p \leq 0,05$

r- współczynnik korelacji istotny przy $p \leq 0,05$ oznaczono pogrubioną czcionką

Podsumowanie

Wraz z wydłużaniem czasu przechowywania stwierdzono wzrost kwasowości ogólnej i twardości kefirów we wszystkich grupach doświadczalnych. Wzbogacanie magnezem istotnie zmniejszało kwasowość czynną, twardość i synerżę kefirów. W opinii oceniających zarówno wydłużanie czasu przechowywania, jak i fortyfikacja magnezem

zintensyfikowały nasycenie kefirów CO₂. Fortyfikacja kefirów wysokimi dawkami L-pidolanu magnezu intensyfikowała odczucie smaku słonego i obcego, które były coraz bardziej wyczuwalne wraz z wydłużaniem czasu przechowywania. L-pidolan magnezu można stosować do fortyfikacji kefirów jedynie w niskich dawkach (tj. ok. 5 mg), gdyż wyższe dawki powodowały zmiany smaku, które mogą być nieakceptowane przez potencjalnych konsumentów.

Literatura

1. Ahmed, Z., Wang, Y., Ahmad, A., Khan, S. T., Nisa, M., Ahmad, H., & Afreen, A. Kefir and health: A contemporary perspective. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 2013, 53, 422-434.
2. Bancerz B., Duś-Żuchowska M., Cichy W., Matusiewicz H. Wpływ magnezu na zdrowie człowieka. *Przegląd Gastroenterologiczny*, 2012, 7 (6), 359-366.
3. Baranowska M. Właściwości fizykochemiczne kefiru i biokefiru. *Inżynieria i Aparatura Chemiczna*, 2009, 48, 2, 18-20.
4. Bensemira M., Jiang B. Effect of some operating variables on the microstructure and physical properties of a novel Kefir formulation, *Journal of Food Engineering*, 2012, 108, 579-584.
5. Beshkova, D. M., Simova, E. D., Simov, Z. I., Frengova, G. I., Spasov, Z. N. Pure cultures for making kefir. *Food Microbiology*, 2002, 19, 537-544.
6. Coudray C, Rambeau M, Feillet-Coudray C, Gueux E, Tressol JC, Mazur A, Rayssiguier Y. Study of magnesium bioavailability from ten organic and inorganic Mg salts in Mg-depleted rats using a stable isotope approach. *Magnesium Research*, 2005, 18 (4), 215-23.
7. Dąbrowska A., Baranowska M., Batyk I., Kujawski M., Hryniawska M., Roszkowska B. Spożycie mlecznych napojów fermentowanych przez osoby z różną tolerancją laktozy. *Journal of Health Sciences*, 2014, 4 (10), 107-112.
8. Garrote, G. L., Abraham, A. G., & De Antoni, G. L. Characteristics of kefir prepared with different grain: Milk ratios. *Journal of Dairy Research*, 1998, 65, 149-154.
9. Gawęł J. Tradycja i nauka mleczarska. Mleczne produkty fermentowane – kefir i kumys. *Przegląd Mleczarski*, 2011, 10, 4-12.
10. Glibowski P., Kowalska A. Rheological, texture and sensory properties of kefir with performance and native inulin. *Journal of Food Engineering*, 2012, 111 (2), 299-304.
11. Gronnevik H., Falstad M., Narvhus J. A. Microbiological and chemical properties of Norwegian kefir during storage. *International Dairy Journal*, 2011, 21, 9, 601-606.
12. Guzel-Seydim, Z., Seydim, A., Greene, A. Organic acids and volatile flavor components evolved during refrigerated storage of kefir. *International Dairy Journal*, 2000, 83, 275-277.
13. Jarosz M. (red) Normy żywienia dla populacji polskiej-nowelizacja. Wyd. IŻŻ, Warszawa, 2012.
14. Karmańska A., Stańczak A., Karwowski B. Magnez aktualny stan wiedzy. *Bromatologia i Chemia Toksykologiczna*, 2015, 4, 677-689.
15. Kesenkas H., Dinkci N., Seckin K., Kinik O., Gönc S., Ergönül P. G., Kavas G. Physicochemical, microbiological and sensory characteristics of soymilk kefir. *African Journal of Microbiology Research*, 2011, 5, 3737-3746.
16. Krelowska-Kulas M. Badanie preferencji konsumenckich napojów mlecznych fermentowanych. *Zeszyty Naukowe UEK w Krakowie*, 2011, 851, 61-72.
17. Magalhaes K.T., Dragone G., de Melo Pereira G. V., Oliveira J. M. Comparative study of the biochemical changes and volatile compound formations during the production of novel whey-based kefir beverages and traditional milk kefir. *Food Chemistry*, 2011, 126, 249-253.
18. Mojka K. Charakterystyka mlecznych napojów fermentowanych. *Problemy Higieny i Epidemiologii*, 2013, 94 (4), 722-729.
19. 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.
20. Otles S., Cagindi O. Kefir: A probiotic dairy-composition, nutritional and therapeutic aspects. *Pakistan Journal of Nutrition*, 2003, 2, 54-59.

21. Pharma Solabia group. Specifications data sheet. L-magnesium pidolate, ref C0002, 2008.
22. PN-A-86061:2002 Mleko i przetwory mleczne. Mleko fermentowane.
23. PN-ISO 11035:1999 Analiza sensoryczna - Identyfikacja i wybór deskryptorów do ustalania profilu sensorycznego z użyciem metod wielowymiarowych.
24. Platta A., A. Suszek-Namroży. Spożycie produktów mlecznych przez dzieci w wieku szkolnym. Zeszyty Naukowe Akademii Morskiej w Gdyni, 2015, 88, 34-43.
25. Sabir F., Beyatli Y., Cokmus C., Onal-Darilmaz D. Assessment of potential probiotic properties of *Lactobacillus* spp., *Lactococcus* spp., and *Pediococcus* spp. strains isolated from kefir. *Journal of Food Science*, 2010, 75, 568-573.
26. Sarkar S. Biotechnological innovations in kefir production: A review. *British Food Journal*, 2008, 110, 283-295.
27. Siemianowski K., Detman K., Staniewski B. Baranowska M. Porównanie profilu tekstury jogurtów naturalnych dostępnych w handlu. *Przegląd Mleczarski*, 2011, 10, 14-18.
28. Skrzypczak K., Gustaw W. Wpływ dodatku prebiotyków i białek serwatkowych na właściwości fizykochemiczne biojogurtów. *Żywność. Technologia. Jakość*, 2012, 5 (84), 155-165.
29. Tratnik, L., Bozanic, R., Herceg, Z., Drgalic, I. The quality of plain and supplemented kefir from goat's and cow's milk. *International Journal of Dairy Technology*, 2006, 59, 40-46.
30. Żbikowski Z. Właściwości funkcjonalne kefiru. *Przegląd Mleczarski*, 2013a, 2, 4-7.
31. Żbikowski Z. Zmiany mikrobiologiczne i chemiczne w kefirze podczas przechowywania. *Przegląd Mleczarski*, 2013b, 2, 8-10.
32. Ziarno M. Produkty mleczarskie wzbogacone w magnez. *Przemysł Spożywczy*, 2004, 12, 38-41.
33. Ziarno M. Wzbogacanie mleka spożywczego solami wapnia i magnezu. *Przegląd Mleczarski*, 2008, 2, 4-10.
34. Ziarno M., Zaręba D., Piskorz J. Wzbogacanie maślanki w wapń, magnez oraz białka serwatkowe. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2009, 2 (63), 14-27.

ALERGENNE WŁAŚCIWOŚCI WYBRANYCH DOLNOŚLĄSKICH NEKTAROWYCH MIODÓW I PYŁKÓW KWIATOWYCH

Streszczenie

Miody nektarowe są naturalnymi produktami wytwarzanymi przez pszczoły z nektarów roślin. Pod względem chemicznym są one wodnymi przesyconymi roztworami cukrów zawierającymi także inne składniki, w tym pyłki kwiatowe i wydzieliny owadzie.

Celem badań było określenie właściwości alergennych wybranych gatunków miodów nektarowych oraz pyłków kwiatowych zebranych w czasie miodobrania w dwóch pasiekach na Dolnym Śląsku.

Ocenę alergennych właściwości przeprowadzono metodą Western-blotting z przeciwciałami detekcyjnymi, których źródłem była surowica osoby uczulonej wobec szerokiego spektrum alergenów pokarmowych (migdały, orzechy laskowe, sezam, soja, mleko, jaja, pszenica) i wziewnych (pyłki traw, brzozy i dębu). Jako przeciwciała II rzędowe zastosowano monoklonalne przeciwciała rozpoznające ludzkie IgE znakowane alkaliczną fosfatazą.

Spośród analizowanych próbek jedynie miód i pyłek wrzosowy wykazywały właściwości alergenne. Stwierdzono, że właściwości immunogenne tego miodu związane były głównie z obecnością frakcji białkowych, których źródłem był pyłek kwiatowy.

Wprowadzenie

Miód jest produkowany przez pszczoły z nektaru roślin lub wydzielin żywych części roślin. Pszczoły przetwarzając te składniki, łączą je z własnymi wydzielinami, gromadzą, odwadniają, a następnie poddają procesowi dojrzewania w plastrach [Majewska, 2009]. Choć w skład miodu wchodzi głównie węglowodany (70-80 %), to w miodach znajdują się też inne składniki, takie jak enzymy, aminokwasy, witaminy, karotenoidy, składniki mineralne czy związki aromatyczne [Bogdanov i in., 2008].

Zawartość poszczególnych składników w miodzie jest różna i zależy od jego gatunku, rejonu zbioru, warunków panujących w czasie miodobrania, a także przechowywania.

Wraz z wydłużającym się czasem przechowywania, zmienia się skład miodu, co wiąże się bezpośrednio z aktywnością biologiczną zawartych w nim składników. Endogenne enzymy, takie jak invertaza, α - i β -glukozydaza, katalaza, kwaśna fosfataza,

diastaza czy oksydazy glukozowe, stanowią ilościowo niewielką, jednak bardzo aktywną frakcję białkową i mogą być przyczyną zmian w składzie miodu. Na przykład diastazy, α - i β - amylaza, hydrolizując wiązania glikozydowe skrobi powodują jej rozpad, a jednocześnie wzrost ilości drobnocząsteczkowych dekstryn i maltozy [Da Silva i in., 2016].

Zawartość białka w miodach jest niewielka, w zależności od gatunku i pochodzenia, może wynosić od 0,1% do 3,3%. Choć ich głównym źródłem są pyłki kwiatowe to pochodzą one także z pozostawionych przez pszczoły wydzielin gruczołów ślinowych i gardłowych, a także nektaru kwiatowego. W miodzie występują wszystkie aminokwasy egzogenne. Spośród nich największy udział ma prolina (50-85%), której głównym źródłem są gruczoły ślinowe pszczół [Truzzi i in., 2014].

Iglesias i in. [2006] zauważyli, że w czasie przechowywania miodów zmienia się też zawartość wolnych aminokwasów. Przez pierwsze sześć miesięcy zwiększa się ilość kwasu asparaginowego, β -alaniny i prolina. Jest to związane z działaniem endogennych proteaz i peptydaz, które uwalniają wolne aminokwasy z białek pyłków kwiatowych pozostawionych w miodzie. Dalsze przechowywanie miodu, powyżej dziewięciu miesięcy, powoduje spadek zawartości wolnych aminokwasów, co jest związane z zachodzeniem reakcji Maillarda. Zmiany jakościowe i ilościowe substancji białkowych w miodach mogą wynikać także z tworzenia się kompleksów białkowo-polifenolowych [Brudziński i in., 2013].

Innym produktem wytwarzanym przez pszczoły podczas miodobrania jest pszczeli pyłek kwiatowy. W czasie zbierania nektaru pszczoły w koszyczkach znajdujących się w tylnej parze odnóży gromadzą roślinny gametocyt, czyli pyłek kwiatowy zmieszany z niewielką ilością śliny lub nektaru. W postaci obnóży przenoszą go do ula i przekazują pszczolom robotnicom, które otwierają gametocyt, pobierają z wnętrza zawartość, przerabiają ją i odkładają w postaci pierzgi. Pyłek kwiatowy stanowi dla pszczół źródło składników warunkujących prawidłowy wzrost i funkcjonowanie rodziny pszczelej. Jest bogatym źródłem substancji biologicznie aktywnych. Zawiera przede wszystkim sacharydy (13-55%), białka i aminokwasy (10-40%), lipidy i kwasy tłuszczowe (1-10%). W mniejszych ilościach występują też związki fenolowe, a także witaminy i biopierwiastki. Skład chemiczny pyłku kwiatowego jest zróżnicowany, zależy od gatunku rośliny, ale także pory zbioru i rejonu geograficznego, w którym wzrastały rośliny pyłkodajne [Paradowska i in., 2014].

Pomimo zawartości wielu cennych składników korzystnie wpływających na organizm człowieka, miody i pyłki kwiatowe dla niektórych osób są źródłem alergenów. Pyłki kwiatowe mogą zawierać alergeny powietrzno pochodne. W 10 g miodu znajduje się od 20 do 10 000 ziaren pyłków, które mogą zachować swoje immunogenne właściwości podczas wytwarzania miodu [Bauer i in., 1996]. Oprócz białek roślinnych w miodzie

mogą występować także białkowe substancje pochodzenia zwierzęcego o właściwościach alergennych. Wydzieliny, takie jak ślina czy mleczko pszczele, pozostawione w czasie wytwarzania miodu przez pszczoły to kolejne zagrożenie dla osób uczulonych.

Alergeny są substancjami białkowymi, które w miodzie występują w niewielkich ilościach, a dodatkowo w czasie jego wytwarzania i przechowywania mogą ulec zmianom. Dlatego pewnie alergia, której jedyną przyczyną byłby miód jest stosunkowo rzadko odnotowywanym zjawiskiem. Występuje zwykle u osób uczulonych także na inne składniki pożywienia czy pyłki roślinne [Bogdanov i in., 2008]. Badania prowadzone w latach 1958-1999 pokazały, że w większości przypadków osoby cierpiące na alergię na miód były także uczulone na pyłki drzew, roślin, traw, ale także białko występujące w jadzie pszczelim [Kędzia i Holderna-Kędzia, 2006].

W Polsce produkcja miodu ma wielowiekową tradycję. Według danych Oddziału Pszczelarstwa w Puławach w 2014 roku produkcja miodów wynosiła 14 tys. ton, a najwięcej miodu wyprodukowano na Dolnym Śląsku (1669 ton). Choć wiele badań poświęcono ich dobroczynnemu działaniu na organizm człowieka to nadal brak jest szczegółowych informacji na temat ich potencjalnych właściwości alergennych.

Celem badań było określenie właściwości alergennych wybranych gatunków miodów nektarowych oraz odpowiadających im pyłków kwiatowych zebranych w pasiekach na Dolnym Śląsku.

Materiał i metody

Materiał do badań stanowiło pięć miodów nektarowych: dwa lipowe pochodzące z dwóch różnych pasiek, rzepakowy, lipowy z domieszką gryki i wrzosowy oraz odpowiadające im pyłki kwiatowe. Materiał zebrany został podczas miodobrania w 2015 roku, jedynie miód i pyłek wrzosowy w 2013 roku. Miody i pyłki pochodziły z dwóch pasiek znajdujących się na Dolnym Śląsku: większość z Przemkowa położonego na północnym krańcu Borów Dolnośląskich, a jeden, miód i pyłek lipowy, z Nowego Kościoła na Pogórzu Kaczawskim w Sudetach.

Z badanego materiału wyekstrahowano białka przy pomocy buforu octanowego o pH 5,0 w proporcji 1 ml buforu, 1 g miodu lub 0,2 g pyłku kwiatowego. Ekstrakcję prowadzono w temperaturze pokojowej wytrząsając próby na rotatorze przez 1 godzinę. Następnie próby wirowano 30 minut (4°C, 5500 x g), osad odrzucano, a pozostawiano supernatant zawierający wyekstrahowane białka, który posłużył do dalszych analiz.

Stężenie białka w ekstraktach oznaczono metodą Bradford [1976], rekomendowaną przez Azeredo i in. [2003] do oznaczania zawartości białka rozpuszczalnego w miodach. Oznaczenia wykonano w trzech powtórzeniach. Z uzyskanych wyników wyznaczono średnią oraz odchylenie standardowe.

Do zweryfikowania istotności różnic pomiędzy średnimi zastosowano test Tukey'a. Na poziomie istotności $\alpha = 0,05$.

Charakterystykę układów białkowych przeprowadzono na podstawie obrazów uzyskanych po elektroforezie SDS-PAGE w układzie dwufazowym [Laemmli, 1970]. Przed przystąpieniem do rozdzielania elektroforetycznego próby mieszano z buforem lizującym (w stosunku 4:1, v:v), denaturowano 5 minut w temp. 95°C, a następnie nakładano do studzienek w żelu. Rozdział prowadzono w aparacie Mini-PROTEAN Tetra Cell, BioRad w 14% żelu rozdzielającym o grubości 1 mm, przy stałym napięciu 180 V. Po rozdzielaniu, białka w żelu wybarwiono barwnikiem Coomassie Brilliant Blue R250. Następnie poddano je analizie densytometrycznej w programie CLIQS firmy Totalab, jako wzorzec mas cząsteczkowych stosowano Unstained Protein Molecular Weight Marker (Thermo Scientific 26610)

Alergenne właściwości miodów i pyłków kwiatowych badano metodą Western-blotting. Rozdzielone elektroforetycznie białka przenoszono z żelu na membranę PVDF za pomocą sił ciężkości przez ok. 16 godzin w temperaturze pokojowej. Następnie membrany płukano w buforze TBS-Tween o pH 7,4 i blokowano przez 45 minut roztworem 1% żelatyny w TBS-Tween o pH 7,4. Immunodetekcję przeprowadzono przy pomocy przeciwciał IgE zawartych w surowicy osoby uczulonej w stosunku do szerokiego spektrum alergenów pokarmowych i wziewnych. Surowicę pobrano od pacjenta Specjalistycznego Niepublicznego Zakładu Opieki Zdrowotnej Alergologia Plus w Poznaniu. Stężenie specyficznych IgE w surowicy zastosowanej w badaniach przedstawiono w tabeli 1. Do badań surowicę rozcieńczano buforem TBS-Tween z dodatkiem 1% żelatyny w stosunku 1:32. Jako przeciwciała II rzędowe zastosowano monoklonalne przeciwciała rozpoznające ludzkie IgE znakowane alkaliczną fosfatazą (SIGMA A3076 rozcieńczone buforem TBS-Tween z dodatkiem 1% żelatyny w stosunku 1:1000). Wybarwianie membran prowadzono stosując Nitro blue tetrazolium (NBT; Calbiochem, nr kat. 203788) wraz z 5-Bromo-4-chloro-3-indolyl phosphate (BCIP; Calbiochem, nr kat. 484235). Następnie membrany skanowano i poddawano analizie densytometrycznej, jako wzorzec mas cząsteczkowych stosowano Prestained Protein Molecular Weight Marker (Thermo Scientific 26612).

Tabela 1. Charakterystyka surowicy zastosowanej w badaniach pod kątem zawartości specyficznych IgE, określona testem Polycheck®

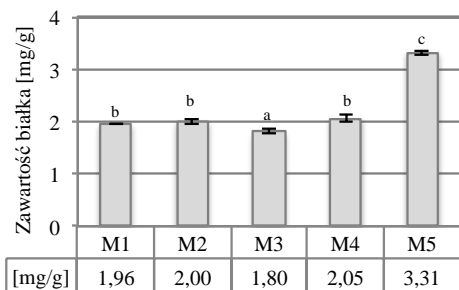
Alergen	Klasa alergii	Stężenie przeciwciał IgE [kU/l]
Migdał	6	>100
Orzech laskowy	6	>100
Sezam	6	>100
Soja	6	>100
Białko jaja kurzego	6	100
Białko i żółtko jaja kurzego	4	24,0
α -Laktoalbumina	3	3,6
Mąka pszenna	3	3,6
Mąka żytnia	3	8,9
Mieszanka mąki	3	8,3
Orzech włoski	3	4,3
Orzech ziemny	3	4,8
Żółtko jaja kurzego	3	4,2
β -Laktoglobulina	2	2,1
Mleko	2	1,4
Pomidor	2	1,1
Trawy – mix	2	0,8
Albumina surowicy bydłowej	1	0,4
Banan	1	0,4
Pyłek brzozy i dębu	1	0,4

Wyniki i dyskusja

Na rysunku 1. przedstawiono wyniki oznaczenia zawartości białka wyekstrahowanego w badanych miodach i pyłkach kwiatowych. Spośród analizowanych miodów jedynie miód wrzosowy różnił się od pozostałych statystycznie istotnie zawartością białka, która była o ok. 40 % wyższa od pozostałych. Miód wrzosowy jest miodem późnym, a pszczoły zbierając go, chcą zapewnić rodzinie pszczelej wszystkie składniki odżywcze niezbędne do przetrwania trudnego dla niej okresu zimowego. Szczególne znaczenie mają tu białka rozpuszczalne, które stanowią nie tylko źródło azotu, ale także substancji aktywnych biologicznie, takich jak enzymy [Schafer i in., 2006]. Dodatkowo na zwiększenie zawartości białka rozpuszczalnego w miodzie wrzosowym mógł mieć fakt, że miód ten jako jedyny był miodem dwuletnim. W czasie przechowywania endogenne enzymy zawarte w miodzie, powodując hydrolizę białek, jednocześnie powodują powstawanie rozpuszczalnych peptydów.

Głównym źródłem białka w miodach są pyłki kwiatowe. Badane pyłki pobrane z pasiek, w których odbywało się miodobranie różniły się zawartością białka

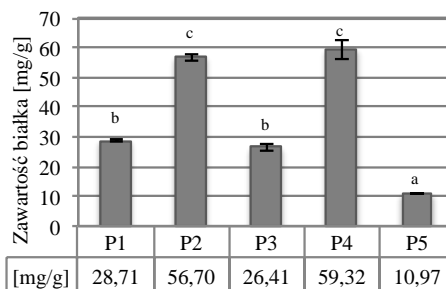
rozpuszczalnego. Najwięcej zawierały pyłki lipowy z Nowego Kościoła oraz mieszany lipowo-gryczany z Przemkowa. Natomiast w porównaniu do nich pyłek wrzosowy miał aż 5 razy mniej białka.



^{a,b,c} Wartości oznaczone różnymi literami różnią się statystycznie istotnie na poziomie $\alpha=0,05$

M – MIODY:

1. Lipowy Przemków
2. Lipowy Nowy Kościół
3. Rzepakowy Przemków
4. Lipowy z domieszką gryki Przemków
5. Wrzosowy Przemków



^{a,b,c} Wartości oznaczone różnymi literami różnią się statystycznie istotnie na poziomie $\alpha=0,05$

P – PYŁKI KWIATOWE:

1. Mieszany Przemków
2. Lipowy Nowy Kościół
3. Rzepakowy Przemków
4. Lipowy z domieszką gryki Przemków
5. Wrzosowy Przemków

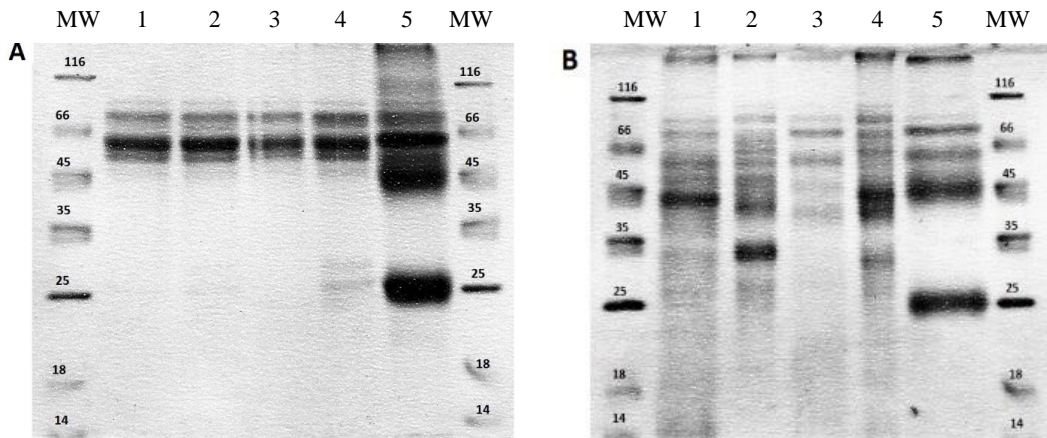
Rysunek 1. Zawartość białka rozpuszczalnego w badanych dolnośląskich miodach i pyłkach kwiatowych

Na rysunku 2. przedstawiono obrazy uzyskane po rozdziale elektroforetycznym białek wyekstrahowanych z miódów i pyłków kwiatowych, a w tabeli 2. i 3. wyniki analizy densytometrycznej. Na ich podstawie określono masy cząsteczkowe poszczególnych frakcji białkowych oraz ich udział procentowy w ekstraktach.

Analiza białek wyekstrahowanych z badanych miódów wykazała, że wszystkie zawierają frakcje o masach cząsteczkowych ok. 93, 79, 58 i 47 kDa, i za wyjątkiem miodu wrzosowego, wszystkie mają zbliżony profil białkowy (rysunek 2A, Tab. 2) z dominującym białkiem o masie 58 kDa. Dodatkowo w miodzie lipowym z domieszką gryki stwierdzono obecność trzech frakcji białkowych o niewielkim udziale procentowym o masach 23, 25 i 29 kDa. Natomiast znacząco różnił się od pozostałych profil białkowy miodu wrzosowego. Stwierdzono w nim obecność białek o wyższych masach cząsteczkowych, tj. 160 i 113 kDa, a także frakcji o masie 25 kDa, która była dominująca w tym miodzie.

Pomimo, że obrazy elektroforetyczne białek wyekstrahowanych z pyłków różniły się od tych wyekstrahowanych z miodu, to we wszystkich stwierdzono obecność frakcji białkowych, które występowały w miodach, tj. o masach 93, 73 i 58 kDa. W przypadku pyłków najczęściej frakcji białkowych odnotowano w próbkach

o największej zawartości białka, tj. lipowym z Nowego Kościoła oraz lipowym z domieszką gryki.



MIODY

1. Lipowy Przemków
2. Lipowy Nowy Kościół
3. Rzepakowy Przemków
4. Lipowy z domieszką gryki Przemków
5. Wrzosowy Przemków

PYŁKI KWIATOWE

1. Mieszany z Przemków
2. Lipowy Nowy Kościół
3. Rzepakowy Przemków
4. Lipowy z domieszką gryki Przemków
5. Wrzosowy Przemków

MW – Marker mas cząsteczkowych

Rysunek 2. Elektroforegramy badanych miodów (A) i odpowiadających im pyłków kwiatowych (B)

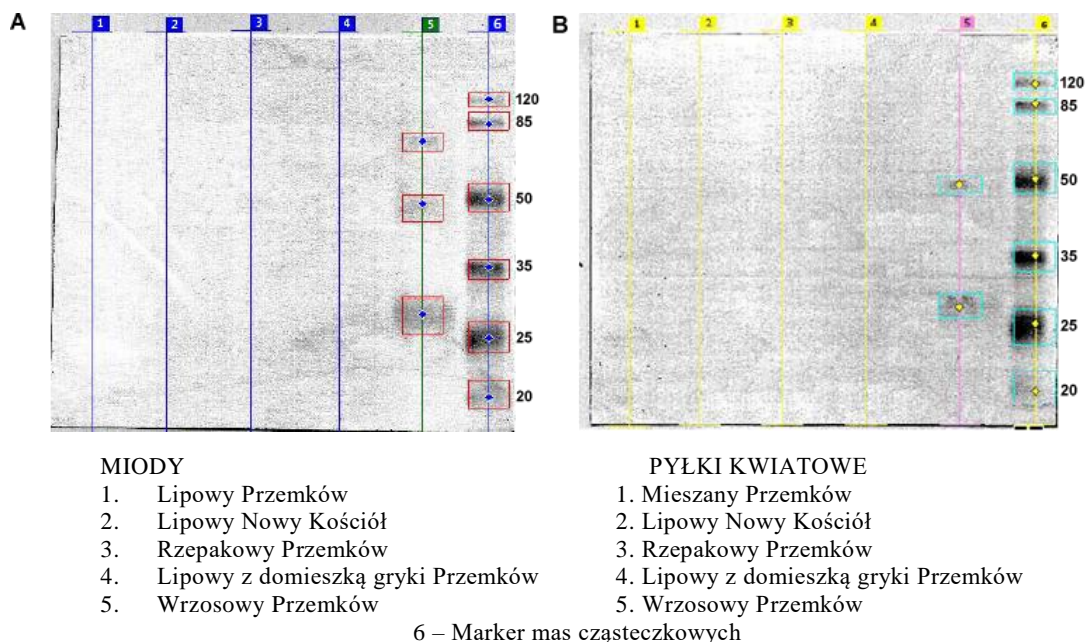
Tabela 2. Masy cząsteczkowe oraz procentowy udział frakcji białkowych badanych miodów

Nr Prążka	Miód lipowy z Przemkowa		Miód lipowy z Nowego Kościoła		Miód rzepakowy		Miód lipowy z domieszką gryki		Miód wrzosowy	
	Udział	MW	Udział	MW	Udział	MW	Udział	MW	Udział	MW
	% ścieżki	(kDa)	% ścieżki	(kDa)	% ścieżki	(kDa)	% ścieżki	(kDa)	% ścieżki	(kDa)
1	5	93	4	93	4	93	3	93	6,8	160
2	22	79	25	79	25	79	23	79	1,5	113
3	70	58	69	58	69	58	58	58	0,3	93
4	3	47	2	47	2	47	5	47	6,0	79
5							3	29	15,5	59
6							5	25	34,2	45
7							3	23	35,7	25

Tabela 3. Masy cząsteczkowe (MW) oraz procentowy udział frakcji białkowych badanych pyłków kwiatowych

Prążek	PYLEK KWIATOWY									
	Mieszany		Lipowy		Rzepakowy		Lipowy z gryką		Wrzosowy	
	Udział	MW	Udział	MW	Udział	MW	Udział	MW	Udział	MW
	% ścieżki	(kDa)	% ścieżki	(kDa)	% ścieżki	(kDa)	% ścieżki	(kDa)	% ścieżki	(kDa)
1	17	157	13	157	21	157	13	157	13	157
2	7	93	12	93	6	93	4	92	10	79
3	9	79	7	79	18	79	4	79	8	59
4	15	58	2	62	24	58	4	59	30	45
5	6	50	5	58	11	46	50	45	37	25
6	39	45	5	48	20	40	14	43		
7	7	27	14	42			12	32		
8			36	35			5	31		
9			2	27						

Na rysunku 3. przedstawiono obrazy membran po analizie Western-blotting białek badanych miodów i pyłków kwiatowych z surowicą osoby uczulonej na szereg alergenów pokarmowych i wziewnych. Uzyskane obrazy membran pokazują, że jedynie białka zawarte w miodzie i pyłku wrzosowym mają właściwości immunogenne. Przeciwciała IgE znajdujące się w surowicy osoby uczulonej rozpoznały determinanty antygenowe znajdujące się na powierzchni białek wyekstrahowanych z pyłku i miodu wrzosowego. Przeprowadzona analiza densytometryczna pozwoliła stwierdzić, że są to białka o masach 27 i 49 kDa, a w przypadku miodu wrzosowego także o masie 70 kDa (Tab. 4). Wcześniejsze badania dotyczące identyfikacji alergennych białek w różnych gatunkach miodów nie pozwoliły na wskazanie jednej alergennej frakcji występującej we wszystkich miodach. Za alergenne uznawano białka o masach cząsteczkowych 138, 116, 110, 60 i 54 kDa [Hayashi i in., 2011], 54 i 60 kDa [Yadzir i in., 2011], 57 i 29 kDa [Ibero i in., 2002], 54, 46, 17 i 16 kDa [de la Torre i in., 1997], 72, 60, 54, 33 i 30 kDa [Bauer i in., 1996], 54, 60, 72 i 30 kDa [Florida-Lopez i in., 1995]. Tak duża różnorodność w zakresie mas cząsteczkowych alergennych frakcji miodów zidentyfikowanych w badanych wcześniej miodach związana jest z faktem, że prezentowane w literaturze badania dotyczyły różnych gatunków miodów, które zostały zebrane w różnych rejonach świata. Miody oprócz potencjalnie alergennych białek pochodzących z pyłków roślin owadopylnych często zawierają także pyłek roślin wiatropylnych, które również mogą wpływać na ich immunogenność. Średnia zawartość pyłku roślin wiatropylnych może wynosić nawet 6,5% [Kruczek i in., 2015].



Rysunek 3. Obrazy membran uzyskanych po analizie Western-blot białek zawartych w miodach (A) i pyłkach kwiatowych (B) z surowicą osoby uczulonej

Tabela 4. Charakterystyka alergennych frakcji białkowych zawartych w miodzie i pyłku wrzosowym

Prążek	Miód wrzosowy		Pyłek wrzosowy	
	Powierzchnia [% ścieżki]	Masa cząsteczkowa [kDa]	Powierzchnia [% ścieżki]	Masa cząsteczkowa [kDa]
1	6	70	37	49
2	26	49	63	27
3	68	27		

Podsumowanie i wnioski

Spśród analizowanych miodów zebranych w pasiekach zlokalizowanych na Dolnym Śląsku tylko miód wrzosowy różnił się od pozostałych zarówno zawartością białka wyekstrahowanego, jak również profilem białkowych frakcji. Miód ten też jako jedyny zawierał białka immunogenne rozpoznawane przez przeciwciała IgE zawarte w surowicy osoby uczulonej.

Analizowane pszczele pyłki kwiatowe różniły się zarówno zawartością białka rozpuszczalnego, jak również profilem białkowym. Jednak w przypadku badanych

pyłków tylko białka zawarte w pyłku wrzosowym wykazywały właściwości alergenne.

Analiza Western-blotting pokazała, że za alergenne właściwości miodu i pyłku wrzosowego odpowiadają frakcje białkowe o tych samych masach cząsteczkowych, (49 i 27 kDa). Dodatkowo w miodzie stwierdzono obecność jeszcze jednej alergennej frakcji białkowej o masie cząsteczkowej 70 kDa.

Literatura

1. Azeredo L. da A., Azeredo M.A.A., de Souza S.R., Dutra V.M.L. Protein contents and physicochemical properties in honey samples of *Apis mellifera* of different floral origins. *Food Chemistry*, 2003, 80, 249-254.
2. Bauer L., Kohlich A., Hirschwehr R., Siemann U., Ebner H., Scheiner O., Kraft D., Ebner Ch. Food allergy to honey: Pollen or bee products? *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 1996, 97, 65-73.
3. Bogdanov S., Jurendic T., Sieber R., Gallmann P. Honey for Nutrition and Health: a Review. *American Journal of Coll of Nutr*, 2008, 27, 677-689.
4. Bradford M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 1976, 72, 248-254.
5. Brudzyński K., Sjaarda C., Maldonado-Alvarez L. A new look on protein-polyphenol complexation during honey storage: Is this a random or organized event with the help of dirigent-like protein? *PLoS One*, 2013, 8, 1-9.
6. Da Silva P.M., Gauche C., Gonzaga L.V., Costa A.C.O. Honey: Chemical composition, stability and authenticity. *Food Chemistry*, 2016, 196, 309-323.
7. De la Torre F., Garcia J.C., Martinez A., Martinez J., Palacios R. IgE binding proteins in honey: discussion on their origin. *Journal of Investigational Allergology and Clinical Immunology*, 1997, 7 (2), 83-89.
8. Florida-Lopez J.F., Gonzales-Delgado P., Pedro B.S., Arias de Saavedra J.M., Marin-Pozo J.F. Allergy to natural honeys and camomile tea. *International Archives of Allergy and Immunology*, 1995, 108, 170-174.
9. Hayashi T., Takamatsu N., Nakashima T., Arita T. Immunological Characterization of Honey Proteins and Identification of MRJP 1 as an IgE-Binding Protein. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, 2011, 75 (3), 556-560.
10. Ibero M., Castillo M.J., Pineda F., Palacios R., Martinez J. Whole bee for diagnosis of honey allergy. *Allergy*, 2002, 57, 557-558.
11. Iglesias M.T., Martin-Alvarez P.J., Polo M.C., Lorenzo C., Gonzalez M., Pueyo E.N. Changes in the free amino acid contents of honeys during storage at ambient temperature. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 2006, 54, 9099-9104.
12. Kędzia B., Holderna-Kędzia E. Alergenne działanie miodu pszczelego. *Acta Agrobotanica*, 2006, 59 (1), 257 -263.
13. Kruczek A., Stacewicz A., Puc M. Pyłek kwiatowy w produktach pszczelich. *Alergoprofil*, 2015, 11 (2), 41-44.
14. Laemmli U.K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*, 1970, 227, 680-685.
15. Majewska E. Porównanie wybranych właściwości miodów pszczelich jasnych i ciemnych. *Nauka Przyroda Technologie*, 2009, 3 (4), 143.
16. Paradowska, K., Zielińska A., Krawiec N. Skład i właściwości antyoksydacyjne barwnych frakcji wyodrębnionych z pszczelego pyłku kwiatowego. *Postępy Fitoterapii*, 2014, 4, 209-2015.
17. Schafer M.O., Dieteman V., Pirk C.W.W., Neumann P., Crewe R.M., Hepburn H.R., Tautz J., Crailsheim K. Individual versus social pathway to honeybee worker reproduction (*Apis mellifera*): pollen or jelly as protein source for oogenesis? *Journal of Comparative Physiology A*, 2006, 192 (7), 761-768.

18. Truzzi C., Annibaldi A., Illuminati S., Finale C., Scarponi G. Determination of proline in honey: Comparison between official methods optimization and validation of the analytical methodology. *Food Chemistry*, 2014, 150, 477-481.
19. Yadzir Z.H.M., Misnan R., Abdullah N., Arip M., Murad S. Identification of Major Allergens of Wildflower Honey. *Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health*, 2011, 42 (2), 370-375.

PARTNERZY I SPONSORZY



<http://www.krakow.pl/biznes/>



Ergo Solutions
30-438 Kraków,
ul. Borkowska 9/6
Tel. 12 445 64 49
email: info@ergosol.pl
<http://www.ergosol.pl/>



LECO Polska Sp. z o.o.
Ul. Czarna 4,
43-100 Tychy
Tel: 32 200 0760
e-mail: info_PL@leco.com
<http://www.leco-europe.com>

Genore
chromatografia

Genore chromatografia
dr Jacek Malinowski
ul. Warszawska 99, pok.12,
05-123 Olszewnica Stara
tel. 22 40 107 34,
Biuro Lublin: 22 40 107 35,
fax: 22 40 107 36
e-mail: info@genore.pl
<http://www.genore.pl>



Polygen sp. z o.o.
Ul. Górnych Wałów 46/1
44-100 Gliwice
Tel.: 32 2388 195
Fax: 32 2388 160
Kom.: 601 488340
e-mail: polygen@polygen.com.pl
www.polygen.com.pl



"SHIM-POL A.M. Borzymowski"
E.Borzymowska-Reszka A. Reszka Spółka
Jawna

ul. Lubomirskiego 5
05-080 Izabelin
Tel: 22 7227048
biuro@shim-pol.pl