

**POLSKIE TOWARZYSTWO TECHNOLOGÓW ŻYWNOŚCI
ODDZIAŁ MAŁOPOLSKI**

**UNIwersytet Rolniczy im. Hugona Kollątaja
w Krakowie
Wydział Technologii Żywności**

KOMITET NAUK O ŻYWNOŚCI PAN



**POLSKIE TOWARZYSTWO
TECHNOLOGÓW ŻYWNOŚCI
ODDZIAŁ MAŁOPOLSKI**



ŻYWNOŚĆ PROJEKTOWANA DESIGNED FOOD

Część III

**Maria Walczycka, Grażyna Jaworska,
Aleksandra Duda-Chodak, Tomasz Tarko**

(redaktorzy)

Recenzenci Naukowi

Prof. dr hab. dr hc. Antoni Rutkowski
Prof. dr hab. Danuta Kołożyn-Krajewska

Prof. Aleksander Dandar, Słowacja

Prof. dr hab. Tadeusz Sikora
Prof. dr hab. inż. dr hc. Mieczysław Pałasiński
Prof. dr hab. Teresa Fortuna
Prof. dr hab. inż. Grażyna Jaworska
Dr hab. Elżbieta Sikora, prof. UR
Prof. dr hab. inż. Władysław Migdał
Prof. dr hab. inż. Krzysztof Surówka
Dr hab. inż. Piotr Gębczyński

Redakcja

Dr inż. Maria Walczycka
Prof. dr hab. inż. Grażyna Jaworska
Dr Aleksandra Duda-Chodak
Dr inż. Tomasz Tarko

Opracowanie graficzne

Dr inż. Tomasz Tarko
Dr Aleksandra Duda-Chodak

Wydawca

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

© *Copyright by Polskie Towarzystwo Technologów Żywności, Kraków 2011*

Wydanie publikacji finansowane przez
Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego

ISBN 978-83-932389-2-7

Materiały zostały wydrukowane w wersji przygotowanej przez Autorów

Partnerzy Wydania



**Browary
Polskie**



SPIS TREŚCI

Rozdział 1	7
Renata BIEŻANOWSKA-KOPEĆ, Katarzyna GALAS, Teresa LESZCZYŃSKA Wpływ obróbki termicznej na podstawowy skład chemiczny cebuli (<i>Allium cepa</i> L.)	
Rozdział 2	16
Grażyna JAWORSKA, Emilia BERNAŚ, Aleksandra SKRZYPCZAK, Adriana BIERNACKA, Adam SIDOR Porównanie jakości konserw sterylizowanych z bocznika ostrygowatego (<i>Pleurotus ostreatus</i> (Jacq.: Fr.) Kumm.) i pieczarki dwuzarodnikowej (<i>Agaricus bisporus</i> (Lange) Sing.)	
Rozdział 3	32
Agnieszka FILIPIAK-FLORKIEWICZ, Kinga TOPOLSKA, Ewa CIEŚLIK Wpływ metody ekstrakcji na zawartość związków fenolowych i aktywność antyoksydacyjną wybranych owoców i warzyw	
Rozdział 4	43
Agnieszka FILIPIAK-FLORKIEWICZ, Katarzyna DEREŃ, Kinga TOPOLSKA, Adam FLORKIEWICZ, Ewa CIEŚLIK Oznaczenie zawartości związków fenolowych i witaminy C, jak również potencjału antyoksydacyjnego owoców pigwy (<i>Cydonia oblonga</i> Mill)	
Rozdział 5	52
Agnieszka FILIPIAK-FLORKIEWICZ, Adam FLORKIEWICZ, Katarzyna DEREŃ, Kinga TOPOLSKA, Ewa CIEŚLIK, Krzysztof KRZYSZTOFORSKI Porównanie wybranych cech fizykochemicznych i właściwości spulchniających jaj pochodzących z ferm stosujących różne metody hodowli/żywienia kur	
Rozdział 6	59
Ewa ŻARY-SIKORSKA, Hanna CZOK Oszacowanie spożycia kofeiny w dziennej racji pokarmowej w wybranej grupie populacyjnej	
Rozdział 7	75
Estera NOWACKA, Teresa LESZCZYŃSKA, Aneta KOPEĆ, Katarzyna PYSZ-IZDEBSKA Ocena pobrania przez kajakarzy slalomistów wybranych składników mineralnych, pochodzących z całodziennych racji pokarmowych, suplementów diety i środków specjalnego przeznaczenia żywieniowego	
Rozdział 8	88
Paweł SROKA, Tomasz TARKO, Aleksandra DUDA-CHODAK, Piotr BŁASIAK Wpływ warunków fermentacji na skład chemiczny odfermentowanych zacierów z mąki kukurydzianej	
Rozdział 9	101
Iwona DROŻDŻ, Małgorzata MAKAREWICZ, Paulina RACHWAŁSKA, Aleksandra DUDA-CHODAK Wykorzystanie metod klasycznych i molekularnych do identyfikacji mikroorganizmów występujących w psujących się winach	

WPLYW OBRÓBKI TERMICZNEJ NA PODSTAWOWY SKŁAD CHEMICZNY CEBULI (*ALLIUM CEPA* L.)

Renata Bieżanowska-Kopec, Katarzyna Galas, Teresa Leszczyńska

*Katedra Żywienia Człowieka, Wydział Technologii Żywności
Uniwersytet Rolniczy w Krakowie, e-mail: rbiezanowska-kopec@ar.krakow.pl*

Streszczenie

Celem pracy było określenie wpływu dwóch procesów termicznych, tj. gotowania i mikrofalowania, na zmiany zawartości niektórych składników odżywczych, w zależności od zabarwienia następujących odmian cebuli: 2 brązowych (Takstar, Petra), 2 żółtych (Efekt, Grabowska), 2 czerwonych (Scarlet i Wenta) i 2 białych (Albion i Alibaba).

Przeprowadzono następujące zabiegi: gotowanie (150 ml wody przez 10 min) oraz mikrofalowanie (5 min, 900 W).

Zastosowane procesy termiczne wpłynęły istotnie ($P < 0,05$) jedynie na obniżenie zawartości tłuszczów. Cebule mikrofalowane charakteryzowały się na ogół wyższą zawartością składników odżywczych, w porównaniu z gotowanymi.

Nie stwierdzono istotnych różnic pomiędzy zawartością analizowanych składników w produkcie surowym, w przeliczeniu na suchą masę. Jedynie brązowe odmiany cebuli charakteryzowały się nieistotnie wyższą zawartością witaminy C, natomiast w odmianach czerwonych było najmniej tego składnika.

Słowa kluczowe: cebula, gotowanie, mikrofalowanie, składniki odżywcze

Wprowadzenie

Cebula (*Allium cepa* L.) jest jedną z najstarszych uprawianych roślin. Bulwy cebuli są wykorzystywane nie tylko ze względu na swoje walory smakowe, ale są one również źródłem witamin, minerałów, a także flawonoidów, fruktooligosacharydów czy terpenów. Ze względu na swój skład, cebula charakteryzuje się wieloma właściwościami

prozdrowotnymi. Jako źródło antyoksydantów w racji pokarmowej człowieka, może chronić organizm przed działaniem wolnych rodników, które są odpowiedzialne nie tylko za starzenie się organizmu, ale również za choroby układu krążenia, choroby neurologiczne i inne dysfunkcje związane ze stresem oksydacyjnym [Osmont i wsp. 2003; Dini i wsp. 2008; Gökçe i wsp. 2010; Pérez-Gregorio i wsp. 2010; Vidyavati i wsp. 2010].

Fruktany zawarte w cebuli, zaliczane do prebiotyków, stymulują wzrost korzystnej dla jelita grubego mikroflory (*Lactobacillus* i *Bifidobacterium*) [Grzelak 2006], ograniczając tym samym ryzyko rozwoju niektórych chorób dietozależnych, między innymi raka jelita grubego. Ponadto *Allium cepa* L. wykazuje właściwości hipoglikemiczne [Sharaf 1967; August i wsp. 1974].

Cebula, zarówno w postaci surowej jak i po obróbce termicznej, stanowi istotny składnik potraw w kuchniach całego świata. Pomędzy krajami i regionami występują znaczne różnice w konsumpcji tego warzywa, jednakże na przestrzeni kilku ostatnich lat można zaobserwować wzrost jej spożycia [Rumpel 2003; Sliestad i wsp. 2007]. Bulwy cebuli spożywane są nie tylko na surowo, ale także poddawane są różnym procesom. W trakcie obróbki termicznej cebuli następują zmiany właściwości sensorycznych, może też dochodzić do zmian w zawartości składników pokarmowych. Ocenie zawartości składników pokarmowych w surowych bulwach tego warzywa poświęcono wiele prac [Nieuwhof i wsp. 1973; Rumpel 2003; Hopkins 2008; Galdón i wsp. 2009; Benitez i wsp. 2011]. W dostępnej literaturze brak jest natomiast informacji na temat zmian zawartości składników odżywczych pod wpływem obróbki termicznej cebuli.

Celem badań było określenie wpływu wybranych procesów termicznych, tj. gotowania i mikrofalowania, na zmiany ilościowe w podstawowym składzie chemicznym wybranych odmian cebuli, w zależności od ich zabarwienia.

Materiał i metody badań

Materiał badawczy stanowiły bulwy ośmiu polskich odmian cebuli (*Allium cepa* L.): Petra, Takstar (odmiany brązowe), Efekt, Grabowska (odmiany żółte), Scarlett, Wenta (odmiany czerwone), Albion i Alibaba (odmiany białe). Warzywa pochodziły z Małopolskiej Stacji Doświadczalnej Oceny Odmian z siedzibą w Węgrzcach, koło Krakowa. Cebulę przechowywano w warunkach chłodniczych w temp. 4÷5°C.

Próbę odniesienia stanowiły surowe bulwy cebuli. Zastosowano następujące zabiegi termiczne: (1) gotowanie w wodzie w warunkach normalnego ciśnienia, przez 10 min w 150 ml wody; (2) traktowanie polem mikrofalowym (Panasonic Dimension 4), przez 5 min, 900 J/s. Do analiz pobierano cebule o zróżnicowanej wielkości, wykrawano $\frac{1}{4}$ bulwy wzdłuż jej osi, dokładnie rozdrabniano i mieszano. Tak przygotowany materiał zamrażano (-20°C), liofilizowano i mielono, a następnie przechowywano w hermetycznie zamkniętych pojemnikach do czasu przeprowadzania analiz.

Podstawowy skład chemiczny cebuli (zawartość: suchej masy, białek ogółem, tłuszczów ogółem i sumy składników mineralnych w postaci popiołu) oznaczano standardowymi metodami AOAC [1995], a łączną zawartość węglowodanów wyliczano z różnicy pozostałych oznaczonych składników. Zawartość witaminy C oznaczano jako sumę kwasu askorbinowego i dehydroaskorbinowego metodą miareczkową, zgodnie z PN-A-04019:1998.

Analizy badanego materiału wykonano w dwóch powtórzeniach. W celu przedstawienia charakterystyki surowca wyniki podano w przeliczeniu na świeżą masę produktu. Porównanie wpływu procesów termicznych na zmiany zawartości omawianych składników, przedstawiono w oparciu o średnie wyniki z dwóch odmian warzywa o tym samym zabarwieniu bulwy, w przeliczeniu na suchą masę.

Uzyskane dane poddano jednoczynnikowej (ocena istotności różnic pomiędzy odmianami) oraz dwuczynnikowej (wpływ procesu na różnice w zawartości składników w zależności od barwy) analizie wariancji przy użyciu testu Duncana, na poziomie istotności $P < 0,05$.

Wyniki i dyskusja

Szczegółowe wyniki oznaczeń badanych składników w surowych bulwach cebuli, zamieszczono w tabeli 1, natomiast zawartość tych składników po zastosowanych procesach termicznych zamieszczono w tabeli 2.

Zawartość suchej masy w surowej cebuli różnych odmian wynosiła 7,8-12,1%. Wyniki te korelują z wynikami Galdóna i wsp. [2009], u których ilość tego składnika wynosiła 7,5-8,6%. Oznaczona zawartość suchej masy była zbliżona również do wyników przedstawionych przez Rumpela [2003], które wynosiły 11,2-12,4%. Podobne oraz wyższe wartości osiągnęli Abhayawick i wsp. [2002] (8-17%) oraz Nieuwhofa i wsp. [1973] (9,0-17,9%).

Tabela 1. Skład chemiczny surowych odmian cebuli [g/100 g produktu]

Odmiana	Barwa	Składniki chemiczne							
		Sucha masa	Wartość energetyczna	Białko	Tłuszcze	Węglowodany	Witamina C	Popiół ogółem	
Takstar	Brazowa	7,82±0,00 ^e	30,31±0,09 ^e	0,98±0,01	0,07±0,003 ^{de}	6,44±0,02 ^f	11,90±0,28 ^a	0,33±0,02 ^d	
Petra		12,10±0,61 ^b	47,06±2,52 ^b	1,48±0,02 ^b	0,10±0,001 ^a	10,06±0,65 ^b	7,84±0,16 ^b	0,46±0,02 ^c	
Efekt	Żółta	11,61±0,14 ^b	44,7±0,51 ^b	1,20±0,09 ^d	0,06±0,01 ^e	9,84±0,47 ^{bc}	7,42±0,64 ^b	0,50±0,07 ^c	
Grabowska		9,35±0,27 ^d	35,61±1,02 ^d	1,10±0,01 ^e	0,09±0,01 ^{ab}	7,60±0,23 ^e	6,06±0,43 ^c	0,56±0,02 ^b	
Scarlet	Czerwona	13,81±0,19 ^a	52,75±0,70 ^a	1,36±0,03	0,07±0,001 ^{cd}	11,67±0,15 ^a	4,89±0,00 ^d	0,71±0,01 ^a	
Wenta		11,65±0,02 ^b	44,73±0,11 ^b	1,53±0,07 ^b	0,09±0,001 ^b	9,45±0,04 ^{bcd}	6,82±0,22 ^{bc}	0,58±0,01 ^b	
Albion	Biała	10,74±0,03 ^c	41,07±0,07 ^b	1,30±0,01 ^{cd}	0,07±0,00 ^{cdte}	8,81±0,01 ^d	5,92±0,64 ^c	0,56±0,05 ^b	
Alibaba		11,63±0,38 ^b	44,48±1,59 ^c	1,66±0,02 ^a	0,08±0,004 ^c	9,28±0,41 ^{cd}	7,84±0,60 ^b	0,61±0,08 ^b	
Średnia		11,09±0,77	42,59±6,77	1,33±0,22	0,08±0,01	9,14±1,55	7,34±2,06	0,54±0,11	

Objaśnienia: Wartości średnie w kolumnach oznaczone różnymi literami różnią się istotnie w odniesieniu do odmian dla P<0,05 (a, b, c, d)

Tabela 2. Skład chemiczny bulw cebuli determinowany wpływem procesów termicznych [g/100 g s.m.]

Proces technologiczny	Barwa	Składniki chemiczne					
		Białka	Tłuszcze	Węglowodany	Witamina C	Popiół ogółem	
Proba kontrolna (Cebula surowa)	Brązowa	12,36±0,28 ^a	0,74±0,07 ^{ab}	82,80±0,62 ^a	108,46±50,44 ^a	4,02±0,31 ^a	
	Żółta	11,06±0,92 ^a	0,85±0,20 ^a	83,05±1,05 ^a	64,34±4,15 ^{ab}	5,15±1,00 ^a	
	Czerwona	11,49±1,90 ^a	0,67±0,02 ^{abc}	82,85±0,78 ^a	47,01±13,40 ^{ab}	5,02±0,12 ^a	
	Biała	13,19±1,29 ^a	0,56±0,19 ^{abcd}	80,98±2,50 ^a	61,25±8,40 ^{ab}	5,20±0,28 ^a	
	Średnia dla procesu	12,03±1,40 ^A	0,71±0,18 ^A	82,42±1,69 ^A	70,27±33,57 ^A	4,85±0,69 ^A	
Gotowanie	Brązowa	12,28±1,02 ^a	0,36±0,09 ^{cd}	83,47±1,64 ^a	84,15±35,97 ^{ab}	3,85±0,25 ^a	
	Żółta	12,29±0,89 ^a	0,33±0,06 ^{cd}	82,18±1,69 ^a	60,99±8,19 ^{ab}	5,04±0,65 ^a	
	Czerwona	12,06±1,77 ^a	0,40±0,02 ^{cd}	83,14±2,32 ^a	35,02±8,23 ^b	4,55±0,84 ^a	
	Biała	11,49±1,29 ^a	0,40±0,04 ^{cd}	83,74±3,12 ^a	57,06±6,79 ^{ab}	4,42±0,59 ^a	
	Średnia dla procesu	12,03±1,20 ^A	0,37±0,09 ^C	83,13±1,73 ^A	59,31±24,88 ^A	4,46±0,71 ^A	
Pole mikrofalowe	Brązowa	11,62±0,43 ^a	0,43±0,09 ^{bcd}	83,73±2,92 ^a	79,59±28,06 ^{ab}	3,94±0,32 ^a	
	Żółta	11,92±0,68 ^a	0,58±0,21 ^{abcd}	82,44±1,59 ^a	59,56±6,78 ^{ab}	5,17±0,70 ^a	
	Czerwona	11,16±0,76 ^a	0,64±0,06 ^{abcd}	83,89±2,14 ^a	37,00±5,65 ^b	4,46±0,47 ^a	
	Biała	11,88±0,69 ^a	0,51±0,03 ^{bcd}	82,57±0,87 ^a	56,72±9,92 ^{ab}	5,06±0,91 ^a	
	Średnia dla procesu	11,64±0,97 ^A	0,54±0,12 ^B	83,15±1,52 ^A	58,22±20,87 ^A	4,66±0,77 ^A	

Wartości średnie w kolumnach oznaczone różnymi literami różnią się istotnie dla P<0,05 w odniesieniu do barwy (a, b, c, d) lub w odniesieniu do procesów (A, B, C, D).

Wartość energetyczna cebuli surowej, obliczona na podstawie równoważników energetycznych Atwatera, wynosiła od 30,3 (odmiana Takstar) do 52,8 kcal/100 g (odmiana Scarlet). Rumpel [2003] uzyskał wyniki podobne lub niższe (30-40 kcal/100 g). Zbieżne wyniki (30 kcal/100 g) przedstawiają także Kunachowicz i wsp. [2007]. Najwyższą wartością energetyczną, niezależnie od procesów termicznych, charakteryzowała się odmiana Scarlet, najniższą zaś Takstar.

Zawartość białka ogółem w surowych bulwach cebuli wynosiła od 0,98 (Takstar) do 1,66 (Alibaba) g/100 g produktu. Dane literaturowe wykazują podobne wartości: 0,9-1,4% [Rumpela 2003], 0,89-1,03% [Beniteza i wsp. 2011], 1,17% [Abhayawick i wsp. 2002], 1,2% [Hopkins 2008], jak również niższe: 0,46-0,69% [Galdón i wsp. 2009], 0,7% [Abhayawick i wsp. 2002]. Bulwy o białym zabarwieniu charakteryzowały się tendencją ($P>0,05$) do wyższej średniej zawartości białka (13,2%). Przeprowadzone procesy termiczne nie wpłynęły istotnie na zmiany zawartości tego składnika ($P>0,05$). Pomimo braku istotności różnic, zaobserwowano tendencję do strat zawartości białka, najbardziej znaczącą w białych odmianach cebuli. W wyniku procesu gotowania i mikrofalowania różnice wynosiły odpowiednio -12,9 i -9,9%.

Średnia zawartość tłuszczów w surowej cebuli kształtowała się na poziomie 0,08 g/100 g produktu, co odpowiadało wynikom przedstawionym przez innych autorów [Galdóna i wsp. 2009]. Natomiast większe ilości tłuszczów w cebuli surowej oznaczyli Durenkamp i wsp., [2005] (0,14%), Rumpel [2003] (0,2-0,3%) oraz Abhayawick i wsp. [2002] (0,43-0,55%). Najwyższą zawartością tłuszczów charakteryzowały się żółte odmiany cebuli (0,85%), a najniższą odmiany białe (0,56%). Procesy termiczne istotnie ($P<0,05$) obniżyły zawartość tego składnika, średnio o 47,9% w cebulach gotowanych oraz o 23,9% w cebulach mikrofalowanych. Największe straty tłuszczów, w porównaniu z cebulami surowymi, wystąpiły w wyniku gotowania cebuli o żółtym (-61,2%) oraz brązowym (-51,4%) zabarwieniu. W trakcie gotowania nastąpiło częściowe wymywanie tłuszczów z bulw do roztworu. W przypadku mikrofalowania zmiany zawartości tego składnika w poszczególnych odmianach cebuli o różnym zabarwieniu nie były istotne ($P>0,05$) w porównaniu z próbą kontrolną.

Średnia zawartość węglowodanów w cebuli surowej wynosiła od 6,44 do 10,06 g/100 g produktu (średnio 9,14 g/100 g). Zbliżone lub niższe wyniki otrzymali Abhayawick i wsp. [2002] (4,4-6,2%), Rumpel [2003] (5,3-9%) oraz Galdón i wsp. (6,9% jako łączną sumę glukozy, fruktozy,

sacharozy, fruktanów i błonnika). Analogiczny poziom uzyskali także Nieuwhof i wsp. [1973] w przypadku cebuli dorastającej od wczesnej jesieni do marca (5,5-9,5%), natomiast wyniki uzyskane w cebuli dorastającej od połowy listopada do grudnia (6,1-14,6%) korelują, a nawet przewyższają dane otrzymane w niniejszych badaniach. Wyższą zawartość węglowodanów (11,1%) uzyskał również Hopkins [2008].

Zastosowane w niniejszej pracy zabiegi nie wpłynęły istotnie ($P>0,05$) na ilościowe zmiany poziomu tych składników, w porównaniu z próbą kontrolną.

Średnia zawartość witaminy C w wybranych odmianach surowej cebuli wynosiła od 4,89 (Scarlet) do 11,9 (Takstar) mg/100 g produktu. Biorąc pod uwagę zabarwienie stwierdzono, iż najwyższą zawartością witaminy C charakteryzowała się cebula brązowa, a najniższą cebula czerwona. Zbliżone rezultaty uzyskali Rumpel [2003] (9-12 mg/100 g) oraz Benkeblia i Khali [1996] (10,6 mg/100 g). Zastosowane procesy termiczne wpłynęły jedynie na tendencję ($P>0,05$) do obniżenia zawartości witaminy C (tab. 3). Pomimo znacznych strat omawianego składnika, wynoszących w przypadku gotowania i mikrofalowania odpowiednio od 5,2 do 25,5% i od 7,4 do 26,6% (tab. 3), wysokie wartości odchyleń standardowych spowodowały, że wykazane różnice nie były istotne. Witamina C jest bardzo wrażliwa na działanie podwyższonej temperatury i tlenu, a stopień degradacji podczas obróbki termicznej może sięgać nawet do 50%. Straty witaminy C podczas napromieniowania bulw cebuli, sięgające 20%, uzyskali Benkeblia i Khali [1996].

Tabela 3.

Straty witaminy C podczas gotowania i mikrofalowania cebuli (%)

Barwa	Proces technologiczny	
	Gotowanie	Pole mikrofalowe
Brązowa	22,4	26,6
Żółta	5,2	7,4
Czerwona	25,5	21,3
Biała	6,8	7,4
Średnia dla procesu	15	15,7

Zawartość sumy składników mineralnych w postaci popiołu wynosiła od 0,33 (odmiana brązowa Takstar) do 0,71 (odmiana czerwona Scarlet) g/100 g produktu. Wyniki te korelowały z wartościami otrzymanymi przez Galdóna [2009] i wsp., wynoszącymi 0,33-0,37%, Beniteza i wsp.

[2011] (0,41% i 0,43%) oraz Abhayawicka i wsp. [2002] (0,4-0,58%). Procesy termiczne zastosowane w niniejszej pracy nie spowodowały istotnych zmian zawartości popiołu w cebuli.

Wnioski

- W cebuli surowej o różnym zabarwieniu zawartość białka, tłuszczów, węglowodanów oraz popiołu ogółem była zbliżona, jedynie cebula o brązowym zabarwieniu charakteryzowała się tendencją ($P > 0,05$) do wyższej zawartości witaminy C.
- Procesy termiczne, tj. gotowanie i mikrofalowanie, obniżały istotnie ($P < 0,05$) zawartość tłuszczów w bulwach cebuli.
- W cebuli poddanej procesom termicznym wykazano tendencję ($P > 0,05$) do obniżania zawartości witaminy C.

Literatura

1. Abhayawick L., Laguerre J.C., Tauzin V., Duquenoy A., *Physical properties of three onion varieties as affected by the moisture content*, Journal of Food Engineering 2002, 55, 253-262.
2. AOAC *Official Methods of Analysis (16th Ed)*. Association of Official Analytical Chemists. Arlington, VA: 1995.
3. August K., Semple R. M., *Effect of allyl propyl disulphide isolated from onion (Allium cepa L.) on glucose tolerance of aloxan diabetic rabbits*, Cellular and Molecular Life Science 1974, 30/10, 1119-1920.
4. Benitez V., Mollá E., Martin-Cabrejas M. A., Auguilera Y., López-Andréu F. J., Cools K., Terry L. A., Esteban R.M., *Characterization of industrial onion wastes (Allium cepa L.): Dietary fibre and bioactive compounds*, Plant Foods for Human Nutrition 2011, 1(66), 48-57.
5. Benkeblia N., Khali M. *Stability of vitamin C of irradiated onion Allium cepa L. during storage*. Journal of Islamic Academy of Sciences 1996, 9(2), 57-60.
6. Dini I., Tenore G. C., Dini A. *Chemical composition, nutritional value and antioxidant properties of Allium caepa L. Var. tropeana (red onion) seeds*. Food Chemistry 2008, 107, 613-621.
7. Durenkamp M., Posthumus F.S., Stuiver C., De Kok L., *Metabolism of atmospheric sulfur gases in onion* w Plant responses to air pollution and Global Change. Omasa K., Nouch I., De Kok I. L. Wyd. Springer-Verlang, Tokyo 2005.
8. Galdón B.R., Rodríguez C.T., Rodríguez W.M.R., Romero C.D., *Fructans and major compounds in onion cultivars (Allium cepa)*, Journal of Food Composition and Analysis 2009, 22, 25-32.
9. Gökçe A.F., Kaya C., Serçe S., Özgen M., *Effect of scale color on the antioxidant capacity of onions*, Scientia Horticulturae 2010, 123, 431-435.
10. Grzelak K., *Cebula jako źródło prebiotyków w okresie jesienno-zimowym*. Żywność, Nauka, Technologia, Jakość 2006, 2(47) Supl., 67-71.
11. Hopkins J., *Czosnek i cebula. Zastosowanie i właściwości lecznicze*. Wyd. Liber, Warszawa, 2008, 58-73.
12. Kunachowicz H., Nadolna J., Przygoda B., Iwanow K., *Tabele składu i wartości odżywczej żywności*, Wyd. Lekarskie PZWL, Warszawa 2007.
13. Nieuwhof M., De Bruyn J.W., Garretsen F., *Methods to determine solidity and dry matter content of onions (Allium cepa L.)*, Euphytica 1973, 22, 39-47.
14. Osmont K., Arnt C., Goldman J., *Temporal aspects of onion-induced antiplatelet activity*, Plant Foods for Human Nutrition 2003, 58, 27-40.

15. Pérez-Gregorio R.M., García-Falcón M.S., Simal-Gándara J., Rodruques A.S., Almeida D.P.F., *Identification and quantification of flavonoids in traditional cultivars of red and white onions at harvest*, Journal of Food Composition and Analysis 2010, 23, 592-598.
16. PN-A-04019: 1998 Produkty spożywcze. Oznaczanie zawartości witaminy C.
17. Rumpel J., *Uprawa cebuli*, Wyd. Hortpress, Warszawa 2003.
18. Sharaf F., *Some hormone-like properties of Allium cepa L. (onion)*, Plant Foods for Human Nutrition 1967, 3(14), 267-275.
19. Slimestad R., Fossen T., Vagen I., *Onions: A source of unique dietary flavonoids*, Journal of Agricultural and Food Chemistry 2007, 55, 10067-10080.
20. Vidyavati H., Manjunatha H., Hemavathy J., Srinivasan K., *Hypolipidemic and antioxidant efficacy of dehydrated onion in experimental rats*, Food Science Technology 2010, 47(1), 55-60.

Abstract

The aim of the thesis was estimation of two thermal treatments: cooking and microwaving on the basic chemical composition of chosen varieties of onion.

Eight onion bulbs were used as an experimental material: 2 brown (Takstar, Petra), two yellow (Efekt, Grabowska), 2 red (Scarler, Wenta) and 2 white (Albion, Alibaba). There were used two kinds of heat treatment: cooking (10 minutes, in 150 ml of water) and microwaving (5 min, power 900 W).

Applied heat treatments have great impact ($p < 0.05$) on the decrease of fat. Microwaved onions had higher amount of nutrients compared with cooked ones.

No significant differences between the content of the analyzed components in the raw material in terms of dry weight. Only a tendency to a higher content of vitamin C was determined in brown onion bulbs, but lowest in red one.

**PORÓWNANIE JAKOŚCI KONSERW
STERYLIZOWANYCH Z BOCZNIAKA
OSTRYGOWATEGO (*PLEUROTUS OSTREATUS* (JACQ.:
FR.) KUMM.) I PIECZARKI DWUZARODNIKOWEJ
(*AGARICUS BISPORUS* (LANGE) SING.)**

*Grażyna Jaworska¹, Emilia Bernaś¹, Aleksandra Skrzypczak¹, Adriana Biernacka²,
Adam Sidor¹*

¹*Uniwersytet Rolniczy im. H. Kołłątaja w Krakowie, Wydział Technologii Żywności,
Katedra Surowców i Przetwórstwa Owocowo-Warzywnego, ul. Balicka 122, 30-149
Kraków, e-mail: rrgjawor@cyf-kr.edu.pl*

²*Politechnika Krakowa, Wydział Inżynierii Środowiska, ul. Warszawska 24, 31-155
Kraków*

Streszczenie

W pracy porównano jakość konserw sterylizowanych wykonanych z owocników pieczarki dwuzarodnikowej (*Agaricus bisporus*) i bocznika ostrygowatego (*Pleurotus ostreatus*), dwóch najczęściej uprawianych gatunków grzybów w Polsce. W celu zapewnienia właściwej jakości produktów gotowych, w tym również dla zachowania naturalnej barwy, grzyby poddano odpowiedniej obróbce wstępnej. W ramach tej obróbki uwzględniono blanszowanie w wodzie oraz w wodnym roztworze pirosiarczynu sodu i kwasu cytrynowego. Wsad do słoja szklanego o pojemności 300 cm³ wynosił: 180 g owocników, 100 cm³ zalewy w postaci 2% solanki. Konserwy sterylizowano w temperaturze 118-121°C przez 12 minut i składowano przez 8 miesięcy w temperaturze 8-10°C.

W konserwowanych owocnikach badano zawartość suchej masy, popiołu, azotu ogółem, azotu białkowego, węglowodanów ogółem, polifenoli ogółem oraz oznaczono poziom pH. Wykonano również pomiar barwy metodą instrumentalną oraz przeprowadzono ocenę organoleptyczną metodą 5 punktową.

Spśród badanych konserw zasobniejszymi w suchą masę o 3%, popiół o 19%, azot ogółem o 39%, azot białkowy o 70% oraz polifenole ogółem o 156% były produkty z pieczarki dwuzarodnikowej, zaś

konserwy z boczniaka ostrygowatego zawierały o 10% więcej węglowodanów ogółem. Instrumentalny pomiar barwy wykazał, że konserwowane owocniki boczniaka ostrygowatego, w porównaniu z wyrobami z pieczarki dwuzarodnikowej, charakteryzowały się większą jasnością (parametr L^*) oraz mniejszym udziałem barwy czerwonej (parametr a^*) i żółtej (parametr b^*). Parametry barwy L^* i a^* były silnie skorelowane z oceną organoleptyczną barwy, a współczynniki korelacji wynosiły odpowiednio 0,93 i 0,99. Badane konserwy grzybowe istotnie różniły się oceną ogólną w analizie organoleptycznej, bowiem wyższe noty uzyskały produkty z boczniaka ostrygowatego niż z pieczarki dwuzarodnikowej.

Rodzaj zastosowanej obróbki wstępnej miał niewielki wpływ na skład chemiczny konserw, gdyż w przypadku obydwu gatunków grzybów istotne różnice stwierdzono jedynie w poziomie pH. Istotny wpływ obróbki wstępnej zanotowano natomiast w przypadku oceny barwy, zapachu i smaku konserwowanych owocników boczniaka ostrygowatego i pieczarki dwuzarodnikowej w ogólnej ocenie organoleptycznej oraz oznaczonej barwy metodą instrumentalną. Zarówno w przypadku pieczarki dwuzarodnikowej, jak i boczniaka ostrygowatego zastosowanie pirosiarczynu sodu w obróbce wstępnej grzybów przed sterylizacją spowodowało, że produkty te w porównaniu z konserwami z grzybów blanszowanych w wodzie, charakteryzowały się lepszą jakością organoleptyczną i barwą ocenianą instrumentalnie.

Słowa kluczowe: boczniak ostrygowaty, pieczarka dwuzarodnikowa, konserwy sterylizowane, wartość odżywcza, ocena organoleptyczna, barwa

Wprowadzenie

Boczniak ostrygowaty i pieczarka dwuzarodnikowa należą do najczęściej uprawianych gatunków grzybów na świecie. Pieczarka dwuzarodnikowa od dawna gości w rodzimej kuchni, głównie jako atrakcyjny sensorycznie dodatek do potraw, choć również stanowi podstawowy komponent takich dań jak zupy, pierogi, czy paszety. Z kolei boczniak ostrygowaty w Polsce uznanie zdobywa od niedawna, w przeciwieństwie do krajów azjatyckich, w których jego spożycie jest bardzo popularne.

Wartość odżywcza grzybów jadalnych doceniana jest od niedawna. Zawierają one od 8 do 11% suchej masy, z której około 30% to składniki mineralne, od 21 do 53% węglowodany ogółem oraz od 3 do 10% białko [Shah i wsp. 1997; Manzi i wsp. 1999; Souci i wsp. 2000; Wojewoda

2003]. Znajdujące się w grzybach węglowodany, to mono-, oligo- i polisacharydy. Spośród nich w znacznych ilościach występuje mannitol, w mniejszych zaś glukoza, galaktoza, trehaloza, mannoza oraz fruktoza [Sanmee i wsp. 2003]. Zawartość białka w grzybach jadalnych jest porównywalna do jego ilości w jajach kurzych, czy mięsie (w przeliczeniu na suchą masę). W jego skład wchodzi wszystkie aminokwasy egzogenne oraz znaczna ilość aminokwasów endogennych. Wyróżnić tu należy przede wszystkim alaninę, argininę, glicynę, histydynę, kwas glutaminowy, kwas asparaginowy, prolinę i serynę [Shah i wsp. 1997; Manzi i wsp. 1999; Mdachi i wsp. 2004; Guo i wsp. 2007]. Jakość białka pochodzenia grzybowego jest trudna do określenia, gdyż występują spore rozbieżności w danych literaturowych. W przypadku bocznika ostrygowatego i pieczarki dwuzarodnikowej najczęściej wymienianymi aminokwasami ograniczającymi są metionina i cysteina. Aminokwasy te są bardzo istotne z punktu widzenia biologicznego, np. metionina jest aminokwasem niezbędnym do zapoczątkowania procesu translacji białek w komórkach ludzkich. [Shah i wsp. 1997; Brown 2009]. Według Jaworskiej i wsp. [2011], w przypadku bocznika ostrygowatego, nie występują żadne aminokwasy ograniczające.

Grzyby stanowią bogate źródło witamin z grupy B, w tym przede wszystkim ryboflawiny i tiaminy, ich zawartość w produktach mrożonych i sterylizowanych wynosi odpowiednio od 0,008-0,211 i od 0,039-0,252 mg w 100 g świeżej masy [Jaworska i wsp. 2007]. Grzyby zawierają również substancje biologicznie aktywne o działaniu antyoksydacyjnym, bakteriostatycznym oraz antykancerogennym, zmniejszającym poziom frakcji LDL cholesterolu, obniżając w ten sposób ryzyko występowania chorób układu krążenia u ludzi [Rajewska i wsp. 2004; Kalbarczyk i wsp. 2007]. Głównym związkiem odpowiedzialnym za wspomniane działanie prozdrowotne grzybów jadalnych są frakcje rozpuszczalnego błonnika pokarmowego, do których należą glukany zawierające wiązania glikozydowe β (1 \rightarrow 3), β (1 \rightarrow 4) i β (1 \rightarrow 6). W 100 g świeżej masy bocznika ostrygowatego występuje 4,1–8,5 g błonnika pokarmowego, z kolei w pieczarce dwuzarodnikowej około 2,7 g [Rajewska i wsp. 2004; Augustin i wsp. 2007].

Należy zwrócić uwagę, że grzyby jadalne charakteryzują się niską kalorycznością, co pozwala je traktować jako pokarm dietetyczny [Matilla i wsp. 2002]. W związku z coraz szerszą świadomością społeczeństwa o prozdrowotnych właściwościach grzybów jadalnych, zrodziło się zapotrzebowanie na produkty z nich otrzymywane o

charakterze żywności wygodnej, umożliwiającej szybkie przygotowanie posiłku. Warunki te spełniają konserwy apertyzowane, które poza wymienionymi korzyściami charakteryzują się stosunkowo długim okresem przydatności do spożycia [Jaworska i wsp. 2007]. Na rynku dostępne są konserwy w zalewie słonej lub słono-słodko-kwaśnej (marynaty). Najczęściej wytwarzane są konserwy z pieczarki dwuzarodnikowej, w przypadku której obróbka technologiczna owocników przeznaczonych do konserwowania, jest najlepiej opracowana, w przeciwieństwie do innych gatunków grzybów [Czapski i wsp. 2000; Bernaś i wsp. 2007; Jaworska i wsp. 2007].

Grzyby jadalne są jednak surowcem kłopotliwym do przetwarzania, gdyż zawierają dużą ilość wody oraz charakteryzują się wysoką aktywnością enzymów, w tym oksydaz wywołującym ciemnienie owocników w czasie przerobu oraz podczas składowania wyrobów gotowych [Jaworska i wsp. 2008]. Rozwiązanie tego problemu stanowi zastosowanie odpowiedniej obróbki wstępnej, umożliwiającej uzyskanie przetworów charakteryzujących się dobrą jakością. Zwykle w obróbce tego typu surowca stosuje się mycie, blanszowanie, moczenie, nasączenie próżniowe owocników, często w roztworach o działaniu niwelującym ciemnienie, do których należą: nadtlenek wodoru, chlorowodorek cysteiny, wersenian sodu, pirosiarczyny, kwasy organiczne, kwas askorbinowy, izoaskorbinian sodu [Czapski 2002]. Ponadto wciąż poszukuje się substancji dodatkowych zapobiegających ciemnieniu, które nie miałyby negatywnego wpływu na zdrowie człowieka, a zabezpieczałyby grzyby przed brązowieniem.

Celem pracy było porównanie jakości konserw sterylizowanych z owocników dwóch gatunków grzybów jadalnych – bocznika ostrygowatego (*Pleurotus ostreatus* (Jacq: Fr) Kumm.) i pieczarki dwuzarodnikowej (*Agaricus bisporus* (Lange) Sing.) po 8 miesiącach ich składowania, poddanych przed sterylizacją blanszowaniu w wodzie lub blanszowaniu w wodnym roztworze pirosiarczyny sodu i kwasu cytrynowego.

Material i metody badań

Materiałem badawczym były konserwy sterylizowane po 8 miesiącach składowania, otrzymane z owocników bocznika ostrygowatego (*Pleurotus ostreatus* (Jacq.: Fr.) Kumm.) i pieczarki dwuzarodnikowej (*Agaricus bisporus* (Lange) Sing.), poddanych przed utrwaleniem dwóm rodzajom obróbki wstępnej, w której uwzględniono blanszowanie w

wodzie oraz blanszowanie w 0,2% roztworze pirosiarczynu sodu i 0,5% kwasu cytrynowego.

Do produkcji konserw wykorzystano owocniki bocznika ostrygowatego pochodzącego ze specjalistycznego gospodarstwa położonego w Wiśle Wielkiej, na terenie powiatu pszczyńskiego. Grzyby zebrano ręcznie, trzony usunięto. Wykorzystane do produkcji konserw boczniki ostrygowate pochodziły z pierwszego rzutu zbioru, charakteryzowały się jasną, kremowoszarą barwą. Zgodnie z Polską Normą [PN-R-75079] grzyby te zostały zaliczone do klasy jakości „EKSTRA”.

Pieczarkę dwuzarodnikową pozyskano ze specjalistycznego gospodarstwa położonego w Radostowicach, na terenie powiatu pszczyńskiego. Pieczarki charakteryzowały się barwą białą, trzony były grube i proste, połączone z kapeluszami błoną. Zgodnie z Polską Normą [PN-75/R-75078] wykorzystane w badaniach pieczarki zaliczone zostały do I klasy jakości.

Świeże grzyby zostały przebrane, odrzucono owocniki uszkodzone, następnie je umyto pod bieżącą wodą o temperaturze 15°C i odsączono na sitach. Po myciu kapelusze bocznika o średnicy 5-7,5 cm pokrojono na połowę, a powyżej 7 cm na cztery części. Pieczarki ze względu na wyrównaną wielkość owocników blanszowano w całości. Następnie całe partie bocznika ostrygowatego i pieczarki dwuzarodnikowej podzielono na dwie części. Pierwszą część pieczarki dwuzarodnikowej i bocznika ostrygowatego poddano blanszowaniu w wodzie (oznaczenie BW), drugą w wodnym roztworze 0,2% pirosiarczynu sodu i 0,5% kwasu cytrynowego (oznaczenie BP). Zabieg ten wykonywano w kotłach ze stali nierdzewnej o pojemności 10 dm³, z zachowaniem proporcji masy grzybów do wody lub użytego roztworu jak 1:5, w temperaturze 96-98°C przez 3 minuty. Bezpośrednio po blanszowaniu grzyby schłodzono w wodzie i następnie odsączono jej nadmiar. Blanszowany materiał pokrojono na paski o grubości około 5 mm i w ilości po 180 g umieszczono w szklanych słojach typu Twist-off o pojemności 300 cm³. Następnie owocniki zalewano 100 cm³ gorącej zalewy, którą stanowił 2% roztwór soli kuchennej. Opakowania poddano immersyjnemu odpowietrzaniu i następnie je zamykano.

Sterylicację konserw przeprowadzono w ciśnieniowym sterylizatorze doświadczalnym wyprodukowanym w USA. Czas trwania kolejnych etapów sterylizacji wynosił: podnoszenie temperatury do 100°C – 5 minut, podnoszenie temperatury od 100 do 118°C - 10 minut, właściwa sterylizacja w temperaturze od 118 do 121° - 12 minut, chłodzenie do

temperatury 100°C - 10 minut, chłodzenie do temperatury od 25 do 30°C - 5 minut. Sterylizowane konserwy przechowywano w komorze składowej w temperaturze od 8 do 10°C, przez okres 8 miesięcy.

Po tym czasie, dokonano analizy oceny jakości konserw, na podstawie oceny poziomu wybranych wyróżników składu chemicznego, analizy instrumentalnej barwy oraz oceny organoleptycznej.

Oceniono następujące parametry składu chemicznego: poziom suchej masy [AOAC 1995], popiołu [AOAC 1995], azotu ogółem [AOAC 1995], azotu białkowego [AOAC 1995], tłuszczu surowego metodą Soxhleta [AOAC 1995]. Zawartość węglowodanów ogółem obliczona według następującego wzoru:

WO (węglowodany ogółem) = 100 - (zawartość wody + popiołu + białka surowego + tłuszczu surowego), przy czym przyjęto, że białko surowe stanowi ilość azotu ogółem x 4,38 [Braaksma i Shaap 1996].

Oznaczono również ogólną zawartość polifenoli z wykorzystaniem odczynnika Folina-Ciocalteu [Singelton i wsp. 1999] oraz poziom pH [AOAC 1995]. Wymienione wyżej wyróżniki analizowano w 4 powtórzeniach dla każdego rodzaju produktu.

Instrumentalny pomiar barwy wykonano w systemie CIE (1976) z zastosowaniem aparatu MINOLTA CM-3500d. Na podstawie pomiaru wyznaczono następujące parametry: L^* - jasność barwy ($L^*=0$ czerń, $L^*=100$ biel), a^* - udział barwy zielonej ($a^*<0$) lub czerwonej ($a^*>0$), b^* - udział barwy niebieskiej ($b^*<0$) lub żółtej ($b^*>0$). Przygotowanie materiału przed pomiarem barwy polegało na oddzieleniu konserwowanych owocników od zalewy, poprzez odcieknięcie na sitach, następnie owocniki homogenizowano w celu uzyskania miazgi, której barwę mierzono metodą odbicia. Pomiar dla każdego obiektu wykonano w 6 powtórzeniach.

Ocenę organoleptyczną wykonano metodą oceny bezpośredniej, przy wykorzystaniu 5-punktowej skali ocen [Barylko-Pikielna i Matuszewska 2009]. Materiał analizowano zgodnie z warunkami zawartymi w normie PN-ISO 6658 [1998]. Do oceny powołano zespół składający się z 5 osób, spełniających podstawowe wymagania w zakresie wrażliwości sensorycznej, które określa norma PN-ISO 3972 [1998]. W ocenie sensorycznej, uwzględniono następujące wyróżniki jakości: barwa i klarowność zalewy, jednolitość wielkości owocników, barwa owocników, konsystencja owocników, zapach owocników, smak owocników. W ocenie posłużono się opracowanymi kartami wzorcowymi, w których przyjęto, że ocena 5 oznacza ocenę znakomitą, 4 – bardzo dobrą, 3 dobrą, 2 – złą, 1 – bardzo złą. Stosując współczynniki

ważkości dla poszczególnych wyróżników jakości produktu obliczono ogólną ocenę. Jako wynik oceny ogólnej przyjęto liczbę punktów otrzymanych po podzieleniu iloczynu not przyznawanych za poszczególne cechy i ich mnożników ważkości, przez sumę mnożników ważkości.

Wyniki badań opracowano statystycznie stosując jednoczynnikową analizę wariancji w oparciu o test F Snedecora oraz test t-Studenta. Obliczono także najmniejszą istotną różnicę (NIR) przy poziomie prawdopodobieństwa błędu $p = 0,05$ dla wszystkich dokonanych analiz. Wykonano również analizę korelacji i wyznaczono współczynniki: korelacji Pearsona r i wartości regresji liniowej R^2 , dla określenia zależności pomiędzy uzyskanymi wynikami instrumentalnej i organoleptycznej oceny barwy.

Wyniki i dyskusja

Zawartość wybranych wyróżników składu chemicznego w sterylizowanych owocnikach bocznika ostrygowatego i pieczarki dwuzarodnikowej podano w tabeli 1.

W sterylizowanych owocnikach pieczarki dwuzarodnikowej wykazano istotnie wyższą zawartość suchej masy, średnio o 3%, niż w sterylizowanych owocnikach bocznika ostrygowatego. Obróbka wstępna nie miała istotnego wpływu na ilość suchej masy w badanych grzybach w obrębie gatunku (tabela 1). Czapski [2003] uważa, że zawartość suchej masy w konserwowanych pieczarkach mieści się w granicach od 6,9 do 9,5 g, natomiast Martin-Belloso i wsp. [2001] podają niższą ilość, bowiem 5,8 g/100 g świeżej masy.

Istotnie wyższym, średnio o 3%, poziomem tego wskaźnika charakteryzowały się konserwowane owocniki pieczarki niż bocznika. Rodzaj zastosowanej obróbki wstępnej istotnie wpłynął na poziom omawianego wyróżnika jedynie w przypadku konserwowanego bocznika, w przypadku którego produkty z owocników blanszowanych w roztworze pirosiarczynu sodu (BP) miały o 9% więcej popiołu, aniżeli owocniki blanszowane w wodzie (tabela 1). Fakt ten świadczy o mniejszej migracji składników mineralnych do zalewy przy zastosowaniu blanszowania w wodnym roztworze pirosiarczynu sodu i kwasu cytrynowego. Dane literaturowe potwierdzają zależność zawartości popiołu w przetworzonych owocnikach grzybów od zastosowanej metody obróbki wstępnej [Jaworska i wsp. 2003]. Istnieją również doniesienia, że produkcja konserw w naczyniach hermetycznie zamkniętych, może mieć wpływ na zawartość składników popielnych.

Możliwe jest zarówno wypłukiwanie składników mineralnych z tkanek grzyba podczas zabiegów z udziałem wody, jak również wzbogacanie w nie w czasie zabiegów prowadzonych w środowisku bogatym w sole mineralne (blanszowanie, nasączenie próżniowe) [Martin-Belloso i wsp. 2001].

Tabela 1. Zawartość wybranych wyróżników składu chemicznego w sterylizowanych owocnikach bocznika ostrygowatego i pieczarki dwuzarodnikowej, w 100 g świeżej masy

Wyróżnik	KONSERWA Z				NIR p<0,05
	BOCZNIKA OSTRYGOWATEGO		PIECZARKI DWUZARODNIKOWEJ		
	BW	BP	BW	BP	
Sucha masa [g]	8,78±0,07	8,78±0,11	9,07±0,05	9,06±0,08	0,121
Popiół [g]	0,92±0,01	1,00±0,03	1,16±0,04	1,12±0,03	0,043
Azot ogółem [g]	0,29±0,02	0,30±0,01	0,41±0,02	0,41±0,02	0,027
Azot białkowy [g]	0,22±0,01	0,22±0,02	0,38±0,01	0,37±0,01	0,013
Węglowodany ogółem [g]	6,35±0,10	6,43±0,06	5,78±0,13	5,86±0,05	0,139
Polifenole ogółem [g]	12±1,26	11±1,89	31±6,18	28±0,82	5,15
pH	5,68±0,03	5,12±0,02	6,19±0,02	6,11±0,04	0,041

BW – blanszowanie w wodzie, BP – blanszowanie w roztworze pirosiarczynu sodu i kwasu cytrynowego

Na ogólną zawartość azotu w grzybach składają się między innymi aminokwasy białkowe, wolne aminokwasy, chityna, aminy, mocznik oraz kwasy nukleinowe [Florczak i wsp. 1995; Gapiński i wsp. 1999]. Dane źródłowe podają zawartość azotu ogółem w 100 g świeżej masy na poziomie 0,55 g w boczniku ostrygowatym i 0,66 g w pieczarce dwuzarodnikowej [Souci i wsp. 2000]. W badanym materiale istotnie wyższą zawartością tego składnika, średnio o 39%, charakteryzowały się konserwowane owocniki z pieczarki dwuzarodnikowej. Nie zaobserwowano wpływu obróbki wstępnej na wartość w obrębie gatunku. Należy zwrócić uwagę, że uzyskane w omawianej pracy wartości są niższe od danych zacytowanych powyżej dotyczących

owocników świeżych, co może wynikać z przeprowadzonego procesu konserwowania.

Azot białkowy, występujący w tkankach grzybów jadalnych jest istotny z punktu widzenia żywieniowego i stanowi zazwyczaj ponad połowę ilości azotu ogółem [Florczak i wsp. 1995; Souci i wsp. 2000]. W badanym materiale azot białkowy stanowił około 70% ogólnej zawartości azotu w produktach z boczniaka ostrygowatego i 90% w konserwowanych owocnikach pieczarki dwuzarodnikowej, w której zawartość tego składnika była o 70% wyższa niż w konserwach z boczniaka ostrygowatego. Nie zaobserwowano istotnego wpływu obróbki wstępnej na poziom tego parametru w badanym materiale.

Ocena zawartości węglowodanów ogółem wykazała istotną różnicę pomiędzy produktami pochodzącymi z różnych gatunków grzybów. Większą ilość omawianych związków, średnio o 10%, zawierały konserwy z boczniaka ostrygowatego niż z pieczarki dwuzarodnikowej. Nie zaobserwowano istotnego wpływu metody blanszowania na zawartość węglowodanów ogółem w badanych konserwach. Dane źródłowe podają, że zawartość tych związków w 100 g części jadalnych świeżych owocników wynosi 3,8-6,7 g w boczniaku ostrygowatym i 2,6-5,2 g w pieczarce dwuzarodnikowej [Manzi i wsp. 2001]. Otrzymane wyniki są zbliżone do danych literaturowych, co wskazuje na brak wpływu procesu konserwowania na zawartość tych składników w owocnikach obu gatunków grzybów.

Analiza ogólnej zawartości polifenoli w przeliczeniu na (+)-katechinę wykazała, że 2,5-krotnie wyższą zawartością tego parametru charakteryzowały się konserwy z pieczarki dwuzarodnikowej w stosunku do produktów z boczniaka ostrygowatego. Nie zaobserwowano natomiast istotnego wpływu obróbki wstępnej na zawartość polifenoli ogółem w badanym materiale. Dane literaturowe wskazują na wyższą zawartość polifenoli ogółem w 100 g suchej masy w świeżych owocnikach boczniaka, w których stwierdzono 1210 mg/100 g suchej masy [Elmastas i wsp. 2007; Barros i wsp. 2008], podczas gdy w owocnikach pieczarki dwuzarodnikowej wartość tego parametru wynosi 500-1067 mg [Skąpska i wsp. 2008].

Wyższym pH charakteryzowały się sterylizowane konserwy z pieczarki niż z boczniaka. Wykazano także, że blanszowanie zarówno owocników boczniaka, jak i pieczarki w roztworze pirosiarczynu sodu i kwasu cytrynowego powoduje istotne zmniejszenie pH owocników konserwowanych, przy czym większe zróżnicowanie było w przypadku sterylizowanego boczniaka ostrygowatego.

Instrumentalny pomiar barwy

Wyniki instrumentalnego pomiaru barwy konserwowanych owocników bocznika ostrygowatego i pieczarki dwuzarodnikowej przedstawiono w tabeli 2.

Konserwy sterylizowane z bocznika ostrygowatego były wyraźnie jaśniejsze, niż produkty z pieczarki dwuzarodnikowej, bowiem stwierdzono w nich wyższy o 24% poziom parametru L*. Wpływ obróbki wstępnej przed sterylizacją miał istotne znaczenie w przypadku obydwu gatunków grzybów. Wyższymi wartościami parametru L* w obrębie obu gatunków charakteryzowały się grzyby blanszowane w roztworze pirosiarczynu sodu i kwasu cytrynowego, niż blanszowane w wodzie, co może być związane z inhibującym działaniem pirosiarczynu sodu i kwasu cytrynowego na polifenolooksydazę odpowiedzialną za ciemnienie grzybów jadalnych [Czapski 1994, 1998].

Tabela 2. Wyniki instrumentalnego pomiaru barwy sterylizowanych owocników bocznika ostrygowatego i pieczarki dwuzarodnikowej

Gatunek grzyba	Rodzaj obróbki wstępnej	Parametr barwy		
		L*	a*	b*
Bocznik ostrygowaty	BW	53,52±0,76	2,12±0,12	13,18±0,29
	BP	59,53±0,82	1,52±0,06	14,47±0,50
Pieczarka dwuzarodnikowa	BW	43,64±0,76	3,29±0,17	16,04±0,44
	BP	47,85±0,40	2,37±0,14	19,18±0,21
NIR, p<0,05		1,039	0,191	0,553

BW, BP – oznaczenia jak w tabeli 1, L* - jasność, a* - udział barwy czerwonej/zielonej, b* - udział barwy żółtej/niebieskiej

W przypadku parametru a* wartości wszystkich oznaczeń były większe od 0, co wskazuje na przewagę udziału barwy czerwonej. Istotnie wyższymi o średnio 55% wartościami tego parametru charakteryzowały się konserwowane owocniki pieczarki dwuzarodnikowej niż bocznika ostrygowatego. Zastosowana obróbka wstępna miała istotny wpływ na omawiany parametr. Istotnie wyższą wartością parametru a* w przypadku obu gatunków charakteryzowały się konserwy z owocników blanszowanych w wodzie.

Wyniki uzyskane dla parametru *b również były wartościami dodatnimi, co wskazuje na większy udział w badanych grzybach barwy żółtej, aniżeli niebieskiej. Istotnie wyższymi, średnio o 29%, wartościami tego parametru charakteryzowały się konserwowane owocniki pieczarki dwuzarodnikowej w porównaniu z konserwowanymi owocnikami bocznika ostrygowatego. Wpływ obróbki wstępnej miał istotne znaczenie. W przypadku obydwu gatunków wyższym udziałem barwy żółtej charakteryzowały się konserwy otrzymane z owocników blanszowanych w roztworze pirosiarczynu sodu i kwasu cytrynowego.

Ocena organoleptyczna

Wyniki oceny organoleptycznej konserwowanych owocników bocznika ostrygowatego i pieczarki dwuzarodnikowej przedstawiono w tabeli 3.

Zalewa konserwy z pieczarki dwuzarodnikowej była lekko brunatna i dość mętna, dlatego uzyskane noty mieściły się w zakresie 3,1-3,9 pkt, przy czym istotnie wyższymi wartościami charakteryzowała się zalewa pochodząca z konserwy wykonanej z grzybów blanszowanych w roztworze pirosiarczynu sodu i kwasu cytrynowego.

Konserwowane owocniki bocznika ostrygowatego charakteryzowały się nieco lepszą jednolitością wielkości niż konserwowane owocniki pieczarki dwuzarodnikowej. Rodzaj zastosowanej obróbki wstępnej nie miał istotnego wpływu na ocenę tej cechy w konserwach z obydwu gatunków grzybów.

Analiza organoleptyczna barwy pozwoliła stwierdzić, że konserwowane owocniki bocznika ostrygowatego charakteryzowały się lepszą barwą, aniżeli pieczarki dwuzarodnikowej. Obróbka wstępna miała istotny wpływ na noty uzyskane za barwę konserwowanych owocników. Zarówno w przypadku konserwowanego bocznika ostrygowatego, jak i pieczarki dwuzarodnikowej, istotnie wyższe oceny uzyskały grzyby poddane blanszowaniu w pirosiarczynie sodu i kwasie cytrynowym, niż blanszowane w wodzie.

Wszystkie konserwy grzybowe charakteryzowały się znakomitą konsystencją, którą oceniono na poziomie 5,0 pkt. Była ona jędrna, chrupka i pomiędzy ocenianymi próbkami nie zaobserwowano różnic w zakresie tego parametru.

Zapach badanych konserw oceniono na poziomie co najmniej dobrym. Lepszym zapachem charakteryzowały się konserwy z pieczarki dwuzarodnikowej niż konserwy z bocznika ostrygowatego. Obróbka wstępna wpłynęła istotnie na omawiany wyróżnik. W przypadku produktów z obu gatunków wykazano lepszy, bardziej charakterystyczny

zapach grzybowy w konserwach otrzymanych z owocników blanszowanych w wodzie.

Tabela 3. Wyniki oceny organoleptycznej sterylizowanych konserw z pieczarki dwuzarodnikowej i bocznika ostrygowatego

Oceniana cecha	Konserwa z bocznika ostrygowatego		Konserwa z pieczarki dwuzarodnikowej		NIR p>0,05
	BW	BP	BW	BP	
Barwa i klarowność zalewy	5,0 ± 0,0	5,0 ± 0,0	3,1 ± 0,1	3,9 ± 0,1	0,11
Jednolitość wielkości owocników	5,0 ± 0,0	5,0 ± 0,0	4,3 ± 0,4	4,6 ± 0,0	0,28
Barwa owocników	3,7 ± 0,2	4,7 ± 0,1	2,0 ± 0,1	3,6 ± 0,1	0,16
Konsystencja konserwy	5,0 ± 0,0	5,0 ± 0,0	5,0 ± 0,0	5,0 ± 0,0	ns
Zapach konserwy	4,0 ± 0,1	3,5 ± 0,1	4,5 ± 0,1	4,0 ± 0,1	0,16
Smak owocników	4,5 ± 0,1	4,2 ± 0,2	4,6 ± 0,1	4,3 ± 0,1	0,20
Ocena ogólna	4,3 ± 0,1	4,3 ± 0,1	3,9 ± 0,0	4,2 ± 0,0	0,07

BW, BP – jak w tabeli 1, ns – nieistotnie statystycznie

Smak konserwowanych owocników oceniono w zakresie 4,2 do 4,6 pkt. Gatunek grzyba, z którego otrzymano konserwy nie miał istotnego wpływu tą cechą, natomiast stwierdzono, że rodzaj obróbki wstępnej przed sterylizacją istotnie wpłynął na zróżnicowanie ocen, przy czym lepszymi ocenami charakteryzowały się konserwy otrzymane z owocników blanszowanych w wodzie niż blanszowanych w roztworze pirosiarczynu sodu.

Reasumując poszczególne wyniki analizy organoleptycznej należy stwierdzić, że wyższe o 0,1-0,4 pkt noty za ocenę ogólną przyznano konserwowanym owocnikom bocznika ostrygowatego, niż konserwowanym owocnikom pieczarki dwuzarodnikowej.

Rodzaj blanszowania nie miał wpływu na ogólną ocenę konserwowanego bocznika ostrygowatego, natomiast istotnie wpłynął na ogólną ocenę konserw z pieczarki dwuzarodnikowej. Lepszą jakością

o 0,3 pkt, charakteryzowały się konserwy z owocników poddanych blanszowaniu w roztworze pirosiarczynu sodu i kwasu cytrynowego, aniżeli blanszowanych w wodzie.

Analiza korelacji oceny barwy metodą instrumentalną i organoleptyczną

Wyniki dla analizy organoleptycznej barwy i parametru L* były skorelowane w 89%, a współczynnik korelacji r wynosił 0,93, co wskazuje na silną dodatnią zależność pomiędzy obydwooma ocenami (tabela 4). Wynik ten wskazuje na to, że poziom jasności barwy (L*) konserwowanych owocników wpływa na ocenę jakości produktu metodą organoleptyczną. Owocniki jaśniejsze były wyżej ocenione za pomocą zmysłu wzroku. Z kolei wartość parametru a* była skorelowana z organoleptyczną oceną barwy na poziomie 98%, współczynnik korelacji wynosił 0,99, co wskazuje na bardzo silną dodatnią zależność. Można zatem wnioskować, że barwa czerwona badanych grzybów wpłynęła na ocenę barwy metodą organoleptyczną.

Tabela 4. Współczynniki korelacji pomiędzy barwą ocenioną instrumentalnie i organoleptycznie

Zależność między oceną barwy uzyskaną w ocenie organoleptycznej a:	r	R^2
Parametrem L*	0,93	0,89
Parametrem a*	0,99	0,98
Parametrem b*	0,25	0,06

r – współczynnik korelacji, R^2 - współczynnik regresji liniowej

Brak zależności wykazano pomiędzy oceną organoleptyczną barwy i wartościami parametru b*. W tym przypadku współczynnik korelacji wynosił 0,25, a procentowa ocena korelacji tylko 6%. Oznacza to, że udział barwy żółtej badanych grzybów nie wpłynął na ocenę barwy metodą organoleptyczną.

Wnioski

Konserwy z pieczarki dwuzarodnikowej, w porównaniu z konserwami z bocznika ostrygowatego, były istotnie zasobniejsze w składniki popielne, azot ogółem, azot białkowy, polifenole ogółem. Charakteryzowały się też wyższym poziomem wskaźnika pH. Natomiast konserwy z bocznika ostrygowatego zawierały istotnie więcej węglowodanów ogółem.

Instrumentalny pomiar barwy wykazał, że konserwowane owocniki bocznika ostrygowatego, w porównaniu z konserwowanymi pieczarkami dwuzarodnikowymi, odznaczały się jaśniejszą barwą. Wartości parametrów a^* i b^* w przypadku konserw z obydwu gatunków grzybów były dodatnie, co świadczy o dominującym udziale odpowiednio barwy czerwonej i żółtej. Istotnie wyższym poziomem obu barw charakteryzowała się pieczarka dwuzarodnikowa.

W ocenie organoleptycznej konserwowane owocniki bocznika ostrygowatego, w porównaniu z konserwowanymi owocnikami pieczarki dwuzarodnikowej, uzyskały istotnie wyższe noty za barwę i klarowność zalewy, jednolitość wielkości owocników, barwę owocników oraz ogólną ocenę. Z kolei konserwy z pieczarki dwuzarodnikowej odznaczały się wyższymi notami za zapach i smak owocników.

Nie stwierdzono wpływu obróbki wstępnej przed sterylizacją na poziom poszczególnych wyróżników składu chemicznego konserwowanych grzybów obydwu gatunków. Natomiast istotny wpływ wykazano w przypadku analizy barwy metodą instrumentalną oraz takich wyróżników jakości w ocenie organoleptycznej jak: barwa, zapach oraz smak owocników. Dodatkowo w konserwach z pieczarki dwuzarodnikowej obróbka wstępna wpłynęła na barwę i klarowność zalewy oraz ocenę ogólną.

Literatura

1. Augustin J., Jaworska G., Dandár A., Cejpek K., *Bocznik ostrygowaty (Pleurotus ostreatus) jako źródło β -D-glukanów*, Żywność. Nauka. Technologia. Jakość 2007, 6(55), 170-176.
2. AOAC. Association of Official Analytical Chemistry, Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists, 16th ed., Arlington, Virginia, USA 1995.
3. Barros L., Cruz T., Baptista P., Estevinho L.M., Ferreira I.C.F.R., *Wild and commercial mushrooms as source as nutrients and nutraceuticals*, Food and Chemical Toxicology 2008, 46, 2742-2747.
4. Baryłko-Pikielna N., Matuszewska I., *Sensoryczne badania żywności*, Wydawnictwo Naukowe PTTŻ, Kraków 2009.
5. Bernaś E., *Wpływ obróbki wstępnej na jakość mrozonek z wybranych gatunków grzybów jadalnych, Praca doktorska*, Akademia Rolnicza w Krakowie 2006.
6. Bernaś E., Jaworska G., *Wpływ zabiegów technologicznych na jakość mrozonek z grzybów jadalnych*, Przemysł Fermentacyjny i Owocowo-Warzywny 2007, 3, 31-33.
7. Braakasma A., Van der Meer P., Schaap D.J., *Polyphosphate accumulation in the senescing mushroom Agaricus bisporus*, Postharvest Biology and Technology 1996, 8, 121-127.
8. Brown T.A., *Genomy*, Wydawnictwo Naukowe PWN, 2009.
9. Czapski J., Szudyga K., *Frozen mushrooms quality as affected by strain, flush, treatment before freezing, and time of storage*, Journal of Food Science 2000, 65(4), 722-725.
10. Czapski J., *Mushrooms quality as affected by washing and storage conditions*, Vegetable Corps Research Bulletin 2002, 58, 135-141.
11. Czapski J., *Some characteristics of active and latent monophenolase of mushroom polyphenol oxidase*, Acta Agrobotanica 1998, 51(1-2), 33-41.

12. Czapski J., *Substrate specificity and inhibitors of polyphenol oxidase in aspect of darkening of fresh and frozen mushrooms (Agaricus bisporus (Lange) Sing.)*, Acta Agrobotanica 1994, 47(1), 103-110.
13. Elmastas M., Turkekel O.I.I. Temur N., *Determination of antioxidant activity and antioxidant compounds in wild edible mushrooms*, Journal of Food Composition and Analysis 2007, 20, 337-345.
14. Florczak J., Lasota W., *Wchłanianie i wiązanie kadmu przez bocznika ostrygowatego (Pleurotus ostreatus Jacq. Ex F. Quel) w warunkach uprawy*, Bromatologia i Chemia Toksykologiczna 1995, 28(1), 17-23.
15. Gapiński M., Woźniak W., *Pieczarka. Technologia uprawy i przetwarzania*, Państwowe Wydawnictwo Rolnicze i Leśne, Poznań 1999.
16. Jaworska G., Bernaś E., Cichoń Z., Possinger P., *Establishing the optimal period of storage for frozen Agaricus bisporus, depending on the preliminary processing applied*, International Journal of Refrigeration 2008, 31(6), 1042-1050.
17. Jaworska G., Gębczyński P., Gołyszny A., *Wykorzystanie pieczarek do produkcji mrożonych i sterylizowanych farszów*, Żywność. Nauka. Technologia. Jakość. Supplement 2003, 3(36), 63-71.
18. Jaworska G., Biernacka A., Wybraniec S., Bernaś E., *Porównanie zawartości witamin B₁ i B₂ w mrożonkach i sterylizowanych konserwach z bocznika, borowika i pieczarki*, Żywność. Nauka. Technologia. Jakość 2007, 6(55), 177-185.
19. Jaworska G. Bernaś E., *Qualitative changes in Pleurotus ostreatus (Jacq: Fr) Kumm. Mushrooms resulting from different methods of preliminary processing and periods of frozen storage*, Journal of the Science of Food and Agriculture 2009, 89, 1066-1075.
20. Jaworska G., Bernaś E., Mickowska B., *Effect of production process on the amino acid content of frozen and canned Pleurotus ostreatus mushrooms*, Food Chemistry 2011, 125, 936-943.
21. Kalbarczyk J., *Impact of freeze drying on the content of biologically active substances in the fruiting bodies of selected edible mushroom species*, Acta Agrophysica 2003, 2(2), 321-330.
22. Kalbarczyk J., Radzki W., Sławińska A., Koc W., *Właściwości proszków grzybowych jako składnika konserw mięsno-grzybowych*, Nauka. Przyroda. Technologie 2007, 1(4), 53.
23. Manzi P., Pizzoferrato L., *Beta-glucans in edible mushrooms*, Food Chemistry 2000, 68, 315-318.
24. Manzi P., Aguzzi A., Pizzoferrato L. 2001. *Nutritional value of mushrooms widely consumed in Italy*, Food Chemistry 2001, 71, 321-325.
25. Manzi P., Gambelli L., Marconi S., Vivanti V., Pizzoferrato L., *Nutrients in edible mushrooms: an inter-species comparative study*, Food Chemistry 1999, 65(4), 477-482.
26. Martin-Belloso O., Llanos-Barriobero E., *Proximate composition, minerals and vitamins in selected canned vegetables*. European Food Research and Technology 2001, 212, 182-187.
27. Matilla P., Salo-Vaananen P., Konko K., Aro H., Jalava T., *Basic composition and amino acid contents of mushrooms cultivated in Finland*, Journal of Agriculture and Food Chemistry 2002, 50, 6419-6422.
28. Mdahi S.J.M., Nkunya M.H.H., Nyigo V.A. Uraa I.T., *Amino acid composition of edible mushrooms*, Food Chemistry 2004, 17, 301-310.
29. PN-ISO 6658, *Analiza sensoryczna. Metodologia. Wytyczne ogólne*, PKN, Warszawa 1998.
30. PN-ISO 3972, *Analiza sensoryczna. Metodologia. Wytyczne ogólne*, PKN, Warszawa 1998.
31. Rajewska J., Bałasińska B., *Związki biologicznie aktywne zawarte w grzybach jadalnych i ich korzystny wpływ na zdrowie*, Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej 2004, 58, 352-357.
32. Sanmee R, Dell B., Lumyong P., Izumori K., Lumyong S., *Nutritive value of popular Wild edible mushrooms from northern Thailand*, Food Chemistry 2003, 82, 527, 532.
33. Shah H., Iqtidar A. Khalil, Shagufta Jabeen., *Nutritional composition and protein quality of Pleurotus mushroom*, Sarhad Journal of Agriculture 1997, 13(6), 621-626.

34. Singleton V.L., Orthofer r., Lamuela-Raventós R.M., *Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent*, *Methods in Enzymology* 1999, 299, 152-178.
35. Skąpska S., Owczarek L., Jasińska U., Hałasińska A., Danielczyk J., Sokołowska B. *Zmiany pojemności przeciwutleniającej grzybów jadalnych w procesie kiszenia*, *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość* 2008, 4(59), 243-250.
36. Souci S.W., Fachmann W., Kraut H. *Die Zusammensetzung der Lebensmittel Nährwert-Tabellen*, CRC, Boca Raton 2000.
37. Wojewoda W., *Poradnik grzybiarza*, Prószyński i S-ka, Warszawa 2003.

Abstract

This paper compares the quality of canned products obtained from *Agaricus bisporus* and *Pleurotus ostreatus* pilei, the two mushrooms most commonly cultivated in Poland. Mushrooms underwent appropriate preliminary processing to maintain good quality and also to retain their natural colour. Pre-processing included blanching in water or in an aqueous solution of sodium metabisulfite and citric acid. A jar 300 cm³ in volume was filled with 180 g of mushrooms and 100 cm³ of 2% brine. Afterwards, the products were sterilized at 118-121°C for 12 minutes and then stored at 8-10°C for 8 months in a cold storage chamber. Sterilized pilei were examined in terms of: dry matter, ash, total nitrogen, protein nitrogen, carbohydrates, total polyphenol contents, and pH value. Additionally, colour evaluation was carried out by an instrumental method as well as sensory evaluation using a 5-point scale. Of all the products examined, those obtained from *Agaricus bisporus* mushrooms were the most abundant in dry matter (by 3%), ash (by 19%), total nitrogen (by 39%), protein nitrogen (by 70%), and total polyphenols (by 156%); whereas these obtained from *Pleurotus ostreatus* mushrooms had larger quantities of total carbohydrates (by 10%). Instrumental measurements of colour showed that the preserved *Pleurotus ostreatus* pilei, compared to *Agaricus bisporus* products, exhibited the higher lightness (L*) value, yet had the lower redness (a*) and yellowness (b*) values. L* and a* parameters strongly correlated with the results of sensory evaluation of colour. In the general evaluation, the mushroom products examined differed significantly, with the higher scores noted for *Pleurotus ostreatus* products than for those obtained from *Agaricus bisporus*. A method of the pre-processing applied slightly affected the chemical composition of the canned products, since for both mushroom species the only visible differences were recorded in pH value. However, a substantial effect of the pre-treatment was observed in colour, aroma and taste of pilei in the general sensory evaluation and in terms of colour determined by an instrumental method. For both *Agaricus bisporus* and *Pleurotus ostreatus* mushrooms, the application of sodium metabisulfite in pre-treatment prior to sterilization caused resulted in products were characterized by better sensory quality and instrumentally measured colour of the products than the canned products obtained from the mushrooms blanching in water.

WPLYW METODY EKSTRAKCJI NA ZAWARTOŚĆ ZWIĄZKÓW FENOLOWYCH I AKTYWNOŚĆ ANTYOKSYDACYJNĄ WYBRANYCH OWOCÓW I WARZYW

Agnieszka Filipiak-Florkiewicz, Kinga Topolska, Ewa Cieślik

*Małopolskie Centrum Monitoringu i Atestacji Żywności, Wydział Technologii Żywności,
ul. Balicka 122, 31-149 Kraków, e-mail: afilipiak-florkiewicz@ar.krakow.pl*

Streszczenie

Aktualnie nie istnieje jedna, niezawodna i pozbawiona błędów metoda oznaczania zawartości związków fenolowych i aktywności antyoksydacyjnej próbek żywności. Celem niniejszej pracy było stwierdzenie czy wybór określonej metody ekstrakcji i użytego rozpuszczalnika wpłynie na zawartość związków fenolowych i aktywność antyoksydacyjną wybranych owoców i warzyw. W badaniach wykorzystano powszechnie spożywane w Polsce jabłka i kalafior.

Najbardziej skutecznym rozpuszczalnikiem do ekstrakcji związków fenolowych z kalafiora okazał się metanol. W przypadku jabłek każdy z zastosowanych rozpuszczalników w podobnym stopniu ($p > 0,05$) ekstrahował związki fenolowe.

Wartość aktywności przeciwutleniającej w wybranych warzywach i owocach była zależna od użytego do ekstrakcji rozpuszczalnika. W przypadku obu surowców najbardziej skuteczny okazał się 70% aceton.

W przeprowadzonych badaniach nie stwierdzono korelacji pomiędzy ogólną zawartością związków fenolowych a aktywnością antyoksydacyjną. Wyniki sugerują, że należy wziąć pod uwagę także zawartość innych składników o charakterze antyoksydacyjnym obecnych w surowcu.

Słowa kluczowe: ekstrakcja, związki fenolowe, aktywność antyoksydacyjna, owoce, warzywa

Wprowadzenie

Żywność powinna spełniać trzy podstawowe funkcje. Po pierwsze: zapewnić organizmowi odpowiednią podaż energii i podstawowych składników odżywczych (białka tłuszczu, węglowodanów) oraz witamin i składników mineralnych. Drugą funkcją żywności jest dostarczenie konsumentowi psychicznej satysfakcji i zadowolenia z jej spożywania. Żywność więc musi charakteryzować się atrakcyjną barwą, smakiem i zapachem. Obok dwóch wymienionych funkcji żywności warto wspomnieć o trzeciej, którą jest obniżanie ryzyka wielu chorób. Żywność może być uznana za funkcjonalną, jeżeli udowodniono jej korzystny ponad efekt odżywczy wpływ na jedną lub więcej funkcji organizmu. Wpływ ten ma polegać na poprawie stanu zdrowia oraz samopoczucia i/lub zmniejszaniu ryzyka chorób.

Korzystne właściwości żywności z punktu widzenia fizjologicznego są kształtowane w niej przez składniki odżywcze i nieodżywcze. Te drugie nazywane są często substancjami biologicznie czynnymi lub bioaktywnymi. Występuje duża różnorodność tych związków pod względem struktury i właściwości, dlatego stworzono listę składników, stosowanych do wzbogacania i otrzymywania żywności funkcjonalnej [Jaworska 1999].

Naturalnymi substancjami nieodżywczymi w żywności pochodzenia roślinnego są m.in. związki fenolowe, takie jak kwasy fenolowe czy flawonoidy. Zawartość związków fenolowych w surowcach roślinnych zależy od wielu czynników, głównie od gatunku rośliny, warunków klimatyczno-glebowych, ale także w znaczący sposób od prowadzonych warunków ekstrakcji z surowca oraz rodzaju zastosowanej metody analitycznej. Najczęściej ogólną zawartość związków fenolowych oznacza się z zastosowaniem odczynnika Folina-Ciocalteu, a uzyskane ilości podaje się w przeliczeniu na wybrany wzorzec, najczęściej kwas galusowy lub (+)-katechinę [Grajek 2007]. Natomiast w celu oznaczenia całkowitej aktywności antyoksydacyjnej próbek żywności powszechnie stosuje się metodę opartą na wykorzystaniu stabilnego rodnika $ABTS^{+}$. Prosty sposób wykonania oznaczeń w metodzie z odczynnikiem $ABTS^{+}$ umożliwia rutynowe analizowanie próbek żywności, zarówno hydrofobowych, jak i hydrofilowych. Zaletą tej metody jest również szybko zachodząca reakcja kationorodnika $ABTS^{+}$ z przeciwutleniaczem oraz dobra rozpuszczalność $ABTS^{+}$ w rozpuszczalnikach wodnych oraz organicznych [Cybul i Nowak 2008].

Celem niniejszej pracy było stwierdzenie czy wybór określonej metody ekstrakcji i użytego rozpuszczalnika wpłynie na zawartość

związków fenolowych i aktywność antyoksydacyjną wybranych owoców i warzyw. W badaniach wykorzystano powszechnie spożywane w Polsce jabłka i kalafior.

Material i metody badań

Materiał badawczy stanowiły: kalafior o róży białej oraz jabłko odmiany Champion. Surowce zostały zakupione w handlu detalicznym na terenie miasta Krakowa.

Przed przystąpieniem do analizy usunięto liście kalafiora, kalafior umyto, podzielono na różyczki oraz opłukano i osuszono. Jabłka umyto, obrano ze skórki, usunięto gniazda nasienne, opłukano a następnie osuszono.

W tak przygotowanym materiale oznaczono:

- zawartość suchej masy metodą suszarkową [AOAC 1995];
- zawartość związków fenolowych z zastosowaniem metody Swain i Hillis [1959] i wyrażono w mg kwasu chlorogenowego w 100 g produktu;
- aktywność przeciwutleniającą metodą pomiaru zdolności wygaszania wolnego rodnika ABTS^{•+} [Re i wsp. 1999]; uzyskane wartości podano w μmol Troloxu w przeliczeniu na gram badanego produktu ($\mu\text{mol Tx/g}$).

Wszystkie oznaczenia wykonano w trzech powtórzeniach.

Zawartość związków fenolowych i aktywność antyoksydacyjną określono w ekstraktach przygotowanych wg schematu przedstawionego w tabeli 1.

Tabela 1. Warunki ekstrakcji

Metoda ekstrakcji	Rozpuszczalnik	Ilość rozpuszczalnika [ml]	Czas ekstrakcji [h]
1	Metanol	80	4
2	Metanol + 0,08M HCl	80	4
3	Aceton	80	4
4	Metanol + 0,08M HCl	40	2
	Aceton	40	2

Do ekstrakcji wykorzystano metanol, 70% aceton, 0,08M HCl. Roztwór metanolu z kwasem solnym sporządzano w stosunku objętościowym 8:2.

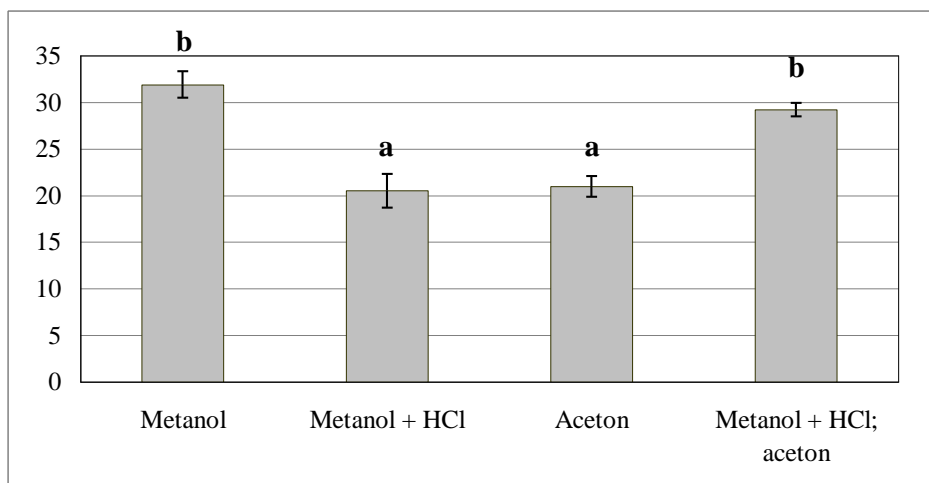
Wszystkie otrzymane wyniki poddano analizie statystycznej. W tym celu przeprowadzono analizę wariancji w układzie jednoczynnikowym. Istotność różnic określono na podstawie testu Duncana przy założonym poziomie istotności $p \leq 0,05$. Obliczono też wartości średnie i odchylenia standardowe. Obliczenia wykonano przy pomocy programu komputerowego Excel 2007 i Statistica 8.

Wyniki badań i dyskusja

Zawartość suchej masy w świeżych różach kalafiora wynosiła średnio 6,2 g w 100 g produktu, a w jabłkach 13,4 g/100 g (tab. 2). Głównym składnikiem zarówno owoców, jak i warzyw jest woda, która stanowi 68-94% masy surowca. Zawartość suchej masy zależy od gatunku, odmiany oraz od szeregu innych czynników. Na wynik końcowy oznaczenia wpływa też rodzaj zastosowanej metody analitycznej. Według niektórych autorów zawartość suchej masy w kalafiorze przekracza nawet 9 g/ 100 g części jadalnej produktu [Cieślak i Topolska 2003; Pijanowski 2006]. Z kolei Orłowski [2000] stwierdził, że zawartość suchej masy w kalafiorze kształtuje się na poziomie 8-9%.

Uzyskana zawartość suchej masy w jabłkach jest porównywalna z wartością podawaną w tabelach Kunachowicz i wsp. [2005] i nieznacznie niższa od wyniku uzyskanego przez Pijanowskiego [2006].

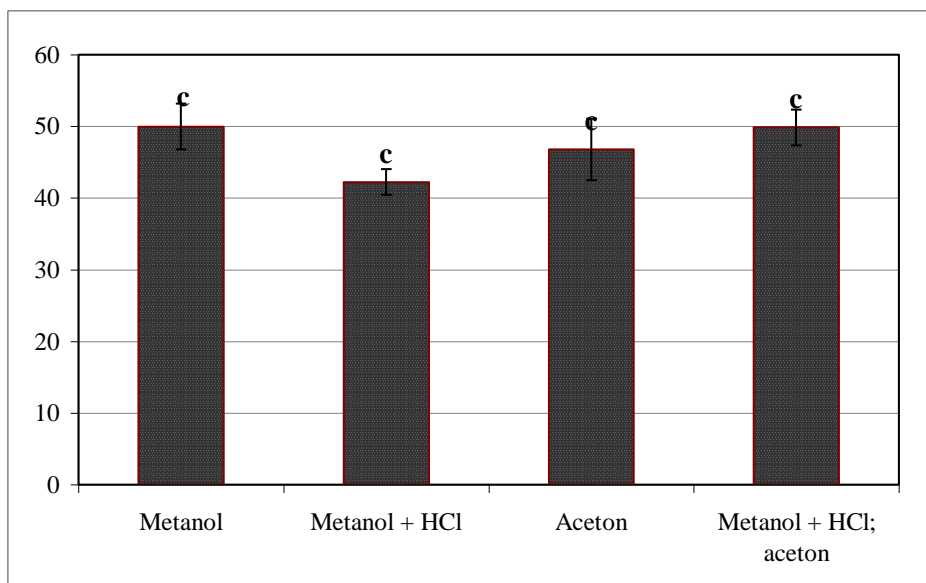
W 100 g świeżej masy kalafiora stwierdzono zawartość związków fenolowych w zakresie od 20,5 mg (w przypadku zastosowania metanolu z HCl jako rozpuszczalnika) do 31,9 mg (w przypadku zastosowania metanolu jako rozpuszczalnika) (rys. 1).



Wartości oznaczone tymi samymi literami nie różnią się istotnie statystycznie ($p > 0,05$)

Rys. 1. Porównanie zawartości związków fenolowych ogółem w ekstraktach z kalafiora w zależności od zastosowanej metody ekstrakcji [mg kwasu chlorogenowego/100 g świeżej masy]

W przypadku jabłek nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic w ogólnej zawartości związków fenolowych w zależności od zastosowanej metody ekstrakcji (wykres 2). Zawartość związków fenolowych ogółem w 100 g świeżej masy jabłek wahała się od 42,2 mg (w przypadku zastosowania metanolu z HCl) do 50,0 mg (w przypadku zastosowania metanolu jako rozpuszczalnika). Równie skutecznym rozpuszczalnikiem jak metanol okazał się metanol z HCl i aceton – 49,8 mg (metoda 4). Na podstawie wyników przeprowadzonych badań możemy stwierdzić, iż najbardziej skutecznym rozpuszczalnikiem, stosowanym w ekstrakcji związków fenolowych z badanych surowców roślinnych, jest metanol.



Wartości oznaczone tymi samymi literami nie różnią się istotnie statystycznie ($p > 0,05$)

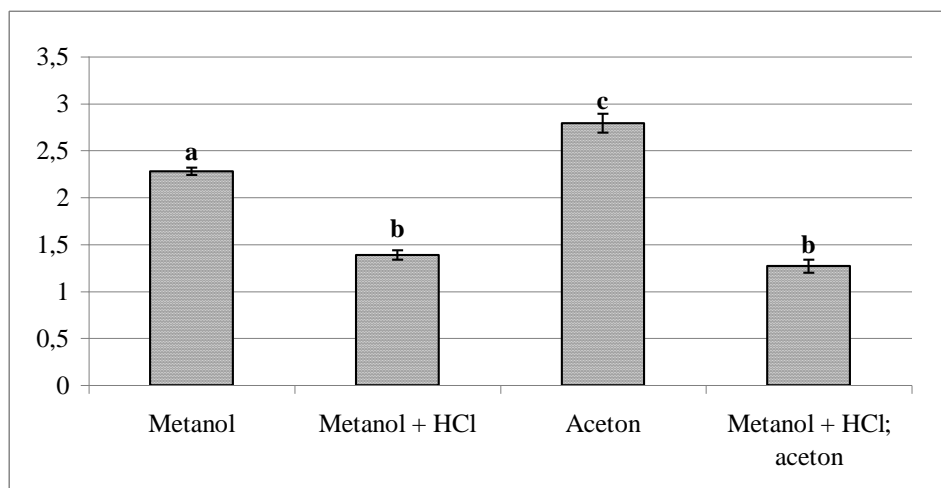
Rys. 2. Porównanie zawartości zw. fenolowych ogółem w ekstraktach jabłka w zależności od zastosowanej metody ekstrakcji [mg kwasu chlorogenowego/100 g ś. m.]

Liczne dane literaturowe potwierdzają wpływ gatunku rośliny, jej genotypu, stopnia dojrzałości oraz czynników zewnętrznych (w czasie wzrostu, zbioru i po zbiorze) na ogólną zawartość związków fenolowych w badanych próbkach surowców roślinnych. Istotne znaczenie podczas analizy ma wybór części morfologicznej surowca oraz metody zastosowanej ekstrakcji [Grajek 2007]. Gawlik-Dziki i Kowalczyk [2007] nie stwierdzili istotnego wpływu rozpuszczalnika na wielkość ekstrakcji związków fenolowych z kielków rzodkiewki. Udowodnili, że skuteczniejszym rozpuszczalnikiem do ekstrakcji flawonoidów jest 50% metanol, natomiast stosując 50% aceton wyekstrahowano więcej fenolokwasów. Z kolei Baraniak i Gawlik-Dziki [2004], w badaniach z wykorzystaniem mrożonego brokułu wykazały, że zawartość związków fenolowych uzależniona była od zastosowanego do ekstrakcji układu rozpuszczalników, jak i czasu prowadzenia procesu. Najwięcej związków fenolowych uzyskano po 30 minutach trwania procesu, stosując mieszaninę etanolu z wodą (4:1 v/v). Najniższą ogólną zawartość związków fenolowych wyekstrahowano po upływie 15 minut stosując układ metanol:woda (1:1 v/v), choć wydłużenie czasu ekstrakcji powodowało wzrost ogólnej ich zawartości w próbkach. Turkmen i wsp.

[2006], badając wydajność rozpuszczalników w ekstrakcji polifenoli z czarnej herbaty stwierdzili wysoką skuteczność 80% acetonu. Podobne wyniki uzyskali także Drużyńska i wsp. [2007], przeprowadzając badania koncentrujące się nad efektywnością ekstrakcji związków fenolowych z użyciem powszechnie stosowanych w laboratoriach rozpuszczalników: etanolu, metanolu, acetonu i wody.

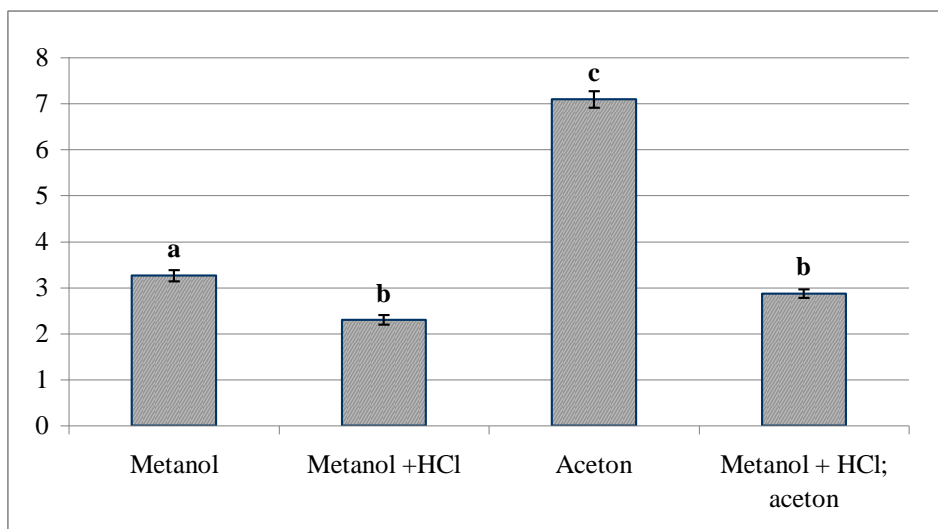
Ogólnie stwierdza się, że owoce są bogatszym źródłem związków fenolowych niż warzywa, gdyż zawierają nawet 1-2 g/100 g świeżego surowca. Ponadto w owocach występują duże ilości proantocyjanidyn (jabłka, śliwki, winogrona) i antocyjanów (czerwone owoce), które są na ogół niespotykane w warzywach z wyjątkiem bakłażana i roślin strączkowych [Szymusia 2002]. Przeprowadzone badania potwierdzają ten fakt, gdyż zawartość związków fenolowych w kalafiorze wynosiła nieco powyżej 30 mg kwasu chlorogenowego/100 g, podczas, gdy w jabłkach ta zawartość kształtowała się na poziomie 40-50 mg/100 g.

W ekstraktach z kalafiora i jabłek przeprowadzono pomiar ich zdolności do wygaszania wolnego rodnika ABTS^{•+}. W przypadku obu surowców zdecydowanie najlepszym rozpuszczalnikiem do oznaczenia tego parametru okazał się 70% aceton (rys. 3 i 4).



Wartości oznaczone tymi samymi literami nie różnią się istotnie statystycznie ($p > 0,05$)

Rys. 3. Aktywność antyoksydacyjna ekstraktów z kalafiora w zależności od zastosowanej metody ekstrakcji [μmol Tx/g świeżej masy]



Wartości oznaczone tymi samymi literami nie różnią się istotnie statystycznie ($p > 0,05$)

Rys. 4. Aktywność antyoksydacyjna ekstraktów jabłka w zależności od zastosowanej metody ekstrakcji [μmol Tx/g świeżej masy]

Ekstrakty z kalafiora charakteryzowały się ponad dwukrotnie mniejszą aktywnością antyoksydacyjną niż ekstrakty jabłka. Gawlik-Dziki i Kowalczyk [2007] przeprowadzając badania na ekstraktach z kielków rzodkiewki wykazały, że wśród zastosowanych układów rozpuszczalników nieznacznie wyższą aktywnością antyoksydacyjną charakteryzował się ekstrakt metanolowy. Drużyńska i wsp. [2007] poddając analizie ekstrakty z zielonej herbaty zbadali również wpływ rodzaju rozpuszczalnika na właściwości przeciwutleniające próbek. Z badań wynika, że najwyższą wartość (wyrażoną jako procent zmiatania rodników $ABTS^{\bullet+}$) uzyskał ekstrakt wodny, a następnie acetonowy. Z kolei Sun i wsp. [2007] nie stwierdzili istotnych statystycznie różnic w aktywności antyoksydacyjnej poszczególnych ekstraktów ze szparagów i brokułów. Według Meyer'a i wsp. [1998] aktywność antyoksydacyjna badanej próbki zależy m.in. od typu i polarności rozpuszczalnika użytego do ekstrakcji oraz czystości aktywnych składników produktu. Określenie aktywności antyoksydacyjnej jest związane z rodzajem zastosowanej metody, użyciem rodnika ($ABTS^{\bullet+}$, DPPH, FRAP, TRAP) [Gumul i wsp. 2005], wyborem surowca (jego części morfologicznej) oraz rodzajem ekstraktu poddanego analizie. Wyniki tej pracy dowodzą, że ważnym czynnikiem jest dobór odpowiednich układów rozpuszczalników do prowadzenia ekstrakcji związków fenolowych. Wykazano, że najlepszą

skuteczność w oznaczaniu aktywności antyoksydacyjnej próbek owoców i warzyw posiada ekstrakt acetonowy. Otrzymane wartości liczbowe efektów antyoksydacyjnych trudno jest jednak porównać z wynikami uzyskanymi przez innych autorów, gdyż w badaniach stosowane są różne surowce i różne metody analityczne.

Wielu autorów wskazuje na zależność między aktywnością antyoksydacyjną ekstraktów, a zawartością w nich związków fenolowych. Często rezultaty tych badań są sprzeczne [Moure i wsp. 2001]. Przeprowadzone badania nie potwierdzają proporcjonalnej zależności pomiędzy zawartością związków fenolowych ogółem a aktywnością antyoksydacyjną poszczególnych ekstraktów. W przypadku ekstraktów z jabłka, obliczony współczynnik korelacji wynosi 0,092, a w przypadku kalafiora $r = -0,11$. Wyniki te sugerują, że na całkowitą aktywność antyoksydacyjną badanych surowców większy wpływ mają inne związki o charakterze przeciwutleniającym (np. witamina C).

W badaniach dotyczących aktywności antyoksydacyjnej kalafiora, Baraniak i wsp. [2002] nie znaleźli zależności pomiędzy aktywnością antyoksydacyjną ekstraktów a poziomem zawartych w nich związków fenolowych. Jedynie po zastosowaniu mieszaniny acetonu z wodą ekstrakt o największej zawartości związków fenolowych wykazał największą aktywność antyoksydacyjną po 24-godzinnej inkubacji z kwasem linolowym. Gazzani i wsp. [1998] otrzymali również podobne wyniki analizując warzywa (m.in. kalafior). Według powyższych autorów różne związki fenolowe dają odmienne reakcje przy oznaczaniu metodą Folina-Ciocalteu. Dlatego też aktywność antyoksydacyjna danego ekstraktu nie powinna być określona na podstawie całkowitej zawartości związków fenolowych, nawet jeśli występują one w znacznej ilości. Do podobnych wniosków doszli Maillard i Berset [1995], szukając korelacji pomiędzy zawartością zw. fenolowych a aktywnością antyoksydacyjną w słodzie. Niektórzy autorzy wykazali liniową zależność pomiędzy aktywnością antyoksydacyjną, a zawartością związków fenolowych. Markowski i wsp. [2008] oznaczyli aktywność antyoksydacyjną owoców za pomocą reakcji z kationorodnikiem ABTS^{•+}. Wykazali wysoką korelację aktywności antyoksydacyjnej i zawartości związków fenolowych w świeżych jabłkach, sokach i przetworach. Z przedstawionej przez autorów zależności wynika, że w celu otrzymania produktu o wyższej wartości odżywczej należy dążyć do zwiększenia w nim zawartości związków fenolowych.

Wnioski

- Ważnym czynnikiem z analitycznego punktu widzenia jest dobór odpowiednich układów rozpuszczalników do prowadzenia ekstrakcji związków fenolowych z owoców i warzyw. Najbardziej skutecznym rozpuszczalnikiem do ekstrakcji związków fenolowych z kalafiora okazał się metanol. W przypadku jabłek każdy z zastosowanych rozpuszczalników w podobnym stopniu ($p > 0,05$) ekstrahował związki fenolowe.
- Wartość aktywności przeciwutleniającej w wybranych warzywach i owocach była zależna od użytego do ekstrakcji rozpuszczalnika. W przypadku obu surowców najbardziej skuteczny okazał się 70% aceton.
- W przeprowadzonych badaniach nie stwierdzono korelacji pomiędzy ogólną zawartością związków fenolowych a aktywnością antyoksydacyjną.

Literatura

1. Baraniak B., Gawlik-Dziki U., *Wpływ warunków ekstrakcji na aktywność antyoksydacyjną związków fenolowych z brokułu*, Żywnie i Metabolizm 2004, XXXI, nr 4, 304-311.
2. Baraniak B., Krzepiło A., Stryjecka M., *Aktywność antyutleniająca związków fenolowych ekstrahowanych różnymi rozpuszczalnikami z kalafiora*, Żywność. Nauka. Technologia. Jakość 2002, 3(32), 58-65.
3. Cieślak E., Topolska K., *Owoce i warzywa zawsze w jadłospisie*. Zdrowa żywność, zdrowy styl życia 2003, 4(62), 4-7.
4. Cybul M., Nowak R., *Przegląd metod stosowanych w analizie właściwości antyoksydacyjnych wyciągów roślinnych*, Herba Polonica 2008, 1, 68-78.
5. Drużyńska B., Stępniewska A., Wołosiak R., *The influence of time and type of solvent on efficiency of the extraction of polyphenols from green tea and antioxidant properties obtained extracts*, Acta Scientiarum Polonorum, Technologia Alimentaria 2007, 6(1), 27-36.
6. Gawlik-Dziki U., Kowalczyk D., *Wpływ warunków ekstrakcji na aktywność przeciwutleniającą ekstraktów z kielków rzodkiewki*, Żywność. Nauka. Technologia. Jakość 2007, 1(50), 132-139.
7. Gazzani G., Papetti A., Massolini G., Daglia M., *Anti- and Prooxidant Activity of Water Soluble Components of Some Common Diet Vegetables and the Effect of Thermal Treatment*, Journal of Agricultural and Food Chemistry 1998, 46, 4118-4 122.
8. Grajek W. (red.), *praca zbiorowa, Przeciwutleniające w żywności. Aspekty zdrowotne, technologiczne, molekularne i analityczne*, Wydawnictwo Naukowo-Techniczne, Warszawa, 2007, 141-157; 209-216.
9. Gumul D., Korus J., Achremowicz B., *Wpływ procesów przetwórczych na aktywność przeciwutleniającą surowców pochodzenia roślinnego*, Żywność. Nauka. Technologia. Jakość 2005, 4(45) Supl., 41-48.
10. Jaworska G., *Rola biologicznie czynnych składników w kształtowaniu prozdrowotnych funkcji żywności*, Zeszyty Naukowe Akademii Rolniczej w Krakowie, 1999, nr 360, 105-117.
11. Kunachowicz H., Nadolna I., Przygoda B., Iwanow K., *Tabele składu i wartości odżywczej*. Wydawnictwo Lekarskie PZWL, Warszawa, 2005, 236-309.

12. Maillard M. N., Berset C., *Evolution of antioxidant activity during kilning, role of insoluble bound phenolic acids of barley and malt*, Journal of Agricultural and Food Chemistry 1995, 43, 1789-1793.
13. Markowski J., Mieszczakowska M., Fastyn M., Plocharski W., *Aktywność antyoksydacyjna owoców i przetworów z jabłek*, Przemysł Fermentacyjny i Owocowo-Warzywny 2008, 4, 25-26.
14. Meyer A. S., Heinonen M., Frankel E. N., *Antioxidant interactions of catechin, cyanidin, caffeic acid, quercetin, and ellagic acid on human LDL oxidation*, Food Chemistry 1998, 61, 71-75.
15. Moure A., Cruz J. M., Franco D., Dominguez J. M., Sineiro J., Dominguez H., Nunez J., Parajo J.C., *Natural antioxidants from residua sources*, Food Chemistry 2001, 72, 145-171.
16. Orłowski M., *Polowa uprawa warzyw*. Wydawnictwo Brasika. Szczecin, 2000, 37-40.
17. Pijanowski W. (red.), *Ogólna technologia żywności*, WNT, Warszawa, 2006.
18. Re R., Pellegrini N., Proteggente A., Pannala A., Yang M., Rice-Evans C.A., *Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay*, Free Radical Biology and Medicine 1999, 26, 9/10, 1231-1237.
19. Rutkowska U., *Wybrane metody badania składu i wartości odżywczej żywności*. Państwowy Zakład Wydawnictw Lekarskich, Warszawa, 1981, 34-38.
20. Sun T., Powers J. R., Tang J., *Evaluation of the antioxidant activity of asparagus, broccoli and their juices*, Food Chemistry 2007, 105, 101-106.
21. Szymusiak H., *Badania efektywności wybranych przeciwutleniaczy*, Prace habilitacyjne 5, Wydawnictwo AE w Poznaniu, 2002, 45-48.
22. Turkmen N., Sari F., Velioglu Y.S., *Effects of extraction solvents on concentration and antioxidant activity of black and black mate tea polyphenols determined by ferrous tartrate and Folin-Ciocalteu methods*, Food Chemistry 2006, 99, 835-841.

Abstract

Currently there is no single, reliable and error-free method for the determination of phenolic compounds and antioxidant activity of food products.

The aim of this study was to determine whether the choice of a particular method of extraction and solvent used would affect the content of phenolic compounds and antioxidant activity of selected fruits (apples) and vegetables (cauliflower), commonly consumed in Poland. The most effective solvent for extraction of phenolic compounds in cauliflower was methanol. Taking apples into consideration, solvent used had no significant effect on the total content of these substances. The value of antioxidant activity in selected vegetables and fruits depended on the solvent used for extraction. For both materials, 70% acetone was the most effective one. No correlation between total content of phenolic compounds and antioxidant activity was observed in this study. The results suggest that other components of antioxidant activity of materials studied should be taken into account.

OZNACZENIE ZAWARTOŚCI ZWIĄZKÓW FENOLOWYCH I WITAMINY C, JAK RÓWNIEŻ POTENCJAŁU ANTYOKSYDACYJNEGO OWOCÓW PIGWY (*CYDONIA OBLONGA* MILL)

*Agnieszka Filipiak-Florkiewicz, Katarzyna Dereń, Kinga Topolska, Adam Florkiewicz,
Ewa Cieślik*

*Małopolskie Centrum Monitoringu i Atestacji Żywności, Wydział Technologii Żywności,
ul. Balińska 122, 31-149 Kraków, e-mail: afiliapiak-florkiewicz@ar.krakow.pl*

Streszczenie

Celem pracy było oznaczenie zawartości związków fenolowych i witaminy C, a także potencjału antyoksydacyjnego owoców pigwy *Cydonia oblonga* Mill. Materiał zakupiono w handlu detalicznym na terenie miasta Krakowa. W badaniach wykorzystano następujące części morfologiczne owoców: skórkę, miąższ, skórkę wraz z miąższem oraz pestki. W materiale oznaczono zawartość suchej masy, związków fenolowych ogółem, witaminy C oraz aktywność antyoksydacyjną owoców.

Stwierdzono istotne zróżnicowanie zawartości wody, związków fenolowych, witaminy C, jak również aktywności antyoksydacyjnej owoców pigwy w zależności od części morfologicznej owocu. Zawartość suchej masy wahała się w granicach od 16,20 do 84,56 g/100 g w różnych częściach morfologicznych owoców pigwy, przy czym największą wartość odnotowano w pestkach. Badane owoce pigwy odznaczały się wysoką zawartością związków fenolowych, szczególnie w skórce (1651,90 mg/100 g s.m.). Zawartość witaminy C w miąższu oraz w skórce wraz z miąższem również była wysoka i wynosiła 155,5 do 168,8 mg/100 g s.m. Aktywność antyoksydacyjna badanych części morfologicznych owoców pigwy oznaczono na poziomie od 1,54 mg do 1,95 mg Troloxu/g próbki.

W przeprowadzonych badaniach nie wykazano silnej dodatniej korelacji pomiędzy ogólną zawartością związków fenolowych bądź witaminy C a aktywnością antyoksydacyjną ekstraktów.

Słowa kluczowe: pigwa, owoce, związki fenolowe, witamina C, aktywność antyoksydacyjna.

Wstęp

Pigwa zwyczajna (*Cydonia oblonga* Mill.), należąca do bardzo licznej rodziny różowatych (*Rosaceae*), ma wiele odmian i typów różniących się m.in. wielkością owoców. Grupę odmian o szczególnie dużych owocach określa się mianem pigwy wielkoowocowej, w przeciwieństwie do typów stosowanych jako podkładki pod grusze [Flowerdew 1998].

Już Hipokrates (ok. 460-370 p. n. e) przepisywał sok z pigwy jako odświeżający lek na rozmaite dolegliwości. Rzymski lekarz, Klaudiusz Galen, stosował w swojej praktyce przecier z portugalskiej odmiany pigwy „marmelerio” – od nazwy, której obecnie wywodzi się określenie marmolada. Ściągające właściwości miąższu i pestek pigwy wynikającej z wysokiej zawartości pektyn i garbników sprawiają, że pigwa jest skutecznym lekiem przeciwkrwotocznym i przeciwbiegunkowym. W przypadku rozstroju żołądka medycyna ludowa zaleca spożywanie pigwy pieczonej [Vad 1996]. Owoce pigwy zaleca się również chorym na gruźlicę. Śluzowata substancja pozyskiwana z pestek działa leczniczo na przeziębienia z kaszlem [De Tommasi i wsp. 1996, Oliveira i wsp. 2007]. Spożywanie surowych owoców zapobiega biegunkom, reguluje procesy trawienne i pobudza apetyt [Sarwa 2008]. Z suszonych owoców przygotowuje się śluzowate odwary zalecane w schorzeniach żołądkowych. Ze świeżych owoców pigwy przygotowuje się m.in. wyciągi i napoje dietetyczne, kompoty, cykаты. Można je też piec i gotować, rzadko natomiast spożywa się je w stanie świeżym. W przemyśle spożywczym jest już opracowana technologia wytwarzania z pigwy nektaru, w którym zachowana zostanie zarówno wartość odżywcza, jak i organoleptyczna [Sękowski 1993]. Pigwa chętnie wykorzystywana jest do produkcji marmolady, dżemu, galaretek i ciast [Silva i wsp. 2002, 2005, 2006].

Wartość energetyczna 100 g owoców pigwy wynosi 165 kJ (40 kcal). W 100 g zawierają one ok. 83,8 g wody, 0,4 g białka, 0,1 g tłuszczu, 15,3 g węglowodanów, jak również 11 mg wapnia, 197 mg potasu i 4 mg sodu [Kawecki i wsp. 2001]. Dojrzałe owoce zawierają fruktozę (6,27%), glukozę (3,31%), sacharozę (2,58%), a także kwas chlorogenowy (0,07%), fumarowy (0,08-0,12%), kawowy, kumarynowy i śladowe

ilości kwasu chinowego. Liczba kwasów zależy od odmiany i terminu zbioru owoców [Sękowski 1993]. W mięszu owoców występują witaminy: C (3,2-25,9 mg%), B₁ (do 0,024 mg%), B₂ (do 0,074 mg%); katechiny rozpuszczalne (do 0,36%), katechiny nierozpuszczalne (do 0,4%), garbniki, epikatechiny, kwercetyna, antocyjany, karotenoidy (0,21-0,32 mg%), śladowe ilości kwasu foliowego oraz aminokwasy: lizyna, histydyna, asparagina, arginina, seryna, glicyna, kwas asparaginowy i glutaminowy, alanina, prolina, fenyloalanina, walina i leucyna [Wertheim 2002]. Owoce pigwy zawierają również znaczne ilości potasu (0,17-0,20%) oraz 17 mikroelementów, w tym kobalt (2,9-3,6mg%), bor, nikiel, miedź (120-130 mg%), glin (0,12-0,7 mg/kg), mangan (0,12-0,75 mg/kg), a także żelazo. W skórcie owoców występują estry etanowo-etylowy i pelargonowo-etylowy, którym owoce pigwy zawdzięczają swój specyficzny aromat. Nasiona pigwy zawierają znaczne ilości śluzów (do 22,8%), glikozyd-amygdalinę (0,505%), cukry (237 mg%), pektyny (8,66%), żywice (1,06%), witaminę C (96,2 mg%), olej (16,92%), w skład którego wchodzi gliceryd kwasu mirystynowego oraz kwas izooleinowy. Obecnie owoce pigwy są uznawane za dobre i stosunkowo tanie źródło w diecie biologicznie aktywnych składników, które charakteryzują się właściwościami przeciwutleniającymi, przeciwbakteryjnymi oraz przeciwzapalnymi [Fattouch i wsp. 2007].

Celem pracy było określenie zawartości związków fenolowych i witaminy C oraz potencjału antyoksydacyjnego różnych części botanicznych owoców pigwy (*Cydonia oblonga* Mill).

Materiały i metodyka badań

W badaniach wykorzystano owoce dostępnej w Polsce pigwy pospolitej *Cydonia oblonga* Mill. Materiał zakupiono w handlu detalicznym na terenie miasta Krakowa. W badaniach wykorzystano następujące części morfologiczne owoców: skórkę, mięsz, skórkę wraz z mięszem, nasiona.

Przed przystąpieniem do analizy owoce umyto, po czym je osuszono, obrano ze skórki i usunięto gniazda nasienne. Następnie każda część owocu została poddana rozdrobnieniu. W tak przygotowanym materiale oznaczono zawartość: suchej masy (metodą wagową według normy PN-90/A-75101/03), związków fenolowych (metodą Folin-Ciocalteu, [Swain i Hillis 1959]) i witaminy C (metodą enzymatyczną z wykorzystaniem Megazyme L-Ascorbic Acid Assay Kit). Oznaczono także aktywność przeciwutleniającą poszczególnych części owoców metodą pomiaru zdolności wygaszania wolnego rodnika ABTS^{•+} [Re i wsp. 1999].

Zawartość związków fenolowych (wyrażoną w mg kwasu galusowego – GAE) oraz aktywność antyoksydacyjną (mg Troloxu – Tx) wykonano według Bartonía i wsp. [2005] w ekstraktach metanolowo-acetonowych. Wszystkie oznaczenia wykonano w 3 powtórzeniach.

Otrzymane wyniki poddano analizie statystycznej, która obejmowała obliczenie wartości średniej i odchylenia standardowego oraz przeprowadzenie analizy wariancji w układzie jednoczynnikowym. Istotność różnic określono na podstawie testu Duncana, przy założonym poziomie istotności $p \leq 0,05$. W celu określenia zależności pomiędzy badanymi parametrami wyliczono współczynnik korelacji Pearsona. Obliczenia wykonano przy użyciu programu komputerowego Excel 2007 i Statistica 9.

Wyniki i dyskusja

Głównym składnikiem zarówno owoców, jak i warzyw jest woda, która stanowi 67-94% masy surowca [Rembiałkowska 2000]. Jej zawartość w produktach roślinnych zależy głównie od właściwości glebowych, warunków pogodowych podczas okresu wegetacji, odmiany, okresu zbioru, rodzaju i dawki nawożenia, warunków przechowywania oraz w pewnym stopniu także od rodzaju wykorzystanej metody do analizy. Zawartość suchej masy w owocach pigwy była istotnie zróżnicowana w zależności od części botanicznej owocu. Największą zawartość suchej substancji stwierdzono w pestkach (84,56 g/100 g), natomiast istotnie niższą wartością suchej masy charakteryzował się miąższ (16,2 g/100 g) (tab.1). Według Kaweckiego [2001], całe owoce pigwy zawierają, w zależności od warunków okresu wegetacji i miejsca uprawy, 19-29% suchej masy.

Tabela 1. Zawartość suchej masy, związków fenolowych i witaminy C w różnych częściach owoców pigwy

Botaniczna część owocu pigwy	Zawartość suchej masy [g/100 g świeżego surowca]		Zawartość polifenoli w przeliczeniu na GAE [mg/100 g świeżego surowca]		Zawartość witaminy C [mg/100 g świeżego surowca]		Aktywność antyoksydacyjna [mg/g świeżego surowca]	
	Xśr.	SD	Xśr.	SD	Xśr.	SD	Xśr.	SD
skórka	17,89 ^b	0,17	295,52 ^c	51,57	13,01 ^a	0,47	1,65 ^b	0,05
pestki	84,56 ^c	0,67	20,03 ^a	2,47	29,19 ^c	0,32	1,54 ^a	0,24
miąższ	16,20 ^a	0,01	188,78 ^b	19,24	27,34 ^b	1,25	1,70 ^b	0,40
skórka+miąższ	17,97 ^b	0,08	197,97 ^b	15,09	27,94 ^{bc}	0,93	1,95 ^b	0,01

*Wartości w kolumnach oznaczone tymi samymi literami nie różnią się istotnie statystycznie ($p > 0,05$)

Zawartość związków przeciwutleniających w owocach zależy od cech genetycznych gatunku, jednak warunki środowiskowe mogą je modyfikować. Bardzo duży wpływ mają warunki atmosferyczne podczas wzrostu rośliny, a także warunki przechowywania owoców [Ehlenfeldt i Prior 2004; Krupa i Tomala 2004]. Owoce i warzywa są bogatym źródłem związków fenolowych, mogą zawierać je nawet w ilości 1-2 g/100 g świeżego surowca [Szymusiak 2002]. Zawartość związków fenolowych w owocach pigwy wynosiła, w przeliczeniu na kwas galusowy, od 20,03 do 295,52 mg/100 g surowca (tab.1), co stanowiło 23,69-1651,90 mg/100 g s.m. Kawecki [2001] podaje, że owoce pigwy zawierają w zależności od warunków uprawy i miejsca uprawy, od 250-2280 mg% związków fenolowych. Wśród badanych części morfologicznych, najwyższą zawartością związków fenolowych charakteryzowała się skórka 295,52 mg/100 g (1651,90 mg/100 g s.m.). Istotnie niższą zawartość tych związków oznaczono w pestkach 20,03 mg/100 g (23,69 mg/100 g s.m.) (tab.1). Również Kosmala i Kołodziej [2006] stwierdzili znacznie większe ilości związków fenolowych w skórce, aniżeli w miększu. Spośród owocowych przecierów mieszanych największą zawartość polifenoli oznaczono w przecierze z dodatkiem pigwy (ok. 1600 mg/100 g), co potwierdza, że pigwa jest bogatym źródłem tych związków [Oszmiański 2009]. Z kolei Kopera i wsp. [2005] zaobserwowali zmiany ilościowe polifenoli ogółem w owocach gruszy – zarówno pomiędzy odmianami, jak i podczas przechowywania.

Kwas askorbinowy to jedna z najważniejszych witamin o właściwościach przeciwutleniających. Jego zawartość w warzywach, owocach i przetworach zależy od wielu czynników. Najważniejsze z nich to gatunek (odmiana), miejsce i metoda uprawy, warunki klimatyczne danego regionu, agrotechnika, stopień dojrzałości w czasie zbioru, przechowywanie oraz technologia przetwarzania i konserwowania [Capecka i wsp. 2000; Lee i Kader 2000]. W poszczególnych częściach botanicznych owocu pigwy zawartość witaminy C różniła się znacząco i wynosiła od 13,01 (w skórce) do 29,19 mg/100 g (w pestkach) (tab.1). Porównywalną zawartość witaminy C w owocach pigwy wykazał Kawecki i wsp. [2001] – w zależności od stopnia dojrzałości owoców pigwy wynosiła ona od 13 do 32 mg%. Korszikow i wsp. [1991] wykazali, że w dojrzałych owocach pigwy zawartość witaminy C wynosiła w miększu od 3,2-25,9 mg%, w zależności od odmiany i terminu zbioru.

Aktywność przeciwutleniająca poszczególnych części botanicznych owoców pigwy, oznaczona jako zdolność wygaszania wolnego rodnika ABTS[•], wynosiła od 1,54 do 1,95 mg Tx/g próbki (5,81-7,37 μ mol Tx/g) (tab. 1). Największą zdolnością wygaszania wolnego rodnika ABTS^{•+} charakteryzowała się skórka+miąższ (1,95 mg Tx/g, tj. 7,37 μ mol Tx/g), najniższą zaś pestki (1,54 mg Tx/g, tj. 5,81 μ mol Tx/g). Aktywność przeciwutleniająca, związana jest z rodzajem zastosowanej metody, użytego rodnika (ABTS, FRAP, DPPH, TRAP) [Gumul i wsp. 2005], wyborem surowca (jego części morfologicznej) oraz rodzajem ekstraktu poddanego badaniom. Badania Dudy-Chodak i wsp. [2007], wskazały, że skórka owoców ma większe zdolności neutralizowania wolnych rodników od pozostałych części anatomicznych surowca.

Wiele prac poświęconych jest zagadnieniu zależności między aktywnością antyoksydacyjną ekstraktów a zawartością w nich związków fenolowych, czy też kwasu L-askorbinowego, przy czym rezultaty tych badań są sprzeczne. Podczas, gdy jedni badacze wykazują dodatnią korelację pomiędzy zawartością polifenoli, witaminy C, a aktywnością przeciwutleniającą, inni donoszą o braku takich zależności [Baraniak i wsp. 2004]. W pracy nie stwierdzono istotnej zależności pomiędzy zawartością związków fenolowych a właściwościami antyoksydacyjnymi poszczególnych ekstraktów ($r = 0,0025$). Nie odnotowano również zależności pomiędzy zawartością witaminy C a aktywnością przeciwutleniającą ($r = 0,039$). Podobnie Kahkonen i wsp. [1999] nie wykazali żadnej korelacji pomiędzy tymi parametrami. Tymczasem Gasik i wsp. [2008] stwierdzili natomiast wysoką korelację na poziomie 0,93–0,98 między zawartością związków fenolowych ogółem, antocyjanów i witaminy C a pojemnością przeciwutleniającą soków z owoców derenia. W badaniach Nawirskiej i wsp. [2007] dotyczącej potencjału przeciwutleniającego wybranych owoców kolorowych, autorzy wykazali wysoką korelację pomiędzy aktywnością przeciwutleniającą oznaczoną z rodnikiem DPPH i ABTS, a zawartością polifenoli i antocyjanów ($R > 0,9$).

Wnioski

- W przeprowadzonych badaniach wykazano istotne zróżnicowanie zawartości wody, związków fenolowych, witaminy C, jak również aktywności antyoksydacyjnej owoców pigwy w zależności od ich części morfologicznej.

- Zawartość suchej masy w różnych częściach owoców pigwy wahała się w granicach od 16,20 do 84,56 g/100 g, przy czym największą wartość stwierdzono w pestkach.
- Owoce pigwy odznaczały się wysoką zawartością związków fenolowych, szczególnie w skórce (295,52 mg/100 g).
- Zawartość witaminy C w owocach pigwy wynosiła od 13,01 do 29,19 mg/100 g, przy czym największą jej zawartość odnotowano w pestkach (29,19 mg/ 100 g), natomiast najmniejszą w skórce (13,01 mg/100 g)
- Aktywność antyoksydacyjną badanych części morfologicznych owoców pigwy oznaczono na poziomie od 1,54 mg Troloxu/g (pestki) do 1,95 mg Troloxu/g próbki (skórka+miąższ).

Literatura

1. Baraniak B., Gawlik-Dziki U., *Wpływ warunków ekstrakcji na aktywność antyoksydacyjną związków fenolowych z brokułu*, Żywnienie Człowieka i Metabolizm 2004, XXXI, nr 4, 304-311.
2. Bartoń H. J., Chłopicka J., Zachwieja Z., Gumul D., *Badania aktywności przeciwutleniającej nasion pięciu odmian gryki (Fagopyrum esculentum Moench)*, Bromatologia i Chemia Toksykologiczna 2005, 38, 71-74
3. Capecka E., Siwek P., Libik A., *Wpływ osłon do przykrycia płaskiego na zawartość wybranych składników organicznych w zgrubieniach rzodkwi japońskiej*, Annales UMCS Sect. EEE 2000, 8, 103-109.
4. De Tommasi N., De Simone F., Pizza C., Mahmood N., *New tetracyclic sesterterpenes from Cydonia vulgaris*, Journal of Natural Products 1996, 59, 267-270.
5. Duda – Chodak A., Tarko T., *Antioxidant properties of different fruit seed and peels*. Acta Scientiarum Polonorum, Technologia Alimentaria 2007, 6(3), 29-36.
6. Ehlenfeldt M.K., Prior R.L., *Oxygen radical and anthocyanin content among blueberry*, Journal of Agricultural and Food Chemistry 2001, 49, 2222-2227.
7. Fattouch S., Caboni P., Coroneo V., Tuberoso C.I.G., Angioni A., Dessi S., *Antimicrobial activity of tunisian quince (Cydonia oblonga Miller) pulp and peel polyphenolic extracts*, Journal of Agricultural and Food Chemistry 2007, 55, 963-969.
8. Flowerdew B., *Owoce, uprawa, zbiór, zastosowanie*, Muza S.A. Warszawa, 1998, 32-33.
9. Gasik A., Mitek M., Kalisz S., *Wpływ procesu maceracji oraz warunków przechowywania na aktywność przeciwutleniającą i zawartość wybranych składników w soku z owoców derenia (Corus Mas)*, Żywność. Nauka. Technologia. Jakość 2008, 5(60), 161-167.
10. Gumul D., Korus J., Achremowicz B., *Wpływ procesów przetwórczych na aktywność przeciwutleniającą surowców pochodzenia roślinnego*, Żywność. Nauka. Technologia. Jakość 2005, 4(45) Supl., 41-48.
11. Kahkonen M.P., Hopia A.T., Vuorela H.J., *Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds*, Journal of Agriculture and Food Chemistry 1999, 47, 3954-3962.
12. Kawecki Z., Łojko R., Pilarek B., *Mało znane rośliny sadownicze*, Wydawnictwo UWM, Olsztyn, 2001, 105-106.
13. Kopera M., Wolszakiwiecz M., Mitek M., *Zmiany składu chemicznego owoców wybranych odmian gruszy azjatyckiej i europejskiej w czasie przechowywania*, Żywność. Nauka. Technologia. Jakość 2005, 2(45), Supl., 80-88.
14. Korszikow B.M., Makarowa G.W., Nalwtko N.L., Pawlij A.J., Sołodowniczenko N.M., Dombrowkij W.J., Panfierow W.P., *Lecznicze właściwości roślin uprawnych*, PWRL, Warszawa 1991, 210-212.

15. Kosmala M., Kołodziej K., *Procyjanidyny najpopularniejszych w Polsce deserowych odmian jablek*, Żywność. Nauka. Technologia. Jakość 2006, 2(47) Supl., 124-134.
16. Krupa T., Tomala K., *Zmiany ilościowe związków przeciwutleniających w jagodach borówki wysokiej 'Bluecrop' podczas ich przechowywania*, Zeszyty Naukowe IStK 2004, 12, 237-243.
17. Lee S., Kader A., *Preharvest and postharvest factors influencing vitamin C content of horticultural crops*, Postharvest Biology and Technology 2000, 20, 207-220.
18. Nawirska A., Sokół-Lętkowska A., Kucharska A.Z., Biesiada A., Bednarek M., *Porównanie zawartości frakcji włókna pokarmowego w odmianach dyni z gatunku *Cucurbita Maxima* i *Cucurbita Pepo**, Żywność. Nauka. Technologia. Jakość 2008, 1(56), 65-73.
19. Oliveira A.P., Pereira J.A., Andrade P.B., Valentão P., Seabra R.M., Silva B.M., *Phenolic profile of *Cydonia oblonga* Miller leaves*, Journal of Agricultural and Food Chemistry 2007, 55, 7926-7930.
20. Oszmiański J., Kolniak J., Augustyniok A., *Wpływ dodatku owoców i warzyw do przecieru aroniowego na zawartość związków polifenolowych i jakość*, Przemysł Fermentacyjny i Owocowo-Warzywny 2009, 10, 13-15.
21. 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 and Biology Medicine 1999, 26, 1231-1237.
22. Rembiałkowska E., *The nutritive and sensory quality of carrots and white cabbage from organic and conventional farms*, Proceedings from the 13th IFOAM Conference, 2000, 297.
23. Sarwa A., *Sad inny niż wszystkie. Szlachetne i dzikie drzewa, krzewy i pnącza owocowe w ogródku i na działce*. Wydawnictwo Armoryka, Sandomierz, 2009, 153-155.
24. Sękowski B., *Pomologia systematyczna*. Tom II. PWN, Warszawa, 1993, 195-198.
25. Silva B.M., Andrade P.B., Mendes G.C., Seabra R.M., Ferreira M.A., *Study of the organic acids composition of quince (*Cydonia oblonga* Miller) fruit and jam*, Journal of Agricultural Food Chemistry 2002, 50, 2313-2317.
26. Silva, B.M., Andrade, P.B., Martins, R.C., Valentao, P., Ferreres, F., Seabra, R.M., Ferreira, M.A., *Quince (*Cydonia oblonga* Miller) fruit characterization using principal component analysis*, Journal of Agricultural Food Chemistry 2005, 53, 111-122.
27. Silva B.M., Andrade P.B., Martins R.C., Seabra R.M., Ferreira M.A., *Principal component analysis as tool of characterization of quince (*Cydonia oblonga* Miller) jam*, Food Chemistry 2006, 94, 504-512.
28. Swain T., Hillis W.E., *The phenolic constituent of *prunus domestica**, Journal of Science of Food and Agriculture 1959, 10, 135.
29. Szymusiak H., *Badania efektywności wybranych przeciwutleniaczy*, Prace habilitacyjne 5, Wydawnictwo AE, 2002, 40-62.
30. Vad Z., *Owoce źródło życia i zdrowia*, Oficyna Wydawnicza ABA, Warszawa, 1996, 66-69.
31. Wertheim S.J., *Rootstocks for European pear: a Review*. Acta Horticulture 2002, 596, 299-309.

Abstract

The aim of the study was to determine the content of phenolic compounds and vitamin C, as well as to evaluate antioxidant activity of quince fruit, *Cydonia oblonga* Mill variety. The material was purchased in retail trade in the city of Krakow. The morphological parts of fruit were used, as follows: peel, pulp, peel with pulp, and seeds. In the material prepared, dry matter content, total phenolic compounds, vitamin C and antioxidant activity of fruit were determined.

There were significant differences in water content, phenolic compounds, and vitamin C level, as well as in antioxidant activity of quince fruit in dependence on the morphological part of the fruit. The dry matter content ranged from 16.20 to 84.56 g/100 g in different parts of the quince fruit, with the lowest value recorded for seeds. Quince fruit had also high content of phenolic

compounds, especially in the peel (1651.90 mg/100 g dm). The vitamin C contents in the pulp, and also in the peel with pulp were also high, and amounted from 155.5 to 168.8 mg/100 g dm. The antioxidant activity of quince fruit ranged from 1.54 mg to 1.95 mg Trolox/g sample. There was no strong positive correlation between the total content of phenolic compounds or vitamin C and antioxidant activity of extracts.

PORÓWNANIE WYBRANYCH CECH FIZYKOCHEMICZNYCH I WŁAŚCIWOŚCI SPULCHNIAJĄCYCH JAJ POCHODZĄCYCH Z FERMY STOSUJĄCYCH RÓŻNE METODY HODOWLI/ŻYWIENIA KUR

Agnieszka Filipiak-Florkiewicz¹, Adam Florkiewicz¹, Katarzyna Dereń¹, Kinga Topolska¹, Ewa Cieślak¹, Krzysztof Krzysztoforski²

¹Małopolskie Centrum Monitoringu i Atestacji Żywności, Wydział Technologii Żywności, ul. Balicka 122, 31-149 Kraków, e-mail: afilepiak-florkiewicz@ar.krakow.pl

²Katedra Przetwórstwa Produktów Zwierzęcych, Wydział Technologii Żywności, ul. Balicka 122, 31-149 Kraków

Streszczenie

Celem pracy była ocena wpływu różnego rodzaju hodowli/żywienia kur (ferma konwencjonalna, ferma ekologiczna, ferma stosująca zmodyfikowane pasze - wzbogacane kwasami omega-3) na wybrane cechy fizykochemiczne i właściwości spulchniające jaj. Przeprowadzone badania wykazały, że istnieje różnica w przydatności technologicznej pomiędzy różnymi typami jaj. Rodzaj hodowli/żywienia kur miał wpływ na masę, barwę i właściwości spulchniające jaj. Biszkopty przygotowane z użyciem jaj pochodzących z hodowli tradycyjnej charakteryzowały się lepszymi cechami sensorycznymi w odniesieniu do ciast sporządzonych z jaj wzbogacanych w kwasy omega-3. Ciasta przygotowane z udziałem jaj wzbogacanych w kwasy omega-3 miały natomiast najniższą twardość.

Słowa kluczowe: jaja, ferma konwencjonalna, ferma ekologiczna, wzbogacanie jaj w kwasy omega-3, właściwości spulchniające

Wprowadzenie

Jaja stanowią cenny składnik diety zarówno w czasie intensywnego wzrostu oraz rozwoju, jak i w późniejszych okresach życia. Zawierają bowiem wiele niezbędnych składników odżywczych o wysokiej strawności. Istotne różnice występują w składzie chemicznym pomiędzy

białkiem i żółtkiem jaja [Kopta i Łuszczka 1999]. Jaja zaliczane są do produktów niskoenergetycznych. Wartość energetyczna treści jaja kurzego wynosi 139 kcal/100 g, w tym białka – 49 kcal/100 g i żółtka – 314 kcal/100 g [Zin 2009].

Białka jaja zawierają duże ilości aminokwasów egzogennych, a w szczególności metioniny, treoniny i lizyny, które są deficytowe w białkach zbożowych [Mroczek 2006]. Jaja należą do surowców powszechnie stosowanych w technologii gastronomicznej. Sporządza się z nich wiele samodzielnych potraw, zarówno o charakterze przekąsek, śniadaniowo-kolacyjnym, czy obiadowym [Brzozowska i Zalewski 2003]. Tak szerokie zastosowanie jaj w produkcji potraw wynika z ich następujących właściwości: spulchniających, zestalających, zagęszczających i emulgujących [Konarzewska i wsp. 2003; Guilmineau i Kulozik 2006].

W odpowiedzi na rosnącą świadomość społeczeństwa w kwestii zdrowego stylu życia oraz jakości i bezpieczeństwa żywności obserwuje się nowy trend w produkcji jajczarskiej, który jest ukierunkowany na eksponowanie naturalnych walorów kulinarnych jaj oraz ich wartości żywieniowej, z uwzględnieniem składników wzbogacających jaja.

Wzbogacanie treści jaja polega na zwiększeniu w niej zawartości np. wielonienasyconych kwasów tłuszczowych (głównie z rodziny omega-3), witamin A, D, E, K, mikroelementów (selenu i jodu) poprzez stosowanie odpowiedniego żywienia niosek. Do wzbogacania paszy wykorzystuje się siemię lniane, zoo- i fitoplankton, tłuszcze zwierząt morskich, tokoferole, karotenoidy oraz preparaty jodowe [Trziszka 2000].

Celem pracy było porównanie wybranych cech fizykochemicznych oraz właściwości spulchniających jaj pochodzących z ferm stosujących różne metody hodowli/żywienia kur niosek.

Materiał i metodyka badań

W badaniach wykorzystano trzy rodzaje jaj dostępnych w obrocie handlowym, w tym: jaja pochodzące z fermy tradycyjnej (jaja klasy A); jaja pochodzące z fermy ekologicznej (jaja klasy A, gospodarstwo certyfikowane) oraz jaja wzbogacone kwasami omega-3 (jaja klasy A, gospodarstwo stosujące pasze wzbogacone kwasami omega-3 i monitorujące skład chemiczny jaj pod kątem zawartości tych związków).

W materiale badawczym określono następujące parametry: masa jaja, procentowy udział białka, żółtka a także skorupy [Zin 2009]. Pomiar barwy żółtka wykonano z wykorzystaniem roztworów dichromianu potasu wg Mroczek [2006]. W celu określenia właściwości

spulchniających jaj wypieczono ciasta biszkoptowe wg następującej receptury: jaja (białko + żółtko) – 150 g, cukier – 100 g i mąka poznańska typ 500 – 50 g. Oddzielone białka ubito, a następnie dodano cukier oraz żółtka. Uzyskaną masę połączono z mąką, po czym wymieszano i umieszczono w formach cukierniczych. Ciasto pieczono w piekarniku elektrycznym z naturalnym obiegiem powietrza, w temperaturze 180°C, przez okres 30 minut [Gupta i wsp. 2009, z modyfikacją własną]. Z każdego rodzaju jaj zostały przygotowane trzy biszkopty.

Po wychłodzeniu (ok. 2h) ciasta biszkoptowe poddano oznaczeniom fizycznym oraz analizie sensorycznej (wg PN-A-74252:1998). Pomiar objętości ciast biszkoptowych wykonano w materiale sypkim, z użyciem ziarna rzepaku [Konarzewska-Ginter 2006]. Wysokość biszkoptów zmierzono w 5 miejscach za pomocą suwmiarki - za wynik przyjęto średnią ze wszystkich pomiarów. Twardość biszkoptów określono z zastosowaniem analizatora tekstury TA-XT2 (Stable Micro Systems). Parametry analizy: wielkość próbki 3x3x3cm, próbnik – cylinder 50 mm, nacisk 50%, prędkość w trakcie pomiaru 15 mm/minutę, przerwa między naciskami 20 s.

Wyniki poddano analizie statystycznej z wykorzystaniem programu Ms Excell oraz Stasistica v. 9.0.

Wyniki i dyskusja

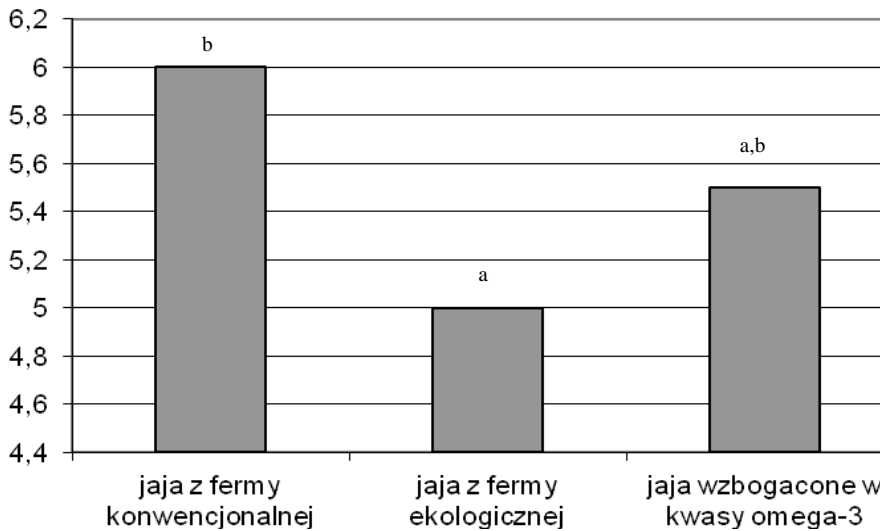
Średnia masa jaj pochodzących z fermy ekologicznej (60,35 g) była istotnie niższa w porównaniu z masą jaj z hodowli konwencjonalnej (65,01 g), jak również tych wzbogaconych w kwasy omega-3 (64,14 g) (tab. 1). Niższą średnią masę jaj z hodowli ekologicznej aniżeli konwencjonalnej wykazali także Śmiechowska i Dmowski [2005]. Nie stwierdzono istotnego zróżnicowania procentowego udziału poszczególnych składowych jaj w zależności od metody hodowli/żywienia kur.

Tabela 1. Średnie wartości badanych parametrów jaj pochodzących z ferm stosujących różne metody hodowli/żywienia kur oraz wypieczonych ciast biszkoptowych

Badany parametr	Jaja z fermy konwencjonalnej		Jaja z fermy ekologicznej		Jaja wzbogacone w kwasy omega-3	
	Xśr.	SD	Xśr.	SD	Xśr.	SD
Masa jaja [g]	65,01 b	1,02	60,35 a	3,98	64,14 b	1,44
Udział białka [%]	58,4 a	3,35	58,96 a	3,77	56,06 a	4,01
Udział żółtka [%]	29,06 a	3,28	27,80 a	1,99	28,56 a	3,87
Udział skorupy [%]	12,53 a	0,66	13,24 a	3,60	14,14 a	1,48
Objętość biszkoptu [cm ³]	600 a	14,14	620 a	98,99	630 a	70,71
Wysokość biszkoptu [cm]	4,39 a	0,91	4,73 a	0,83	4,61 a	1,05
Twardość biszkoptu [kg]	0,63 a	0,04	0,46 b	0,05	0,43 c	0,09

Wartości oznaczone w wierszach tymi samymi literami nie różnią się istotnie $p > 0,05$

Najwyższym stopniem barwy (NEPA – National Egg Products Association), charakteryzowały się jaja pochodzące z hodowli tradycyjnej (rys. 1). Najjaśniejszą barwą cechowały się jaja pochodzące z hodowli ekologicznej. Według Schlett [2008] jaja pochodzące z hodowli ekologicznej cechują się jaśniejszą barwą niż pozostałe jaja. O intensywności żółtego zabarwienia decyduje zawartość barwników roślinnych takich jak ksantofile, karotenoidy i chlorofile pochodzących z pasz [Mitek i Słowiński 2006]. Intensywne, pomarańczowe zabarwienie jest preferowane przez konsumentów i te działy przemysłu spożywczego, które wykorzystują żółtka do produkcji żywności (wyroby cukiernicze, majonez, makaron) [Mitek i Słowiński 2006].



Wartości oznaczone tymi samymi literami nie różnią się istotnie statystycznie ($p > 0,05$)

Rys. 1. Barwa (stopnie barwy NEPA) żółtka w zależności od pochodzenia jaj

Spulchnianie ciast biszkoptowych następuje poprzez wprowadzenie do masy jajowo-cukrowej pęcherzyków powietrza w trakcie procesu napowietrzania - fizyczna metodą spulchniania. Największą objętością charakteryzowały się biszkopty wypieczone z jaj wzbogacanych kwasami omega-3 (630 cm^3). Nieznacznie niższą wartością tego parametru cechowały się biszkopty wypieczone z jaj pochodzących z hodowli ekologicznej oraz konwencjonalnej (tab. 1). Analiza statystyczna wyników nie wykazała znaczących różnic także w wysokości wypieczonych ciast.

Do oceny tekstury produktów spożywczych można wykorzystywać metody mechaniczne. Umożliwiają one wyznaczenie mechanicznych parametrów tekstury trwałego pieczywa cukierniczego takich jak: twardość, spójność, sprężystość, adhezyjność, łamliwość, żujność i gumowatość. Znajomość tych właściwości jest niezbędna przy opracowaniu nowych produktów oraz przy ocenie jakości gotowych wyrobów [Marzec i wsp. 2010]. W przeprowadzonych badaniach wykazano, że twardość biszkoptów różniła się istotnie w zależności od rodzaju wykorzystanych do wypieku jaj, przy czym najwyższą wartością tego parametru odznaczały się ciasta przygotowane z udziałem jaj pochodzących z fermy konwencjonalnej (tab. 1).

W celu określenia jakości biszkoptów, zwykle dokonuje się oceny organoleptycznej. Polega ona na określeniu jednolitości partii, wyglądu zewnętrznego, smaku oraz zapachu, jak i struktury ciasta. Analiza

sensoryczna wykazała, że najlepszym smakiem, zapachem, strukturą oraz wyglądem zewnętrznym charakteryzowały się biszkopty wypieczone z udziałem jaj pochodzących z fermy konwencjonalnej (tab. 2).

Tabela 2. Wyniki oceny sensorycznej przeprowadzonej wg PN-A-7452:1998

Badane wyróżniki jakościowe	Jaja z fermy konwencjonalnej	Jaja z fermy ekologicznej	Jaja wzbogacone w kwasy omega-3
Jednolitość partii	4,06b	3,59ab	3,41a
Wygląd zewnętrzny	3,88b	3,82b	3,06a
Struktura i tekstura	4,18b	3,41a	3,12a
Smak i zapach	4,63b	4,00a	4,18ab

Wartości oznaczone w wierszach tymi samymi literami nie różnią się istotnie statystycznie ($p > 0,05$)

Najniższe oceny uzyskały ciasta sporządzone z jaj wzbogacanych w kwasy omega-3. Szczególnie nisko w ich przypadku został oceniony wygląd zewnętrzny oraz struktura i tekstura.

Wnioski

- Rodzaj hodowli/żywienia kur miał istotny wpływ na masę, barwę i właściwości spulchniające jaj.
- Biszkopty przygotowane z użyciem jaj pochodzących z fermy konwencjonalnej charakteryzowały się lepszymi cechami sensorycznymi w odniesieniu do ciast sporządzonych z udziałem jaj wzbogacanych w kwasy omega-3.
- Ciasta przygotowane z zastosowaniem jaj wzbogacanych w kwasy omega-3 miały najniższą twardość.

Literatura

1. Brzozowska E., Zalewski S., *Strukturotwórcza rola jaj w technologii gastronomicznej. Podstawy Technologii Gastronomicznej*, Zalewski S. (red.), Wydawnictwo. Naukowo-Techniczne, Warszawa 2003, 362-375.
2. Guilmineau F., Kulozik U., *Impact of a thermal treatment on the emulsifying properties of egg yolk. Part 1: Effect of the heating time*, Food Hydrocolloids 2006, 20, 1105–1113.
3. Gupta M., Bawa A.S., Semwal A.D., *Effect of Barley Flour Incorporation on the Instrumental Texture of Sponge Cake*, International Journal of Food Properties 2009, 12, 243–251.
4. Konarzewska M., Zielonka B., Konarzewska-Sokołowska M., *Technologia Gastronomiczna z Towaroznawstwem. Część I*. Wydawnictwo REA, Warszawa 2003, 199-131.
5. Kopta A., Łuszczka B., *Technologia Gastronomiczna z Towaroznawstwem. Część I*. Wydawnictwa Szkolne i Pedagogiczne, Warszawa 1999, 261-296.
6. Korzeniowska-Ginter R., *Wpływ jakości mąki tortowej na cechy biszkoptu*, Żywność. Nauka. Technologia. Jakość 2006, 1(46) Supl., 35 – 43.

7. Marzec A., Kowalska H., Gąsowski W., *Właściwości mechaniczne ciastek biszkoptowych o zróżnicowanej porowatości*, Acta Agrophysica 2010, 16(2), 359-368.
8. Mitek M., Słowiński M., *Wybrane zagadnienia z Technologii Żywności*, Wydawnictwo SGGW, Warszawa 2006, 331- 345.
9. Mroczek J., *Ocena jakości jaj*, Wybrane zagadnienia z Technologii Żywności, Wydawnictwo SGGW, Warszawa 2006, 331- 345.
10. Schlett S., *Czy wiesz co jesz? 100 najważniejszych składników codziennej diety*, Wydawnictwo Świat Książki, Warszawa 2008, 44-223.
11. Trziszka T. (red.), *Jajczarstwo. Nauka. Technologia. Praktyka*, Wydawnictwo Akademii Rolniczej we Wrocławiu, Wrocław 2000, 7-21, 189-261, 551-593.
12. Zin M. (red.), *Ocena żywności i żywienia*, Wydawnictwo Uniwersytetu Rzeszowskiego, Rzeszów 2009, 160-177.

Abstract

The aim of the work was to compare of selected physicochemical and technological properties in dependence of hen raising/feeding method (from caged raising- conventional, from organic farm as well as farm using modified feed - enriched in omega-3 fatty acids). Taking the factor mentioned above, our results showed significant difference of the eggs mass, yolk colour as well as technological utility for sponge cake preparation. Sponge cake made using eggs from conventional farm had better sensory properties than the cakes prepared with omega-3 fatty acids enriched eggs. Simultaneously, these last ones were characterized by significantly lowest hardness.

*Rozdział 6***OSZACOWANIE SPOŻYCIA KOFEINY W DZIENNEJ
RACJI POKARMOWEJ W WYBRANEJ GRUPIE
POPULACYJNEJ***Ewa Żary-Sikorska, Hanna Czok**Uniwersytet Technologiczno-Przyrodniczy w Bydgoszczy
Wydział Rolnictwa i Biotechnologii, Katedra Technologii Żywności
ul Kordeckiego 20, blok A, 85-225 Bydgoszcz, e-mail: ezary@utp.edu.pl***Streszczenie**

W dobie przyspieszenia tempa życia substancje pobudzające, a więc usuwające zmęczenie, polepszające koncentrację i sprawność myślenia, nabrały szczególnego znaczenia. Jedną z takich substancji jest kofeina. Jest ona najszerzej konsumowaną na świecie psychoaktywną substancją, której spożywanie jest legalne. W Ameryce Północnej aż 90% ludzi konsumuje codziennie kofeinę. W Polsce spożycie tej substancji nie jest oszacowane.

Przemysł spożywczy dostarcza coraz więcej produktów zawierających kofeinę. Warto zastanowić się, czy spożywanie ich jest w pełni bezpieczne dla naszego zdrowia i jakie ilości nie wiążą się z wystąpieniem objawów niepożądanych. Pomimo wielu badań naukowych skutki spożycia kofeiny nie są jednoznacznie rozstrzygnięte.

Celem niniejszej pracy było oszacowanie spożycia kofeiny w całodziennej racji pokarmowej w oparciu o ankietę przeprowadzoną wśród 100 studentek Uniwersytetu Technologiczno-Przyrodniczego w Bydgoszczy.

Na podstawie wyników ankiety uzyskano informacje na temat szczegółowej konsumpcji produktów zawierających kofeinę, ich rodzaju, objętości i wielkości porcji. Średnie dzienne pobranie kofeiny wyniosło 259 mg/osobę. Spośród 100 ankietowanych tylko 3 osoby spożyły ponad 600 mg kofeiny/dobę, a więc dawkę mogącą powodować silne pobudzenie psychoruchowe, przyspieszenie i niemiarowość pracy serca, zwiększenie diurezy, nudności, wymioty, osłabienie. Głównymi źródłami kofeiny w diecie kobiet była herbata (60%) i kawa (31%). Większość

ankietowanych (96%) spożywa kofeinę w ilościach umiarkowanych, nie wpływających negatywnie na organizm.

Słowa kluczowe: badania ankietowe, kofeina, racja pokarmowa

Wprowadzenie

Budowa i właściwości fizyko-chemiczne kofeiny

Kofeina jest substancją chemiczną naturalnie występującą w liściach, ziarnach i owocach co najmniej 63 gatunków roślin na całym świecie. Zawierają ją takie rośliny jak: kawa, herbata, kakao. W herbacie kofeina znana jest pod nazwą teiny. Kofeina występuje również w napojach typu „cola”, niektórych napojach orzeźwiających i energetyzujących [Frary i Johnson 2005]. Nazwa kofeiny (ang. caffeine) pochodzi od francuskiego słowa cafe (kawa). Nasiona kawy są największym światowym źródłem, z którego pozyskuje się kofeinę [Małecki 2007].

Kofeina jest alkaloidem. Jej nazwa systematyczna to 1,3,7-trimetyloksantyna. Atomy azotu są w cząsteczce położone w jednej płaszczyźnie z pierścieniem węglowym, przez co całość ma charakter aromatyczny. Kofeina jest substancją rozpuszczalną w wodzie i w wielu rozpuszczalnikach organicznych, w postaci czystej występuje w postaci białych kryształów. Omawiany alkaloid może być uzyskany w wyniku ekstrakcji ze źródeł naturalnych lub w wyniku syntezy z dimetylomocznika lub kwasu malonowego [Wierzejska i Jarosz 2003]. Kofeina po raz pierwszy została wyodrębniona z ziaren kawy w 1819 przez niemieckiego chemika Friedricha Ferdinanda Runge. Osiem lat później Oudry'emu udało się uzyskać z herbaty teinę, która okazała się tą samą substancją [Weinberg i Bealer 2001]. Struktura cząsteczki została wyjaśniona pod koniec XIX wieku przez Hermanna Emila Fischera, który jako pierwszy zsyntezował ją od podstaw. Między innymi za tę pracę został on wyróżniony w 1902 Nagrodą Nobla [Weinberg i Bealer 2001].

Metabolizm kofeiny

Kofeina jest wchłaniana z przewodu pokarmowego w 99% i trafia do krwiobiegu po 30 minutach od jej spożycia. Z łatwością przenika przez barierę krew-mózg, łożysko, do płynu owodniowego, mleka i nasienia. Omawiany alkaloid nie kumuluje się, a średni okres półtrwania wynosi 4 godziny (wahając się od 2 do 10 godzin) [Dworzański i wsp. 2009]. Metabolizm zależy od wieku, stanu wątroby, okresu ciąży, przyjmowania leków oraz aktualnego poziomu enzymów potrzebnych do przetwarzania kofeiny [Dworzański i wsp. 2009].

Kofeina metabolizowana jest w wątrobie przez system oksydazy cytochromowej na trzy produkty: paraksantynę (84%), teobrominę (12%) oraz teofilinę (4%). Każdy z tych związków jest dalej przetwarzany i następnie wydalany z moczem [Wierzejewska i Jarosz 2003]. Paraksantyna odpowiada za zwiększenie lipolizy, uwalniając glicerol i wolne kwasy tłuszczowe do krwi, jako źródło energii dla mięśni. Teobromina jest substancją pobudzającą czynność serca oraz rozszerzającą naczynia krwionośne. Teofilina rozkurcza mięśnie gładkie, głównie w oskrzelikach. Kofeina działa pobudzająco głównie w wyniku blokowania receptorów adenozynowych w mózgu. Adenozyna jest substancją naturalnie występującą w organizmie, która wpływa na stan snu i czuwania. Kofeina blokuje specyficzne dla adenozyny receptory w tkance nerwowej, w tym również w mózgu, podtrzymując w ten sposób stan czuwania. W tym mechanizmie kofeina przedłuża wydolność umysłową, psychiczną i opóźnia pojawienie się zmęczenia. Zablokowanie receptorów adenozynowych może również spowodować skurcz naczyń krwionośnych, tym samym wpływając na napięcie naczyń zlokalizowanych w mózgu i zmniejszać objawy migreny oraz bólów głowy o innej etiologii. Ten fakt tłumaczy zawartość kofeiny w wielu preparatach o działaniu przeciwbólowym [Temple 2009]. Część efektów spożycia kofeiny spowodowana jest zjawiskami nie związanymi z adenozyną. Kofeina to inhibitor kompetencyjny cAMP-fosfodiesterazy, która zamienia cykliczny AMP w komórkach do formy niecyklicznej, pozwalając na jego ponowne użycie. Cykliczny AMP uczestniczy w aktywacji kinazy proteinowej, która rozpoczyna fosforylację enzymów biorących udział w syntezie glukozy. Kofeina blokując proces jej usuwania zwiększa i przedłuża wpływ epinefryny, amfetaminy, metamfetaminy i metylofenidatu. Zwiększone stężenie cAMP w komórkach okładzinowych powoduje wzmożoną aktywację kinazy proteinowej A, która z kolei pobudza czynność H^+/K^+ ATPazy, skutkując zwiększonym wydzielaniem soku żołądkowego. Cykliczny AMP zwiększa również aktywność prądu jonowego odpowiadającego bezpośrednio za zwiększenie częstotliwości skurczu serca [Dworzański i wsp. 2009].

Fizjologiczne oddziaływanie kofeiny

Kofeina jest substancją o wielokierunkowym działaniu na organizm człowieka przez pobudzający wpływ na ośrodkowy układ nerwowy. Działa zarówno na ośrodki autonomiczne podwzgórza i rdzenia przedłużonego, jak i na korę mózgową. Rozszerza naczynia mózgowie, nerkowe i wieńcowe serca, a zwęża naczynia brzuszne. Wzmaga więc

przepływ krwi z jamy brzusznej do skóry, mięśni i mózgu. Substancja ta powoduje nasilenie aktywności psychicznej i usprawnienie procesów myślowych, zniesienie uczucia zmęczenia i senności. Negatywnym skutkiem jest zmniejszenie koncentracji, a przy podwyższonych dawkach może doprowadzić do gonioty myśli i ogólnego rozbicia myślowego [Kolanowski 1998]. Kofeina zwiększa wydzielanie hormonów takich jak dopamina, noradrenalina, adrenalina, acetylocholina, serotonina. Przyspiesza również czynności serca, krótkotrwałym zwiększeniem pojemności wyrzutowej mięśnia sercowego oraz niewielkim podwyższeniem ciśnienia tętniczego. Rozszerzenie naczyń wieńcowych wzmacnia przepływ krwi, ale jednocześnie zwiększa zapotrzebowanie serca na tlen, co może być przyczyną nasilenia dolegliwości wieńcowych. Wypicie mocnej kawy może spowodować zaburzenia rytmu serca. Alkaloid działa również na nasilenie glikogenolizy w mięśniach szkieletowych i lipolizy w tkance tłuszczowej oraz podwyższa temperaturę ciała [Kosicka i wsp. 2004]. Badania wykazały, że kofeina zwiększa uczucie niepokoju i lęku [Smith 2002]. Nadmiar kofeiny osłabia koncentrację i powoduje trudności z zaśnięciem, bezsenność, drażliwość, niepokój, a nawet lęk czy drżenie mięśniowe. W skrajnych przypadkach może dochodzić do drgawek klonicznych. Spożycie kofeiny powyżej 500 mg/osobę powoduje silne pobudzenie psychoruchowe, przyspieszenie i niemiarywość pracy serca, zwiększenie diurezy, nudności, wymioty, osłabienie. W silnym zatruciu występują drgawki i porażenie ośrodka oddechowego. Dla dorosłego człowieka dawka śmiertelna wynosi 150 mg na kilogram masy ciała, śmierć następuje w wyniku migotania komór serca [Dworzański i wsp. 2009].

Kofeina jest składnikiem preparatów stosowanych w zapaści pochodzenia sercowego i naczyniowego, jako środek tonizujący w okresie rekonwalescencji, w stanach znużenia, wyczerpania umysłowego i fizycznego. Ze względu na działania kurczące naczynia mózgowe, wchodzi w skład leków stosowanych na bóle głowy [Zejca i Gorczyca 2004]. Alkaloid ma również zastosowanie w przemyśle kosmetycznym, jako substancja poprawiająca krążenie skórne oraz wpływająca korzystnie na gospodarkę lipidową skóry [Małecki 2007].

Istnieje wiele kontrowersji na temat wpływu kofeiny na zdrowie, dane z piśmiennictwa są w dużym stopniu sprzeczne. Niektórzy badacze twierdzą, że może to być związane z zależnością między współdziałaniem kofeiny z innymi czynnikami [Wierzejska i Jarosz 2004]. W odniesieniu do nadciśnienia spotyka się w literaturze opinie mówiące, że u osób pijących kawę występuje podwyższone ciśnienie

skurczowe krwi, jak i takie, że nałogowo pijący kawę mają znacznie niższe ciśnienie niż nie pijący żadnych napojów alkoholowych, palący papierosy, otyli czy z nietolerancją glukozy [Dominiak i Kasprzak 2006]. Dworżański i wsp. [2009] uważają, że spożycie kofeiny wpływa niekorzystnie na śródbłonek naczyń krwionośnych, co zwiększa ryzyko choroby niedokrwiennej serca. Na takie zmiany najbardziej narażone są osoby wolno metabolizujące alkaloid. Kofeina może powodować zwiększenie stężenia insuliny i insulinoodporności, zmniejszenie tolerancji glukozy oraz zaburzenie funkcji dolnego zwieracza przełyku [Dworżański i wsp. 2009]. Obserwacje medyczne wskazują, że przyjmowanie kofeiny w dawce większej niż 300 mg/dzień zwiększa ryzyko przedwczesnego przerwania ciąży. Niższe dawki tego związku mogą natomiast wpływać na niższą masę urodzeniową noworodka [Harland 2000].

Kofeina poprzez wypłukiwanie wapnia i magnezu, może sprzyjać osteoporozie. Problem wpływu kofeiny na gęstość kości jest uzależniony od spożycia wapnia. Przy pobraniu wapnia mniejszym niż 800 mg na dzień, wypijanie 2-3 filiżanek kawy dziennie może zwiększać utratę masy kostnej [Wierzejewska i Jarosz 2003].

Produkty zawierające kofeinę

Herbata

Pobudzające działanie herbaty wynika z zawartości w niej szeregu związków takich jako kofeina, teobromina i teofilina, przy czym najbardziej aktywna jest kofeina, która w tym napoju zwana jest teiną [Gertig i Przysławski 2007]. Ilość omawianego alkaloidu zależy głównie od gatunku i miejsca uprawy. Przeciętna herbata zawiera od 2 do 5% teiny, jest to 3 krotnie większa ilość niż w kawie.

Przy przyrządzaniu naparu herbaty używa się jej znacznie mniej niż przy przyrządzaniu kawy, w związku z czym napar herbaty ma około 2 krotnie mniej kofeiny niż taka sama ilość naparu z kawy. W ciągu pierwszych 2-3 minut parzenia do naparu przechodzi prawie cała zawartość alkaloidu. Dopiero przy dłuższym parzeniu do roztworu przechodzą związki polifenolowe i garbniki. Mocna herbata uważana jest za środek przeciwbiegunkowy i przeciwzapalny, ponieważ garbniki wiążą kofeinę, przez co napój nabiera właściwości uspokajających i działa kojąco na błonę śluzową żołądka [Świdorski 1999].

Kawa

Skład chemiczny kawy jako produktu różni się od składu surowego ziarna. Kawa palona zawiera 35-40% węglowodanów, 8% związków

białkowych i wolnych aminokwasów oraz 10-17% tłuszczu. Kofeina w kawie związana jest jako sól podwójna potasowa z kwasem chlorogenowym. Jej zawartość w surowym ziarnie wynosi 1,18%, a po procesie palenia 1,24% [Świdorski 1999].

Napoje typu „cola”

Zawierają kofeinę średnio w ilości około 10 mg w 100 ml napoju; ekstrahowaną najczęściej z orzeszków koki. Inne składniki tego napoju to woda, cukier, dwutlenek węgla, karmel, kwas fosforowy i cytrynowy oraz zestaw substancji smakowo-zapachowych [www.cocacola.com.pl].

Napoje energetyzujące

Zgodnie z Polską Normą napoje energetyzujące to dietetyczne środki spożywcze, w których głównym źródłem energii są węglowodany, a ich wartość energetyczna nie jest mniejsza niż 80 kJ w 100 ml napoju oraz zawierające jeden lub więcej z następujących składników: kofeinę, guaranę, inozytol, glukuronolakton, taurynę, przeznaczone są do bezpośredniego spożycia lub po przygotowaniu według wskazań podanych na etykiecie (PN-A-04026). Zawartość kofeiny w większości z nich wynosi 320 mg/l [Wierzejewska i wsp. 2002]. Komitet do Spraw Żywności Unii Europejskiej ubiegał się o znakowanie produktów zawierających powyżej 150 mg/kg kofeiny. Propozycja znalazła swoje odzwierciedlenie w Dyrektywie 2002/67/EC w sprawie etykietowania środków spożywczych zawierających chininę oraz środków spożywczych zawierających kofeinę. Na produktach z zawartością kofeiny powyżej 150 mg/l powinna znajdować się informacja „wysoka zawartość kofeiny” oraz podane jej stężenie w mg/100 ml. Zasada ta nie obowiązuje w stosunku do kawy i herbaty oraz ich wyciągów, a także w przypadku napojów, których nazwa wskazuje, że zostały wyprodukowane na bazie obu naporów. W Polsce te zasady zostały zamieszczone w rozporządzeniu Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 16 grudnia 2002 roku w sprawie znakowania środków spożywczych i dozwolonych substancji dodatkowych.

Spożycie kofeiny

Światowe spożycie kofeiny szacuje się na poziomie 120 000 ton rocznie, co czyni ją najbardziej popularną substancją o działaniu psychoaktywnym [Małecki 2007]. Spożycie kofeiny jest uzależnione od zwyczajów żywieniowych panujących na danym terenie. Średnia dziennego pobrania alkaloidu w Europie Środkowej mieści się w granicach od 3 do 7 mg/kg masy ciała, czyli 200 mg na osobę na dzień [Dworzański i wsp. 2009]. W Europie północnej jest ono większe, w

Szwecji wynosi 425 mg na dzień, w Anglii 444 mg. Spożycie tego alkaloidu w Stanach Zjednoczonych kształtuje się na poziomie 211 mg, w Kanadzie 238 mg, a w Brazylii 171 mg na dzień [Wierzejska i Jarosz 2003]. Badania w Stanach Zjednoczonych wykazały, że 75% spożywanej kofeiny pochodzi z kawy, a pozostałe 25% z herbaty i produktów zawierających kakao. Konsumpcja tego alkaloidu zależy od takich czynników jak: źródło, wiek, płeć, stan odżywienia i aktywności fizycznej [Harland 2000]. W Europie natomiast przeważa spożycie kofeiny z herbaty [Wierzejska i Jarosz 2003].

Dopuszczalne dzienne spożycie kofeiny to 500 mg/osobę, uznaje się, że taka ilość alkaloidu nie jest szkodliwa, a może wykazywać korzystny wpływ na nasz organizm [Małecki 2007]. Kofeina nie należy do substancji uzależniających. W żadnych badaniach naukowych nie udowodniono, aby spożycie jej w umiarkowanych ilościach wykazywało wyraźny związek z jakimkolwiek zagrożeniem dla zdrowia. Nie rozstrzygnięto, czy spożywanie alkaloidu w większych ilościach wpływa na przebieg ciąży i poród. Ze względu na istniejące wątpliwości oraz spowolnienie metabolizmu kofeiny podczas ciąży zaleca się jednak ograniczenie jej spożycia. Dla tej grupy konsumentów za bezpieczną dawkę przyjmuje się 300 mg na dobę. Dla dzieci, które zwykle nie piją dużych ilości herbaty i kawy, spożycie kofeiny zawartej w napojach energetyzujących i innych napojach nie powinno przekraczać 5,3 mg/kg masy ciała (co oznacza ok. 160 mg kofeiny dla dziecka 10-letniego) [Małecki 2007].

Kofeina rzadko powoduje zatrucia śmiertelne. Za realną dawkę doprowadzającą do zgonu przyjmuje się 150-200 mg/kg masy ciała, co równa się spożyciu około 90 filiżanek kawy [Małecki 2007].

Material i metody badań

Do oszacowania spożycia kofeiny w całodziennej racji pokarmowej posłużono się ankietą przeprowadzoną w grupie studentek Uniwersytetu Technologiczno-Przyrodniczego w Bydgoszczy w październiku 2010 roku. W badaniach wzięło udział 100 osób. W grupie respondentów 90% posiadało wykształcenie średnie, pozostała część wyższe.

Kwestionariusz składał się z 23 pytań zamkniętych. Pytania dotyczyły spożycia kofeiny z takich produktów jak: herbata, kawa, napoje energetyzujące, napoje typu „cola” oraz czekolada. W ankiecie znajdują się 4 pytania dodatkowe dotyczące oddziaływania produktów zawierających kofeinę na organizm człowieka, pory spożywania

omawianych produktów, celu spożycia oraz prowadzonego trybu życia przez respondentów.

Do opracowania wyników wykorzystano arkusz kalkulacyjny Microsoft Office Excel 2003, z pakietu Microsoft Office. Odpowiedzi zliczono przy pomocy systemu zerojedynekowego (0-1), gdzie 1 oznaczało wybraną przez respondenta odpowiedź, a 0 - niezaznaczony możliwy wariant. Ten sam program wykorzystano do obliczenia pobrania kofeiny z poszczególnych produktów oraz do oszacowania całodiennej dawki kofeiny dla każdego respondenta indywidualnie oraz grupowo. Do wyliczenia zawartości kofeiny w poszczególnych produktach posłużono się tabelą 1 zamieszczoną poniżej.

Tabela 1. Zawartość kofeiny [mg] w wybranych produktach spożywczych
(źródło: www.erowid.org)

Produkt	Wielkość porcji [ml]	Zawartość [mg]
Herbata parzona	190	50
Kawa parzona	190	85
Kawa espresso	60	100
Kawa rozpuszczalna	190	75
Napoje typu „cola”	250	53
Napoje energetyzujące	250	87
Czekolada deserowa	43	31
Czekolada mleczna	43	10

Wyniki i dyskusja

Z przeprowadzonej ankiety wynika, że najczęściej konsumowanym napojem zawierającym kofeinę jest herbata. Aż 76% ankietowanych kobiet wybrało ten produkt jako najczęściej spożywany. Na drugim miejscu znajduje się kawa, którą wybrało 19% ankietowanych. Skibniewska i wsp. [2009] w badaniach ankietowych dotyczących nawyków żywieniowych studentów Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego uzyskali podobne wyniki spożycia herbaty, a mianowicie 78% ankietowanych deklarowało częste spożycie powyższego napoju, który stanowi w Polsce integralną część całodiennej racji pokarmowej prawie wszystkich grup społecznych [Śmiechowska i wsp. 2002; Kłobukowski i Ciborowska 2005].

Polska zajmuje stosunkowo wysokie miejsce w Europie pod względem spożycia herbaty po takich krajach jak Irlandia, Wielka Brytania, Holandia i Niemcy [Śmiechowska i wsp. 2002]. Według danych GUS spożycie herbaty w Polsce w ciągu kilku ostatnich lat jest

niezmienne i wynosi około 1 kg rocznie suchej herbaty na osobę, a w przeliczeniu na ilość naparu spożywczego około 1,5 filiżanki dziennie. Najwięcej omawianego napoju konsumują emeryci i renciści, bo aż 1,2 kilograma na miesiąc [Rocznik statystyczny 2008]. Spośród ankietowanych kobiet spożywających herbatę 40% sięga po nią dwa razy dziennie, 28% częściej niż dwa razy dziennie, 19% raz dziennie i tylko 12% raz w tygodniu lub sporadycznie. Przeważająca część kobiet (72%) najczęściej pije herbatę w kubku. Jeden kubek o pojemności 0,3 litra dostarcza organizmowi 79 mg kofeiny, jest to wartość porównywalna do zawartości alkaloidu w jednej filiżance kawy parzonej o pojemności 0,16 litra. Spożycie herbaty w objętości 0,3 litra częściej niż dwa razy dziennie stanowi znaczne źródło kofeiny w codziennej racji pokarmowej na poziomie 237 mg (przy spożyciu 3 razy dziennie), 316 mg (przy spożyciu 4 razy dziennie). Osoby ankietowane, które deklarowały spożywanie herbaty częściej niż dwa razy dziennie, sięgały po nią od 3 do 6 razy dziennie, a więc maksymalna dzienna dawka kofeiny pochodząca z herbaty wprowadzana do organizmu mogła wynosić około 450 mg z jednego źródła. 27% ankietowanych kobiet pije herbatę w szklance o pojemności 0,25 litra, która zawiera 66 mg kofeiny. Ilość zawartego alkaloidu jest większa niż w puszcze napoju typu „cola” o pojemności 0,33 litra, który zawiera 53 mg kofeiny. Przy spożyciu sześć razy na dobę herbaty w objętości 0,25 litra ilość kofeiny wprowadzana do organizmu może wynieść ok. 400 mg. Zalecane dzienne spożycie kofeiny, które wpływa korzystnie na zdrowy organizm to 500 mg/osobę z wyłączeniem szczególnych stanów fizjologicznych jak: ciąża, laktacja [Małecki 2007]. Jednocześnie należy zwrócić uwagę na fakt, iż badania dotyczące wpływu kofeiny na organizm człowieka są bardzo sprzeczne zwłaszcza w wymienionych, szczególnych stanach fizjologicznych, jak również w organizmie zmienionym chorobowo.

Drugim w kolejności napojem najczęściej spożywany przez respondentów jest kawa. Spożycie kawy przez Polaków plasuje się na poziomie jednej filiżanki czarnego naparu dziennie niezależnie od miejsca zamieszkania na terenie wiejskim czy miejskim [GUS 2007], jednocześnie dla porównania jest to około trzykrotnie mniej niż w Holandii, ponad czterokrotnie mniej niż w krajach skandynawskich oraz siedmiokrotnie mniej niż w krajach Ameryki Południowej [Orzechowska 2010]. 76% ankietowanych osób pije omawiany napój, wśród nich 50% spożywa kawę raz w tygodniu lub sporadycznie. Druga część ankietowanych (44%) pije kawę raz lub dwa razy dziennie, a 6% więcej niż dwa razy dziennie. Badanie ankietowe wykazało, że 58% kobiet

spożywa kawę rozpuszczalną, 40% parzoną, a tylko 2 % bezkofeinową. Kawa parzona zawiera o 12% więcej kofeiny niż kawa rozpuszczalna.

W badaniach przeprowadzonych w Szczecinie w latach 1994-1996 na grupie 187 kobiet wynika, że kawa jest bardzo popularnym napojem. Aż 70% osób biorących udział w badaniu piło kawę 3-4 razy dziennie, 19% 1-2 razy dziennie i 11% 5-6 razy dziennie. Wśród badanych kobiet 1/3 swój pierwszy posiłek spożywała między 12-14 godziną, a do tego czasu wypijała od 1 do 4 filiżanek kawy lub herbaty [Wierzejewska i Jarosz 2003]. Wśród mieszkanek Szczecina jest o 15 razy więcej kobiet spożywających kawę co najmniej dwa razy dziennie, natomiast o połowę mniej spożywających kawę 1-2 dziennie w porównaniu do ankietowanych studentek z Bydgoszczy. Mniejsze spożycie kawy wśród studentek może wynikać z sezonowości spożywania napojów zawierających kofeinę. Zwiększone spożycie produktów z kofeiną obserwuje się w okresach sesji egzaminacyjnej i wzmoczonego wysiłku przed zaliczeniami. Kobiety pracujące wypijają więcej filiżanek kawy, co może wynikać z częstego sięgania po omawiany napój w pracy.

Większość osób - 60% spożywających kawę pije ją w kubku, 30% w szklance, a tylko 10% w filiżance. Jeden kubek kawy parzonej zawiera 134 mg kofeiny, a rozpuszczalnej 118 mg. Taka ilość kawy dostarcza więcej omawianego alkaloidu niż puszka napoju energetyzujące o pojemności 0,33 litra zawierającego 87 mg kofeiny.

Przeprowadzona analiza wykazała, że spośród 80 ankietowanych 65 osób pije napoje typu „cola”. Wśród nich 34% spożywa omawiany napój raz w miesiącu, 28% raz w tygodniu, a tylko 20% częściej niż raz w tygodniu. Konsumenci napojów typu „cola” wybierają najczęściej puszki o pojemności 0,33 l lub butelki o pojemności 0,5 l. Spożywanie napojów w takich ilościach może być związane z tym, że punkty gastronomiczne proponują właśnie takie objętości płynów swoim konsumentom. Najmniejszą zawartość kofeiny z omawianych płynnych produktów mają napoje typu „cola”, jednak jednorazowo spożywa się je w większych ilościach. Pół litra napoju typu „cola” zawiera 106 mg kofeiny, jest to wartość zbliżona do zawartości kofeiny w szklance kawy parzonej. Wypicie puszki o pojemności 0,33 l dostarcza 70 mg kofeiny, czyli tyle co szklanka herbaty. Połowa osób (52%) biorąca udział w badaniu spożywa napoje energetyzujące. Przeważająca większość tych osób - 74% spożywa omawiany produkt sporadycznie, 19% raz w miesiącu, 7% raz w tygodniu. Żadna z ankietowanych kobiet nie pije napojów energetyzujących codziennie. Najczęściej wybierana pojemność z którego ankietowani spożywają napoje energetyzujące to 0,25 litra.

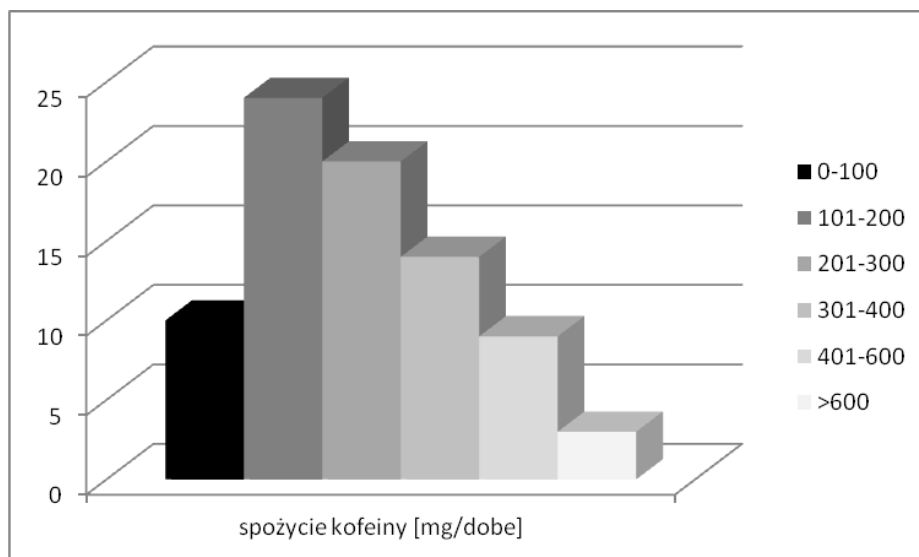
Konsumpcja napojów energetyzujących w Polsce w 2008 roku kształtowała się na poziomie 1,9 l/osobę. Polska jest w czołówce krajów europejskich pod względem spożycia tego typu produktów [www.eGospodarka.pl]. Ograniczenia w spożyciu napojów energetyzujących mogą wynikać z wysokiej ceny tych napojów oraz specyficznego działania i nietypowego smaku, a z drugiej strony braku rzetelnej informacji. Napoje energetyzujące stanowią obecnie 8% wszystkich spożywanych napojów funkcjonalnych w Europie. Najwyższe spożycie omawianych napojów notowane jest w Stanach Zjednoczonych oraz Japonii. Wyniki własne są zbliżone do danych podanych przez Kutermankiewicz i Kowrygo [2002]. Wyniki omawianych badań ankietowych wskazują, że tylko połowa osób ankietowanych spożywa napoje energetyzujące i zazwyczaj sporadycznie. Badane osoby, które piją napoje energetyzujące najczęściej sięgają po puszki o pojemności 0,33 litra zawierające 115 mg kofeiny.

Przeważająca większość ankietowanych, aż 94%, spożywa czekoladę. Wśród nich 89% jada czekoladę raz w tygodniu lub sporadycznie, a tylko 11% raz dziennie. 46% ankietowanych osób jednorazowo spożywa pasek czekolady, 25% pół tabliczki, 16% tabliczkę, a tylko 13% 1-2 kostki. Badanie wykazało, że 71% osób konsumuje czekoladę mleczną, 25% czekoladę z nadzieniem, a 4% czekoladę gorzką. W przeprowadzonych badaniach pod uwagę wzięto kofeinę zawartą w czekoladzie gorzkiej i mlecznej. Udział omawianego alkaloidu w czekoladzie nadziewanej nie ma znaczącego wpływa na obliczenia, w związku z tym został pominięty. Czekolada gorzka zawiera około 70% więcej kofeiny niż czekolada mleczna. Tabliczka czekolady gorzkiej zawierająca 72 mg kofeiny dostarcza prawie taką samą ilość omawianego związku co filiżanka kawy parzonej. Wszystkie osoby biorące udział w badaniu ankietowym spożywały kofeinę. Dzienny pobór tego alkaloidu był bardzo zróżnicowany i mieścił się w granicach od 25 do 718 mg na dobę.

Wyniki przeprowadzonych badań własnych prezentowane na rys. 1 wskazują, iż 30% ankietowanych studentek pobiera od 101 do 200 mg kofeiny na dobę. Tylko 13% ankietowanych spożywa mniej niż 100 mg kofeiny na dobę, 25% od 201-300 mg omawianego alkaloidu na dobę, 18% od 301 do 400 mg na dobę. Wśród ankietowanych możemy wyróżnić 12% osób, które spożywały kofeinę w dawce większej niż 401 mg na dobę.

Według Małeckiego [2007] 500 mg kofeiny/osobę/dobę wpływa korzystnie na organizm człowieka. Przeważająca większość, bo aż 85% ankietowanych pobiera omawiany alkaloid w dawce mniejszej niż 400

mg/osobę/dobę. Trzeba jednak zaznaczyć, że badanie nie obejmowało wszystkich produktów, w których znajduje się kofeina. Średnie dzienne pobranie kofeiny przez osoby biorące udział w badaniu wynosi 259 mg. W badaniach Wierzbickiej i wsp. [2002] na grupie 138 kobiet średnie dzienne spożycie omawianego związku wyniosło 251 mg. U około połowy kobiet (49,30%) spożycie kofeiny było na poziomie umiarkowanym (200-400 mg/dobę), a u około 36% badanych małe (<200 mg/dobę). W tych samych badaniach 14,70% badanych spożywało ponad 400 mg kofeiny/dobę. Wyniki z przeprowadzonych badań są porównywalne. Średnie dzienne spożycie jest zbliżone, natomiast spożycie na poziomie małym i średnim rozkłada się po 42,50%. Procentowa ilość osób spożywające w dużych ilościach omawiany związek jest porównywalna.



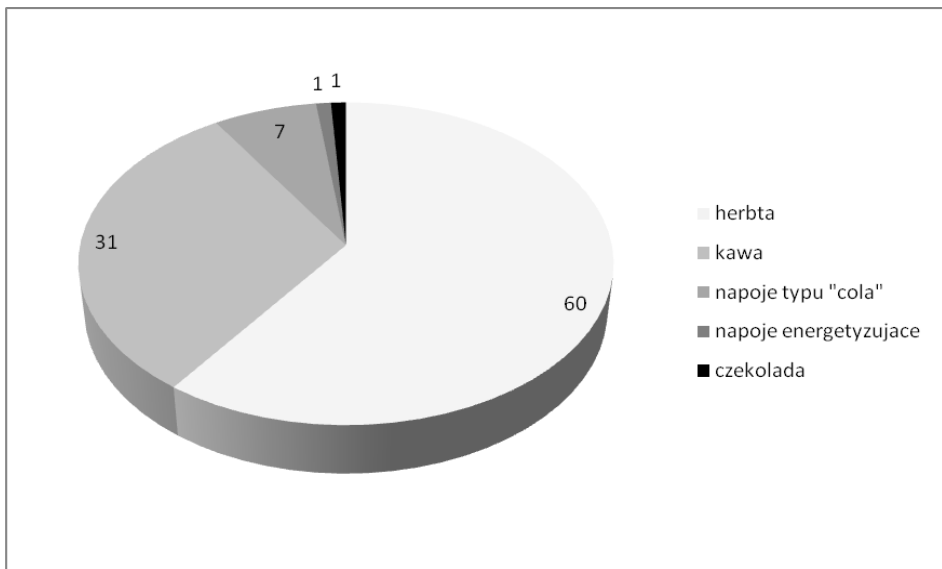
Rys. 1. Procentowy udział osób badanych spożywających kofeinę w ustalonych przedziałach

Wśród ankietowanych w badaniach własnych znajdują się 3 osoby, które dostarczają organizmowi ponad 600 mg kofeiny na dobę. Każda z tych osób, pobiera kofeinę z innych źródeł. Dla pierwszej z omawianych osób głównym źródłem kofeiny była kawa rozpuszczalna spożywana 5 razy dziennie. Druga z ankietowanych osób pobierała omawiany związek z kawy parzonej, którą spożywała 3 razy dziennie oraz napojów typu „cola”, które wypijała 2 razy dziennie. Trzecia osoba najwięcej kofeiny dostarczała organizmowi przez wypijanie 5-6 kubków herbaty, jednej kawy i jednego napoju typu „cola” w ciągu jednego dnia. Wspólnym

elementem łączącym te osoby jest to, że często nie wysypiają się, a napoje zawierające kofeinę spożywają w celu pobudzenia i poprawienia nastroju.

W badaniach Wierzbickiej i wsp. [2010] osoby z dużym pobraniem kofeiny spożywały prawie 4-krotnie więcej herbaty czarnej, około 2,5-krotnie więcej naparów z kawy parzonej i 1,8-krotnie więcej naparów z kawy rozpuszczalnej w porównaniu do osób z małym pobraniem.

Najbardziej istotne źródło kofeiny w codziennej diecie ankietowanych stanowiła herbata – 60%, następnie kawa 31%, napoje typu cola 7%, i tylko 2% napoje energetyzujące i czekolada (rys. 2).



Wykres 2. Źródła kofeiny z poszczególnych produktów (udział procentowy)

Wysoki odsetek pobrania kofeiny z herbaty może wynikać z preferencji ankietowanych do tego napoju. Osoby, które spożywały powyżej 401 mg kofeiny na dobę, najwięcej alkaloidu pobierały wraz z herbatą i kawą. Takie osoby piły co najmniej 3 razy dziennie herbatę lub co najmniej 2 razy dziennie kawę. Według Frary i Johnson [2005] średnie dzienne pobranie kofeiny na osobę w Stanach Zjednoczonych wynosi 193 mg, czyli 1,2 mg kofeiny na kilogram masy ciała. Wraz z wiekiem spożycie omawianego alkaloidu rośnie. Najwięcej kofeiny spożywają mężczyźni i kobiety między 35 a 65 rokiem życia. Głównymi źródłami kofeiny są kawa (70%), napoje gazowane (16%) oraz herbata (12%). Kawa jest podstawowym źródłem kofeiny u dorosłych, natomiast napoje gazowane u dzieci i młodzieży.

Różnice w wynikach uzyskanych z ankiety, a badaniami Frary i Johnson [2005] mogą wynikać z odmiennego stylu życia. W Polsce herbata jest bardzo popularnym napojem, spożywana przez znaczną większość ankietowanych co najmniej raz dziennie.

Wierzbicka i wsp. [2010] wskazują na dwa główne źródła kofeiny, jakim są kawa, która stanowiła 47,4% ogólnego pobrania oraz herbata - 47,5% ogólnego pobrania. Pozostałe produkty nie miały większego wpływu na spożycie omawianego związku. Jedynie w najmłodszej grupie ankietowanych kobiet wpływ na spożycie kofeiny miały napoje energetyzujących, typu „cola”, suplementy diety z dodatkiem kofeiny oraz czekolada. Większość ankietowanych, bo aż 57% spożywa napoje zawierające kofeinę między godziną 14-20. Druga grupa konsumentów - 40%, pije omawiane napoje między 6-14, tylko 2% po godzinie 20 oraz 1% przed 6 rano. Przeważnie w godzinach popołudniowych odczuwa się zmęczenie i senność. Kobiety biorące udział w badaniu za najczęstszą zmianę w samopoczuciu po spożyciu napojów zawierających kofeinę uznały ogólne pobudzenie (38%) oraz poprawę nastroju (34%). Średnie dzienne pobranie omawianego związku u ankietowanych wynosiło 259 mg, jest to dawka pobudzająca aktywność psychiczną organizmu. Z przeprowadzonych badań wynika, że 13% ankietowanych po spożyciu omawianych napojów odczuło przyspieszenie motoryki przewodu pokarmowego, 6% kołatanie serca, a 5% zaburzenia snu. Tylko niewielki odsetek kobiet odczuwało dreszcze, mdłości bądź zgaę po spożyciu produktów zawierających kofeinę. Negatywne odczucia po spożyciu kofeiny mogą wynikać z różnego tempa metabolizmu alkaloidu.

Głównym elementem stylu życia wyróżniającym ankietowanych jest to, że dużo się uczą oraz często nie wysypiają się. Duża rozbieżność w pobraniu alkaloidu przez kobiety może wynikać z indywidualnych uwarunkowań oraz prowadzonego trybu życia.

Wnioski

- Średnie dzienne pobranie kofeiny w grupie 100 studentek Uniwersytetu Technologiczno-Przyrodniczego w Bydgoszczy wynosiło 259 mg/dobę.
- Większość ankietowanych - 85% spożywała kofeinę w ilości nie przekraczającej dawki bezpiecznego dziennego pobrania (<500 mg/dobę).
- Najważniejsze źródła kofeiny w diecie ankietowanych stanowiły herbata i kawa.

- U osób, które przekroczyły bezpieczną dawkę kofeiny należałoby ograniczyć spożycie produktów będących jej głównym źródłem

Literatura

1. Dominiak M., Kasprzak D.J., *Spożycie kawy a choroby układu sercowo-naczyniowego. Ochrona czy ryzyko*, Polski Przegląd Kardiologii 2006, 433-436.
2. Dworzański W., Opielak G., Burdan F., *Niepożądane działania kofeiny*, Polski Merkurusz lekarski 2009, XXVII nr 161, 357-361.
3. Dyrektywa Komisji 2002/67/WE z dnia 18 lipca 2002 r. w sprawie etykietowania środków spożywczych zawierających chininę oraz środków spożywczych zawierających kofeiny.
4. Frary D. C., Johnson K. R., *Food Sources and Intakes of Caffeine in the Diets of Persons in the United States*, American Dietetic Association 2005, 221-228.
5. Gertig H., Przysławski J., *Bromatologia-zarys nauki o żywności i żywieniu*, PZW 2007, 332-336.
6. Główny Urząd Statystyczny, *Rocznik statystyczny Rzeczypospolitej Polski*, Warszawa 2009
7. Harland F.B., *Caffeine and Nutrition*, Nutrition 2000, 16, 7/8, 522-526.
8. Kłobukowski J., Ciborska J., *Wpływ spożycia naparów herbacianych na zawartość składników mineralnych w surowicy krwi zdrowych dorosłych osób*, Bromatologia i Chemia Toksykologiczna Supl. 2000, 38, 231-234.
9. Kolanowski W., *Kawa-charakterystyka i znaczenie zdrowotne*, Żywność, żywienie, a zdrowie 1998, 3, 305-309.
10. Kosicka T., Kara-Perz H., Głuszek J., *Kawa-zagrozenie czy ochrona*, Przewodnik Lekarza 2004, 9(69), 78-83.
11. Kuterankiewicz J., Kowrygo B., *Rynek napojów, które „dodają skrzydeł”*, Przemysł spożywczy 2002, 5, 24-25.
12. Małecki P., *Kofeina*, Świat Farmacji 2007, V, 35.
13. PN-A-04026:2000, *Dietetyczne środki spożywcze – Terminologia*.
14. Orzechowska M., *Spożycie kawy przez Polaków*. www.filiżankasmakow.pl, 2010.
15. Rozporządzeniu Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 16 grudnia 2002 roku w sprawie znakowania środków spożywczych i dozwolonych substancji dodatkowych.
16. Skibniewska K.A., Radzymińska M., Jaworska M.M., Babicz-Zielińska E., *Badania zwyczajów żywieniowych studentów polskich i belgijskich*, Żywność, Nauka, Technologia, Jakość 2009, 4(65), 250-258.
17. Smith A., *Effects of caffeine on human behavior*, Food and Chemical Toxicology 2002, 40, 1243-1255.
18. Śmiechowska M., Dmowski P., Newerlit-Guz J., *Zachowania konsumentów na rynku herbaty*, Handel wewnętrzny 2002, XLVIII, 10, 226-229.
19. Świdorski F., *Towaroznawstwo żywności przetworzonej*, SGGW 2003, 399-449.
20. Temple L.J., *Caffeine use in children: What we know, what we have left to learn, and why we should worry*, Neuroscience and Biobehavioral Reviews 2009, 33, 793-806.
21. Weinberg B.A., Bealer B.K., *The world of caffeine*, New York, 2001.
22. Wierzbicka E., Gałkowska K., Brzozowska A., *Ocena spożycia kofeiny z całodzienną racją pokarmową w wybranej grupie dorosłych kobiet*, Problemy Higieny i Epidemiologii 2010, 91(4), 564-571.
23. Wierzejska R., Jarosz R., *Kofeina a zdrowie*, Żywnienie człowieka i metabolizm 2003, XXX, nr 3/4, 1234-1241.
24. Wierzejska R., Kundzicz M., Orłowska K., Brożek A., Szponar L., *Napoje energetyzujące – ich skład i przeznaczenie*, Przemysł spożywczy 2002, 10/2010, 42-45.
25. www.cocacola.com.pl
26. www.eGospodarka.pl
27. Zejca A., Gorczyca M., *Chemia Leków*, Wyd. Lekarskie PZW, Warszawa 2004, 132-135.

Abstract

In the time of increasing of busy life stimulating substances, that is removing the tiredness, improving the concentration and the efficiency, gained the special significance. One of such substances is caffeine. It is the most widely consumed psychoactive substance in the world, which consumption is legal. In North America, as much as 90% of people consume caffeine daily. In Poland, the intake of this substance is not assessed. The food industry provides more and more products containing caffeine. It is worth considering whether their consumption is completely safe for our health and what amounts are not involved in the occurrence of side effects. Despite the many scientific studies the effects of caffeine are not clearly resolved.

The purpose of this study was to estimate the intake of caffeine with the daily food ration, based on a survey among 100 female students of the University of Technology and Life Sciences in Bydgoszcz. Based on the results of the survey obtained detailed information on consumption of caffeinated products, of their types, volume and portion sizes. The average daily intake of caffeine was 259 mg / person. Of the 100 respondents only 3 people have consumed more than 600 mg caffeine / day, and so the dose likely to cause severe psychomotor agitation, increased and cardiac arrhythmia, increased diuresis, nausea, vomiting, weakness, the main sources of caffeine in the diet of women were tea (60%) and coffee (31%). Most respondents (96%) consume caffeine in moderate amounts, not affecting the body.

OCENA POBRANIA PRZEZ KAJAKARZY SŁALOMISTÓW WYBRANYCH SKŁADNIKÓW MINERALNYCH, POCHODZĄCYCH Z CAŁODZIENNYCH RACJI POKARMOWYCH, SUPLEMENTÓW DIETY I ŚRODKÓW SPECJALNEGO PRZEZNACZENIA ŻYWIENIOWEGO

Estera Nowacka, Teresa Leszczyńska, Aneta Kopeć, Katarzyna Pysz-Izdebska

Katedra Żywienia Człowieka, Wydział Technologii Żywności, Uniwersytet Rolniczy w Krakowie, Balicka 122, 30-149 Kraków, e-mail: esanowa@op.pl

Streszczenie

Celem pracy była ocena przeciętnego pobrania przez kajakarzy słalomistów wybranych składników mineralnych, pochodzących z całodziennych racji pokarmowych, suplementów diety i środków specjalnego przeznaczenia żywieniowego.

Badaniami objęto 37 sportowców (8 kobiet i 29 mężczyzn). Wywiady o spożyciu z ostatnich 24 godzin przeprowadzono w środę, piątek oraz niedzielę, w okresie treningowym oraz startowym, w 2009 roku. Za pomocą programu Dieta 4.0 oceniono spożycie sodu, wapnia, magnezu, żelaza, cynku oraz miedzi.

Racje pokarmowe kajakarek dostarczały sód, wapń, magnez, żelazo, cynk i miedź w ilościach pozwalających na średnie pokrycie ustalonej normy odpowiednio w: 181, 76, 103, 115, 123 oraz 155 %.

Kajakarze pobierali z racjami pokarmowymi sód, wapń, magnez, żelazo, cynk i miedź w ilościach stanowiących 316, 95, 98, 171, 138 oraz 171 % normy.

Zastosowanie suplementów diety i środków specjalnego przeznaczenia żywieniowego przez kobiety i mężczyzn zwiększyło pobranie omawianych składników, z wyjątkiem sodu.

Wykazane zbyt niskie spożycie wapnia oraz magnezu u znacznego odsetka badanych uzasadnia potrzebę monitorowania i dokonywania bieżącej korekty sposobu żywienia kajakarzy słalomistów.

Słowa kluczowe: składniki mineralne, suplementy, sport, kajakarstwo slalomowe

Wprowadzenie

Składniki mineralne są niezbędne do utrzymania na odpowiednim poziomie procesów fizjologiczno-biochemicznych, zachodzących w organizmie człowieka [Tomaszewski 1999; Szukała 2001; Czapska i wsp. 2005].

W warunkach wzmożonego wysiłku fizycznego może dochodzić do upośledzenia wchłaniania składników mineralnych w przewodzie pokarmowym, jak również zwiększonej ich utraty z potem, kałem oraz moczem [Szczepańska i Malczewska-Lenczowska 2005]. Szczególnie ważna jest ich odpowiednia podaż w okresie restytucji powysiłkowej, gdyż pozwala ona w jak najszybszym czasie usunąć zmęczenie i osiągnąć nowy, wyższy stopień gotowości do pracy [Ziemiański i Niedźwiecka-Kącikowa 1997].

W podsumowaniu konferencji MKOL w Lozannie w 1991 roku stwierdzono, że tylko w kilku badaniach udokumentowano korzystny wpływ suplementacji składników mineralnych na poprawę zdolności wysiłkowej organizmu. Niemniej jednak u sportowców, którzy z różnych przyczyn ograniczają pobranie pokarmów oraz zmniejszają ogólną wartość energetyczną diety może okazać się korzystne zastosowanie suplementacji diety wybranymi składnikami mineralnymi. Stosując taką suplementację należy pamiętać, że obok ilości bardzo istotne są także wzajemne proporcje poszczególnych pierwiastków. Nadmiar jednego pierwiastka może być bowiem przyczyną ograniczonego wchłaniania innych [Barszowski 2000].

Ze względu na wysoki odsetek sportowców stosujących suplementację diety, zachodzi konieczność uwzględnienia jej w badaniach żywieniowych, szczególnie przy ocenie spożycia składników mineralnych. Pominięcie faktu suplementacji może stanowić istotne źródło błędów w ocenie sposobu żywienia [Gaździńska 2007].

Celem pracy była ocena przeciętnego dobowego pobrania przez kajakarzy slalomistów wybranych składników mineralnych, pochodzących z całodziennych racji pokarmowych, suplementów diety i środków specjalnego przeznaczenia żywieniowego.

Materiał i metody badań

Badaniami objęto 37 sportowców uprawiających wyczynowo kajakarstwo slalomowe, w tym 8 kobiet i 29 mężczyzn w wieku od 16 do 27 lat.

Wywiady o spożyciu z ostatnich 24 godzin przeprowadzono w środę, piątek oraz niedzielę, w okresie treningowym (jesiennie-zimowym) oraz startowym (wiosennie-letnim), w 2009 roku, uwzględniając stosowane suplementy diety i środki specjalnego przeznaczenia żywieniowego. Za pomocą programu Dieta 4.0 obliczono spożycie sodu, wapnia, magnezu, żelaza, cynku oraz miedzi. Uzyskane oddzielnie dla zawodniczek i zawodników wyniki odniesiono, w zależności od omawianego składnika mineralnego, do norm na poziomie średniego zapotrzebowania grupy (EAR), wystarczającego spożycia (AI) oraz górnego tolerowanego poziomu spożycia (UL) [Jarosz i Bułhak-Jachymczyk (red.) 2008].

Wyniki badań poddano jednoczynnikowej analizie wariancji. Założoną hipotezę o braku różnic pomiędzy odpowiednimi wartościami średnimi weryfikowano za pomocą testu Duncana, na poziomie istotności $p < 0,05$. Analizowano istotność różnic w wielkości spożycia składników przez zawodniczki i zawodników w dwóch okresach badawczych (treningowym, startowym). Oceniono również istotność różnic w pobraniu składników w zależności od rodzaju diety (konwencjonalnej, konwencjonalnej uwzględniającej suplementy i środki specjalnego przeznaczenia żywieniowego). Obliczenia przeprowadzono za pomocą programu Statistica 9.0.

Wyniki i dyskusja

Okres badań (treningowy bądź startowy) na ogół nie miał wpływu na pobranie składników mineralnych. Statystycznie istotną różnicę wykazano jedynie w pobraniu żelaza z diety uwzględniającej suplementy i środki specjalnego przeznaczenia żywieniowego w okresie treningowym w porównaniu do startowego, w grupie mężczyzn. Dlatego też omówienie wyników przeprowadzono na podstawie średniego spożycia w danej grupie, niezależnie od okresu badawczego. Analiza statystyczna wykazała ponadto istotne różnice w pobraniu wapnia, żelaza, cynku oraz miedzi z dietą konwencjonalną w porównaniu do diety uwzględniającej suplementy i środki spożywcze specjalnego przeznaczenia żywieniowego, w grupie mężczyzn.

Średnie spożycie sodu przez kajakarki, zarówno z dietą konwencjonalną, jak i z dietą uwzględniającą suplementy i środki specjalnego przeznaczenia żywieniowego, wynosiło 2713 ± 1000 mg/os/24 h ($181 \pm 66,7\%$ wartości normy AI), natomiast przez kajakarzy 4737 ± 1434 mg/os/24 h ($316 \pm 95,6\%$ wartości normy AI) (tab. 1).

Średnia wartość spożycia sodu, zarówno przez kajakarki, jak i kajakarzy, z dietami konwencjonalnymi, jak i z dietami

uwzględniającymi suplementy i środki spożywcze specjalnego przeznaczenia żywieniowego, była wyższa od wartości wystarczającego poziomu spożycia ($>AI$), co pozwoliło stwierdzić, iż istnieje niskie prawdopodobieństwo niedostatecznego spożycia omawianego składnika mineralnego przez ocenianą populację (tab. 1).

Podobne spożycie sodu z całodziennymi racjami pokarmowymi (CRP) w porównaniu do spożycia przez badane w niniejszej pracy kajakarki odnotowano wśród łyżwiarek synchronicznych [Ziegler i Jonnalagadda 2006] oraz studentek uprawiających sport [Czapska i wsp. 2005]. W odniesieniu do diet badanych kajakarzy podobne wyniki uzyskano w CRP piłkarzy nożnych [Chalcarz i wsp. 2008a], łyżwiarzy figurowych [Ziegler i wsp. 2001] oraz mężczyzn uprawiających wyścigi ekstremalne [Zalcman i wsp. 2007].

W badaniach przeprowadzonych z udziałem kobiet trenujących wyścigi ekstremalne [Zalcman i wsp. 2007] oraz piłkę nożną [Mullinix i wsp. 2003] wykazano wyższe pobranie sodu z CRP w porównaniu do pobrania przez kajakarki oceniane w niniejszej pracy.

Racje pokarmowe lekkoatletek [Lebiedzińska i wsp. 2008] oraz kobiet uprawiających fitness [Gacek 2009; Seidler i wsp. 2010] dostarczały mniejszej ilości sodu w porównaniu do diet badanych kajakarek. Podobnie CRP mężczyzn trenujących piłkę nożną [Kasprzak 2009; Noda i wsp. 2009], kolarstwo górskie [Chalcarz i wsp. 2008b], lekkoatletykę [Lebiedzińska i wsp. 2008] oraz fitness [Seidler i wsp. 2010] charakteryzowały się niższą podażą sodu w porównaniu do diet badanych kajakarzy.

Kajakarki spożywały z dietą konwencjonalną średnio 874 ± 504 mg/os/24 h wapnia ($76,1 \pm 48,0\%$ wartości normy AI). Zastosowanie suplementów diety i środków specjalnego przeznaczenia żywieniowego spowodowało wzrost podaży wapnia do wartości 1039 ± 539 mg/os/24 h ($89,3 \pm 49,7\%$ wartości normy AI). W grupie kajakarzy wykazano różnicę statystycznie istotną ($p < 0,05$) w pobraniu wapnia z dietą konwencjonalną w porównaniu do pobrania z dietą uwzględniającą suplementy i środki specjalnego przeznaczenia żywieniowego. Z dietą konwencjonalną mężczyźni spożywali 1090 ± 523 mg/os/24 h wapnia ($94,7 \pm 48,0\%$ wartości normy AI), natomiast z dietą uwzględniającą suplementy i środki specjalnego przeznaczenia żywieniowego 1265 ± 664 mg/os/24 h ($109 \pm 58,3\%$ wartości normy AI) (tab. 1).

Średnie spożycie wapnia z dietami konwencjonalnymi było u 75% kajakarek poniżej wartości wystarczającego poziomu spożycia ($<AI$), natomiast spożycie z dietami uwzględniającymi suplementy i środki

specjalnego przeznaczenia żywieniowego przez 63% zawodniczek. Z kolei średnie spożycie wapnia z dietami konwencjonalnymi kajakarzy było poniżej wystarczającego poziomu spożycia (<AI) u 66%, a z dietami uwzględniającymi suplementy i środki specjalnego przeznaczenia żywieniowego – u 48% zawodników. Równocześnie, żaden z badanych sportowców nie przekroczył górnego tolerowanego poziomu spożycia wapnia (tab. 1).

Podobne spożycie wapnia z CRP w porównaniu do spożycia przez badane w niniejszej pracy kajakarki stwierdzono w przypadku pływaków [Abood i wsp. 2004] oraz piłkarzy nożnych [Mullinix i wsp. 2003]. W grupie mężczyzn podobnym pobraniem wapnia z CRP charakteryzowali się sportowcy dyscyplin wytrzymałościowych [Szczepańska i wsp. 1998].

Wyższą podaż wapnia w odniesieniu do diet badanych kajakarek wykazano w racjach łyżwiarek szybkich [Kozłowska i Jurkitewicz 2009], siatkarek [Abreu i Abreu 2003], kobiet uprawiających wyścigi ekstremalne [Zalcman i wsp. 2007] oraz studentek wychowania fizycznego [Eksterowicz i Napierała 2008]. Wyższym pobraniem wapnia z CRP w porównaniu do pobrania przez badanych kajakarzy charakteryzowali się łyżwiarze szybcy [Kozłowska i Jurkitewicz 2009] i figurowi [Ziegler i wsp. 2001], mężczyźni uprawiający wyścigi ekstremalne [Zalcman i wsp. 2007] oraz studenci uprawiający sport [Czapska i wsp. 2005].

W CRP piłkarzy nożnych [Abood i wsp. 2004], pływaków [Kostrzewa-Tarnowska i wsp. 2009], łyżwiarek synchronicznych [Ziegler i Jonnalagadda 2006], kobiet uprawiających fitness [Gacek 2009; Seidler i wsp. 2010] oraz dyscypliny wytrzymałościowe [Szczepańska i wsp. 1998], a także studentek uprawiających sport [Czapska i wsp. 2005] odnotowano niższą podaż wapnia w odniesieniu do diet badanych kajakarek. Racje pokarmowe mężczyzn uprawiających piłkę nożną [Chalcarz i wsp. 2008a; Kasprzak 2009], kolarstwo górskie [Chalcarz i wsp. 2008b], hokej [Gacek 2010] oraz fitness [Seidler i wsp. 2010] charakteryzowały się niższą podażą wapnia w porównaniu do diet badanych kajakarzy.

Średnie spożycie magnezu przez kajakarki wynosiło z dietą konwencjonalną 285 ± 128 mg/os/24 h ($103 \pm 49,1\%$ wartości normy EAR), natomiast z dietą uwzględniającą suplementy i środki specjalnego przeznaczenia żywieniowego 330 ± 163 mg/os/24 h ($119 \pm 62,6\%$ wartości normy EAR). Kajakarze spożyli z dietą konwencjonalną $330 \pm 95,5$ mg/os/24 h magnezu ($98,4 \pm 28,7\%$ wartości normy EAR). Dodatkowe

pobranie magnezu z suplementów i środków specjalnego przeznaczenia żywieniowego spowodowało wzrost podaży omawianego składnika mineralnego do wartości 341 ± 103 mg/os/24 h ($102 \pm 31,0\%$ wartości normy EAR) (tab. 1).

Niedostateczne spożycie magnezu z dietami konwencjonalnymi oraz z dietami uwzględniającymi suplementy i środki specjalnego przeznaczenia żywieniowego odnotowano odpowiednio w przypadku 50 i 38% kajakarek. Niedostateczne spożycie magnezu z dietami konwencjonalnymi i z dietami uwzględniającymi suplementy i środki specjalnego przeznaczenia żywieniowego zaobserwowano odpowiednio u 48 i 45% kajakarzy. Żaden ze sportowców nie przekroczył górnego tolerowanego poziomu spożycia magnezu z suplementów diety (tab. 1).

Podobne spożycie magnezu z CRP w porównaniu do spożycia przez badane w niniejszej pracy kajakarki odnotowano wśród kobiet rekreacyjnie uprawiających fitness [Gacek 2009]. W odniesieniu do diet badanych kajakarzy podobne wyniki uzyskano w CRP hokeistów [Gacek 2010] oraz mężczyzn uprawiających fitness [Seidler i wsp. 2010].

W badaniach przeprowadzonych z udziałem łyżwiarek szybkich [Kozłowska i Jurkitewicz 2009], lekkoatletek [Lebiedzińska i wsp. 2008], kobiet trenujących wyścigi ekstremalne [Zalcman i wsp. 2007] oraz studentek wychowania fizycznego [Eksterowicz i Napierała 2008] wykazano wyższe pobranie magnezu z CRP w porównaniu do pobrania przez badane kajakarki. Wyższą podażą magnezu w odniesieniu do diet badanych kajakarzy charakteryzowały się CRP łyżwiarzy szybkich [Kozłowska i Jurkitewicz 2009] i figurowych [Ziegler i wsp. 2001], lekkoatletów [Lebiedzińska i wsp. 2008] oraz piłkarzy nożnych [Kasprzak 2009].

Racje pokarmowe kobiet uprawiających łyżwiarstwo figurowe [Ziegler i Jonnalagadda 2006], piłkę nożną [Mullinix i wsp. 2003] oraz fitness [Seidler i wsp. 2010] dostarczały mniejszych ilości magnezu w porównaniu do diet badanych kajakarek. Podobnie CRP mężczyzn trenujących wyścigi ekstremalne [Zalcman i wsp. 2007], piłkę nożną [Chalcarz i wsp. 2008a, Noda i wsp. 2009] oraz kolarstwo górskie [Chalcarz i wsp. 2008b] charakteryzowały się niższą podażą magnezu w odniesieniu do diet badanych kajakarzy.

Tabela 1. Spożycie sodu, wapnia oraz magnezu przez kajakarki i kajakarzy

Płeć	Okres badawczy	Rodzaj diety	Średnia±SD [mg]	Norma średnioważona [mg/os./24 h]	Realizacja normy±SD [%]	Odsetek osób pokrywających normę	
Na						<AI	
K	OT	DK	2698±831	1500	180±55,4	0	
		DK+S	2698±831		180±55,4	0	
	OS	DK	2728±1162		182±77,5	0	
		DK+S	2728±1162		182±77,5	0	
	Ogółem	DK	2713±1000		181±66,7	0	
		DK+S	2713±1000		181±66,7	0	
M	OT	DK	4765±1382	1500	318±92,1	0	
		DK+S	4719±1496		314±99,8	0	
	OS	DK	4710±1492		314±99,5	0	
		DK+S	4771±1384		318±92,2	0	
	Ogółem	DK	4737±1434		316±95,6	0	
		DK+S	4745±1437		316±95,8	0	
Ca						<AI	>UL
K	OT	DK	848±497	1188	73,4±46,1	88	0
		DK+S	1030±556		88,4±50,6	75	0
	OS	DK	900±521		78,7±50,7	75	0
		DK+S	1047±534		90,3±49,8	63	0
	Ogółem	DK	874±504		76,1±48,0	75	0
		DK+S	1039±539		89,3±49,7	63	0
M	OT	DK	1098±508	1176	95,2±46,5	55	0
		DK+S	1292±730**		111±62,2	45	0
	OS	DK	1082±541		94,2±49,8	66	0
		DK+S	1237±593		107±54,4	52	0
	Ogółem	DK	1090±523		94,7±48,0	66	0
		DK+S	1265±664**		109±58,3	48	0
Mg						<EAR	>UL
K	OT	DK	269±106	283	96,5±41,5	50	-
		DK+S	307±147		111±56,9	38	0
	OS	DK	301±148		109±55,8	50	-
		DK+S	353±178		127±68,0	50	0
	Ogółem	DK	285±128		103±49,1	50	-
		DK+S	330±163		119±62,6	38	0
M	OT	DK	335±99,2	336	99,8±29,5	55	-
		DK+S	347±109		103±32,5	48	0
	OS	DK	325±92,0		97,0±28,0	59	-
		DK+S	335±97,1		100±29,5	52	0
	Ogółem	DK	330±95,5		98,4±28,7	48	-
		DK+S	341±103		102±31,0	45	0

* - różnica statystycznie istotna w realizacji normy pomiędzy danymi dietami w okresie treningowym a startowym w obrębie danej płci, ** - różnica statystycznie istotna w realizacji normy pomiędzy dietą konwencjonalną a dietą konwencjonalną uwzględniającą suplementy i środki spożywcze specjalnego przeznaczenia żywieniowego w danym okresie badawczym/ogółem, w obrębie danej płci, K – kobiety, M – mężczyźni, OT – okres treningowy (jesiennie-zimowy), OS – okres startowy (wiosennie-letni), DK – dieta konwencjonalna, DK+S – dieta konwencjonalna uwzględniająca suplementy i środki specjalnego przeznaczenia żywieniowego, SD – odchylenie standardowe, AI – wystarczające spożycie (Na: dla całej grupy 1500 mg; Ca: K i M ≥ 19-30 r.ż.- 1000 mg, K i M 16-18 r.ż. - 1300 mg), EAR – średnie zapotrzebowanie grupy (Mg: K ≥ 19-30 r.ż.- 255 mg, K 16-18 r.ż. - 300 mg, M ≥ 19-30 r.ż.- 330 mg, M 16-18 r.ż. - 340 mg), UL – górny tolerowany poziom spożycia (Ca: 2,5 g; Mg: 250 mg z suplementów diety)

Kajakarki spożywały z dietą konwencjonalną średnio $9,18 \pm 4,23$ mg żelaza/os/24 h ($115 \pm 52,8\%$ wartości normy EAR). Zastosowanie suplementów diety i środków specjalnego przeznaczenia żywieniowego spowodowało wzrost podaży żelaza do wartości $10,4 \pm 4,79$ mg/os/24 h ($130 \pm 59,9\%$ wartości normy EAR). W grupie kajakarzy wykazano różnicę statystycznie istotną ($p < 0,05$) w pobraniu żelaza z dietą konwencjonalną w porównaniu do pobrania z dietą uwzględniającą suplementy i środki specjalnego przeznaczenia żywieniowego. Z dietą konwencjonalną mężczyźni spożywali $12,0 \pm 4,08$ mg żelaza/os/24 h ($171 \pm 67,4\%$ wartości normy EAR), natomiast z dietą uwzględniającą suplementy i środki specjalnego przeznaczenia żywieniowego $21,3 \pm 21,5$ mg/os/24 h ($306 \pm 330\%$ wartości normy EAR) (tab. 2).

Niedostateczne spożycie żelaza z dietami konwencjonalnymi wykazano u 50% kajakarek, a z dietami uwzględniającymi suplementy i środki specjalnego przeznaczenia żywieniowego u 25%. W grupie mężczyzn nie zaobserwowano ryzyka niedostatecznego spożycia żelaza (tab. 2).

Podobne spożycie żelaza z CRP do spożycia przez badanych w niniejszej pracy kajakarzy stwierdzono wśród łyżwiarzy szybkich [Kozłowska i Jurkitewicz 2009] i figurowych [Ziegler i wsp. 2001], piłkarzy nożnych [Kasprzak 2009], hokeistów [Gacek 2009] oraz lekkoatletów [Lebiedzińska i wsp. 2008].

Wyższą podaż żelaza w odniesieniu do diet badanych kajakarek wykazano w CRP łyżwiarzy szybkich [Kozłowska i Jurkitewicz 2009] i synchronicznych [Ziegler i Jonnalagadda 2006], siatkarek [Abreu i Abreu 2003], piłkarek nożnych [Mullinix i wsp. 2003; Abood i wsp. 2004], pływaczek [Abood i wsp. 2004], kobiet uprawiających wyścigi ekstremalne [Zalcman i wsp. 2007] oraz studentek wychowania fizycznego [Eksterowicz i Napierała 2008]. Wyższym pobraniem żelaza z CRP w porównaniu ze spożyciem przez badanych kajakarzy charakteryzowali się mężczyźni uprawiający wyścigi ekstremalne [Zalcman i wsp. 2007].

W CRP pływaczek synchronicznych [Kostrzewa-Tarnowska i wsp. 2009], lekkoatletek [Lebiedzińska i wsp. 2008] oraz kobiet uprawiających fitness [Gacek 2009; Seidler i wsp. 2010] odnotowano niższą podaż żelaza w odniesieniu do diet badanych kajakarek. Racje pokarmowe mężczyzn uprawiających piłkę nożną [Chalcarz i wsp. 2008a; Noda i wsp. 2009], kolarstwo górskie [Chalcarz i wsp. 2008b] oraz fitness [Seidler i wsp. 2010] charakteryzowały się niższą podażą żelaza w porównaniu do diet badanych kajakarzy.

Średnie spożycie cynku z dietą konwencjonalną przez kajakarki wynosiło $8,71 \pm 3,66$ mg/os/24 h ($123 \pm 52,9\%$ wartości normy EAR), natomiast z dietą uwzględniającą suplementy i środki specjalnego przeznaczenia żywieniowego $9,88 \pm 4,57$ mg/os/24 h ($139 \pm 65,5\%$ wartości normy EAR). W grupie kajakarzy wykazano różnicę statystycznie istotną ($p < 0,05$) w pobraniu cynku z dietą konwencjonalną w porównaniu do pobrania z dietą uwzględniającą suplementy i środki specjalnego przeznaczenia żywieniowego. Z dietą konwencjonalną mężczyźni spożywali $12,3 \pm 3,50$ mg/os/24 h cynku ($139 \pm 39,1\%$ wartości normy EAR), natomiast z dietą uwzględniającą suplementy i środki specjalnego przeznaczenia żywieniowego $13,2 \pm 3,85$ mg/os/24 h ($149 \pm 43,3\%$ wartości normy EAR) (tab. 2).

Niedostateczne spożycie cynku z dietami konwencjonalnymi odnotowano wśród 38% kajakarek, po uwzględnieniu suplementów i środków specjalnego przeznaczenia żywieniowego odsetek ten spadł do 25%. W grupie mężczyzn nie zaobserwowano ryzyka niedostatecznego spożycia cynku. Nie wykazano też w badanej grupie sportowców przekroczenia górnego tolerowanego poziomu spożycia omawianego składnika mineralnego (tab. 2).

Podobne spożycie cynku z CRP w porównaniu do spożycia przez badane w niniejszej pracy kajakarki odnotowano wśród piłkarek nożnych [Mullinix i wsp. 2003], natomiast w odniesieniu do diet badanych kajakarzy podobne wyniki uzyskano w CRP mężczyzn uprawiających fitness [Seidler i wsp. 2010].

W badaniach przeprowadzonych z udziałem łyżwiarek szybkich [Kozłowska i Jurkitewicz 2009], lekkoatletek [Lebiedzińska i wsp. 2008], siatkarek [Abreu i Abreu 2003] oraz piłkarek nożnych [Abood i wsp. 2004] wykazano wyższe pobranie cynku z CRP w porównaniu do pobrania przez badane kajakarki. Wyższą podażą cynku z CRP w odniesieniu do diet badanych kajakarzy charakteryzowali się łyżwiarze szybcy [Kozłowska i Jurkitewicz 2009] i figurowi [Ziegler i wsp. 2001] oraz lekkoatleci [Lebiedzińska i wsp. 2008].

Racje pokarmowe kobiet uprawiających pływanie [Abood i wsp. 2004], łyżwiarstwo figurowe [Ziegler i Jonnalagadda 2006] oraz fitness [Seidler i wsp. 2010] dostarczały mniejszej ilości cynku w odniesieniu do diet badanych kajakarek. Podobnie CRP mężczyzn trenujących piłkę nożną [Chalcarz i wsp. 2008a] oraz kolarstwo górskie [Chalcarz i wsp. 2008b] dostarczały mniejszej ilości cynku w stosunku do diet badanych kajakarzy.

Kajakarki spożywały z dietą konwencjonalną średnio $1,08 \pm 0,56$ mg miedzi/os/24 h ($155 \pm 79,4\%$ wartości normy EAR). Zastosowanie suplementów diety i środków specjalnego przeznaczenia żywieniowego spowodowało wzrost podaży miedzi do wartości $1,22 \pm 0,64$ mg/os/24 h ($175 \pm 91,4\%$ wartości normy EAR). W grupie kajakarzy wykazano różnicę statystycznie istotną ($p < 0,05$) w pobraniu żelaza z dietą konwencjonalną w porównaniu do pobrania z dietą uwzględniającą suplementy i środki specjalnego przeznaczenia żywieniowego. Z dietą konwencjonalną mężczyźni spożywali $1,19 \pm 0,36$ mg miedzi/os/24 h ($171 \pm 51,0\%$ wartości normy EAR), natomiast z dietą konwencjonalną uwzględniającą suplementy i środki specjalnego przeznaczenia żywieniowego $1,30 \pm 0,39$ mg/os/24 h ($186 \pm 56,4\%$ wartości normy EAR) (tab. 2).

Niedostateczne spożycie miedzi z dietami konwencjonalnymi odnotowano wśród 25% kajakarek. Suplementacja nie zmniejszyła ryzyka niedostatecznego spożycia omawianego składnika wśród zawodniczek. W grupie mężczyzn nie zaobserwowano ryzyka niedostatecznego spożycia miedzi. Nie wykazano w badanej grupie sportowców przekroczenia górnego tolerowanego poziomu spożycia omawianego składnika mineralnego (tab. 2).

Podobne spożycie miedzi z CRP w porównaniu do spożycia przez badanych w niniejszej pracy kajakarzy stwierdzono u mężczyzn uprawiających fitness [Seidler i wsp. 2010].

Wyższą podaż miedzi w odniesieniu do diet badanych kajakarek i kajakarzy wykazano w CRP łyżwiarek i łyżwiarzy szybkich [Kozłowska i Jurkitewicz 2009] oraz lekkoatletek i lekkoatletów [Lebiedzińska i wsp. 2008].

W CRP kobiet uprawiających fitness [Seidler i wsp. 2010] odnotowano niższą podaż miedzi w odniesieniu do diet badanych kajakarek. Racje pokarmowe mężczyzn uprawiających piłkę nożną [Chalcarz i wsp. 2008a] oraz kolarstwo górskie [Chalcarz i wsp. 2008b] charakteryzowały się niższą podażą miedzi w porównaniu do diet badanych kajakarzy.

Tabela 2. Spożycie żelaza, cynku oraz miedzi przez kajakarki i kajakarzy

Płeć	Okres badawczy	Rodzaj diety	Średnia±SD [mg]	Norma średnioważona [mg/os./24 h]	Realizacja normy±SD [%]	Odsetek osób pokrywających normę			
Fe						<EAR			
K	OT	DK	8,92±3,43	8	112±42,9	50			
		DK+S	9,92±3,95		124±49,4	38			
	OS	DK	9,43±4,96		118±62,0	50			
		DK+S	10,9±5,55		137±69,4	38			
	Ogółem	DK	9,18±4,23		115±52,8	50			
		DK+S	10,4±4,79		130±59,9	25			
M	OT	DK	12,1±4,11	7,17	172±64,4	0			
		DK+S	16,8±15,2**		242±230	0			
	OS	DK	11,9±4,08		171±70,7	0			
		DK+S	25,8±25,6*/**		370±396	0			
	Ogółem	DK	12,0±4,08		171±67,4	0			
		DK+S	21,3±21,5**		306±330	0			
	Zn						<EAR	>UL	
	K	OT	DK		8,30±3,18	7,11	117±45,2	25	0
DK+S			9,23±4,02	130±56,3	25		0		
OS		DK	9,12±4,11	129±60,0	38		0		
		DK+S	10,5±5,07	149±73,7	25		0		
Ogółem		DK	8,71±3,66	123±52,9	38		0		
		DK+S	9,88±4,57	139±65,5	25		0		
M	OT	DK	12,3±3,62	8,87	139±41,3	0	0		
		DK+S	12,9±4,05		145±45,5	0	0		
	OS	DK	12,3±3,39		139±37,1	3	0		
		DK+S	13,6±3,63**		153±40,9	0	0		
	Ogółem	DK	12,3±3,50		139±39,1	0	0		
		DK+S	13,2±3,85**		149±43,3	0	0		
Cu						<EAR	>UL		
K	OT	DK	1,03±0,50	0,70	147±70,9	25	0		
		DK+S	1,14±0,62		163±88,3	25	0		
	OS	DK	1,14±0,61		163±87,8	25	0		
		DK+S	1,31±0,66		187±94,6	25	0		
	Ogółem	DK	1,08±0,56		155±79,4	25	0		
		DK+S	1,22±0,64		175±91,4	25	0		
M	OT	DK	1,22±0,37	0,70	174±52,2	0	0		
		DK+S	1,29±0,41		184±59,1	0	0		
	OS	DK	1,17±0,35		167±49,7	0	0		
		DK+S	1,31±0,38**		188±53,7	0	0		
	Ogółem	DK	1,19±0,36		171±51,0	0	0		
		DK+S	1,30±0,39**		186±56,4	0	0		

* - różnica statystycznie istotna w realizacji normy pomiędzy danymi dietami w okresie treningowym a startowym w obrębie danej płci, ** - różnica statystycznie istotna w realizacji normy pomiędzy dietą konwencjonalną a dietą konwencjonalną uwzględniającą suplementy i środki spożywcze specjalnego przeznaczenia żywieniowego w danym okresie badawczym/ogółem, w obrębie danej płci, K – kobiety, M – mężczyźni, OT – okres treningowy (jesiennie-zimowy), OS – okres startowy (wiosennie-letni), DK – dieta konwencjonalna, DK+S – dieta konwencjonalna uwzględniająca suplementy i środki specjalnego przeznaczenia żywieniowego, SD – odchylenie standardowe, EAR – średnie zapotrzebowanie grupy (Fe: K ≥ 16-30 r.ż. - 8 mg, M ≥ 19-30 r.ż. - 6 mg, M 16-18 r.ż. - 8 mg; Zn: K ≥ 19-30 r.ż. - 6,8 mg, K 16-18 r.ż. - 7,3 mg, M ≥ 19-30 r.ż. - 9,4 mg, M 16-18 r.ż. - 8,5 mg; Cu: dla całej grupy 0,7 mg), UL – górny tolerowany poziom spożycia (Zn: ≥ 18 lat - 25 mg, 15-17 lat - 22 mg; Cu: ≥ 18 lat - 5 mg, 15-17 lat - 4 mg)

Podsumowanie

- Zastosowanie suplementacji i środków specjalnego przeznaczenia żywieniowego nie zapobiegało niedostatecznemu pobraniu wapnia wśród 63% kajakarek i 48% kajakarzy, a magnezu w przypadku 38% zawodniczek i 45% zawodników.
- Wśród 25% kajakarek wykazano niedostateczne spożycie żelaza, cynku oraz miedzi z dietami uwzględniającymi suplementy i środki specjalnego przeznaczenia żywieniowego.
- Różnice statystycznie istotne ($p < 0,05$) wykazano pomiędzy pobraniem przez kajakarzy wapnia, żelaza, cynku oraz miedzi z dietą konwencjonalną a pobraniem z dietą uwzględniającą suplementy i środki specjalnego przeznaczenia żywieniowego.
- Wyniki przeprowadzonych badań wskazują na potrzebę monitorowania i dokonywania bieżącej korekty sposobu żywienia kajakarek i kajakarzy słalomistów.

Literatura

1. Abood D.A., Black D.R., Birnbaum R.D., *Nutrition Edukation Intervention for College Female Athletes*, Journal of Nutrition Education Behavior 2004, 36, 135-139.
2. Abreu de Almeida T., Abreu Soares E., *Nutritional and anthropometric profile of adolescent volleyball athletes*. Revista Brasileira de Medicina do Esporte 2003, 9(4), 198-203.
3. Barszowski P., *Wspomaganie procesu treningowego*, Wyd. Centralny Ośrodek Sportu, Warszawa 2000.
4. Chalcarz W., Merkiel S., Mikołajczak A., Nowak E., *Spożycie witamin i składników mineralnych przez piłkarzy w przeddzień meczu, w dniu meczu i po meczu*, Bromatologia i Chemia Toksykologiczna 2008a, 41(3), 681-685.
5. Chalcarz W., Merkiel S., Tyma M., *Spożycie witamin i składników mineralnych przez kolarzy górskich*, Bromatologia i Chemia Toksykologiczna 2008b, 41 (3), 686-689.
6. Czapska D., Ostrowska D., Stefańska E., Karczewski J., *Ocena zawartości wybranych składników mineralnych w całodziennej racji pokarmowej studentów uprawiających sport*, Żywnienie Człowieka i Metabolizm 2005, 32 (supl. 1, cz. 1), 668-671.
7. Eksterowicz J., Napierała M., *Ocena sposobu żywienia studentek z kierunku wychowania fizycznego podczas letniego obozu sportowego*, Rocznik PZH 2008, 59(1), 75-82.
8. Gacek M., *Ocena poziomu spożycia składników odżywczych w grupie młodych kobiet rekreacyjnie uprawiających fitness*, Rocznik PZH 2009, 60(4), 375-379.
9. Gacek M., *Ocena poziomu spożycia wybranych składników odżywczych w grupie hokeistów w okresie przygotowawczym*, Rocznik PZH 2010, 61(3), 259-263.
10. Gaździńska A., *Suplementacja składnikami mineralnymi, witaminami i napojami energetyzującymi diety kandydatów do Wyższej Szkoły Oficerskiej Sił Powietrznych*, Żywnienie Człowieka i Metabolizm 2007, 34(1/2), 84-90.
11. Jarosz M., Bułhak-Jachymczyk B. (red.), *Normy żywienia człowieka. Podstawy prewencji otyłości i chorób niezakaźnych*, Wyd. Lekarskie PZWL, Warszawa 2008.
12. Kasprzak Z., *Ocena wartości energetycznej i odżywczej diety oraz wydatku energetycznego grupy młodzieży uprawiającej piłkę nożną*, Żywnienie Człowieka i Metabolizm 2009, 36(2), 272-278.
13. Kostrzewa-Tarnowska A., Człapka-Matysik M., Bajerska J., *Zaburzenia odżywiania u pływaków synchronicznych*, Żywnienie Człowieka i Metabolizm 2009, 36(2), 331-336.

14. Kozłowska L., Jurkiewicz M., *Ocena sposobu żywienia członków kadry narodowej łyżwiarzy szybkich z uwzględnieniem stosowanych suplementów i środków spożywczych specjalnego przeznaczenia żywieniowego*, Żywnie Człowieka i Metabolizm 2009, 36(2).
15. Lebidzińska A., Czaja J., Żbikowski R., Szefer P., *Ocena sposobu żywienia kadry narodowej polskich lekkoatletów, porównanie wyników badań analitycznych z oceną teoretyczną. Cz. II. Wybrane makro- i mikroelementy*, Bromatologia i Chemia Toksykologiczna 2008, 41(3), 428-432.
16. Mullinix M.C., Jonnalagadda S.S., Rosenbloom C.A., Thompson W.R., Kicklighter, J.R., *Dietary intake of female U.S. soccer players*, Nutrition Research 2003, 23, 585-593.
17. Noda Y., Iide K., Reika M., Kishida R., Nagata A., Hirakawa F., Yoshimura Y., Imamura H., *Nutrient intake and blood iron status of male collegiate soccer players*, Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition 2009, 18(3), 344-350.
18. Seidler T., Mierzwa M., Szczuko M., *Ocena sposobu żywienia osób uprawiających fitness – krótkie doniesienie*, Medycyna Sportowa 2010, 4(6), 26, 211-218.
19. Szczepańska B., Malczewska-Lenczowska J., *Porównanie zawartości energii i wybranych składników mineralnych w całodziennych racjach pokarmowych stosowanych w żywieniu polskich sportowców w latach 1998 i 2003*, Żywnie Człowieka i Metabolizm 2005, 32, 673-678.
20. Szczepańska B., Siwińska D., Raczyńska B., Raczyński G., *Zawartość wapnia i fosforu w całodziennych racjach pokarmowych sportowców dyscyplin wytrzymałościowych*, Wychowanie Fizyczne i Sport 1998, 4, 51-54.
21. Szukała D., *Odnowa żywieniowa po wysiłku. Cz. 4. Składniki mineralne*, Medycyna Sportowa 2001, 2, 74-76.
22. Tomaszewski W., *Składniki mineralne*, Medycyna Sportowa 1999, 7, 31-32.
23. Zalcman I., Vidigal Guarita H., Ridel Juzwiak C., Aparecida Crispim C., Moreira Antunes H.K., Edwards B., Tufik S., Mello M.T., *Nutritional status of adventure racers*, Nutrition 2007, 23, 404-411.
24. Ziegler P.J., Jonnalagadda S.S., *Nutrient intake is inadequate for US national synchronized skaters*, Nutrition Research 2006, 26, 313-317.
25. Ziegler P.J., Jonnalagadda S.S., Lawrence C., *Dietary intake of elite figure skating dancers*, Nutrition Research 2001, 21, 983-992.
26. Ziemiański S., Niedźwiecka-Kącikowa D., *Zalecenia żywieniowe i zdrowotne dla sportowców*, Wyd. Centralny Ośrodek Sportu, Warszawa 1997.

Abstract

The aim of this study was to assess the average daily intake of selected minerals for slalom canoeists coming from average daily diets, food supplements and food products for particular nutritional uses.

The study involved 37 athletes (8 women and 29 men). 24-h dietary recalls were collected in 2009, during the training and the start period, for 3 selected days per week. During the interviews sportsmen were asked about intake of dietary supplements, and food products for particular nutritional uses. Average daily intake of sodium, calcium, magnesium, iron, zinc and copper were calculated using Diet 4.0 software.

Intake of sodium, calcium, magnesium, iron, zinc and copper with average daily diets by women met requirements in 181, 76, 103, 115, 123 and 155% respectively. Intake of sodium, calcium, magnesium, iron, zinc and copper by men with daily diets met requirements in 316, 95, 98, 171, 138 and 171% of respectively. Intake of dietary, supplements and foodstuffs for particular nutritional use, by women and men, resulted in higher intake of assessed minerals with exception of sodium.

Proved too low intake of calcium and magnesium, a high percentage of respondents justifies the need to monitor and make ongoing adjustments of diet slalom canoeists.

WPLYW WARUNKÓW FERMENTACJI NA SKŁAD CHEMICZNY ODFERMENTOWANYCH ZACIERÓW Z MĄKI KUKURYDZIANEJ

Paweł Sroka, Tomasz Tarko, Aleksandra Duda-Chodak, Piotr Błasiak

*Katedra Technologii Fermentacji i Mikrobiologii Technicznej,
Wydział Technologii Żywności, Uniwersytet Rolniczy w Krakowie
e-mail: psroka@ar.krakow.pl*

Streszczenie

Celem pracy było określenie wpływu wybranych parametrów (temperatura, pH i szczep drożdży) na wydajność biosyntezy etanolu z kukurydzy. Przeprowadzono doświadczenia w temperaturze 33°C i 37°C, pH 4,5 i 6,0, stosując drożdże szczepu Fermiol S.C. n° DY 7221 i Fermentis Ethanol Red TM. Zawiesinę mąki kukurydzianej w wodzie kleikowano w autoklawie, upłynniano, scukrzano i rozcieńczano do 20°Błg. W odfermentowanym zacierze oznaczono wybrane parametry (kwasowość ogólna, ekstrakt rzeczywisty, zawartość alkoholu etylowego i cukrów) oraz obliczono wydajność etanolu. Destylat scharakteryzowano pod względem jakościowym (kwasowość, estry, metanol, aldehydy, fuzle).

Na podstawie uzyskanych wyników stwierdzono, że temperatura, pH oraz szczep drożdży istotnie wpłynęły na wydajność procesu i jakość otrzymanego destylatu. Odfermentowane zacierzy charakteryzowały się zróżnicowaną zawartością etanolu (6,0–10,3% obj.). Najlepszą wydajność osiągnięto w zacierach o pH 4,5 fermentowanych w temperaturze 33°C, stosując drożdże Fermiol (81%) i Fermentis (78%).

Słowa kluczowe: spirytus, fermentacja, zacier kukurydziany

Wprowadzenie

Głównymi surowcami do produkcji spirytusu są kukurydza, żyto i inne zboża, ziemniaki, melasa buraczana oraz odpady przemysłu piekarniczego i ciastkarskiego. Kukurydza wśród trzech podstawowych skrobiowych surowców gorzelnicznych jest najwydajniejsza pod

względem syntezy etanolu oraz wykazuje dwukrotnie większe plony w porównaniu do innych zbóż, w szczególności na glebach słabych. Gorzelnictwo umożliwia zagospodarowanie ziarna zbóż gorszej jakości, a powstający odpadowy wywar jest łatwy do zagospodarowania [Michalski 2003]. Spirytus uzyskany z kukurydzy może zostać wykorzystany w przemyśle spożywczym oraz w innych branżach, z których największe znaczenie ma produkcja paliw płynnych. Zgodnie z dyrektywą 2003/30/WE [2003] na terenie Wspólnoty obowiązuje ustawy o obowiązek stosowania spirytusu etylowego w benzynie samochodowej.

Postęp w technologii produkcji spirytusu, nowe metody w przemyśle gorzelnicznym, różnorodność surowców skrobiowych oraz warunki ekonomiczne całego procesu mobilizują do opracowania najbardziej optymalnej technologii wytwarzania. Produkcję spirytusu surowego można podzielić na trzy główne fazy: przygotowanie zacieru, fermentację i odpęd powstałego etanolu. Podczas przygotowania zacieru skrobiowego rozdrobniony surowiec poddaje się upłynnieniu (w technologii klasycznej w parnikach lub kotłach ciśnieniowych), następnie przeprowadza się hydrolizę upłynnioną skrobi przy użyciu preparatów enzymatycznych [Bednarski i Rejs 2003]. Od wielu lat prowadzone są badania nad poprawą efektywności i wprowadzeniem do praktyki przemysłowej metody scukrzania skrobi według zasad technologii klasycznej, lecz z pominięciem energochłonnego procesu parowania surowca pod ciśnieniem [Stecka i wsp. 1996]. Szybkość fermentacji zależy istotnie od składu chemicznego zacieru oraz temperatury procesu. W gorzelnictwie fermentację etanolową prowadzi się w temperaturze od 33°C do 36°C. W czasie fermentacji etanolowej powstają duże ilości ciepła. Ograniczenie chłodzenia, powoduje podniesienie temperatury fermentującego zacieru, co wpływa bezpośrednio na kinetykę procesu [Roehr 2001]. Celem pracy było określenie wpływu parametrów fermentacji, w szczególności temperatury, na biosyntezę etanolu i innych ubocznych metabolitów drożdży.

Materiały i metody badań

Przygotowanie preparatów enzymatycznych

W przedstawionych doświadczeniach zastosowano dwa preparaty enzymatyczne firmy Novozymes A/S pod handlową nazwą Termamyl SC i SAN Extra L. Preparat Termamyl SC posłużył do upłynniania skleikowanej skrobi. Producent sugeruje zastosowanie preparatu w dawce 140 cm³ preparatu na 1000 kg skrobi, przy zapewnieniu

optymalnej temperatury procesu od 80 do 90°C. Drugi z preparatów, SAN Ekstra L służył do scukrzania upłynnionych zacierów. Producent zaleca dawkę 500-600 cm³ preparatu na 1000 kg skrobi, a optymalna temperatura dodawania enzymu do zacieru wynosi 65°C. Przed przystąpieniem do upłynniania i scukrzania skleikowanej skrobi dokonano rozcieńczeń handlowych preparatów enzymatycznych. W przeprowadzonych doświadczeniach stosowano roztwory 1% (m/v) przypadku preparatu Termamyl S.C. i 2% (m/v) SAN Extra L.

Przygotowanie drożdży

Do zaszczepienia zacierów kukurydzianych wykorzystano dwa szczepy komercyjnych drożdży gorzelniczych *Saccharomyces cerevisiae*: Fermentis Ethanol Red TM i Fermiol S.C. n° DY 7221 produkcji DSM Food Specialites. Przed dodaniem do zacierów, odważoną ilość drożdży uaktywniano przez 30 min w niewielkiej ilości sterylnej wody.

Przygotowanie zacierów kukurydzianych

Surowcem skrobiowym zastosowanym w doświadczeniu był ogólnodostępny produkt handlowy mąki kukurydzianej firmy Kupiec Sp. z o.o. Według danych producenta produkt jest otrzymywany z oczyszczonego ziarna kukurydzy. Skład produktu: węglowodany 84%, tłuszcz 2%, białko 7%. Wielkość ziaren mąki wynosiła nie więcej, niż 0,2 mm. Przed przystąpieniem do przygotowania zacierów mąkę kukurydzianą przesiano.

Do trzech płaskodennych kolb stożkowych odważono po 350 g mąki kukurydzianej. Następnie do każdej kolby dolano 1000 cm³ wody wodociągowej oraz 0,5 cm³ rozcieńczonego preparatu enzymatycznego Termamyl SC. Całość wymieszano, poddano autoklawowaniu w temperaturze 121°C przez 20 minut. Po ukończeniu procesu kleikowania, zacier ochłodzono do temperatury 90°C i dodano 5 cm³ roztworu preparatu Termamyl S.C. Mieszaninę upłynniano przez 15 minut, utrzymując temperaturę na niezmiennym poziomie. Próby ochłodzono do temperatury optymalnej dla scukrzania (65°C) i dodano 15 cm³ rozcieńczonego preparatu enzymatycznego SAN Extra L. Proces scukrzania prowadzono do uzyskania negatywnej próby jodowej. Scukrzony zacier rozcieńczono wodą do wartości ekstraktu 20°Błg oraz zakwaszono do pH 4,5 lub 6,0 poprzez dodatek kwasu siarkowego(VI). Tak otrzymaną mieszaninę odmierzone do sześciu butli fermentacyjnych po 500 cm³ i pasteryzowano w temperaturze 107°C przez 8 minut. W następnej kolejności ochłodzono zacier do temperatury 40°C i zaszczepiono dwoma typami drożdży w ilości 1 g/dm³. Butle

zabezpieczono rurkami z gliceryną, zważono i prowadzono fermentację w temperaturze 33°C lub 37°C, w trzech równoległych powtórzeniach zarówno do oznaczeń zacieru odfermentowanego, jak i do oceny uzyskanego spirytusu surowego. W trakcie procesu kontrolowano masę nastawów. Doświadczenie przerywano, gdy zmiana masy zacieru była mniejsza niż 1 g/dobę (ok. 96 h). Po zakończeniu fermentacji jedną partię poddano ocenie chemicznej. Oznaczono pH, zawartość ekstraktu rzeczywistego, cukrów ogółem, cukrów redukujących i sacharozy, ekstraktu bezcukrowego, stężenie etanolu oraz kwasowość ogólną. Pozostałą część zacieru odfermentowanego poddano odpędowi w laboratoryjnym zestawie do destylacji prostej. Z każdej próby oddestylowano trzecią część objętości początkowej nastawu. Otrzymano 165 cm³ spirytusu surowego. W destylacie oznaczono zawartość etanolu [PN-A-79529-4:2005], kwasów [PN-A-79528-7:2001], estrów [PN-A-79528-8:2000], aldehydów [PN-A-79528-4:2000], metanolu [PN-A-79528-6:2000] oraz alkoholi fuzlowych [PN-A-79528-5:2000].

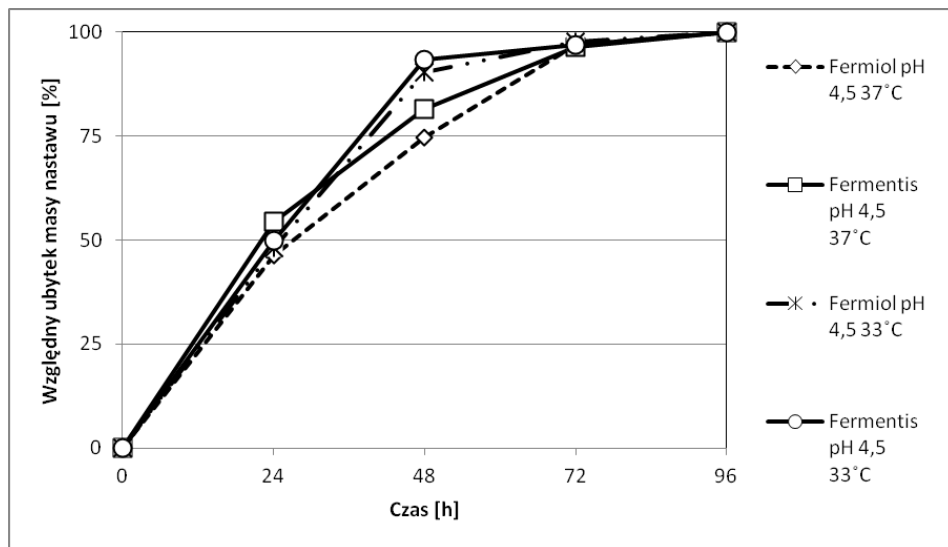
Dla każdego oznaczanego parametru obliczono wartość średnią oraz odchylenie standardowe. Na podstawie otrzymanych danych przeprowadzono analizę statystyczną przy pomocy oprogramowania *Statistica wersja 8* firmy StatSoft, która objęła analizę wariancji ANOVA dla układów jednoczynnikowych oraz test różnicowania między średnimi Duncana.

Wyniki i dyskusja

Charakterystyka procesu fermentacji

Fermentujące nastawy były ważone podczas fermentacji. Ubytek masy prób był proporcjonalny do ilości wydzielonego dwutlenku węgla. Proces prowadzono do całkowitego zakończenia fermentacji cukrów, czyli do zaniku ubytku masy nastawów (98 h). Analiza kinetyki fermentacji wykazała, że w ciągu 48 h fermentacji drożdże metabolizują około 80 - 90% cukrów (rys. 1, 2). Szybkość procesu w pierwszej dobie była większa w zacierach fermentowanych w temperaturze 37°C. Natomiast w drugiej dobie, następowało przyspieszenie fermentacji w próbach inkubowanych w 33°C. Końcowy efekt, określony przez całkowity ubytek masy zacieru, był bardziej korzystny dla zacierów fermentowanych w temperaturze 33°C (rys. 3). Warto zauważyć, że podobną zależność stwierdzono niezależnie od początkowego pH zacieru. Jednak zacierzy o niższej kwasowości i wyższym pH (6,0) zaczynają fermentować szybciej (rys. 2). Wyższa temperatura (37°C) w tym wypadku niekorzystnie wpłynęła na komórki drożdży. Zostało to

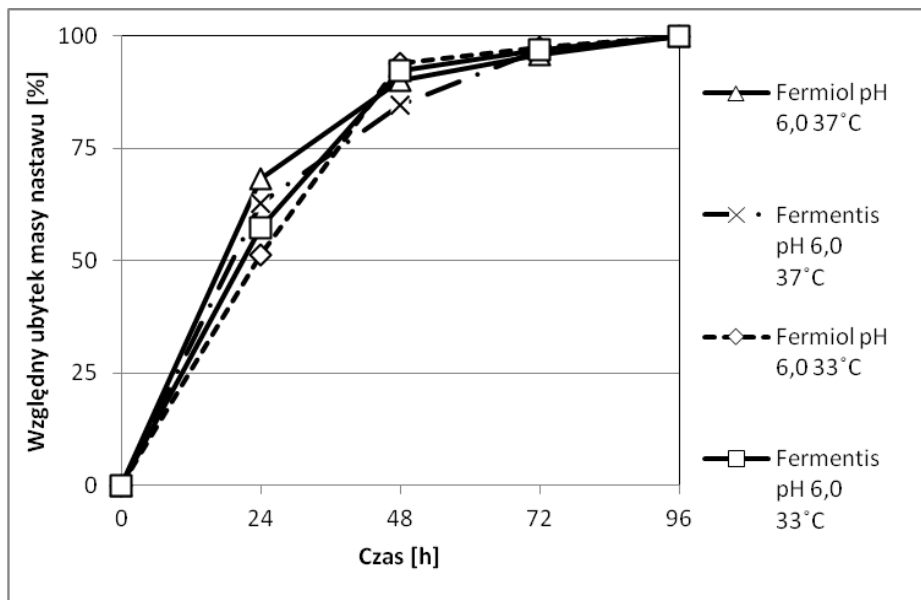
prawdopodobnie spowodowane większą toksycznością alkoholu etylowego, która rośnie wraz z temperaturą (rys. 3). Zmiany masy nastawów były skorelowane z końcową zawartością alkoholu etylowego w zacierach odfermentowanych (tab. 1).



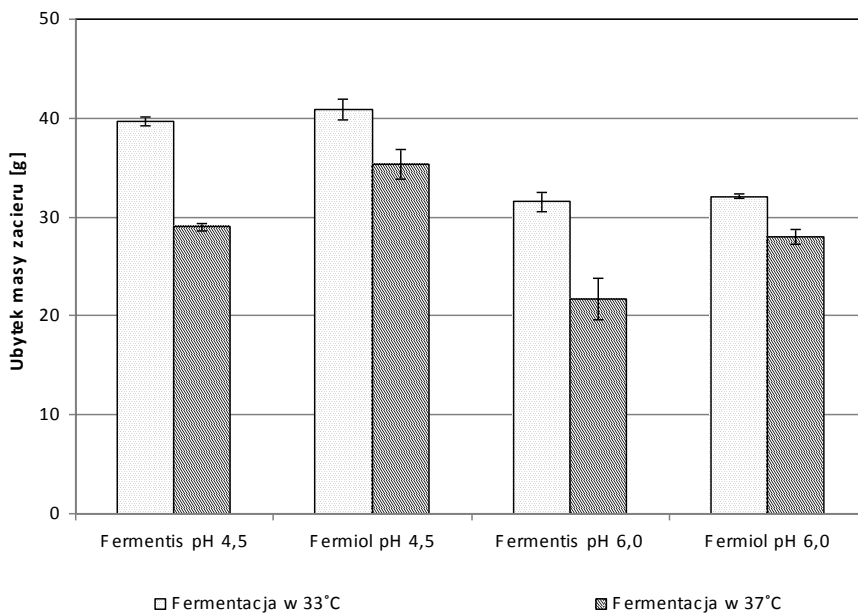
Rys. 1. Wpływ szczepu drożdży i temperatury fermentacji na kinetykę fermentacji zacierów

Wartość pH nastawu również miała istotny wpływ na przebieg procesu. Przy pH 4,5 fermentacja przebiegała zdecydowanie wydajniej, niż w pH 6,0 (rys. 3). Największy ubytek masy wykazano w próbach o pH 4,5, fermentowanych w temperaturze 33°C (rys. 3). Rodzaj zastosowanego szczepu nie wpłynął istotnie na kinetykę procesu w temperaturze 33°C, jednak w przypadku podwyższenia temperatury do 37°C znacznie lepszym okazał się szczep Fermiol. Drożdże gorzelnicze są dobrze przystosowane do stosunkowo wysokich temperatur. Z przeprowadzonych doświadczeń wynika jednak, że temperatura 37°C powoduje zmniejszenie wydajności fermentacji (tab. 1). Podczas fermentacji wydzielane są stosunkowo duże ilości ciepła, które może powodować wzrost temperatury i negatywnie wpływać na przebieg procesu. Wcześniejsze badania donoszą, że dodatek ekstraktu drożdżowego do nastawów istotnie zwiększa tolerancję komórek drożdżowych na niekorzystne warunki, jak obecność etanolu, czy wysoka temperatura [Stewart i wsp. 1988]. Obróbka zacieru za pomocą preparatu enzymatycznego o aktywności proteazy powoduje hydrolizę białek i zwiększa stężenie wolnego azotu, co przyczynia się do

poprawienia odżywiecie drożdży i w konsekwencji znacznie zwiększa wykorzystanie cukrów i skraca się czas fermentacji [Kapela i Solarek 2004].



Rys. 2. Wpływ szczepu drożdży i temperatury na kinetykę fermentacji zacierów



Rys. 3. Średni ubytek masy zacierów podczas fermentacji w różnych wariantach technologicznych

Charakterystyka zacierów odfermentowanych

Odfermentowane nastawy różniły się istotnie stężeniem alkoholu etylowego (tab. 1). Najwyższą wydajność fermentacji, która wynosiła 81%, uzyskano dla prób inkubowanych w temperaturze 33°C i pH 4,5 stosując drożdże Fermiol (tab. 1). Zbliżone wyniki osiągnięto w tych samych warunkach stosując drożdże Fermentis (78%). W pozostałych doświadczeniach wartość ta wynosiła w przedziale od 47% do 67%. Stężenie początkowe cukrów w zacierach kształtowało się na poziomie 20°B_{lg}, co potencjalnie umożliwia uzyskanie średnio 12% obj. etanolu [Li-Sen i wsp. 2007; Bai i wsp. 2008]. W przeprowadzonych doświadczeniach uzyskano maksymalne stężenie alkoholu etylowego wynoszące 10,3% obj. Natomiast minimalne, uzyskane przy udziale drożdży Fermentis w temperaturze 37°C i początkowym pH 6,0, wynosiło tylko 6,0% obj. (tab. 1) Stanowiło to nie więcej niż 46,7% wydajności teoretycznej. Świadczy to o istotnym toksycznym wpływie metabolitów działających na komórki drożdży w podwyższonej temperaturze.

Wydajność fermentacji była wyższa we wszystkich wariantach doświadczeń o niższym pH (4,5) w porównaniu do nastawów o pH 6,0, niezależnie od temperatury i szczepu drożdży. Warto zauważyć, że niższe pH nastawów (tab. 1) istotnie wpływa także na końcową zawartość etanolu. Optimum pH nastawów zawiera się między 4,0 – 5,0. Powyżej tej granicy niepożądane mikroorganizmy mogą rozmnażać się dużo szybciej niż drożdże [Kadar i wsp. 2007]. Środowisko kwaśne zmniejsza ryzyko zakażeń pleśniami, drożdżami dzikimi, czy bakteriami, które stanowią największe zagrożenie dla procesu. W czasie fermentacji obniża się wartość pH średnio o dwie jednostki (tab 1.).

W odfermentowanych zacierach oznaczono także zawartość ekstraktu rzeczywistego i bezcukrowego (tab. 1). W jego skład wchodzi m.in. nieodfermentowane węglowodany, gliceryna, nietłote kwasy, związki azotowe, fenolowe i substancje mineralne. Najniższa ilość cukrów w odfermentowanym zacierze znajduje się w próbach o pH 4,5, odfermentowanych w temperaturze 33°C z udziałem drożdży Fermiol (tab. 1). Wysoka wartość cukrów po inwersji świadczy o tym, że nie wszystkie węglowodany (w tym też skrobia i dekstryny) uległy konwersji w cukry dostępne dla drożdży.

Tabela 1. Charakterystyka zacierów po fermentacji

Parametry nastawu		Drożdże	Etanol [% obj.]	pH	Kwasowość ogólna [kwas jabłkowy g/dm ³]	Ekstrakt rzeczywisty	Ekstrakt beczukrowy	Cukry przed inwersją	Cukry po inwersji	Sacharoza	Wydajność fermentacji [%]
pH	Temperatura [°C]										
4,5	33	Fermiol	10,3±0,2	3,49±0,05	9,1±0,5	6,2±0,2	3,1±0,1	1,2±0,1	3,2±0,1	2,0±0,0	81±2
		Fermentis	9,9±0,3	3,47±0,06	8,7±0,4	6,3±0,1	3,1±0,1	1,2±0,1	3,3±0,1	2,0±0,0	78±2
6,0	33	Fermiol	8,3±0,2	3,98±0,17	6,6±1,1	6,6±0,1	2,8±0,2	1,6±0,1	3,9±0,2	2,1±0,0	65±2
		Fermentis	8,6±0,3	4,02±0,17	6,1±0,7	6,8±0,2	2,7±0,5	1,8±0,1	3,9±0,1	2,0±0,0	67±3
4,5	37	Fermiol	8,8±0,1	3,42±0,03	8,5±1,0	7,1±0,1	3,3±0,2	1,9±0,1	3,9±0,1	1,9±0,0	69±1
		Fermentis	7,8±0,2	3,50±0,05	7,9±0,3	7,7±0,2	3,8±0,2	2,0±0,1	4,1±0,1	2,0±0,1	60±2
6,0	37	Fermiol	7,1±0,1	4,19±0,05	5,0±0,7	7,7±0,3	3,5±0,2	2,2±0,1	4,3±0,1	2,0±0,0	55±1
		Fermentis	6,0±0,2	4,19±0,04	4,4±0,6	8,5±0,3	3,7±0,1	2,6±0,2	5,0±0,1	2,2±0,0	47±2

Wartości średnie ± odchylenie standardowe

Tabela 2. Charakterystyka spirytusów surowych otrzymanych podczas fermentacji

Parametry nastawu		Drożdże	Etanol [% obj.]	Aldehydy [etanal g/dm ³ 100% spirytusu]	Kwasowość [kwas octowy g/dm ³ 100% spirytusu]	Metanol [g/100 cm ³ 100% spirytusu]	Fuzle [g/dm ³ 100% spirytusu]	Estry [octan etylu g/dm ³ 100% spirytusu]
pH	Temperatura [°C]							
4,5	33	Fermiol	30,2 ±0,6	0,033±0,003	0,028±0,002	0,017±0,002	3,71±0,04	0,144±0,003
		Fermentis	29,0±0,8	0,037±0,002	0,025±0,002	0,015±0,001	3,83±0,03	0,137±0,008
6,0	33	Fermiol	24,5 ±0,8	0,039±0,002	0,038±0,003	0,024±0,002	3,38±0,05	0,204±0,009
		Fermentis	25,2 ±0,9	0,044±0,002	0,032±0,007	0,013±0,001	3,54±0,02	0,223±0,024
4,5	37	Fermiol	25,5 ±0,4	0,039±0,001	0,026±0,006	0,020±0,002	2,85±0,06	0,143±0,006
		Fermentis	22,6 ±0,6	0,044±0,004	0,026±0,004	0,014±0,002	3,13±0,03	0,111±0,008
6,0	37	Fermiol	22,6 ±0,6	0,044±0,004	0,042±0,004	0,014±0,002	3,13±0,03	0,111±0,008
		Fermentis	17,5±0,5	0,063±0,002	0,039±0,004	0,011±0,002	2,93±0,04	0,112±0,015

Wartości średnie ± odchylenie standardowe

Charakterystyka spirytusów surowych

Odfementowane nastawy poddano odpędowi w laboratoryjnym zestawie do destylacji prostej. Uzyskano destylaty o zróżnicowanej mocy od 17,5 do 30,2% obj. (tab. 2). Najmniejsze stężenie etanolu otrzymano po destylacji prostej zacieru o początkowym pH 6,0, odfementowanego w temperaturze 37°C za pomocą drożdży Fermentis (tab. 2), a największe zmierzono dla nastawów o pH 4,5 odfementowanych w temperaturze 33°C z udziałem komórek Fermiol (tab. 2). Polska Norma [PN-A-79523:2002] dla destylatu rolniczego zbożowego określa moc spirytusu w temperaturze 20°C na poziomie nie mniejszym niż 88% obj. Uzyskane wyniki odbiegają od normy, ze względu na dużą objętość odpędu, w stosunku do początkowej ilości nastawu. Aby uzyskać destylat o wyższej zawartości etanolu należy poddać otrzymane roztwory destylacji korekcyjnej.

Średnia zawartość aldehydów, w przeliczeniu na aldehyd octowy, w analizowanym spirytusie surowym mieściła się w granicach od 0,03 do 0,06 g/dm³ 100% spirytusu. Najmniejsza ilość tych związków znajdowała się w destylatach najwyżej odfementowanych, z zacierów o pH 4,5, fermentowanych w 33°C za pomocą drożdży Fermiol. Podwyższenie temperatury istotnie wpływa na zwiększenie stężenia związków karbonylowych w destylacie. W oddestylowanych próbach pH 6,0/37°C fermentowanych za pomocą drożdży Fermentis było największe stężenie aldehydów (tab. 2). Różnice w zawartości związków karbonylowych pomiędzy poszczególnymi wariantami eksperymentów wynosiły powyżej 100%. Norma [PN-A-79523:2002] dopuszcza zawartość związków karbonylowych w przeliczeniu na aldehyd octowy na poziomie 0,1 g/dm³ 100% spirytusu. Zjawisko to może być spowodowane ograniczeniem redukcji etanolu do etanolu przez dehydrogenazę alkoholową. Najwięcej aldehydów powstaje w początkowym okresie trwania fermentacji, gdy produkowana jest największa ilość alkoholu etylowego [Czupryński i wsp. 1997]. W ciągu następnych godzin procesu stężenie tych związków sukcesywnie maleje, co jest bezpośrednio związane ze zmniejszeniem produkcji etanolu.

Średnia kwasowość uzyskanych destylatów mieściła się w granicach od 0,025 do 0,042 g/dm³ w przeliczeniu na 100% spirytus (tab. 2). Najniższą wartość stwierdzono w próbce o pH 4,5, fermentowanej w temperaturze 33°C z udziałem drożdży Fermentis, natomiast najwyższą, dla doświadczenia pH 6,0/37°C, z udziałem drożdży Fermiol. Zawartość kwasów w przeliczeniu na kwas octowy była mniejsza od wartości

0,08 g/dm³ w przeliczeniu na spirytus 100%, którą dopuszcza Polska Norma [PN-A-79523:2002].

Metanol w otrzymanych destylatach występował w niewielkich ilościach, nieprzekraczających wartości dopuszczalnych w Polskiej Normie i jego zawartość wynosiła od 0,01 do 0,02 g/100 cm³ 100% spirytusu (tab. 2). Fuzle, w przeliczeniu na alkohol izobutylovowy, występowały w ilości od 2,82 do 3,83 g/dm³. Najmniej tych substancji znajdowało się w próbie oddestylowanej z zacieru pH 6,0/37°C fermentowanego przy udziale drożdży Fermiol, a najwięcej w destylacie otrzymanym z zacieru o pH 4,5/33°C zaszczepionego komórkami Fermentis (tab. 2). W temperaturze 33°C powstawało więcej wyższych alkoholi. Mogło to mieć bezpośredni związek z ilością wyprodukowanego alkoholu etylowego. W niższej temperaturze powstało mniej etanolu, prawdopodobnie dlatego też drożdże tworzą stosunkowo mniej fuzli. Ich ilość również można zmniejszyć suplementując nastawy za pomocą nieorganicznych związków azotowych [Murawski 1985; Kłowski i wsp. 2003].

Zawartość estrów, w przeliczeniu na octan etylu, oznaczona w badanych próbach destylatów zawierała się od 0,11 do 0,22 g/dm³ 100% spirytusu (tab. 2). Stwierdzono, że na syntezę estrów istotnie wpływa pH nastawu i temperatura. Najmniejsza ilość tych związków występowała w próbach otrzymanych z zacieru o pH 4,5 fermentowanych w 37°C przez drożdże Fermentis (tab. 2). Największe stężenie uzyskano w spirytusie otrzymanym przy udziale tego samego szczepu drożdży w nastawach o pH 6,0, fermentowanych w temperaturze 33°C (tab. 2). Większość estrów powstaje podczas fermentacji burzliwej, po czym ich synteza ulega zmniejszeniu [Kłowski i wsp. 2003]. Zwiększenie temperatury fermentacji spowodowało obniżenie stężenia estrów. Prawdopodobnie część z nich ulatnia się z zacierów wraz z wydzielającym się dwutlenkiem węgla.

W opisanych doświadczeniach fermentacja przebiegała bez zakłóceń. Dzięki pasteryzacji prób przed rozpoczęciem procesu wyeliminowano możliwość zakażeń mikrobiologicznych pochodzących z surowców i stosowanych preparatów enzymatycznych. Jednak opisana obróbka cieplna prowadzi do denaturacji dodanych enzymów amylolitycznych, co może istotnie obniżyć wydajność syntezy etanolu. Otrzymane destylaty charakteryzowały się stosunkowo dobrą jakością, gdyż wszystkie kontrolowane parametry, poza stężeniem etanolu w destylatach laboratoryjnych, były zgodne z Polską Normą PN-A-79523:2002. W przeprowadzonych pracach doświadczalnych stwierdzono, że drożdże

Fermentis, lepiej sprawdzają się podczas fermentacji w podwyższonej temperaturze (37°C), ponieważ otrzymane z ich udziałem spirytusy surowe zawierały mniej ubocznych produktów, niż destylaty otrzymane przy udziale Fermiol.

Wnioski

- Temperatura, pH oraz rodzaj szczepu drożdży dodawanego do zacierów kukurydzianych istotnie wpłynęły na kinetykę i wydajność fermentacji oraz jakość otrzymanego destylatu.
- Niższa temperatura fermentacji (33°C) umożliwiła uzyskanie wyższego stopnia odfermentowania (średnio o ok. 20%) w porównaniu do temperatury 37°C.
- Wyższą wydajność biosyntezy etanolu stwierdzono dla zacierów zakwaszonych do pH 4,5.
- Wydłużenie czasu fermentacji ponad 72 h nie wpłynęło na istotne zwiększenie wydajności etanolu.
- Podwyższenie temperatury fermentacji zacierów kukurydzianych o pH 6,0 do 37°C spowodowało zwiększenie stężenia związków karbonylowych.

Literatura

1. Bai F.W., Anderson W.A., Moo-Young M., *Ethanol fermentation technologies from sugar and feedstocks*, Biotechnology Advances 2008, 26, 89-105.
2. Bednarski W., Reps A., *Biotechnologia żywności*, Warszawa 2003, Wydawnictwo Naukowo-Techniczne.
3. Czupryński B., Kłosowski G., Kotarska K., *Związki karbonylowe w spirytusie surowym*, Przemysł Fermentacyjny i Owocowo –Warzywny 1997, 4, 4-16.
4. *Dyrektywa 2003/30/WE Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 8 maja 2003 roku w sprawie wspierania użycia w transporcie biopaliw lub innych paliw odnawialnych*, Dziennik Urzędowy L 123, 17/05/2003 P. 0042-0046.
5. Kadar Z., Maltha S.F., Szengyel Z., Reczey K., De Laat W., *Ethanol fermentation of various pretreated and hydrolyzed substrates at low initial pH*, Applied Biochemistry and Biotechnology 2007, 136-140, 847-858.
6. Kapela T., Solarek L., *Enzymy Novozymes dla gorzelnictwa – nowoczesne preparaty scukrzające z grupy SAN[®] oraz enzymy pomocnicze*, Przemysł Fermentacyjny i Owocowo – Warzywny 2004, 5, 26-28.
7. Kłosowski G., Czupryński B., Kotarska K., Wolska M., *Charakterystyka zanieczyszczeń chemicznych obniżających jakość spirytusu surowego (2)*, Przemysł Fermentacyjny i Owocowo-Warzywny 2003, 9, 37-38.
8. Li-Sen W., Xiang-Yang G., Wei-Guo Z., *Improvement of ethanol yield from raw corn flour by *Rhizopus* sp.*, World Journal of Microbiology and Biotechnology 2007, 23, 461-465.
9. Michalski T., *Zawartość skrobi w ziarnie kukurydzy*, Przemysł Fermentacyjny i Owocowo – Warzywny 2003, 11, 19.
10. Murawski Z., *Dodatek amoniaku i wapna do zacierów a zawartość fuzli w spirytusie surowym*, Przemysł Fermentacyjny i Owocowo –Warzywny 1985, 9, 34-35.
11. PN-A-79523:2002, Polski Komitet Normalizacyjny, Polska Norma. Destylat Rolniczy.

12. PN-A-79528-4:2000, Polski Komitet Normalizacyjny, Polska Norma. Spirytus (alkohol etylowy). Metody badań. Oznaczanie zawartości aldehydów.
13. PN-A-79528-5:2000, Polski Komitet Normalizacyjny, Polska Norma. Spirytus (alkohol etylowy). Metody badań. Oznaczanie zawartości fuzli.
14. PN-A-79528-6:2000, Polski Komitet Normalizacyjny, Polska Norma. Spirytus (alkohol etylowy). Metody badań. Oznaczanie zawartości alkoholu metylowego.
15. PN-A-79528-7:2001, Polski Komitet Normalizacyjny, Polska Norma. Spirytus (alkohol etylowy). Metody badań. Badanie alkaliczności i oznaczanie kwasowości.
16. PN-A-79528-8:2000, Polski Komitet Normalizacyjny, Polska Norma. Spirytus (alkohol etylowy). Metody badań. Oznaczanie zawartości estrów.
17. PN-A-79529-4:2005, Polski Komitet Normalizacyjny, Polska Norma. Napoje spirytusowe i spirytus butelkowany. Metody badań. Oznaczanie gęstości i mocy.
18. Roehr M., *The biotechnology of ethanol: classical and future application*, Wiley-VCH 2001, Verlag GmbH, Weinheim.
19. Stecka M.K., Milewski J.A., Miecznikowski A.H., *Energooszczędna technologia produkcji spirytusu surowego*, Przemysł Fermentacyjny i Owocowo –Warzywny 1996, 10, 15-18.
20. Stewart G., D'Amore T., Panchal C., Russell I., *Factors that influence the ethanol tolerance of brewer's yeast strains during high gravity wort fermentations*, The Master Brewers Association of the Americas 1988, 25, 47-53.

Abstract

The aim of this study was to determine the effect of selected parameters (temperature, pH and yeast strain) on the efficiency of biosynthesis of ethanol from corn mash. Experiments were conducted at 33°C and 37°C, pH 4.5 and 6.0, using a yeast strain Fermiol SC n° DY 7221 and Fermentis Ethanol Red TM. The slurry of corn flour in water was heated in an autoclave, liquefacted, saccharificated and diluted to 20°B_g. In the fermented mashes selected parameters (total acidity, extract real content of ethyl alcohol and sugars) were determined and ethanol yield was calculated. In the distillates acidity, esters, methanol, aldehydes, fusels were determined.

Based on the obtained results, it was found that temperature, pH and yeast strain significantly affected the efficiency of the fermentation kinetic and the quality of the distillate. Fermented mashes contained from 6.0 to 10.3% vol. ethanol. The best ethanol yields were achieved in fermented mashes at pH 4.5/ 33°C, using yeast Fermiol (80.7%) and Fermentis (77.7%).

WYKORZYSTANIE METOD KLASYCZNYCH I MOLEKULARNYCH DO IDENTYFIKACJI MIKROORGANIZMÓW WYSTĘPUJĄCYCH W PSUJĄCYCH SIĘ WINACH

Iwona Drożdż, Małgorzata Makarewicz, Paulina Rachwalska, Aleksandra Duda-Chodak

*Katedra Technologii Fermentacji i Mikrobiologii Technicznej
Wydział Technologii Żywności, Uniwersytet Rolniczy w Krakowie
e-mail: iwona.papla@op.pl*

Streszczenie

Wino jest produktem złożonych interakcji mikrobiologicznych i biochemicznych między różnymi gatunkami drożdży, bakterii i grzybów strzępkowych, dlatego niezmiernie ważne jest kontrolowanie jego potencjalnego mikrobiologicznego skażenia. Szybkie metody wykrywania i identyfikacji drobnoustrojów w winach mogą umożliwić rozpoznanie wady i uratować trunki przed zepsuciem na różnych etapach jego wytwarzania.

Celem pracy była izolacja i identyfikacja mikroorganizmów z psujących się win metodami klasycznymi oraz zbadanie wiarygodności tych metod za pomocą elektroforezy SDS-PAGE.

Z prób zepsutych win wyizolowano 17 szczepów drożdży, które analizowano metodami klasycznymi (m.in. analiza mikroskopowa, zdolność do zarodnikowania, testy fermentacyjne i asymilacyjne, i in.). Badane szczepy wykazały bardzo zbliżone cechy, ale dopiero za pomocą rozdziału całkowitego rozpuszczalnego białka komórkowego metodą SDS-PAGE udowodniono, że wszystkie należały do gatunku *Candida parapsilosis*. Wykorzystana technika elektroforetyczna pozwala na rozróżnienie szczepów w obrębie danego gatunku.

Metody klasyczne (pracochłonne i czasochłonne) nie są niestety wystarczające do jednoznacznej identyfikacji drobnoustrojów. Z kolei metody molekularne są kosztowne, ale szybkie i pozwalają precyzyjnie

zidentyfikować mikroorganizm. Jednak warto wykorzystać metody hodowlane do wstępnej identyfikacji drobnoustrojów, aby dokonać szczegółowej analizy tylko wybranych szczepów.

Słowa kluczowe: drożdże, identyfikacja drobnoustrojów, metoda SDS-PAGE, wino

Wprowadzenie

Wino jest produktem złożonych procesów mikrobiologicznych, w których biorą udział różne gatunki drożdży, bakterii i grzybów strzępkowych [Fleet 1993]. Ze względu na obecność tak różnych mikroorganizmów największe znaczenie odgrywa kontrola wzrostu drobnoustrojów obecnych na winogronach, w moszczu i w winie, a zwłaszcza drobnoustrojów, które mogą powodować psucie się wina [Rankine 1995]. Mikroorganizmy obecne w czasie winifikacji odgrywają ważną rolę w uzyskiwaniu produktu końcowego o wysokiej jakości, ale – co ważniejsze – mogą też spowodować jego zepsucie [Giraffa 2004]. Każdego roku na świecie odnotowuje się straty gospodarcze w przemyśle winiarskim spowodowane psuciem się wina, dlatego niezmiernie ważne jest stosowanie odpowiednich technik wczesnego wykrywania i identyfikacji niepożądanego mikroflory występującej w moszczu i winie.

Obecnie przeprowadzanych jest coraz więcej badań mających na celu identyfikację mikroflory owoców winorośli, moszczu i wina. Przyczynia się to do lepszego poznania jej roli w procesie fermentacji, kształtowania bukietu i biologicznego odkwaszania wina. Bada się mikroorganizmy zdolne do polepszenia jakości wina, szkodliwe drobnoustroje oraz ich metabolity, poszukując jednocześnie mikroflory, która hamuje ich rozwój. W osiągnięciu tego celu logicznym krokiem staje się skringing i identyfikacja mikroorganizmów występujących w psujących się winach.

Proces produkcji wina jest bardzo złożony. Kluczowe są dwa etapy fermentacji tj. alkoholowa i jabłkowo-mlekowa. Fermentacja alkoholowa prowadzona jest przez drożdże obecne w winie, moszczu gronowym i na powierzchni winogron [Lambrechts i Pretorius 2000]. W pierwszych stadiach fermentacji obserwuje się rozwój drożdży dzikich, do których należą gatunki z rodzajów *Zygosaccharomyces*, *Kloeckera* i *Candida*, a także – w mniejszym stopniu – *Hansenula*, *Pichia* i *Brettanomyces* [Fugelsang i Edwards 2007]. Proces ten ustępuje, gdy zwiększa się stężenie etanolu i dominują drożdże z rodzaju *Saccharomyces*, bardziej tolerancyjne na wyższe stężenia alkoholu i wydajniej przeprowadzające fermentację. Liczebność drożdży dzikich maleje ze względu na wzrastające stężenie etanolu produkowanego przez *Sacharomyces ssp.*

[Fleet i Heard 1993]. Różne gatunki drożdży, które rosną w trakcie fermentacji alkoholowej, przekształcają składniki moszczu w różne lotne i nielotne związki, mające wpływ na bukiet produktu finalnego [Rapp i Versini 1991; Romano i wsp. 2003]. Pod koniec fermentacji alkoholowej populacja bakterii kwasu mlekowego, w tym *Oenococcus oeni* (dawniej *Leuconostoc oenos*), *Lactobacillus spp.* i *Pediococcus spp.*, zaczyna się namnażać [Lafon-Lafourcade 1983; Bauer i Dicks 2004].

Fermentacja jabłkowo-mlekowa poprawia cechy organoleptyczne i mikrobiologiczną stabilność wina, ale głównym jej skutkiem jest odkwaszenie wina przez dekarboksylację dikarboksylogo kwasu L-jabłkowego do monokarboksylogo kwasu L-mlekowego i dwutlenku węgla [Davis i wsp. 1985]. Odkwaszenie prowadzi do zmniejszenia kwasowości i może powodować wzrost pH wina. Fermentacja jabłkowo-mlekowa wzmacnia owocowy charakter i zmniejsza roślinny aromat wina. Na skutek metabolicznej aktywności bakterii, które oddziałują na garbniki i antocyjany, kolor wina również ulega zmianie [Henick-Kling 1993].

Jednakże fermentacja jabłkowo-mlekowa nie zawsze jest korzystna i uważa się ją za wadę niektórych win. Obniżenie kwasowości spowodowane „wtórną” fermentacją może negatywnie wpływać na właściwości sensoryczne wina. Co więcej – odkwaszanie zwiększa pH wina do poziomów, które mogą sprzyjać rozwojowi szkodliwej mikroflory [Fleet 2007]. Stosowanie kultur starterowych może zapobiec spontanicznej fermentacji jabłkowo-mlekowej, powodującej zepsucie się wina [Henick-Kling 1993]. Psucie się wina powodowane przez inne bakterie jest ograniczone, gdy populacja bakterii mlekowych jest duża podczas fermentacji jabłkowo-mlekowej [Lonvaud-Funel i wsp. 1984]. Jest to wynikiem absorpcji mikroelementów przez bakterie mlekowe, co powoduje powstanie uboższego medium, nieodpowiedniego dla rozwoju wymagających drobnoustrojów. Ponadto synteza związków antybakteryjnych, jak np. kwas mlekowy i bakteriocyny, odgrywa znaczącą rolę w hamowaniu rozwoju drobnoustrojów powodujących zepsucie [Henick-Kling 1993; Lonvaud-Funel i Joyeux 1993; Boulton i wsp. 1996].

Na ocenę jakościową wina ujemny wpływ ma zakażenie mikrobiologiczne, które może wystąpić na różnych etapach procesu produkcji. Mikroorganizmy występujące na winogronach są niezbędne do produkcji wina, ale mogą również być przyczyną zakażeń (np. pleśnie, drożdże, bakterie mlekowe i octowe). Źródłem patogennej mikroflory może być również środowisko winnicy. Drobnoustroje

występują w powietrzu i glebie, znajdują się na różnych sprzętach, naczyniach i urządzeniach, a także na ścianach, podłogach i sufitach pomieszczeń [Raspor i wsp. 2006]. Trzecim etapem, jest przechowywanie wina, które nie jest stabilnym mikrobiologicznie produktem i jeśli nie jest prawidłowo przechowywane, może stać się podłożem dla rozwoju niepożądanych gatunków drożdży i bakterii. Niekontrolowany wzrost drobnoustrojów na każdym etapie produkcji może negatywnie wpływać na właściwości sensoryczne (wygląd, smak i aromat) wina [Sponholz 1993], dlatego niezwykle istotne jest wczesne wykrywanie i identyfikacja patogennej mikroflory.

Metody identyfikacji drobnoustrojów można podzielić na klasyczne, oparte na analizie cech morfologicznych i fizjologicznych, oraz molekularne, niezależne od warunków hodowli. Metody konwencjonalne są czasochłonne i mogą dawać niejednoznaczne wyniki. Dodatkową trudność sprawić może optymalizacja warunków hodowli mikroorganizmów na syntetycznych pożywkach. Identyfikacja technikami biologii molekularnej stanowi dobrą alternatywę dla metod klasycznych, ponieważ daje rzetelne i szybkie wyniki. Ponadto jest mniej pracochłonna i pozwala na precyzyjne określenie nie tylko gatunku, ale również szczepu badanych mikroorganizmów [Hernán-Gómez i wsp. 2000].

Celem prowadzonych badań była izolacja mikroorganizmów z psujących się win oraz ich identyfikacja. Sprawdzone wiarygodność klasycznych metod identyfikacji mikroorganizmów za pomocą elektroforezy metodą SDS-PAGE.

Materiały i metody badań

Badania przeprowadzono na ośmiu winach gronowych (6 czerwonych i 2 białych; 5 win sporządzono w warunkach laboratoryjnych, a 3 były komercyjnie dostępne). Wszystkie wina po otwarciu przechowywano zamknięte przez okres 1 roku (temperatura pokojowa, bez dostępu światła).

Do izolacji drożdży wykorzystano agar brzeczkowy i podłoże DRBC (Dichloran Rose Bengal Chloramphenicol). Z badanych próbek wina przygotowano szereg rozcieńczeń dziesiętnych: 10^0 , 10^{-1} i 10^{-2} w sterylnej soli fizjologicznej. Wysiewano po $0,1 \text{ cm}^3$ próby na płytkę z odpowiednią pożywką. Rozcieńczenia próby potraktowano jako powtórzenia. Po inkubacji w temperaturze 28°C przez 72 h liczono kolonie za pomocą licznika, a następnie wyprowadzano czyste kultury do

dalszych badań. Mikroorganizmy pasażowano raz na miesiąc i przechowywano w warunkach chłodniczych (-4°C).

Szczepy zostały poddane testom mikrobiologicznym, biochemicznym oraz analizie molekularnej białek komórkowych. Dobór metod diagnostycznych oparty został na kluczach do identyfikacji drożdży. Analizowano sposób wzrostu na podłożu stałym, obserwowano kształt, wielkość oraz sposób rozmnażania bezpłciowego komórek (powiększenie 400x). Oceniano zdolność drożdży do wytwarzania zarodników (barwienie metodą Schaeffera-Fultona). Zdolność drożdży do wytwarzania kożuszka oceniano w hodowli płynnej w brzeczce (hodowla stacjonarna, 28°C przez 48 h). W testach fermentacyjnych wykorzystano glukozę, sacharozę, laktozę, maltozę, galaktozę i rafinozę i inkubowano w 28°C przez 96 h. Szczepy drożdży badano w kierunku zdolności asymilowania różnych źródeł węgla i azotu. Zastosowano cztery warianty podłoża hodowlanego (I – glukoza, siarczan amonu, witaminy; II – glukoza, azotan sodu, witaminy; III – glukoza, siarczan amonu, brak witamin; IV – laktoza, siarczan amonu, witaminy). Próby inkubowano w 28°C przez 72 h. Oceniano zdolność wzrostu drożdży w różnych temperaturach: 4°C, 20°C, 37°C i 45°C, przez 120 h. Wykonano klasyczne testy na żywotność i odżywienie. Scharakteryzowano wzrost drożdży na podłożu WL (*Wallerstein Laboratory*; 28°C przez 96 h). Wykonano test na ureazę (zdolność do hydrolizy mocznika) w hodowli na podłożu agarowym według Christensena w 28°C przez 7 dni.

Analizę całkowitego rozpuszczalnego białka komórkowego metodą SDS-PAGE (ang. *Sodium Dodecyl Sulfate Polyacrylamide Gel Electrophoresis*) rozpoczęto od hodowli drożdży na jałowym płynnym podłożu brzeczkowym (brzeczka słodowa 9°Blg, w 28°C przez 24 h). Wyjściową gęstość komórek do izolacji białek ustalono na $OD_{600} = 0,7$. Po odpowiednim przygotowaniu, komórki zawieszono w buforze do próbek: 0,06 M Tris-HCl, pH 6,8, 5% glicerol, 2% SDS, 4% β -merkaptioetanol, 0,0025% błękit Coomassie CBB G-250. Komórki drożdży zamrożono i przetrzymywano w temperaturze -80°C do dalszych analiz. Rozdział białek komórkowych przeprowadzono na żelu poliakrylamidowym w układzie Schäggera-von Jagowa w nieciąglym systemie buforującym, w aparacie do elektroforezy pionowej firmy Bio-Rad. Do studzienek nakładano za pomocą pipety automatycznej po 0,01 cm³ nadsącza, przy czym do pierwszej studzienki na każdym żelu nałożono 0,01 cm³ roztworu markera wielkości. Elektroforezę prowadzono pod napięciem stałym: 30 V, gdy próbki znajdowały się w żelu zagęszczającym (30 minut) i 50 V do momentu, kiedy próbki

osiągnęły koniec żelu. Następnie żel barwiono przez 15 minut w 0,5% roztworze CBB R-250 w 10% kwasie octowym. Wyniki rozdziału udokumentowano przez zeskanowanie żelu.

Wyniki i dyskusja

Charakterystyka makroskopowa i mikroskopowa wyizolowanych kolonii drożdży

Szczepki drożdży wykazują bardzo zbliżone cechy morfologiczne. Na agarze rosną w postaci białych lub kremowych, aksamitnych kolonii. Charakteryzują się zdolnością do wytwarzania suchego, matowego i pomarszczonego kożuszka na płynnej brzeczce. Również podłoże różnicujące WL nie pozwoliło na bezpośrednią identyfikację badanych szczepów, gdyż niemal wszystkie rosły w postaci kremowych kolonii. Tylko jeden ze szczepów (nr 7) na podłożu WL wyrósł w postaci niebieskawo-zielonej kolonii (Fot. 1).

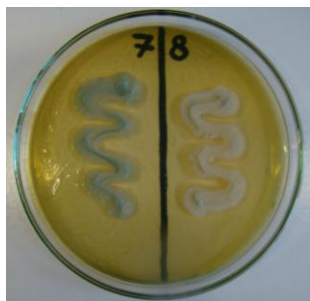
Obserwacje pod mikroskopem wykazały również podobieństwa badanych drożdży. Wszystkie szczepki należą do drożdży niezarodnikujących rozmnażających się przez pączkowanie, a ich komórki mają podobny owalny kształt (Fot. 2 i 3). Część ma bardziej wydłużone komórki, a część ostro zakończone. Poniżej przedstawiono wyniki obserwacji makroskopowych, zdolność do zarodnikowania i wzrost na podłożu WL (Tab. 1) oraz mikroskopowych, a także wyniki testu na żywotność (Tab. 2).

Tabela 1. Charakterystyka makroskopowa badanych szczepów drożdży

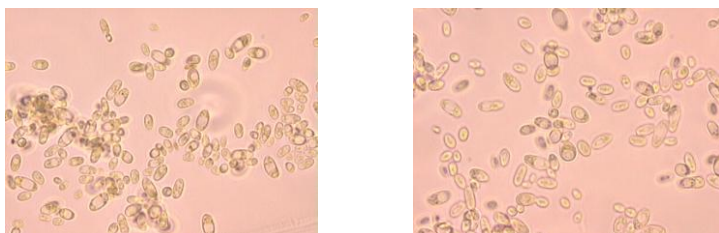
Nr	Wygląd kolonii na agarze brzezkowym	Wytwarzanie kożuszek	Wygląd kolonii na podłożu WL
1.	biała, aksamitna, lepka	+	kremowa, zielonkawy kożuszek
2.	kremowa, aksamitna, lepka	+	kremowo-żółta, zielonkawy kożuszek
3.	biało-kremowa, aksamitna, lepka, lekko płynna	+	kremowa, zielonkawy kożuszek
4.	kremowa, aksamitna, lepka	+	kremowa, zielonkawy kożuszek
5.	kremowa, aksamitna, lepka, lekko płynna	+	kremowa, zielonkawy kożuszek
6.	kremowa, aksamitna, lepka	+	kremowa, zielonkawy kożuszek
7.	kremowa, aksamitna, lepka	+	niebieskavo-zielona, zielony kożuszek
8.	kremowa, aksamitna, lepka	+	kremowa, zielonkawy kożuszek
9.	biała, aksamitna, lepka, lekko płynna	+	kremowa, zielonkawy kożuszek
10.	biała, aksamitna, lepka	+	kremowa, zielonkawy kożuszek
11.	biała, aksamitna, lepka	+	kremowa, zielonkawy kożuszek
12.	kremowa, aksamitna, lepka, lekko płynna	+	kremowa, zielonkawy kożuszek
13.	biało-kremowa, aksamitna, lepka	+	kremowa, zielonkawy kożuszek
14.	kremowa, aksamitna, lepka	+	kremowa, zielonkawy kożuszek
15.	kremowa, aksamitna, lepka, lekko płynna	+	kremowa, zielonkawy kożuszek
16.	biała, aksamitna, lepka	+	kremowa, zielonkawy kożuszek
17.	biała, aksamitna, lepka	+	kremowa, zielonkawy kożuszek

Tabela 2. Charakterystyka mikroskopowa badanych szczepów drożdży

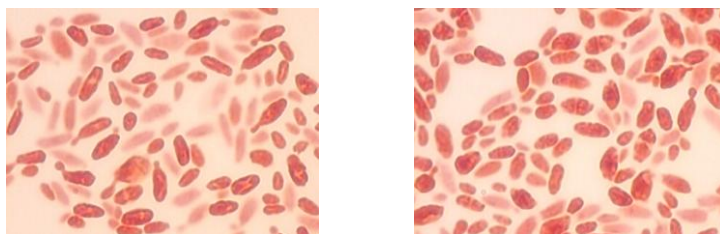
Nr	Kształt komórek	Wielkość komórek	Rozmnażanie bezpłciowe	Ilość komórek martwych [%]	Zdolność do zarodnikowania
1.	owalne, wydłużone	średnie	pączkowanie	0,09	-
2.	owalne, wydłużone	średnie	pączkowanie	0,44	-
3.	owalne, cytrynkowate, wydłużone	średnie	pączkowanie	0,04	-
4.	owalne, wydłużone	średnie	pączkowanie	0,00	-
5.	owalne	średnie	pączkowanie	0,17	-
6.	owalne, wydłużone	średnie	pączkowanie	0,37	-
7.	owalne, wydłużone	średnie	pączkowanie	0,22	-
8.	owalne, wydłużone	średnie	pączkowanie	0,43	-
9.	owalne, wydłużone	duże	pączkowanie	0,10	-
10.	owalne, cytrynkowate, wydłużone	średnie	pączkowanie	7,28	-
11.	owalne, jajowate, wydłużone	średnie	pączkowanie	0,08	-
12.	owalne	średnie	pączkowanie	0,31	-
13.	owalne, wydłużone	średnie	pączkowanie	0,50	-
14.	owalne, wydłużone	średnie	pączkowanie	0,20	-
15.	owalne, wydłużone	duże	pączkowanie	0,07	-
16.	owalne, wydłużone	duże	pączkowanie	0,03	-
17.	owalne, wydłużone	duże	pączkowanie	0,19	-



Fotografia 1. Wzrost na podłożu WL (po lewej szczep nr 7, po prawej szczep nr 8)



Fotografia 2. Preparaty przyżyciowe badanych szczepów drożdży (pow. 400-krotne)



Fotografia 3. Preparaty barwione metodą Schaeffera-Fultona (pow. 400-krotne)

Analiza wyników metod klasycznych – testy fizjologiczne

Analizę zdolności biochemicznych badanych szczepów rozpoczęto od testów fermentacyjnych (wynik pozytywny to pojawienie się gazu w rurce Durhama). Wszystkie wyizolowane z win szczepy drożdżowe charakteryzuje zdolność do fermentacji glukozy. W przypadku pozostałych cukrów otrzymano wynik negatywny dla wszystkich badanych szczepów.

W kolejnych badaniach, którymi były testy asymilacyjne badano zdolność wykorzystywania przez drożdże różnych źródeł węgla

(glukoza, laktoza) i azotu (siarczan amonu, azotan sodu) w obecności lub przy braku witamin. Wynikiem pozytywnym była obecność błonki na powierzchni podłoża i jego zmętnienie. Tylko jeden z badanych szczepów (nr 1) wykazał zdolność do wzrostu na wszystkich czterech podłożach. Każdy ze szczepów wykazywał zdolność wykorzystywania glukozy i siarczanu amonu, zarówno w obecności, jak i przy nieobecności witamin. Azotan sodu też może być źródłem azotu dla badanych szczepów. Najmniej optymalne okazało się podłoże IV, zawierające laktozę jako źródło węgla – większość szczepów wykazała słaby wzrost na tym podłożu.

Wyizolowane szczepy drożdży przebadano pod względem zdolności wzrostu w różnych temperaturach. Wybrano cztery różne temperatury: 5°C, 20°C, 37°C, 45°C – dwie niższe i dwie wyższe od optymalnej temperatury wzrostu większości drożdży (28°C). Badane szczepy rosły dobrze w temperaturze 20°C i 37°C. W temperaturze wyższej (45°C) 6 z badanych szczepów drożdży wykazało słaby wzrost, pozostałe rosły dobrze. Żaden z wyizolowanych szczepów nie był zdolny do wzrostu w temperaturze 5°C. Otrzymane wyniki zestawiono w Tabeli 3.

Tabela 3. Wzrost badanych szczepów drożdży w różnych temperaturach

Nr	TEMPERATURA			
	5°C	20°C	37°C	45°C
1.	-	+	+	+/-
2.	-	+	+	+/-
3.	-	+	+	+
4.	-	+	+	+/-
5.	-	+	+	+/-
6.	-	+	+	+
7.	-	+	+	+/-
8.	-	+	+	+
9.	-	+	+	+/-
10.	-	+	+	+
11.	-	+	+	+
12.	-	+	+	+
13.	-	+	+	+
14.	-	+	+	+
15.	-	+	+	+
16.	-	+	+	+
17.	-	+	+	+

Ostatnim testem biochemicznym była analiza zdolności badanych drożdży do wytwarzania ureazy przeprowadzona na płytkach agarowych z mocznikiem i wskaźnikiem. Wynik pozytywny (odbarwienie podłoża wywołane alkalizacją na skutek hydrolizy mocznika do amoniaku) wykazało 16 badanych szczepów. Tylko szczep nr 15 nie wykazał zdolności wytwarzania ureazy (Tab. 4).

Tabela 4. Zdolność do wytwarzania ureazy przez badane szczepy drożdży

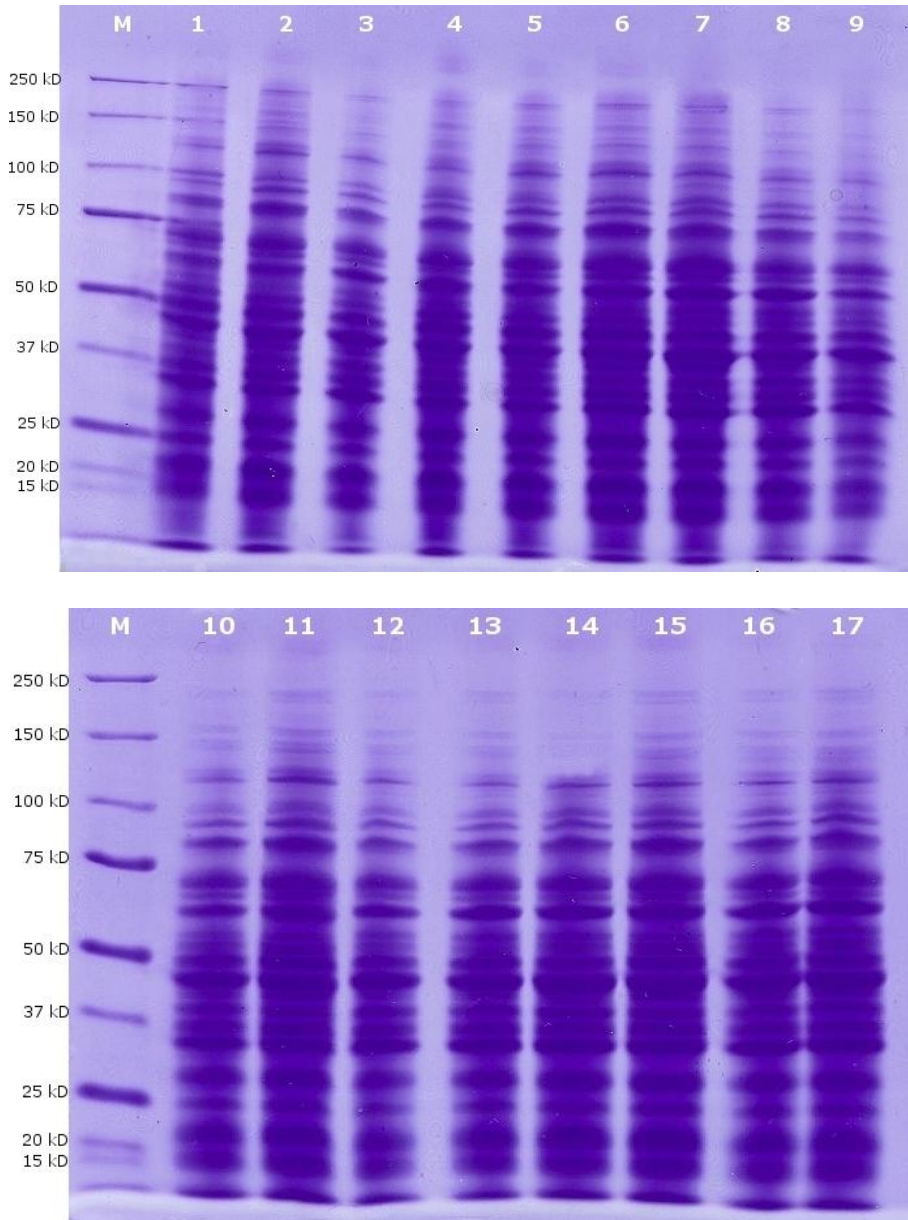
Nr	Test na ureazę	Nr	Test na ureazę	Nr	Test na ureazę
1.	+	7.	+	13.	+
2.	+	8.	+	14.	+
3.	+	9	+	15.	-
4.	+	10	+	16.	+
5.	+	11.	+	17	+
6.	+	12.	+		

Wyizolowane z win drożdże należą do gatunków dzikich, niezarodnikujących. Ich komórki są owalne, elipsoidalne, podłużne o średniej wielkości. Mogą się rozmnażać zarówno przez pączkowanie. Na agarze rosną w postaci biało-kremowych, aksamitnych kolonii, które na podłożu WL przybierają kremowo-zielonkawy odcień. Mają słabe zdolności fermentacyjne (jedynie wobec glukozy), natomiast zdolne są do asymilacji siarczanu amonu i azotanu sodu oraz do wzrostu na podłożach pozbawionych witamin. Są mezofilami – mogą rosnąć w temperaturze 20-45°C, ale temperatura 5°C hamuje ich wzrost. Mają zdolność wytwarzania ureazy.

Identyfikację na podstawie otrzymanych wyników przeprowadzono w oparciu o klucz Barnetta i wsp. [1990] oraz podręczniki Loddera i Kreger-van Rija [1952] i Deák [2008]. Wyizolowane z wina drożdże należą do rodzaju *Candida spp.*.

Molekularna analiza białek metodą SDS-PAGE

Dla potwierdzenia wyników testów fizjologicznych przeprowadzono analizę całkowitej puli białek komórkowych metodą SDS-PAGE. Wyizolowane z drożdży białka rozdzielono na żelu poliakrylamidowym i otrzymano charakterystyczne dla danego szczepu profile białkowe (Fot. 4). Uzyskane wzory prążkowe porównano ze sobą, a dzięki zastosowaniu markera wielkości podczas elektroforezy możliwe stało się porównanie profili z danymi dostępnymi w literaturze.

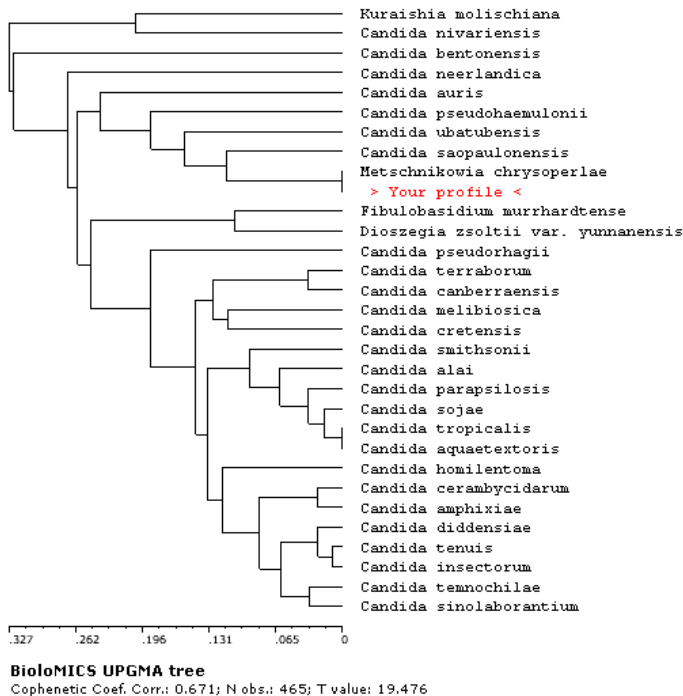


Fotografia 4. Wzory prążkowe uzyskane metodą SDS-PAGE (żel górny: marker oraz szczepy nr 1-9; żel dolny: marker oraz szczepy nr 10-17)

Uzyskane wzory prążkowe dla poszczególnych badanych szczepów drożdży są bardzo podobne (różnią się co najwyżej pojedynczymi prążkami), a niektóre takie same, co sugeruje, że jest to ten sam gatunek

drożdży. Z dużym prawdopodobieństwem można stwierdzić, że jest to *Candida parapsilosis*.

W celu sprawdzenia wyniku identyfikacji na podstawie literatury przeprowadzono analizę w oparciu o internetową bazę drożdży *Mycobank* [www.mycobank.org/yeast]. Po zaznaczeniu otrzymanych wyników na karcie testów uzyskano spis gatunków drożdży wykazujących najbardziej zbliżone cechy do badanych drożdży. Program wykreślił również dendrogram (Rys. 1) obrazujący podobieństwo badanego szczepu do gatunków drożdży z bazy. Grupowanie zostało przeprowadzone za pomocą metody nieważonych średnich połączeń (ang. UPGMA, *Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean*). Jak widać, przyporządkowanie badanych drożdży do rodzaju *Candida spp.* w oparciu o literaturę było słuszne. Jednakże dokładna identyfikacja wyizolowanych szczepów wymaga przeprowadzenia dalszych badań.



Rysunek 1. Dendrogram otrzymany przy identyfikacji drożdży w oparciu o bazę *Mycobank* – miejsce badanych drożdży zostało zaznaczone symbolem >...< [www.mycobank.org/yeast]

Analiza wyników identyfikacji szczepów drożdżowych

Wyizolowane szczepy drożdży nie należały do pożądanego w winiarstwie rodzaju *Saccharomyces spp.* (fermentacja alkoholowa) czy *Schizosaccharomyces spp.* (biologiczne odkwaszanie); były to gatunki dzikie, które zidentyfikowano jako *Candida parapsilosis*. Badane szczepy wykazywały bardzo zbliżone cechy, ale dopiero za pomocą rozdziału całkowitego rozpuszczalnego białka komórkowego metodą SDS-PAGE udowodniono ich jednorodność. Przynależność wyizolowanych drożdży do rodzaju *Candida spp.* oraz z dużym prawdopodobieństwem do gatunku *Candida parapsilosis* została wskazana na podstawie wyników testów fizjologicznych i biochemicznych.

Wykorzystanie metody molekularnej, jaką jest elektroforeza SDS-PAGE, miało na celu sprawdzenie wiarygodności identyfikacji metodami klasycznymi. W mikrobiologii technika SDS-PAGE jest stosowana w celu rozróżnienia szczepów w obrębie danego gatunku lub do porównania szczepów spokrewnionych ze sobą gatunków. Ma ona natomiast ograniczone zastosowanie w identyfikacji organizmów. Do uzyskania powtarzalnych wzorów prążkowych konieczna jest ścisła standaryzacja, a porównywanie licznych prążków wymaga normalizacji densytometrycznych obrazów żeli i przeprowadzenia analizy przy pomocy komputera [Deák 2008]. W wyniku rozdziału białek komórkowych metodą SDS-PAGE każdy szczep daje charakterystyczny wzór prążków. Może to nie być wystarczające do identyfikacji, ale jest dobrym narzędziem do rozróżniania szczepów w obrębie gatunku. Ponadto elektroforeza SDS-PAGE jest metodą łatwą i szybką, dlatego została wybrana do sprawdzenia wiarygodności identyfikacji metodami klasycznymi.

Jak pokazały przeprowadzone testy, metody konwencjonalne są nieprecyzyjne i mogą dawać niepowtarzalne wyniki, co znacznie utrudnia identyfikację mikroorganizmów. Mimo że elektroforeza SDS-PAGE wykazała, że badane izolaty drożdży należą do tego samego gatunku (a nawet szczepu), niektóre z wykonanych testów fizjologicznych i biochemicznych dały rozbieżne wyniki.

Przyczyną takich różnic jest przede wszystkim zależność klasycznych metod identyfikacji od warunków hodowli mikroorganizmów. Techniki te polegają na posiewie próbek na różne podłoża selekcyjne, inkubacji i liczeniu wyrosłych kolonii, stąd często są uważane za metody pośrednie, ponieważ wyniki nie dotyczą komórek znajdujących się oryginalnie w próbce, tylko ich potomstwa na specyficznym medium [Mills i wsp.

2008]. Do identyfikacji konieczna jest pełna ekspresja cech fenotypowych, która może być zaburzona przez stresogenne warunki izolacji [Sutton i Cundell 2004]. Wiele mikroorganizmów nie jest zdolnych do wzrostu na sztucznych podłożach lub posiada specyficzne wymagania wzrostowe. Ponadto metody oparte na hodowli mogą dawać zaniżone wyniki dotyczące wielkości i różnorodności populacji mikroorganizmów ze względu na obecność form VNBC (nie dających wzrostu kolonii mimo zachowanej aktywności metabolicznej), które powszechnie występują w winie [Mills i wsp. 2008].

Etap izolacji i hodowli mikroorganizmów, konieczny przy identyfikacji metodami klasycznymi, ma także inne wady. Wpływa bowiem na wydłużenie czasu oczekiwania na wyniki. Niekiedy na pojawienie się kolonii na płytkach należy czekać tydzień lub więcej [Mills i wsp. 2008]. W dodatku metody klasyczne wymagają dużego nakładu pracy, gdyż dokładna identyfikacja zmusza do wykonania licznych testów w kilku powtórzeniach. Do tego dochodzi również dostępność odpowiedniego sprzętu i doświadczonego personelu.

Kolejną wadą klasycznych metod identyfikacji jest trudność w interpretacji wyników [Fernández i wsp. 1999]. Niejednokrotnie wymagane jest przeprowadzenie dodatkowych testów w celu oznaczenia przynależności badanych drobnoustrojów do danego rodzaju lub gatunku. Niestety testy te charakteryzują się niską powtarzalnością, stąd techniki są mało dokładne. Pozwalają one głównie na wstępne oszacowanie składu populacji, oznaczenie rodzaju, do jakiego należą badane mikroorganizmy, a rzadko na identyfikację do poziomu gatunku [Giraffa 2004].

Wiarygodność morfologicznych i fizjologicznych kryteriów tradycyjnie wykorzystywanych w identyfikacji mikroorganizmów jest często kwestionowana. Pojedynczy gen może dawać zdolność fermentowania lub asymilowania określonej substancji cukrowej. Także produkcja askospor u drożdży i ich morfologia zależą od parowania się komplementarnych nukleotydów [Deák 2008]. Ponadto spontaniczne mutacje zwiększające naturalną różnorodność w obrębie gatunku mogą wpływać na cechy fenotypowe i powodować błędy w identyfikacji [König i wsp. 2009]. Takie zjawiska generują niepewności i poddają pod wątpliwość wiarygodność tradycyjnych metod charakterystyki drobnoustrojów.

Drożdże z rodzaju *Candida spp.* są częścią naturalnej mikroflory winogron i podczas tłoczenia dostają się do moszczu gronowego [Pretorius 2000; Jolly i wsp. 2006]. Charakteryzują się słabymi

zdolnościami fermentacyjnymi. Należą do drożdży kożuchujących, toteż skażenie wywołane rozwojem *Candida spp.* związane jest z pojawieniem się kredowego, białego biofilmu na powierzchni wina. W obecności tlenu drożdże te szybko się namnażają i wykorzystują etanol oraz kwasy organiczne jako źródło węgla [Zoeckleini wsp. 1995]. Jak wiadomo, produkty uboczne metabolizmu drożdży mogą prowadzić do wad sensorycznych wina. W przypadku *Candida spp.*, niektóre gatunki produkują wysokie stężenia acetaldehydu, kwasu octowego i octanu etylu [Deák 2008; Trioli i Hofmann 2009].

Do najczęściej izolowanych z wina gatunków drożdży należących do tego rodzaju zaliczane są *Candida vini*, *Candida stellata* i *Candida pulcherrima* [Zoeckleini wsp. 1995]. Niektóre szczepy *C. stellata* wykazują stosunkowo wysoką odporność na etanol [Mills i wsp. 2008], dlatego mogą być obecne podczas późniejszych stadiów fermentacji oraz w gotowym produkcie. Wyizolowane z badanych win drożdże *C. parapsilosis* powszechnie występują na skórze ludzi i w glebie, ale ich obecność w winie również została wykazana [Ruiz i wsp. 1986].

Wśród wyizolowanych drożdży poszukiwano również mikroorganizmów o potencjalnym przeznaczeniu do biologicznego odkwaszania win. Takie zdolności wykazują gatunki należące do *Schizosaccharomyces spp.* (zwłaszcza *Sch. pombe*) i *Zygosaccharomyces spp.* (głównie *Z. bailli*) oraz niektóre szczepy *Saccharomyces spp.* [Volschenk i wsp. 2003]. Przekształcają one kwas jabłkowy w alkohol etylowy, zmniejszając w ten sposób kwasowość wina i nadając mu łagodniejszy smak [Deák 2008]. Zdolność drożdży do degradacji zewnątrzkomórkowego jabłczanu jest zależna od efektywnego transportu dikarboksylogo kwasu przez błonę komórkową oraz od skuteczności działania wewnątrzkomórkowego enzymu jabłczanowego. Enzym ten przekształca kwas jabłkowy do kwasu pirogronowego, który jest następnie rozkładany do etanolu i CO₂. Drożdże *Saccharomyces spp.* powszechnie wykorzystywane w produkcji wina metabolizują L-jabłczan mało efektywnie, a stopień jego degradacji różni się w zależności od szczepu. Ponadto niektóre szczepy drożdży winiarskich syntetyzują niewielkie ilości kwasu jabłkowego [Volschenk i wsp. 2003]. W ostatnich latach prowadzono badania mające na celu lepsze poznanie mechanizmu degradacji kwasu jabłkowego przez *Saccharomyces spp.* oraz przeprowadzono próby doskonalenia szczepów winiarskich pod względem zdolności biokonwersji L-jabłczanu. W przypadku drożdży z rodzajów *Schizosaccharomyces spp.* i *Zygosaccharomyces spp.* rozkład

kwasu jabłkowego do etanolu zachodzi dużo wydajniej. Wykazano, że gęsta zawiesina komórek *Schizosaccharomyces spp.* jest zdolna do degradacji 95-99% jabłczanu [Jolly i wsp. 2006]. Niestety, z badanych win nie udało się wyizolować drożdży o zdolnościach odkwaszających.

Wnioski

Podsumowując, należy zwrócić uwagę na fakt, że chociaż wino to restrykcyjne środowisko, mikroorganizmy mogą powodować zepsucie i obniżyć jakość produktu, jeżeli ich rozwój nie jest monitorowany. Ponieważ niekontrolowany wzrost drobnoustrojów może wystąpić na każdym etapie produkcji wina, wczesne wykrywanie i identyfikacja patogennej mikroflory jest niezwykle istotna. Istnieje szereg metod służących do detekcji mikroorganizmów obecnych w winie. Jak wykazano, metody klasyczne są nieprecyzyjne i mogą dawać niepowtarzalne wyniki, co znacznie utrudnia identyfikację drobnoustrojów. Mała dokładność, trudności w interpretacji wyników oraz niejednokrotnie towarzyszący odczytom subiektywizm generują niepewność i poddają pod wątpliwość wiarygodność tradycyjnych metod charakterystyki mikroorganizmów. Identyfikacja technikami biologii molekularnej stanowi dobrą alternatywę dla metod klasycznych, ponieważ daje rzetelne i szybkie wyniki. Ponadto jest mniej pracochłonna i pozwala na precyzyjne określenie, nie tylko gatunku, ale również szczepu badanych mikroorganizmów. Dlatego otrzymane wyniki identyfikacji należałoby zweryfikować za pomocą testów molekularnych.

Kontynuacją prowadzonych badań powinna być identyfikacja szczepów drożdży pod względem przydatności do procesu biologicznego odkwaszania win. Poszukiwanie odpowiednich szczepów, które posłużyłyby jako nowe kultury starterowe, zdolne do obniżenia kwasowości wina i wzrostu jego jakości jest ważnym kierunkiem badań prowadzonych w Polsce, gdzie chłodniejszy klimat wpływa na wyższą zawartość kwasów organicznych w winogronach.

Literatura:

1. Barnett J.A., Payne R.W., Yarrow, D., *Yeasts: Characteristics and Identification*, Cambridge University Press, Cambridge 1990.
2. Bauer R., Dicks L.M.T., *Control of malolactic fermentation in wine. A review*, South African Journal of Enology and Viticulture 2004, 25, 274-288.
3. Boulton R.B., Singleton V.L., Bisson L.F., Kunkee R.E., *Principles and Practices of Winemaking*, Chapman & Hall, New York 1996, 32-133, 245, 247.
4. Davis C.R., Wibowo D., Eschenbruch R., Lee T.H. Fleet G.H., *Practical implications of malolactic fermentation – a review*, American Journal of Enology and Viticulture 1985, 36, 290-301.

5. Deák, T., *Handbook of Food Spoilage Yeasts*, Wyd. 2, CRC Press, New York 2008, 1-11, 135-145, 221-257.
6. Fernández M.T., Ubeda J.F., Briones A.I., *Comparative study of non-Saccharomyces microflora of musts in fermentation, by physiological and molecular methods*, FEMS Microbiology Letters 1999, 173, 223-229.
7. Fleet G.H., *The microorganisms of winemaking – isolation, enumeration and identification*, w: Fleet G.H., *Wine Microbiology and Biotechnology*, Harwood Academic Publishers 1993, 1-25.
8. Fleet G.H., *Wine*, w: Doyle M.P., Beuchat L.R. *Food Microbiology Fundamentals and Frontiers*, Wyd.3, ASM Press, Washington 2007, 863-890.
9. Fugelsang K.C. Edwards C.G., *Wine Microbiology, Practical Applications and Procedures*, Wyd.2, Springer Science and Business Media, New York 2007, 3-19, 29-35, 45-47, 83-101, 163-179.
10. Giraffa G., *Studying the dynamics of microbial populations during food fermentation*, FEMS Microbiology Review 2004, 28, 251-260.
11. Henick-Kling T., *Malolactic fermentation*, w: Fleet G.H., *Wine Microbiology and Biotechnology*, Harwood Academic Publishers 1993, 289-326.
12. Hernán-Gómez S., Espinosa J.C., Ubeda, J.F., *Characterization of wine yeasts by temperature gradient gel electrophoresis (TGGE)*, FEMS Microbiology Letters 2000, 193, 45-50.
13. Internetowa baza drożdży Mycobank: www.mycobank.org/yeast.
14. Jolly N.P., Augustyn O.P.H., Pretorius I.S., *The role and use of non-Saccharomyces yeast in wine production*, South African Journal of Enology and Viticulture 2006, 27, 15-39.
15. König H., Unden G., Fröhlich J., *Biology of Microorganisms on Grapes, in Must and in Wine*, Springer-Verlag, Berlin 2009, 3-88.
16. Lafon-Lafourcade S., *Wine and brandy*, w: Reed G., *Biotechnology, Food and Feed Production with Microorganisms*, red. T.5, Verlag Chemie, Weinheim 1983, 81-164.
17. Lafon-Lafourcade S., Geneix C. Ribéreau-Gayon P., *Inhibition of alcoholic fermentation of grape must by fatty acids produced by yeasts and their elimination by yeast ghosts*, Applied and Environmental Microbiology 1984, 47, 1246-1249.
18. Lambrechts M.G., Pretorius I.S., *Yeast and its importance to wine aroma – a review*, South African Journal of Enology and Viticulture 2000, 21, 97-129.
19. Lodder J., Kreger-van Rij N.J.W., *The yeasts: a taxonomic study*, North-Holland Publishing Co., Amsterdam 1952.
20. Lonvaud-Funel A., Joyeux A., *Antagonisms between lactic acid bacteria of wines: inhibition of *Leuconostoc oenos* by *Lactobacillus plantarum* and *Pediococcus pentosaceus**, Food Microbiology 1993, 10, 411-419.
21. Mills D.A., Phister T., Neeley E., Johannsen E., *Wine Fermentation*, w: Cocolin L., Ercolini D., *Molecular Techniques in the Microbial Ecology of Fermented Foods*, Springer Science & Business Media, New York 2008, 162-192.
22. Pretorius I.S., *Tailoring wine yeast for the new millennium: novel approaches to the ancient art of winemaking*, Yeast 2000, 16, 675-729.
23. Rankine B., *Microbiology and fermentation*, w: *Making Good Wine – A Manual of Winemaking Practice for Australia and New Zealand*, Pan Macmillan, Sydney 1995, 118-130.
24. Rapp A., Versini G. *Influence of nitrogen compounds in grapes and aroma compounds in wine*, w: Rantz J., *Proceedings of the International Symposium on Nitrogen in Grapes and Wines*, American Society for Enology and Viticulture, Davis 1991, 156-164.
25. Raspor P., Milek D.M., Polanc J., Možina S.S., Čadež N., *Yeasts isolated from three varieties of grapes cultivated in different locations of the Dolenjska vine-growing region, Slovenia*, International Journal of Food Microbiology 2006, 109, 97-102.
26. Romano P., Fiore C., Paraggio M., Caruso M., Capece A., *Function of yeast species and strains in wine flavour*, International Journal of Food Microbiology 2003, 86, 169-180.
27. Ruiz A., Poblet M., Mas A., Guillamón J.M., *Identification of acetic acid bacteria by RFLP of PCR-amplified 16S rDNA and 16S-23S rDNA intergenic spacer*, International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology 2000, 50, 1981-1987.

28. Sponholz W.R., *Wine spoilage by microorganisms*, w: Fleet G.H., *Wine Microbiology and Biotechnology*, Harwood Academic Publishers 1993, 395-413.
29. Sutton V.W., Cundell A.M., *Microbial identification in the pharmaceutical industry*, Pharmacopeial Forum 2004, 30, 1884-1894.
30. Trioli G., Hofmann U., *Code of good organic viticulture and wine-making*, ORWINE 2009.
31. Volschenk H., van Vuuren H.J.J., Viljoen-Bloom M., *Malo-ethanolic fermentation in Saccharomyces and Schizosaccharomyces*, Current Genetics 2003, 43, 379–391.
32. Zoecklein B.W., Fugelsang K.C., Gump B.H., Nury F.S., *Wine Analysis and Production*, Chapman & Hall, New York 1995.

Abstract

The wine is a product of complex microbial and biochemical interactions between different species of yeast, bacteria and filamentous fungi, therefore it is extremely important to control its eventual microbial contamination. Rapid methods for detection and identification of microorganisms in wine may allow early diagnosis of defects and save the drink from corruption.

The aim of this study was isolation and identification of microorganisms of perishable wines using classical methods and examination of the reliability of these methods by SDS-PAGE electrophoresis.

The trials of spoiled wines allowed for isolation of 17 yeast strains which were analyzed by classical methods (among others. microscopic analysis, the ability to sporulation, fermentation and assimilation tests, etc.). The tested strains showed very similar features, but only by separation of total soluble cellular protein by SDS-PAGE demonstrated that all belonged to the species *Candida parapsilosis*. The electrophoresis technique allows to distinguish strains within a species.

Classical methods (labor-intensive and time consuming) are unfortunately not sufficient for unambiguous identification of microorganisms. The molecular methods are expensive, but fast and allow precisely identify the microorganism. However, it is useful to utilize the method of breeding for initial identification of microorganisms to make a detailed analysis of selected strains only.

