

Badania i Rozwój Młodych Naukowców w Polsce

Nauki przyrodnicze

Część I – Żywnienie i żywność



www.mlodzinaukowcy.com

Poznań 2018

Redakcja naukowa

dr Marcin Baran, IOR - PIB

dr inż. Jędrzej Nyckowiak, UPP

Wydawca

Młodzi Naukowcy

www.mlodzinaukowcy.com

wydawnictwo@mlodzinaukowcy.com

ISBN (całość 978-83-65677-93-8)

ISBN (wydanie online 978-83-65917-96-6)

ISBN (wydanie drukowane 978-83-65917-97-3)

Ilość znaków w książce: 617 tys.

Ilość arkuszy wydawniczych: 15.4

Data wydania: czerwiec 2018

Niniejsza pozycja jest monografią naukową. Jej rozdziały zostały wydrukowane zgodnie z przesłanymi tekstami po ich zaakceptowaniu przez recenzentów, spis recenzentów zamieszczono na końcu książki. Odpowiedzialność za zgodne z prawem wykorzystanie użytych materiałów ponoszą autorzy poszczególnych rozdziałów.

Spis treści

| | |
|---|------------|
| 1. Żłobek wobec żywienia dziecka wymagającego diety eliminacyjnej | 7 |
| <i>Anna Białończyk, Izabela Jabcoń, Łukasz Parczewski, Krystyna Stencel-Gabriel</i> | |
| 2. Barwniki spożywcze | 14 |
| <i>Bitner Ewelina, Kowalewska Monika</i> | |
| 3. Reduce the use of nitrates and nitrites as a new trend in meat technology | 21 |
| <i>Ferysiuk Karolina, Wójciak M. Karolina</i> | |
| 4. Application of sonication in meat technology | 27 |
| <i>Ferysiuk Karolina, Wójciak M. Karolina</i> | |
| 5. Tłuszcz mleczny i białka jako prozdrowotne składniki mleka krowiego | 33 |
| <i>Góral Małgorzata</i> | |
| 6. Zaburzenia odżywiania wśród osób uprawiających wybrane dyscypliny sportowe | 40 |
| <i>Mateusz Grajek, Justyna Kardas, Sandra Kryska, Gabriela Wanat, Sylwia Jaruga</i> | |
| 7. Citius, altius, fortius - suplementy w żywieniu sportowców | 47 |
| <i>Mateusz Grajek, Justyna Kardas, Gabriela Wanat</i> | |
| 8. Wpływ programowania metabolicznego na wybrane aspekty zdrowotne noworodków | 52 |
| <i>Sylwia Jaruga, Agnieszka Malinowska, Gabriela Wanat, Mateusz Grajek</i> | |
| 9. Wpływ wybranych substancji strukturotwórczych na ocenę organoleptyczną galaretek i kisielei | 57 |
| <i>Jaruga Sylwia, Wanat Gabriela, Grajek Mateusz, Malinowska Agnieszka</i> | |
| 10. Żywność minimalnie przetworzona i metody jej utrwalania | 63 |
| <i>Kałwa Klaudia</i> | |
| 11. Nowoczesne metody w zakresie systemów pakowania owoców i warzyw | 70 |
| <i>Kałwa Klaudia, Kamil Wilczyński</i> | |
| 12. Protein oxidation in meat and dry-cured meat products | 78 |
| <i>Paulina Kęska, Joanna Stadnik</i> | |
| 13. Meat-based functional food: new strategy and perspective | 84 |
| <i>Paulina Kęska, Joanna Stadnik</i> | |
| 14. Zafałszowania mięsa i produktów mięsnych na podstawie danych dostępnych w Systemie RASFF | 90 |
| <i>Kononiuk Anna, Karwowska Małgorzata</i> | |
| 15. Wpływ przemian fizykochemicznych na jakość wyrobów mięsnych fermentowanych podczas ich wytwarzania | 97 |
| <i>Kononiuk Anna, Kęska Paulina</i> | |
| 16. Meta-omiki – nowe strategie w analizie mikrobiomu i właściwości funkcjonalnych fermentowanych warzyw | 104 |
| <i>Magdalena Michalak</i> | |
| 17. Fenole w formie związanej – charakterystyka i znaczenie w technologii żywności | 110 |
| <i>Magdalena Michalak, Klaudia Gustaw, Magdalena Polak-Berecka</i> | |
| 18. Zawartość kofeiny w wybranych suplementach diety i napojach energetycznych | 117 |
| <i>Jadwiga Nęcza, Renata Polaniak, Joanna Nieć, Joanna Margasińska-Olejak, Rafał Celiński, Magdalena Kubica</i> | |

| | |
|--|------------|
| 19. Porównanie jakości jaj zielononóżki kuropatwianej i kur w typie araukana | 124 |
| <i>Kamil Drabik, Adrian Pluta, Patrycja Chabroszewska, Kostiantyn Vasiukov, Katarzyna Olszak, Justyna Batkowska, Antoni Brodacki</i> | |
| 20. Mikotoksyny produkowane przez grzyby z rodzaju <i>Fusarium</i>, <i>Penicillium</i> i <i>Aspergillus</i> i ich znaczenie dla bezpieczeństwa żywności | 131 |
| <i>Anna Rykaczewska</i> | |
| 21. Analiza fizykochemiczna i organoleptyczna produktów seropodobnych | 137 |
| <i>Toczek Kamil, Nastaj Maciej Szafrąnska Jagoda, Sołowiej Bartosz</i> | |
| 22. Charakterystyka jakości technologicznej wybranych mięs zwierząt łownych | 144 |
| <i>Kamil Toczek, Paulina Kęska</i> | |
| 23. Smak słodki – przykładowe kierunki badań | 152 |
| <i>Wanat Gabriela, Jaruga Sylwia, Grajek Mateusz, Malinowska Agnieszka</i> | |
| 24. Barwniki stosowane w hodowli ryb w kontekście bezpieczeństwa żywności pochodzenia zwierzęcego | 157 |
| <i>Wątróbka Luiza, Mitrowska Kamila, Posyniak Andrzej</i> | |
| 25. Żywność funkcjonalna - przykłady zastosowań | 164 |
| <i>Gabriela Widelska, Aleksandra Dymek, Monika Drózd, Dominik Straszak</i> | |

Przedmowa

Opracowanie przeznaczone jest dla wszystkich zainteresowanych zgłębianiem wiedzy z dość obszernego zakresu nauk przyrodniczych. Niniejsze wydawnictwo „Młodzi Naukowcy” jest rezultatem współpracy w sferze naukowej, prezentujące dokonania młodych osób, które pragnęły podzielić się swoim dorobkiem naukowym z szeroką rzeszą czytelników. W serii opracowań zajmujących się dokonaniami młodych naukowców, zakres stawianych przed nimi zadań i działań ciągle rozszerza się. Nauki przyrodnicze zajmują się badaniem zachodzących zjawisk celem poznania rządzącymi nimi praw wykorzystując je dla dobra człowieka. W szybko rozwijających się naukach przyrodniczych, codziennie odkrywane są nowe zależności i powiązania z innymi obszarami nauki informujące o złożoności tej dziedziny. Obecnie utrwała się coraz bardziej i powszechniej przekonanie, że stosowanie jedynie kompleksowych badań z zakresu wszystkich dziedzin nauki, prowadzi do pełniejszego zrozumienia procesów. Konieczność znajomości zjawisk zachodzących w ówczesnym świecie wymusza na nas samych wdrożenie etapu samorozwoju poprzez zgłębienie wiedzy z wielu dziedzin nauki. Zagadnienia, którymi zajmują się badacze wymagają wykonania pewnej liczby doświadczeń. Doświadczenia te dają podstawę do wysuwania wniosków, które mogą wymagać dalszych, głębszych i wnikliwszych badań. W przyrodzie nie ma identyczności, więc uzyskane wyniki mogą być tylko pośrednimi w drodze tych badań.

Część pierwszej monografii poświęcono żywności i żywieniu, gdzie rozbito na elementy składowe, między innymi produkty mięsne, jak i drogi ich przetwarzania oraz przemian fizykochemicznych w celu wytwarzania produktów bardziej bezpiecznych i zdrowych. W drugiej części skupiono się na produkcji roślinnej, przedstawiając potencjał biotechnologiczny roślin i mechanizmy wpływu oraz ich pochodnych na życie człowieka. Wykorzystano także badania z zakresu zrównoważonego rolnictwa polepszające warunki fizykochemiczne gleby oraz roli instytucji rolniczych. W części trzeciej badania młodych naukowców ukierunkowane są w stronę zależności, roli oraz relacji grup organizmów zwierzęcych. Mowa jest tu o procesach destrukcyjnych, niedoborach oraz właściwościach struktur oraz strategiach działania jak również o stosowaniu nowych rozwiązań.

W części czwartej zgłębiane są zagadnienia nauk medycznych w oparciu o podejście do badanego procesu lub zależności ze strony genetycznej. Analizy zawierają oceny skuteczności i stabilności emulsji, olejków oraz próbek biologicznych w zastosowaniach biochemicznych przy użyciu całego spektrum metod badawczych.

Piąta z monografii zawiera rozdziały dotyczące działalności weterynaryjnej. Ukazane są tutaj zagrożenia na jakie narażeni jesteśmy ze strony zwierząt, a także całe bogactwo analiz przebiegów chorób, zaburzeń zwierząt domowych i gospodarskich. Nakreślono tu także role i genezę zwierząt w symbiozie z człowiekiem.

Część szоста omawia i skupia się na oddziaływaniach wewnątrz środowiskowych. Badania zawarte w tej części opisują zależności i presję środowiska oraz powiązania składowych łańcuchów zależności biotycznych. Uwidocznione i proponowane są tutaj nowe narzędzia oceny i rozwiązania wpływające na bioróżnorodność fauny i flory.

Zespół redakcyjny ma nadzieję, że zawarte w tym opracowaniu wiadomości z zakresu nauk przyrodniczych umożliwią czytelnikom zrozumienie i zapoznanie się z wiadomościami niezbędnymi do otwarcia na wiele dyscyplin nauki oraz zjawisk zachodzących w otaczającym nas świecie. Mamy także nadzieję, że przystępność formy przypadnie Państwu do gustu i przyczyni się do propagowania dokonań młodych naukowców. Zdajemy sobie sprawę, że pełne i całkowite zrozumienie przedstawionych w zestawieniu prac o tak szerokiej tematyce jest rzeczą trudną i skomplikowaną lecz nie niemożliwą. Wszystko wymaga pewnej dyskusji wśród zainteresowanych oraz uzgodnienia własnych poglądów.

dr Marcin Baran
Instytut Ochrony Roślin - PIB

1. Żłobek wobec żywienia dziecka wymagającego diety eliminacyjnej

Nursery towards feeding a child who requires an elimination diet

Anna Białończyk⁽¹⁾, Izabela Jabcoń⁽¹⁾, Łukasz Parczewski⁽²⁾, Krystyna Stencel-Gabriel⁽³⁾

⁽¹⁾ Wydział Nauk o Zdrowiu w Katowicach, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

⁽²⁾ Medical Center Darmed, Bielsko-Biała

⁽³⁾ Katedra Pediatrii, Oddział Kliniczny Pediatrii, Szpital nr 2 w Bytomiu, Wydział Nauk o Zdrowiu w Katowicach, Kierownik: prof. hab. n. med. Anna Obuchowicz

Anna Białończyk: anna.bialonczyk@med.sum.edu.pl

Słowa kluczowe: żywienie zbiorowe, alergia pokarmowa, leczenie żywieniowe

Streszczenie

Żywienie dziecka wymagającego zastosowania diety eliminacyjnej jest odpowiedzialnym wyzwaniem w organizacji żywienia zbiorowego. W ramach pełnienia funkcji opiekuńczych wychowawczych i edukacyjnych jednym z głównych zadań żłobka jest również zapewnienie dzieciom żywienia zgodnego z zaleceniami Instytutu Matki i Dziecka. Sposób żywienia w ostatnich latach zmienił się nieco z uwagi na znaczący udział w diecie żywności przetworzonej i poddawanej pasteryzacji. U niektórych dzieci wzrasta ryzyko niekorzystnego oddziaływania różnorodnych dodatków żywnościowych spożywanych w nadmiarze (barwniki), które mogą prowadzić do reakcji alergicznych. Alergia pokarmowa jest stanem patologicznym, w którym niepożądane objawy spowodowane są mechanizmami immunologicznymi. Nieprawidłowa odpowiedź immunologiczna występuje na skutek wprowadzenia do organizmu pokarmu wywołującego uczulenie. Wprowadzony pokarm jest alergenem, który powoduje szereg niepożądanych reakcji pokarmowych, mogących obejmować każdy narząd. Stąd różnorodność objawów zarówno ze strony układu pokarmowego (wymioty, biegunka, bóle brzucha), ze strony skóry (atopowe zapalenie skóry, pokrzywki), jak i układu oddechowego (przewlekły nieżyt nosa, oskrzeli) oraz objawy ogólne typu nadpobudliwość, nadmierna płaczliwość. W związku z tym wielu rodziców ma obawy, czy jego dziecko wymagające diety eliminacyjnej może być zakwalifikowane do wychowania zbiorowego w środowisku żłobkowym. Dieta eliminacyjna polega na wykluczeniu z pożywienia składników pokarmowych nietolerowanych przez organizm oraz jest podstawowym leczeniem przyczynowym w alergii na białka mleka krowiego. Dieta eliminacyjna powinna być stosowana na zlecenie lekarza specjalisty, przy czym nie należy utożsamiać alergii pokarmowej z nietolerancją pokarmową. Każda dieta eliminacyjna stwarza ryzyko niedoborów żywieniowych, dlatego istotnym jest, aby produkty, które wycofuje się z żywienia zastąpić produktami, które mają zbliżoną wartość odżywczą oraz są dobrze tolerowane przez organizm dziecka. Żywienie przy użyciu zbilansowanych diet jest uznanym sposobem żywienia oraz leczenia żywieniowego i powinno być konsultowane z dietetykiem. Żłobek w ramach pełnienia funkcji opiekuńczej powinien zapewnić dziecku wymagającemu diety eliminacyjnej realizację żywienia zgodnego z zaleceniami lekarza specjalisty.

1. Wstęp

Rodzice dziecka wymagającego diety eliminacyjnej borykają się z problemem alergii pokarmowej, która jest stanem patologicznym i wymaga często leczenia żywieniowego. Objawy alergii pokarmowej występują z powodu wprowadzenia do organizmu pokarmu wywołującego uczulenie. Najczęściej jest to mleko krowie. W związku z tym wielu rodziców ma obawy, czy jego dziecko kwalifikuje się do żłobka. Niepokój rodziców jest uzasadniony ponieważ alergia pokarmowa wymaga zastosowania diety eliminacyjnej oraz wnikliwej obserwacji dziecka zwłaszcza w czasie rozszerzania diety niemowląt. Przyjęto zasadę, aby niemowlętom wprowadzać nowe produkty kolejno i osobno oraz obserwować reakcje organizmu przede wszystkim po to, aby wiedzieć, który z produktów należy wyeliminować. Problem alergii u tak małych dzieci jest jeszcze bardziej złożony wtedy, gdy dołączają się alergeny zewnętrzne, które oprócz objawów ze strony układu pokarmowego mogą również wywoływać objawy atopowego zapalenia skóry, czy też przewlekłego nieżyty nosa.

Obserwuje się, iż dzieci z alergią są bardziej podatne na różnego rodzaju infekcje. Dziecko wymagające diety eliminacyjnej może być przyjęte do żłobka jednak koniecznym staje się przeprowadzenie bardzo szczegółowego wywiadu z rodzicami na temat reakcji organizmu dziecka na produkty, które wywołują u niego uczulenie. Istotnym jest również zwrócenie uwagi rodzicom na fakt, iż dla dziecka z dietą eliminacyjną każdy inny posiłek zawsze będzie atrakcyjniejszy. Problemem opiekuńczym nad grupą dzieci pozostających na diecie eliminacyjnej jest fakt, iż dziecko może z łatwością sięgnąć ręką do talerza kolegi, czy koleżanki i spożyć pokarm wywołujący u niego uczulenie. Dlatego w czasie organizacji posiłków dla tej grupy dzieci należy wdrożyć odpowiednie procedury postępowania.

2. Opis zagadnienia

Żłobek jako instytucja pełniąca między innymi funkcję opiekuńczą zapewnia dzieciom wszechstronną opiekę obejmującą również kształtowanie prawidłowych nawyków żywieniowych. W żłobku dzieci są objęte opieką przez około 9-10 godzin dziennie.

Jeżeli dziecko przebywa w żłobku powyżej 6 godzin dziennie to należy mu zapewnić 75% dziennego zapotrzebowania energetycznego zgodnie z obowiązującymi zasadami organizacji żywienia zbiorowego. Żłobek codziennie zapewnia dziecku 4 posiłki (śniadanie, drugie śniadanie, obiad, podwieczorek), co razem stanowi około 750 kcal (75% dziennego zapotrzebowania energetycznego). Rodzice powinni podać dziecku kolację w domu, na którą przypada około 250 kcal. Zgodnie z rekomendacjami Instytutu Matki i Dziecka codzienne zapotrzebowanie energetyczne u dzieci powyżej 1 roku życia powinno wynosić około 1000 kcal. Dzienna racja pokarmowa dzieci wymagających diety eliminacyjnej nie może odbiegać od wyżej zalecanych norm żywieniowych i jest ustalana przez profesjonalnego dietetyka.

W związku z alergią pokarmową na białko mleka krowiego wśród dzieci wymagających zastosowania diety eliminacyjnej w żłobku obserwuje się dwie grupy dzieci.

Do pierwszej grupy można zaliczyć dzieci z wykrytą alergią pokarmową na białka mleka krowiego oraz dzieci z grup wysokiego ryzyka wystąpienia alergii, które przyjęto do żłobka z zaleceniami stosowania diety eliminacyjnej od lekarza specjalisty.

Druga grupa to dzieci, u których dopiero w placówce zaobserwowano objawy alergii ze strony skóry, układu pokarmowego, układu oddechowego, sugerujące alergię pokarmową na białka mleka krowiego.

U dzieci z pierwszej grupy objawy alergii pojawiają się z chwilą wprowadzania do diety kolejno i osobno poszczególnych produktów żywnościowych. Dzieci te wymagają szczególnej obserwacji pod kątem zaostrzających się objawów po spożyciu pokarmu, wywołującego reakcję alergiczną w organizmie.

W drugiej grupie dzieci niepokojące objawy ze strony poszczególnych układów organizmu są trudne do zróżnicowania. Niepożądane symptomy mogą być wynikiem kilku wzajemnie oddziałujących na siebie czynników. Z uwagi na środowisko zbiorowego wychowania dzieci narażone są na działanie czynników zewnętrznych (duża grupa rówieśników, częste infekcje), jak i czynników wewnętrznych (stres w odpowiedzi na zerwanie więzi emocjonalnej z matką, reakcja immunologiczna na alergen, proces wyrzynania się ząbków). W pierwszej kolejności u tych dzieci obserwuje się wyraźne zaostrzenie objawów ze strony układu pokarmowego; ulewania, biegunka, zaparcia, kolka jelitowa. Następnie objawy ze strony skóry (suchość skóry, szorstkość, zmiany na policzkach i na pośladkach). Najczęściej występującymi objawami układu oddechowego jest surowiczy katar. Dzieci są blade z podkrążonymi oczami, nadpobudliwe, rozdrażnione, płaczliwe, ale rozwój fizyczny i psychiczny jest prawidłowy. Objawy ze strony układu pokarmowego interpretowane są jako reakcja organizmu na stres w nowym otoczeniu, a objawy ze strony układu oddechowego raczej jako wynik zwiększonej podatności na infekcje. Niepokojące objawy ze strony skóry, dają najwięcej do myślenia i mają największy wpływ na podjęcie działań zmierzających do wyeliminowania z diety poszczególnych produktów. Działania te w głównej mierze to edukacja zdrowotna rodziców, skłaniająca ich do wizyty u pediatry w celu konsultacji w zakresie zauważonych niepokojących objawów ze strony poszczególnych układów organizmu. Najczęściej dzieci wracają z zaleceniami zastosowania diety eliminacyjnej.

U niektórych dzieci występuje nietolerancja pokarmowa, co nie jest jednoznaczne z alergią pokarmową. Dzieje się tak w przypadku nietolerancji laktozy, która jest przyczyną występowania różnorodnych objawów ze strony układu pokarmowego takich jak wzdęcia brzucha, ból brzucha, biegunka, oddawanie nadmiernej ilości gazów, a więc objawów bardzo podobnych do alergii pokarmowej. Przewlekłe biegunki są powodem do niepokoju i odesłania dziecka do lekarza. Dzieci wracają do żłobka z zaleceniami wyeliminowania z diety mleka modyfikowanego, które zawiera zwiększoną ilość laktozy. Kiedy dzieci mają zalecenia wyeliminowania mleka modyfikowanego z powodu nietolerancji laktozy, wtedy rodzice mogą przynieść do żłobka mieszankę sojową zakupioną na receptę, która podawana jest dzieciom w placówce. Podobnie jest w przypadku dzieci z alergią pokarmową, które z kolei mogą spożywać tylko mieszankę mlekozastępczą przepisywaną również na receptę przez lekarza specjalistę.

Objawy świadczące o nietolerancji laktozy, czy też alergii na białko mleka krowiego są niezwykle trudne do rozróżnienia.

Zarówno u dzieci z pierwszej jak i z drugiej grupy zauważa się, że dzieci te częściej chorują, a przyczyną długotrwałej nieobecności są nawracające infekcje dróg oddechowych w postaci astmy oskrzelowej, czy też objawy atopowego zapalenia skóry. Część rodziców na korzyść dziecka rezygnuje ze żłobka, a część przyprowadza ich po chorobie. Na ogół dzieci z alergią pokarmową w miarę upływu czasu wyrastają z tych dolegliwości.

Zdarzają się i takie przypadki kiedy dziecko jest karmione naturalnie, a matka karmiąca nie przestrzega zaleceń dietetycznych. Wówczas u dziecka zaczynają pojawiać się niepokojące objawy ze strony skóry w postaci szorstkich wykwitów na policzkach, w zgięciach łokciowych, na podudziach, a ze strony układu pokarmowego ulewania. Zmiany na skórze są tak rozległe, że stają się przyczyną odesłania matki z dzieckiem do lekarza. Dziecko wraca z zaleceniami zastosowania diety eliminacyjnej.

Żłobek wobec dziecka wymagającego diety eliminacyjnej pełni ważną rolę „obserwatora”. Obserwacja dzieci wymaga od personelu opiekuńczego skupienia uwagi na niepożądanych objawach ze strony poszczególnych układów organizmu oraz podejmowania działań weryfikujących spostrzeżenia, co ściśle związane jest z wiedzą na temat nadwrażliwości pokarmowej alergicznej oraz niealergicznej.

3. Przegląd literatury

3.1 Żłobek

Żłobek jest formą opieki nad dziećmi w wieku do lat 3 zgodnie z ustawą z dnia 4 lutego 2011 r. o opiece nad dziećmi w wieku do lat 3. W ramach opieki realizowane są funkcje: opiekuńcza, wychowawcza, edukacyjna. Do głównych zadań żłobka należy w szczególności:

- zapewnienie dziecku opieki w warunkach bytowych zbliżonych do warunków domowych;
- zagwarantowanie dziecku właściwej opieki pielęgnacyjnej oraz edukacyjnej, przez prowadzenie zajęć zabawowych z elementami edukacji, z uwzględnieniem indywidualnych potrzeb dziecka;
- prowadzenie zajęć opiekuńczo-wychowawczych i edukacyjnych, uwzględniających rozwój psychomotoryczny dziecka, właściwych do wieku dziecka (Sejm RP 2013).

Żłobek działa na podstawie Statutu, który określa wnikliwie zadania w szczególności:

- zaspakajanie potrzeb biologicznych, psychicznych i społecznych dziecka,
- zapewnienie opieki pielęgnacyjnej i wychowawczej dzieciom w trosce o ich prawidłowy rozwój,
- podejmowanie działań dydaktycznych wpływających na rozwój dzieci w zależności od ich okresu rozwojowego,
- rozwijanie samodzielności oraz wyrabianie prawidłowych nawyków higieny osobistej, prawidłowego żywienia i kulturalnego zachowania,
- kształtowanie umiejętności współdziałania w grupie rówieśniczej,

- prowadzenie działalności profilaktycznej i oświatowo-wychowawczej oraz promowanie zdrowia,
- współpraca z rodzicami/opiekunami prawnymi celem wypracowania wspólnej linii opiekuńczo-wychowawczej w oparciu o indywidualne potrzeby danego dziecka,
- stworzenie warunków do prawidłowego rozwoju fizycznego i intelektualnego dziecka poprzez różne formy aktywności zabawowej, poznawczej, zaspakajając potrzeby bezpieczeństwa, akceptacji oraz współdziałania w grupie,
- zapewnienie dzieciom wyżywienia zgodnego z wszystkimi obowiązującymi normami żywieniowymi wg Instytutu Matki i Dziecka, odpowiednimi dla danego okresu rozwojowego,
- stworzenie odpowiednich warunków pobytu dzieci w żłobku przez zapewnienie prawidłowej higieny pomieszczeń, sprzętu, bielizny oraz zabawek (Rada Miejska w Bielsku-Białej 2013)

Wymienione wyżej zadania są bardzo ważne, ponieważ stwarzają możliwości do pełnej stymulacji rozwoju fizycznego i psychicznego w zależności od wieku rozwojowego dziecka, stwarzając atmosferę pełną akceptacji, życzliwości, zrozumienia.

Ważnym zadaniem szczegółowym żłobka jest zapewnienie dzieciom wyżywienia zgodnego z obowiązującymi normami żywieniowymi zalecanymi przez Instytut Matki i Dziecka. Dzienna racja pokarmowa powinna zawierać produkty z różnych grup żywności o łącznej wartości energetycznej około 1000 kcal. Rozkład wartości energetycznej całodiennej racji pokarmowej powinien być uwzględniony w 5 posiłkach. Pierwsze śniadanie 250 kcal drugie śniadanie 100 kcal, obiad 300 kcal, podwieczorek 100 kcal, kolacja 250 kcal. Placówki opiekuńczo-wychowawcze typu żłobek zapewniają 75 % całodiennej racji pokarmowej czyli 4 posiłki dziennie oraz kształtują prawidłowe nawyki żywieniowe. Zaleca się, aby dziecko spożywało od czterech do pięciu posiłków w ciągu dnia, w tym trzy podstawowe- śniadanie, obiad i kolację. Przed wyjściem do żłobka powinno ono zjeść w domu śniadanie lub inny niewielki posiłek (Weker, Barańska 2014), (Trafalska i Loszek 2016).

Organizacja żywienia zbiorowego jest odpowiedzialnym wyzwaniem dla placówek opiekuńczo-wychowawczych. W zakładach żywienia zbiorowego obowiązują zasady bezpieczeństwa żywności i żywienia zgodnie z przepisami prawa. Bezpieczeństwo żywności w świetle ustawy to ogół warunków, które muszą być spełnione i działań, które muszą być podejmowane na wszystkich etapach produkcji i obrotu żywnością w celu zapewnienia zdrowia i życia człowieka. Podstawą zapewnienia bezpieczeństwa są wprowadzone zasady GHP/GMP dobrej praktyki higienicznej i produkcyjnej oraz wewnętrznej kontroli jakości zdrowotnej żywności (Sejm RP 2006).

Wdrożenie systemu HACCP to analiza zagrożeń i krytycznych punktów kontroli która polega na wydzieleniu takich punktów i zarządzaniu nimi, które mają zdecydowany wpływ na utrzymanie pod kontrolą poważnych zagrożeń dla zdrowia konsumenta związane ze spożyciem żywności (Parlament Europejski 2002).

W ramach systemu HACCP i Dobrych Praktyk GHP i GMP obowiązuje konieczność informowania klientów o zastosowanych do produkcji potraw substancjach alergizujących i wywołujących reakcje nietolerancji (gluten i laktoza). Na podstawie danych medycznych należy przygotować propozycje diety, w taki sposób, aby dzieci mogły otrzymywać diety eliminacyjne (Parlament Europejski 2011).

3.2 Dieta eliminacyjna

Dieta eliminacyjna polega na wyeliminowaniu z pożywienia składników pokarmowych nietolerowanych przez organizm i jest podstawowym leczeniem przyczynowym w alergii na białka mleka krowiego. Żywnienie przy użyciu zbilansowanych diet jest sposobem żywienia jak i leczenia żywieniowego i musi zastąpić lub uzupełnić karmienie mlekiem kobiecym. Bardzo ważna jest eliminacja szkodliwego pokarmu z diety matek karmiących naturalnie, ponieważ alergeny pokarmowe przenikają do pokarmu matki. U niemowląt karmionych piersią z klinicznym obrazem

alergii pokarmowej nie rezygnuje się z karmienia naturalnego (Krogulska i Wąsowska-Królikowska 2013).

W leczeniu alergii pokarmowej stosowane są preparaty mlekozastępcze, zawierające hydrolizaty białkowe kazeiny lub białek serwatkowych o znacznym stopniu hydrolizy. Wiadomo, że im wyższy stopień hydrolizy białka tym mniejsza jest jego siła alergizacji. Hydrolizaty kazeiny to Nutramigen. Wśród hydrolizatów białek serwatkowych znajdują się np. Bebilon pepti, Bebilon pepti 2, Bebilon pepti MCT. Czasami zdarza się tak, że po przejściu na preparaty hipoalergiczne, u dzieci z alergią na białka mleka krowiego objawy nie ustępują, wówczas istnieje konieczność zastosowania mieszanek elementarnych, w których białko występuje w postaci wolnych aminokwasów na przykład BebilonNeocate. W profilaktyce alergii pokarmowej stosuje się preparaty hipoantygenu o nieznacznym stopniu hydrolizy, w których białko jest częściowo pozbawione właściwości uczulających (Weker i Barańska 2014).

Skuteczność zaleconej diety eliminacyjnej w przypadku niemowląt należy kontrolować co miesiąc, a u dzieci starszych co 3-6 miesięcy. Dieta powinna złagodzić narastające objawy oraz nie powinna ujemnie wpływać na prawidłowy rozwój fizyczny i psychomotoryczny dziecka (Czerwionka-Szaflarska i Adamska 2012).

3.3 Alergia pokarmowa

Alergia pokarmowa jest nadwrażliwością pokarmową alergiczną i stanem patologicznym, w którym niepożądane objawy spowodowane są mechanizmami immunologicznymi. Nieprawidłowa odpowiedź immunologiczna następuje na skutek wprowadzenia do organizmu pokarmu wywołującego uczulenie. Wprowadzony pokarm jest alergenem, który powoduje szereg niepożądanych reakcji pokarmowych, mogących obejmować każdy narząd. Stąd różnorodność objawów zarówno ze strony układu pokarmowego (wymioty, biegunka), ze strony skóry (atopowe zapalenie skóry), jak i układu oddechowego (przewlekły nieżyt nosa, oskrzeli). Rozwój alergii pokarmowej u dzieci warunkują między innymi czynniki genetyczne i środowiskowe (Kaczmarowski i „in” 2012).

Czynnikiem sprzyjającym występowaniu alergii pokarmowej jest sztuczne karmienie niemowląt, czyli wczesne wprowadzenie do diety mleka krowiego lub jego produktów. W zapobieganiu rozwojowi alergii pokarmowej istotną rolę odgrywa karmienie naturalne. Kobieta karmiąca powinna wyeliminować ze swojej diety mleko krowie, orzechy, ponieważ alergeny mogą przenikać do mleka kobiecego. Zalecenia te powinny być przestrzegane zwłaszcza w rodzinach o wysokim ryzyku wystąpienia alergii. Kiedy karmienie naturalne jest niemożliwe lub niewystarczające po konsultacji z lekarzem zalecane są tylko i wyłącznie preparaty mlekozastępcze tak zwane hydrolizaty o zmniejszonej alergenności (Czerwionka-Szaflarska i „in.” 2013.)

Najczęstszymi przyczynami alergii pokarmowej u dzieci są białka mleka krowiego. Dlatego też, białka te, pod wpływem działań enzymatycznych i termicznych zostają rozbite na coraz drobniejsze cząsteczki pozbawione już właściwości uczulających, będące głównym składnikiem hydrolizatów.

Objawy alergii na białka mleka krowiego są bardzo różnorodne i mogą być takie same jak w innych postaciach alergii. Wśród objawów ze strony układu pokarmowego najczęściej pojawiają się: nudności, wymioty; u niemowląt ulewania, bóle brzucha, biegunka, zaparcia. Objawy ze strony przewodu pokarmowego nie występują po jednorazowym spożyciu danego pokarmu lecz po kilkakrotnej konsumpcji tego produktu.

Bardzo groźnym, ale rzadko występującym objawem ogólnym jest wstrząs anafilaktyczny, który może wystąpić w kilka minut po spożyciu już kilku kropli mleka .

Najczęstsze objawy ze strony skóry to: świąd skóry, wysypki, pokrzywka, wyprysk niemowlęcy, atopowe zapalenie skóry.

Najczęściej występujące dolegliwości ze strony układu oddechowego to: kichanie, surowiczy katar z nosa, upośledzenie drożności nosa, świszczący oddech, przewlekły kaszel oraz duszność (Mach-Tomalska i Fyderek 2013).

3.4 Nietolerancja laktozy

U dzieci z alergią pokarmową na białko mleka krowiego powstaje nadwrażliwość organizmu na alergen, którym jest obce białko mleka krowiego oraz natychmiastowa reakcja układu immunologicznego, czego nie ma przy nietolerancji laktozy.

Przyczyną nietolerancji laktozy jest niedostateczna produkcja w przewodzie pokarmowym enzymu odpowiedzialnego za trawienie laktozy (cukier mleczny występujący w mleku matki oraz w mleku innych ssaków-krowim, kozim, owczym). Laktoza jest podstawowym węglowodanem wchodzącym w skład mleka ssaków. Jest dwucukrem zbudowanym z glukozy i galaktozy, laktoza potocznie nazywana jest cukrem mlecznym. W procesie trawienia laktoza rozkładana jest przez enzym zwany laktazą. W przypadku zaburzenia procesu trawienia w organizmie następuje niedostateczne wytwarzanie laktazy niezbędnej do rozkładu cukru mlecznego. Nietolerancja laktozy jest przyczyną występowania różnorodnych objawów ze strony układu pokarmowego, takich jak wzdęcie brzucha, oddawanie nadmiernej ilości gazów, kurczowy ból brzucha oraz biegunkę. Nietolerancja laktozy jest związana z mechanizmem enzymatycznym, a nie immunologicznym. Wiedza rodziców na ten temat nie jest wystarczająca. Nietolerancja laktozy jest nadwrażliwością pokarmową niealergiczną (Kaczmarski M i „in” 2012), (Kalinowski i Mirosław 2014).

4. Podsumowanie

Żłobek wobec dziecka wymagającego diety eliminacyjnej zobowiązany jest do ścisłego przestrzegania zaleceń wyeliminowania z diety produktów wywołujących uczulenie i zastąpienia ich innymi produktami o zbliżonej wartości energetycznej. Instytucja ma obowiązek informowania rodziców jakie substancje lub produkty powodujące alergię lub reakcje nietolerancji występują w konkretnym daniu.

Żłobek wobec dziecka wymagającego diety eliminacyjnej pełni rolę obserwatora. Zarazem ważne są obserwacja dzieci, zwłaszcza tych z zaleceniami diety eliminacyjnej w kierunku niepokojących objawów alergii oraz warsztaty edukacyjne dla rodziców i personelu opiekuńczego w zakresie różnicowania objawów nadwrażliwości alergicznej z nadwrażliwością niealergiczną.

Organizacja żywienia zbiorowego w żłobku powinna być realizowana w oparciu o procedury HACCP, które pozwalają na analizę zagrożeń dla zdrowia dziecka związanych ze spożyciem żywności oraz wyodrębnić krytyczne punkty kontroli i nimi zarządzać. Wdrożenie systemu HACCP gwarantuje pełne bezpieczeństwo zdrowotne żywności.

5. Literatura

- Czerwionka-Szaflarska M, Adamska I (2012) Alergia na białka mleka krowiego u dzieci. *Klinika Alergologia Lekarz* 4; 20-26.
- Czerwionka-Szaflarska M, Łos-Rycharska E, Sterkowicz A (2013) Alergia na pietruszkę u pięcioletniego niemowlęcia karmionego naturalnie. *Pediatrics Polska* 88;189-193.
- Dobrzańska A, Charzewska J, Weker H (2012) Normy żywienia zdrowych dzieci w 1–3 roku życia – Stanowisko Polskiej Grupy Ekspertów. *Standardy Medyczne Pediatrics T9*; 313-316.
- Kaczmarski M, Jarocka-Cyrta E, Wasilewska J „i in.” (2012) Alergia pokarmowa u dzieci i młodzieży. *Polskie stanowisko Część I-Definicja i objawy. Standardy Medyczne/Pediatrics* 9;9-28.
- Kaczmarski M, Żur E, Wasilewska J „i in.” (2012) Alergia wielopokarmowa w wieku dziecięcym-aktualny problem kliniczny diagnostyczny i leczniczy. *Gastroenterologia Praktyczna - Wydanie specjalne. Wydawnictwo Czelej sp. z o.o. str. 29.*
- Kalinowski P, Mirosław K (2014) Wiedza rodziców na temat alergii pokarmowej występującej u ich dzieci. *Medycyna Ogólna i Nauki o Zdrowiu, Tom 20, Nr 1, 88–91.*
- Krogulska A, Wąsowska-Królikowska K (2013) Podstawowe zasady diagnostyki i leczenia alergii na pokarmy. *Klinika Pediatryczna* 21(2);217-219.
- Łos-Rycharska E, Czerwionka-Szaflarska M (2012) Alergia na mleko matki. *Pediatrics Polska* 87:537.
- Mach-Tomalska M, Fyderek K (2013) Alergia pokarmowa. *Klinika pediatryczna* 21 (3); 387-389.

- Obwieszczenie Rady Miejskiej w Bielsku-Białej (2013) Uchwała Nr VI/ 95/2011 Rady Miejskiej w Bielsku-Białej z dnia 12 kwietnia 2011 r.
- Rozporządzenie (WE) nr 178/2002 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 28 stycznia 2002 r. ustanawiające ogólne zasady i wymagania prawa żywnościowego, powołujące Europejski Urząd ds. Bezpieczeństwa Żywności oraz ustanawiające procedury w zakresie bezpieczeństwa żywności.
- Rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady (UE) nr 1169/2011 z dnia 25 października 2011 r. w sprawie przekazywania konsumentom informacji na temat żywności, zmiany rozporządzeń Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 1924/2006 i (WE) nr 1925/2006 oraz uchylenia dyrektywy Komisji 87/250/EWG, dyrektywy Rady 90/496/EWG, dyrektywy Komisji 1999/10/WE, dyrektywy 2000/13/WE Parlamentu Europejskiego i Rady, dyrektyw Komisji 2002/67/WE i 2008/5/WE oraz rozporządzenia Komisji (WE) nr 608/2004.
- Sejm RP (2013) Ustawa z dnia 4 lutego 2011r. o opiece nad dziećmi w wieku do lat 3 Dz.U.2013 poz. 1457.
- Sejm RP (2006) Ustawa z dnia 25 sierpnia 2006 o bezpieczeństwie żywności i żywienia Dz.U. Nr 171 poz. 126.
- Trafalska E, Loszek K (2016) Wspólnie z dziećmi. Wydział Zdrowia i Spraw Społecznych Departament Komunikacji Społecznej i Zdrowia Urzędu Miasta Łodzi; 60-67.
- Weker H, Barańska M, Strucińska M „i in.” (2012) Poradnik żywienia dziecka w wieku od 1 do 3 roku życia. Zakład Żywienia Instytut Matki i Dziecka; 40-49.
- Weker H, Barańska M (2014) Żywienie niemowląt i małych dzieci. Zasady postępowania w żywieniu zbiorowym. Instytut Matki i Dziecka; 20-33, 98.

2. Barwniki spożywcze

Food Dyes

Bitner Ewelina⁽¹⁾, Kowalewska Monika⁽²⁾

⁽¹⁾Studenckie Koło Naukowe „Liga Ochrony Przyrody”, Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie

⁽²⁾Instytut Technologii Chemicznej Organicznej, Wydział Technologii i Inżynierii Chemicznej, Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie.

Ewelina Bitner: bitnerewelina@gmail.com

Słowa kluczowe: barwniki, żywność, związki naturalne, związki syntetyczne

Streszczenie

W pracy przedstawiono przegląd doniesień literaturowych dotyczących barwników stosowanych jako dodatki do żywności. Barwa świeżych produktów spożywczych zależy głównie od składu i zawartości barwników naturalnych. Niestety zazwyczaj są to związki nietrwałe, a ich przemiany w trakcie przechowywania i przetwarzania żywności powodują zmiany zabarwienia otrzymanych ostatecznie produktów. Dlatego też w celu zwiększenia ich atrakcyjności stosuje się dodatki barwników, są to głównie barwniki naturalne lub barwniki syntetyczne, które są stabilniejsze i wygodniejsze w użyciu niż barwniki naturalne, niestety mogą one wpływać negatywnie na organizm człowieka.

1. Wstęp

Barwniki są jednym z ważniejszych dodatków do żywności. Barwa ma szczególne znaczenie w ocenie jakości produktów spożywczych przez konsumenta, może zachęcić lub zniechęcić go do spożycia. Barwniki dodaje się do żywności między innymi w celu nadania barwy produktom bezbarwnym, przywrócenia barwy produktom, których barwa uległa zmianie w wyniku procesu technologicznego lub w celu wzmocnienia barwy produktów czy też nadania im całkiem nowej barwy. Barwienie żywności ogranicza Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 22 listopada 2010 r. w sprawie dozwolonych substancji dodatkowych. Rozporządzenie to zaleca stosowanie barwników naturalnych jako dodatków do żywności, jeżeli jest to możliwe, a także zezwala na stosowanie niektórych barwników syntetycznych, ale tylko wówczas gdy jest to całkowicie niezbędne. Ponadto rozporządzenie wyklucza barwienie pewnych produktów spożywczych, m.in. naturalnych wód mineralnych, mleka, olejów, jaj, owoców, warzyw, serów, czekolady, herbaty, kawy, itd.

2. Opis zagadnienia

Niniejsza praca dotyczy wybranych doniesień literaturowych na temat barwników naturalnych oraz syntetycznych stosowanych jako dodatki do żywności.

Podstawny kryterium klasyfikacji barwników jest ich pochodzenie oraz sposób otrzymywania. Według tej klasyfikacji możemy wyróżnić barwniki organiczne oraz nieorganiczne. Barwniki nieorganiczne są tylko w niewielkim stopniu wykorzystywane do barwienia produktów spożywczych, znalazły zastosowanie głównie w piekarnictwie, cukiernictwie oraz przy produkcji wódek (Kępska i in. 2012). Znacznie większą rolę jako dodatki do żywności odgrywają barwniki organiczne, które możemy podzielić na barwniki naturalne oraz barwniki syntetyczne (barwniki syntetyczne identyczne z naturalnymi oraz barwniki syntetyczne).

Barwniki naturalne mogą być pochodzenia roślinnego, zwierzęcego lub mineralnego. Stosowane w przemyśle barwniki naturalne są otrzymywane w wyniku ekstrakcji surowców roślinnych, takich jak liście, kwiaty, owoce czy korzenie. Po zagęszczeniu uzyskanego ekstraktu i izolacji barwnika uzyskuje się gotowe preparaty barwiące.

Barwniki naturalne w zależności od struktury możemy podzielić na:

- barwniki izoprenoidowe – karotenoidy

- barwniki porfiryne – chlorofile, hemoglobina oraz mioglobina
- barwniki flawonoidowe – antocyjany
- barwniki betalainowe – betanina
- barwniki chinoidowe – koszenila
- inne – ryboflawina, kurkumina, karmele (Stolarzewicz i in. 2012).

Barwniki naturalne cieszą się większą popularnością i akceptacją konsumentów, w stosunku do nich nie ma zastrzeżeń natury zdrowotnej, co oznacza, że mogą być bezpiecznie stosowane jako dodatki do żywności. Charakteryzują się natomiast mniejszą zdolnością barwienia oraz większą wrażliwością na działanie różnych czynników takich jak tlen, światło, temperatura oraz pH środowiska, dlatego też możliwości ich zastosowania są ograniczone.

Zgodnie z dyrektywą 94/36/WE Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 30 czerwca 1994 r. w sprawie barwników używanych w środkach spożywczych w Polsce można używać następujących organicznych barwników naturalnych, m.in.: kurkumę - kurkuminę (E 100), koszenilę (E 120), chlorofil (E 140), karmel naturalny (E 150a), karoten (E 160a), betaninę – czerwień buraczną (E 162) oraz antocyjany (E 163), itd. (Monitor Polski, 1993).

Spożywcze barwniki syntetyczne to duża grupa związków organicznych o różnej strukturze, nie występujących w produktach naturalnych. W zależności od budowy chemicznej można podzielić je na:

- barwniki azowe np. czerwień Allura (E 129)
- barwniki triarylometanowe np. zieleń S (E 142)
- barwniki ksantenowe np. erytrozyna (E 127)
- barwniki indygooidowe np. indygotyna (E 132)
- barwniki chinolinowe np. żółcień chinolinowa (E 104) (Dłużewska i Gasik 2009).

Zaletą tych barwników jest niska cena, standardowa moc barwienia, duża trwałość i odporność na różne czynniki fizyczne i chemiczne oraz niższe koszty procesu produkcji w porównaniu z produkcją barwników naturalnych (Walford 1980). Zalety te zachęcają producentów do wykorzystywania barwników syntetycznych jako dodatków do żywności, pomimo wielu doniesień na temat ich negatywnego wpływu na organizm człowieka. Przykładem mogą być barwniki azowe, które ulegają rozkładowi pod wpływem naturalnej flory jelitowej do amin aromatycznych, które mogą być przyczyną częstych bólów głowy u dorosłych, natomiast dzieci pod ich wpływem często stają się nadpobudliwe (Rafii i in. 1997; Hawley i in. 1976).

3. Przegląd literatury

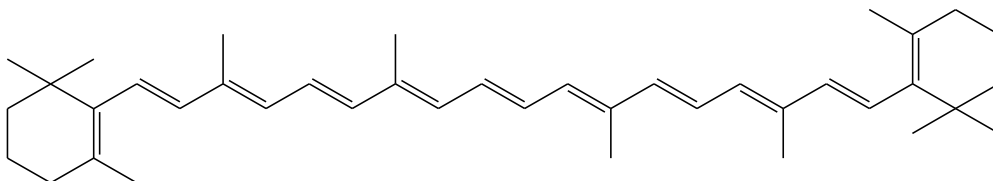
Barwniki naturalne – barwniki karotenowe (E 160)

Karotenoidy są to związki polienowe, należące do grupy terpenów. Są zbudowane z ośmiu jednostek izoprenowych połączonych tak, że układ reszt izoprenowych jest odwrócony w środku cząsteczki. Mogą występować w formie acyklicznej, monocyklicznej lub bicyklicznej. Mają barwę od żółtej przez pomarańczową do czerwonej, są syntetyzowane tylko przez rośliny. Można podzielić je na trzy grupy:

- karoteny – węglowodory nie zawierające tlenu, np. likopen, α - i β -karoten
- ksantofile – pochodne karotenów zawierające w cząsteczce tlen w postaci grup hydroksylowych, karbonylowych i epoksydowych, np. luteina, neoksantyna
- *apo*-karotenoidy – karotenoidy zdegradowane lub otrzymane syntetycznie, zawierające mniej niż 40 atomów węgla oraz fragment cząsteczki z czterema grupami metylowymi np. krocetyna.

Zawartość karotenoidów w produktach żywnościowych jest stosunkowo niewielka (ok. 0,1% suchej masy). Bogate w karotenoidy są warzywa takie jak czerwona papryka, marchew i szpinak oraz owoce takie jak grejpfruty, morele i nektarynki (Muller 1997; Rutkowski i in. 2007).

W organizmie człowieka karotenoidy mogą pełnić między innymi funkcję prowitaminy A, największą aktywność wykazuje tu β -karoten zawierający dwa pierścienie β -jonowe (Rys. 1). Ponadto karotenoidy charakteryzują się aktywnością antyoksydacyjną, mogą wymiatać wolne rodniki oraz hamować procesy peroksydacji lipidów (Rice-Evans i in. 1997).



Rys. 1. Struktura β -karotenu.

Barwniki karotenowe jako dodatki do żywności wykorzystywane są w formie ekstraktów olejowych lub czystych, krystalicznych barwników, najczęściej syntetycznych. Z grupy barwników naturalnych największe znaczenie mają:

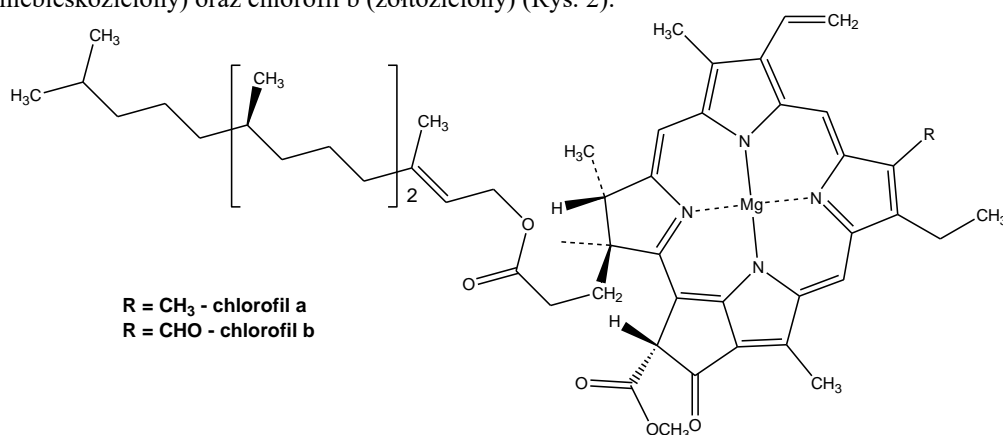
- annato (E 160b) – pomarańczowożółty barwnik otrzymywany z nasion drzewa arnoty właściwej (*Bixa orellana*), zawierający jako substancje barwne biksynę i norbiksynę
- szafran – żółty barwnik otrzymywany z szafranu uprawnego (*Crocus sativus*), zawierający jako substancję barwną krocynę
- likopen (E 160d) – pomarańczowoczerwony barwnik, obecny w wielu żółtych, pomarańczowych i czerwonych roślinach i owocach, np. w skórce pomidorów
- olej palmowy nierafinowany – zawierający od 0,2% do 0,5% barwników karotenowych (α - i β -karoten)

Barwniki naturalne – barwniki porfirytowe – chlorofile (E 140, E 141)

Porfirydami nazywamy związki heterocykliczne zawierające cztery pierścienie pirolowe połączone przez grupy metinowe, tworzące duży układ cykliczny. Charakterystyczną cechą porfirydów jest zdolność do tworzenia trwałych połączeń z jonami metali, koordynowanymi atomami azotu.

Barwniki porfirydowe stanowią grupę związków pełniących najistotniejsze funkcje fizjologiczne, występują u wszystkich grup systematycznych. Do najważniejszych pigmentów z tej grupy należą chlorofile, występujące u roślin i bakterii fotosyntetyzujących oraz pochodne hemowe, wchodzące w skład hemoglobiny oraz cytochromów.

Z punktu widzenia chemii żywności jako dodatek do produktów spożywczych największe znaczenie spośród barwników porfirydowych ma chlorofil. Jest on najbardziej rozpowszechnionym barwnikiem roślinnym, odgrywa bardzo ważną rolę w procesach biosyntezy zachodzących w zielonych częściach roślin. U roślin wyższych występują dwa barwniki chlorofilowe: chlorofil a (niebieskozielony) oraz chlorofil b (żółtozielony) (Rys. 2).



Rys. 2. Struktura chlorofilu a i b.

Bogate w chlorofile są liściaste warzywa zielone takie jak jarmuż, brokuły, zielona papryka i szpinak (Podsędek A i in. 2017).

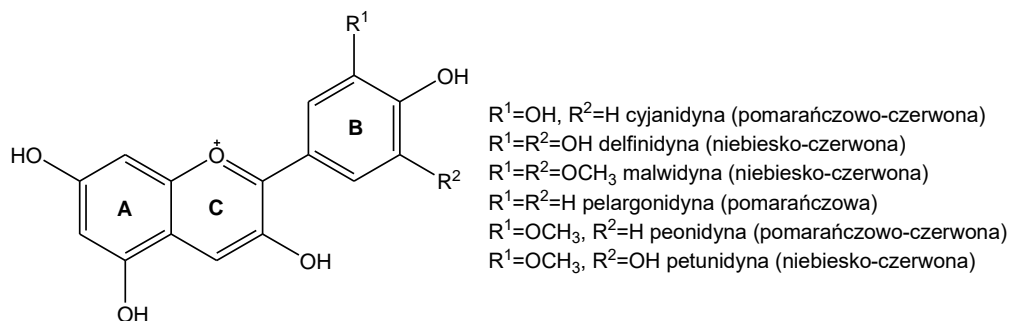
Chlorofile są również najmniej trwałymi barwnikami roślinnymi, ponieważ łatwo ulegają nieodwracalnym przemianom pod wpływem kwasów i zasad. Charakterystyczną cechą chlorofili jest możliwość wymiany jonów magnezu na jony innych metali. W chemii żywności stosuje się między innymi kompleksy miedziowe chlorofili (E 141), które charakteryzują się większą stabilnością naturalnej, zielonej barwy i które mogą być bezpiecznie stosowane jako dodatki do produktów spożywczych. Produkują się różne preparaty z wykorzystaniem tych barwników:

- chlorofil miedziowany i niemiedziowany – w postaci koncentratów olejowych, etanolowych lub sypkich preparatów z dodatkiem różnych nośników.
- chlorofilinę miedziowaną – w postaci sypkich preparatów z dodatkiem różnych nośników.

Chlorofil (E 140) stosowany jest do barwienia zup, sosów, oliwy z oliwek, oleju sojowego, lodów oraz napojów mlecznych (Rutkowski i in. 2007; Cygan-Szczegieliński i in. 2015).

Barwniki naturalne – barwniki antocyjanowe – antocyjany (E 163)

Antocyjany są to naturalne barwniki powszechnie występujące w świecie roślinnym, nadające kwiatom i owocom kolory od pomarańczowego przez czerwony i fioletowy aż do niebieskiego. Są glikozydami antocyjanidyn acylowanymi lub nie kwasami aromatycznymi lub alifatycznymi. Charakteryzują się szkieletem węglowym C₆-C₃-C₆, nazywanym kationem flawyliowym, zawierającym dwa pierścienie aromatyczne (A i B) połączone alifatycznym trójwęglowym pierścieniem C. W żywności szeroko stosowanych jest sześć antocyjanidyn (Rys. 3): cyjanidyna (E 163a), delfinidyna (E 163b), malwidyna (E 163c), pelargonidyna (E 163d), peonidyna (E 163e) oraz petunidyna (E 163f).



Rys. 3. Struktura antocyjanidyn.

Bogate w antocyjany są między innymi borówka amerykańska, czarna i czerwona porzeczka, aronia, czarny bez, jeżyny oraz czerwona kapusta (Podsędek i in. 2017).

Surowcem do otrzymywania antocyjanów jako naturalnych barwników spożywczych są wyciągi z owoców (np. czarnych winogron, aronii, żurawiny czy czarnego bzu), które poddaje się ekstrakcji etanolem z dodatkiem kwasu solnego lub wodą z dodatkiem ditlenku siarki. Ekstrakty zagęszcza się i suszy metodą rozpryskową. Otrzymuje się wówczas trwałe barwniki zawierające od 1% do 5% antocyjanów. Barwniki antocyjanowe stosowane są do barwienia napojów bezalkoholowych, konserw, dżemów, lodów, wina oraz wyrobów cukierniczych (Cygan-Szczegieliński i in. 2015; Rutkowski i in. 2007).

Barwniki naturalne – barwniki betalainowe – betanina (E 162)

Barwniki betalainowe występują w niewielkiej liczbie roślin rzędu *Caryophyllales* (goździkowce) oraz w grzybach wyższych. Bogate w te barwniki są również buraki ćwikłowe, owoce kaktusów (opuncji, *Hylocereus polyrhizus*) oraz kwiaty i nasiona szkarłatki (*Amarantusa*). Ze względu

na strukturę możemy je podzielić na dwie grupy: betaksantyny (barwniki żółte) oraz betacyjany (barwniki czerwono-fioletowe).

Do barwienia produktów spożywczych spośród barwników betalainowych wykorzystuje się betaninę inaczej zwaną czerwienią buraczną (E 162), która stanowi 75-95% zawartości betalain w burakach ćwikłowych. Jako barwnik spożywczy betanina stosowana jest w formie ciekłych koncentratów soku z buraków ćwikłowych lub sypkich preparatów otrzymywanych w wyniku suszenia rozpyłowego z dodatkiem maltodekstryny jako nośnika (Czapski i in. 2014; Rutkowski i in 2007).

Barwniki naturalne – barwniki chinoidowe – koszenila (E 120)

Koszenila jest jedynym barwnikiem pochodzenia zwierzęcego stosowanym jako dodatek do żywności. Pozyskiwana jest z samic i larw owadów z rodziny *Coccidea*, wyróżnia się koszenilą amerykańską, polską, armeńską oraz kermes. Podstawowymi barwnikami wchodzącymi w jej skład są: kwas karminowy, kwas kermesowy oraz kwasy lakkainowe A, B, C i D. Zawartość procentowa tych składników może się różnić w zależności od pochodzenia owadów. Stosuje się ją do barwienia napojów alkoholowych, sosów, mięsa, jogurtów, polew oraz wypieków. Koszenila nie jest toksyczna, jednak zanieczyszczenia, które mogą być obecne w preparatach barwnika mogą powodować u niektórych osób reakcje alergiczne, a w niektórych przypadkach nawet wstrząs anafilaktyczny (Cygan-Szczegieliński i in 2015; Śliwka-Kaszyńska i in. 2016).

Inne barwniki naturalne

Kurkumina (E 100) – jest pomarańczowo-żółtym barwnikiem fluoryzującym. Otrzymywana jest z kłączy rośliny ostryż długi (*Curcuma longa*) zwanej również kurkumą. Produkt handlowy stanowi czysta, krystaliczna kurkumina lub oleożywica zawierająca ok. 40% barwnika. Ze względu na ostry smak i zapach używana jest głównie do barwienia przypraw, zup, konserw i musztard (Rutkowski i in. 2007).

Karmele (E 150) – zaliczane są do barwników naturalnych, pomimo, że nie można ich znaleźć w świeżych produktach roślinnych i zwierzęcych. Tworzą się w wyniku kontrolowanego ogrzewania węglowodanów takich jak sacharoza, glukoza i fruktoza. W zależności od sposobu produkcji wyróżniamy: karmel alkaliczny E 150a (brązowo-czarny), karmel siarczynowy E 150b (brązowy), karmel amoniakalny E 150c (brązowy) oraz karmel amoniakalno-siarczynowy E 150d (brązowy). Karmele stosowane są do barwienia napojów alkoholowych (whisky, brandy), napojów typu cola, czekolady, przypraw, octów, ciast, chlebów oraz dżemów i galaretek (Cygan-Szczegieliński i in 2015; Tomasiak i in. 2002).

Barwniki syntetyczne identyczne z naturalnymi

Śród syntetycznych barwników karotenowych jako dodatki do żywności dopuszczone są tylko cztery związki o strukturze identycznej albo bardzo zbliżonej do barwników naturalnych, są to: β -karoten (E 160a), *apo*-karotenal (E 160e), ester kwasu *apo*-karotenowego (E 160f) oraz kantaksantyna (E 161g). Są one otrzymywane w formie krystalicznej i stosowane w postaci:

- zawiesiny krystalicznego, mikronizowanego β -karotenu w oleju (zawartość czystego barwnika wynosi od 20% do 30%)
- zawiesiny koloidalnej barwnika w matrycy żelatynowo-sacharydowej (zawartość czystego barwnika wynosi od 2% do 10%)
- sproszkowanego preparatu rozpuszczalnego w wodzie (zawartość czystego barwnika wynosi 1%) (Klaur i Bauernfeind 1981; Rutkowski i in. 2007).

β -Karoteny o strukturze identycznej do barwników naturalnych stanowią dużą część rynku barwników spożywczych, ich głównym zastosowaniem są żółte tłuszcze takie jak margaryny, niskotłuszczowe pasty do smarowania oraz napoje bezalkoholowe, słodcyce i produkty piekarnicze (Downham i Collins 2000).

Innym barwnikiem syntetycznym identycznym z naturalnym jest ryboflawina (E 101) czyli witamina B₂, będąca żółtym barwnikiem występującym głównie w produktach roślinnych, mięsie, mleku i drożdżach. Stosowana jest jako dodatek barwiący produkty zbożowe, sosy, sery oraz przyprawy (Tomasik i in. 2002).

Barwniki syntetyczne

Rozwój syntezy organicznej sprawił, że otrzymano wiele nowych substancji barwnych, niestety tylko kilka z nich można stosować jako dodatki do barwienia żywności. Zgodnie z Rozporządzeniem Ministra Zdrowia z dnia 22 listopada 2010 r. w sprawie dozwolonych substancji dodatkowych w Polsce można stosować następujące barwniki syntetyczne: tartrazynę (E 102), żółcień chinolinową (E 104), żółcień pomarańczową (E 110), azorubinę (E 122), czerwień koszenilową (E 124), czerwień Allura (E 129), błękit patentowy (E 131), indygotynę (E 132), czerń brylantową (E 151), fiolet metylowy, itd.

Barwniki syntetyczne stosowane są w postaci proszków i granulatów (zawartość czystego barwnika od 88-93%), past (zawartość czystego barwnika 4-10%) oraz roztworów wodnych (zawartość czystego barwnika 1-6%).

Stosuje się je głównie w cukiernictwie, przy produkcji napojów orzeźwiających i alkoholowych oraz deserów w proszku. Nie można ich stosować do barwienia przetworów mlecznych, warzywnych oraz owocowych. Azorubinę i błękit patentowy można stosować wyłącznie do barwienia drażetek, fiolet metylowy tylko do znakowania skórek serów twardych i mięsa (Rutkowski i in. 2007; Tomasik i in. 2002). Stosowanie barwników syntetycznych może powodować wiele skutków ubocznych, między innymi: reakcje alergiczne, astmę, nadpobudliwość czy bóle głowy (Cygan-Szczegieliński i in. 2015).

Barwniki nieorganiczne

Barwniki nieorganiczne odgrywają bardzo małą rolę w barwieniu produktów żywnościowych. Najczęściej stosowane są jako pigmenty w cukiernictwie do powierzchniowego barwienia polew cukierniczych na kolor biały (węglan wapnia E 170 i ditlenek tytanu E 171) oraz na kolor czerwono-brązowy (tlenek żelaza E 172). Ponadto stosuje się je również w celu uzyskania charakteru metalicznego produktów spożywczych (pył aluminium E 173, pył srebra E 174 i proszek lub płatki złota E 175) (Kępska i in. 2012; Rutkowski i in. 2007).

4. Podsumowanie

Jako dodatki do żywności największą popularnością wśród konsumentów cieszą się barwniki naturalne, ze względu na bezpieczeństwo stosowania oraz w niektórych przypadkach prozdrowotny wpływ na organizm człowieka. Producenci żywności zdecydowanie chętniej stosują barwniki syntetyczne, które są tańsze, bardziej stabilne i odporne na czynniki fizyko-chemiczne, niż barwniki naturalne. Jednak stosowanie większości z nich może wpływać niekorzystnie na człowieka, mogą one wywoływać reakcje alergiczne, astmę, bóle głowy, a u dzieci mogą być przyczyną nadpobudliwości. Dlatego też ciągle trwają poszukiwania nowych, syntetycznych barwników, które mogłyby być bezpiecznie stosowane w barwieniu żywności, nie wpływając negatywnie na ludzki organizm.

5. Literatura

- Cygan-Szczegieliński D, Janicki B, Roślewska A i in. (2015) Dodatki do żywności. Wydawnictwo Uczelniane Uniwersytetu Technologiczno-Przyrodniczego w Bydgoszczy, Bydgoszcz, 60-72.
- Czapski J, Gościńska K i in. Praca zbiorowa pod redakcją Janusza Czapskiego i Danuty Góreckiej (2014) Żywność prozdrowotna – składniki i technologia. Wydawnictwo Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu, Poznań, 164-171.
- Dłużewska E, Gasik A (2009) Barwniki do żywności, trudności z ich doбором i stosowaniem. Przemysł Spożywczy 5: 10-14.

- Downham A, Collins P (2000) Colouring our foods in the last and next millennium. *International Journal of Food Science and Technology* 35; 5-22.
- Hawley C, Buckley RE (1976) Hyperkinesia and sensitivity to the aniline food dyes. *Orthomolecular Psychiatry* 5 (2): 129–137.
- Kępska M, Królasik J, Szosland-Fałtyn A, Stanisławska A (2012) Źródła barwników w żywności. *Przemysł Spożywczy* 6: 12 – 17.
- Klaui H, Bauernfeind JC (1981) Carotenoids as food colours. In: *Carotenoids as colorants and vitamin A precursors*. Academic Press, New York, 47-318.
- Monitor Polski, Dziennik Urzędowy Rzeczypospolitej Polskiej Nr. 22, Warszawa dnia 11 maja 1993 r.
- Muller H (1997) Determination of the carotenoid content in selected vegetables and fruit by HPLC and photodiode array detection. *Zeitschrift für Lebensmitteluntersuchung und -Forschung A* 204: 88-94.
- Podsędek A i in. Praca zbiorowa pod redakcją Zdzisława E Sikorskiego i Hanny Staroszczyk (2017) *Chemia żywności. Tom 1. Główne składniki żywności*. Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa, 339-360.
- Rafii F, Hall JD, Cerniglia CE (1997) Mutagenicity of azo dyes used in foods, drugs and cosmetics before and after reduction by *Clostridium* species from the human intestinal tract. *Food and Chemical Toxicology* 35: 897–901.
- Rice-Evans CA, Sampson J, Bramley PM, Holloway DE (1997) Why do we expect carotenoids to be antioxidants in vivo? *Free Radical Research* 26: 381-398.
- Rutkowski A, Wilska-Jeszka J i in. Praca zbiorowa pod redakcją Zdzisława E Sikorskiego (2007) *Chemia żywności. Tom 1. Składniki żywności*. Wydawnictwo Naukowo-Techniczne, Warszawa, 118-120, 142-171.
- Stolarzewicz I, Kapturowska A, Białecka-Florjańczyk E (2012) Mikrobiologiczne źródła barwników w technologii żywności. *Postępy Mikrobiologii* 51(3): 167-176.
- Śliwka-Kaszyńska M, Otłowska O, Rachoń J (2016) Naturalne organiczne substancje barwiące. *Wydawnictwo Politechniki Gdańskiej, Gdańsk*, 17-18.
- Tomasik P, Wilska-Jeszka J i in. Praca zbiorowa pod redakcją Zdzisława E Sikorskiego (2002) *Chemia żywności*. Wydawnictwo Naukowo-Techniczne, Warszawa, 157-158.
- Walford J (1980) *Developments in Food Colours – 1*, Applied Science Publishers LTD, London.

3. Reduce the use of nitrates and nitrites as a new trend in meat technology

Ferysiuk Karolina, Wójciak M. Karolina

Department of Meat Technology and Food Quality, Faculty of Food Science and Biotechnology, University of Life Sciences in Lublin

Karolina Ferysiuk: karolinaferysiuk@10g.pl

Key words: curing, nitrosamines, alternative methods, health

Abstract

The main purpose of using nitrate and nitrite was to protect meat products from harmful microorganisms, especially from *Clostridium botulinum*. In addition, nitrates and nitrites impaired characteristic aroma, flavour and colour in meat products. With the development of science and medicine, it turned out these additives cause negative effects on the human body (e.g. colour ectal cancer). Particularly dangerous for health turned out to be nitrite and compounds that arise during the transformation of the human body (nitrosamines, etc.). For this reason, new alternative methods of curing are now being sought. One alternative is the use of Cooked Cured Meat Pigment – this allows to achieve a characteristic colour of meat products but does not give full anti-botulinum effect. Another method is the use of nitrate-reducing bacterial starter cultures (*Staphylococcus carnosus* or *Staphylococcus xylosus*) with the source of nitrate (vegetable juice powder or extracts e.g. from celery). Nitrite is still a multifunctional additive, but this does not mean that this is an irreplaceable additive.

1. Introduction

One of the oldest method to preserve meat product was curing process. This process allowed to receive characteristic colour, flavour of meat products and safety – strong inhibit properties of main cure mixed agent: nitrite. Everything has both positive and negative features. Nitrite gave colour and flavour but proved to be very harmful for human health. An idea came up to produce meat product without nitrite – with an alternative curing process in order to try to eliminate or reduce the level of nitrite in meat products. This was due not only to health reasons but also by rising the consumer awareness and fear associated with “chemical food additives”.

2. Description of the problem

Nitrate and, especially, nitrite was used from centuries as a common way to protect meat products. Unfortunately, in the course of research, it turned out that nitrites are not indifferent to human health. Nitrate is a nitrosamine precursor, which are formed by the reaction of nitrosation in acid environment with II-amides. N-nitrosamines, chemical compounds are characteristic carcinogenic and teratogenic properties. For this reason, it is very important to find a way, to limit their use and at the same time to allow to receive safe, eatable product accepted by consumers.

3. Review of the literature

Curing meat process is one of the oldest way to preserve food from spoilage. Historical sources state that this method was known even before 10th century. People in those days used “saltpeter” – potassium nitrate. Probably after 10th century, in Roman Empire, people started to combine red colour and characteristic flavour with saltpeter (Sindelar and Milkowski 2012; Bedale et al. 2016). In 19th century people discovered what is exactly responsible for red colour of meat products (Sebranek and Bacus 2007; Sindelar 2012) and in about 1900s it was understood what kind of process occurs during curing and what are exactly the main cured agents (Bedale et al. 2016). Since then, people began to apply nitrite in meat industry. Everything was change about 1960s, when scientist realised that in chemical reactions between nitrite and secondary amines they can create N-nitrosamines – carcinogenic compounds (Sebranek and Bacus 2007; Sindelar and Milkowski 2012;

Bedale et al. 2016). The use of nitrite has been reduced, further studies were are being conducted and consumers became reluctant to looking at any chemical additives (Bedale et al. 2016).

Cured process is a technological process used in meat industry, consisting of adding salt, nitrite, nitrate (sometimes) mixture to meat (Parthasarathy and Bryan 2010). In effect meat products have characteristic red colour, unique and characteristic flavour, microbial inhibition (especially *C. botulinum*) and it extends the shelf life. In that mixture, nitrite is the main active substance (Sindelar and Milkowski 2012; Sebranek and Bacus 2007). Colour is a very important factor for consumers – it decides whether or not to buy the products (Sindelar et al. 2007). Characteristic feature of cured products is red colour, which is created not by reaction with nitrite, but by NO (nitric oxygen) reaction with myoglobin. In this reaction nitrosylmyoglobin is formed (unstable bright red colour). After thermal treatment in meat products nitrosohemochrome appears (stable red colour) – it is the effect of denaturation of the myoglobin pigment (Alahakoon et al. 2015; Parthasarathy and Bryan 2010). Characteristic cured flavour is also the effect of chemical reactions in meat (Alahakoon et al. 2015; Sebranek and Bacus 2007). Nitrite is a very strong inhibit substance for various bacteria (anaerobic type), especially for *C. botulinum* (Sebranek and Bacus 2007). This kind of bacteria produces various toxins (A – G), where the most dangerous are toxin A, B and E type. Poisoning with botulism toxin causes paralysis of the peripheral nerves which effect on muscle paralysis. This can lead to difficulty in breathing and to suffocation. Spores of *C. botulinum* are resistant to heat – can survive in temperature up to 120°C but can be disposed of by e.g. cooking in temperature 121°C for 3 min. in food with pH higher than 4,5. Salt (NaCl) has also inhibit abilities connected with growth of this microbe. Spore growth prevent storage in cold store toxin which can be destroyed by heat (80°C, 10 min) (Hać-Szymańczuk 2012; Szostak-Kot 2010). Except clostridium type, nitrite has also controlling abilities of the growth of other bacteria such as: *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes*. This antimicrobial effect depends on many agents such as: limited iron availability (important factor for metabolism and growth of bacteria), salt concentrations, change of pH and others (Alahakoon et al. 2015; Sebranek and Bacus 2007; Sindelar and Milkowski 2012). It is presumed that the antioxidant effect of nitrite is associated with stabilizing heme iron and that can limit lipid oxidation. Moreover, NO can also terminate lipid autoxidation (Alahakoon et al. 2015). As mentioned earlier, nitrite is responsible for colour or antimicrobial properties. That is because nitrite is highly reactive agent. During thermal process of cured meat, his activity increases (Sebranek and Bacus 2007; Alahakoon et al. 2015). High concentration of nitrite and nitrate in human organisms may lead to methemoglobinemia. This is disease unit, when ion Fe^{2+} of haemoglobin is oxidised to Fe^{3+} - haemoglobin thus is unable to transport oxygen in the body. Hypoxia of the body can occur when concentration of methaemoglobin in body is on level 20%; death when its concentration is on about 50%. Moreover, nitrite can cause digestive disorders or dysfunction of the thyroid gland (Stanisławczyk 2014; Cunningham 2013). But the most dangerous for human health is possibility of creating cancerogenic N-nitrosamines. In cured meat the concentration of N-nitrosamines is low, but increases under the influence of heat (130°C) and nearly acid pH. High concentration of N-nitrosamine was found in smoked or fried meat products. Moreover, their concentration increased with the increase of time and temperature (Alahakoon et al. 2015; Dzwolak 2013). Nitrate also should be mentioned. Nitrates are not so dangerous as nitrites, their toxicity is about 10 time less toxic than this of nitrites and they are fast absorbed from digestive tract and excreted with urine. After reduction of the rest of nitrate in mouth by bacteria, to the stomach goes about 5% nitrite. Nitrate was mentioned because it is an additional source of nitrite formation. In low pH in stomach, both nitrate and nitrite are reduced to HNO_2 (unstable) and, next to the anhydride N_2O_2 – nitrosating agent. In nitrosation reaction with amines or amides (first or secondary order) or ammonium base (e.g. acetylcholine) N-nitrosamines are formed. N-nitrosamines are stable when they come from II-order amines, and these in turn come from I-order amines disintegrated to nitrogen. Because forming N-nitrosamines depends on pH, babies are sensitive to nitrate and nitrite (lowest pH gastric juice – reduction of nitrate is faster; babies' pH is 4). This type of reaction can be also catalysed by microbial intestinal microflora such as: *Pseudomonas*, *Klebsiella*, *Proteus*. Bacteria in large intestine can catalyse nitrosation reaction from among others amino acids, indoles, glycocholic acid. Increased intake of cured meat products (from 60 to 600 g/per day) is factor accelerating the nitrosation reaction (Bedale et al. 2016; Parthasarathy

and Bryan 2012; Stanisławczyk 2014). It was found in food that such N-nitrosamines as: NPYR (N-nitrosopyrrolidine), NPIP (N-nitrosopiperidine), NDEA (N-nitrosodiethylamine), NDMA (N-nitrosodimethylamine), NMOR (N-nitrosomorpholine) occurred. Most commonly found in food is NDMA – this type of N-nitrosamine may cause among others bleeding from the intestines and severe liver damage (survey on animals). NDMA and NDEA are recognized as substances probably carcinogenic (IARC agency). Generally, N-nitrosamines are cancerogenic (large intestine, oesophagus, pancreas, stomach, language, kidneys) teratogenic, mutagenic, nephrotoxic, embryotoxic, and have influence on reproduction. Mutagenic, cancerogenic and teratogenic properties of N-nitrosamines depend on chemical construction (number of carbon atoms) (Dzwolak 2013; Stanisławczyk 2014). It was also found that nitrites have influence directly not only on human health, but also on food. Due to the destruction of vitamin A and group B vitamins, nitrite causes the decrease in nutritional value. Moreover, nitrite reduces the absorption of protein and fat from food (Stanisławczyk 2014). Because nitrite is harmful for human health and consumers prefer “natural” product, without chemistry, without artificial additives and food “free from” (Sebranek and Bacus 2007; Beadle et al. 2016) an idea came up to create alternative method of curing. This method maybe concern obtain stable colour. To the alternative method counts application of: colours pigments, vegetables or fruit extract, juices, dried juice powder, anka rice or even acid whey (Bagnowska and Krala 2012; Kawski et al. 2017; Liu et al. 2010; Wójciak et al. 2014). One of the ideas is using natural colours pigment from spices, vegetables or fruit. They can not only give a characteristic colour of meat products but also have antioxidants and nutrition properties. Beetroot is source of betalainy – it can enhance the colour of meat products and can lower the level of LDL fraction.

Tab. 1. Examples of influence of additives on colour of meat products.

| TYPE OF ALTERNATIVE CURING | CONCENTRATION USED | TYPE OF MEAT PRODUCT | EFFECTS | AUTHORS |
|--|--|------------------------------|--|-----------------------------|
| cochineal, betanin, capsanthin, lycopene, annato | ----- | medium ground smoked sausage | lipids and colour stability | Krala, Bagnowski (2010) |
| annatto powder | 20%, 40%, 60%, 80%, 100% (nitrite:annatto) | sausage | colour stability | Zarringhalami et al. (2010) |
| anka rice with <i>Monascus purpureus</i> | 0,5%, 1%, 1,5% | Chinese sausage | darker red colour | Liu et al. (2010) |
| <i>S. carnosus</i> LTH 3838, <i>S. carnosus</i> LTH 7036 | 1·10 ⁷ , 1·10 ⁸ CFU/mL brine | cured raw ham | colour and nitrite level depends on nitrate reductase activity | Bosse et al. (2016) |
| acid whey, mustard seed | 5%, 1% | cooked sausage | product similar to product with curing agent | Wójciak et al. (2014) |

Unfortunately, betalainy is sensitive to heat treatment, oxygen and light. This colouring factor is stabilised in pH 4-6. Annatto is resistant to heat and stable in alkaline environment but is sensitive to oxidation. Capsanthin is colour pigment from Capsicum annum. This pigment is resistant to change in the pH environment but is sensitive to oxidation. Other natural food colouring is lycopene (tomatoes are rich source of this colouring) – in the study conducted, it shows strong antioxidant effect on meat products, is resistant to temperature, light, change of pH – but has the same sensitivity to oxidation process. In Bagnowska and Krala (2012) research, nitrate in the curing mix was replaced

by natural colouring: cochineal, betanin, capsanthin, lycopene and annatto. Studies have shown that natural food colouring must be added not singly but in mixtures. Moreover, it must be added, that lycopene had the strongest antioxidant properties and betanin had very good effect on protection of proteins against changes in their solubility. In case of colour (the brightness parameter was examined), capsanthin showed a stabilizing effect (Bagnowska and Krala 2012; Wajdzik 2016). In another study only annatto was applied. Colouring substance from the pericarp of the seeds (*Bixa Orellana*) gradually replaced nitrite in sausage with different meat content (55% and 70%). Very good results were obtained in sample with addition of 60% of annatto on colour stability – this sample was the highest in redness and the lowest in yellowness than other samples and control sample (regardless of the meat content). Flavour and odour of samples was dependant more on meat content than annatto content. In research checking also possibility of growth *C. perfringens* in sausage. Sausage with nitrite (120 ppm) and with 60% of annatto was inoculated by spores of this bacteria. After 7 days of refrigerated storage in both sausages, with nitrite and 60% annatto, there were not found any spores of *C. perfringens* (Zarringalami et al. 2009). In other study, dried red grape pomace powder (by-product of grape juice production) was applied. After 30 days of storage it was found that sample containing grape pomace had a similar count of bacteria as sample with nitrite, thanks to presence of bioactive compounds in grape pomace. Sausage with grape pomace had also low TBARS level and acceptable appearance (Riazi et al. 2016). Interesting idea is using colouring fermented anka rice. This type of rice occurs during cultivating of cooked rice with the use of food fungi *Monascus spp.* After fermentation of rice a purple-red colouring substance appears. It is very popular additive to flavouring and colouring roasted products in China. It is possible to use anka rice to give acceptable red colour of Chinese sausage, unfortunately this additive does not give high inhibition of lipid oxidation and does not effect water activity. Moreover, in Chinese sausage with addition of anka rice, were observed higher bacteria and mould counts than in sausage with addition of nitrite, what was an effect of *M. purpureus* presence (Liu et al. 2010). However, application of anka rice in meat industry of the UE countries is dangerous because of occurrence of mycotoxins and lack of possibilities of standardization (Wajdzik 2016). Very good idea is to use vegetables – they are natural, rich source of nitrate. In this conception bacteria with ability to reduce nitrate from vegetables to nitrite are used – in that case, concentration of nitrite will be lower (Alahakoon 2015). Concentrations of nitrate in vegetables depends on many factors e.g. type of soil, storage time, intensity of light and others. To the nitrate-accumulating vegetables belong among others: Swiss chard, celery, lettuce and beetroot (Sebranek and Bacus 2007). Celery powder does not give off-flavours but it has very little amount of pigments. Similar to celery is Swiss chard. Powder of this vegetable contain significant quantities of nitrite and does not contain allergens, but can be used in meat in concentration of 0,15 – 0,3% (high concentration – bad effect on sensory attributes) (Alahakoon 2015). Good effect gives the combination of vegetables and spices – such as celery juice powder and rosemary extract. Scientists state, that it is possible to replace nitrite with celery with rosemary extract – sensory attributes of salamis after 30 days storage were similar to salamis with nitrite (Kawski et al. 2017). Vegetable juices or powders are combined with culture of nitrite reducing bacteria such as *Kocuria varians*, *Staphylococcus xylosus* or *Staphylococcus carnosus*. Bacteria from this type have ability to reduce nitrate to nitrite. The best results are observed in temperature between 15-40°C. Added culture must have adequate growth conditions (temperature, concentration of phosphates and salt – they have antibacterial effect) (Wajdzik 2014). What more, reduction of nitrate by nitrate reduction has an influence on the type of bacteria. In research application *S. carnosus* LTH 7036 and LTH 3838 strains. The LTH 7036 strain characterized high nitrate reduction activity and gives in the final product higher level of nitrite unlike LTH 3838 strain. This strain characterized lower nitrate reduction activity and gives lower level of nitrite concentration in final product (Bosse et al. 2016). Very good idea is to replace nitrite and increase nutritional value of meat products by application of whey – by-product of cheese production. Whey characterises antibacterial properties, antioxidants effect and high nutritional properties (contains biological compounds such as glycomacopeptides). Except for a desirable colour of meat products, it is also important to their safety and shelf life. Alternative additives for cured meats can be using themselves or together – last method give synergistic effect of application additives. Whey can be succour by mustard seed (*Sinapis alba L.*). Mustard seed

characterized an antimicrobial and antioxidants effect (contains phytin and phenolic acids). The best results gives the combination of whey and autoclaved mustard seed – after 30 days of storing in refrigerator, meat products have generally good properties of colour, quality and physicochemical properties. In all sausage dominated lactic acid bacteria and the higher count was observed in sausage with autoclaved mustard seed and acid whey. Samples with acid whey, mustard seed and both had higher counts of total aerobic bacteria than sample with nitrite. Authors state, that addition of mustard seed does not reduce microorganisms count probably because of low concentration of mustard seed (Wójciak et al. 2014).

Tab. 2. Examples of selected additives and their influence on meat products.

| TYPE OF ALTERNATIVE CURING | CONCENTRATION USED | TYPE OF MEAT PRODUCT | EFFECTS | AUTHORS |
|---|--|-------------------------------|---|-----------------------------|
| annatto powder | 20%, 40%, 60%, 80%, 100% (nitrite:annato) | sausage | antimicrobial properties on <i>C. perfringens</i> | Zarringh-lami et al. (2010) |
| grape pomace | 1%, 2% | cooked beef sausage | product similar to sausage with nitrite | Riazi et al. (2016) |
| vegetable extract (rosemary, celery+rosemary) | 0,5%, 0,14% | salamis | product similar to salamis with nitrite | Kawski (2017) |
| nisin and nitrite | 0; 12,5; 100; 500; 250; 500 ppm and 0; 40; 80; 120 ppm | chicken frankfurter emulsions | inhibition effects on <i>C. botulinum</i> | Taylor (1985) |
| enterocin AS-48, HHP | 80 ml, 400 MPa | <i>fuet</i> | reduced counts of <i>L. monocytogenes</i> and <i>Salmonella</i> | Ananou et al. (2010) |

In another study, various levels of nisin and nitrite combination were applied. Research shows, that it is possible to lower the addition of nitrite and get the inhibition effect on outgrowth of *C. botulinum* (Taylor et al. 1985). Other effects were observed in research, where 400MPa pressure was applied in combination with bacteriocin. In research, enterocin AS-48 was used in low calibre fermented sausage - *fuet*. The test results showed that the using of 400 MPa pressure alone was insufficient to eliminate *L. monocytogenes*. However, the use of HHP with bacteriocin already allowed to control the amount of *Salmonella* and *L. monocytogenes* in *fuets* after 24 days of storage at room temperature. In addition, it has been found that enterocin itself can be used for the regulation of counts of *L. monocytogenes* and *Salmonella* (Ananou et al. 2010). Except for the whey or vegetable are also possibly using Cooked Cured Meat Pigment (CCMP). This food colouring is produced as a result of spraying dried nitrosylated hemin. CCMP gives cured colour of meat products but does not give antybotulism effect or characteristic flavour (Wajdzik 2016).

4. Conclusion

Nitrite is a multifunctional additive and has worked well for many centuries in meat industry. But because it is harmful it became so important is to find something to replace it. Alternative methods of curing rely on reducing the amount of nitrate in final product or on an elimination of this food additive while maintaining the same or similar effects that nitrate gives. Most of alternative curing ideas common on to keep stable curing colour – effect of reaction with nitric oxide from nitrite and in alternative curing is very important, to reduce level of nitrite. But except for colour, other effects of this alternative additives such as antioxidant or nutrition effect are also important. Additives themselves have a various effect on meat products and the best way is combining a few of this

additives, such as whey acid and mustard seed, vegetable juice powder and rosemary extract, bacteriocins with high pressure or even choose type of Staphylococcus bacteria, which can increase the effect of additives. Nitrite is still a multifunctional additive, but this does not mean, that it is an irreplaceable additive.

5. Reference:

- Alahakoon UA, Dinesh DJ, Ramachandra S et al. (2015) Alternatives to nitrite in processed meat: Up to date, Trends in Food Science & Technology 45: 37-49.
- Ananou S, Garriga M, Jofré A et al. (2010) Combined effect of enterocin AS-48 and high hydrostatic pressure to control food-borne pathogens inoculated in low acid fermented sausages, Meat Science 84: 594–600.
- Bagnowska A, Krala L (2012) Stabilność barwy przetworów mięsnych peklowanych bez azotanów, Chłodnictwo 11: 40 – 43.
- Bedale W, Sindelar JJ, Milkowski AL (2016) Dietary nitrate and nitrite: Benefits, risks, and evolving perceptions, Meat Science 120: 85-92.
- Bosse R, Gibis M, Schmidt H et al. (2016) Nitrate reductase activity of Staphylococcus carnosus affecting the colour formation in cured raw ham, Food Research International 85: 113–120.
- Dzwolak W (2013), Od azotanów do N-nitrozoamin, Przegląd Gastronomiczny 7-8: 4-5.
- Hać-Szymańczuk E (2012), Charakterystyka mikroflory najczęściej występującej w surowcach i przetworach mięsnych, Gospodarka Mięsna 2: 16 – 18.
- Kawski VL, Bertol TM, Honorato dos Santos MJ et al. (2017) Sensory and physicochemical characteristics of salamis added with vegetable-based curing ingredients, Ciência Rural 8: 1-7.
- Liu DC, Wu SW, Tan FJ (2010) Effects of addition of anka rice on the qualities of low-nitrite Chinese sausages, Food Chemistry 118: 245–250.
- Parthasarathy DK, Bryan NS (2012), Sodium nitrite: The “cure” for nitric oxide insufficiency, Meat Science 92: 274–279.
- Riazi F, Zeynali F, Hoseini E et al. (2016) Oxidation phenomena and color properties of grape pomace on nitrite-reduced meat emulsion systems, Meat Science 121: 350–358
- Sebranek J, Bacus J (2007), Natural and Organic Cured Meat Products: Regulatory, Manufacturing, Marketing, Quality and Safety Issues, American meat science association 1: 1-15.
- Sindelar JJ, Milkowski AL (2012) Human safety controversies surrounding nitrate and nitrite in the diet, Nitric Oxide 26: 259-266.
- Sindelar JJ, Cordray JC, Sebranek JG et al. (2007), Effects of Vegetable Juice Powder Concentration and Storage Time on Some Chemical and Sensory Quality Attributes of Uncured, Emulsified Cooked Sausages, Journal Of Food Science 5: 324–332.
- Stanisławczyk R (2014) Nitrozoaminy w przetworach mięsnych, Gospodarka Mięsna 10:16–21.
- Szostak-Kot J (2010) Wydawnictwo Uniwersytetu Ekonomicznego w Krakowie Mikrobiologia produktów, Mikroorganizmy w Żywności 5.1 Uwagi Ogólne: 95-96.
- Taylor SL, Somers EB, Krueger LA (1985) Antibotulinal effectiveness of nisin-nitrite combinations in culture medium and chicken frankfurter emulsions, Journal of Food Protection 3: 234-239.
- Wajdzik J (2014) Nowe kierunki w zakresie stosowanie dodatków, Gospodarka Mięsna 6 : 8-14.
- Wajdzik J (2016) Rola i znaczenie barwników w przetwórstwie mięsa, Gospodarka Mięsna 10: 14-18.
- Wójciak KM, Karwowska M, Dolatowski ZJ, (2014) Use of acid whey and mustard seed to replace nitrites during cooked sausage production, Meat Science 96: 750–756.
- Zarringalami S, Sahari MA, Hamidi-Esfehani Z, (2009) Partial replacement of nitrite by annatto as a colour additive in sausage, Meat Science 81: 281–284.

4. Application of sonication in meat technology

Ferysiuk Karolina, Wójciak M. Karolina

Department of Meat Technology and Food Quality, Faculty of Food Science and Biotechnology,
University of Life Sciences in Lublin

Karolina Ferysiuk: karolinaferysiuk@10g.pl

key words: ultrasound, alternative process, meat industry

Abstract

Ultrasound (acoustic waves) found application in reducing the growth of harmful to consumers microorganisms – especially good effects were observed in the combination of ultrasound with high pressure, temperature, lactic acid. It was noted that used ultrasound had allowed reducing the time of cooking meat and limit the energy. Due to the Green Food Process trend in food processing, concerning the reduce of energy consumption, sonication can also find application in meat industry. Very important issue for consumers is tenderness of meat and meat products – the application of sonication has a positive effect on improving the quality of meat products. Ultrasound can be a good alternative in meat industry, however further research is needed before sonication can be used in meat and meat products processing.

1. Introduction

Sonication is a method using different frequency and intensity of acoustic waves. This method has found its in many various industries including food industry. Ultrasound can be an innovative and alternative method applied in meat industry, allowing, among others, acceleration of curing process or reduction count of microorganisms.

2. Description of the problem

One of the major problems in meat processing is the tenderness of meat and meat production. This characteristic is very important for consumers and the impact on it has many different factors. In addition, there is a noticeable trend in the process of processing the Green Food Process, which includes, among other things, the reduction of energy consumption. However, due to the relatively fast pace of life, the heat treatment time of meat products should be as short as possible, while ensuring the safety of these products. For this reason, new alternatives are also being sought to reduce the number of microorganisms and extend the shelf life of meat and meat products while maintaining high nutritional value and reducing the use of chemicals.

3. Review of the literature

With the rise of consumer awareness of food production, health and diets, consumers want products similar to those found in nature. Also, food products should be characterized by microbiological safety, appropriate long shelf life, meaning degree of sensory characteristics and nutritional quality. For these reasons, it is very important to use minimal processing technologies that reduce processing times and preserve food. Therefore, increased interest of using new technologies of food processing, like ultrasound is observed (Alarcón-Rojo et al. 2017).

Ultrasound was the subject of development and research in recent years, especially because at present attention is paid to the impact of technology on the environment. This is related to “Green Food Processing” – which means that technical process must be designed in the way to reduce consumption of water and energy and give the product, characterised by high quality and safe (Chemat et al. 2011; Farid et al. 2017). Sonication found use in various industrial sectors e.g. bioprocessing, pharmaceutical, medical, chemical, defence and food processing (Ohija et al. 2017). For many years, high-intensity ultrasound has been used to disrupt cells, disperse aggregated materials and to generate emulsions (Dolatowski et al. 2007). Generally this type of ultrasound is not used in food processing. High frequency found application in diagnostic purposes and food quality monitoring (Ashokkumar

2015). In the future, ultrasounds found more ways of application in various areas e.g. degassing of liquid foods, enzymes inactivation, control and modification of crystallization processes, the induction of oxidation reactions and enhanced drying and filtration (Dolatowski et al. 2007). Ultrasound is a sound frequency above hearing of the human ear. This is the frequency in the range between 18 and 100 kHz (Chemat et al. 2017). Ultrasounds, also called as mechanical waves, are acoustic waves, which are a vibrating disturbance of the environment. Unlike electromagnetic waves, ultrasound needs means of propagation to travel and transmit and emitting source (Carrillo-Lopez et al. 2017).

There are two types of ultrasound (Chemat et al. 2017); Ojha et al. (2017) added that there are even three types of ultrasounds:

1. power ultrasound (20–100 kHz),
2. high frequency or extended range for sonochemistry (20 kHz–2 MHz),
3. diagnostic ultrasound (>1 MHz).

However, ultrasound is generally divided into two types: power of ultrasound it is low-frequency, high-intensity ultrasound (20–100 kHz with 10–1000 W cm⁻²) – this type is applied in food industry, in view of its application causes cavitation (Alarcón-Rojo et al. 2015; Chemat et al. 2017) and high-frequency, low-intensity ultrasound (N1 MHz, b1 W cm⁻²). Both the first and the second type find application in food technology (Alarcon-Rojo et al. 2015).

The effect of sound travelling through a medium is formation of bubbles or/and cavities. Bubbles and cavities grow with subsequent cycles of sonication – when become unstable, they release high pressure and temperature. Affect this collapse in biological materials are in macro- and microscale (Alarcón-Rojo et al. 2015). The benefits of collapse are accelerating diffusion and enhancing mass transfer by fragment or disrupting the surface of the solid matrix. The effectiveness of the sonication depends on temperature, pressure applied and acoustic frequency – larger bubbles are generated by lower frequencies. And, in that case, larger bubbles collapse with higher pressures and temperature (Chemat et al. 2017). Ultrasound can also be divided, depending on application perspective, into high intensity (10–1000 W/cm²) and low intensity (<1 W/cm²). Within the food industry, high frequency ultrasound is typically used as a non-invasive and non-destructive analytical technique for the process of monitoring and controlling and quality assurance, whereas for process of intensification low frequency sonication is employed. High frequency ultrasound can be employed for food quality control and analysis without affecting the product, because it employs very low power levels, insufficient to cause acoustic cavitation. This means, that this type of ultrasound therefore produces minimal or zero chemical and physical alterations in the material through which the wave passes (Ojha et al. 2017).

Ultrasound can be used to measure physical characteristics and various parameters of products and raw materials. It can also be used in direct processing support to improve the efficiency and reduce costs and time (Panasiewicz and Mazur 2017). Primarily, ultrasound is an acoustic energy and has a big potential for use in high-quality food production processes. This acoustic energy changes the chemical, physical, and functional properties of food products. Furthermore, ultrasound can influence the quality of various food systems. To evaluate the composition of meat, poultry products and fish used low intensity ultrasound. This type of ultrasound was used also in food quality analysis and successful use in the processes of inactivation of microorganisms, of mass transfer margination or softening (Peña-González et al. 2017). How Ojha et al. (2017) state, the application of ultrasound to eliminate microorganisms have been known for almost a century. In 1929, scientists suggested that sonication was not a popular method of killing bacteria in future, because of the expenses of the process. However, through the interest of industry this fact led to rapid developments in ultrasound technology. It was the development of ultrasound welding and cleaning; at present, sonication is used as a standard technique in microbiology to release contents of disruption of living cells (Ojha et al. 2017). In meat technology, capacity of ultrasounds (low frequency and high-intensity – 20-100 kHz) is used to inactivate the microorganisms by destroying cell membranes and walls. Disintegration of cells structure is an important process in releasing of cells contents and receiving enzymes or polysaccharides (Panasiewicz and Mazur 2017). Ultrasound technology can be used in consolidation

of not only meat, but also milk, sauces and juices. A positive effect of the combination of ultrasound with high pressure in destruction of microorganisms has been observed. This process is called manosonication (Nowicka et al. 2014). Another process, known as thermosonication (combination of ultrasound and mild heating), allows to increase the killing effect on microorganisms in foods (Chemat et al. 2011).

Tab. 1. Examples of ultrasound effect on selected foodborne pathogens in various meat products.

| SONICATION | TYPE OF MEAT PRODUCT | EFFECTS | REFERENCES |
|---|------------------------------------|---|---|
| 24 kHz; 460 W/cm ² ; 75°C; 5, 10, 20, 30, 40, 60 min | pasteurised beef slurry | not significantly reduced spore counts of <i>C. perfringens</i> | Evelyn, Silva (2015) |
| 40 kHz; 2,5 W/cm ² ; 3 and 6 min | chicken skin surface | reduction of population of chosen G-negative bacteria | Kordowska-Wiater and Stasiak (2011) |
| 2,39; 6,23; 11,32; 20,96 Wcm ² ; 30, 60, 90, 120 min | beef's <i>Longissimus dorsi</i> | inactivation of <i>E. coli</i> O157:H7, <i>B. cereus</i> vegetative cell | Kang (2017) |
| 30-40 kHz | chicken broilers | reduction of <i>Campylobacter</i> spp | Musavian et al. (2014) |

The study concerned checking the on the possibility of inactivation of *C. perfringens* (NZRM 898, NZRM 2621) in beef slurry by thermosonication application at 75°C. This method turned out to be insufficient to spore inactivation. But the application of heat shock (80°C, 10 min) and ultrasound after that, allowed the reduction of counts of *C. perfringens* (Evelyn and Silva 2015). In next research, the influence of sonication (40 kHz, 2,5 W/cm²) on survival of selected Gram-negative bacteria was tested : *Proteus* sp., *Pseudomonas fluorescens*, *Salmonella enterica* ssp. enterica sv. Anatum and *Escherichia coli* on surface of chicken wings. Test samples were divided into two groups: sample submerged in distilled water and sample submerged in lactic acid solution (1%). Sonication in distilled water can decrease the count of bacteria (the most sensitive was *E. coli*) but more effective was sonication combined with lactic acid – after sonication process there was generally no other bacteria detected (the most sensitive was *Pseudomonas*). Moreover, sonication time has also high influence on survival of Gram-negative bacteria – the longer the time, the smaller the counts of bacteria was (Kordowska-Wiater and Stasiak 2011). Another study checking on the effect of sonication inactivation on of *B. cereus* and *E. coli* O157:H7 in beef during curing and in brine itself. To reduce *E. coli* count in brine it is sufficient to applicate sonication with the intensity higher than 6,23 W cm⁻² for over 30 min., as opposed to *B. cereus*, which is Gram-positive bacteria and is much more difficult to inactivate. To obtain the effect of inactivation in brine, researchers suggested using high intensity sonication and time of application longer than 120 min. In beef meat, *E. coli* counts decreased after 120 min of sonication application which regardless of the type of intensity and *B. cereus* only in high intensity. Generally, scientists suggested, that longer time of sonication treatment is needed (Kang 2017). In other study, the researchers looked at the possibility to reduce the counts of *Campylobacter* spp. from chicken broilers in industrial environment in slaughterhouse. In this research ultrasound and steam combination (by using SonoSteam equipment) was applicated. Experience has shown that the use of combination of sonication and steam allowed reducing the counts of bacteria from naturally contaminated broilers. In organoleptic evaluation it was found that there are no particular differences between the chicken broilers after application of SonoSteam equipment and not (Musavian et al. 2014).

The quality of meat depends on various characteristics like flavour, appearance, aroma, juiciness and tenderness. Tenderness, in opinion of consumers, is one of the most important quality attributes, palatability factor in determining meat quality and affecting consumer satisfaction (Chemat

et al. 2017; Dolatowski et al. 2007; Chemat et al. 2011). Inconsistency, e.g. in beef tenderness is a big problem in meat technology and industry. Tenderness depends on integrity and structural organization of skeletal muscle and its composition. This feature is determined by connective tissue fraction and contractile tissue (Dolatowski et al. 2007). There are several possibilities of controlling the tenderness like pre- and post-slaughter manipulation conditions by used tender stretch (pelvic suspension), electrical stimulation or mechanical pounding. This last method is used in improving poorer meat quality (Dolatowski et al. 2007; Chemat et al. 2017).

For this reason, using a power ultrasound in improvement of tenderness seems as a good idea. Sonication can act in two ways: by enhancing enzymatic reactions or by breaking the integrity of muscular cells. Ultrasound can make physical disruption of materials by process of cavitation, which releases lysosomes, proteases, weakens the cell structure and causes protein denaturation. This weakness of meat can make meat more tender (Chemat et al. 2017; Dolatowski et al. 2007; Peña-González et al. 2017). Sonication can find its application in improvement of meat quality and tenderization as a new meat aging method. (Peña-González et al. 2017). Ultrasonic techniques are also considered as a promising non-thermal processing method. Sonication often eliminates the problem associated with the thermal processing of raw materials like chemical and physical properties or lowering the nutritional value. Moreover, ultrasound can be used as the support in meat cutting (Panasiewicz and Mazur 2017). Ultrasound improves cooking time of beef. It also improves energy efficiency and moisture retention capacity. This means, that ultrasound could be a method for cooking meat fast. Also, the technology of ultrasound-assisted meat, can be an alternative to the traditional process of meat curing (Carrillo-Lopez et al. 2017). Brining of the meat is a traditional and important process used in meat technologies. Brining is used for meat preservation but it also enhances tenderness, juiciness, flavour and shelf life meat products. Brining consists of immersing meat in a saturated salt solution – meat absorbs extra salt and liquid. How Inguglia et al. (2017) states, the migration of NaCl from the brine to the meat matrix is normally quite slow. Application of ultrasound, accelerates mass transfer of brine into meat, reduces water loss, obtains a better distribution of solutes and preserves sensory attributes (Inguglia et al. 2017; Carrillo-Lopez et al. 2017). Power ultrasound (low frequency ultrasound) by cavitation process can help with marinating, drying and curing of the meat tissue. This type of ultrasound provides a better distribution of salt in the meat matrix and generally acts on meat texture. What could be helpful in the development of reduced salt meat products formulations. Interestingly, one study indicates that application of ultrasound has no effect on improving meat tenderness, texture or meat brining and another one point that sonication allows more uniform and faster diffusion of the brine into the meat tissues comparing to traditional brining (Inguglia et al. 2017).

Tab. 2. Examples of sonication effect on various properties of meat products.

| SONICATION | TYPE OF MEAT PRODUCT | EFFECTS | REFERENCES |
|---|---|--|-------------------------------------|
| 45 kHz, 2 W cm ² , 120 s | beef's <i>musculus semimembranosus</i> | meat tenderization, no influence on colour | Stadnik and Dolatowski (2011) |
| 40 kHz, 11 W cm ² , 60 min | beef's <i>M. Longissimus dorsi</i> | improve meat texture | Peña-González et al. (2017) |
| 20 kHz, 0, 63; 74,76; 93,33; 109,67 W cm ² , 80, 100, 120 min | Chinese spiced beef | increase penetration of salt, improve WHC, increased tenderness | Zou et al. (2017) |
| 1 MHz | pork's <i>Biceps femoris, Longissimus dorsi</i> , pork ham | controlling of the salting process | García-Pérez et al. (2015) |

Ultrasound has also been studied in the context of meat tenderization and increasing its quality. Meat samples (beef) were sonicated for 120 s in low-frequency ultrasound field and examined after sonication at various times of storage. Samples after sonication were characterized by decreased shear force – especially between 24 and 48 h, which means, that sonication had an influence on lowering the hardness of meat – samples were more tender. The colour of the samples was also tested. There were no significant differences between sonicated samples and samples not subjected to the ultrasound process. Experiment indicates the possibility of application of sonication to tenderize the meat with no special changes in their colour (Stadnik and Dolatowski 2011). A similar experience shows, that sonication can be used for increasing meat quality. In research, high-intensity (40 kHz, 11 W/cm²) ultrasound was applied on beef meat. Study shows, that sonication had a positive influence on beef tenderness after 14 days of refrigerator storage and had also influence on increasing lipid oxidation but without negative effect on the quality of meat. Moreover, sensory panellists state that sonicated meat was more juicy and softer than other samples not subjected to ultrasound (Peña-González et al. 2017). In other study, sonication (various intensity) was applied during cooking of cured beef. Ultrasound use allows to increase the level of sodium chloride in meat, which comes from brine to meat during cooking process, (intensity 93,33 W cm⁻² 80 min) which gives similar effect with meat cooked in traditional method (100 min). Researches state that an alternative method of cooking could also promote the penetration of NaCl. Water holding capacity was better in sonicated samples, with no difference between intensity, than in other samples. Sonication application allows to reduce the hardness of meat and improves the tenderness of beef (Zou et al. 2017). Except using sonication to reducing or accelerating curing time is also possible to apply ultrasound to control salting process. Pork ham and individual muscles were tested before and after salting (by brining and dry-salted) by application of low-intense ultrasound. The study showed that sonication can be used to for example, monitor salting process to determine the optimal time of this process (García-Pérez et al. 2015). Sonication can be used in thawing meat process, also. By the ultrasound it is possible to control crystal growth and nucleation in frozen foods, which affect release of thawed cell liquid and texture of meat products. Ultrasound applied in thawing process. It was noted that this process shortens the defrosting time, improving quality of products and reducing drip loss. In the experiment there were no significant differences in the textural, microbiological and chemical properties between pork meats thawed by low intensity ultrasound or by water (Alarcón-Rojo et al. 2015).

4. Conclusion

Sonication is a process that uses sound waves of various frequencies and can be used to various applications, such as inactivation of dangerous foodborne pathogens, tenderization of meat or accelerating curing time or even to control the process of meat salting with, generally, no negative effects on quality. Sonication process allow to energy and time save, which means that inscribe in “Green Food Processing” philosophy. Sonication could be an very good alternative for protecting food from pathogens, which may be conducive to reducing the chemical additives to it. Sound waves application could allow to obtain better tenderization of meat, also. Ultrasound can be widely used in the meat industry in the future, but further researches are needed.

5. Reference

- Alarcón-Rojo AD, Janacua H, Rodriguez JC et al. (2015), Power ultrasound in meat processing, *Meat Science* 107: 86–93.
- Ashokkumar M (2015), Applications of ultrasound in food and bioprocessing, *Ultrasonics Sonochemistry* 25: 17-23.
- Carrillo-Lopez LM, Alarcón-Rojo AD, Luna-Rodriguez L et al. (2017), Modification of Food Systems by Ultrasound, *Hindawi Journal of Food Quality*, 1-12
<https://www.hindawi.com/journals/jfq/2017/5794931/> access: 11.10.2017,14:43.
- Chemat F, Rombaut N, Meullemiestre A et al. (2017), Review of Green Food Processing techniques. Preservation, transformation, and extraction, *Innovative Food Science and Emerging Technologies* 41: 357–377.

- Chemat F, Zill-e-Huma, Khan MK (2011), Applications of ultrasound in food technology: Processing, preservation and extraction, *Ultrasonics Sonochemistry* 18: 813–835.
- Dolatowski Z, Stadnik J, Stasiak D (2007), Applications Of Ultrasound In Food Technology, *ACTA Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria* 6(3): 89-99.
- Evelyn, Silva FVM (2015) Use power ultrasound to enhance the thermal inactivation of *Clostridium perfringens* spores in beef slurry, *International Journal of Food Microbiology* 206: 17-23.
- García-Pérez JV, de Prados M, Martínez-Escrivá G et al. (2015), Exploring the use of low-intensity ultrasonics as a tool for assessing the salt content in pork meat products, *ScienceDirect Physics Procedia* 70: 837 – 840.
- Inguglia ES, Zhang Z, Burgess C et al. (2017), Influence of extrinsic operational parameters on salt diffusion during ultrasound assisted meat curing, *Ultrasonics*, <http://dx.doi.org/10.1016/j.ultras.2017.03.017>: 1-7.
- Kang D, Jiang Y, Xing L et al. (2017) Inactivation of *Escherichia coli* O157:H7 and *Bacillus cereus* by power ultrasound during the curing processing in brining liquid and beef, *Food Research International*, <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2017.09.062>.
- Kordowska-Wiater M, Stasiak D.M. (2011), Effect of ultrasound on survival of gram-negative bacteria on chicken skin surface, *Bull Vet Inst Puławy* 55: 207-210.
- Musavian HS, Krebs NH, Nonboe U et al. (2014), Combined steam and ultrasound treatment of broilers at slaughter: A promising intervention to significantly reduce numbers of naturally occurring campylobacters on carcasses, *International Journal of Food Microbiology* 176: 23–28.
- Nowicka P, Wojdyło A, Oszmiański J (2014), Zagrożenia powstające w żywności minimalnie przetworzonej i skuteczne metody ich eliminacji, *ŻYWNOSĆ. Nauka. Technologia. Jakość*. 2 (93): 5 – 18.
- Ojia SK, Mason TJ, O'Donnell CP et al. (2017), Ultrasound technology for food fermentation applications, *Ultrasonics Sonochemistry* 34: 410-417.
- Panasiewicz MK, Mazur J (2017), Masowanie mięsa z wykorzystaniem ultradźwięków, *Gospodarka Mięsna* 3: 38 – 44.
- Peña-González EM, Alarcón-Rojo AD, Rentería A et al. (2017), Quality and sensory profile of ultrasound-treated beef, *Italian Journal of Food Science* 29 (3): 463 – 475.
- Stadnik J, Dolatowski ZJ (2011) Influence of sonication on Warner-Bratzler shear force, colour and myoglobin of beef (*m. semimembranosus*) *European Food Research and Technology* 233:553–559.
- Zou Y, Zhang W, Kang D, Zhou G, (2017), Improvement of tenderness and water holding capacity of spiced beef by the application of ultrasound during cooking, *International Journal of Food Science and Technology*, doi:10.1111/ijfs.13659: 1-9.

5. Tłuszcz mleczny i białka jako prozdrowotne składniki mleka krowiego

Milk's fat and proteins as a health-promoting components of cow's milk

Góral Małgorzata

Katedra Analizy i Oceny Jakości Żywności, Wydział Nauk o Żywności i Biotechnologii,
Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie

Opiekun naukowy: dr hab. Urszula Pankiewicz

Małgorzata Góral: SD-779@student.up.edu.pl

Słowa Kluczowe: żywność, mleko, tłuszcz, białka

Streszczenie

Okolo 90% spożywanego przez ludzi mleka stanowi mleko krowie. W jego skład wchodzi ponad 700 składników m.in. kwasy tłuszczowe, białka, laktoza, sole mineralne, witaminy, enzymy, hormony i inne biologicznie czynne substancje. Tłuszcz mleczny zawiera tłuszcze właściwe, fosfolipidy i cerebrozydy oraz niezmydlające się substancje towarzyszące. Jest źródłem nasyconych i nienasyconych kwasów tłuszczowych o prozdrowotnych właściwościach. Na szczególną uwagę zasługują NNKT, które są składnikiem błon komórkowych, ograniczają syntezę triacylogliceroli oraz regulują wydzielanie insuliny. Zawarte w mleku białka wpływają m.in. na jego przydatność technologiczną. Zaliczamy do nich albuminy, immunoglobuliny, kazeiny oraz laktoferynę, lizozym, laktoperoksydazę i proteo-zy-peptony. α -laktoalbumina i β -laktoglobulina wykazują właściwości antykancerogenne i przyczyniają się do syntezy niektórych witamin oraz mikro- i makroelementów.

1. Wstęp

Zgodnie z Rozporządzeniem Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 18 sierpnia 2004 roku: mleko surowe to mleko otrzymywane poprzez wydzielanie gruczołów mlecznych krów, owiec kóz lub bawolic, które nie zostało ogrzane do temperatury przekraczającej 40°C lub poddane innym zabiegom dającym równoważny efekt (MRiRW z dn. 18 sierpnia 2004).

Surowe mleko i mleczne napoje fermentowane, cechują się wysokim wskaźnikiem gęstości odżywczej. Termin ten oznacza, że produkt charakteryzuje wysoka zawartość składników odżywczych. Gęstość ta uwzględnia zapotrzebowanie organizmu na dany składnik oraz energię. Jej miarą jest wskaźnik jakości żywienia INQ (Index of Nutritional Quality). Mleko jest jednym ze składników żywności, którego INQ przekracza wartość 1, co interpretujemy jako doskonałe źródło danego składnika żywności. Szczególnie wysokie wartości ten wskaźnik przyjmuje dla wapnia (7), białka (ok. 3) i witamin z grupy B: B2 (ok. 4,5), B1 (ok. 1,2), B6, B12 oraz kwasu foliowego, witaminy A i magnezu. Przy czym należy zaznaczyć, że wysoka zawartość witaminy A występuje w mleku zawierającym minimum 2% tłuszczu. Spożywanie produktów o wysokim wskaźniku jakości żywienia ułatwia utrzymanie prawidłowej wagi ciała, dzięki składnikom dającym długotrwały przyrost energii prowadząc do jej efektywnego spalania (Zmarlicki 2009).

Mleko po przejściu procesu fermentacji jest źródłem niezbędnych drobnoustrojów zasiedlających florę jelitową człowieka. Bakterie fermentacji mlekowej są niezbędne do trawienia cukru mlekowego – laktozy (Borek-Wojciechowska 2007).

Spożycie mleka i jego przetworów, u dorosłego człowieka, powinno wynosić około 600-900 g na dobę. Litra mleka krowiego w 50% pokrywa zapotrzebowanie na białko i w 40% na tłuszcz. Wartość energetyczna 1 litra mleka dla dorosłego człowieka, przy normie równej 2900 kcal, wynosi 25% dziennego zapotrzebowania na kalorie (Szulc 2012).

Skład chemiczny mleka zależy od wielu czynników i jego wahania są naturalnym procesem fizjologicznym. Mleko odrębnych gatunków, rasy, wieku, żywienia, sposobu utrzymania, użytkowania i zdrowia krów, będzie cechowało się różną zawartością składników (Budślawski 1971; Szulc 2012).

2. Opis zagadnienia

W związku z powszechnym niedoborem podstawowych składników odżywczych w diecie ludzi, podjęto w niniejszej pracy próbę opisanie znaczenia tłuszczu i białka występującego w mleku krowim oraz ich roli w prawidłowym funkcjonowaniu organizmu człowieka.

3. Przegląd literatury

3.1. Tłuszcz mleczny

Tłuszcz mleczny w swoim składzie zawiera: tłuszcze właściwe (acyloglicerole), fosfolipidy i cerebrozydy oraz niezmydlające się substancje towarzyszące (Tab. 1). Tłuszcze właściwe to estry glicerolu i kwasów tłuszczowych. Są najważniejszą frakcją mleka i stanowią około 96%- 99% wszystkich lipidów. Dzieli się na triacyloglicerole (stanowiące najwazniejszą grupę), diacyloglicerole i monoacyloglicerole. W skład triacylogliceroli wchodzi kwas tłuszczowy, o łańcuchach różnej długości (pełniące istotną rolę w diecie człowieka), hydroksy- i ketokwasy. Kolejną grupę stanowią fosfolipidy i cerebrozydy. Pełnią one rolę w stabilizacji kuleczek tłuszczu mleka (Budślawski 1971; Haug i in. 2007; Szulc 2012).

Tab. 1. Średni udział tłuszczów mleka krowiego w ogólnej zawartości tłuszczów (Szulc 2012).

| Grupa lipidów | Składniki | Zawartość tłuszczu [%] |
|----------------------------|--------------------------------|------------------------|
| Tłuszcze proste (właściwe) | Triacyloglicerole | 96-99 |
| | Diacyloglicerole | 0,3-1,6 |
| | Monoacyloglicerole | 0,002-0,1 |
| Tłuszcze złożone | Fosfolipidy | 0,2- 0,1 |
| | cerebrozydy | 0,01-0,07 |
| Pochodne | Wolne kwasy tłuszczowe | 0,1-0,4 |
| Substancje towarzyszące | Sterole, karotenoidy, witaminy | 0,2 – 0,4 |

W mleku tłuszcz występuje w postaci kuleczek tłuszczowych składających się z różnej zawartości kwasów tłuszczowych. Małe kuleczki zawierają dużo nienasyconych kwasów tłuszczowych, gromadzą na powierzchni więcej wody, przez co nadają się do produkcji serów miękkich. Duże kuleczki zawierają mniej nienasyconych kwasów tłuszczowych oraz mają cienkie otoczki przez które często ulegają zlepianiu pogarszając smak mleka (Szulc 2012).

Jeden litr mleka zawiera średnio 33 g tłuszczu, przy czym jego strawność wynosi 97%- 99%. Ważną prozdrowotną właściwością tłuszczu mlekowego jest posiadanie, w swoim składzie, nasyconych kwasów tłuszczowych o długich łańcuchach. Stanowią one podstawowy budulec wszystkich narządów w organizmie człowieka. Jednak mogą być także przyczyną zmian miażdżycowych, poprzez wzrost stężenia cholesterolu we krwi i jej krzepliwości. Osobom zagrożonym wystąpieniem takich chorób jak miażdżycy, choroba niedokrwienna serca czy nowotwory, zalecane jest mleko o niskiej zawartości tłuszczu (Ciborowska i Rudnicka 2009). Kwasy krótko- i średniołańcuchowe stanowią około 14% mleka i przyczyniają się do zwiększenia przyswajalności wapnia, magnezu i żelaza. Szczególnie ważne są krótkołańcuchowe kwasy tłuszczowe, które inicjują wzrost, dojrzewanie i różnicowanie komórek nabłonkowych przewodu pokarmowego. Przyczyniają się one do procesów wchłaniania w jelitach, regulują absorpcję wody i elektrolitów, wspomagają tworzenie nabłonka i leczą stany zapalne. Wykorzystywane są do utrzymywania stałej temperatury ciała i stanowią źródło energii, dostarczając jej dwa razy większe

ilości niż glukoza. Nie powodują przy tym wzrostu poziomu lipidów w organizmie, przez co nie stanowią czynnika wywołującego ryzyko otyłości a także hamują syntezę cholesterolu i triacylogliceroli w wątrobie.

Mleko jest również źródłem kwasów tłuszczowych nienasyconych, które stanowią około 30% jego wszystkich tłuszczów. Wśród nich dominuje kwas oleinowy, zwany także kwasem omega-6, słynący ze swych właściwości blokowania wchłaniania cholesterolu pokarmowego i zmniejszania lepkości krwi. Występujące w mleku kwasy tłuszczowe, w konfiguracji trans, wykazują pozytywne działanie na zdrowie człowieka, m.in. przeciwniażdżycowe i antynowotworowe. Wielonienasycone kwasy tłuszczowe (kwas linolowy i linolenowy) są zaliczane do niezbędnych nienasyconych kwasów tłuszczowych (NNKT), które są składnikiem błon komórkowych, źródłem eikozanoidów, ograniczają syntezę triacylogliceroli oraz regulują sekrecję insuliny. Proporcja kwasów tłuszczowych omega 3 i 6 w mleku wynosi 3,5:1 dzięki czemu korzystnie wpływa na organizm. Wielonienasycone kwasy tłuszczowe są istotnym elementem w gospodarce lipidowej organizmu. Powstają z nich długołańcuchowe pochodne takie jak: kwas arachidonowy, eikozapentaenowy (EPA) i dokozaheksaenowy (DHA). Wpływają one na funkcjonowanie narządu wzroku, mózgu, układu nerwowego i sercowo-naczyniowego.

Tłuszcz mleczny jest także dobrym źródłem antyoksydantów, do których można zaliczyć: witaminę E i A, kwas linolowy (CLA), koenzym Q10, witaminę D3, fosfolipidy, lipidy eterowe i cholesterol. Mimo że występują w niewielkiej ilości, w znacznym stopniu wpływają na organizm człowieka. Działają przeciwniażdżycowo i przeciwnowotworowo, stymulują funkcjonowanie nabłonka jelitowego, hamują wzrost niektórych patogenów przewodu pokarmowego, zapobiegają wrzodom żołądka i łagodzą stany zapalne jelit (Cichosz i Cieczot 2011).

3.2. Białka

Białka pełnią bardzo ważną rolę w mleku, m.in. wpływają na jego przydatność technologiczną, jakość uzyskiwanych produktów oraz charakteryzują się wysoką wartością odżywczą. Według Szulca (2012) białka i peptydy stanowią 95% związków azotowych mleka, a ich strawność sięga nawet 97%. Na podstawowe białka mleka składają się: kazeina stanowiąca około 80% frakcji białkowej, albuminy, globuliny i immunoglobuliny stanowiące łącznie około 20%.

Białka mleka są źródłem aminokwasów egzogennych. W jednym litrze znajduje się około 32 g białek o wysokiej wartości biologicznej. Aktywność biologiczna białek wpływa na wchłanianie składników odżywczych. Ze względu na wysoką strawność, mleko może być stosowane jako składnik diety klinicznej w przypadku wielu schorzeń wątroby, nerek, przy cukrzycy i dnie moczanowej (Haug i in. 2007). Białka są niezbędnym składnikiem każdej komórki. Odpowiadają za prawidłową aktywność enzymów, utrzymują właściwe pH płynów ustrojowych i treści pokarmowej, zawierają przeciwciała i pełnią rolę neurotransmiterów. Są odpowiedzialne za działający w podwzgórz, mechanizm głodu i sytości. Występują jako nośniki niektórych witamin i związków mineralnych (Szulc 2012). Wszystkie białka mleka są bogatym źródłem niezbędnego aminokwasu jakim jest lizyna. Wśród nich najwyższą wartość odżywczą mają białka serwatkowe, z których najważniejsze to albuminy: α -laktoalbumina (α -LA) i β -laktoglobulina (β -LG) (Tab. 2). Białka serwatkowe występują w mleku w postaci rozproszenia molekularnego i stanowią około 0,6-0,7% ogółu białek. Nie zawierają one fosforu i są odporne na działanie enzymów proteolitycznych.

Według Król i in. (2008) spożycie 14 g białek serwatkowych pokrywa dzienne zapotrzebowanie osoby dorosłej na aminokwasy. Białka serwatkowe cieszą się coraz większą popularnością wśród klientów ze względu na ich pozytywny wpływ na zdrowie.

α -laktoalbumina jest małym białkiem o specyficznym wiązaniu dla wapnia, który stabilizuje jego konformację. Jej pojedynczy łańcuch zbudowany jest ze 123 aminokwasów. Charakteryzuje się ona budową podobną do lizozymu, ma wysoką zawartość tryptofanu, cystyny oraz lizyny. Swoim specyficznym składem chemicznym dorównuje α -laktoalbuminie ludzkiej, dzięki czemu stanowi doskonały składnik odżywek dla niemowląt. α -LA wpływa na katalizę laktozy w komórkach gruczołowych ssaków, transportuje niektóre jony i posiada zdolność do ich wiązania. Wykazuje także właściwości antykancerogenne takie jak apoptoza komórek nowotworowych. α – laktoalbumina

Tab. 2. Średni udział frakcji kazeinowych mleka krowiego w ogólnej masie białek (Dziuba i Fornal 2009).

| Frakcja | Średni udział w ogólnej masie białek [%] |
|--------------------------|--|
| Białka serwatkowe ogółem | 17 |
| α -laktoalbumina | 4 |
| β -laktoglobulina | 10 |
| Immunoglobuliny | 2 |
| Albumina serum | 1 |

wpływa na redukcję poziomu stresu. Związane jest to z dużym udziałem tryptofanu w cząsteczce białka. Aminokwas ten jest prekursorem serotoniny, która ma właściwości antystresowe, obniża poczucie lęku, wpływa na poprawę nastroju i ułatwia zasypianie. Ponadto α -LA zwiększa poziom prostoglandyn, przyczyniając się tym samym do ochrony organizmu przed wrzodami żołądka. Równie korzystny (w porównaniu z α -LA) wpływ na zdrowie człowieka wykazuje β -LG. Jest ona najliczniejszym białkiem z grupy białek serwatkowych i głównym białkiem osocza. Składa się ze 162 aminokwasowego, pojedynczego łańcucha peptydowego, w którym niezwykle istotną rolę pełni metionina. Wykazuje zdolność wiązania niektórych cząsteczek hydrofobowych jak na przykład witaminy A i niektórych kwasów tłuszczowych. Jednak nie stwierdzono do tej pory związku między tymi wiązaniami a wartością odżywczą czy przydatnością technologiczną β -laktoglobuliny. Odgrywa ona jednak ważną rolę przeciwutleniającą w mleku- hamuje oksydację frakcji LDL cholesterolu. Pełni również funkcję antykancerogenną, stabilizuje DNA poprzez metylację komórek i zapewnia ochronę przed rozwojem nowotworów tylnej ściany jelita. β -LG wspomaga leczenie infekcji wirusowych oraz bakteryjnych m.in. przyczynia się do poprawy stanu zdrowia pacjentów zarażonych wirusem HIV i HBV (Król i in. 2008; Szulc 2012; Walstra i in. 2006).

Kolejną grupę białek serwatkowych stanowią immunoglobuliny. Są to przeciwciała syntetyzowane w odpowiedzi na działanie specyficznych antygenów. Immunoglobuliny to duże glikoproteiny o niejednorodnym składzie (nawet w obrębie tej samej podklasy). Wpływa na to fakt, że są one tworzone przez różne komórki wydzielnicze, mogące produkować różne łańcuchy peptydowe. W mleku wyróżniamy 3 klasy immunoglobulin: IgG, IgA i IgM (Tab. 3). Dodatkowo immunoglobulina G występuje w dwóch podklasach: IgG1 oraz IgG2.

Tab. 3. Średni udział immunoglobulin mleka krowiego w ogólnej masie białek (Walstra i in. 2006)

| Immunoglobuliny | Średni udział w ogólnej masie białek [%] |
|-------------------------------------|--|
| IgG ₁ , IgG ₂ | 1,8 |
| IgA | 0,4 |
| IgM | 0,2 |

Immunoglobuliny w swoim składzie zawierają po dwa łańcuchy lekkie i ciężkie, związane ze sobą za pomocą mostków dwusiarczkowych. Przeciwciała występują w różnych konfiguracjach: IgG są monomerami, IgA dimerami a IgM pentamerami lub heksamerami. IgG działają przeciwko

wielu antygenom natomiast IgM są skierowane przeciwko polisacharydom występującym w ścianach komórkowych bakterii. Działanie immunoglobulin IgG i IgA nie jest do końca znane. Najważniejszą rolę w mleku odgrywa IgM, która zawierają inhibitory bakterii Gram-dodatnich m.in. *Lactococcus lactis* (Walstra i in. 2006).

Kolejną frakcją są albuminy serum krwi. To duże cząsteczki, stanowiące około 1% wszystkich białek. Przenikają one z krwi do komórek mlekotwórczych a następnie do mleka. W swoim składzie zawierają dużą ilość aminokwasów siarkowych. BSA krwi wpływa na regulację wzrostu, regenerację komórek i ich różnicowanie (Drożdżal i Kondratowicz 2012; Szulc 2012).

Następnym białkiem występującym w mleku jest kazeina. Należy ona do grupy fosfoproteidów. Frakcja ta tworzy roztwór koloidalny miceli pozwalający na tworzenie trwałego skrzepu. W mleku występują różne rodzaje kazein (Tab. 4).

Tab. 4. Średni udział frakcji kazeinowych mleka krowiego w ogólnej masie białek (Dziuba i Fornal 2009)

| Frakcja | Średni udział w ogólnej masie białek [%] |
|------------------------------|--|
| Kazeiny ogółem | 82 |
| Kazeina α_1 | 32 |
| Kazeina α_2 | 8 |
| Kazeina β z pochodnymi | 30 |
| Kazeina κ | 12 |

Kazeina charakteryzuje się niższą wartością odżywczą od białek serwatkowych. Jednak pełni szereg istotnych funkcji m.in. wpływa na syntezę hemoglobiny i białek osocza krwi oraz zwiększa przyswajalność wapnia. Na szczególną uwagę zasługuje najlepiej poznana frakcja kazeiny – kappa-kazeina. Hamuje ona agregację płytek krwi, tym samym przyczyniając się do przeciwdziałania zakrzepom oraz posiada makropeptyd CMP pełniący w organizmie wiele istotnych funkcji (Drożdżal i Kondratowicz 2012).

Do występujących w najmniejszej ilości białek mleka, zaliczamy laktoferynę, lizozym, laktoperoksydazę i proteozo-peptony. Laktoferyna należy do rodziny transferyn i jej szczególną właściwością jest zdolność wiązania żelaza. Jest inhibitorem niektórych bakterii z rodzaju *Bacillus*. Lizozym to białko globularne z grupy hydrolaz. Wykazuje działanie podobne do laktorefyny. Laktoperoksydaza należy do oksyreduktaz. Występuje w mleku w postaci pojedynczego łańcucha peptydowego zbudowanego z 612 aminokwasów. Jest składową niespecyficzną odpornością komórkową i jej działanie jest skierowane przeciwko bakteriom, wirusom, grzybom, pleśniam i pierwotniakom. W przeciwieństwie do powyżej omówionych białek mleka proteozo-peptony nie wykazują właściwości bioaktywnych. Są produktem enzymatycznej degradacji białek (Szulc 2012; Walstra i in. 2006).

Ostatnio coraz więcej publikacji podejmuje temat białek jako prekursorów biologicznie aktywnych peptydów. Według Szulca (2012) związkami tymi są fragmenty białek, które pozostają nieaktywne w sekwencjach swoich prekursorów. Natomiast po uwolnieniu przez enzymy proteolityczne mogą one działać z odpowiednimi receptorami oraz regulować fizjologiczne funkcje organizmu. Niektóre peptydy mają działanie przeciwzakrzepowe, immunomodulacyjne i przeciwbakteryjne, a peptydy immunomodulacyjne wpływają na namnażanie limfocytów, działalność makrofagów i syntezę przeciwciał. Ponadto łagodzą one reakcje alergiczne oraz działają przeciwnowotworowo. Peptydy oddziałują pozytywnie na układ nerwowy m.in. wpływają na zdolność odczuwania bólu, stymulują wydzielanie insuliny i somatostatyny. Właściwości zbliżone do działania morfiny posiadają biofunkcjonalne peptydy białek serwatkowych takie jak α -laktorfina.

Uśmierza ona ból poprzez pobudzenie receptora opioidowego. Wykazuje także działanie powodujące obniżenie ciśnienia krwi (inhibitor ACE). β -laktorfina, wpływa na mięśnie gładkie, usprawniając przepływ krwi u osób dotkniętych zespołem wątrobowo-nerkowym (SHR) (Dziuba i Fornal 2009; Król i in. 2008).

Jakość białka zawartego w mleku określane jest przez szereg czynników takich jak: strawność (PD), wartość biologiczna (BV), wskaźnik wykorzystania białka netto (NPU), wskaźnik wydajności białek (PER) i wskaźnik aminokwasowy skorygowany względem trawienia białek (PDCAAS). Pełne mleko i sama kazeina wykazują niższe wartości BV, PD, NPU i PER niż białka serwatkowe. Wartość odżywcza różnych frakcji białek mleka zależy głównie od ich składu aminokwasowego. Kazeina jest bogata w tyrozynę i fenyloalaninę, natomiast białka serwatkowe w cysteinę i metioninę. Jednakże, w połączeniu obie frakcje charakteryzują się większą wartością białkową niż każda z nich z osobna (Walsh i FitzGerald 2004).

4. Podsumowanie

Mleko krowie spożywano już w czasach starożytnych, mając na uwadze jego prozdrowotne właściwości. Każdy składnik mleka ma dobroczynny wpływ na organizm ludzki. Jest to produkt o bardzo wysokiej strawności i gęstości odżywczej. Polecany jest w profilaktyce wielu chorób cywilizacyjnych oraz jest ważnym prekursorem biologicznie aktywnych peptydów, mających właściwości antynowotworowe. Zawarty w nim tłuszcz mleczny charakteryzuje bardzo wysoka strawność i prozdrowotne komponenty. Nasycone kwasy tłuszczowe stanowią budulec wszystkich narządów, a średniołańcuchowe kwasy tłuszczowe zwiększają przyswajalność niektórych mikro- i makroelementów. Krótkołańcuchowe kwasy tłuszczowe są dobrym źródłem energii nie przyczyniając się jednocześnie do zwiększenia masy ciała. Zawarte w mleku białka dzielą się na kazeiny i białka serwatkowe. Pierwsze z nich pełnią ważną rolę technologiczną, ponieważ odpowiadają za tworzenie trwałego skrzepu. Ponadto wpływają na syntezę hemoglobiny i białek osocza krwi oraz zwiększają przyswajalność wapnia. Do białek serwatkowych o największym znaczeniu zalicza się α -laktoalbuminę i β -laktoglobulinę. α -LA transportuje niektóre jony i posiada zdolność do ich wiązania, wykazuje właściwości antykancerogenne i redukuje poziom stresu. Natomiast β -LG wpływa na przyswajalność witaminy A i niektórych kwasów tłuszczowych, hamuje oksydację frakcji LDL cholesterolu i pełni funkcję antykancerogenną. Białka są również prekursorami biologicznie czynnych peptydów, które regulują ważne fizjologiczne funkcje organizmu.

5. Literatura

- Borek- Wojciechowska R (2007) Wybrane produkty mleczne i ich znaczenie dla organizmu człowieka. *Postępy Techniki Przetwórstwa Spożywczego*, 1: 52-55.
- Budślawski J (1971) *Zarys chemii mleka*. PWRiL, Warszawa.
- Ciborowska H, Rudnicka A (2009) *Dietetyka żywienie zdrowego i chorego człowieka*. Wydawnictwo Lekarskie PZWL, Warszawa. Wydanie III uzupełnione.
- Cichosz G, Czeczot H (2011) Tłuszcz mlekowy- źródło antyoksydantów w diecie człowieka. *Bromat. Chem. Toksykol.* XLIV, 1:8-16.
- Drożdżał M, Kondratowicz J (2012) Mleko jako źródło składników funkcjonalnych. *Chłodnictwo*. 9: 44-47.
- Dziuba J, Fornal Ł (2009) *Biologicznie aktywne peptydy i białka żywności*. Wydawnictwa naukowo-techniczne, Warszawa.
- Haug A, Hostmark AT, Harstad OM (2007) Bovine milk in human nutrition – a review. *Lipids in Health and Disease*, 6:25.
- Król J, Litwińczuk A, Zarajczyk A i in. (2008) Alfa-laktoalbumina i beta-laktoglobulina jako związki biologicznie czynne frakcji białkowej mleka. *Medycyna Wet.* 64(12): 1375-1378.
- Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 18 sierpnia (2004) w sprawie wymagań weterynaryjnych dla mleka oraz produktów mlecznych, *Dziennik Ustaw Rzeczypospolitej Polskiej*, Nr 1946, 13398-13412.

Szulc T (2012) Tajemnice mleka. Wydawnictwo Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu, Wrocław.

Walsh DJ, FitzGerald RJ (2004) Health-related functional value of dairy proteins and peptides. 559-606 w: Yada R. Y. (ed.): Proteins in Food Processing. Woodhead Publishing, Cambridge.

Walstra P, Wouters JTM, Geurts TJ (2006) Dairy Science and Technology. Second Editions. Taylor & Francis Group, London.

Zmarlicki S (2009) Wartość odżywcza białek mleka, tłuszczu mlekowego, laktozy. Przemysł Spożywczy, 63: 33-37.

6. Zaburzenia odżywiania wśród osób uprawiających wybrane dyscypliny sportowe

Eating disorders among people practicing selected sports

Mateusz Grajek⁽¹⁾, Justyna Kardas⁽²⁾, Sandra Kryśka⁽³⁾, Gabriela Wanat⁽⁴⁾, Sylwia Jaruga⁽⁴⁾

⁽¹⁾Zakład Technologii i Oceny Jakości Żywności, Katedra Dietetyki, Wydział Zdrowia Publicznego w Bytomiu, SUM w Katowicach

⁽²⁾Zakład Żywienia Człowieka, Katedra Dietetyki, Wydział Zdrowia Publicznego w Bytomiu, SUM w Katowicach

⁽³⁾Śląska Wyższa Szkoła Medyczna w Katowicach

⁽⁴⁾Zakład Promocji Zdrowia, Katedra Dietetyki, Wydział Zdrowia Publicznego w Bytomiu, SUM w Katowicach

Mateusz Grajek: mgrajak@sum.edu.pl

Słowa kluczowe: aktywność fizyczna; dieta; rekreacja

Streszczenie

Wstęp. Obecnie dużo mówi się o ekologicznym i prozdrowotnym stylu życia, w tym także o sposobie żywienia. Żywność może pełnić rolę przyjemności lub stanowić autoekspresję jednostki. Służą także do wyrażania potrzeb psychicznych i społecznych. Niestety, żywność często staje się sposobem radzenia sobie ze stresem, napięciem, negatywnymi emocjami. Niewłaściwe wykorzystanie jedzenia może prowadzić do autoagresji żywieniowej.

Cel pracy. Celem pracy była ocena nawyków żywieniowych respondentów, wskazujących na możliwość wystąpienia objawów zaburzeń odżywiania.

Material i metody. Materiałem do badań były dane pozyskane na podstawie przeprowadzonej ankiety dotyczącej nawyków żywieniowych respondentów. Uczestnikami badania były osoby uprawiające wybrane dyscypliny sportowe i aktywność fizyczną (uczniowie szkoły sportowej, uczniowie szkoły baletowej, członkowie miejskich klubów sportowych na terenie województwa śląskiego). Dane zostały opracowane przy pomocy programu Dieta 5.0 i Statistica 10.0.

Wyniki i wnioski. Na podstawie uzyskanych wyników badań stwierdzono, że nawyki żywieniowe prezentowane przez osoby czynnie uprawiające sporty i rekreację ruchową są nieakceptowalne. Ponadto stwierdzono, że nie jest możliwe by jednoznacznie określić występowanie w niniejszej grupie zaburzeń odżywiania. Mimo to, analiza jadłospisów dekadowych, uczestników badania ujawniła wiele nieścisłości. Wskazuje to, na konieczność edukowania pokolenia młodych osób w kwestiach prawidłowego odżywiania.

1. Wstęp

Podstawowym warunkiem dla uzyskania i utrzymania zdrowia jest prawidłowe żywienie, zgodne z zasadami racjonalnego odżywiania i odpowiednie do potrzeb organizmu. Właściwie zbilansowana dieta ma szczególnie istotne znaczenie w przypadku osób aktywnych fizycznie, czynnie uprawiających sport oraz zawodowych sportowców. Zachowanie równowagi pomiędzy ilością i jakością spożywanych pokarmów, ich kalorycznością a wydatkami energetycznymi jest niezwykle istotne w przypadku przedstawicieli tej grupy. Zachwianie wspomnianej równowagi może, bowiem prowadzić do poważnych zaburzeń zdrowotnych. Jak wskazują badania naukowe (Witkoś 2016), niekorzystne zmiany w zwyczajach żywieniowych zawodników notowane są przez ich najbliższe środowisko oraz nich samych, zazwyczaj dopiero w sytuacji, w której dochodzi do obniżenia wydolności fizycznej organizmu lub ujawniania konkretnych problemów zdrowotnych. Zdarza się, że początkowo niewinne zmiany w sposobie żywienia sportowców przeradzają się w zaburzenia odżywiania.

Współcześnie zaburzenia odżywiania wciąż utożsamiane są przede wszystkim z anoreksją oraz bulimią, jako najczęstsze i najbardziej charakterystyczne zaburzenia, związane

z przyjmowaniem pokarmu. Równocześnie zaburzenia odżywiania zwyczajowo utożsamiane są ze schorzeniami występującymi przede wszystkim w grupach dziewcząt, młodych kobiet i modelek. Jest to jednak tylko część rzeczywistego obrazu tych zaburzeń. W przypadku sportowców zaburzenia odżywiania przybierają formę poważnych problemów żywieniowych o podłożu psychicznym. Ma to miejsce we wspomnianych powyżej jadłowstręcie psychicznym (*anorexia nervosa*) i żarłoczności psychicznej (*bulimia nervosa*). Mogą one również przybierać różnorodne formy, nie posiadające bezpośredniego podłoża psychicznego, niemniej jednak równie groźne dla organizmu (Witkoś 2016, Lewis 2004). Wynika to z faktu, że żywienie pełni wiele poza żywieniowych ról – niesie ze sobą przyjemność, ale może także stanowić swojego rodzaju autoekspresję jednostki. Jedzenie służy także do wyrażania potrzeb psychicznych i społecznych, co dodatkowo sprzyja ujawnianiu się nieprawidłowości w sposobie żywienia. Wskazuje to także, że żywność często staje się sposobem radzenia sobie ze stresem, napięciem, negatywnymi emocjami. Co sprawia, z kolei, że jej niewłaściwe wykorzystanie może prowadzić do autoagresji żywieniowej.

Nawyki i zachowania żywieniowe osób aktywnych fizycznie oraz wyczynowo uprawiających sport obejmują znacznie szerszą problematykę żywieniową niż nawyki i zachowania żywieniowe osób o umiarkowanej aktywności fizycznej oraz osób nieaktywnych fizycznie. Prawidłowe żywienie sportowców na każdym etapie ich rozwoju oraz kariery sportowej powinno sprzyjać zachowaniu zdrowia, wpływać na formę sportową, ich osiągnięcia w uprawianej dyscyplinie i właściwą regenerację organizmu po zawodach. Właściwie zbilansowana dieta zawodnika umożliwia mu utrzymanie reżimu treningowego, pozwala na ochronę przed kontuzjami, sprzyja osiągnięciu i utrzymaniu idealnej – w kontekście danej dyscypliny sportu – masy ciała oraz sylwetki (Lewis 2004, Ciborowska 2007).

W przypadku osób uprawiających sport wyczynowo zwiększone jest zapotrzebowanie na energię oraz składniki odżywcze, które są niezbędne do prawidłowego funkcjonowania organizmu. Duże znaczenie ma również fakt, że w przypadku osób aktywnych fizycznie zmienia się rola węglowodanów, białek oraz tłuszczów. Zwiększa się równocześnie zapotrzebowanie na wodę, składniki mineralne oraz witaminy. Dzielne zapotrzebowanie energetyczne sportowców przekracza w znaczącym stopniu zapotrzebowanie dla osób nieaktywnych i wzrasta wraz ze wzrostem i intensyfikacją wysiłku fizycznego, w ramach treningu sportowego lub uczestnictwa w zawodach. Utrzymanie odpowiedniego bilansu energetycznego organizmu, wymaga więc zrównoważonego dostarczania oraz wydatkowania energii (Ciborowska 2007).

Obecnie coraz większa liczba młodych sportowców – zarówno kobiet jak i mężczyzn – aby poprawić efektywność wykonywanych przez nich ćwiczeń oraz zwiększenia wydolności organizmu, podejmuje działania zmierzające do redukcji masy ciała. W przypadku niektórych dyscyplin sportowych redukcja masy ciała i stałe utrzymanie jej na niskim poziomie, zdaje się być najważniejszym czynnikiem warunkującym sukces. Ma to miejsce w takich dyscyplinach sportowych jak: gimnastyka artystyczna, pływanie, jazda figurowa na lodzie czy taniec. Niemniej jednak, zbyt duża redukcja masy ciała przez osoby uprawiające te dyscypliny może w konsekwencji doprowadzić do poważnych zaburzeń energetycznych organizmu, ujawniających się znaczącym niedoborem dziennej podaży energetycznej, w stosunku do rzeczywistych potrzeb organizmu oraz jego zapotrzebowania na produkty odżywcze (Cierpialkowska 2007).

2. Cel pracy

Celem pracy była ocena nawyków żywieniowych respondentów wskazujących na możliwość wystąpienia u nich objawów zaburzeń odżywiania.

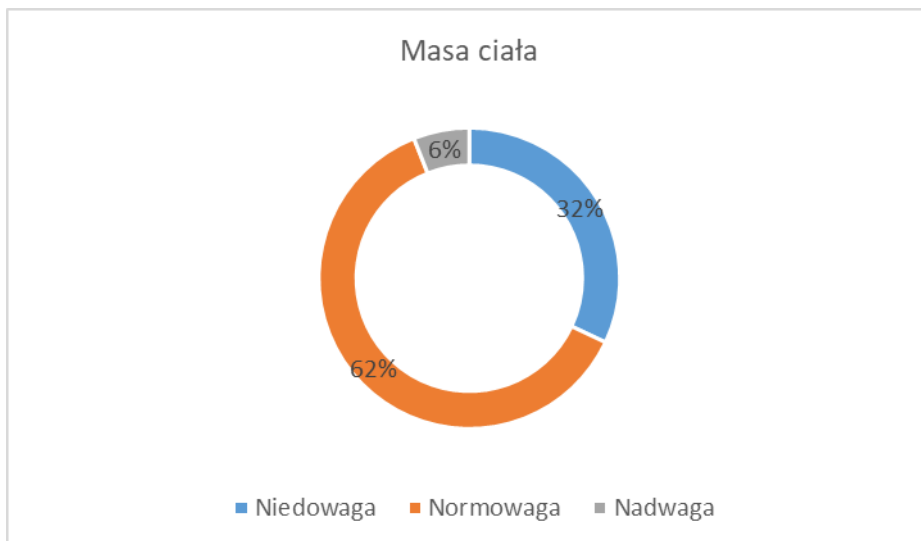
3. Materiał i metody

Materiałem do badań były dane uzyskane na podstawie przeprowadzonej autorskiej ankiety, dotyczącej nawyków żywieniowych respondentów. Uczestnikami badania były osoby uprawiające wybrane dyscypliny sportowe i aktywność fizyczną: uczniowie szkoły sportowej, uczniowie szkoły baletowej, członkowie miejskich klubów sportowych na terenie województwa śląskiego. Łącznie 150

osób; po 50 osób z różnych ośrodków sportowych, w wieku 12-15 lat. Dane zostały opracowane na podstawie programu Dieta 5.0 i Statistica 10.0.

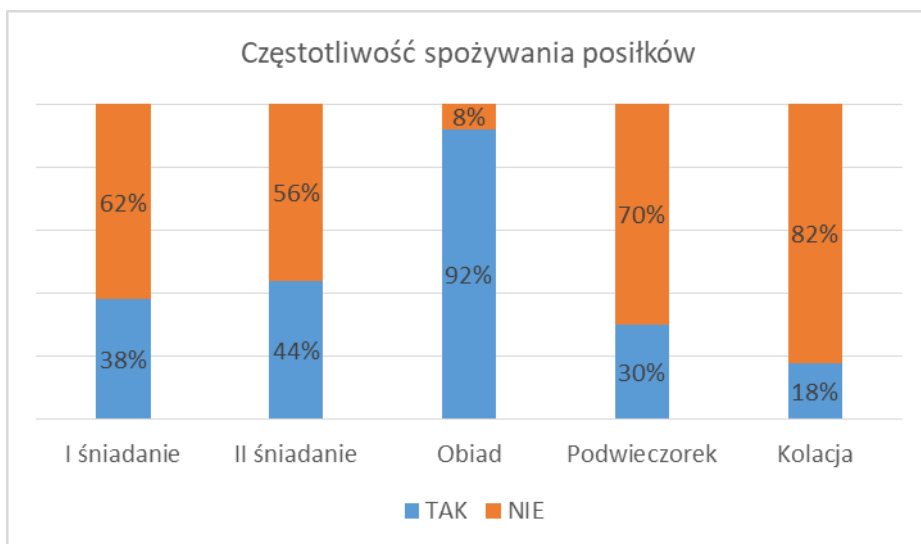
4. Wyniki

Na wstępie badania zapoznano uczestników z tematyką zaburzeń odżywiania i przeprowadzono ankietę. 95% badanych wcześniej słyszało o anoreksji i bulimii, a nawet miało z nimi do czynienia w najbliższym otoczeniu (18%).



Rys. 1. Wyniki pomiarów antropometrycznych badanej grupy.

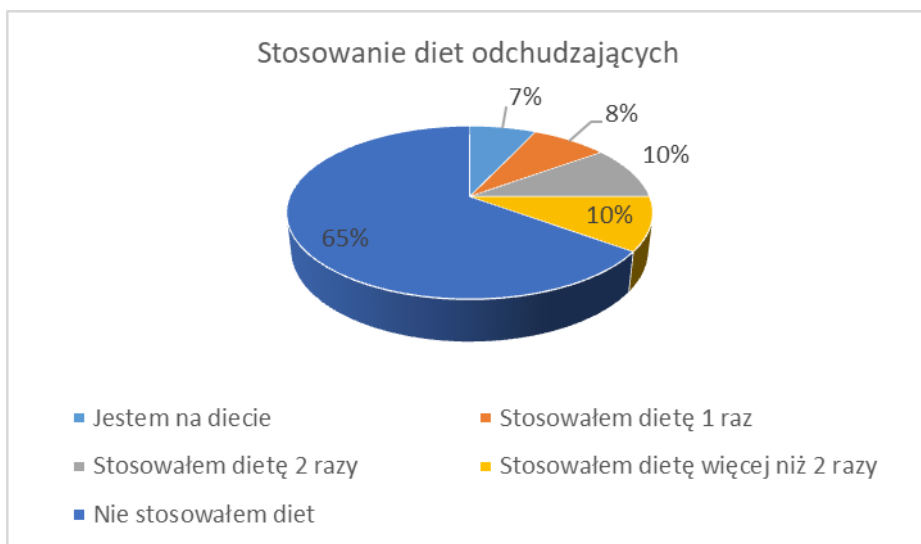
Na podstawie danych dotyczących masy ciała respondentów zauważono, że 32% badanych charakteryzowała niedowaga (wg. siatek centylowych dopasowanych do wieku lub BMI). Ponad 62% respondentów mieściło się w zalecanej normie co do masy ciała (rys. 1).



Rys. 2. Częstotliwość spożywania posiłków w badanej grupie.

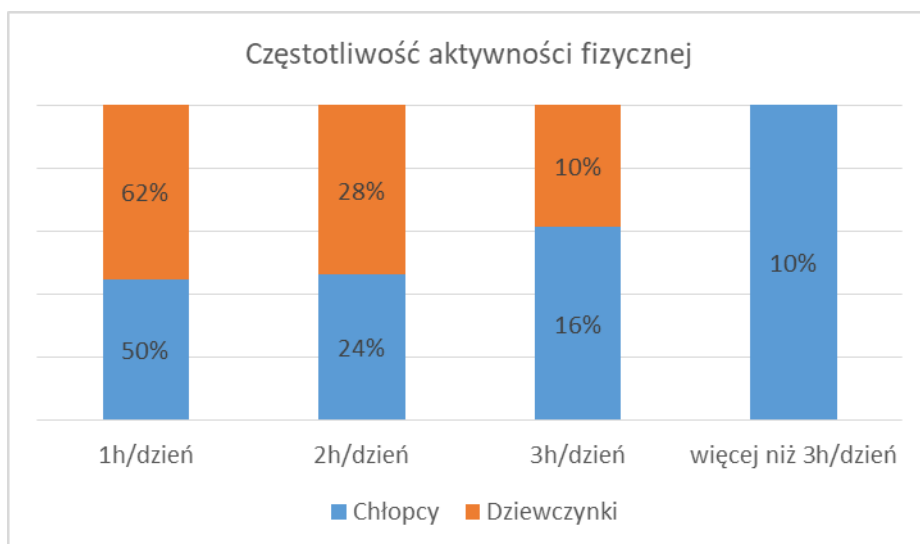
W badanej grupie, śniadań nie spożywało 62% badanych (w tym 68% dziewcząt i 32% chłopców). W przypadku drugiego śniadania, niespożywanie deklarowało 56% badanych (45%

dziewcząt, 55% chłopców). Około 70% (64% vs 36%) respondentów nie spożywa podwieczorków, a 82% (43% vs 57%) kolacji (rys. 2). Po analizie jadłospisów dekadowych stwierdzono, że w każdym przypadku norma dotycząca węglowodanów w diecie była przekroczona 2-krotnie. Niepokojącym zjawiskiem był niedobór białka w diecie. Spełniało ono jedynie 89% normy zalecanej do wieku respondentów.



Rys. 3. Stosowanie diet odchudzających w badanej grupie.

Na pytanie dotyczące stosowania diet odchudzających 65% respondentów odpowiadało, że nigdy takich diet nie stosowało. Pozostały odsetek badanych (35%) stosował przynajmniej raz w życiu jakąkolwiek z diet odchudzających wskazanych w badaniu (rys. 3). W przypadku 80% badanych była to głodówka lub dieta z innych źródeł (np.: z internetu). Tylko 20% respondentów stosujących diety stosowało zalecenia specjalistów (dietetyka, lekarza, innego personelu medycznego). Na podstawie analizy statystycznej wykazano zależność pomiędzy grupą chłopców i grupą dziewcząt ($p < 0,05$). Chłopcy częściej niż dziewczynki wybierają diety niespecjalistyczne (bez zaleceń specjalisty).



Rys. 4. Częstotliwość aktywności fizycznej w badanej grupie.

Ponadto 68% deklaruowało stosowanie raz w życiu działań kompensacyjnych po spożytym posiłku (stosowanie środków przeczyszczających lub wywoływanie wymiotów). Nie było respondentów, którzy uciekaliby się do takich metod notorycznie.

Wszyscy respondenci uprawiali regularnie aktywność fizyczną przynajmniej jedną godzinę dziennie (rys. 4). Chłopcy częściej stosują ćwiczenia fizyczne niż dziewczęta.

5. Dyskusja

Analiza jadłospisów dekadowych populacji objętej badaniem własnym budzi zastrzeżenia co do aktualnego oraz przyszłego stanu zdrowia badanych. Jest to widoczne szczególnie w przypadku spożywania posiłków. Duży odsetek badanych (62% i 56%) nie spożywa śniadań i drugich śniadań. Ponadto ilość posiłków nie przekłada się na intensywność ćwiczeń – 16% chłopców i 10% dziewczynek deklaruje, że ćwiczy nawet 3 godziny dziennie.

Do analogicznych spostrzeżeń skłaniały się w swoich badaniach Żuława i Pilch (2012) podkreślając równocześnie, że niedobory notowane w badanej przez nie populacji dotyczą przede wszystkim podaży energii, tłuszczów, błonnika pokarmowego oraz składników mineralnych.

Analiza dostępnego piśmiennictwa wskazuje na coraz większą liczbę badań, podkreślających ścisły związek pomiędzy stanem odżywienia w okresie dzieciństwa i wczesnej młodości a zdrowiem fizycznym w życiu dorosłym (Middelton 2009, Wiatrowska 2013). Prawidłowe żywienie dzieci optymalizuje ich rozwój i zapewnienie zdrowie na późniejszych etapach życia. Nie bez znaczenia w tym kontekście, jest więc duże zapotrzebowanie dzieci i młodzieży na składniki odżywcze i mineralne. Nieprawidłowe nawyki żywieniowe, nie pozwalają na dostarczenie do organizmu koniecznych składników odżywczych. Jeżeli utrzymują się one przez dłuższy czas mogą prowadzić do poważnych zaburzeń metabolicznych oraz schorzeń wynikających z niedoboru składników odżywczych.

Nie bez znaczenia w tym kontekście jest wspomniane wcześniej, przypisywanie żywieniu wielu dodatkowych funkcji, poza dostarczeniem do organizmu energii, wszystkich niezbędnych składników odżywczych, witamin i składników mineralnych (Prucell 2013). Odżywianie pełni niezwykle ważną rolę w życiu człowieka i niejednokrotnie, to właśnie w sposobie żywienia oraz ilości przyjmowanego pokarmu odzwierciedlają się aktualne stany emocjonalne człowieka. Zarówno pozytywne, jak i negatywne emocje mogą być bezpośrednim powodem utraty apetytu, ciągłego podjadania lub nadmiernego apetytu. Na początkowych etapach życia to rodzina stanowi główne środowisko, w którym kształtowane są zwyczaje żywieniowe – zarówno te właściwe jak również te niewłaściwe, sposób odżywiania się, przekonania dotyczące jedzenia oraz stosunek do własnego ciała.

Na zachowania żywieniowe oraz wybory żywieniowe dzieci i młodych osób w późniejszych okresach rozwoju istotnie wpływają także czynniki psychologiczne oraz postawy, będące względnie trwałą oceną ludzi, przedmiotów, faktów lub idei (Falkowski 2009). Choć mogą one być kreowane oraz zmieniane w czasie całego życia, to jednak okresem najintensywniejszego kształtowania się postaw, również tych związanych z żywieniem oraz aktywnością fizyczną, jest okres dorastania. To również w tym okresie dochodzi, najczęściej do rozwoju zaburzeń odżywiania oraz autoagresji żywieniowej.

Zaburzenia te są charakterystyczne przede wszystkim dla dziewcząt w okresie dorastania oraz młodych kobiet. Należy jednak podkreślić, że nie dotyczą one tylko dziewcząt. Chorują również młodzi mężczyźni oraz chłopcy. Wskazuje się, że podłożem rozwoju zaburzeń odżywiania oraz autoagresji żywieniowej jest zazwyczaj silny stres. Dochodzą do tego inne czynniki: poczucie winy, poczucie wstydu, nieumiejętność radzenia sobie z zaskakującą rzeczywistością, chęć spełnienia wymagań stawianych przez najbliższych oraz środowisko, czy wreszcie chęć osiągnięcia jak najlepszych wyników sportowych. Współcześnie coraz częściej zwraca się uwagę na inne zaburzenia odżywiania oraz inne przejawy autoagresji żywieniowej. Zazwyczaj są one niepełnoobjawowe, nietypowe lub charakteryzują się występowaniem objawów charakterystycznych dla dwóch czy większej liczby zaburzeń odżywiania (Dawis 1997).

Coraz częściej przedmiotem zainteresowania badaczy jest występowanie zależności pomiędzy zaburzeniami odżywiania oraz autoagresją żywieniową a uzależnieniem od aktywności

fizycznej i stosowaniem zbyt intensywnych ćwiczeń fizycznych. Ćwiczenia fizyczne są powszechnym sposobem kontroli masy ciała w przypadku osób poddawanych terapii z rozpoznaniem anoreksji, a nadmierna aktywność fizyczna definiuje nieprzeciszczający podtyp bulimii. W przypadku sportowców występowanie zaburzeń odżywiania lub autoagresji żywieniowej często skorelowane jest z naturalną, wysoką aktywnością fizyczną sportowców. Sugeruje to, że przy braku objawów zaburzeń odżywiania przymusowe ćwiczenia fizyczne nie stanowią syndromu klinicznego. Równocześnie, u osób bardzo aktywnych fizycznie rzadko stwierdza się niezadowolone z życia lub podwyższone wskaźniki depresji (Guszkowska 2012).

Analiza piśmiennictwa wykazuje także rozbieżność w opinii badaczy na temat współwystępowania wysokiej aktywności fizycznej oraz zaburzeń odżywiania lub autoagresji żywieniowej. Część autorów (Weight 1987) sugeruje, że obowiązkowe intensywne ćwiczenia fizyczne mogą w niektórych przypadkach wręcz zmniejszać ryzyko wystąpienia klinicznych zaburzeń odżywiania u osób predysponowanych. Równocześnie zastępując to ryzyko bardziej ekstremalnymi formami kontroli masy ciała. Inni dowodzą, że wysoka aktywność fizyczna poprzedza występowanie zaburzeń odżywiania. Dowodząc tym samym, że intensywny trening sportowy może odgrywać istotną rolę w inicjowaniu zaburzeń odżywiania. Istnieje również pogląd, zgodnie z którym znaczenie intensywnej aktywności fizycznej w patogenezie zaburzeń odżywiania, możliwe jest w głównej mierze w przypadku występowania objawów poczucia winy po opuszczeniu sali treningowej czy zakończeniu ćwiczeń fizycznych.

Badacze wskazują również, że nie ma wystarczających podstaw do uznania intensywnych ćwiczeń fizycznych za zaburzenia, ani za czynnik predysponujący do występowania zaburzeń odżywiania lub autoagresji żywieniowej. Swoje opinie motywują brakiem teorii, która mogłaby stanowić odpowiednią podstawę do badań (Guszkowska 2012).

Na podstawie badań własnych i przytoczonego piśmiennictwa można stwierdzić, że nawyki żywieniowe prezentowane przez osoby czynnie uprawiające sporty i rekreację ruchową są nieakceptowalne. Ponadto stwierdzono, że nie jest możliwe by jednoznacznie określić występowanie w niniejszej grupie zaburzeń odżywiania. Mimo to, analiza jadłospisów dekadowych uczestników badania, ujawniła wiele nieścisłości, co wskazuje na konieczność edukowania pokolenia młodych ludzi w kwestiach prawidłowego odżywiania.

6. Wnioski

- 6.1 Wykazano, że częstotliwość spożywania zalecanej ilości posiłków w badanej grupie jest niska.
- 6.2 W badanej grupie nie występują działania kompensacyjne, które mogłyby sugerować wystąpienie zaburzeń odżywiania.
- 6.3 Konieczne jest objęcie badanej grupy działaniami edukacyjnymi z aktualnych zaleceń żywieniowych.

7. Literatura:

- Ciborowska H, Rudnicka A (2007) *Dietetyka*, PZWL.
- Cierpiałkowska L (2007) *Oblicza współczesnych uzależnień*, WUM.
- Davis C, Katzman DK, Kaptein S (1997) The prevalence of hyperactivity in eating disorders: Etiological implications: *Comprehensive Psychiatry* 38: 3211–3226.
- Falkowski A, Tyszka T (2009) *Psychologia zachowań konsumenckich*, GWP.
- Guszkowska M (2012) Uzależnienie od ćwiczeń fizycznych – objawy i mechanizm: *Psychiatria Polska* 46: 845-856.
- Lewis R, Modlesky C (2004) *Odżywianie, aktywność fizyczna a zdrowie kości u kobiet: Medycyna Sportowa* 1: 11-18.
- Middleton K (2009) *Zaburzenia odżywiania. Droga do wyzdrowienia*, ESPE.
- Purcell LK (2013) *Sport nutrition for young athletes*, Canadian Paediatric Society Paediatric Sports and Exercise Medicine Section: *Paediatrics Child Health* 18: 1-3.

- Weight LM, Noakes TD (1987) Is running an analog of anorexia? A survey of the incidence of eating disorders in female distance runners: *Medical Science* 19: 213–217.
- Wiatrowska A (2009) Jakość życia w zaburzeniach odżywiania, UMCS.
- Witkoś J, Budziosz J, Onik G, Sieroń K (2016) Zdrowie a nawyki żywieniowe wśród dziewcząt trenujących koszykówkę: *Ostry dyżur* 9: 95-99.
- Żuława G, Pilch W (2012) Ocena sposobu żywienia uczestnic Szkoły Baletowej Fundacji Artystycznej w Krakowie: *Roczniki Państwowego Zakładu Higieny* 63: 105-110.

7. Citius, altius, fortius - suplementy w żywieniu sportowców

Citius, altius, fortius - supplements in the nursery of sports

Mateusz Grajek⁽¹⁾, Justyna Kardas⁽²⁾, Gabriela Wanat⁽³⁾

⁽¹⁾Zakład Technologii i Oceny Jakości Żywności, Wydział Zdrowia Publicznego w Bytomiu, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

⁽²⁾Zakład Żywienia Człowieka, Wydział Zdrowia Publicznego w Bytomiu, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

⁽³⁾Zakład Promocji Zdrowia, Wydział Zdrowia Publicznego w Bytomiu, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

Justyna Kardas: jkardas@sum.edu.pl

Słowa kluczowe: suplementacja; środki ergogeniczne; aktywność fizyczna

Streszczenie

Aktywność fizyczna zwiększa zapotrzebowanie na energię i składniki pokarmowe. U sportowców zawodowych w warunkach znacznie wyższej aktywności dochodzić może do wyczerpania glikogenu, a nawet hipoglikemii. Wszystko to stawia przed dietą sportowca duże wyzwania. Odpowiednio zbilansowane żywienie sportowców, oprócz zapewnienia wszystkich składników pokarmowych koniecznych do przywrócenia lub utrzymania homeostazy, ma za zadanie: zapobiegać lub redukować symptomy zmęczenia, wywoływać dodatkowe powysiłkowe adaptacje, utrzymywać prawidłową pracę układu pokarmowego oraz pomagać w osiągnięciu i utrzymaniu właściwej dla danej dyscypliny masy i składu ciała.

Celem pracy był przegląd literatury fachowej z zakresu żywienia człowieka i charakterystyka popularnych (najczęściej stosowanych) w żywieniu sportowców suplementów diety.

Dzięki stosowaniu środków ergogenicznych możliwe jest: wspomaganie procesów regeneracji powysiłkowej organizmu i osiągnięcie stanu superkompensacji – niezbędnych w efektywnym wzroście wydolności, a w zależności od specyfiki uprawianej dyscypliny sportu, także zwiększeniu m. in. wytrzymałości, siły, mocy lub masy mięśniowej

1. Wstęp (opis zagadnienia)

Wysiłek fizyczny zwiększa zapotrzebowanie na energię i składniki pokarmowe. U sportowców wyczynowych w warunkach znacznie wyższej aktywności fizycznej dochodzić może do wyczerpania glikogenu, hipoglikemii, niedoborów makro i mikroelementów, odwodnienia organizmu oraz zachwiania równowagi kwasowo-zasadowej i elektrolitowej. Wszystko to stawia przed dietą sportowca duże wyzwania. Odpowiednio zbilansowane żywienie sportowców, oprócz zapewnienia wszystkich składników pokarmowych koniecznych do przywrócenia lub utrzymania homeostazy, ma za zadanie: zapobiegać lub redukować symptomy zmęczenia, wywoływać dodatkowe powysiłkowe adaptacje, utrzymywać prawidłową pracę układu pokarmowego oraz pomagać w osiągnięciu i utrzymaniu właściwej dla danej dyscypliny masy i składu ciała (Thomas 2016).

Niniejszy artykuł stanowi przegląd piśmiennictwa dotyczący znaczenia i roli suplementów żywnościowych przeznaczonych dla różnych grup sportowców.

2. Przegląd popularnych suplementów diety

Suplementacja diety w sporcie wyczynowym może być istotnym czynnikiem wspomagającym osiągnięcie wysokich wyników sportowych oraz zachowanie odpowiedniego stanu zdrowia zawodników. Intensywny wysiłek fizyczny często uniemożliwia pokrycie zwiększonych

potrzeb organizmu na energię i poszczególne składniki pokarmowe, wyłącznie za pomocą standardowej diety. W celu zwiększenia zdolności wysiłkowych oraz zmniejszenia ryzyka kontuzji i innych powikłań zdrowotnych, powszechnie stało się obecnie stosowanie suplementacji preparatami wspomagającymi wzrost wydolności, wytrzymałości, siły, odporności oraz wpływającymi na skład ciała sportowców.

Zapotrzebowanie na energię, składniki pokarmowe oraz potrzeba wprowadzania specjalnych zaleceń żywieniowych przed, w trakcie oraz po wysiłku fizycznym zależne są od charakteru wysiłku fizycznego, jego intensywności i czasu trwania, warunków otoczenia, stopnia wytrenowania, a także indywidualnych cech i preferencji żywieniowych zawodnika. Spożywanie pokarmów o odpowiedniej wartości energetycznej u większości sportowców nie stwarza problemów, jednakże są dyscypliny sportu, w których wydatki energetyczne są bardzo wysokie. Ma to miejsce w sportach szczególnie wytrzymałościowych takich jak biegi długie, triathlon, kolarstwo czy narciarstwo biegowe. Zapotrzebowanie na energię w tych dyscyplinach może sięgać, a nawet przekraczać 80 kcal/kg m.c. Znaczenie właściwego sposobu żywienia, wspomagającego wzrost zdolności wysiłkowych, zwiększa się wraz ze wzrostem obciążeń treningowych, jakim poddawani są zawodnicy w sporcie wyczynowym. Stosowanie suplementów przydatne bywa w szczególności w okresach przedstartowych, zawodach, zgrupowaniach wyjazdowych czy powrocie do zwiększonego wysiłku po kontuzji czy znaczącym wzroście obciążeń. O zastosowaniu konkretnych związków powinny jednak zawsze decydować zindywidualizowane potrzeby sportowca. Ponadto, szczególnie ważne jest, aby stosowane przez sportowców preparaty były bezpieczne i dobrej jakości, a ich uzasadnione wykorzystanie nie wiązało się z jakimkolwiek ryzykiem zdrowotnym lub możliwością naruszenia przepisów antydopingowych (Calfee 2016).

Suplementami o naukowo udowodnionej skuteczności, według klasyfikacji Komisji Medycznej MKOl, jak również Australijskiego Instytutu Sportu (AIS), jest np. kreatyna. Inne substancje uzyskały status środków o ograniczonej lub niepotwierdzonej naukowo skuteczności to między innymi: HMB i BCAA.

HMB

Jednym z popularnych suplementów przyjmowanych zarówno przez sportowców wyczynowych, jak i trenujących rekreacyjnie, którego bezpieczeństwo stosowania zostało udokumentowane, jest HMB. HMB jest metabolitem aminokwasu rozgałęzionego leucyny oraz kwasu 2-ketoizokapronowego (α -KIC). Leucyna w organizmie ulega odwracalnej transaminacji w α -KIC, który przy udziale dioksygenazy ketoizokapronianowej może, w cytozolu, bezpośrednio metabolizować do HMB. Należy zwrócić uwagę, iż, zawartość HMB w produktach spożywczych jest niewielka a dostarczenie rekomendowanej w piśmiennictwie dawki 3 g HMB na dobę, jedynie przy pomocy zbilansowanej diety, wymagałoby spożycia około 60 g leucyny, co odpowiada 2,3 kg mięsa. Na rynku dostępne są obecnie preparaty soli wapniowej β -hydroksy- β -metylomaślanu, głównie pod postacią kapsułek, płynu lub żelu. Przeprowadzone dotychczas badania wykazały, że suplementacja HMB jest bezpieczna nawet przy podaży przekraczającej najczęściej rekomendowane dawki i nie wpływa na pojawienie się skutków ubocznych (Jeukendrup 2007).

W piśmiennictwie naukowym dostępne są prace, oceniające skuteczność stosowania HMB m.in. na zmianę wydolności anaerobowej, składu ciała oraz stężenia wybranych markerów biochemicznych we krwi. Dotychczasowe wyniki badań są jednak niejednoznaczne, stąd brak potwierdzenia ostatecznego wpływu HMB w sporcie. Uwagę zwraca fakt, że najczęściej podaż tego związku, u osób aktywnych fizycznie, prowadzono w trakcie wykonywania przez nich wysiłków o charakterze oporowym. Nissen i wsp. (Nissen 2000) opublikowali jedną z pierwszych prac, w której analizowano skuteczność suplementacji HMB, w treningu siłowym. Stwierdzono, że podaż tego preparatu wspomagała zarówno korzystną korektę składu ciała (związaną ze wzrostem beztłuszczowej masy ciała oraz obniżeniem poziomu tkanki tłuszczowej), jak i zwiększenie siły mięśniowej oraz zmniejszenie stopnia ich uszkodzenia po treningu (obniżenie aktywności CPK i LDH we krwi oraz poziomu 3-metylohistydyny w moczu). Niższy poziom kinazy kreatynowej i dehydrogenazy mleczanowej stwierdził również Sambrook w badaniu rugbyistów suplementujących HMB, w porównaniu do placebo. Badania Gallaghery i wsp., wykazały zmniejszenie poziomu

markerów uszkodzenia mięśni i zwiększenie beztłuszczowej masy ciała po suplementacji β -hydroksy- β -metylomaślanem, w trakcie prowadzenia treningu oporowego (Gallagher 2000). Podobne wyniki otrzymali Panton i wsp. (Panton 2000), którzy w grupie osób trenujących oporowo i suplementujących HMB zaobserwowali większy przyrost siły i obniżenie poziomu tkanki tłuszczowej. Również Hung i wsp. (Hung 2010) w badaniach zawodniczek judo zaobserwowali istotną redukcję masy ciała i zawartości tkanki tłuszczowej u zawodniczek zażywających HMB. Z kolei, w grupie siatkarzy poddanych elektrostymulacji nerwowo-mięśniowej, u zawodników suplementujących HMB wykazano istotny wzrost siły mięśniowej, ocenianej na podstawie pomiarów fotogrametrycznych wysokości oraz długości wyskoków pionowych i poziomych. W niektórych pracach stwierdzono także korzyści płynące z suplementacji HMB u osób starszych, które wykonywały ćwiczenia siłowe, co przyczyniło się do zwiększenia siły i beztłuszczowej masy ciała oraz zmniejszenia poziomu tkanki tłuszczowej. Badania Jówko i wsp. (Jówko 2001), wykazały korzyści płynące z połączenia suplementacji β -hydroksy- β -metylomaślanem z kreatyną. W powyższej pracy stwierdzono bowiem, że wspólna podaż tych preparatów najskuteczniej wspomagała zwiększenie siły i beztłuszczowej masy ciała. Kraemer i wsp. (Kraemer 2009) zaobserwowali istotny wzrost beztłuszczowej masy ciała, siły maksymalnej, mocy mięśniowej i stężenia testosteronu oraz obniżenie poziomu tkanki tłuszczowej i kinazy kreatynowej, w trakcie prowadzenia treningu oporowego, po suplementacji rekreacyjnie uprawiających sport mężczyzn preparatem HMB w połączeniu z arginina, glutamina, tauryna i dekstrozą, w porównaniu do badanych zażywających preparat zawierający glicynę, alaninę, kwas glutaminowy i serynę oraz cytrynian wapnia. W literaturze dostępne są jednak również badania, które nie dowodzą wpływu suplementacji HMB w trakcie prowadzenia treningu oporowego m.in. na zmianę składu ciała i siły zawodników, a także poziomu wybranych markerów biochemicznych uszkodzenia i „obrotu” białek mięśniowych oraz stężenia testosteronu i kortyzolu, po intensywnym wysiłku fizycznym. Po trwającej około 4-tygodnie podaży HMB, w badaniach z udziałem piłkarzy, zarówno Kreider i wsp. (Kreider 2000) nie stwierdzili, w stosunku do placebo, znaczących zmian beztłuszczowej masy ciała, poziomu tkanki tłuszczowej oraz siły mięśniowej sportowców. Kreider i wsp. nie wykazali ponadto istotnych różnic aktywności markerów uszkodzenia mięśni (CK i LDH) we krwi, między piłkarzami otrzymującymi HMB i placebo, co potwierdził w swoich badaniach również Faramarzi i wsp. (Faramarzi 2009). W badaniach Hoffman i wsp. stwierdzono brak zależności wpływu 10-dniowej suplementacji piłkarzy preparatem HMB, na zmianę wydolności anaerobowej organizmu (ocenianej za pomocą pomiaru mocy mięśniowej) oraz aktywności CK i stężenia testosteronu. Podobnie Hung i wsp. (Hung 2010) nie zaobserwowali wzrostu mocy mięśniowej zawodniczek judo, którym podawano HMB. Również w pracy O'Connora i Crowe (Crowe 2007), w badaniach z udziałem australijskich rugbyistów, nie stwierdzono istotnego wzrostu siły i mocy mięśniowej, między sportowcami otrzymującymi HMB i placebo. Ponadto, w badaniach zawodników rugby, Crowe i wsp. (2003), nie wykazali istotnego wpływu HMB na aktywność CK, stężenie hormonów, jak testosteron i kortyzol oraz profil lipidowy sportowców.

Kreatyna

Kreatyna (kwas β -metyloguanidynoocetowy) to organiczny związek chemiczny zawierający elementy strukturalne guanidyny i kwasu octowego. W organizmach zwierzęcych tworzy się w trakcie przemiany materii, występuje głównie w mięśniach i ścięgnach (Zajac 2010). Powstaje w wyniku syntezy z glicyny (Gly) i argininy (Arg) na drodze amidotransferazy glicyny (GATM) i N-metylotransferazy guanidynoocetanowej. Kreatyna od 1993 roku stała się ogólnie dostępna. Jest ona fizjologicznym środkiem ergogenicznym dozwolonym dla sportowców. Stanowi część składową mięśniowej fosfokreatyny. Występuje w małych ilościach w podstawowych produktach żywnościowych (np. ryby, mięso), ale także jest syntetyzowana w organizmie z aminokwasów (argininy, glicyny i metioniny) głównie w nerkach, wątrobie i trzustce. Dzielne zapotrzebowanie na ten składnik wynosi 2 g – połowa pochodzi z diety, a połowa jest syntetyzowana w organizmie. Kreatyna w 95% znajduje się w mięśniach szkieletowych poza tym w mózgu, krwi i innych tkankach. Suplementacja kreatyną jest stosowana dla zwiększenia siły, mocy i szybkości w sportach wyczynowych, w których wykorzystywany jest system energetyczny ATP-CP

(adenozynotrifosforan-fosfokreatyna), regeneruje energię w komórce mięśniowej zapobiegając efektowi katabolicznemu. Suplementacja kreatyną zwiększa jej zawartość w mięśniach i podwyższa zawartość fosfokreatyny. Fosfokreatyna odgrywa ważną rolę w procesach metabolicznych: przyspiesza resyntezę ATP, sprzyja buforowaniu kwasu mlekowego nagromadzonego w mięśniach podczas wysiłku o dużej intensywności, wspomaga transport ATP przez błony mitochondriów (Burke 2006). Kreatyna bierze udział w procesach energetycznych anaerobowych (beztlenowych), a takie zachodzą m.in. podczas wysiłków siłowych i szybkościowo-siłowych powtarzanych z krótkimi przerwami. Należą tu głównie dyscypliny siłowe: kulturystyka, lekkoatletyka, kajakerstwo, wioślarstwo i narciarstwo zjazdowe itp. Suplementacja kreatyną jest kwestią sporną w tlenowych dyscyplinach wytrzymałościowych, ponieważ kreatyna zatrzymując wodę w organizmie, głównie w mięśniach, doprowadza do przyrostu masy ciała, co może upośledzić sprawność wysiłkową tak potrzebną w sportach charakteryzujących się przemianami tlenowymi (Burke 2006). Z tego też względu rezygnuje się z suplementacji monohydratem kreatyny wykazującym właściwości wiązania wody, a zastępuje się formami estrowymi i buforowanymi, takimi jak: etylowy ester kreatyny, alfa-ketoglutaran kreatyny, orotan kreatyny i inne. Zalecana dzienna dawka kreatyny w trakcie suplementacji wynosi do 20 g, przekraczanie tej dawki nie wpływa na poprawę wyników treningowych. Najczęściej stosowaną formą suplementacji jest monohydrat kreatyny, proszek przyjmowany z płynami. W celu poprawienia skuteczności działania kreatyny zaleca się wzbogacanie jej preparatów o cukry proste. Suplementacja w świetle dotychczasowych badań wydaje się nie prowadzić do zagrożeń zdrowotnych (Zajac 2010).

BCAA

BCAA to aminokwasy o rozgałęzionych łańcuchach. Aminokwasy to bardzo liczna grupa związków wielofunkcyjnych posiadające dwa rodzaje grup: aminową - NH₂ oraz karboksylową - COOH. Często nazywa się je prekursorami białek, gdyż stanowią ich podstawowy materiał budulcowy. Prawie 35% mięśni jest zbudowanych z BCAA: tj. leucyny, izoleucyny, waliny). Zalecana dawka to około 3g na dobę i można ją osiągnąć w dobrze zbilansowanej diecie; dla sportowców dostępne są w postaci tabletek, proszków czy w płynie. Badania dotyczące suplementacji BCAA dowiodły, iż nie wpływa ona na poprawę wydolności fizycznej, ale może łagodzić skutki zmęczenia ośrodkowego w trakcie treningu. BCAA podawane są głównie jako środki zapobiegające zmęczeniu ośrodkowemu i poprawy zdolności wysiłkowej w długotrwałych wysiłkach wytrzymałościowych (biegi, kolarstwo, piłka nożna). Przyjmowanie BCAA przed i po treningu oraz między posiłkami, może zoptymalizować anabolizm białek mięśniowych (Tatpati 2010). Mimo że czynniki badań nad wpływem suplementacji BCAA u sportowców nie są jednoznaczne, należy podkreślić, że jest ona bezpieczna i dozwolona. Zalecanym źródłem energii dla dyscyplin wytrzymałościowych są węglowodany. Jeśli ich ilość w pożywieniu jest niewystarczająca to suplementacja BCAA może być pomocna. Wpływają na przyspieszenie procesów odnowy powysiłkowej, zmniejszają powysiłkową bolesność mięśni (Kreider 2010).

3. Podsumowanie i wnioski

Dzięki stosowaniu środków ergogenicznych możliwe jest: wspomaganie procesów regeneracji powysiłkowej organizmu i osiągnięcie stanu superkompensacji – niezbędnych w efektywnym wzroście wydolności, a w zależności od specyfiki uprawianej dyscypliny sportu, także zwiększeniu m. in. wytrzymałości, siły, mocy lub masy mięśniowej. Celowość wzbogacania diety sportowców suplementami i odżywkami wynika ponadto z potencjalnych korzyści, w odniesieniu do wspomaganie odporności organizmu, zmniejszenia ryzyka wystąpienia kontuzji i innych powikłań zdrowotnych. Należy jednak pamiętać, że stosowanie suplementów nie niweluje błędów wynikających z nieprawidłowych nawyków żywieniowych czy nieodpowiedniego jadłospisu. Suplementy powinny być zawsze jedynie świadomym uzupełnieniem prawidłowo zbilansowanej diety.

4. Literatura:

- AIS. <http://www.ausport.gov.au/ais/nutrition/supplements/classification> [dostęp 2017-11-07].
- Burke L, Deakin V (2009) Clinical sports nutrition. Mc Graf-Hill.
- Burke L (2009) Practical sports nutrition. Human Kinetics.
- Calfee R., Fadale P (2006) Popular ergogenic drugs and supplements in young athletes. *Pediatrics* 3:577-589.
- Crowe M, O'Connor D, Lukins J (2003) The effects of beta-hydroxy-betamethylbutyrate (HMB) and HMB/creatine supplementation on indices of health in highly trained athletes. *Int. J. Sport Nutr. Exerc. Metab.* 2:184-197.
- Faramarzi M, Nuri R, Banitalebi E (2009) The effect of short-term combination of HMB (beta-hydroxy-beta-methylbutyrate) and creatine supplementation on anaerobic performance and muscle injury markers in soccer players. *Braz. J. Biomotricity*, 4:366-375.
- Gallagher P, Carrithers J, Godard M, Schulze K, Trappe S (2000) Betahydroxy-beta-methylbutyrate ingestion, Part I: effects on strength and fat free mass. *Med. Sci. Sports Exerc.* 12:2109-2115.
- Hung W, Lui, T, Chen C, Chang C (2010) Effect of β -hydroxy- β -methylbutyrate supplementation during energy restriction in female judo athletes. *J. Exerc. Sci. Fit.* 8:50-53.
- Jeukendrup A (2007) Carbohydrate supplementation during exercise: does it help? How much is too much? *Gatorade Sports Science Institute* 20:106-108.
- Jówko E, Ostaszewski P, Jank M, Sacharuk J, Zieniewicz A, Wilczak J, Nissen S (2010) Creatine and beta-hydroxy-beta-methylbutyrate (HMB) additively increase lean body mass and muscle strength during a weight-training program. *Nutrition*, 17:558-566.
- Kraemer W, Hatfield D, Volek J, Fragala M, Vingren J, Anderson J, Spiering B, Thomas G, Ho J, Quann E, Izquierdo M, Häkkinen K, Maresh C (2009) Effects of amino acids supplement on physiological adaptations to resistance training. *Med. Sci. Sports Exerc.* 41:1111-1121.
- Kreider R, Ferreira M, Greenwood M, Wilson M, Grindstaff P, Plisk S, Reinardy J, Cantler C, Almada A (2000) Effects of calcium (beta)-HMB supplementation during training on markers of catabolism, body composition, strength and sprint performance. *J. Exerc. Physiol. Online.* 3:48-59.
- Kreider R (2010) ISSN exercise and sport nutrition review: research and recommendations. *J. Int. Soc. Sports Nutr.* 7:1-43.
- Nissen S, Sharp R, Panton L, Vukovich M, Trappe S, Fuller J (2000) Betahydroxy-beta-methylbutyrate (HMB) supplementation in humans is safe and may decrease cardiovascular risk factors. *J. Nutr.* 130:1937-1945.
- O'Connor D, Crowe M (2007) Effects of six weeks of beta-hydroxy-betamethylbutyrate (HMB) and HMB/creatine supplementation on strength, power, and anthropometry of highly trained athletes. *J. Strength Cond. Res.* 21:419-423.
- Panton L, Rathmacher J, Baier S, Nissen S (2000) Nutritional supplementation of the leucine metabolite beta-hydroxy-beta-methylbutyrate (hmb) during resistance training. *Nutrition.* 16:734-739.
- Tatpati L, Irving B, Tom A (2010) The Effect of Branched Chain Amino Acids on Skeletal Muscle Mitochondrial Function in Young and Elderly Adults. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism.* 95:894-902.
- Thomas T, Erdman K, Burke L (2016) Nutrition and athletic Performance. American College of Sports Medicine Joint position Statement. *Med Sci Sports Exerc.* 48:449-455.
- Zajac A, Poprzęcki S, Czuba M, Szukała D (2010) Dietetyczne i suplementacyjne wspomaganie procesu treningowego. AWF Katowice.

8. Wpływ programowania metabolicznego na wybrane aspekty zdrowotne noworodków

Influence of metabolic programming on selected health aspects of newborns

Sylwia Jaruga⁽¹⁾, Agnieszka Malinowska⁽²⁾, Gabriela Wanat⁽¹⁾, Mateusz Grajek⁽¹⁾

⁽¹⁾ Katedra Dietetyki, Zakład Promocji Zdrowia, Wydział Zdrowia Publicznego, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

⁽²⁾ Studium doktoranckie, Wydział Zdrowia Publicznego w Bytomiu, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

Sylwia Jaruga: sjaruga@sum.edu.pl

Słowa kluczowe: cukrzyca ciążowa, epigenetyka, otyłość, insulinooporność, dojrzewanie płciowe

Streszczenie

Utrzymanie prawidłowej masy ciała wiąże się nie tylko z uwarunkowaniem genetycznym i nawykami żywieniowymi oraz stylem życia, ale również z wydarzeniami występującymi w pre- i postnatalnym okresie rozwoju noworodka. Koncepcja programowania metabolicznego pierwszy raz została przedstawiona przez Barkera i Halesa we wczesnych latach 90. Płodowe oraz okołoporodowe czynniki (np. niedożywienie matki, niedożywienie lub przekarmienie noworodka) były kluczowe dla określenia prawdopodobieństwa wystąpienia w przyszłości przewlekłych chorób metabolicznych, w tym otyłości, cukrzycy, chorób sercowo-naczyniowych. Wystąpienie cukrzycy płodowej u matki może wpłynąć na metylację niektórych genów, rozmiar komórek tłuszczowych płodu oraz ich wrażliwość na insulinę. Natomiast sposób żywienia w okresie okołoporodowym oraz okołopokwitaniowym może wpłynąć na szybkość rozpoczęcia okresu dojrzewania. Wydaje się, że programowanie metaboliczne w okresie okołoporodowym może znacząco wpływać na jakość życia w przyszłości. Stresory pojawiające się w tym czasie, np. niedożywienie matki i płodu, przekarmienie lub niedożywienie noworodka, występowanie zaburzeń metabolicznych u matki, mogą prowadzić do wystąpienia insulinooporności, otyłości, chorób sercowo-naczyniowych, a także opóźnienia lub przyspieszenia dojrzewania płciowego oraz ekspresję dymorfizmu płciowego pod kątem składu ciała.

1. Wstęp:

Utrzymywanie prawidłowej masy ciała wynika głównie z zachowania równowagi pomiędzy poborem energii a jej wydatkowaniem. Zbyt wysoka podaż energii prowadzi do powstania jej nadwyżki, która następnie jest magazynowana w adipocytach – komórkach tłuszczowych. Mimo, że siedzący tryb życia, nadmierne spożycie żywności oraz tło genetyczne są głównymi czynnikami prowadzącymi do powstania dodatniego bilansu energetycznego, to wpływ na rozwój metaboliczny jednostki mają również czynniki okołoporodowe (Coupe i in. 2012).

2. Opis zagadnienia:

Programowanie metaboliczne ma miejsce, kiedy wariacje w odżywianiu zachodzące podczas specyficznego okna rozwojowego, mają rezultat w długoterminowych efektach metabolicznych (Fuiman i Perez 2015). Staje się coraz bardziej jasne, że wpływy środowiskowe mogą długoterminowo modyfikować rozwój i fizjologię płodu. Narażenie na czynniki szkodliwe, takie jak: złe odżywianie matki, stres przedurodzeniowy, leki medyczne oraz uwarunkowania społeczne mogą mieć konsekwencje zdrowotne dla potomstwa, utrzymujące się również w dorosłości (Entringer i in. 2010). Termin *programowanie* odnosi się do perturbacji zachodzących w krytycznych okresach rozwojowych, wywołujących trwałe, dożyciowe zmiany wraz z nieodwracalnymi konsekwencjami (Mathias i in. 2014).

Okres okołoporodowy obejmuje czas od zapłodnienia, poprzez ciążę, poród i laktację, aż do momentu odsadzenia (zaprzestania karmienia piersią). W okresie płodowym, interakcje pomiędzy matką a płodem odbywają się za pomocą łożyska – narządu regulującego wymianę tlenu oraz

substancji odżywczych. Jest ono również barierą, kontrolującą które hormonalne i immunologiczne wydzieliny matki mogą dotrzeć do płodu. Po urodzeniu, potomstwo najczęściej nadal polega na matce jako głównym źródle pożywienia, zanim zacznie spożywać wyłącznie pokarmy stałe (Tau i Peterson 2010). Koncepcja programowania metabolicznego pierwszy raz została przedstawiona przez Barkera i Halesa we wczesnych latach 90. (Barker i in. 1993). Na podstawie przekonujących danych epidemiologicznych badacze postawili hipotezę, że płodowe oraz okołoporodowe czynniki (np. niedożywienie matki, niedożywienie lub przekarmienie noworodka) były kluczowe dla określenia prawdopodobieństwa wystąpienia przewlekłych chorób metabolicznych, w tym otyłości, cukrzycy, chorób sercowo-naczyniowych w przyszłym życiu. Od czasu wprowadzenia, koncepcja ta została potwierdzona przez liczne badania przeprowadzone na zwierzętach, lecz tylko kilka na ludziach (Clausen i in. 2009). W niniejszej pracy poruszono zagadnienia dotyczące wpływu programowania metabolicznego na rozwój problemów związanych z otyłością, gospodarką insulinową i lipidową, metylacją DNA oraz dojrzewaniem płciowym w przyszłym życiu.

3. Przegląd literatury:

Procesy epigenetyczne są głównymi mechanizmami mogącymi modulować ekspresję genów i ścieżki metaboliczne we wczesnych warunkach życia (Hajj i in. 2013). Innymi słowy, jest to ogół dziedzicznych zmian w ekspresji genowej, nie wynikających z modyfikacji w pierwotnej sekwencji DNA, np. metylacja DNA, modyfikacja histonów. Epigenetyka kontroluje sposób, w jaki genom oddziałuje i reaguje na środowisko, a także potencjalnie – jak może wpływać na środowisko własne poprzez modyfikacje w zachowaniu (Haggarty 2012). Zaburzenia gospodarki lipidowej w początkowym okresie życia poporodowego mogą wywoływać trwałe zmiany epigenetyczne, a także wpływać na programowanie metaboliczne (Wijnands i in. 2015). Związek pomiędzy wczesnymi zdarzeniami życiowymi a ryzykiem występowania chorób w późniejszych latach jest często opisywany w odniesieniu do metylacji DNA - mechanizmu epigenetycznego ważnego dla późniejszego rozwoju (Wijnands i in. 2015). Zbadano epigenetyczne skutki zbyt dużej podaży energii dla płodu, która to jest coraz częstszym problemem w społeczeństwach kultury zachodniej – wysoko rozwiniętych. Przeanalizowano również poziomy metylacji 14 genów mogących odpowiadać za programowanie metaboliczne. Porównano poziomy metylacji siedmiu genów wpływających na rozwój pre- i postnatalny, czterech wpływających na metabolizm, jeden gen przeciwarzalny, jeden gen supresorowy guza, jeden odpowiedzialny za pluripotencję oraz dwie powtarzalne rodziny DNA.

Imprinting genomowy daje ekspresję preferencyjną jednego z dwóch rodzicielskich alleli. Imprintowane geny, w tym paternalnie metylowane geny H19 i MEG3 oraz metylowane pod względem matki geny LIT1, MEST, NESPAS, PEG3 i SNRPN są niezbędne do regulacji wzrostu ludzkiego płodu i łożyska, różnicowania somatycznego, a także prawidłowych funkcji neurologicznych i behawioralnych (Reik i in. 2007). Nieimprintowany receptor glukokortykoidowy NR3C1 to czynnik transkrypcyjny zaangażowany w wiele procesów komórkowych. Epigenetyczne programowanie NR3C1 (np. przez dietę i wczesną opiekę matczyną) powiązано z długofalowym wpływem na metabolizm, reagowaniem na stres i zachowaniem jednostki (Oberlander i in. 2009). NDUFB6 jest jądrowo kodowaną podjednostką mitochondrialnej oksydoreduktazy ubichinonu NADH. Czynniki epigenetyczne są ważne dla ekspresji NDUFB6 w ludzkim mięśniu szkieletowym i wrażliwości na insulinę (Ling i in. 2007). Metylacja promotora może dezaktywować geny supresorowe guza, takie jak APC, które zapobiegają transformacji nowotworowej w normalnych komórkach (Esteller i in. 2000). Czynnikiem transkrypcyjnym OCT4 to kluczowy gen do utrzymania pluripotencji (zdolności pojedynczych komórek do różnicowania w dowolny typ komórek somatycznych w okresie płodowym) w komórkach ssaków (Surami i in. 2007). Głównym celem badania przeprowadzonego przez Nady El Hajj i współpracowników (2013) była identyfikacja genowo specyficznych zmian epigenetycznych u potomstwa matek chorych na cukrzycę ciążową (GDM). W celu przebadania efektów wywieranych przez jej występowanie u matki na epigenom następnego pokolenia, pobrano krew pępowinową i tkanki łożyska od 88 matek objętych dietoterapią GDM, 98 z GDM insulinozależnym oraz 65 matek zdrowych. Wyniki pokazały, że geny MEST i NR3C1 wykazywały wysoce znaczącą różnicę metylacji między grupą matek chorych na cukrzycę ciążową a kontrolną w obu tkankach – mogą one wpływać na reprogramowanie metaboliczne. Inne

geny wykazały zmiany związane z GDM tylko w jednej z analizowanych tkanek. Ogólnie wydaje się, że wystąpienie cukrzycy ciężowej u matki zakłóca mechanizmy kontrolujące wzorce metylacji zarówno w określonych loci, jak i w przeplatanych powtórzeniach. Zmiany w genie MEST przyczyniają się do trwających całe życie zaburzeń metabolicznych oraz otyłości. Wykazano również bardzo znaczące różnice metylacji genu supresorowego u noworodków matek z GDM i noworodkami matek bez GDM. Nawet niewielka różnica metylacji pomiędzy noworodkami matek chorych i zdrowych może pomóc odkryć geny odgrywające ważną rolę w etiopatogenezie nowotworów (El Hajj i in. 2013). W innym badaniu wykazano natomiast, iż wyższy poziom frakcji HDL cholesterolu u matek dodatnio korelował z niższą metylacją TNF α u dziecka (Wijnands i in. 2015). Ponadto na spadek metylacji wpływał również poziom cholesterolu całkowitego u dziecka, natomiast dostosowanie poziomu samej frakcji HDL korelowało z jej poprawą. Nie wykazano natomiast związku pomiędzy poziomem trójglicerydów oraz frakcji LDL we krwi, a metylacją TNF α . TNF α to niezadrukowany gen martwicy guza – prozapalna cytokina, z którą wiąże się ryzyko wystąpienia chorób sercowo-naczyniowych, zaburzeń gospodarki lipidowej oraz insuliooporności (Willerson i Ridker 2004). Dowiedziono również, że cukrzyca ciężowa prowadzi do hiperglikemii i hiperinsulinemii płodowej, promując tym samym zmiany w metabolizmie oraz ryzyko uszkodzenia narządów i tkanek płodu (Dabelea 2007). Naukowcy brazylijscy zbadali występowanie zmian metabolicznych w tkance tłuszczowej potomstwa matek chorych na cukrzycę indukowanych streptozotocyną w okresie noworodkowym.

Badania przeprowadzono na szczurach rasy Wistar. Pięciodniowe samice oddzielono od matek na 8 godzin i przydzielono do dwóch grup: matek diabetyków, otrzymujących dootrzewnowo streptozotocynę (zwaną dalej STZ) oraz grupę kontrolną. Po odstawieniu od sutka (w 21-szym dniu po urodzeniu) określono glikemię dla samic przyjmujących STZ, następnie do badania zostały wybrane okazy charakteryzujące się wynikami 150 mg /dl poziomu glukozy lub wyższymi. Po osiągnięciu 12-tego tygodnia samice z obu grup, badanej oraz kontrolnej, zostały umieszczone do kracia. 6 ciężarnych samic (3 zdrowe oraz 3 chore na cukrzycę) pozostawało z młodymi do czasu zakończenia karmienia, następnie młode samce zostały zabrane i podzielone na grupy: kontrolną (potomstwo matek zdrowych) oraz eksperymentalną (potomstwo matek chorych, ODM). U obu grup wykonano ustny test tolerancji glukozy, oznaczono również adipocyty oraz poziom insuliny. Pomiarów masy ciała zwierząt dokonywano cotygodniowo od momentu odstawienia od sutka, do śmierci poprzez eutanazję w 12-tym tygodniu życia. Mimo że potomstwo matek chorych nie wykazało makrosomii, w dniu uśmiercenia, miało jednak wyższą masę ciała niż zwierzęta z grupy kontrolnej. Podczas dwóch ostatnich tygodni badania zwierzęta z grupy eksperymentalnej pobierały również znacznie więcej pokarmu niż grupa kontrolna. Tolerancja glukozy w obu grupach była podobna, poziomy insuliny również nie różniły się między grupami. Natomiast średnia średnica adipocytów oraz masa tkanki tłuszczowej w grupie ODM były znacznie wyższe niż w grupie kontrolnej – w wyniku zwiększonej akumulacji lipidów w komórkach. Adipocyty potomstwa matek chorych były również bardziej wrażliwe na insulinę. Podobnie w tej grupie podstawowa i maksymalna szybkość utleniania glukozy i jej przemiana w lipidy były znacząco wyższe (Oliveira i in. 2015). Kolejne badanie przeprowadzone na szczurach miało na celu ocenę wpływu konsekwencji różnych zabiegów żywieniowych w odniesieniu do dojrzewania płciowego. Ponownie posłużono się szczurami rasy wistar. Zwierzęta podzielono na grupy: kontrolną (CD), karmioną dietą ubogotłuszczową, dostarczającą 10% energii z tłuszczu, 20% z białka, 70% z węglowodanów; oraz eksperymentalną (HFD) – na diecie bogatotłuszczowej (45% podaży energii z tłuszczu, 20% z białka, 35% z węglowodanów). Ponadto dokonano manipulacji warunkami żywieniowymi: zwierzęta poddano niedożywieniu okołoporodowemu, przekarmieniu okołoporodowemu, diecie CD lub HFD w okresie dojrzewania. U zwierząt oceniono: przyrost masy ciała, wiek otwarcia pochwy lub zstąpienia jąder – jako równoważniki zewnętrznych przejawów rozpoczęcia dojrzewania płciowego, stężenie poziomów hormonów FSH i LH w trakcie otwarcia pochwy/zstąpienia jąder, poziom glukozy, insuliny oraz leptyny w momencie otwarcia pochwy/zstąpienia jąder.

Wykazano, że na zewnętrzne oznaki dojrzewania u samców wpływa sytuacja żywieniowa w okresie pourodzeniowym, u samic natomiast – aktualna. U samców przekarmionych poporodowo zstąpienie jąder miało miejsce wcześniej niż otwarcie pochwy u samic, u których przyspieszenie

następowało w wyniku stosowania diety HFD. Połączenie przekarmienia pourodzeniowego z dietą HFD w późniejszym czasie prowadziło do kolejnego przyspieszenia dojrzewania płciowego. Zaawansowanie dojrzewania u samców spowodowane nadmiernym odżywieniem po porodzie nie było dalej przyspieszane przez HFD, dieta również nie indukowała przyspieszenia dojrzewania u samców niedożywionych po porodzie. Ponadto, niedożywienie poporodowe, znacznie opóźniło wiek dojrzewania samców, niezależnie od zawartości tłuszczu w diecie. U samic natomiast dieta bogatotłuszczowa częściowo zapobiegła opóźnieniu dojrzewania spowodowanemu niedożywieniem poporodowym. Niedożywienie w okresie okołopokwitaniowym znacznie opóźniło otwarcie pochwy u samic, nie wpłynęło natomiast na czas zstąpienia jąder u samców. Przekarmianie po urodzeniu zwiększało poziom LH w trakcie otwarcia pochwy oraz zstąpienia jąder, dieta HFD zmniejszała go tylko u samic. Poziom leptyny wzrósł u samic w wyniku przekarmiania pourodzeniowego, u samców natomiast tylko w wyniku połączenia tego czynnika z dietą bogatotłuszczową. U samic natomiast dieta HFD łączyła się z niższym poziomem insuliny w surowicy krwi (Sanchez-Garrido i in. 2013).

Badania kohortowe, przeprowadzone w Brazylii również wykazały różnice w skutkach wczesnego przyrostu masy ciała pomiędzy kobietami a mężczyznami. Szybszy przyrost masy ciała po urodzeniu skutkował wyższym wzrostem oraz wyższą beztłuszczową masą ciała u adolescentów płci męskiej, natomiast większą zawartością tkanki tłuszczowej u dorastających dziewcząt. Wykazano również, że mimo iż ów dymorfizm płciowy ujawnia się dopiero w wieku dojrzewania, to największy wpływ na niego ma przyrost masy ciała w okresie wczesnego niemowlęctwa, znacznie mniejszy natomiast – w okresie wczesnego dzieciństwa (Wells i in. 2012).

4. Podsumowanie:

Programowanie metaboliczne w okresie okołoporodowym ma ogromne znaczenie dla funkcjonowania organizmu nawet w dalekiej przyszłości. Stresory pojawiające się w życiu płodowym, takie jak: choroba matki, zaburzenia gospodarki lipidowej u matki, nadmierna podaż energii, czy też przeciwnie - niedożywienie mogą prowadzić do insulinooporności, otyłości, chorób sercowo-naczyniowych, a także opóźnienia lub przyspieszenia dojrzewania płciowego. Ponadto dieta dziecka już w okresie okołoporodowym może wpływać na ilość i rozwój adipocytów, a także jakość oraz szybkość procesów utleniania glukozy.

Jednym ze znaczących czynników, wpływających na późniejsze funkcjonowanie płodu, wydaje się być cukrzyca ciążowa. Oddziałuje ona między innymi na metylację niektórych genów u noworodka, mogąc prowadzić do ujawnienia zaburzeń metabolicznych w ciągu całego życia. Dla czasu rozpoczęcia procesu dojrzewania płciowego nie mniej ważny wydaje się sposób żywienia zarówno w okresie postnatalnym, jak i podczas samego procesu pokwitania. Dla młodych mężczyzn bardziej znacząca jest dieta w niemowlęctwie, dla młodych kobiet natomiast w trakcie dojrzewania płciowego. Wydaje się również, że przyrost masy ciała w okresie okołoporodowym może być odpowiedzialny za ujawnienie dymorfizmu płciowego w składzie ciała, w czasie dojrzewania.

5. Literatura:

- Barker DJ, Hales CN, Fall CH i in. (1993) Type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus, hypertension and hyperlipidaemia (syndrome X): relation to reduced fetal growth. *Diabetologia* 36:62–67.
- Clausen TD, Mathiesen ER, Hansen T I in. (2009) Overweight and the metabolic syndrome in adult offspring of women with diet-treated gestational diabetes mellitus or type 1 diabetes. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 94:2464–2470.
- Coupe B, Grit I, Hulin P I in. (2012) Postnatal Growth after Intrauterine Growth Restriction Alters Central Leptin Signal and Energy Homeostasis. *PLoS ONE* 7(1): e30616.
- Dabelea D. (2007) The predisposition to obesity and diabetes in offspring of diabetic mothers. *Diabetes Care* 30: 169–174.
- El Hajj N, Pliushch G, Schneider E I in. (2013) Metabolic Programming of MEST DNA Methylation by Intrauterine Exposure to Gestational Diabetes Mellitus. *Diabetes* 62:1320–1328.

- Entringer S, Buss C, Wadhwa PD (2010) Prenatal stress and developmental programming of human health and disease risk: concepts and integration of empirical findings. *Current Opinion in Endocrinology, Diabetes and Obesity* 17: 507–516.
- Esteller M, Sparks A, Toyota M I in. (2000) Analysis of adenomatous polyposis coli promoter hypermethylation in human cancer. *Cancer Research* 60: 4366–4371.
- Fuiman LA, Perez KO (2015) Metabolic programming mediated by an essential fatty acid alters body composition and survival skills of a marine fish. *Royal Society Proc. R. Soc.B* 282: 20151414.
- Haggarty P (2012) Nutrition and the epigenome. *Progress in Molecular Biology and Translational Science* 108: 427 – 446.
- Ling C, Poulsen P, Simonsson S I in. (2007) Genetic and epigenetic factors are associated with expression of respiratory chain component NDUFB6 in human skeletal muscle. *Journal of Clinical Investigation* 117:3427–3435.
- Mathias PCF, Elmhiri G, de Oliveira JC I inni (2014) Maternal diet, bioactive molecules, and exercising as reprogramming tools of metabolic programming. *European Journal of Nutrition* 53: 711 – 722.
- Oberlander TF, Weinberg J, Papsdorf M I in. (2008) Prenatal exposure to maternal depression, neonatal methylation of human glucocorticoid receptor gene (NR3C1) and infant cortisol stress responses. *Epigenetics* 3:97–106.
- Oliveira AC, Andreotti S, Chiminb P (2015) Neonatal streptozotocin-induced diabetes in mothers promotes metabolic programming of adipose tissue in male rat offspring. *Lima Life Sciences* 136: 151–156.
- Reik W, Constância M, Fowden A I in. (2003) Regulation of supply and demand for maternal nutrients in mammals by imprinted genes. *The Journal of Physiology* 547: 35–44.
- Sánchez-Garrido MA, Castellano JM, Ruiz-Pino F (2013) Metabolic Programming of Puberty: Sexually Dimorphic Responses to Early Nutritional Challenges. *Endocrinology* 154(9):3387–3400.
- Surani MA, Hayashi K, Hajkova P (2007) Genetic and epigenetic regulators of pluripotency. *Cell* 128:747–762.
- Tau GZ, Peterson BS (2010) Normal development of brain circuits. *Neuropsychopharmacology* 35:147–68.
- Wells JCK, Dumith SC, Ekelund U I in. (2012) Associations of Intrauterine and Postnatal Weight and Length Gains With Adolescent Body Composition: Prospective Birth Cohort Study From Brazil. *Journal of Adolescent Health* 51: 58 – 64.
- Wijnands KPJ, Obermann-Borst SA, Steegers-Theunissen RPM (2015) Early life lipid profile and metabolic programming in very young children. *Nutrition, Metabolism & Cardiovascular Diseases* 25: 608-614.
- Willerson JT, Ridker PM (2004) Inflammation as a cardiovascular risk factor. *Circulation* II: 2-10.

9. Wpływ wybranych substancji strukturotwórczych na ocenę organoleptyczną galaretek i kisielei

Influence of structure substances for organoleptic assessment of jellies

Jaruga Sylwia⁽¹⁾, Wanat Gabriela⁽¹⁾, Grajek Mateusz⁽¹⁾, Malinowska Agnieszka⁽²⁾

⁽¹⁾Zakład Promocji Zdrowia, Wydział Zdrowia Publicznego, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

⁽²⁾Zakład Żywienia Człowieka, Wydział Zdrowia Publicznego, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

Sylwia Jaruga: sjaruga@sum.edu.pl

Słowa kluczowe: hydrokoloidy, dodatki do żywności, ocena organoleptyczna

Streszczenie

Wzrost stosowania dodatków do żywności, spowodowane jest to stawianymi coraz to nowszymi wymaganiami względem produktów spożywczych. Wybór żywności zależy przede wszystkim od zależności jaka zachodzi między oczekiwaniami konsumenta, a cechami produktu w procesie akceptacji. Hydrokoloidy są substancjami powszechnie stosowanymi do żywności, poprawiają jakość i trwałość produktów spożywczych, zapewniając ich stabilność w czasie przechowywania, a poza tym kształtują atrakcyjne cechy sensoryczne żywności, takie jak: smak, barwa, zapach, tekstura. Celem podjętych badań było określenie wpływu substancji na ocenę organoleptyczną galaretek i kisielei. Przeprowadzone badania pozwalają stwierdzić, że substancje strukturotwórcze znacząco wpływają na wyczuwanie zapachu i smaku. Smak badanych próbek nie był jednoznaczny i tylko 1/5 uzyskanych odpowiedzi pokrywała się ze smakiem użytego syropu. Galaretką żelatynowa uzyskała najwyższą ocenę średnią w metodzie 5-punktowej. Okazało się, że żelatyna najkorzystniej wpływa na wszystkie badane cechy i spełnia oczekiwania, jakie stawiane są przez oceniających. Przeprowadzona ocena organoleptyczna wykazała, że mimo problemów z określeniem zapachu największą akceptacją konsumentką cieszyły się kisiele z dodatkiem skrobi, aż połowa badanych określiła próbkę jako najsmaczniejszą i o najlepszej konsystencji.

1. Wstęp

Hydrokoloidy (gumy spożywcze) są bardzo powszechnie wykorzystywaną grupą dodatków w produkcji żywności. Poprawiają jakość, trwałość oraz stabilność struktury produktów spożywczych w trakcie produkcji i przechowywania produktów spożywczych. Są stosowane jako środki zagęszczające, środki żelujące, emulgatory, stabilizatory, zamienniki tłuszczu, środki klarujące, środki flokulacyjne, środki zmętnienia i substancje pianotwórcze. Zwiększają lepkość roztworów lub tworzą żele, często wykazują również właściwości emulgujące i stabilizujące. Zapobiegają krystalizacji i rozwarstwianiu się roztworów, umożliwiają regulowanie właściwości reologicznych (Dłużewska i Krygier, 2007; Li et al. 2015). Podstawowym celem ich stosowania jest uzyskanie optymalnej i trwałej tekstury produktu, co często wiąże się z jego większą wydajnością. Dodatkowo swoim właściwościom zawdzięczają zastosowanie w produktach spożywczych specjalnego przeznaczenia dietetycznego (Janicki 1997; Baryłko-Piekielna 2004). Ze względu na szeroki zakres możliwości zastosowania w produkcji żywności w ostatnich latach dużo uwagi poświęcano grupie polisacharydów wyodrębnianych z roślin morskich, rzadkich roślin lądowych, a także z bakterii hodowanych na skalę przemysłową w bioreaktorach. Podstawowym celem ich stosowania jest uzyskanie optymalnej i trwałej tekstury produktu, co często wiąże się z jego większą wydajnością. Substancje te pełnią różne funkcje w technologii- poprawiają jakość i trwałość produktów spożywczych, zapewniając ich stabilność w czasie przechowywania (Rachtan-Janicka 2013). Dopuszczone do produkcji żywności hydrokoloidy pozyskiwane są z roślin morskich (alginiany, karageny), roślin lądowych (guma guar, mączka chleba świętojańskiego), a także z przemysłowej hodowli bakterii (ksantan, dekstran, gellan). W odpowiednim stężeniu tworzą żele lub gąbczastą masę. W zależności od budowy chemicznej i czynników takich jak pH, obecności jonów wapnia

i stężenia sacharozy tworzą żełe o różnych właściwościach (Imeson 2010; Świdzki 2001). Sole kwasu alginowego (alginian sodu) mają zdolność wiązania wody, co wykorzystuje się do zagęszczania budyniów, galaretek, kremów ciastkarskich. Pełnią funkcję zawieszającą cząstki w napojach owocowych, stabilizującą fazy w majonezach i sosach sałatkowych oraz tworzą powłokę wyrobów garmażeryjnych. Żelujące i stabilizujące właściwości agaru wykorzystywane są w przemyśle cukierniczym i piekarniczym (galaretki, „ptasie mleczko”, nadzienia do ciast), mleczarskim (twarogi termizowane, fermentowane napoje mleczne, śmietanki UHT, lody), mięsnym (konserwy serylizowane), owocowo-warzywnym (dżemy, marmolady, żywność dla dzieci) i wielu innych (Sołowej 2004). Żelatyna pozyskiwana ze zwierzęcego kolagenu jest wykorzystywana w przemyśle mleczarskim, cukierniczym (cukierki, żelki, wyrobu piekarnicze, desery), mięsnym i rybnym jak również w produkcji napojów owocowych i koncentratów spożywczych (zupy i sosy instant) oraz w żywności dietetycznej (Rachtan-Janicka J 2013; Rutkowski 2008). Guma gellan jest częstym dodatkiem do produkcji galaretek, dżemów, nadzień owocowych do ciast, lodów, koncentratów deserów, sosów, napojów mlecznych, jogurtów oraz jako składnik wypełniający w wyrobach dietetycznych, tworzy żełe termicznie odwracalne (). Z kolei guma ksantanowa znajduje zastosowanie jako stabilizator sosów, napojów owocowych, nadzień owocowych, lodów i konserw mięsno-warzywnych i rybnych. W przemyśle mleczarskim jest stosowana do wyrobu jogurtów smakowych i termizowanych, śmietanki UHT, serów topionych. Używa się jej również do produkcji koncentratów ciast, koncentratów obiadowych oraz wyrobów dietetycznych. Dobrze rozpuszcza się w wodzie zimnej i ciepłej, mleku, roztworach cukru i soli, dając stabilne roztwory o znacznej lepkości niezależne od zmian temperatury i stabilne w różnych środowiska (w zakresie pH 1-13) (Rutkowski 2001). Skrobia ziemniaczana jest używana w produkcji piekarniczej, cukiernictwie oraz jako dodatek do produktów mięsnych, natomiast guma guar znajduje zastosowanie jako stabilizator sosów, majonezów, nadzień, lodów, serów topionych i żywności mrożonej, poprawia teksturę produktów piekarniczych, służy jako substancja wiążąca w wędlinach oraz jako dodatek do napojów owocowych i dietetycznych (Fortuna i in. 2004).

Celem podjętych badań było określenie wpływu wybranych substancji strukturotwórczych (żelatyna, agar, guma guar, guma gellan, guma ksantanowa, alginian sodu, karagen i skrobia) na ocenę organoleptyczną galaretek i kisielu, a w szczególności: ocena wpływu wybranych substancji na wyczuwany smak i zapach badanych próbek, analiza cech jakościowych, takich jak: tekstura, lepkość, konsystencja, barwa, słodkość w badanych galaretkach i kisielach, oraz finalnie określenie preferencji konsumentów.

2. Materiał i metody badań

Populację badaną stanowiło 121 osób w wieku 20-28 lat. Ocena organoleptyczna została przeprowadzona w pracowni analizy sensorycznej Katedry Dietetyki Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach.

Tab. 1. Receptury próbek. Opracowanie na podstawie zalecanych ilości (TexturePro Bioozone).

| Substancja żelująca | Numer próbki | Receptura |
|----------------------|--------------|----------------|
| Agar | 343 | 2 miarki/80ml |
| Żelatyna | 678 | 5g/200ml |
| Guma ksantanowa | 822 | 2 miarki/300ml |
| Guma guar | 234 | 3 miarki/200ml |
| Guma gellan | 911 | 2 miarki/100ml |
| Alginian sodu | 745 | 2 miarki/120ml |
| Skrobia ziemniaczana | 441 | 8g /200ml |

Galaretki i kisiele otrzymano poprzez przygotowanie roztworu na bazie wody destylowanej i syropu malinowego 3:1, a następnie odważenie składników i ich wymieszanie wg receptur producentów. Jako substancji strukturotwórczych użyto: żelatyny spożywczej, skrobi ziemniaczanej oraz preparatów handlowych firmy Bioozon TexturePro. Próbkki zostały zakodowane i podane grupom oceniającym (po 6 osób) w losowej kolejności.

Do badań został wykorzystany autorski kwestionariusz opracowany zgodnie z normami PN ISO 5492:1997 w zakresie profilowania tekstury oraz normami PN A 88108:1998 galaretki i marmoladki, który umożliwił ocenę cech jakościowych galaretek i kisielei takich jak: smak, zapach, powierzchnia, lepkość, barwa, smakowitość, konsystencja oraz słodkość. Respondenci wytypowali również próbki wg skali preferencji. Wszystkie dane zostały wprowadzone do przygotowanej wcześniej bazy danych w programie Excel 2010. Analizę statystyczną otrzymanych wyników sporządzono w programie Statistica 10 firmy StatSoft.

3. Wyniki

Grupa badana określała zapach galaretek jako owocowy (malinowy, truskawkowy, wiśniowy lub innych owoców) inny niż owocowy lub bez zapachu. Najczęściej wyczuwano zapach owocowy w próbkach z agarem (51%) i gellanem (48%), a brak zapachu w galaretkie żelatynowej (50%). W przypadku żelatyny (11%) był to zapach opisany jako: sos tabasco, żelatyna, chemiczny lub plastikowy. Zapach galaretki z agaru (12%), kojarzył się respondentom z landrynkami lub syropem dla dzieci, a zapach galaretki z gellanem (11%) opisano jako mydlany, syropu dla dzieci i słodko-kwaśny. Zdecydowana większość respondentów we wszystkich próbkach galaretek rozpoznawała smak owocowy, a najczęściej dotyczyło to próbki z agarem (84%). Niewielki procent osób określał smak galaretek jako bez smaku lub inny niż owocowy. Inne wyczuwane smaki to w przypadku żelatyny mydlany i mięsny. Galaretka agarowa została opisana jako słodko-kwaśna i chemiczna a próbka z gellanem kojarzyła się z syropem dla dzieci. Badane cechy takie jak tekstura, lepkość, barwa, smakowitość, konsystencja, słodkość były oceniane za pomocą analizy organoleptycznej. Najwyżej oceniona została galaretka z dodatkiem żelatyny (średnia ocena 3,89), najniżej oceniono tę z dodatkiem gellanu (średnia ocena 3,22). Ocena metodą 5-punktową i metodą szeregowania wśród galaretek dały podobne wyniki. Najwyżej oceniana metodą szeregowania przez respondentów była galaretka z dodatkiem żelatyny, następnie z agarem i na trzecim miejscu z gellanem.

Tab. 2. Wyniki oceny galaretek metodą 5-punktową.

| hydrokoloid | Parametry oceny | | | | | | |
|-------------|-----------------|---------|-------|-------------|--------------|----------|---------------|
| | Tekstura | Lepkość | Barwa | Smakowitość | Konsystencja | Słodkość | Średnia ocena |
| Żelatyna | 4,17 | 3,93 | 4,40 | 3,29 | 4,07 | 3,47 | 3,89 |
| Agar | 3,35 | 3,21 | 4,11 | 3,19 | 3,31 | 3,39 | 3,43 |
| Guma gellan | 3,08 | 3,01 | 4,02 | 3,02 | 2,91 | 3,28 | 3,22 |

Grupa badana najczęściej określała zapach kisielei jako owocowy (malinowy, truskawkowy, wiśniowy lub innych owoców). Porównując kisiele z dodatkiem różnych hydrokoloidów, zapach owocowy wyczuwano przede wszystkim w próbkach z gumą ksantanową (54%), a brak zapachu w kisielu ze skrobią (57%). W próbkach z gumą guar i alginianem sodu 45% osób nie wyczuło żadnego zapachu. Aromaty inne niż owocowe były wyczuwane przez małą grupę respondentów. W przypadku gumy guar (11%) był to zapach opisany jako: orzechowy, ziemisty, mączny i sosu tabasco. Zapach kisielu z gumą ksantanową (12%) kojarzył się z syropem dla dzieci, aromatem mącznym lub plastikowym, a kisielu ze skrobią ziemniaczaną (16%) z klejem, żelatyną lub gumą. Zdecydowana większość respondentów we wszystkich próbkach kisieli rozpoznawała smak owocowy, dotyczyło to najczęściej próbki z gumą ksantanową (80%). W próbce z alginianem 33% osób nie wyczuło żadnego smaku. Najmniej osób określało smak kisieli jako inny niż owocowy.

Smak kisielu skrobiowego został opisany jako landrynkowy, chemiczny lub mączny, natomiast alginianu sodu: ziemi, pleśni i ziemniaków. Badane cechy, takie jak: tekstura, lepkość, barwa, smakowitość, konsystencja i słodkość były oceniane najwyżej w analizie organoleptycznej kisielu z dodatkiem skrobi ziemniaczanej (średnia ocena 3,62). Najniżej oceniono kisiel z dodatkiem gumy ksantanowej (średnia ocena 2,70). Ocena metodą 5-punktową nie pokrywa się z wynikami metody szeregowania. Respondenci ocenili najwyżej kisiel z dodatkiem skrobi (50%), następnie z gumą ksantanową (31%), na ostatnim miejscu znalazł się kisiel z gumą guar (35%).

Tab. 3. Wyniki oceny kisielu metodą 5-punktową

| Hydrokoloid | Parametry oceny | | | | | | |
|-----------------|-----------------|---------|-------|-------------|--------------|----------|---------|
| | Tekstura | Lepkość | Barwa | Smakowitość | Konsystencja | Słodkość | Średnia |
| Guma guar | 3,14 | 3,29 | 3,42 | 2,31 | 3,08 | 2,85 | 3,02 |
| Alginian sodu | 3,19 | 3,53 | 3,72 | 2,15 | 3,10 | 2,65 | 3,06 |
| Guma ksantanowa | 2,42 | 2,11 | 3,30 | 3,04 | 2,02 | 3,31 | 2,70 |
| Skrobia | 3,79 | 3,77 | 4,19 | 3,07 | 3,63 | 3,29 | 3,62 |

4. Dyskusja

Wyniki badania organoleptycznego galaretek i kisielu pozwalają wnioskować, że hydrokoloidy wpływają na wyczuwanie zapachu i smaku, jak również na parametry: teksturę, lepkość, barwę, smakowitość, konsystencję i słodkość. Ponad połowa badanych (59%) określała próbki kisielu i galaretek jako bez zapachu lub oznaczała zapach jako inny niż owocowy. Smak próbek najczęściej określono jako owocowy (60%), ale tylko 21% osób wskazało smak malinowy, który został użyty jako baza syropu. Zespół oceniający galaretki uznał próbkę z dodatkiem żelatyny za najlepszą pod względem takich cech jak: tekstura, lepkość, barwa, smakowitość, konsystencja i słodkość, co przełożyło się na najwyższą ocenę średnią w metodzie 5-punktowej. Badania nad wpływ różnych hydrokoloidów na ocenę organoleptyczną jogurtów owocowych wykazały, że produkty z żelatyną również zostały ocenione najwyżej. Jogurty z dodatkiem gumy guar i gumy ksantanowej były klasyfikowane niżej (Gustaw i in. 2007). W badaniu lodów owocowych dodatek gumy guar zwiększał ciągliwość, a cecha ta dyskwalifikowała jakość konsumencką lodów. (Dłużewska 2003). W badaniach własnych oceny tekstury, lepkości i konsystencji próbki kisielu z dodatkiem tego hydrokoloidu były niskie, co klasyfikowało tę próbkę jako drugą od końca. Niższe oceny miała tylko próbka z gumą ksantanową. Ocena konsumencka lodów owocowych z dodatkiem gumy ksantanowej w badaniach Dłużewskiej również była najniższa. Lody z żelatyną miały najwyższą pożądalność konsumencką. Analiza ocen galaretki z agarem wykazała, że dla wielu konsystencja, smak i zapach były dobre. Jakubczyk w swojej pracy wykazała różnice we właściwościach żelu agarowego z użyciem różnych substancji słodzących [Jakubczyk 2013]. W pracy tej zostało omówione zjawisko synerezy, czyli samoczynnego wycieku wody z żelu, co negatywnie wpływa na jakość i zachowanie struktury produktu spożywczego. Dlatego produkty agarowe mogą tracić na jakości przez zachodzące w nich zmiany. Ponad 1/10 badanej grupy oceniło próbkę jako wodnistą i o złej konsystencji, niektórzy określili galaretkę jako niesmaczną, kwaśną i z chemicznym posmakiem. Mimo pojawiającego się zjawiska synerezy 2/5 grupy uznało galaretkę jako akceptowalną zaraz po próbce z żelatyną, zajmując tym samym drugie miejsce w metodzie szeregowania. Analiza oceny wykazała, że dla wielu konsystencja, smak i zapach były dobre. Galaretkę z gumą gellan mimo dobrych not za barwę i słodkość, uzyskała niższą średnią ocenę w metodzie 5-punktowej, niż galaretkę agarową czy żelatynową. W metodzie szeregowania próbka ta przez prawie połowę respondentów (48%) została oceniona jako trzecia w kolejności. Respondenci zaakceptowali jej zapach, ale nie odpowiadała im krucha tekstura i posmak słodzików. W produktach z wykorzystaniem gumy gellan, zachodzi zjawisko synerezy, co zostało zauważone przez zespół oceniający. Badania nad wpływem zjawiska synerezy na właściwości reologiczne produktów zostały

opisane w badaniach Oryczkowskiej (Oryczkowska i Budzyńska 2011). Przeprowadzona ocena organoleptyczna wykazała, że mimo problemów z określeniem zapachu największą akceptacją konsumentką cieszyły się kisiele z dodatkiem skrobi, ponieważ, aż połowa badanych określiła tę próbkę jako najsmaczniejszą, o najlepszej konsystencji, a tylko 12 % uznało próbkę za niesmaczną i zwróciło uwagę na nieprzyjemny mączny smak. Cechy takie jak: barwa, tekstura i lepkość w metodzie 5-punktowej uzyskały dobre noty, określone jako preferowane. Na tle innych próbka ta została oceniona najwyższą uzyskując najlepszą średnią ocenę. W metodzie szeregowania kisiele z dodatkiem alginianu i gumy ksantanowej uzyskały podobne wyniki. Kisiel z alginianem uzyskał wyższe noty w trzech na pięć badanych cech. Barwa i konsystencja kisielu zostały ocenione jako dobre, natomiast za cechy obniżające jego jakość uznano obcy posmak, który był określony jako chemiczny. Historia badań nad interakcją pomiędzy lepkością i smakiem sięga lat 50-tych XX w. Badania, Mackey i Valassi (1956) wykazały, że progi rozpoznawania czterech podstawowych smaków, w tym słodkości, są wyższe w przypadku żeli i galaretek, niż w roztworach wodnych. W wyniku zmiany konsystencji zmniejsza się wrażliwość sensoryczna na smak słodki i gorzki. To zjawisko jest wykorzystywane w przypadku produktów spożywczych z dodatkiem gorzkich komponentów takich jak np. kofeina. Natomiast słodkość zmniejsza się w żelach, które powoli rozpadają się na języku. Intensywność zapachu i aromatu jest redukowana po dodaniu hydrokoloidów, a wysoka lepkość zmniejsza intensywność smaków. Większa lepkość to również mniejszy aromat. Zaobserwowane zjawiska wpływają na smak, zapach i aromat produktów spożywczych z dodatkiem hydrokoloidów (Cardello 1996). Podsumowując wyniki uzyskane metodą 5-punktową i akceptacji można stwierdzić, że hydrokoloidy polepszają percepcję struktury i konsystencji, ale jednocześnie wpływają na ocenę zapachu i smaku. Zmiany zachodzące w produktach wskazują na zwiększoną potrzebę stosowania dodatków do żywności z grupy barwników i słodzików, w celu uzyskania wyrobu spełniającego oczekiwania konsumentów. Analiza wyników wykazała znaczny wpływ badanych hydrokoloidów na cechy jakościowe, sugerować to może, że stosowanie jednego dodatku może wymusić zastosowanie innych w celu osiągnięcia artykułów zgodnych z preferencjami odbiorców. Akceptowalność produktów przez nabywców jest koniecznym i niezbędnym wymogiem stawianym przez producentów w chwili wprowadzania produktów na rynek. Niemniej używanie zarówno hydrokoloidów jak i innych dodatków do żywności jest nieuniknionym procesem, ze względu na specjalne właściwości wykorzystywane w różnych gałęziach przemysłu spożywczego.

5. Wnioski

- I. Hydrokoloidy znacząco wpływają na wyczuwanie zapachu. Zmieniają smaku i smakowitości jak również na cechy takie jak tekstura, lepkość, barwa, smakowitość, konsystencja i słodkość.
- II. Żelatyna i skrobia ziemniaczana uzyskały najwyższą średnią ocenę w metodzie 5-punktowej i szeregowania galaretek i kisieli.

6. Literatura

- Baryłko-Piekielna N, Kotyra E (2004) Współczesne trendy wyboru i akceptacji żywienia. *Przemysł Spożywczy* 58 (12): 3-10.
- Cardello A (1996) The role human senses in food acceptance, *journal: Food Choice, Acceptance and Consumption*. Blackie Academic & Professional 22-24
- Dłużewska E, Krygier K (2007) Hydrokoloidy we współczesnej produkcji żywności. *Przemysł Spożywczy* 5: 12-16
- Dłużewska E, Gazda B, Leszczy K (2003) Wpływ wybranych hydrokoloidów polisacharydowych na jakość koncentratów lodów owocowych. *Technologia Alimentaria* 2(1): 97-107.
- Fortuna T, Gałkowska D, Juszczyk L (2004) Porównanie właściwości reologicznych wybranych preparatów skrobi modyfikowanej. *Acta Sci. Pol., Technol. Aliment* 3(1): 21-32.
- Gustaw W, Nastaj M, Sołowej B (2007) Wpływ wybranych hydrokoloidów na właściwości reologiczne jogurtu stałego. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość* 5(54): 274– 282.

- Imeson A, Food Stabilisers (2010) Thickeners and Gelling Agents. Blackwell Publishing: Oxford.
- Jakubczyk E, Gondek E, Żelazny A (2013) Charakterystyka właściwości mechanicznych żelu agarowego ze zróżnicowanym dodatkiem substancji słodzących: Zeszyty Problemowe Postępów Nauk Rolniczych 572: 23-32.
- Janicki A (1997) Wykorzystanie strukturotwórczych dodatków w technologii gastronomicznej: Wyd. Zalewski S, Podstawy technologii gastronomicznej. Wydawnictwo Naukowo-Techniczne. Warszawa 337-353.
- Li, Juan-Mei, Nie, Shao-Ping (2015) The functional and nutritional aspects of hydrocolloids in foods: Food Hydrocolloids, Elsevier Ltd
- Orczykowska M, Budzyński P, Dziubiński M (2011) Wpływ gumy Gellan na właściwości reologiczne roztworów skrobi o różnym pochodzeniu botanicznym: Inżynieria i Aparatura Chemiczna 50(1): 31-32.
- Rachtan-Janicka J (2013) Podział i charakterystyka hydrokoloidów stosowanych w żywności bezglutenowej: Przegląd Piekarski i Cukierniczy 1(61):18-19
- Rutkowski A, (2001) Hydrokoloidy w produkcji żywności: Trans-Druk: Konin.
- Rutkowski A, (2008) Żelatyna: właściwości, technologia, użytkowanie: Apeks: Konin.
- Sołowej B, Gustaw W, Mleko S, Andruszczak S (2004) Właściwości reologiczne mieszanin gumy ksantanowej i różnych rodzajów skrobi: Żywność. Nauka. Technologia. Jakość t. 40; nr 3: 184 – 195.
- Świderski F, Waszkiewicz-Robak B (2001) Hydrokoloidy pochodzenia roślinnego jako zamiennik żelatyny: Bezpieczna Żywność 1: 31-37.

10. Żywność minimalnie przetworzona i metody jej utrwalania

Minimally processed food and methods of its preservation

Kałwa Klaudia

Katedra Analizy i Oceny Jakości Żywności, Wydział Nauk o Żywności i Biotechnologii,
Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie

Opiekun naukowy: dr hab. Radosław Kowalski

Kowalski Radosław: radoslaw.kowalski@up.lublin.pl

Słowa kluczowe: zdrowie, jakość, WOMP, technologia

Streszczenie

Żywność minimalnie przetworzona należy do produktów, które nie zostały poddane większym obróbkom podczas procesu technologicznego. Żywność ta powinna charakteryzować się wysoką jakością, zbliżoną do surowców pierwotnych. W dzisiejszych czasach ze względu na większe przywiązanie konsumentów do tego co wprowadzają w swoich jadłospisach żywność minimalnie przetworzona zyskała dużą większą popularność. Podstawowym problemem w produkcji tego rodzaju żywności jest zapewnienie jej jak najwyższej jakości przy zachowaniu cech pierwotnych. Koniecznym stało się poszukiwanie nowych, lepszych metod utrwalania, będących alternatywą do metod konwencjonalnych. W celu zaspokojenia potrzeb konsumentów przemysł żywnościowy wprowadził m.in. technologie łagodnego przetwarzania surowców, które sprzyjają zachowaniu cech naturalnych.

1. Wstęp

Z upływem lat warzywa i owoce minimalnie przetworzone (WOMP) zaczynają cieszyć się coraz większą popularnością ze względu na zachowanie naturalnych właściwości oraz wygodę ich użytkowania. Pozytywny wpływ spożywania żywności minimalnie przetworzonej na zdrowie został udowodniony przez wiele badań prowadzonych w ostatnich latach (Siddiqui i Rahman 2015). Wysoko przetworzone produkty często pozbawione są cennych składników, których obecność w większych ilościach możemy znaleźć w drugiej grupie. Konsumentów przez wpływ mediów oraz innego rodzaju przekazów masowych mają większą świadomość, znaczenia zdrowego odżywiania się w celu poprawy zdrowia i lepszego samopoczucia. Społeczeństwo oczekuje od rynku możliwości spożywania żywności bogatej w składniki odżywcze oraz witaminy. Kampanie reklamowe promujące wprowadzenie do diety minimum 5 porcji warzyw i owoców wzbogaciły wiedzę konsumentów o wadze obecności tych składników w jadłospisie. Konsumentów poszukują na rynku żywności najmniej przetworzonej z zachowaniem jej jak najwyższej jakości (Wiley 2004; Świdorski i Waszkiewicz-Robak 2008). Żywność minimalnie przetworzona powstaje dzięki zminimalizowaniu zabiegów termicznych, co pozwala na zachowanie ich świeżości i naturalności oraz daje wygodę w jej użytkowaniu. Jedną z najważniejszych grup tego typu żywności są WOMP. Proces technologiczny tych produktów składa się zazwyczaj z podstawowych jednostek operacyjnych, do których możemy zaliczyć sortowanie, oczyszczanie, mycie, obieranie, cięcie, rozdrabnianie, a niekiedy mieszanie surowców. Możliwość wprowadzenia tego typu żywności na rynek konsumencki wymaga, aby ich okres trwałości wynosił, co najmniej 4-7 dni. Osiągnięcie takiej trwałości przy wyeliminowaniu stosowania metod termicznych wymaga od producentów zastosowania zabiegów nietermicznych. Główną wadą stosowania takiego procesu technologicznego jest brak sterylności, przez co żywność minimalnie przetworzona jest szczególnie zagrożona skażeniem mikrobiologicznym (Roagert i in. 2007). Złożone wyzwania zapewnienia bezpieczeństwa i jakości żywności wymagają od producentów i przetwórców poszukiwania nowych, metod utrwalania oraz innowacyjnego podejścia do rozwoju stosowanych metod technologicznych. Zmienna natura świeżych produktów wymaga opracowania takich metod, które będą dostosowane i zoptymalizowane dla każdego rodzaju owoców i warzyw (Kuśmierczyk i Szepieniec- Puchalska 2008). Pod pojęciem żywności minimalnie przetworzonej należy rozumieć produkty żywnościowe otrzymywane

z zastosowaniem nowoczesnych metod niskoenergetycznych, dających możliwość ochrony naturalnych właściwości surowca wyjściowego. Według Czapskiego (2007) jest to żywność, gdzie produkcja ogranicza się do podstawowych zabiegów, umożliwiających uzyskanie produktu gotowego do użycia, o zachowanych naturalnych właściwościach. W ostatnich dziesięcioleciach, konsumenci żyją w społeczeństwie, gdzie wygoda i produkty spożywcze wysokiej jakości są na coraz częściej poszukiwane. Jedną z odpowiedzi przemysłu spożywczego do tego trendu była produkcja minimalnie przetworzonych warzyw. Te warzywa łączą swoją świeżość i zdrowe cechy (zachowane podczas przechowywania przez naturalny system pakowania), z minimalnym czasem przygotowania przed spożyciem (Szymczak i in. 2011). To doprowadziło do szybkiego wzrostu rodzajów minimalnie przetworzonych warzyw oferowanych, a w konsekwencji do wysokiej sprzedaży.

2. Metody utrwalania WOMP

Jak już wspomniano we wstępie przy produkcji żywności minimalnie przetworzonej należy w głównej mierze skupić się na zastosowaniu odpowiednich, nietermicznych metod utrwalania żywności. Stan mikrobiologiczny owoców i warzyw zależy w dużej mierze, od jakości mikrobiologicznej surowca oraz procesu technologicznego, rodzaju stosowanych opakowań, oraz warunków przechowywania (Lencki 2005). Podczas zastosowania podstawowych zabiegów obierania, cięcia i rozdrabniania powierzchnia produktu jest narażona na zanieczyszczenia bakteriami, drożdżami oraz pleśnią. W minimalnie przetworzonych warzywach, z których część należy do żywności zakwaszających (zakres pH 5,8-6,0) wysoka wilgotność powietrza oraz duża powierzchnia cięcia może zapewnić idealne warunki dla wzrostu i rozwoju mikroorganizmów (Wakabayashi 2000). Populacje drobnoustrojów znalezionych w owocach i warzywach są bardzo zróżnicowane, jednak dominującą mikroflorą w przypadku świeżych warzyw są *Pseudomonas*, *Erwinia* spp. oraz drożdże (Wang et al. 2008). Początkowa, wysoka liczba drobnoustrojów utrudnia ustalenie liczby komórek, powyżej której produkt należałoby uznać za nienadający się do spożycia przez ludzi. Wiele badań wskazuje, że nie istnieje prosta zależność między składem chemicznym surowców, a ich podatnością na psucie (Czapski 2007). W rzeczywistości różne owoce i warzywa wykazują różnicę w tempie rozwoju mikroflory. Ze względu na brak obróbki termicznej podczas wytwarzania minimalnie przetworzonych owoców i warzyw niezależnie od zastosowanych dodatków lub opakowania w celu uzyskania dostatecznej trwałości i bezpieczeństwa mikrobiologicznego powinny być one przechowywane w obniżonej temperaturze ok. 5°C (Perera 2005).

Podstawowym założeniem przedłużania trwałości żywności minimalnie przetworzonej jest zastosowanie kombinacji kilku czynników utrwalających lub przedłużających trwałość zgodnie z koncepcją zaproponowaną przez Leistnera – teoria płotków, która opiera się na pięciu podstawowych czynnikach wzrostu i inaktywacji drobnoustrojów takich jak:

- aktywność wodna
- temperatura
- pH środowiska
- ciśnienie osmotyczne
- obecność tlenu lub innych gazów obojętnych

i polega na zastosowaniu oddziaływania kilku czynników uwzględniając nie tylko mikroflorę obecną na produkcie, ale również jego charakterystykę. Każdy surowiec wyróżnia się między sobą obecnością różnorodnej mikroflory, do których nie jest możliwe dopasowanie optymalnych warunków wyżej wymienionych czynników w ten sposób, aby działały one na każde zagrożenie mikrobiologiczne (Oliveira et al. 2010). Teoria płotków pozwala nam na dostosowanie do konkretnego produktu takich warunków, aby najskuteczniej wyeliminować drobnoustroje z żywności.

Ogólnie metody utrwalania żywności minimalnie przetworzonej możemy podzielić na trzy grupy:

- Fizyczne, do których zaliczyć możemy m.in. sortowanie, mycie i dezynfekcje, obieranie, rozdrabnianie, zmiennie pole magnetyczne, radiacja, pulsujące pole magnetyczne, wysokie lub obniżone ciśnienie

- Fizykochemiczne, do których zaliczamy dodatek substancji obniżających aktywność wody, dodatek substancji o charakterze antyoksydacyjnym, dodatek substancji naturalnych o działaniu antybakteryjnym
- Biologiczne, które polegają na dodatku do żywności odpowiednich kultur bakteryjnych lub preparatów enzymatycznych (Rowley 2001).

3. Metody fizyczne

Metody fizyczne utrwalania żywności polegają na wykorzystaniu zjawisk fizycznych lub stosowaniu substancji zwiększających ciśnienie osmotyczne, którymi często są składniki środków żywnościowych (sól, cukier). Utrwalanie środków żywnościowych metodami fizycznymi polega na stosowaniu w przetwórstwie wysokich i niskich temperatur, odwodnienia, solenia i cukrzenia. Odpowiednio przeprowadzone procesy czyszczenia, mycia, dezynfekcji i osuszania surowca mają istotny wpływ na stan mikrobiologiczny uzyskiwanych wyrobów. Szczególnie ważnym zabiegiem, z punktu widzenia zachowania jakości mikrobiologicznej i trwałości warzyw, jest proces mycia i dezynfekcji. Celem tych zabiegów jest usunięcie zanieczyszczeń mechanicznych i chemicznych jak również zmniejszenia liczny drobnoustrojów znajdujących się na powierzchni surowców (Nowicka i in. 2014). Zabiegiem sprzyjającym powstrzymaniu rozwoju drobnoustrojów w surowcach warzywnych i owocowych jest obniżenie pH (np. poniżej 4,5) przez kąpiel surowców po dezynfekcji w 0,5% roztworze wodnym kwasu cytrynowego. Osuszenie surowców po kąpeli odbywa się w specjalnych wirówkach i trwa kilka minut. Operacja ta uniemożliwia rozwój drożdży, pleśni i bakterii na powierzchni umytych surowców (Lencki 2005). Wśród innych metod, które mogą mieć zastosowanie w technologii minimalnego przetwarzania żywności wyróżnia się: technologię pomieszczeń wysokiej czystości, obróbkę warzyw i owoców bezpośrednio po zbiorze, zastosowanie mikroorganizmów antagonistycznych, technologie osłonek jadalnych, opakowania aktywne z absorbentami pary wodnej i tlenu; stosowanie bardzo wysokich ciśnień (UHP), wysokonapięciowych impulsów elektrycznych, oscylującego pola magnetycznego, radiacji mikrofalowej, napromieniowania promieniami gamma lub strumieniem elektronów, impulsów świetlnych oraz ultradźwięków, ogrzewanie indukcyjne (omowe), ogrzewanie mikrofalowe, ogrzewanie pojemnościowe (dielektryczne), (Niemira i Sites 2008).

4. Metody fizyko-chemiczne

Utrwalanie surowców za pomocą metod fizykochemicznych polega na dodawaniu do środka spożywczego substancji dodatkowych w celu:

- zachowania wartości odżywczej,
- zwiększenia możliwości przechowywania lub stabilności żywności i polepszenia jej właściwości organoleptycznych, pod warunkiem, że konsument nie jest wprowadzany w błąd,
- usprawnienia produkcji, przetwórstwa, przygotowywania, obróbki, pakowania, przewożenia lub przechowywania żywności, włączając w to dodatki do żywności, enzymy spożywcze i środki aromatyzujące do żywności, pod warunkiem, że dodatek do żywności nie jest stosowany w celu ukrycia wybrakowania surowców lub niehigienicznych praktyk.

W przypadku żywności minimalnie przetworzonej tylko nieliczna grupa środków dodatkowych jest dozwolona do stosowania. Dodanie związków powodujących obniżenia pH takich jak kwas askorbinowy i jego pochodne, kwas mlekowy, winowy, cytrynowy chroni produkt przed rozwojem mikroflory bakteryjnej, lecz w przypadku owoców o barwie czerwono-różowej niższe pH wpływa na pogorszenie barwy. Kwas askorbinowy jest bowiem dobrym inhibitorem brązowienia enzymatycznego przede wszystkim z uwagi na jego zdolność do redukcji chinonów z powrotem do związków fenolowych, zanim przejdą one w formę barwnych związków. Jednak kwas askorbinowy może utleniać się do kwasu dehydroaskorbinowego, który już nie redukuje chinonów i nie hamuje reakcji prowadzących do powstawania barwnych związków (Wiley 1994). Dlatego najkorzystniej jest stosować go w połączeniu z innymi substancjami np. kwasem cytrynowym. Kolejnym przykładem

zastosowania metody fizykochemicznej jest zanurzanie warzyw i owoców w roztworach soli wapniowych. Jony wapniowe wchodzą w reakcje ze składnikami ścian komórkowych i blaszki środkowej, głównie z pektynami. Skutkuje to obniżeniem przepuszczalności ścian dla gazów i składników soku komórkowego, zwiększa odporność ścian na hydrolizę enzymatyczną, podwyższa twardość tkanki, co powoduje zwiększenie jej odporności na uszkodzenia mechaniczne, a często zwiększa atrakcyjność sensoryczną produktu oraz umożliwia utrzymanie turgoru komórek. Wynikiem takiego procesu jest przedłużenie trwałości minimalnie przetworzonej żywności. Należy jednak pamiętać, że niektóre sole wapniowe takie jak chlorek wapnia mogą negatywnie wpływać na jakość owoców i warzyw poprzez nadanie im gorzkiego smaku (Świdorski i Waszkiewicz-Robak 2008). Ograniczenia stosowana odwadniania osmotycznego wynikają głównie z wielkości porów błony i ściany komórkowej oraz rozmiaru cząstek substancji wprowadzanej. W celu ograniczenia zmian tekstury owoców i warzyw łączy się kilka metod, np. promieniowanie, nasycanie kwasami pod obniżonym ciśnieniem, obróbkę termiczną połączoną z zanurzaniem w roztworach jonów wapnia (Wang et al. 2008).

5. Metody biologiczne

Oprócz brązowienia enzymatycznego kluczowym problemem jest zachowanie bezpieczeństwa mikrobiologicznego żywności minimalnie przetworzonej. Jedną z nowszych metod zminimalizowania takiego zagrożenia jest metoda biologiczna. Polega ona na stosowaniu kultur bakteryjnych bezpiecznych dla zdrowia człowieka, które w wyniku konkurencji z pozostałą mikroflorą powodują jej wyeliminowanie, dzięki wytwarzaniu substancji o działaniu bakteriostatycznym lub bakteriobójczym (Nowicka i in. 2014). Są to między innymi substancje antybiotyczne bakterii fermentacji mlekowej, fitoaleksyny i chitozany. Ryzyko związane z zagrożeniem mikrobiologicznym w przypadku żywności minimalnie przetworzonej jest dużo większe w porównaniu z żywnością wysoko przetworzoną. Niektóre produkty takie jak mięso, ryby, owoce i warzywa tworzą grupę produktów mogących być zanieczyszczone bakteriami, drożdżami, pleśniami czy wirusami, które nie tylko są powodem wytwarzania niekorzystnych zmian w produkcie, ale także niosą ryzyko zagrożenia zdrowia i życia konsumenta. Przez wiele lat główną przyczyną zatruc pokarmowych były bakterie z rodzaju: *Salmonella*, *Clostridium*, *Staphylococcus*, *Escherichia* i *Pseudomonas* (Torriani i Masa 1994). Obecnie szczególną uwagę zwraca się na nowe czynniki chorobotwórcze, do których należą bakterie z rodzaju: *Listeria*, *Yersinia* i *Campylobacter*. Surowce roślinne są grupą szczególnie narażoną na zanieczyszczenia mikrobiologiczne związane z obecnością w nich bakterii *Listeria monocytogenes*, ma to związek z wyeliminowaniem przez rozporządzenia dotychczasowych sztucznych środków nawożenia gleb, przez co coraz częściej stosowane są nawozy naturalne-oborniki (Ucherek 2004). Jest on źródłem wielu patogenów w tym najliczniej bakterii *Listeria*. Bakteria ta przedostając się do gleb może powodować zanieczyszczenia owoców i warzyw zwłaszcza korzennych mających bliski kontakt z glebą. Ze względu na zagrożenie jakie niesie obecność *Listerii* w żywności stosuje się kilka metod utrwalania: dodatek kwasu mlekowego w celu obniżenia pH środowiska, zastosowanie ekstraktów z przypraw roślinnych, które zahamowują wzrost *Listerii monocytogenes* np. eugenol, goździki, chrzan (Leadly i Williams 2001). W technologii żywności najczęściej korzysta się z dodatków w postaci bakterii fermentacji mlekowych w połączeniu z innymi technikami utrwalania takim jak:

- magazynowanie produktów w warunkach chłodniczych
- dodawanie bakteriocyn z innych źródeł biologicznych w celu uzyskania odpowiedniego poziomu liczby mikroorganizmów
- zastosowanie odpowiedniego środka do dezynfekcji w celu redukcji mikroflory

Właściwości kultur bakterii fermentacji kwasu mlekowego są wykorzystywane poprzez naniesienie czystej kultury na produkt, płukanie w roztworach bakteriocyn oraz powlekanie powierzchni produktu.

6. Niekonwencjonalne metody utrwalania żywności

Niekonwencjonalne metody utrwalania żywności należą do metod nietypowych, z reguły nowoczesnych wykorzystujących najnowsze urządzenia techniczne. Spośród tych metod, które można wykorzystać podczas produkcji żywności o niskim stopniu przetworzenia możemy wymienić:

- ultradźwięki- obecnie stosowanie ultradźwięków jako jednej z metod utrwalania żywności ma znaczący wpływ na szybkość wielu procesów w przemyśle spożywczym. Stosunkowo nowa gałąź nauki o technologii żywności, jaką jest ultraakustyka, bardzo szybko i prężnie rozwija się na całym świecie. Wyniki dotychczasowych badań nad zastosowaniem ultradźwięków w przemyśle spożywczym i w technologii żywności wydają się być niezwykle obiecujące. Skutkiem zastosowania tej metody jest możliwość uproszczenia i znacznego skrócenia czasu stosowanych w przemyśle spożywczym metod konwencjonalnych takich jak: zamrażanie, cięcie, suszenia, sterylizacja czy także ekstrakcja. Głównymi zaletami stosowania ultradźwięków podczas przetwarzania żywności są: bardziej efektywne mieszanie oraz mikro-mieszanie, szybszy transfer energii, zmniejszenie gradientów termicznych stężeń, obniżenie temperatury, selektywną ekstrakcję, znaczne zmniejszenie rozmiarów konstrukcji maszyn i urządzeń stosowanych w metodach konwencjonalnych, zwiększenie produkcji poprzez eliminację innych procesów (Chemat et al. 2011). Pomiary ultradźwiękowe charakteryzują także wewnętrzną strukturę materiału, niewidoczną gołym okiem, a często niewykrywaną nawet przez sprzęt analityczny, np. mikroskop. Nieinwazyjne i bezdotykowe badanie umożliwia także dokładniejsze poznanie wielu procesów technologicznych - ich kinetyki oraz zmian zachodzących w żywności pod ich wpływem. Aparatura wykorzystująca do pomiaru ultradźwięki pozwala na ciągle monitorowanie zmian zachodzących w żywności, w najmniejszym nawet stopniu nie ingeruje w proces i nie zakłóca go. Ponadto ultradźwięki są bezpieczne zarówno dla pracowników zakładów przetwórczych zajmujących się produkcją żywności, jak i dla spożywających sonifikowaną żywność konsumentów. Przy tak wielkich możliwościach i przy tak znacznej redukcji kosztów, jakie oferuje zastosowanie ultradźwięków, wydaje się, że ultraakustyka stanie się popularną techniką w zakładach związanych z produkcją i przetwarzaniem żywności już w ciągu najbliższych lat (Kaczmarski i Lewicki 2005).
- techniki wysokich ciśnień-technologia wysokich ciśnień (w skrócie HPP – High Pressure Processing) jest stosowana na skalę przemysłową w wielu krajach, najczęściej w celu przedłużenia trwałości żywności na skutek redukcji liczby drobnoustrojów czy aktywności enzymów. Może być również wykorzystana do modyfikowania właściwości funkcjonalnych poszczególnych składników surowca i gotowego produktu, a tym samym kreowania nowych właściwości reologicznych, głównie teksturalnych (Pietrzak 2010). Techniki te stosuje się bardzo często w celu konserwacji żywności. Sposoby konserwacji metodą wysokich ciśnień były obiektem zainteresowania już na przełomie XIX i XX wieku, jednak dopiero niedawno wznowiono badania, oraz próby wprowadzenia jej na skalę przemysłową. Metoda HHP nie powoduje spadku ilości witamin w żywności, zmiany jej smaku, zapachu, a także w większości przypadków jej koloru. W metodzie HHP nie występują siły tnące, proces zachodzi inaczej niż w przypadku standardowej obróbki czyli natychmiastowo, nie ponosi za sobą deformacji produktu, ponieważ działające na jego powierzchnię ciśnienie osmotyczne jest jednakowe w każdym kierunku (Kulisiewicz 2003).
- techniki z wykorzystaniem pulsacyjnego pola elektrycznego- zastosowanie prądu elektrycznego w przetwórstwie żywności było przedmiotem zainteresowania naukowców już na początku XX w. W 1920 r. opracowana została metoda pasteryzacji mleka („ElectroPure Process”) przy użyciu zmiennego prądu elektrycznego o niskiej częstotliwości. Pionierskie badania nad zastosowaniem pulsacyjnego prądu elektrycznego w technologii żywności prowadził niemiecki inżynier Doevenspeck, który w 1960 r. opatentował metodę wykorzystującą fale elektryczne o wysokim napięciu do dezintegracji komórek materiału żywnościowego w celu separacji poszczególnych faz (Toepfl 2006). Utrwalanie żywności metodą PEF jest zdecydowanie lepszą technologią niż tradycyjna

obróbka termiczna żywności, ponieważ gwarantuje zachowanie cech sensorycznych i fizycznych produktów, przy jednoczesnej inaktywacji zanieczyszczeń biologicznych. Nie do końca nadaje się jednak do utrwalania owoców i warzyw, ponieważ stres spowodowany chwilowymi zmianami w momencie osiągnięcia potencjału membranowego może prowadzić do utraty turgoru i zwiększenia możliwości ekstrakcji z komórek wartościowych składników (Nowicka i in. 2014)

7. Podsumowanie

Produkty spożywcze minimalnie przetworzone charakteryzują się jakością bardzo zbliżoną do surowców pierwotnych. Niestety są one dużo bardziej narażone na wiele niekorzystnych czynników chemicznych, biologicznych oraz fizycznych w porównaniu do produktów wysoko przetworzonych. Zapewnienie trwałości wyżej wymienionym produktom sprawiło, że coraz częściej poszukuje się nowych i skutecznych metod utrwalania nietermicznego. Wśród nich znajdują się ultradźwięki, techniki wysokich ciśnień, techniki membranowe, promieniowanie jonizujące techniki z wykorzystaniem pulsacyjnego pola elektrycznego, pakowanie w modyfikowanej atmosferze, a także obniżanie aktywności wody i metody fizykochemiczne. Dobór odpowiednich parametrów tych procesów gwarantuje nam stabilność mikrobiologiczną produktów o niskim stopniu przetworzenia oraz zachowanie ich wyjściowych cech sensorycznych.

8. Literatura

- Chemat F, Zill-e-Huma, Khan MK (2011) Applications of ultrasound in food technology: Processing, preservation and extraction. *Ultrasonics Sonochemistry*, 18 (4): 813-835.
- Czapski J (2007) Czy nowe znaczy bezpieczne? *Przemysł Spożywczy*, 4: 12-15.
- Kaczmarek ŁK, Lewicki PP (2005) Zastosowanie technik ultradźwiękowych w przetwarzaniu żywności. *Przemysł Spożywczy*, 9: 35-36.
- Kulisiewicz L (2003) Konserwacja żywności metodą wysokich ciśnień, *Technika chłodnicza i klimatyzacyjna*, 12: 448-450.
- Kuśmierczyk K, Szepieniec-Puchalska D (2008) Zmiany w konsumpcji żywności w Polsce. *Przemysł Spożywczy* 12: 6-13.
- Leadly C, Williams A (2001) Current and potential applications for power ultrasound in the food industry. *New Food*, 4 (3): 23-6.
- Lencki RW (2005) Modified Atmosphere Packaging for Minimally Processed Foods. University of Guelph, Department of Food Science, Guelph, Canada.
- Niemira BA, Sites J (2008) Cold plasma inactivates Salmonella Stanley and Escherichia coli O157:H7 inoculated on golden delicious apples. *J Food Protection*, 71: 1357-1365.
- Nowicka P, Wojdyło A, Oszmiański J (2014) Zagrożenia powstające w żywności minimalnie przetworzonej i skuteczne metody ich eliminacji. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2 (93): 5-18.
- Oliveira MA, Ribeiro EGA, Bergamini AMM et al. (2010) Quantification of Listeria monocytogenes in minimally processed leafy vegetables using a combined method based on enrichment and 16S rRNA real-time PCR. *Food Microbiology*, 27: 19-23.
- Perera CO (2005) Selected quality attributes of dried foods. *Drying Technol.* 23(4): 717-730.
- Pietrzak D (2010) Perspektywy stosowania wysokich ciśnień w produkcji żywności wygodnej z mięsa drobiowego. *ŻYWNOSĆ. Nauka. Technologia. Jakość*, 2 (69): 16-28.
- Siddiqui MW, Rahman MS (2015) Minimally Processed Foods. Food Engineering Series, Springer, USA.
- Świdorski F, Waszkiewicz-Robak B (2008) Technologie minimalnego przetwarzania żywności. *Przemysł Fermentacyjny i Owocowo-Warzywny*, 4: 38-40.
- Szymczak B, Sawicki W, Bogusławska-Wąs E i in. (2011) Występowanie L.monocytogenes w świeżych owocach i warzywach pochodzących z upraw ekologicznych województwa zachodnio-pomorskiego. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2 (75): 67 – 76.

- Ucherek M (2004) Opakowalnictwo owoców i warzyw. Przemysł Fermentacyjny i Owocowo-Warzywny, 3: 21-23.
- Toepfl S (2006) Pulsed Electric Fields (PEF) for Permeabilization of cell membranes in food- and bioprocessing – applications, process and equipment design and cost analysis. Praca doktorska. Technischen Universität, Berlin.
- Wakabayashi K (2000) Changes in cell wall polysaccharides during fruit ripening. Journal of Plant Research. 113(1111): 231–237.
- Wang Y, Bao Y, Shena D et al. (2008) Biocontrol of *Alternaria alternata* on cherry tomato fruit by use of marine yeast *Rhodosporidium paludigenum*. International Journal Food Microbiology, 123(3): 234-239.
- Wiley RC (1994) Minimally Processed Fruit and Vegetables. ed. 1, Chapman & Hall, New York.

11. Nowoczesne metody w zakresie systemów pakowania owoców i warzyw

Emerging technologies of packaging systems for fruits and vegetables

Kałwa Klaudia⁽¹⁾, Kamil Wilczyński⁽²⁾

⁽¹⁾Katedra Analizy i Oceny Jakości Żywności, Wydział Nauk o Żywności i Biotechnologii, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie

⁽²⁾Katedra Inżynierii i Maszyn Spożywczych, Wydział Inżynierii Produkcji, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie

Opiekun naukowy: dr hab. Radosław Kowalski

Kowalski Radosław: radoslaw.kowalski@up.lublin.pl

Słowa kluczowe: jakość, bezpieczeństwo, żywność, opakowania aktywne i inteligentne

Streszczenie

W ostatnich dwóch dekadach nastąpił wzrost zainteresowania wśród indywidualnych konsumentów warzywami i owocami minimalnie przetworzonymi (WOMP). Ich produkcja obejmuje kilka podstawowych operacji jednostkowych takich jak: sortowanie, czyszczenie i mycie surowca, obieranie, cięcie, rozdrabnianie, niekiedy mieszanie składników oraz pakowanie. Aby możliwa była dystrybucja tych produktów w sieci handlowej, muszą one posiadać okres trwałości wynoszący co najmniej 4–7 dni.

Osiągnięcie takiej trwałości, przy ograniczeniu zabiegów termicznych, wymaga stosowania różnych metod nietermicznych i/lub odpowiednich opakowań. Wśród wielu technik zabezpieczania jakości WOMP, najbardziej interesującą i jednocześnie kontrowersyjną jest zastosowanie jadalnych powłok lub filmów na bazie różnego rodzaju polimerów spożywczych i/lub lipidów. Powłoki jadalne pełnią podobną rolę do powszechnie stosowanych opakowań foliowych. Oprócz nich ciekawą formą opakowań są opakowania aktywne oraz inteligentne. Ich oddziaływanie na trwałość pozbiorczą warzyw i owoców opiera się głównie na ograniczeniu szybkości wymiany gazowej zachodzącej między przestrzeniami międzykomórkowymi surowca, a otoczeniem.

1. Wstęp

Odpowiedni dobór opakowania pozwala zapewnić wysokiej jakości wyrób spożywczy oraz ograniczać straty towarowe. Dotychczasowe opakowania stosowane do świeżych owoców i warzyw są bardzo nietrwałe i delikatne, a ich głównym zadaniem jest ochrona surowca przed ewentualnymi uszkodzeniami mogącymi pojawić się w czasie transportu i dystrybucji. Każda żywność niezależnie od pochodzenia jest przechowywana przez dłuższy bądź krótszy czas, zaś najważniejszym celem jest utrzymanie wysokiej wartości konsumpcyjnej. Zmiany zachodzące na polskim rynku sprawiły, że konsumenci zaczęli zwracać uwagę nie tylko na cenę produktów, ale przede wszystkim na wysoką jakość oraz atrakcyjność wyrobów wraz z jego opakowaniem. W ostatnich latach pogłębiający się rozwój branży owocowo-warzywnej sprawił, że producenci zaczęli interesować się stosowaniem takich opakowań, które nie będą pełnić już tylko roli ochronnej, ale sprawią, że ich produkty będą odznaczać się jak najdłuższą świeżością oraz zapobiegać występowaniu niekorzystnych zmian podczas okresu przechowywania i dystrybucji. Jednym z głównych czynników determinujących taką zmianę jest zmieniający się udział poszczególnych kanałów dystrybucji w sprzedaży świeżych owoców i warzyw. Kierunki tych zmian podyktowane są coraz większym naciskiem na bezpieczeństwo żywności, wygodę konsumenta oraz ekonomikę sprzedaży (Jakowski 2006; Jakubczyk 2007).

Rosnąca konkurencja ze strony importowanych produktów roślinnych jak również wyższe wymagania jakościowe odbiorców skłoniły dostawców do zastosowania nowszych technologii opakowań takich jak pakowanie w modyfikowanej atmosferze (MAP) oraz inteligentnych opakowań. Unowocześnienie systemu pakowania w obrocie owocami i warzywami jest ważnym czynnikiem determinującym ich obecność na rynku polskim. Istotny wpływ na te zmiany mają globalne wzorce oraz masowy napływ zagranicznych produktów na krajowy rynek, co sprawia, że konsumenci

zmieniają swoje dotychczasowe tendencje żywieniowe (Nowacka i Niemczuk 2012; Czaja-Jagielska 2013).

2. Pakowanie w modyfikowanej atmosferze (MAP)

Pakowanie w modyfikowanej atmosferze stosowane jest od ponad 25 lat, jednak dopiero w ostatniej dekadzie ilość pakowanych w ten sposób produktów spożywczych zaczęła znacznie wzrastać. Stosowanie tego zabiegu znacząco wydłuża trwałość produktów spożywczych i dzięki temu stanowi największy udział we wzroście sprzedaży pakowanej żywności. Technologia pakowania w atmosferze ochronnej polega na zastąpieniu powietrza w opakowaniu gazem lub mieszaniną gazów, w ten sposób, aby możliwe było kontrolowanie procesów biochemicznych lub enzymatycznych oraz zapewnienie ograniczenia rozwoju mikroorganizmów (Tomas-Barberan i Spin 2002). Ten rodzaj pakowania polega na włączaniu do opakowania dwutlenku węgla (CO₂), tlenu (O₂) i azotu (N₂) w różnych proporcjach, a następnie szczelnego zamykania poprzez zgrzewanie, co wpływa na zachowanie atmosfery kontrolowanej w czasie przechowywania. Tlen hamuje wzrost drobnoustrojów beztlenowych, dwutlenek węgla hamuje wzrost drobnoustrojów tlenowych, a azot ze względu na niską rozpuszczalność w wodzie zapobiega zapadaniu się opakowania.

Stosowane są dwie metody regulacji składu atmosfery w opakowaniach stosowanych do żywności:

- metody aktywne, które polegają na usunięciu powietrza i wprowadzeniu mieszaniny gazów o dobranym składzie do opakowania z materiału o określonej przepuszczalności dla gazów, a następnie jego zamknięcie lub umieszczenie w opakowaniu substancji pochłaniających lub wydzielających dwutlenek węgla, tlen i etylen,
- metody pasywne stosowane tylko w przypadku owoców i warzyw minimalnie przetworzonych, gdzie skład atmosfery w opakowaniu ulega zmianie w trakcie przechowywania w skutek zachodzących procesów oddychania (Sebti i in. 2002).

Jednym z istotnych parametrów oceny jakościowej produktu jest podatność różnych owoców i warzyw do oksydacyjnej utraty kwasu askorbinowego, która jest bardzo różnicowana w zależności od rodzaju materiału roślinnego. Prowadzone badania wskazują również na lepsze zachowanie witaminy C w produkcie o kontrolowanej atmosferze z tendencją dla ograniczonego stężenia tlenu, podwyższonym stężeniem dwutlenku węgla oraz obniżonej temperatury składowania. Jednak zbyt wysoki poziom dwutlenku węgla może mieć negatywny wpływ na zawartość witaminy C w niektórych owocach i warzywach. W przypadku owoców i warzyw stosowane są takie mieszaniny gazów, gdzie występuje niski poziom tlenu oraz wysoka emisja dwutlenku węgla, co skutkuje zmniejszonym oddychaniem i wydzielaniem etylenu, aby opóźnić dojrzewanie i starzenie się surowców roślinnych, a także zmniejszenie wzrostu mikroorganizmów powodujących psucie się produktów. Natomiast warzywa liściaste (np. szpinak) są bardzo podatne na psucie się i utratę aminokwasów, podczas gdy warzywa korzeniowe (np. ziemniaki) zachowują jakość i zawartość aminokwasów przez wiele miesięcy (Bonikowska i Śnieżawski 2008) W roku 1877 Pasteur i Joubert zaobserwowali, że laseczkę wąglika *Bacillus anthracis* można zwalczyć za pomocą CO₂, natomiast pięć lat później w 1882 r. opublikowano pierwszy artykuł dotyczący konserwującego wpływu dwutlenku węgla na żywność, który wskazywał na wydłużony czas przechowywania mięsa wołowego w cylindrze wypełnionym dwutlenkiem węgla. Pomimo wielu dowodów naukowych wysokiego potencjału pakowania w atmosferze modyfikowanej technika ta rozwijała się bardzo powoli i jej komercjalizacja była bardzo ograniczona. Zainteresowanie tą metodą wzrosło dopiero w latach 1970-1980. Przechowywanie świeżych owoców i warzyw w optymalnym zakresie niskich stężeń tlenu i/lub podwyższonych dwutlenku węgla zmniejsza oddychanie i szybkość produkcji etylenu. Dodatkowo optymalnie dobrane proporcje gazów w opakowaniu opóźniają utratę chlorofilu, biosyntezę karotenoidów i antocyjanów oraz biosyntezę i utlenianie związków fenolowych. Na ogół ma to również wpływ na smak surowca poprzez ograniczenie utraty kwasowości (Czajkowska 2005).

Odpowiedni dobór mieszaniny gazów związany jest z wieloma czynnikami charakterystycznymi dla danego produktu np. pH, aktywności wody oraz warunków przechowywania takich jak: temperatura, przepuszczalność opakowania, a także od ryzyka rozwoju pleśni lub bakterii.

Ścisłe stosowanie programów zapewniania jakości ma kluczowe znaczenie dla sukcesu stosowania tego typu opakowania do konkretnych surowców. Produkty pakowane w modyfikowanej atmosferze nie są sterylizowane, dlatego w dużej mierze ich jakość i bezpieczeństwo w trakcie wydłużonego okresu przechowywania zależą od tego jak producenci przestrzegają programów zapewniania jakości. Dobra Praktyka Produkcyjna (GMP) oraz Analiza Zagrożeń i Krytycznych Punktów Zagrożeń (HACCP) są programami, które stanowią podstawę do zapewnienia jakości i bezpieczeństwa stosowania systemu MAP. Międzynarodowe organizacje takie jak Światowa Organizacja Zdrowia (WHO), *Codex Alimentarius* zatwierdziły stosowanie HACCP jako środka do zapewnienia ochrony mikrobiologicznej żywności pakowanej w atmosferze ochronnej. Wynika to z faktu, iż warunki w niektórych opakowaniach MAP mogą być odpowiednie dla wzrostu i rozwoju niektórych patogenów, podczas gdy mikroorganizmy wywołujące psucie się surowca zostają stłumione (Nowacka i Niemczuk 2012; Czajkowska 2005).

3. Opakowania aktywne i inteligentne

Systemy związane z używaniem opakowań aktywnych i inteligentnych stanowią nową dziedzinę i jednocześnie wprowadzają nowoczesne trendy zarówno na polski jak i zagraniczny rynek. Od opakowań z zastosowaniem modyfikowanej atmosfery wyróżniają się one wchodzeniem w interakcję z opakowanym produktem i tym samym wywierają bezpośredni wpływ na jego właściwości.

Zadaniem opakowań aktywnych jest zmiana warunków w opakowaniu w taki sposób, aby produkt charakteryzował się jak najdłuższą trwałością oraz wykazywał się lepszymi właściwościami sensorycznymi. Opakowania inteligentne pozwalają na monitorowanie stanu zapakowanego surowca, a tym samym ocenę jego jakości w trakcie transportu i przechowywania. Tego typu opakowania zawierają najczęściej wskaźniki czasu i temperatury TTI oraz wskaźniki gazu (Kozak i Biegańska 2012).

Podstawową różnicą pomiędzy opakowaniem tradycyjnym, a aktywnym jest zmiana dotychczasowej funkcji konwencjonalnych opakowań, która stanowiła jedynie barierę między zapakowanym produktem, a otoczeniem na możliwości współdziałania pomiędzy jego wewnętrzną zawartością, a otoczeniem umożliwiając kontrolę jakości towaru. Mechanizm opakowań aktywnych polega na zmianie warunków wewnątrz opakowania o tym samym daje możliwość przedłużenia trwałości produktu (Pałkowska i Steina 2013; Makala 2010; Krawczyk 2011).

Szeroką gamę opakowań aktywnych możemy podzielić ze względu na sposób działania na dwie zasadnicze kategorie:

- pochłaniacze tlenu - wykorzystuje się głównie do produktów gotowych do spożycia tj.: hamburgery, świeże makarony, wędliny w plasterkach, ciasta, chleb oraz wyroby cukiernicze. Zazwyczaj pochłaniacze tlenu występują w formie saszetek, etykiet, zamknięcia butelek czy folii. Stosowanie tego typu rozwiązania jest szczególnie korzystne dla surowców, gdzie głównym problemem podczas przechowywania jest rozwój pleśni, zmiany barwy oraz utlenianie lipidów. Najważniejszą zaletą pochłaniaczy tlenu jest możliwość zmniejszenia stężenia jego ilości do ultra niskiej, co jest niemożliwe w przypadku komercyjnych linii pakowania w modyfikowanej atmosferze. Większość obecnie stosowanych pochłaniaczy tlenu opartych jest umieszczeniu w saszetkach sproszkowanego żelaza, który reaguje z tlenem, w przypadku opakowania, które może ulec zniekształceniu wykorzystuje się dodatek kwasu askorbinowego. Takie innowacyjne rozwiązanie zastosowano w przypadku chipsów ziemniaczanych (Reddy i in. 1999),
- absorbery etylenu - wykorzystuje się głównie do świeżych warzyw i owoców w postaci saszetek i folii. Etylen zaliczany jest do hormonów roślin, który wytwarzany jest podczas dojrzwania owoców i warzyw. Jego produkowanie może wywierać zarówno negatywne jak i pozytywne skutki na świeży surowiec. Gaz ten katalizuje procesy dojrzwania, co jest wykorzystywane do wywoływania szybkiego dojrzwania m.in. bananów i pomidorów. Na ogół, jednak jego obecność nawet w najmniejszych ilościach nie jest pożądana, gdyż zwiększa tempo oddychania, prowadzi do zmiękczenia tkanki roślinnej i przyspieszenia

starzenia się, ponadto przyspiesza degradację chlorofilu. Do usuwania tego związku najczęściej stosuje się nadmanganian potasu, który to osadzony jest na obojętnym podłożu takim jak żel krzemionkowy,

- regulatory zawartości wody lub pary wodnej wewnątrz opakowania - występują najczęściej w postaci saszetek. Stosowane są głównie do mięs oraz warzyw. Duża zawartość wody wewnątrz opakowania sprzyja rozwojowi mikroflory bakteryjnej, powoduje twardnienie lub zbrzylenie się mleka w proszku oraz zmiękczenie suchych i chrupkich produktów takich jak ciastka, biszkopty czy makarony. Aby zapobiec proliferacji drobnoustrojów na podłożu bogatym w płyny ustrojowe pochodzące z surowców zapakowanych, w strukturę specjalnych saszetek (wkładek) nanosi się kwasy organiczne i środki powierzchniowo czynne. W przypadku produktów, w których ze względu na obecność pary wodnej wewnątrz opakowania narażone są na wahania temperatury w trakcie transportu (np. mrożonki) stosuje się dodatki, których zadaniem jest zmniejszenie napięcia międzyfazowego między kondensacją wody, a folią opakowania, co skutkuje zachowaniem przejrzystości folii i ułatwia wgląd na zapakowany produkt. Mechanizm działania oparty jest na pochłanianiu nadmiaru wody w opakowaniu, bądź kontroli wilgotności względnej w jego wnętrzu. W takim przypadku stosuje się włókna celulozowe, węglowodany, minerały, żel krzemionkowy lub tlenek wapnia,
- absorbery i emitery zapachów - występują najczęściej w postaci folii. Stosowane są, gdy polimerowe opakowanie wytwarza nieprzyjemny zapach, zmniejsza intensywność składników zapachowych surowca lub zmienia jego właściwości organoleptyczne w wyniku obróbki termicznej. W aktywnych opakowaniach absorbowane są merkaptany i siarkowodór. Emitery zapachów nie tylko eliminują nieprzyjemne zapachy, ale także mogą powodować zwiększenie stężenia zapachu pożądanego, aby po otwarciu produktu konsument był przekonany o jego świeżości. Liczne badania wskazują na możliwość maskowania również zapachów, które mogłyby świadczyć o zepsuciu się określonego produktu, co jest główną wadą stosowania tego typu rozwiązania,
- antybakteryjne folie – są obiecującą technologią w wytwarzaniu opakowań aktywnych pokrytych substancjami antybakteryjnymi. Do tych opakowań zaliczamy te, które poprzez modyfikowanie warunków środowiska będą hamować wzrost drobnoustrojów w atmosferze opakowanego produktu. W tym celu stosowanych jest wiele środków o działaniu antybakteryjnym tj.: ditlenek węgla, etanol, jony srebra, kwasy organiczne czy olejki eteryczne. Związki te uwalniane są do środowiska opakowania lub bezpośrednio na znajdujący się wewnątrz produkt (Czaja-Jagielska 2013; Pałkowska i Steina 2013).

4. Opakowania inteligentne

Kolejną grupą nowoczesnych opakowań są opakowania inteligentne, które w odróżnieniu od opakowań aktywnych nie wchodzą w interakcje z produktem. Ich głównym zadaniem jest informacja dla potencjalnego nabywcy o stanie jakościowym zapakowanego produktu. W ich skład wchodzi odpowiednie czujniki pomiarowe lub barwne indykatory. Do najpopularniejszych należą:

- wskaźniki czasu i temperatury (TTI) - ich zasada działania opiera się na chemicznej reakcji polimeryzacji bądź enzymatycznej hydrolizie tłuszczów albo na efekcie fizycznej dyfuzji roztworu o zmienionej chemicznie barwie. W większości przypadków są umieszczone na zewnętrznej stronie opakowania i nie mają bezpośredniego kontaktu z żywnością,
- inteligentne etykiety (nalepki RFID) – są elementarną częścią takiej etykiety. To cienki układ scalony zintegrowany z etykietą o dowolnym kształcie i rozmiarze. Układ umieszczony na dowolnym nośniku, jakim może być folia czy też papier zawiera transponder z 256-bitową pamięcią umożliwiającą zapisywanie informacji o produkcie,
- inteligentne zamknięcia - stosowane są głównie w produkcji drogich win. Innowacyjność tego typu rozwiązania polega na umieszczeniu chipów RFID na korkach, co pozwala nie tylko na uzyskanie dodatkowych informacji na temat całego procesu technologicznego produkcji danego wina zwykłym konsumentom, ale wyeliminuje możliwości zafalszowań

tego typu zapakowanego produktu. Metoda ta znalazła również zastosowanie w przypadku jednorazowych wieczek do kubków przeznaczonych do gorących napojów. Wieczko to ma za zadanie informować konsumenta przez zmianę barwy o temperaturze napoju umieszczonego wewnątrz opakowania oraz także dostarczać informacji o szczelności jego zamknięcia (Krawczyk 2011; Makala 2010; Czajkowska 2005). Często zastosowanie opakowania aktywnego idzie w parze z użyciem opakowania inteligentnego, które w tym przypadku spełnia funkcję kontrolera opakowania aktywnego wskazując na odpowiednie działanie czynnika aktywnego. Do tej pory, choć znane są głównie zalety stosowania takich technik pakowania systemy te nie są dobrze rozpowszechnione w Polsce, lecz mimo to niektórzy producenci wykazują tendencję do globalizacji w swoich technologiach, co powoduje, że coraz częściej na półkach sklepowych można spotykać się zarówno z opakowaniami inteligentnymi jak i aktywnymi (Czaja-Jagielska 2013; Nowacka i Niemczuk 2012).

5. Charakterystyka filmów i powłok jadalnych

Filmy jako powłoki jadalne są nowoczesnym sposobem zabezpieczenia produktu i tym samym przedłużenia jego trwałości i jakości. Stanowią doskonałą alternatywę zastępującą opakowania, które w większości wytwarzane są z tworzyw sztucznych trudnych do recyklingu. Wzrost zainteresowania nowymi metodami tworzenia opakowań jest uwarunkowany coraz częściej pojawiającym się problemem związanym z ich utylizacją. Tworzywa sztuczne takie jak polietylen, polichlorek winylu po okresie użytkowania nie ulegają łatwo degradacji chemicznej i mikrobiologicznej, a tym samym przyczyniają się do zalegania dużej ilości odpadów na wysypiskach śmieci (Gniewosz i in. 2009; Nowacka i Niemczuk 2012). Zastąpienie polimerów syntetycznych zamiennikami biodegradowalnymi jest ściśle związane z wprowadzonymi przez rząd regulacjami prawnymi, które mają za zadanie ograniczyć ilość zalegających odpadów, która z roku na rok staje się coraz większa. Biodegradacja tworzyw sztucznych wytworzonych z polimerów syntetycznych przebiega dwustopniowo i zapoczątkowana jest rozerwaniem łańcuchów budujących określony polimer, zaś końcowym produktem jest materia organiczna, woda oraz gazy (Gniewosz i in. 2009). W wyniku wprowadzenia zmian odnoszących się do wytwarzania opakowań z tworzyw sztucznych znacząco wzrosło zainteresowanie powłokami i filmami jadalnymi. Wpływa to zwłaszcza na liczne korzyści wynikające z zastosowania jadalnych opakowań takich jak spadek produkcji tworzyw sztucznych, zmniejszenie zużycia energii pochłanianej poprzez proces recyklingu oraz ilość paliwa zużywanego na wywóz śmieci. Wykorzystanie polimerów biodegradowalnych ze względu jednak na zbyt kosztowną produkcję oraz fakt, iż nie nadają się one do spożycia powoduje rozwój nowego kierunku ochrony produktów przed działaniem czynników zewnętrznych skupiających się na wykorzystaniu surowców naturalnych umożliwiających ich spożycie.

Wytwarzane w taki sposób filmy i powłoki dzieli się w zależności od materiału powłokotwórczego na polisacharydowe, białkowe, lipidowe i złożone (w tym emulsyjne i warstwowe). Odbiorcy zwracają uwagę na potencjalny kłopot związany z zachowaniem higieny, gdzie podczas spożycia opakowania mogą trafić do naszego organizmu liczne drobnoustroje pochodzące od ludzi biorących udział w łańcuchu dystrybucji. Wzrost świadomości społeczeństwa o całkowitym bezpieczeństwie i braku ryzyka zainfekowania organizmu ma istotną rolę w przekonaniu konsumentów do tego typu sposobu zabezpieczania produktów (Hejduk i in. 2008). Powłoki jadalne można scharakteryzować, jako cienkie warstwy materiału, których zadaniem jest stworzenie bariery wokół produktu lub oddzielenie jego poszczególnych warstw w celu ograniczenia przemian biologicznych oraz fizykochemicznych. Często określenie filmu i powłoki są używane zamiennie. Zazwyczaj jednak filmy występują, jako samodzielne, samonośne struktury, które po uprzednim uformowaniu w osobnym procesie np. na szklanej lub akrylowej płytce są zdejmowane i umieszczane na lub między produktami. Powłoki zaś są bezpośrednio nakładane przez natrysk, bądź zanurzenie (Galus 2012).

Zastosowanie powłok ochronnych do żywności nie jest nową technologią pierwsze przemysłowe zastosowania sięgają XII w., kiedy w Chinach po raz pierwszy w celu zmniejszenia ubytków wody zastosowano wosk do owoców cytrusowych. Powłoki i filmy jadalne pełnią rolę

aktywnego systemu pakowania żywności zarówno pochodzenia roślinnego jak i zwierzęcego. Występują one w formie nieprzetworzonej lub minimalnie przetworzonej. Technologia ta zapewnia ścisły kontakt pomiędzy zastosowanym opakowaniem, zapakowanym produktem, a otoczeniem. Opakowanie naniesione na produkt jest jego integralną częścią. Z uwagi na funkcje, jakie powinny spełniać określone powłoki stawia im się szereg wymogów, do których zaliczamy:

- rozpuszczalność w wodzie i w tłuszczach,
- barierowość wobec wody,
- odpowiednią barwę i wygląd,
- nietoksyczność,
- właściwości mechaniczne i reologiczne,
- stabilność mikrobiologiczną (Sztuka i Kołodziejska 2008).

Wytwarzane powłoki nie tylko ograniczają migrację pary wodnej, tlenu, dwutlenku węgla, związków aromatycznych i lipidów, ale również stosowane są jako nośniki takich składników, jak: przeciwutleniacze, substancje konserwujące, aromatyczne, barwniki itp. Istnieją również warstwy poprawiające właściwości mechaniczne pokrytych nimi produktów. Główną funkcją powłok jadalnych jest utrzymanie odpowiedniej jakości produktów, na które zostały naniesione. Ponadto powłoka powinna ograniczać dostęp tlenu do produktu tak, aby zapewnić ochronę przed niekorzystnymi procesami utleniania. Opakowania jadalne powinny być wytrzymałe i odporne na rozciąganie. Głównymi parametrami decydującymi o właściwościach mechanicznych tego typu opakowań jest wydłużenie względne i siła zerwania powłoki. Siła zerwania powłoki informuje o maksymalnej sile, jaka jest potrzebna do zerwania powłoki, natomiast wydłużenie względne jest wyrażoną w procentach odległością, na jaką można rozciągnąć powłokę pomiędzy dwa elementy, które ją przytrzymują (Hersho i Nussinovitch 1998; Fijałkowska i in. 2012).

Powłoki jadalne, poza swoją podstawową rolą ochronną, mogą także posiadać różne właściwości, w zależności od wprowadzonych w procesie tworzenia dodatków. Zaletą jest to, że często wzbogaca się je substancjami smakowymi czy zapachowymi, co zwiększa atrakcyjność danego produktu dla konsumenta. Po odpowiednio dobranej modyfikacji powłoki jadalne, jako opakowania aktywne mogą spełniać dodatkowe funkcje takie jak przeciwutleniające czy odżywcze. Do powłok jadalnych mogą zostać wprowadzone substancje przeciwbakteryjne, witaminy, barwniki czy olejki eteryczne (Pałkowska i Steina 2013). Skład materiałów powłokotwórczych dobierany jest indywidualnie w zależności od właściwości biologicznych, fizycznych i chemicznych powlekaney żywności. Najczęściej stosowaną metodą otrzymywania powłok jadalnych jest usunięcie rozpuszczalnika użytego do sporządzenia roztworu powłokotwórczego. W procesie tym w wyniku fizykochemicznego oddziaływania międzycząsteczkowego tworzy się i stabilizuje ciągła struktura. Obecne w roztworze powłokotwórczym makrocząsteczki zostają rozpuszczone w rozpuszczalniku np. wodzie, etanolu lub kwasie octowym i ewentualnie połączone z dodatkami. Utworzony w ten sposób roztwór powłokotwórczy jest wylewany i suszony (Hejduk i in. 2008; Basiak i in. 2012).

Właściwości filmów mogą być modyfikowane nie tylko poprzez zwiększenie ilości składników, ale także poprzez oddziaływanie na siebie obu składników w materiale powłokotwórczym. Jadalne filmy i powłoki mogą być wytwarzane z białek, tłuszczu, węglowodanów oraz ich połączeń. Wśród nich można wyróżnić:

- powłoki tłuszczowe, które wykazują bardzo dobrą barierowość dla wody, lecz słabe właściwości mechaniczne. Najlepsze właściwości mają powłoki utworzone z hydrokoloidów tworzących ciągłe struktury oraz substancji hydrofobowych chroniących przez migracją wody. Lipidowymi składnikami powłok mogą być wyższe kwasy tłuszczowe i ich estry mono-, di- i triglicerydy oraz воск pszczeli,
- powłoki węglowodanowe charakteryzują się dużą kruchością i łamliwością struktury, stąd w celu poprawy ich elastyczności i grubości stosuje się dodatki w formie plastyfikatorów i wody. Z grupy węglowodanów wykorzystywane są liczne formy celulozy, skrobia i produkty jej hydrolizy pektyny, alginiany i gumy guar,
- powłoki białkowe tworzone są najczęściej na bazie białek serwatkowych, przyczyniają się one do zwiększenia wartości odżywczej produktów spożywczych oraz wydłużenia ich

przydatności do spożycia. Najczęściej stosowanymi białkami są albuminy, zeina, białko sojowe, białka mleka i kolagen (Pałkowska i Steina 2013). W tabeli 1 przedstawiono najczęściej stosowane powłoki jadalne i ich zastosowanie.

Tab. 1. Wybrane powłoki jadalne i ich zastosowanie (Basiak i in. 2013)

| Material powłokotwórczy | Właściwości | Zastosowanie |
|--------------------------------|--|--|
| Skrobia | Barierowość dla gazów, wysoka przepuszczalność dla pary wodnej. | Osłonki do kielbas i ryb, składnik mieszaniny peklującej. Kontrola wymiany gazów między otoczeniem, a surowcem w przechowywaniu owoców i warzyw. |
| Białko serwatkowe | Dobre właściwości mechaniczne, wysoka barierowość dla tlenu, lipidów i związków lotnych, niska barierowość dla wody. | Powlekanie serów, kontrola rozwoju mikroflory na powierzchni produktów. |
| Wosk pszczeli | Stosunkowo mała elastyczność i stabilność, dobra barierowość dla pary wodnej. | Drażetki cukiernicze, gummy do żucia. |

6. Podsumowanie

W dzisiejszych czasach wszyscy konsumenci stawiają na jak najwyższą jakość kupowanych produktów, stąd też producenci żywności starają się sprostać tym wymaganiom wprowadzając nowoczesne metody pakowania swoich produktów, które nie tylko mają za zadanie chronić dany materiał przed uszkodzeniami podczas transportu i przechowywania, ale również pełnić inne funkcje informacyjne o stanie jakościowym znajdującej się wewnątrz zawartości.

7. Literatura

- Basiak E, Galus S, Lenart A (2012) Filmy i powłoki skrobiowe do żywności. Technika, Technologia tom 66:28-30.
- Basiak E, Lenart A (2013) Powłoki skrobiowe stosowane w opakowalnictwie żywności. Żywność. Nauka. Technologia. Jakość 1(86): 21-31.
- Bonikowska M, Śnieżawski P (2008) Odkryj zapakowaną świeżość. Przemysł Spożywczy 8: 82-83.
- Czaja-Jagielska N (2013) Nowe kierunki pakowania warzyw i owoców. Przemysł Spożywczy 67(3): 27-35.
- Czajkowska D (2005) Inteligentne i aktywne opakowania do żywności. Przemysł Spożywczy 8: 88-92.
- Fijałkowska A, Witrowa-Rajchert D, Weroński A (2012) Wpływ powlekania surowca na przebieg procesu suszenia i właściwości rekonstrukcyjne suszu jabłkowego. Zeszyty Problemowe Postępów Nauk Rolniczych 571: 39-47.
- Galus S (2012) Powłoki jadalne do minimalnie przetworzonych owoców i warzyw. Przemysł Fermentacyjny i Owocowo- Warzywny 56(4): 28-30.
- Gniewosz M, Synowiec A, Dyrda M (2009) Zastosowania opakowań jadalnych o aktywności przeciwdrobnoustrojowej w utrwalaniu żywności. Biotechnologia 4(87): 40-53.
- Hejduk A, Cąderk T, Grabowska B (2008) Internetowy system zapewnienia nowoczesnych opakowań w branży ogrodniczej. Opakowanie 59(9): 44-46.
- Hersho V, Nussinovitch A (1998) The behavior of hydrocolloid coatings on vegetative materials, Biotechnology Progress 14(5):756-65.
- Jakowski S (2006) Pakowanie owoców i warzyw sprzedawanych na ogrodniczych rynkach hurtowych. Opakowanie 9: 16-18.
- Jakubczyk E (2007) Nanotechnologia w technologii żywności. Przemysł Spożywczy 61(4): 16-22.

- Kozak W, Biegańska M (2012) Integratory TTI jako innowacyjny element opakowania. Opakowanie 9: 88-93.
- Krawczyk T (2011) Inteligentne opakowania – świeżość pod nadzorem. Opakowanie 2: 49–51.
- Makała H (2010) Trendy na rynku opakowań do żywności. Opakowania aktywne i inteligentne. Opakowanie 11: 23–25.
- Nowacka M, Niemczuk D (2012) Nowoczesne materiały i wyroby przeznaczone do kontaktu z żywnością oraz ich wpływ na bezpieczeństwo żywności. Opakowanie 6: 64-68.
- Pałkowska A, Steina I (2013) Opakowania aktywne i inteligentne w świadomości konsumentów. Zeszyty Naukowe Akademii Morskiej w Gdyni 80: 35-41.
- Reddy NR, Solomon HM, Rhodehamel EJ (1999) Comparison of margin of safety between sensory spoilage and onset of *Clostridium botulinum* toxin development during storage of modified atmosphere (MA)-packaged fresh marine cod fillets with MA-packaged aquacultured fish fillets. *Journal of Food Safety* 19(3): 171–83.
- Sebti I, Ham-Pichavant F, Coma V (2002) Edible bioactive fatty acid-cellulosic derivative composites used in food-packaging applications. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(15): 4290–4296.
- Sztuka K, Kołodziejska I (2008) Jadalne folie oraz powłoki powierzchniowe z polimerów naturalnych stosowane do opakowań żywności. *Polimery* 53(10): 735-729.
- Tomas-Barberan T, Espin J (2002) Phenolic compounds and related enzymes as determinants of quality in fruit and vegetables. *Journal Science Food Agriculture* 81(9): 853–76.

12. Protein oxidation in meat and dry-cured meat products

Paulina Kęska, Joanna Stadnik

Department of Animal Raw Materials Technology, Faculty of Food Science and Biotechnology,
University of Life Sciences in Lublin

Paulina Kęska: paulina.keska@up.lublin.pl

Key words: protein, oxidation, dry-cured meat product

Abstract

Currently, trends in food science draw attention on oxidation process, especially of lipids and proteins. Protein oxidation is defined as a protein modification induced directly by reactive compounds (oxygen or nitrogen) or indirectly by the reaction with secondary by-products of oxidative stress. These protein modifications are not only critical to the production technology and sensory properties of meat products, but they can also affect health and safety of humans because of their consumption. It has been confirmed that food proteins are a preferential target for free radical activity, and that protein oxidation has significant implications for protein functionality (including its bioactivity) as well as food quality. Also meat product manufacture guiding methods have influence on the quality as well as nutritional and health aspects of "oxidized" foods.

1. Introduction

Foods of animal origin, including meat and meat products, are highly exposed to free radicals. The most important reactive oxygen species (ROS) include: superoxide anion ($O_2^{\cdot-}$), hydroxyl radical (HO^{\cdot}), hydroperoxide (HO_2^{\cdot}), hydrogen peroxide (H_2O_2) as well as singlet oxygen (1O_2) and ozone (O_3). The most susceptible to ROS are lipids and proteins (Papuc et al. 2017). Oxidation products of lipids and proteins accumulate in food during processing and storage, and during food intake in subsequent phases of gastrointestinal digestion. Oxidation on a par with the changes caused by unwanted microbial microflora are the main reason for lowering the quality of meat and meat products. Much attention has been devoted to fat oxidation as a major determinant of food quality, devoting little attention to the oxidation of proteins. Protein oxidation is defined as a protein modification induced directly by reactive compounds or indirectly by reaction with secondary products of oxidative stress (e.g. lipid degradation products) (Lund et al. 2011).

The susceptibility of meat lipids and proteins on oxidative processes result from internal and external factors. Meat contains various endogenous oxidation initiators or catalysts, such as heme pigments, transition metal ions, and oxidation enzymes. In addition, processing and storage of meat intensify the oxidative degradation. As an example - mechanical action during meat grinding disrupts the integrity of the tissue structure, which increases protein contact with reactive oxygen species. Subsequent exposure of meat to oxygen and light factors during chilled storage further enhances oxidation. These modifications are not only critical to the production technology and sensory properties of meat products, but they can also affect the health and safety of people during their consumption. Oxidative processes adversely affect the final meat product causing a) color deterioration, b) increased hardness and loss of juiciness through changes in technological properties of proteins (solubility and cross-linking). Much less is known about the effect of dietary intake of such products on nutritional status and health. Recent reports point to the involvement of dietary protein oxidation species in certain health disorders, which underlines the link between protein oxidation in diet and human health condition. In addition to loss of nutritional properties (loss of essential amino acids, reduction of digestibility and bioavailability due to reduced susceptibility of oxidized proteins to proteases), other areas of disease are: a) neurodegenerative diseases (Alzheimer), b) diabetes, c) chronic renal failure, d) cytotoxicity, immunogenicity. In addition, by introducing into the human body of oxidized products with the daily diet, their balance in the human body is incorrect, which intensifies the aging process (Stadtman 1999; Soladoye et al. 2011; Zhang 2013; Papuc et al. 2017;).

2. Description of the issue

The article presents the latest literature data on the oxidation processes of muscle proteins originating from animals intended for slaughter. The causes, mechanisms of oxidation of proteins and the influence of technological factors on their intensity are presented. Attention was also paid to the link between protein oxidation in the consumed products and aging and diseases associated with specific pathological conditions. These studies can provide the necessary information on the process of meat proteins oxidation and provide a valuable database for the design or modification of dry-cured technologies as a practical aspect of this field of research.

3. Literature review

Oxidation process of proteins

Protein oxidant factors can be peroxides introduced during the process. Active radicals resulting from the action of light or enzymes, presence of copper and iron metals and active oxidation products of other matrix components, e.g. lipids and polyphenols. Reactions that cause damage to proteins, including meat, are most often caused by unpaired free radical atoms. Under oxygen conditions, the protein radical may be bound by oxygen, leading to the formation of a peroxide radical from protein (Fig.2.). Further transformations lead to changes in the structure of the protein chain, such as amino acid residue modification and fragmentation of polypeptide molecules. Defective protein molecules aggregate under anaerobic conditions (Hęś and Korczak 2007; Wójciak and Dolatowski 2012).

In a review article, Estévez (2011) proposed different pathways for protein oxidation in muscle food. In general, as a result of oxidative changes proteins reach:

- polypeptide chain breaking (fragmentation peptides) - as a direct reaction of reactive oxygen species with proteins, bursting of the peptide bonds can result in and consequently fragmentation of the polypeptide chain. For the cleavage of a peptide bond may occur on the way (Fig. 1):
- α -amidation - the mechanism of oxidative breakdown of peptide bond in the side chain so called α -amidation peptide, which form amide groups. During the α -amide fragmentation (N-terminal), the resulting peptide at the C-terminus has an amide group, while the second peptide contains an N- α -ketoacyl derivative in the N-terminus,
- diamide - this fragmentation is characterized by the formation of an N-terminal peptide containing a diamide structure and a peptide derived from the C-terminus of a protein molecule containing an isocyanate structure in the N-terminus,

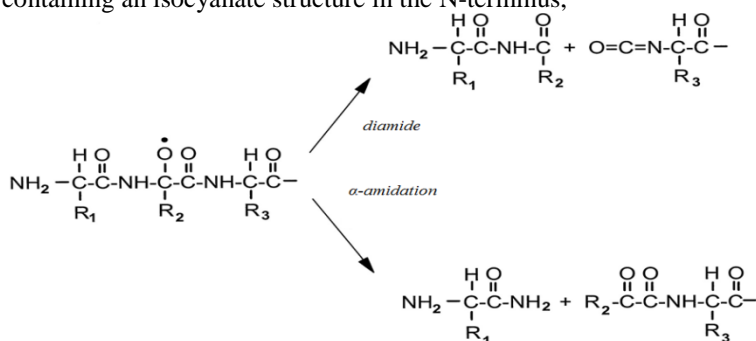


Fig. 1. Peptide bond cleavage by the diamide and α -amidation pathways (Berlet and Stadtman 1997).

- amino acid side chain modifications (carbonylation, nitrosylation, chlorination, hydroxylation) - all amino acid residues of proteins are susceptible to oxidation by ROS, especially by HO \cdot . Due to the structure, we distinguish amino acid residues (cysteine and methionine) and aromatic amino acid residues (tryptophan, tyrosine, phenylalanine) which are particularly exposed to oxidative changes. Amino acids most susceptible to oxidation were presented in Tab. 1.

- making cross-linking (within and outside the molecular cross-linking occurring as a result of the formation of disulfide linkages)

Tab. 1. Amino acids most likely to be oxidized (Berlet and Stadtman 1997).

| amino acids | oxidation products |
|---------------|---|
| cysteine | disulfides, cysteic acid |
| methionine | methionine sulfoxide, methionine sulfone |
| tryptophan | 2-, 4-, 5-, 6-, and 7-hydroxytryptophan, nitrotryptophan, kynurenine, 3-hydroxykynurinine, formylkynurinine |
| phenylalanine | 2,3-dihydroxyphenylalanine, 2-, 3-, and 4-hydroxyphenylalanine |
| histidine | 2-oxohistidine, asparagine, aspartic acid |
| arginine | glutamic semialdehyde |
| lysine | α -aminoadipic semialdehyde |
| proline | 2-pyrrolidone, 4- and 5-hydroxyproline pyroglutamic acid, glutamic semialdehyde |
| threonine | 2-amino-3-ketobutyric acid |
| glutamyl | oxalic acid, pyruvic acid |

Health effects of consuming oxidized food proteins

Meat of slaughter animals is an important part of a normal diet, mainly due to the high protein content, good balance of unsaturated acids or high content of vitamins and minerals. The relatively high content of protein and lipids makes the meat particularly susceptible to oxidation. While the molecular basis of pathogenesis of each lipid oxidation products are well known the effect of oxidized proteins, from food for human health has been largely ignored. Nutritional value of food proteins, including meat and meat products, is determined by the quantitative and qualitative composition of amino acids. As a result of oxidative changes, the bioavailability of nutrients (amino acid profile modification) and reduction of protein digestibility are reduced (Xiong 2000). In particular, the loss of exogenous amino acids is important from the point of view of diet physiology. Deterioration of digestibility and degree of amino acid assimilation occurs as a result of the formation of cross-linking bonds in protein-lipid complexes and reaction of amino acid functional groups with fat oxidation products. This is particularly true of amionic, sulfhydryl and hydroxyl groups (Hęś and Korczak 2007).

In addition, the susceptibility of oxidized proteins to hydrolytic enzymes in the gastrointestinal tract (protein aggregation or alteration of their structure, which may be less recognizable by proteases) also decreases. According Rysman et al. (2016), protein oxidation before digestion of pork and beef patties resulted in impaired proteolysis during *in vitro* digestion. The consumption of oxidized ingredients along with a diet increases the supply of pro-oxidant elements in the human body, which can interfere with oxidative-reducing equilibrium and induce the effects of oxidative stress. This condition in turn intensifies the process of aging and can contribute to the occurrence of certain illnesses. There are corrective systems in the human body. Methionine, for example, is one of the most sensitive amino acids to oxidation with respect to almost all forms of reactive oxygen species, leading to protein structure modifications and loss of activity. The first and the main product of methionine oxidation is methionine sulfoxide, which can be further oxidized to methionine sulfone, albeit in smaller amounts. However, oxidation can be reversible due to methionine sulfoxide reductase, which reduces methionine sulfoxides to methionine residues. Moreover, this cyclic process of the oxidation-reduction mechanism can act as antioxidant and regulating cellular processes. However, excessive supply of oxidation factors can impair the corrective systems in the human body. The role played by the oxidized food molecules in the pathogenesis of the disease is also related to cytotoxicity and mutagenicity, particularly within the

gastrointestinal tract or internal organs after absorption in the small intestine (Esterbauer 1993). Evenepoel et al. (1998) have noted that poorly absorbed proteins (such as oxidized reduced digestibility proteins) can be trapped in the colon and subjected to bacterial fermentation, leading to the production of certain metabolites (for example, phenols and p-cresol) that are mutagenic and can increase the risk of colorectal cancer or ulcerative colitis. Moreover, Soladoye et al. (2015) hypothesized that some oxidized protein products may be absorbed after ingestion and then incorporated into proteins such as enzymes and structural elements in cells during synthesis, leading to their abnormal functioning and disease.

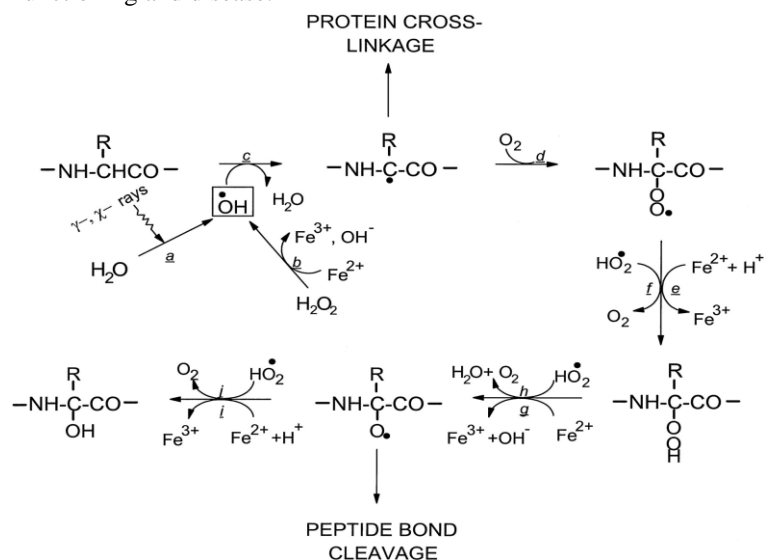


Fig. 2. Oxygen free radical-mediated oxidation of proteins (Berlet and Stadtman, 1997).

Protein oxidation and the production process of dry-cured meat products

Oxidative changes of proteins affect the final quality of sausages. They increase hardness and loss of juiciness by altering solubility and protein cross-linking, color deterioration (oxidized proteins take a yellowish, reddish to brownish color) and odor (lipid and protein degradation products create a specific odor and aroma). In addition, toxic substances (such as biogenic amines or new substances) are formed by the interaction of meat components, e.g. protein-lipid or protein-protein combinations, and transverse bonds in protein structures (Wójciak and Dolatowski, 2012). Understanding the scale and scope of their interaction is a necessity to improve the quality of processed foods, and due to the increase of health-nutritional requirements posed the finished meat product. Due to the high dependence between lipid and protein oxidation in meat system, there exists high possibility for increased protein oxidation in meat during fermentation and aging.

Origin and quality of the raw material

The quality of the meat raw material will to a great extent determine its culinary and processing qualities in the meat industry. Livestock farming methods (animal feed ingredients), stressful conditions during slaughter, storage conditions of fresh meat affect the degree of oxidation of the protein. This range may also vary between species, types, and sometimes muscle ageing. As an example, hem pigment content promotes protein oxidation. They have been found to be effective promoters of carbonylation of proteins and cross-linking (Lund et al. 2011). Thus, red meat is likely to be more exposed to oxidative processes than white meat (poultry).

Salting/curing meat

Pro-oxidative action of salt (NaCl) is generally known, and literature has been described primarily in relation to meat fat. Depending on the metabolic profile of the muscles, total fat content

and level of unsaturated fatty acids and the content of heme compounds, the presence of NaCl was conducive to lipid oxidation. As pointed out by Soladoye et al. (2015), although most of these factors refer to lipid oxidation, these results can also refer to protein oxidation processes due to the close association of these two processes. This is confirmed by studies by other authors who have observed the effect of salt addition on protein oxidative processes (Liu et al., 2011; Li et al., 2013). In fact, the salt has a direct effect on protein conformation, solubility, and functionality (Xiong 2000). Cured salt is also used in the production of ageing products. The effect of these additives on the oxidative damage of meat proteins is not well known. In addition to the presence of ROS, reactive nitrogen forms (RNS, i.e., nitric oxide and peroxyazotin) may also be present in meat products with nitrate. Nitrite, itself, and RNS may be involved in the initiation of both oxidative and nitrosative reactions in meat products leading to the formation of specific markers of 3-nitrotyrosine (3NT) (Skibsted 2011). The formation of 3-nitrotyrosin in proteins occurs *in vivo* as a result of the action of nitrating agents on the polypeptide chain and is used as a marker of oxidative stress *in vitro* and *in vivo* (Kołodziejczyk 2010). As reported by Souza et al. (2013), the presence of sodium nitrite was capable of partially inhibiting undesirable oxidation reactions throughout the processing and storage of the jerked beef.

Fermentation and ageing

According to the latest literature, the storage of raw meat in refrigerated conditions, the degree of fragmentation of the raw material (exposure to light and oxygen) and the way of packaging affect further oxidation during processing to the final product (Soladoye et al., 2011). Fermentation is a characteristic stage in the production of raw-ripening products. Technically, the fermentation involves storage of raw meat in fermentation chambers under controlled temperature and humidity conditions for a definite time without packaging. It is assumed that since lactic acid bacteria (industrial microflora and industrial strains) start to grow and multiply in natural processes converting carbohydrates into lactic acid and thereby fermenting begins and continue to the nutrients deplete. The following changes in the product (pH change, water activity, formation of microflora) and endogenous enzymes (proteolytic and lipolytic) contribute to the quality of the final product. Increased acidic environment (lower pH), increased free fatty acids, high ionic strength and increased free amino acids cause increased susceptibility of the meat to the oxidation system (Soladoye et al., 2011; Wójciak and Dolatowski 2012). In fact, little is known about the oxidative processes (oxidation and nitration) of the protein during the maturation of fermented products.

Dry-cured meat products, due to the long time of fermentation and / or ageing in the open air are exposed to direct contact with oxidizing agents. Therefore, oxidation processes in such products are the object of interest of scientists. Biochemical changes in this type of products result primarily from the proteolytic degradation of proteins. As already underlined, protein oxidation limits their availability for proteases, which may have a negative effect on product characteristics, therefore, oxidative changes in proteins are an important aspect in improving the production process. The amount of carbonylation protein in reaction with a specific chemical reagent (DNPH, 2,4-dinitrophenylhydrazine) is commonly defined for the quantification of protein oxidation in products. A new approach is chromatographic analysis (e.g., by nano liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry in the approach presented by Galleo et al 2018) to detected oxidized peptides generated throughout the long-term dry-curing process. This peptidomic strategy has proved useful in studying the evolution of peptide oxidation during processing, providing evidence of complexity and variability of the reaction throughout the dry-curing process.

4. Conclusion

The oxidation of protein in meat has become a subject of increasing attention from meat scientists and the meat industry. Compared to lipid oxidation, protein degradation by oxidizing agents appears to be more complex and produce specific reaction products not yet fully understood. While the oxidation processes associated with lipids, proteins and heme are well known when we consider them individually, the coupling of different degradation processes of all the meat components simultaneously has not been studied in detail. Understanding protein oxidation in biological systems,

however, seems to be crucial for understanding the relationship between the degradation of hydro- and lipophilic meat components, as some oxidation products can induce and intensify oxidative degradation of subsequent components. Finally, the interaction between food ingredients and their oxidation products determines the rate and extent of fermentation and maturation. Given the complexity of the muscle cell structure, combined with the complexity of modifying various food components, including proteins and the ever-changing intracellular environment, it is not surprising that protein oxidation during the production of raw-ripening products is still not fully understood.

5. Reference

- Berlett BS, Stadtman ER (1997) Protein oxidation in aging, disease, and oxidative stress. *Journal of Biological Chemistry* 272(33): 20313-20316.
- Evenepoel P, Claus D, Geypens B et al (1998) Evidence for impaired assimilation and increased colonic fermentation of protein, related to gastric acid suppression therapy. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics* 12(10): 1011-1019.
- Esterbauer H (1993) Cytotoxicity and genotoxicity of lipid-oxidation products. *The American Journal of Clinical Nutrition* 57(5): 779S-785S.
- Estévez M (2011) Protein carbonyls in meat systems: A review. *Meat Science* 89(3): 259-279.
- Gallego M, Mora L, Toldrá F (2018) Evolution of oxidised peptides during the processing of 9 months Spanish dry-cured ham. *Food Chemistry* 239: 823-830.
- Hęś M, Korczak J (2007) Wpływ produktów utleniania lipidów na wartość odżywczą białka [The effect of lipid oxidation products on the nutrition value of proteins]. *Nauka Przyroda Technologie* 1(1): 4 [in Polish].
- Kołodziejczyk J. (2010). 3-nitrotyrozyna—marker stresu oksydacyjnego *in vitro* i *in vivo*. *Diagnostyka Laboratoryjna* 46(2): 141-145 [in Polish].
- Liu Z, Xiong YL, Chen J (2011) Morphological examinations of oxidatively stressed pork muscle and myofibrils upon salt marination and cooking to elucidate the water-binding potential. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 59:13026-13034.
- Li C, Xiong YL, Chen J (2013) Protein oxidation at different salt concentrations affects the cross-linking and gelation of pork myofibrillar protein catalyzed by microbial transglutaminase. *Journal of Food Science* 78(6): 823–831.
- Lund MN, Heinonen M, Baron CP et al. (2011) Protein oxidation in muscle foods: A review. *Molecular Nutrition & Food Research* 55(1): 83-95.
- Rysman T, Van Hecke T, Van Poucke C et al. (2016) Protein oxidation and proteolysis during storage and *in vitro* digestion of pork and beef patties. *Food Chemistry* 209: 177-184.
- Papuc C, Goran GV, Predescu CN et al. (2017) Mechanisms of oxidative processes in meat and toxicity induced by postprandial degradation products: A Review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 16(1): 96-123.
- Soladoye OP, Juárez ML, Aalhus JL et al. (2015) Protein oxidation in processed meat: mechanisms and potential implications on human health. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 14(2):106-122.
- Souza MAA, Visentainer JV, Carvalho RH et al. (2013) Lipid and protein oxidation in charqui meat and jerked beef. *Brazilian Archives of Biology and Technology* 56(1): 107-112.
- Skibsted LH (2011) Nitric oxide and quality and safety of muscle based foods. *Nitric Oxide* 24:176-83.
- Stadtman ER, Berlett BS (1997) Reactive oxygen-mediated protein oxidation in aging and disease. *Chemical research in toxicology* 10(5): 485-494.
- Wójciak KM, Dolatowski ZJ (2012) Oxidative stability of fermented meat products. *Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria* 11(2): 99-109.
- Xiong YL (2000) Protein oxidation and implications for muscle food quality. In: Decker E, Faustman C, Clemente JLB, editors. *Antioxidant in muscle foods*. Chichester, UK: Wiley. p 85-111.
- Zhang W, Xiao S, Ahn DU (2013) Protein oxidation: basic principles and implications for meat quality. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 53(11): 1191-1201.

13. Meat-based functional food: new strategy and perspective

Paulina Kęska, Joanna Stadnik

Department of Animal Raw Materials Technology, Faculty of Food Science and Biotechnology,
University of Life Sciences in Lublin

Paulina Kęska: paulina.keska@up.lublin.pl

Key words: protein, biologically active peptides, dry-cured meat product

Abstract

Nowadays consumers seek for food products that fulfil the requirements of functional and convenience food. This attitude leads to increased interest in food, which is not only healthy and valuable, but also provides additional benefits to the consumer in addition to nutritional value. This has become the basis of the idea in which food is used for health purposes and not for nutrition. This is also a great prospect for the meat industry. This paper presents the possibilities and challenges facing the meat industry in the development of the market for functional products based on meat. Moreover, the methods that enable to obtain meat and meat products.

1. Introduction

Strong economic development in recent decades involves improving the quality of life, but it also raised a serious challenge in the form of “civilization diseases”. The first symptom of lifestyle changes were negative eating habits. Consumption of unhealthy food has increased many times, which led to a number of diseases associated with deficiencies in essential nutrients and excess calories associated with excessive consumption of mainly saturated fats and carbohydrates. Strongly promoted recommendations by doctors and dieticians regarding healthy and rational nutrition have resulted in understanding the relationship between nutrition and health by the consumers. This trend leads to an increase in interest in food that is not only healthy and nutritious, but also provides additional benefits for the consumer beyond them. This approach, when seeking to achieve optimal health by promoting well-being and/or reducing the risk of non-communicable diseases through food are the basic elements of the concept of functional food. The idea of using food for health purposes, and not for nutrition, opens up a completely new field for the meat industry.

2. Description of the issue

This review of the literature aims to provide information about meat products as an example of functional food. Attention is paid to the biological activity of peptides present in dry-cured meat products as a natural factor that potentially improves the functioning of the human body when delivered with a daily diet. The possibilities and challenges posed to the meat industry to develop the market of meat-based functional products are presented.

3. Review on the literature

The first approval system: FOSHU - Foods for Specified Health Use

For the first time, innovative research on functional food took place in Japan, as a result of which in 1984 its definition was first defined and named as FOSHU (Foods for Specified Health Use). FOSHU foods are those products that contain nutritionally important nutrients, but above all have a beneficial effect on the physiological functions of the human body by maintaining and promoting health and improve health conditions. Japan so far is also the only country that has a developed legal system in this field. In 1991, the Ministry of Health introduced the rules for the approval of a specific category of health-related food called FOSHU, which included the establishment of specific health claims for this type of food. The current health claims on FOSHU can be classified in 8 groups (Yamada et al. 2008)(Fig. 1). In addition, FOSHU products were divided into 4 groups based on the strength of evidence behind the proposed relationship between a substance or a product and a disease or condition related to health (Yamada et al. 2008): (1) “FOSHU”- includes food products for which

complete scientific evidence should be provided confirming the claim. Other group (2) it is “Qualified” FOSHU - includes food products that do not have sufficient scientific evidence, but are considered to have some effectiveness. Third group (3) is “Standardized” FOSHU - standards and specifications have been established for foodstuffs with sufficient FOSHU approvals and scientific evidence. Standardized FOSHU products are approved when they meet these standards and specifications. Next group (4) is “Reduction of disease risk” FOSHU - reduction of disease risk is clinically and nutritionally determined in a given food ingredient.

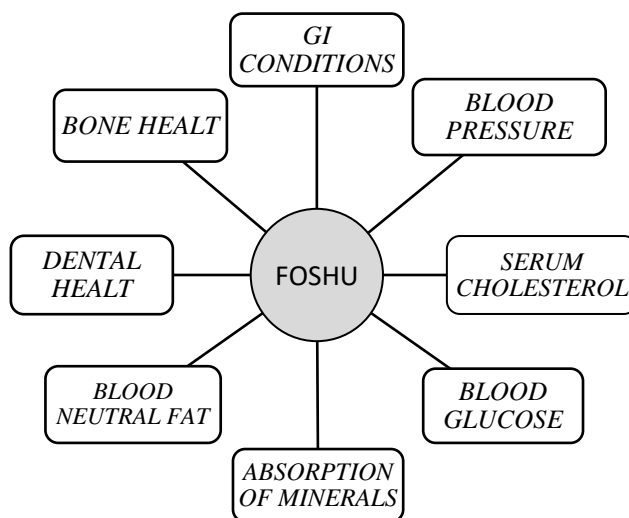


Fig. 1. The 8 groups of FOSHU according to the health claims [Yamada et al. 2008].

There is no doubt that Japanese interest in functional foods has also increased interest in other continents, such as Europe and the United States, while raising awareness of the need for such products. In Europe, the definition of functional food was formulated in 1999 in the final FUFOSSE project document (Functional Food Science in Europe) and according to its wording, food can be considered functional if it is satisfactorily proven that it has a positive effect on one or more of the target functions in the human body. In addition to the corresponding nutritional effects, in a significant way to improve health and well-being and / or reduce the risk of disease. It is consumed as part of the normal diet. This is not a pill, capsule or any form of dietary supplement. The advantage of functional foods is that they can provide the consumer with health benefits without significant impact on the diet, as well as the appearance and taste of the product (the functional food offered must have the above-mentioned values as typical food products). Siro et al. (2008) noted that traditional Japanese functional food is usually considered as a separate product class, which means that once approved, the “FOSHU” symbol can be displayed on the food label. In Europe and the US the question is more about the concept. Functional food means adding functionality to an existing traditional food product (often the main product), and such food products do not form a separate group. In general, according to the European concept, four categories can be listed within functional foods (Tab. 1).

According to Mäkinen-Aakula (2006), alternative classification of some functional products are (1) “add good to your life”, e.g. improve the regular stomach and colon functions (pre- and probiotics) or “improve children's life” by supporting their learning capability and behaviour. It is difficult, however to find good biomarkers for cognitive, behavioral and psychological functions. Other group (2) of functional food is designed for reducing an existing health risk problem such as high cholesterol or high blood pressure. A third group (3) consists of those products, which “makes your life easier” (e.g. lactose-free, gluten-free products).

Tab.1. Prominent types of functional food (Siro et al. 2008)

| Type | Characteristic |
|-----------------------------|--|
| <i>Fortified product</i> | foods enhanced with additional ingredients |
| <i>Enriched products</i> | foods with the addition of new nutrients or ingredients that are not normally found in a given food product |
| <i>Altered products</i> | food from which the harmful ingredient has been removed has been reduced or replaced with another substance with beneficial effects |
| <i>Enhanced commodities</i> | a food in which one of the components has been naturally enhanced through special growing conditions, new feed composition, genetic manipulation, or otherwise |

Biologically active peptides as a component of functional food

There is a growing interest in bioactive peptides in recent decades shown by various disciplines, such as pharmaceutical, clinical, functional or nutraceutical food. In fact, synthetic bioactive peptides are used in therapeutic applications contributing to the treatment of cardiovascular diseases, gastrointestinal, immunosuppressive, diabetic, osteoporotic, obesity, antibacterial or oncological diseases (Fosgerau and Hoffmann 2015). However, compounds obtained by chemical means do not remain without adverse effects after their consumption, therefore dietary prevention is a better alternative to maintaining human well-being than pharmacological/medical intervention. On the world market, products with an additional pro-health value are offered based on biologically active peptides, which are included in the so-called functional food. This group includes, first of all, protein hydrolysates. On the Asian market there is a product called Valtyron® (SenmiEkiCo Ltd, www.cbceurope.it), which has the status of FOSHU food in Japan. The formulation containing the pressure-lowering VT peptide (as Angiotensin Converting Enzyme (ACE) inhibitor) obtained from sardine muscle proteins was approved by the US Food and Drug Administration (GRAS; Generally Recognized as Safe) and by the European Food Safety Authority as a novel food status. Another example is a preparation called “Katsuobushi oligopeptide”, containing the sequence LKPNM, derived from a thermolysin hydrolyzate of smoked sardine proteins. Consumption of Katsuobushi for eight weeks by patients with arterial hypertension reduced their pressure by 12.55 ± 1.5 mmHg. In addition to the already mentioned “Katsuobushi oligopeptide” preparation, the following preparations are included in the dietary supplements: Stabilium 200 obtained from the cod fish hydrolyzate (www.Yalacta.com) and PROTIZEN® obtained from the hydrolyzate of the salmonid family, which have anti-stress properties and support the lowering of blood pressure. Further examples of functional foods containing peptide ACE inhibitors are: fermented acid milk “Ameal-S” (Calpis Co, Ltd., Japan), milk beverage Evolus® (Holland), hydrolyzate of whey protein “BioZate” (Davisco Foods International, Inc., USA), “Brand’s Essence of Chicken” chicken extract (BEC; Cerebos Pacific Ltd., Singapore), PeptACE® Fish Peptides protein hydrolyzate (Natural Factors Nutritional Products Ltd, Canada). In turn, Fortidium LIQUAMEN®, is a hydrolyzate of fish from the cod family with antioxidant and anti-stress properties (Borawska et al. 2014; Darewicz et al. 2016).

Meat-based functional food: strategy

Consuming large amounts of meat, both red and white, is a contentious issue. A press release issued in 2015 by the International Agency for Research on Cancer informing of the recent evaluation of the carcinogenicity of red and processed meat consumption, increased the fear for their consumption. However, such an approach ignores the fact that meat is an important component of a healthy and well balanced diet due to its nutritional richness. According to Corpet (2011), how or when red meat and processed meat increases the risk of colorectal cancer is still unclear. It is suggested that factors that increase the likelihood of cancer present in red meat may be excess fat, excess protein, excess iron, heat induced mutagens such as heterocyclic amines (HCA) or NaCl and NO₂ added during the curing process. However, none of them can clearly explain the relationship between meat consumption and the risk of cancer (Corpet 2011). It should be emphasized that many negative aspects related to the consumption of processed meat products can be overcome by reducing unhealthy

ingredients (such as saturated fats, salt and nitrates). The intended effect can be achieved through appropriate animal production practices, such as feeding management and genetic strategies. In nutrition management, efforts have mainly focused on reducing fat content in meat or increasing mono-unsaturated fatty acids (MUFA) and polyunsaturated fatty acids (PUFA) by using appropriate feed sources. Genetic strategies include selection and crossing to reduce fat content in the carcass as well as the use of new advances, such as transgenesis, cloning or genetic markers (Olmedilla-Alonso et al. 2013). Another strategy mainly concerns only changes in the recipe of processed meats. Replacing the animal fat by vegetable fats with improved proportions of fatty acids (linseed oil, soybean oil, olive oil) or fat substitutes of vegetable origin, for example. Inulin, fiber, thereby increasing the fraction n-3 on the product are some examples. The replacement of nitrates of chemical origin by the addition of natural substances (plants or fruit) rich in natural resources of nitrates V (e.g. in the form of concentrates) with simultaneous addition of denitrifying bacteria (*Staphylococcus carnosus* with nitrate reductase activity). Another concept is the production of non-nitrite meat products with the addition of acid whey. In addition to controlling the composition of raw materials and processed materials through reformulation of fatty acid profiles, it seems possible to include antioxidants, dietary fiber or beneficial microflora. Plants as natural reservoirs of antioxidant compounds (flavonoids, polyphenols, tocopherols) present among others in green tea, pepper, grape seeds, they act as scavengers of free radicals, chelate metal ions, quench singlet oxygen which delays oxidation processes of fats. More about other strategies were described by Kęska and Stadnik (2017a). Another approach is the introduction or discovery of new bioactive components with pro-health effectiveness. The introduction of bioactive agents during processing, and not through the animal diet, allows the delivery of a wider range of bioactive compounds in the final product. The entry of meat products into the functional products market is associated with several obstacles. The biggest obstacle seems to be compliance with the necessary provisions (including the lack of unified regulations regarding strictly functional products in individual European countries) on the introduction of functional meat products to the market while being safe, tasty, cheap and easy to produce. This is sometimes a major technological challenge and requires non-standard multidisciplinary strategies to obtain and provide high levels of scientific evidence to confirm the health-improving properties of meat products. On the other hand, meat products can be excellent matrices as functional foods: they appeal to a wide range of consumers; they are universal - from low-processed meat products to shredded products (such as sausages) and contain internally high-quality nutrients (proteins, vitamins and minerals).

Biologically active peptides as functional ingredient in dry-cured meat products

Meat and meat products can also be considered as a functional food as they contain a plurality of compounds considered to be functional, such as peptides, due to their biological activity. According to the definition of FitzGerald and Murray (2006), they are “peptides with hormone- or drug-like activity that eventually modulate physiological function through binding interactions to specific receptors on target cells leading to induction of physiological responses”. Among many meat-based products, dry-cured products have special conditions as a functional product, especially when they are made from one piece of meat, e.g. ham or pork. First of all, they are processed to a small extent and only a small number of ingredients are used in their production. In addition, specific conditions of meat tissue (about 20% of protein) indicate a high potential as a source of ingredients to promote health conditions and prevent the risk of diseases. Biologically active peptides from dry-cured meat products are quite well described in the literature, especially when they act as antioxidants, they have antihypertensive (angiotensin converting I enzyme inhibitors) or antidiabetic (dipeptidyl peptidase IV inhibitors) (Jiménez-Colmenero et al. 2010, Stadnik and Kęska 2015). The influence of specific stages of the production process (salting/curing, fermentation, aging) can positively influence the functional nature of the products, which is well described by Zhang et al. (2010). Importantly, these products have special properties due to the presence of lactic acid bacteria, among which selected strains have a probiotic status. The probiotic is known as the culture of live microorganisms, which are mainly lactic bacteria or bifidobacteria. It can have a beneficial effect on the health of the host when it is consumed at certain levels, preventing the growth of harmful bacteria by eliminating competition and

by producing organic acids and antimicrobial compounds in the colon (Salminen et al. 1996). These products can be healthy for people and bring benefits as an example of functional meat products. Probiotic bacteria are used in dry-cured products that are processed by fermentation without heat treatment. They were successfully used both in products from one element (e.g. ham, sirloin, pork neck) as well as in minced products - sausages (Wójciak et al. 2017). Germany and Japan are the first two countries which introduced probiotic lactic acid bacteria into meat products (Arihara 2006). Most of the studies confirmed the view that the probiotic lactic acid bacteria do not cause significant differences in the overall sensory properties. Moreover, the effect of probiotic strains of LAB (*Lactobacillus rhamnosus* LOCK900, *Lactobacillus acidophilus* Bauer Ł0938 and *Bifidobacterium animalis* ssp. *lactis* BB-12) for the release of biologically active peptides with antioxidant properties has been reported (Kęska i Stadnik 2017b). However, the use of dry-cured meat produced with probiotics in human studies is very rare. Challenges in the quantitation of naturally generated bioactive peptides in processed meats has been reviewed by Mora et al. (2017). Although new strategies allow the identification and characterization of naturally generated peptides, there is still a need to use and improve robust quantitative methodologies to adequately characterize their bioavailability. A helpful, easy and cheap way to assess the release of biologically active peptides from proteins under the influence of proteolytic enzymes of the digestive tract offer bioinformatic tools, generally referred to as *in silico* methods. This solution revealed the potential of myofibrillar protein of pork meat as an excellent source of biologically active peptides (Kęska and Stadnik 2016). Another approach is to assess the stability of biological activity of peptides against *in vitro* gastrointestinal digestion, as proposed by Escudero et al. (2014) with regard to dry-cured ham. The same authors showed significant ACE-inhibiting activity of peptides released after digestion *in vitro* by gastro-intestinal proteases, characterizing additionally active peptide sequences (qualitatively and quantitatively) by chromatographic method. In fact, the use of *in silico* methods and peptidomics approaches can be a complementary tool for identifying peptides from meat protein sources, because empirical experimental design can be simplified using bioinformatics, for example for simulation of computerized enzymatic hydrolysis. In turn, the analysis of released proteins and peptides enables the analysis of their structure, their functions and their dependencies. The advantage of peptidomics is the ability to differentiate not only between species, but also between tissues or proteins within the same species. A still unsolved problem is the estimation of bioavailability of biologically active peptides provided from meat food matrices (Udenigwe and Fogliano 2017). The nature of the food matrix (containing a lot of proteins, lipids, polysaccharides, metals and others) on the interaction of bioactive peptides in such cases is largely untypical. In addition, it is worth noting that food matrices containing peptides undergo various technological treatments, such as heat, high pressure or other treatments, e.g. vacuum packaging. It can therefore be seen that the peptides provided by the meat food matrices are very susceptible to chemical modification during processing and storage and that the bioactivities observed in the peptide-rich products must be specifically characterized in order to fully demonstrate the functional nature of the meat products.

4. Conclusion

Meat and meat products, in particular dry-cured meats, have enormous potential to exist as functional foods based on biologically active peptides content. These “healthier” meats can also be attractive to consumers interested in reducing the health risks associated with the consumption of processed meat products. Considering that current scientific reports focus mainly on *in vitro* studies, additional health claims (*in vivo* studies) are needed to confirm the effect of biologically active peptides on the human body after ingestion. Only such a comprehensive approach will open up new markets for the meat industry.

5. Reference

Arihara K (2006) Strategies for designing novel functional meat products. *Meat Science* 74(1): 219-229.

- Borawska J, Darewicz M, Iwaniak et al. (2014) Biologicznie aktywne peptydy pochodzące z białek żywności jako czynniki prewencji wybranych chorób dietozależnych. *Bromatologia i Chemia Toksykologiczna* 47(2): 230-236.
- Corpet DE (2011) Red meat and colon cancer: should we become vegetarians, or can we make meat safer?. *Meat Science* 89(3): 310-316.
- Darewicz M, Borawska-Dziadkiewicz J, Iwaniak A et al. (2016) Produkty hydrolizy białek ryb jako prewencyjne czynniki stresu oksydacyjnego oraz czynniki kardioprotekcyjne *Problemy Higieny i Epidemiologii* 97(2): 113-117.
- Escudero E, Mora L, Toldrá F (2014) Stability of ACE inhibitory ham peptides against heat treatment and *in vitro* digestion. *Food Chemistry* 161: 305-311.
- FitzGerald RJ, Murray BA (2006) Bioactive peptides and lactic fermentations. *International Journal of Dairy Technology* 59: 118-125.
- Fosgerau K, Hoffmann T (2015) Peptide therapeutics: current status and future directions. *Drug Discovery Today* 20(1): 122-128.
- Jiménez-Colmenero F, Ventanas J, Toldrá F (2010) Nutritional composition of dry-cured ham and its role in a healthy diet. *Meat Science* 84(4): 585-593.
- Kęska P, Stadnik J (2016) Porcine myofibrillar proteins as potential precursors of bioactive peptides-an *in silico* study. *Food & Function* 7(6): 2878-2885.
- Kęska P, Stadnik J (2017a) Dry-Cured Meats: Quality, Safety and Nutritional Aspects. In: *Meat and meat processing/ [edited by] Derrick B. McCarthy- New York: Nova Science Publishers, Inc. 88-110; ISBN: 978-1-53612-231-2.*
- Kęska P, Stadnik J. (2017b) Characteristic of antioxidant activity of dry-cured pork loins inoculated with probiotic strains of LAB. *CyTA-Journal of Food* 15(3):374-381.
- Mäkinen-Aakula M (2006) Trends in functional foods dairy market. In *Proceedings of the third functional food net meeting. Liverpool, UK, September 18-19.*
- Mora L, Gallego M, Reig M et al. (2017) Challenges in the quantitation of naturally generated bioactive peptides in processed meats. *Trends in Food Science & Technology.* <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.04.011>.
- Salminen S, Isolauri E, Salminen E (1996) Clinical uses of probiotics for stabilizing the gut mucosal barrier: successful strains and future challenges. *Antonie van Leeuwenhoek* 70(2): 347-358.
- Siro I, Kápolna E, Kápolna B et al. (2008) Functional food. Product development, marketing and consumer acceptance - A review. *Appetite* 51(3): 456-467.
- Stadnik J, Kęska, P (2015) Meat and fermented meat products as a source of bioactive peptides. *Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria* 14(3): 181-190.
- Olmedilla-Alonso B, Jiménez-Colmenero F, Sánchez-Muniz FJ (2013) Development and assessment of healthy properties of meat and meat products designed as functional foods. *Meat Science* 95(4): 919-930.
- Udenigwe CC, Fogliano V (2017) Food matrix interaction and bioavailability of bioactive peptides: Two faces of the same coin?. *Journal of Functional Foods* 35: 9-12.
- Wójciak KM, Libera J, Stasiak DM et al. (2017) Technological Aspect of *Lactobacillus acidophilus* Bauer, *Bifidobacterium animalis* BB-12 and *Lactobacillus rhamnosus* LOCK900 USE in Dry-Fermented Pork Neck and Sausage. *Journal of Food Processing and Preservation*, 41(3): e12965.
- Yamada K, Sato-Mito N, Nagata J et al. (2008) Health claim evidence requirements in Japan. *The Journal of Nutrition*, 138(6): 1192S-1198S.
- Zhang W, Xiao S, Samaraweera H et al. (2010) Improving functional value of meat products. *Meat Science* 86(1): 15-31.

14. Zafałszowania mięsa i produktów mięsnych na podstawie danych dostępnych w Systemie RASFF

Adulteration fraud of meat and meat products based on data available in RASFF System

Kononiuk Anna, Karwowska Małgorzata

Katedra Technologii Surowców Pochodzenia Zwierzęcego, Wydział Nauk o Żywności i Biotechnologii, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie
Opiekun naukowy: dr hab. inż. Małgorzata Karwowska

Kononiuk Anna: anna.kononiuk@up.lublin.pl

Słowa kluczowe: bezpieczeństwo żywności, System RASFF, mięso i produkty mięsne

Streszczenie

System RASFF (System Wczesnego Ostrzegania o Żywności i Paszach) został ustanowiony w celu zwiększenia odpowiedzialności i wzmocnienia współpracy między państwami Unii Europejskiej w zakresie kontroli bezpieczeństwa żywności. Jest to kluczowe narzędzie stosowane w Unii Europejskiej w celu wyeliminowania zagrożeń związanych ze spożywaniem potencjalnie niebezpiecznej żywności. Celem niniejszego opracowania było wskazanie najczęstszych powodów zafałszowania mięsa i produktów mięsnych w ciągu ostatnich pięciu lat w oparciu o powiadomienia zgłoszone do systemu RASFF. W badaniu przeanalizowano zgłoszenia dodane do systemu RASFF w okresie od 30.09.2012 r. do 1.10.2017 r. oraz dane opublikowane przez Komisję Europejską w rocznych sprawozdaniach RASFF w latach 2012 – 2016. Analizowano szczegółowe informacje na temat każdego powiadomienia, w szczególności zwrócono uwagę na takie aspekty jak podstawa wykrycia zgłoszenia, szczegółowy powód zgłoszenia, państwo w którym zagrożenie zostało wykryte czy kraj pochodzenia produktów. Łącznie w analizowanym okresie stwierdzono 76 zakwalifikowanych notyfikacji odnoszących się do zafałszowanych produktów mięsnych. Kontrola urzędowa, kontrola graniczna oraz wewnętrzna kontrola producenta były trzema najczęściej występującymi podstawami zgłoszeń zafałszowanych produktów mięsnych. Analiza zgłoszeń w portalu RASFF pozwala śledzić trendy i aktualne problemy w zakresie bezpieczeństwa żywności. Identyfikacja powodów zafałszowań/oszustw żywności odgrywa istotną rolę w opracowaniu planów kontroli i nadzoru nad jakością i bezpieczeństwem żywności i żywienia.

1. Wstęp

Produkcja żywności, jak każda inna gałąź przemysłu nastawiona jest na generowanie zysku. W związku z tym w interesie producenta jest optymalizacja procesów i minimalizacja kosztów produkcji. Niestety niekiedy w pogoni za zyskiem zdarza się iż producent dopuszcza się fałszowania produktów żywnościowych. Zgodnie z ustawą z dn. 25 sierpnia 2006 r. z późn. zm. o bezpieczeństwie żywności i żywienia za zafałszowany środek spożywczy uznaje się produkt bądź surowiec, którego skład lub inne właściwości zostały zmienione a konsument nie został o tym poinformowany, bądź zmiany zostały wprowadzone w celu ukrycia rzeczywistego składu lub innych właściwości. Definicja ta dotyczy zarówno zmiany składu, wartości lub właściwości odżywczych jak i niezgodności w sposobie znakowania bądź pakowania (*Dz.U. z 2006 r. Nr 171, poz. 1225*). Poza produktami zafałszowanymi na rynku spożywczym można również spotkać produkty podrobione, są to produkty, które cechami zewnętrznymi przypominają produkt właściwy jednak właściwości sensoryczne, odżywcze czy chemiczne są znacznie odbiegające.

Znanych jest wiele metod fizykochemicznych czy technik molekularnych znajdujących zastosowanie w wykrywaniu zafałszowań żywności. Pomimo ciągłego ich rozwoju, należy mieć na uwadze, iż największe znaczenie w tym przypadku ma częsta i rygorystyczna kontrola surowców i produktów spożywczych na rynku (*Czerwiecki 2004*).

Wśród krajowych narzędzi służących do kontroli produktów spożywczych bardzo istotna jest wewnętrzna kontrola jakości. Pozostaje ona w gestii producenta i może obejmować takie narzędzia jak System Analizy Zagrożeń i Krytycznych Punktów Kontroli (HACCP), Dobra Praktyka Higieniczna (GHP) czy Dobra Praktyka Produkcyjna (GMP). Niezależną i obiektywną kontrolę jakości i bezpieczeństwa sprawują zewnętrzne instytucje powołane na mocy odpowiednich przepisów. Do krajowych instytucji nadzorujących obrót żywnością należą m.in. Główny Inspektorat Sanitarny (GIS), Główny Inspektorat Weterynaryjny (GIW), Inspekcję Jakości Handlowej Produktów Rolno- Spożywczych (IJHARS) czy Urząd Ochrony Konkurencji i Konsumentów (UOKiK) (*Śmiechowska 2013*). Instytucje te mają za zadanie stałe monitorowanie i nadzór rynku produktów spożywczych jak i okresowe kontrolowanie jakości i bezpieczeństwa produktów żywnościowych. Przykładowa kontrola przeprowadzona przez Urząd Ochrony Konkurencji i Konsumentów obejmowała ocenę jakości handlowej w tym prawidłowości oznakowania mięsa i przetworów mięsnych. W trakcie kontroli skontrolowano 1279 partii mięsa i przetworów mięsnych znajdujących się w 165 placówkach na terenie całego kraju. W wyniku kontroli nieprawidłowości pojawiły się w ponad 50% skontrolowanych placówkach. Najczęściej pojawiającymi się problemami były: niezgodność zadeklarowanego składu ze stanem faktycznym, nieprawidłowości dotyczące oznakowania produktów, brak identyfikowalności produktów (*UOKiK 2016*). Przeprowadzane kontrole pozwalają na bieżącą ocenę jakości i bezpieczeństwa produktów a także umożliwiają szybkie reagowanie w momencie wykrycia potencjalnie niebezpiecznej żywności.

Kluczowym narzędziem stosowanym w Unii Europejskiej w celu wyeliminowania zagrożeń związanych ze spożyciem żywności potencjalnie niebezpiecznej jest system RASFF - System Wczesnego Ostrzegania o Niebezpiecznej Żywności i Paszach. Powołanie systemu miało na celu zwiększenie odpowiedzialności i wzmocnienie współpracy państw Unii Europejskiej w zakresie kontroli bezpieczeństwa żywności. Do systemu RASFF należą wszystkie kraje Unii Europejskiej a także Europejskiego Obszaru Gospodarczego (obecnie jest to 31 państw). Struktura systemu zakłada sprawną wymianę informacji pomiędzy krajami członkowskimi. W każdym kraju należącym do systemu RASFF utworzone są całodobowe punkty kontaktowe, przesyłające i odbierające powiadomienia o ryzyku związanym z żywnością niespełniającą wymagań dotyczących jakości zdrowotnej. Krajowe punkty kontaktowe są zobligowane do niezwłocznego powiadamiania Komisji Europejskiej oraz Europejskiego Urzędu ds. Bezpieczeństwa Żywności (EFSA) o każdym podjętym działaniu mającym na celu ograniczenie wprowadzania na rynek bądź wycofania z obrotu produktów mogących stwarzać niebezpieczeństwo dla konsumentów. Wpływające do komisji zagrożenia są oceniane i przekazywane do wszystkich członków Systemu Wczesnego Ostrzegania o Niebezpiecznej Żywności i Paszach. Ocena powiadomień polega na klasyfikacji ich do jednego z rodzajów powiadomień: powiadomienia alarmowe, powiadomienia informacyjne, powiadomienia o odrzuceniu produktu na granicy, powiadomienia typu news. Skoordynowane działania w obrębie członków systemu mają na celu wyeliminowanie ryzyka wystąpienia zagrożenia bezpieczeństwa żywności zanim zostanie zagrożone zdrowie konsumenta. Powiadomienia wpływające do komisji są publikowane w ogólnodostępnej bazie internetowej systemu oraz w rocznych raportach (*RASFF 2012 – 2016*).

2. Materiał i metody

W niniejszej pracy dokonano analizy zgłoszeń do Systemu RASFF dotyczących kategorii: „mięso i produkty mięsne (z wyłączeniem drobiu)” oraz „mięso drobiowe i drobiowe produkty mięsne”. Analizowano dane dostępne w platformie Systemu RASFF jak i dane znajdujące się w rocznych raportach systemu. W opracowaniu uwzględniono dane zgłoszone do systemu w okresie od 30.09.2012 do 01.10.2017. Do analizy danych wykorzystano pakiet MS Office.

3. Wyniki i dyskusja

W badanym okresie do systemu RASFF wpłynęło 15638 zgłoszeń, które zaklasyfikowane zostały do 35 kategorii produktów. Około 10% z nich stanowią zgłoszenia dotyczące mięsa przetworów mięsnych (w systemie klasyfikowane są one jako dwie kategorie „mięso i produkty

mięsne (inne niż drób)” oraz „drób i produkty z mięsa drobiowego”). W ramach niniejszego opracowania zgłoszenia dotyczące obu tych kategorii zostały połączone w celu omawiania zgłoszeń dotyczących mięsa i przetworów mięsnych. W tabeli 1 przedstawiono zestawienie zgłoszeń do systemu RASFF z uwzględnieniem kategorii zagrożeń oraz ilości zgłoszeń zaklasyfikowanych jako poważne. Najczęściej występującymi kategoriami zagrożeń są patogenne mikroorganizmy (w 67% przypadków dotyczą one mięsa drobiowego), pozostałości leków weterynaryjnych (82% zgłoszeń dotyczy mięsa i przetworów mięsnych innych niż drób) oraz zafałszowania/oszustwa (jedynie 14% przypadków dotyczących mięsa i produktów drobiowych). W przypadku zagrożenia produktami patogennymi mikroorganizmami lub występującymi pozostałościami leków weterynaryjnych większość zgłaszanych przypadków jest uznawana przez organy nadzorujące jako poważne zagrożenie (odpowiednio 80 i 58%). Co za tym idzie przypadki te podlegają zwiększonej kontroli oraz częstemu monitorowaniu zgłoszenia. Zafałszowania bądź oszustwa produktów mięsnych są w niewielkim stopniu klasyfikowane jako poważne zagrożenie, rzeczywiście rzadko kiedy stwarzają realne zagrożenie dla zdrowia lub życia ludzi. Niemniej jednak mogą one nieść poważne konsekwencje ekonomiczne dla konsumentów jak i całego rynku spożywczego.

Tab. 2. Zestawienie zgłoszeń do systemu RASFF dotyczących mięsa i produktów mięsnych, w okresie 30.09.2012 – 01.10.2017.

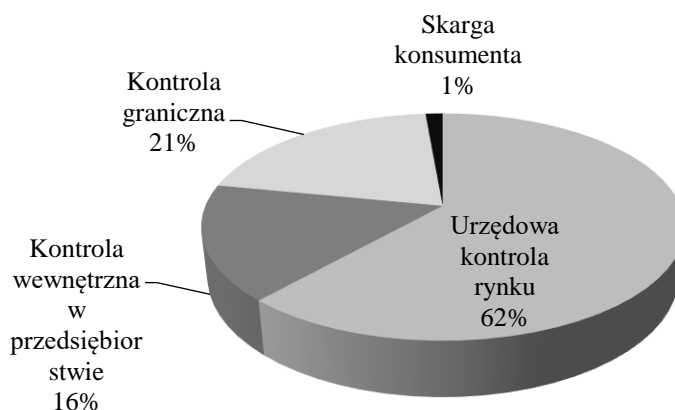
| Kategoria zagrożenia | Ilość zgłoszeń | Zaklasyfikowane jako poważne ryzyko |
|---|-----------------------|--|
| Patogenne mikroorganizmy | 1590 | 1273 (80%) |
| Słaba lub niewystarczająca kontrola | 65 | 5 |
| Pozostałości leków weterynaryjnych | 121 | 70 (58%) |
| Dodatki do pasz | 23 | 18 |
| Zafałszowania/Oszustwa | 76 | 2 (3%) |
| Alergeny | 55 | 48 |
| Ciała obce | 40 | 25 |
| Organoleptyczne właściwości | 27 | 1 |
| Metale ciężkie | 17 | 14 |
| Dodatki do żywności | 9 | 1 |
| Brak/niekompletne/nieprawidłowe etykietowanie | 23 | 7 |
| Nieprawidłowe/wadliwe pakowanie | 13 | 3 |
| Zanieczyszczenia przemysłowe | 15 | 15 |
| TSE | 4 | 2 |
| Skład | 10 | 1 |
| Niepatogenne mikroorganizmy | 12 | 1 |
| Promieniowanie | 2 | 0 |
| Zakażenie pasożytami | 1 | 1 |
| Nie zdefiniowane/Pozostałe | 2 | 1 |
| Pozostałości pestycydów | 2 | 0 |
| Ogółem | 2107 | 1488 (71%) |

W badanym okresie w systemie RASFF odnotowano 76 zgłoszeń dotyczących zafałszowań produktów mięsnych. Większość z nich (65) dotyczyło mięsa i produktów mięsnych innych niż drobiowe, natomiast 11 odnosiło się do mięsa drobiowego i produktów drobiowych.

Wśród zgłoszeń dotyczących mięsa i przetworów mięsnych (innych niż drób), zdecydowaną większość stanowiły zgłoszenia dotyczące zafałszowania mięsa i produktów mięsnych koniną. Zgłoszenia te dotyczyły takich produktów jak: mrożone hamburgery wołowe(6), kiełbaski(13), kebab (4), mrożony gulasz wołowy (1), skórki wieprzowe (1), duszona wołowina (4), mrożone mięso wołowe (12), gotowana wołowina (3), stek wołowy (1), konserwy wołowe (2), wysoko przetworzone produkty mięsne typu ready-to-eat (5), peklowana wołowina (3). Ponadto w 4 przypadkach, poza wykryciem koniny, wykryto również obecność niedozwolonej substancji – fenylbutazonu a w jednym przypadku przekroczony poziom NDP oksytetracykliny. Cztery zgłoszenia związane były z brakiem lub zafałszowanym świadectwem zdrowia produktów pochodzących z Rosji, Namibii oraz Brazylii. Cztery zgłoszenia, których powodem była próba nielegalnego importu dotyczyły importu wołowiny z Urugwaju, Brazylii oraz Iranu, w jednym przypadku skór wieprzowych z Wietnamu. Dwa zgłoszone przypadki dotyczyły oszustw polegających na zabarwieniu połędwic wieprzowych i oznaczeniu ich jako połędwice wołowe.

Najczęściej zafałszowania lub oszustwa dotyczące mięsa i produktów mięsnych wykrywane były podczas urzędowych kontroli (Rysunek 1). Wysoki odsetek zgłoszeń był również wykrywany w czasie kontroli granicznych czy kontroli wewnętrznych w przedsiębiorstwie. Połowa przypadków wykrytych podczas urzędowych kontroli zakończyła się wycofaniem produktu z rynku, w pozostałych sytuacjach miało miejsce informowanie władz (4 przypadki), konfiskata produktu (3), informowanie odbiorców(3), aresztowanie(3), zatrzymanie produktu przez operatora (3), zniszczenie (2), wycofanie produktów od konsumentów (1), zwrot do producenta (1). Odesłanie produktów oraz wycofanie produktów z rynku było najczęściej podejmowaną akcją (67% zgłoszeń) w przypadku (odpowiednio) produktów zatrzymanych w wyniku kontroli granicznych oraz kontroli wewnętrznej w przedsiębiorstwach.

Podstawy zgłoszeń do Systemu RASFF



Rys. 1. Podstawy zgłoszeń do Systemu RASFF dotyczących zafałszowań/ oszustw w mięsie i produktach mięsnych.

Tabela 2 przedstawia podział zgłoszeń dotyczących zafałszowań/oszustw w odniesieniu do produktów mięsnych z uwzględnieniem kraju zgłaszającego (kraju, w którym wykryto zagrożenie) oraz kraju pochodzenia produktów zagrożonych niespełniających wymagań jakości zdrowotnej. Około 34% zgłoszeń odnotowanych w Systemie dotyczyło mięsa i produktów mięsnych pochodzących z Polski. Dwadzieścia pięć z tych zgłoszeń pochodzi z okresu od października 2012 do kwietnia 2013 i dotyczy zafałszowania mięsa koniną. W tym okresie miał miejsce dość głośny skandal związany z koniną, zafałszowane mięsa pochodziły głównie z Polski, Włoch, Francji i Niemiec. Większość tych produktów trafiała na rynek Holenderski (*Annual Report 2013*). W odpowiedzi na ten skandal Komisja Europejska dwukrotnie (w 2013 i 2014 roku) wydała zalecenie w sprawie skoordynowanego planu kontroli w celu ustalenia skali występowania oszukańczych praktyk przy wprowadzeniu do obrotu określonych rodzajów żywności (*Zalecenie 99/2013*,

160/2014). Wyniki pierwszego planu kontroli potwierdziły wielokrotne łamanie przepisów w zakresie etykietowania produktów mięsnych (brak informacji o faktycznym składzie produktu). Skandal ten wykazał problemy rynku z identyfikowalnością zafałszowań w łańcuchu żywnościowym. W związku z tym, iż taki rodzaj zafałszowań nie stanowi bezpośredniego zagrożenia bezpieczeństwa żywności, Komisja ds. Bezpieczeństwa Żywności rozpoczęła pracę nad analogicznym do RASFF systemem skupiającym się na przeciwdziałaniu fałszowaniu żywności poprzez szybką wymianę przez kraje członkowskie informacji potrzebnych do postawienia ewentualnych zarzutów, mogących skutkować nałożeniem kar administracyjnych lub wszczęciem postępowania sądowego (RASFF 2013). W lipcu 2013 roku została utworzona unijna sieć działająca na rzecz przeciwdziałania fałszowaniu żywności - FFN (Food Fraud Network), która umożliwia sprawną i skuteczną współpracę wszystkich służb. Platforma ta zajmuje się domniemanymi przypadkami celowego łamania prawa żywnościowego. W 2015 roku odnotowano 108 przypadków naruszeń prawa obejmujących takie aspekty jak: nie spełnione wymagania w odniesieniu do etykietowania, zafałszowania certyfikatów i dokumentacji, podejrzenie nielegalnego eksportu oraz wykorzystanie zabronionych technik przetwórstwa (Annual Report 2015).

Tab. 3. Zestawienie zgłoszeń do systemu RASFF dotyczących zafałszowań/oszustw produktów mięsnych z uwzględnieniem kraju pochodzenia produktu zgłaszanego oraz kraju zgłaszającego produkt.

| Ilość notyfikacji | Kraje pochodzenia produktów | Ilość notyfikacji | Kraje zgłaszające |
|-------------------|--|-------------------|---|
| 26 | Polska | 12 | Grecja |
| 8 | Niemcy | 8 | Wielka Brytania |
| 7 | Łotwa | 7 | Niemcy |
| 6 | Francja, Tajlandia | 6 | Polska |
| 4 | Grecja, Włochy | 4 | Irlandia, Włochy |
| 3 | Węgry, Szwecja, Hiszpania, Holandia, Bułgaria, Rumunia, Rosja | 3 | Belgia, Bułgaria, Czechy, Francja, Łotwa, Holandia, Szwecja |
| 2 | Irlandia, Belgia, Wielka Brytania, Brazylia | 2 | Estonia, Węgry, Litwa, Hiszpania |
| 1 | Finlandia, Słowacja, Estonia, Litwa, Rumunia, Malta, Portugalia, Namibia, Urugwaj, Iran, Chiny, Brazylia | 1 | Austria, Cypr, Finlandia, Malta, Norwegia, Portugalia |

W analizowanym okresie w kategorii mięso drobiowe i produkty z mięsa drobiowego odnotowano 11 zgłoszeń. 45% zgłoszeń dotyczyło próby nielegalnego importu produktów. Co ciekawe, zgłoszenia te nie dotyczyły samego mięsa a marynaty, w której się znajdowały, zawierającej niezatwierdzony do stosowania jogurt z Tajlandii. Wszystkie zgłoszenia zostały odnotowane przez punkt kontaktowy w Wielkiej Brytanii i dotyczyły produktów trafiających na tamtejszy rynek. Trzy zgłoszenia dotyczyły podejrzenia zafałszowania bądź oszustwa w przypadku filetów z kurczaka (2) i piersi z indyka (1). Zgłoszenia te są opisane jednak bardzo ogólnie i nie jest znany dokładny powód zgłoszenia. Trzy zgłoszenia odnosiły się do nieprawidłowości w dokumentacji. Dotyczyły one braku kodu identyfikacyjnego na pudełkach odpowiadających świadectwu zdrowia (suszone mięso z indyka i kurczaka z Rosji), niewłaściwych dokumentów weterynaryjnych (mrożone mięso z kurczaka z Tajlandii) oraz zafałszowanego świadectwa zdrowia (mrożona, pieczona kaczka z Chin).

Każde powiadomienie w systemie RASFF może zostać zaklasyfikowane z uwzględnieniem rodzaju notyfikacji jako: powiadomienie alarmowe, powiadomienie o odrzuceniu na granicy bądź powiadomienie informacyjne. Wśród powiadomień informacyjnych można wyróżnić powiadomienie typu „for follow-up” odnoszące się do produktu, który jest lub może znajdować się na rynku innego kraju członkowskiego sieci RASFF lub powiadomienie informacyjne typu „for attention” odnoszące się do produktu, który jest obecny wyłącznie na rynku w zgłaszającym kraju członkowskim lub nie został umieszczony na rynku i ryzyko jest niewielkie (*Instrukcja Głównego Lekarza Weterynarii Nr GIWbż-500-1/12 z dnia 19 stycznia 2012 roku*). W przypadku mięsa i produktów mięsnych innych niż drób, ponad 86% powiadomień zostało zaklasyfikowanych jako powiadomienia informacyjne

typu „for follow-up”, 9% jako powiadomienia o odrzuceniu na granicy i niespełna 5% jako powiadomienia alarmowe. W przypadku mięsa i produktów mięsnych drobiowych 81% zgłoszeń określono jako powiadomienia o odrzuceniu na granicy, pozostałe zgłoszenia były to powiadomienia typu „follow up”. Taka klasyfikacja świadczy o tym, że zafałszowania mięsa i produktów mięsnych (innych niż drobiowe) wykrywane są głównie w produktach znajdujących się już na rynku i należy zwrócić szczególną uwagę na możliwość pojawienia się tych produktów, natomiast w przypadku mięsa i produktów drobiowych zafałszowania są wykrywane podczas kontroli granicznej i tam są zatrzymywane.

4. Wnioski

Zafałszowania/oszustwa są na trzecim miejscu pod względem ilości zgłoszonych powiadomień w systemie RASFF w kategorii mięso i produkty mięsne. Ze względu na brak (w większości przypadków) realnego ryzyka dla zdrowia konsumenta tylko w 3% przypadków podejmowana jest decyzja o zaklasyfikowaniu ryzyka jako poważne.

Wyniki kontroli przez instytucje nadzorujące obrót żywnością były powodem największej ilości zgłoszeń dotyczących mięsa i produktów mięsnych. W związku z tym najskuteczniejszym narzędziem do walki z zafałszowaniami/oszustwami produktów mięsnych wydaje się być urzędowa kontrola żywności.

Zgłaszane do Systemu RASFF notyfikacje w odniesieniu do zafałszowań dotyczyły w dużej mierze mięsa i produktów mięsnych pochodzących z Polski. Zwiększona kontrola polskiego rynku mięsnego może być wymagana w celu ograniczenia proceduru fałszowania tych produktów.

Większość zgłoszeń dotyczących mięsa i produktów mięsnych (innych niż drobiowe) wymaga bieżącego monitoringu i wycofywania produktów z rynku, podczas gdy zafałszowane mięsa i produkty drobiowe są zatrzymywane na granicy i odsyłane do producenta.

RASFF umożliwia sprawną wymianę informacji na temat zagrożeń związanych z jakością i bezpieczeństwem produktów spożywczych. Dzięki temu członkowie sieci mogą podejmować skoordynowane, spójne i jednoczesne działania, aby zapewnić jak najwyższy poziom ochrony konsumentów.

5. Literatura

- Czerwiecki L (2004) Problemy autentyczności produktów spożywczych. Roczniki Państwowego Zakładu Higieny 1(55): 9-19.
- Instrukcja Głównego Lekarza Weterynarii nr GIWbż-500-1/12 z dnia 19 stycznia *2012) roku w sprawie zakresu I sposobu działania krajowego Systemu Wczesnego Ostrzegania I Niebezpiecznych Produktach Żywnościowych i Paszach (RASFF- Rapid Alert System for Food and Feed), <https://www.wetgiw.gov.pl/download/GIWbz-500-1-12,3381.pdf> dostęp:30.10.2017.
- RASFF (2012) The Rapid Alert System for Food and Feed 2011 Annual Report. Health and Consumers Directorate-General of the European Commission, Luxembourg.
- RASFF (2013) The Rapid Alert System for Food and Feed 2012 Annual Report. Health and Consumers Directorate-General of the European Commission, Luxembourg.
- RASFF (2014) The Rapid Alert System for Food and Feed 2013 Annual Report. Health and Consumers Directorate-General of the European Commission, Luxembourg.
- RASFF (2015) The Rapid Alert System for Food and Feed 2014 Annual Report. Health and Consumers Directorate-General of the European Commission, Luxembourg.
- RASFF (2016) The Rapid Alert System for Food and Feed 2015 Annual Report. Health and Consumers Directorate-General of the European Commission, Luxembourg.
- ROZPORZĄDZENIE KOMISJI (UE) NR 16/2011 z dnia 10 stycznia 2011 r. ustanawiające środki wykonawcze dla systemu wczesnego ostrzegania o niebezpiecznych produktach żywnościowych i środkach żywienia zwierząt (2011).
- ROZPORZĄDZENIE (WE) NR 178/2002 PARLAMENTU EUROPEJSKIEGO I RADY z dnia 28 stycznia 2002 r. ustanawiające ogólne zasady i wymagania prawa żywnościowego, powołujące

- Europejski Urząd ds. Bezpieczeństwa Żywności oraz ustanawiające procedury w zakresie bezpieczeństwa żywności (2002).
- Śmiechowska M (2013) Autentyczność, jako kryterium zapewnienia jakości żywności. *Annales Academiae Medicae Gedanensis* 43: 175-181.
- The Rapid Alert System for Food and Feed (RASFF) Portal. <https://webgate.ec.europa.eu/rasff-window/portal/?event=searchForm#> dostęp: 30.10.2017r .
- Urząd Ochrony Konkurencji i Konsumentów (2016) Informacja o wynikach kontroli jakości i prawidłowości oznakowania mięsa i przetworów mięsnych pod kątem ujawniania zafałszowań tańszymi produktami. DIH-703- 13/16/JS.
- Ustawa z dnia 25 sierpnia 2006 r. o bezpieczeństwie żywności i żywienia, Dz.U. z 2006 r. Nr 171, poz. 1225 (2006).
- ZALECENIE KOMISJI (UE) NR 2013/99/UE z dnia 19 lutego 2013 r. w sprawie skoordynowanego planu kontroli w celu ustalenia skali występowania oszukańczych praktyk przy wprowadzeniu do obrotu określonych rodzajów żywności (2013).
- ZALECENIE KOMISJI (UE) NR 2014/180/UE z dnia 27 marca 2014 r. w sprawie drugiego skoordynowanego planu kontroli w celu ustalenia skali występowania oszukańczych praktyk przy wprowadzeniu do obrotu określonych rodzajów żywności (2014).

15. Wpływ przemian fizykochemicznych na jakość wyrobów mięsnych fermentowanych podczas ich wytwarzania

The influence of the most important changes during processing of meat fermented products on the quality of final product

Kononiuk Anna, Kęska Paulina

Zakład Technologii Mięsa i Zarządzania Jakością, Wydział Nauk o Żywności i Biotechnologii, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie

Kononiuk Anna: anna.kononiuk@up.lublin.pl

Słowa kluczowe: mięso, jakość produktów mięsnych, bezpieczeństwo

Streszczenie

Różnorodność używanych surowców, jak i warunków przebiegu procesu technologicznego prowadzi do dużego zróżnicowania asortymentu mięsnych produktów fermentowanych. Ich wspólną cechą są przemiany biochemiczne i fizyczne surowca podczas jego przetwarzania. Przemiany te dotyczą węglowodanów, białek i tłuszczu. Wpływają na parametry takie jak pH, smak, zapach, tekstura czy barwa produktu. Ponadto w wyniku tych przemian mogą powstawać produkty takie jak aldehydy, ketony, aminy biogenne mogące zagrażać bezpieczeństwu zdrowotnemu produktu. W artykule przedstawiono najważniejsze informacje dotyczące wpływu tych przemian na jakość mięsnych wyrobów fermentowanych podczas ich wytwarzania.

1. Wstęp

Surowo dojrzewające wyroby mięsne to znane na całym świecie tradycyjne produkty spożywcze. Tradycja ta wynika z charakterystycznej receptury i stylu produkcji, typowej dla różnych krajów i obszarów. W zasadzie każdy region świata udoskonalił swoją recepturę produkcji fermentowanych wyrobów mięsnych, co jest powiązane z różnicami pomiędzy poszczególnymi wyrobami. Dotyczą one przede wszystkim właściwości organoleptycznych i fizykochemicznych, wynikających zarówno ze względu na żywca rzeźny (rasa zwierzęcia, sposób skarmiania, ich waga i wiek) jak i typ procesu fermentacji (spontaniczna bądź ukierunkowana). W zależności od kraju pochodzenia, fermentowane wyroby mięsne wytwarzane są z całych elementów tuszy (np. całe nogi wieprzowe głównie w Hiszpanii i we Włoszech) albo poszczególnych fragmentów mięśni lub ich kombinacji (n.p. *M. longissimus dorsi*, *rectus femoris*, *vastus lateralis*, *medialis* oraz *intermedius*). Ich zróżnicowanie wynika także ze sposobu przygotowania surowca, na przykład kielbasy o różnym stopniu rozdrobnienia. Wspólną cechą wszystkich fermentowanych produktów spożywczych jest obecność mikroflory zdolnej do przeprowadzenia procesu fermentacji. Nie ma wyraźnie określonego początku i końca etapu procesu fermentacji mięs. Przyjmuje się że moment, w którym bakterie kwasu mlekowego (autochtoniczne lub przemysłowe) zaczynają rosnąć i rozmnażać się, zachodzi proces przekształcania węglowodanów w kwas mlekowy - rozpoczyna się zatem proces fermentacji i trwa do wyczerpania składników odżywczych dla flory bakteryjnej lub powstania warunków niekorzystnych do dalszego jej rozwoju. Podczas procesu wytwarzania mięsnych wyrobów fermentowanych w surowcu zachodzi szereg reakcji biochemicznych i fizykochemicznych, wpływających na jakość sensoryczną i mikrobiologiczną. Wszystkie następujące po sobie zabiegi technologiczne podczas ich produkcji (takie jak dodatek azotanów i/lub soli, niekiedy zastosowanie kultur startowych) warunkują przemiany chemiczne i fizykochemiczne (obserwowane jako spadek pH wynikający z powstawania kwasu mlekowego, niski potencjał oksydacyjno-redukcyjny oraz aktywność wody i inne) mają na celu zachowanie wysokich standardów bezpieczeństwa żywności, wzmocnienia smaku i pożądanej barwy wyrobów. Zatem jakość produktów mięsnych jest determinowana poprzez zmiany zachodzące w trakcie ich przetwarzania.

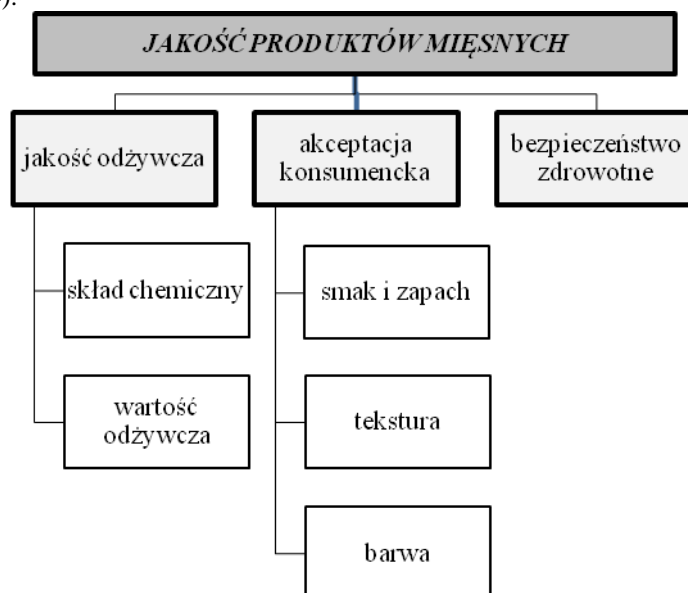
2. Opis zagadnienia

Opracowując technologię wyrobów mięsnych dąży się do otrzymania produktów charakteryzujących się jak najlepszą jakością. Celem niniejszej pracy jest przedstawienie

najistotniejszych aspektów związanych z produkcją wyrobów mięsnych. Poznanie i zrozumienie przemian zachodzących w surowcu podczas procesu fermentowania jest niezbędnym elementem w celu opanowania procesu produkcji i pierwszym etapem standaryzacji oferowanych wyrobów.

3. Przegląd literatury

Mięso zasadniczo składa się z wody, białek, tłuszczów, minerałów i wodorowęglanów. W trakcie jego przetwarzania zachodzą liczne przemiany tych składników nadające końcowemu produktowi charakterystyczne cechy. Finalną jakość produktów mięsnych determinuje przede wszystkim jego bezpieczeństwo, akceptacja konsumencka oraz jakość odżywcza (Rys. 1) (Makala i Olkiewicz 2004).



Rys. 2. Wyróżniki jakości produktów mięsnych (opracowanie własne)

Zmiany zachodzące w trakcie produkcji wyrobów fermentowanych

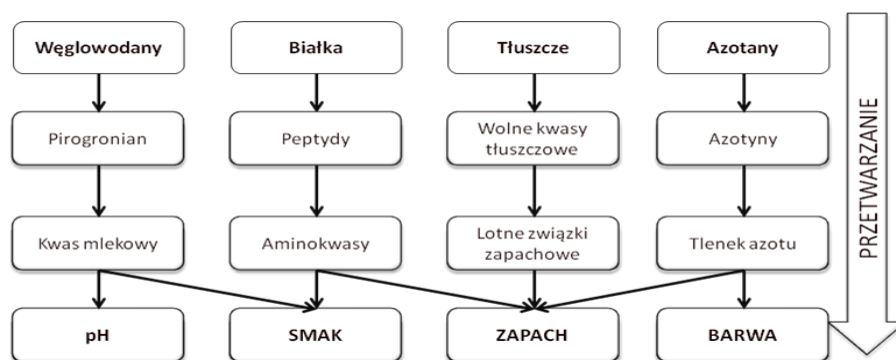
Produkcja wyrobów mięsnych fermentowanych jest wieloetapowym procesem. Generalnie w procesie produkcji fermentowanych wyrobów mięsnych można wyróżnić główne procesy jednostkowe, takie jak fermentacja, dojrzewanie i suszenie produktu. W największym stopniu wpływają one na końcową jakość produktu, ze względu na intensywność przemian zachodzących na poszczególnym etapie produkcji (Lucke 2016). Spośród nich wyróżnić należy przemiany fizyczne (np. zakwaszanie, dyfuzja i parowanie wody) jak również procesy biochemiczne (głównie związane z działaniem enzymów - proteoliza, lipoliza, utlenianie) składników mięsa, które prowadzą do powstawania związków generujących smak, zapach czy barwę produktu.

Przemiany enzymatyczne

Podczas fermentacji produktów mięsnych istotną rolę odgrywa endogenna mikroflora mięsa i/lub dodane kultury startowe. Obecność mikroorganizmów wpływa na zmiany enzymatyczne zachodzące w produkcji w dwojaki sposób. Mikroorganizmy te, ze względu na specyficzne procesy metaboliczne, przekształcają węglowodany znajdujące się w surowcu do pirogronianu a następnie kwasu mlekowego w procesie fermentacji. Akumulacja kwasu mlekowego, oprócz właściwości smakotwórczych (nadaje lekko kwaskowy posmak wyrobom mięsnym), w głównej mierze powoduje spadek wartości pH produktu stwarzając tym samym optymalne warunki dla enzymów katalizujących procesy proteolityczne i lipolityczne (Demeyer i Stahnke, 2002). Tempo powstawania i końcowa ilość kwasu mlekowego zależy od gatunku i rodzaju bakterii wykorzystanych w procesie produkcyjnym oraz rodzaju i ilości dostępnego dla mikroflory źródła węglowodanów. Dodatkowo przy udziale

bakterii heterofermentatywnych powstawać mogą uboczne produkty fermentacji, takie jak kwas octowy czy etanol. Poszczególne szczepy bakteryjne w trakcie wzrostu i rozwoju wydzielają enzymy, stanowiące dodatkowy, egzogeny czynnik wpływający na przebieg procesów biochemicznych w tkance mięsnej, a tym samym na jakość produktu (Casaburi 2008). Zastosowanie odpowiednio dobranych kultur startowych bogatych w organizmy zdolne do procesów fermentacji umożliwi właściwe ukierunkowanie procesów biochemicznych oraz uzyskanie bezpiecznego wyrobu o wysokiej i powtarzalnej jakości mikrobiologicznej, sensorycznej oraz charakteryzującego się właściwą teksturą.

Przemiany biochemiczne zachodzące w trakcie wytwarzania mięsnych produktów fermentowanych, jak już wcześniej podkreślono, są wynikiem działania enzymów endogennych mięsa oraz enzymów bakteryjnych (egzogennych). Intensywność oraz kierunek tych przemian warunkują otrzymanie charakterystycznych cech jakościowych mięsnych przetworów fermentowanych. Przemiany te mogą mieć przebieg zgodnie ze schematem przedstawionym na Rys. 2 (Toldra 2012).



Rys. 1. Schemat przebiegu przemian biochemicznych wybranych składników mięsa (Toldra 2012).

Ze względu na fakt, iż białka stanowią około 80% suchej masy mięsa, przemiany z nimi związane są kluczowe dla właściwości i jakości fermentowanych wyrobów mięsnych. Białka w procesach produkcji mięs fermentowanych ulegają przemianom proteolitycznym. Reakcje proteolizy zachodzące głównie przy udziale endogennych proteaz (m.in. kalpainy, katepsyny, proteinazy) odpowiadają za degradację białek do polipeptydów. Następnie polipeptydy ulegają hydrolizie katalizowanej przez endo-/egzo- peptydazy, w wyniku której powstają liczne peptydy. W dalszej kolejności aminopeptydazy inicjują reakcję powstawania wolnych aminokwasów. Obecność krótkich peptydów i wolnych aminokwasów zwiększa się w trakcie postępu procesów proteolitycznych i jest limitowane poziomem kwasowości czynnej (pH) – zbyt niskie wartości pH limitują aktywność enzymów proteolitycznych. W wyniku degradacji białek mogą powstawać również produkty uboczne, takie jak związki lotne (powstające w wyniku reakcji degradacji Steckera czy reakcji Maillarda), amoniak (w wyniku reakcji deaminacji i deamidacji przy udziale odpowiednio deaminaz i deamidaz pochodzących z grzybów i pleśni), a także amin biogenne powstających w wyniku bakteryjnej dekarboksylacji (Sanz i in. 2002; Harkouss i in. 2015; Toldra 2006).

Przemiany enzymatyczne dotyczą także frakcji lipidowych mięsa. Generalnie przemiany lipolityczne oraz reakcje utleniania wolnych kwasów tłuszczowych są zjawiskiem pożądanym (czynnik zapachotwórczy), jednak ich nadmierna intensywność obniża jakość finalną wyrobów ze względu na zmiany będące następstwem jełczenia tłuszczów. W ramach enzymatycznych przemian frakcji lipidów, triaglicerole i fosfolipidy są hydrolizowane przy udziale odpowiednio lipaz i fosfolipaz do wolnych kwasów tłuszczowych. Procesy utleniania lipidów są indukowane wzrostem temperatury, dostępem światła bądź obecnością soli w produktach. W wyniku tych przemian w pierwszej kolejności powstają nadtlenki wodoru, które w dalszej kolejności mogą ulegać rozpadowi do wtórnych produktów utleniania lipidów takich jak aldehydy, ketony, estry czy alkohole. Wtórne produkty reakcji utleniania lipidów odgrywają istotną rolę w kształtowaniu specyficznych cech sensorycznych produktów fermentowanych (Min i Ahn 2005; Gandemer 2002; Harkouss i in. 2015).

Przemiany fizyczne

Najważniejszymi zmianami fizycznymi w trakcie fermentacji i dojrzewania produktu są zakwaszanie produktu oraz dyfuzja i parowanie wody (suszenie). Wpływ zakwaszania produktów w kontekście przemian biochemicznych, organoleptycznych oraz bezpieczeństwa żywności zostały omówione. Dodatkowo w wyniku zakwaszenia produktu, białka mięsa tracą rozpuszczalność i ulegają koagulacji (wartość pH zbliżona do punktu izoelektrycznego białek), co ogranicza ich wodochłonność i zwiększa utratę wody w produkcie. Aspekt ten należy uwzględnić w procesie produkcyjnym. Zmiana kwasowości czynnej produktu jest pośrednio związana z suszeniem/obsuszeniem wyrobów w wyniku ubytku wody z produktu. Prędkość powietrza, temperatura i wilgotność względna są krytycznymi czynnikami wpływającymi na szybkość dyfuzji wody z wnętrza produktu i określają szybkość parowania z powierzchni. Ponadto maleje masa i objętość produktu, wzrasta jego twardość a także następuje rozwój związków aromatycznych (Zukal i Incze 2010). Konieczne jest ustalenie parametrów czynników zewnętrznych prowadzenia procesu (wilgotność, temperatura), aby zapobiec nadmiernemu odwodnieniu powierzchni mięsa i niedostatecznej dyfuzji wody z wnętrza do powierzchni tkanki (nadmierne, szybkie osuszenie powierzchni wyrobu utrudnia dyfuzję wody ze środkowych partii elementu tuszy bądź batonu kiełbasy) (Baldini i in. 2000). Para będzie opuszczać powierzchnię produktu tylko wtedy, gdy aktywność wody w mięsniu jest wyższa niż wilgotność powietrza wokół produktu. Ponieważ para wodna opuszcza powierzchnię produktu, wzrasta wilgotność powietrza. Powoduje to, że względna zawartość pary wodnej w środowisku jest wyższa, a zatem szybkość dyfuzji wody z produktu jest ograniczona. Aby kontynuować proces utraty wilgoci, powietrze z otoczenia musi stać się bardziej suche i cieplejsze. Osiąga się to dzięki systemom kontroli środowiska (Zukal i Incze 2010). Straty wody w surowcu są również istotne ze względu na zapobieganie rozwojowi niepożądanych mikroorganizmów. Zapewnienie wystarczającej dostępności wody dla metabolizmu drobnoustrojów może determinować tempo wzrostu drobnoustrojów. Również obecność substancji rozpuszczonych w wodzie, takich jak sól lub cukier, w wyniku zwiększenia ich stężenia w procesie suszenia, utrudnia bakteriom utrzymanie ciśnienia osmotycznego (Kęska i Stadnik 2017).

Kształtowanie wyróżników jakości produktów mięsnych

Barwa produktu

Barwa produktu zależy od zawartości wody, tłuszczu jak również hemoprotein - głównie mioglobiny. Charakterystyczny kolor produktów wynika z reakcji pomiędzy azotanami a mioglobiną. Podstawowym pigmentem w surowych, fermentowanych wyrobach mięsnych jest nitrozylomioglobina, która charakteryzuje się głębokim czerwonym kolorem. Powstaje ona w wyniku reakcji tlenku azotu (NO) z mioglobiną lub z metmioglobiną (kolor brązowy). Źródłem tlenku azotu w produktach mięsnych są głównie azotany będące składnikiem mieszanek pekujących, jednak może on pochodzić również z naturalnych składników dodawanych do produkcji (czosnek, papryka). Tlenek azotu może być również tworzony przez mikroorganizmy. Znane są obecnie dwa szczepy bakterii *Lactobacillus fermentum*, które mogą być zdolne do tworzenia tlenku azotu nadającego pożądaną barwę produktom fermentowanym bez udziału dodatku azotanów. Ponadto bakteryjne katalazy odpowiadają za redukcję nadtlenków, co skutkuje stabilizacją barwy i aromatu produktów, ograniczając procesy utleniania (Moller i in. 2003; Toldra 2012). Na barwę fermentowanych wyrobów mięsnych wpływa również pH - niska kwasowość czynna w kiełbasach może inicjować przemianę mioglobiny w metmioglobinę.

Tekstura produktu

Tekstura silnie determinuje właściwości sensoryczne produktu, w szczególności kruchość i soczystość są, ocenie konsumenckiej jedną z najważniejszych cech sensorycznych mięsa. Generalnie tekstura wyrobów jest zależna jest od wielu czynników: gatunku, wieku, płci i rasy zwierząt, klasy jakościowej tuszy, właściwości fizykochemicznych włókien mięśniowych (grubości, rozciągliwości i składu chemicznego), udziału ilościowego i jakościowego tkanki łącznej, postępowania z mięsem po uboju i zabiegów technologicznych. Parametry tekstury, takie jak

sprężystość, twardość czy spoistość zależą jednak w największym stopniu od zawartości wody w produkcie. Wraz z utratą wody struktura mięsa zmienia się z luźnej i plastycznej na zdecydowanie bardziej kruchą, sprężystą. Na teksturę wyrobów mięsnych ma również wpływ zawartość soli oraz kwasowość produktu. Ilość soli dyfundującej do głębszych warstw produktu determinuje szybkość migracji wody z wewnętrznych warstw surowca na zewnątrz. Wzrost stężenia soli w mięsie powoduje także zmiany stanu fizykochemicznego białek i przepuszczalności błon komórkowych, co z kolei spowalnia proces dyfuzji. Wartość pH produktu wpływa dwójako na parametry tekstury. Z jednej strony wpływa na właściwości białek. Zdolność wiązania wody przez białka miofibrylarne obniża się wraz ze spadkiem wartości pH do wartości punktu izoelektrycznego. Następująca wtedy agregacja i koagulacja białek miofibrylarnych ogranicza ich rozpuszczalność, a dodatkowa utrata wody skutkuje ztwardzeniem produktu. Wartość kwasowości czynnej wyrobów podczas fermentacji i dojrzewania wpływa także na aktywność enzymatyczną tkanki mięsnej. Parolari i in. (1994) podkreślają znaczenie przemian proteolitycznych szynki dojrzewającej jako główne czynniki kształtujące smak i konsystencję. Nadmierna proteoliza prowadzi do tzw. ciastowatości – jednej z wad wyrobów mięsnych. Przyczyną zmian struktury tkanki mięśniowej jest prawdopodobnie aktywność kalpalin i enzymów katepsynowych, uwalnianych w okresie poubojowym z lizosomów (Parolari i in. 1994). Schivazappa i in. (2002) wykazali zależność między wysoką aktywnością katepsyny B oraz niskimi wartościami pH na parametry tekstury. Wyroby o takich parametrach charakteryzowały się największą utratą masy podczas solenia i były bardziej podatne na proteolizę białek, co skutkowało obniżeniem parametrów tekstury oraz pojawieniem się gorzkiego smaku (Schivazappa i in. 2002).

Smak i zapach

W trakcie produkcji wyrobów mięsnych fermentowanych powstają liczne produkty degradacji głównych składników mięsa. Wśród nich można wyróżnić lotne związki odpowiadające za charakterystyczny zapach produktów fermentowanych oraz nie lotne związki kształtujące smak tych produktów (Rys.2). Związki generujące smak produktów powstają w procesie proteolizy (peptydy i wolne aminokwasy) oraz lipolizy (długo- i krótkołańcuchowe kwasy tłuszczowe). Lotne związki odpowiedzialne za aromat produktów fermentowanych powstają głównie w wyniku przemian zachodzących we frakcji lipidowej produktu. Dokładny opis przemian związków frakcji peptydowej oraz lipidowej w kierunku generowania związków smakowo-zapachowych opisano w literaturze (Kęska i in. 2016).

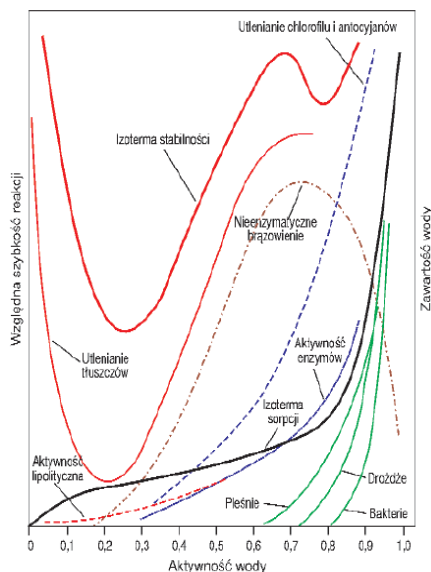
Bezpieczeństwo produktu

Bezpieczeństwo finalnego produktu jest konsekwencją odpowiednio dobranego surowca, prawidłowo przeprowadzonych zabiegów technologicznych oraz przestrzegania higieny pracy. Współdziałanie tych elementów ma zapewnić w głównej mierze wysoką jakość mikrobiologiczną produktu. Rozwój drobnoustrojów gnilnych bądź chorobotwórczych jest uzależniony między innymi od dostępności wody w produkcie. Miarą dostępności wody w produkcie jest aktywność wody (a_w). Po raz pierwszy pojęcie a_w zostało wprowadzone przez Scotta (1953) i określone jako stosunek ciśnienia pary wodnej nad powierzchnią żywności do ciśnienia pary wodnej nad powierzchnią czystej wody w tej samej temperaturze i przy tym samym ciśnieniu całkowitym (Scott 1953). Aktywność wody przyjmuje wartości od 0 do 1, przy czym 0 to wartość a_w dla środowiska, w którym cząsteczki wody nie mają zdolności do wykonywania pracy (woda strukturalna) a wartość 1 to aktywność czystej wody. Obecnie parametr ten służy do określania trwałości żywności a dokładniej możliwości przebiegu procesów biologicznych, reakcji chemicznych bądź przemian fizycznych. Dostępność wody decyduje także o możliwości rozwoju mikroorganizmów. Generalnie zakłada się, że zahamowanie wzrostu patogenów żywności następuje w zakresie a_w od 0,85 do 0,98 (Rys.3).

Szybkość i wydajność niektórych przemian biochemicznych może w dużym stopniu zależeć od aktywności wody. Na przykład reakcja utleniania tłuszczów zachodzi najwolniej przy wartości a_w w zakresie 0,1 – 0,3, natomiast szybkość utleniania barwników hemowych wzrasta wraz ze wzrostem aktywności wody (Pałacha, 2008).

Bezpieczeństwo produktów mięsnych surowo dojrzewających gwarantuje w dużej mierze działanie bakterii fermentacji mlekowej. Rozwój mikroflory powoduje efekt zakwaszenia środowiska

kwasami organicznymi - powstającymi w wyniku fermentacji mięsa oraz obniżenia aktywności wody w trakcie procesu dojrzewania. Wartość pH mięsa w początkowej fazie produkcji wynosi około 6,0 i zmienia się podczas fermentacji osiągając poziom między 4,6 a 5,1. Tak niska wartość w znacznym stopniu ogranicza wzrost niepożądaną mikroflorę mięsa. Czynnikiem hamującym wzrost niekorzystnej mikroflory jest także synteza substancji przeciwbakteryjnych, takich jak H_2O_2 , czy bakteriocyny. Związki te wytwarzane przez LAB są syntezowane rybosomalnie i wydzielane na zewnątrz komórki, gdzie ujawniają aktywność bakteriobójczą/grzybobójczą lub biostatyczną.



Rys. 2. Wpływ aktywności wody na stabilność żywności (Pałacha 2008 na podstawie Labuza 1971)

4. Podsumowanie

Istotą produkcji wędlin surowo dojrzewających jest umiejętne kierowanie przemianami o charakterze biochemicznym, mikrobiologicznym i fizycznym zachodzącymi w trakcie procesu produkcyjnego i dojrzewania poprodukcyjnego. Technologia wędlin surowo dojrzewających pozwala na uzyskanie stabilności mikrobiologicznej wskutek wprowadzenia dodatków i zastosowania procesów obniżających wartość pH oraz aktywność wody. Wysoką jakość tych wędlin oraz ich bezpieczeństwo uzyskuje się wskutek należytej dbałości o właściwy przebieg przemian składników mięsa zachodzących podczas fermentacji i dojrzewania.

5. Literatura

- Baldini P, Cantoni E, Colla F i in. (2000) Dry sausages ripening: influence of thermohygro-metric conditions on microbiological, chemical and physico-chemical characteristics. *Food Research International*, 33(3), 161-170.
- Casaburi A, Di Monaco R, Cavella S i in. (2008) Proteolytic and lipolytic starter cultures and their effect on traditional fermented sausages ripening and sensory traits. *Food Microbiology*, 25(2), 335-347.
- Demeyer D, Stahnke L (2002) Quality control of fermented meat products. In *Meat processing: Improving quality* (pp. 359-393). Woodhead.
- Gandemer G (2002) Lipids in muscles and adipose tissues, changes during processing and sensory properties of meat products. *Meat Science*, 62(3), 309-321.
- Harkouss R, Astruc T, Lebert A i in (2015) Quantitative study of the relationships among proteolysis, lipid oxidation, structure and texture throughout the dry-cured ham process. *Food Chemistry*, 166, 522-530.

- Kęska P, Kononiuk A, Stadnik J (2016) Meat tastiness - taste and aroma precursors: short report. Monografia: Badania i Rozwój Młodych Naukowców w Polsce / Red. naukowa Monika Panfil. Poznań 2016, 113-119, ISBN 978-83-65362-13-1
- Kęska P, Stadnik J (2017) Dry-Cured Meats: Quality, Safety and Nutritional Aspects. In: Meat and meat processing/ [edited by] Derrick B. McCarthy- New York : Nova Science Publishers, Inc.88-110; ISBN: 978-1-53612-231-2.
- Labuza T (1971) Properties of water as related to the keeping quality of foods. In International Congress of Food Science and Technology. Proceedings.
- Lücke F (2016) Fermented Meat Products—An Overview. Fermented Meat Products: Health Aspects.
- Makała H, Olkiewicz M (2004) Zasady opracowywania nowych produktów z uwzględnieniem oczekiwań konsumentów, na przykładzie mięsa i jego przetworów. Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 1(38), 120-13.
- Min B, Ahn D (2005) Mechanism of lipid peroxidation in meat and meat products-A review. Food Science and Biotechnology, 14(1), 152-163.
- Møller J, Jensen J, Skibsted L i in. (2003) Microbial formation of nitrite-cured pigment, nitrosylmyoglobin, from metmyoglobin in model systems and smoked fermented sausages by *Lactobacillus fermentum* strains and a commercial starter culture. European Food Research and Technology, 216(6), 463-469.
- Palacha Z (2008) Aktywność wody ważny parametr trwałości żywności. Przemysł Spożywczy, 62(04), 22-26.
- Parolari G, Virgili R, Schivazappa C (1994) Relationship between cathepsin B activity and compositional parameters in dry-cured hams of normal and defective texture. Meat Science, 38, 117-122.
- Sanz Y, Sentandreu M, Toldrá F (2002) Role of muscle and bacterial exopeptidases in meat fermentation. Research advances in the quality of meat and meat products, 143-155.
- Scott W (1953) Water relations of *Staphylococcus aureus* at 30 C. Australian Journal of Biological Sciences, 6(4), 549-564.
- Schivazappa C, Degni M, Nanni Costa L i in. (2002) Analysis of raw meat to predict proteolysis in Parma ham. Meat Science, **60**, 77-83.
- Toldrá F (2006) The role of muscle enzymes in dry-cured meat products with different drying conditions. Trends in Food Science & Technology, 17(4), 164-168.
- Toldrá F (2012) Biochemistry of fermented meat. Food Biochemistry and Food Processing, B. K. Simpson (Ed.). John Wiley & Sons 2, 331-343.
- Zukál E, Incze K (2010) Drying. In F. Toldrá (Ed.), *Handbook of Meat Processing* (pp.219-229). John Wiley & Sons.

16. Meta-omiki – nowe strategie w analizie mikrobiomu i właściwości funkcjonalnych fermentowanych warzyw

Meta-omics – new strategies in the analysis of microbiome and functional properties of fermented vegetables

Magdalena Michalak

Katedra Biotechnologii, Mikrobiologii i Żywnienia Człowieka, Wydział Nauk o Żywności i Biotechnologii, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie
Opiekun naukowy: dr hab. Magdalena Polak-Berecka

Magdalena Michalak: magdalena.michalak@up.lublin.pl

Słowa kluczowe: fermentacja warzyw, metabolomika, metaproteomika, metatranskryptomika, sekwencjonowanie wysokoprzepustowe

Streszczenie

W oparciu o metody wysokoprzepustowego sekwencjonowania DNA, analizy amplikonu, metagenomiki i metatranskryptomiki a także metaproteomiki i metabolomiki, możliwy był obserwowany w ostatnich latach intensywny rozwój badań mających na celu poznanie dynamiki wzrostu mikroorganizmów oraz oceny ich właściwości funkcjonalnych w fermentowanych produktach spożywczych. Wykorzystanie analiz meta-omicznych w badaniach produktów fermentowanych pozwoliło stwierdzić, że jest ona bogatym źródłem cennych genów i substancji bioaktywnych. Dalsza integracja wielu narzędzi meta-omicznych wraz z zaawansowanymi metodami analizy statystycznej z pewnością doprowadzi do bardziej szczegółowej charakterystyki funkcjonalnej oraz bardziej wydajnych i zrównoważonych praktyk produkcyjnych fermentowanej żywności na całym świecie.

1. Wstęp

Fermentacja jest metodą wykorzystywaną do utrwalania żywności znaną człowiekowi od tysięcy lat. Poza specjalną jakością fermentowanej żywności, jej smakiem i konsystencją, coraz więcej doniesień potwierdza jej korzyści zdrowotne, takie jak np. ochrona przed wrzodami żołądka związanymi z występowaniem bakterii *Helicobacter pylori* czy rakiem żołądka (Nair i in. 2016, Tamang i in. 2016). W ciągu ostatnich dwóch dekad sekwencjonowanie nowej generacji i zaawansowane analizatory masy, a także inne nowe narzędzia znacznie zwiększyły wydajność i czułość badań produktów fermentowanych. W ciągu ostatnich kilku lat poczyniono olbrzymie wysiłki, aby dostarczyć ważnych i głębszych wglądów w podstawowe mechanizmy molekularne fermentowanej żywności poprzez sekwencjonowanie metagenomiczne i metatranskryptomiczne, jak również badania metaproteomiczne i ich integrację z analizą metabolomiczną.

W pracy podsumowano narzędzia meta-omiczne stosowane w fermentowanej żywności. Następnie dokonano przeglądu i podkreślono ostatnie badania meta-omiczne dotyczące fermentowanych warzyw, koncentrując się głównie na sukcesji drobnoustrojów i eksploracji funkcjonalnych genów i enzymów oraz omawiając istniejące ograniczenia, a także dotykając obiecujących wskazówek na przyszłość dotyczących badań fermentacji żywności.

2. Narzędzia analityczne

2.1 Wysokoprzepustowe sekwencjonowanie DNA

Analiza amplikonu wzmacnia konserwatywny region markera DNA, taki jak powszechnie stosowany gen 16S rRNA dla bakterii i region ITS dla grzybów, z mieszanego genomowego DNA z uniwersalnymi starterami PCR. Metoda ta sekwencjonuje produkty PCR bezpośrednio lub obrazuje je za pomocą DGGE (elektroforeza żelowa z gradientem denaturującym) lub ilościowo poprzez ilościowy PCR. Skład taksonomiczny mikrobiomu drobnoustrojów identyfikuje się poprzez dopasowanie sekwencji DNA markerowego do referencyjnej bazy danych. Analiza amplikonu była

powszechnie wykorzystywana do opisu sukcesji drobnoustrojów w produktach fermentowanych na całym świecie (Tamang i in. 2016). Wśród fermentacji bez zdefiniowanej kultury startowej lub z udziałem przypadkowej mikroflory bądź też z wieloma etapami złożonej mikroflory, analiza amplikonu pomaga zidentyfikować naturalne i nietypowe sukcesje mikrobiologiczne, które są odpowiedzialne za jakość sensoryczną i organoleptyczną produktu. Poza amplifikacją DNA, analiza amplikonu może zamplifikować cDNA po odwrotnej transkrypcji mieszanego RNA, który może profilować aktywne populacje drobnoustrojów (Alessandria i in. 2016). W odróżnieniu od regionu genu rRNA, jako regiony markerów można stosować specyficzne geny. Na przykład, geny dekstranosacharozy i białek warstwy powierzchniowej D (SlpD) zastosowano w konkurencyjnej ilościowej reakcji PCR w celu różnicowania wielu gatunków bakterii kwasu mlekowego (LAB), tj. *Leuconostoc mesenteroides*, *Lactobacillus plantarum* i *Lactobacillus brevis* w kimchi (Ahn i in. 2015). Stosunkowo wyższa przepustowość i niższy koszt analizy amplikonu sprawiają, że w badaniach na dużą skalę można obrazować dynamikę mikrobioty w czasie i przestrzeni. Jednak analiza amplikonu ma kilka wad, takich jak niska rozdzielczość przypisania taksonomii na poziomie gatunku, błąd amplifikacji PCR i niezdolność do wykrycia organizmów bez genów markerowych (Franzosa i in. 2015).

Sekwencjonowanie metagenomiczne rozwiązuje przedstawione powyżej problemy. W odróżnieniu od genomiki, gdzie identyfikuje się sekwencje DNA pojedynczego organizmu, metagenomika bezpośrednio sekwencjonuje mieszany genomowy DNA po fragmentacji i budowie biblioteki. W związku z tym nienaruszone geny markerowe mogą zostać zrekonstruowane i przypisane do dokładnej taksonomii na poziomie gatunku. W porównaniu z sekwencjonowaniem genów rRNA, sekwencjonowanie metagenomowe zidentyfikowało nowe gatunki, szczególnie gatunki o niskiej liczebności w ziarnach kefiru, wskazując na wyższą rozdzielczość i lepszą dokładność liczebności w analizie mikrobiomów (Nalbantoglu i in. 2014). Analizy metagenomowe pozwoliły na wykrycie wirusa jako części mikrobioty podczas fermentacji kilku produktów żywnościowych (Chen i in. 2017), które nie byłyby wykrywane poprzez analizę amplikonu. Po adnotacji i kwantyfikacji metagenomika może również wykryć funkcjonalny klaster genów i szlaki, które mogą przyczyniać się do charakterystycznego smaku lub struktury fermentowanej żywności, takiej jak występuje np. w serze (Wolfe i in. 2014). Metagenomika porównawcza może odkrywać zróżnicowane geny między metagenomami i zapewniać informacje na temat różnic w strukturze mikroflory różnorodności i funkcji biologicznej. Metoda ta nie może jednak opisywać aktywnej transkrypcji mikrobioty.

2.2 Metaproteomika

Metaproteomika to charakterystyka na dużą skalę białek uzupełniających mikroflorę środowiska w danym momencie. Opierając się na właściwej ekstrakcji białek, procedurach frakcjonowania i zaawansowanej tandemowej spektrometrii masowej, metaproteomika rozdziela białka, główne składniki funkcjonalne w populacjach mikroorganizmów i bezpośrednio łączy genotyp z fenotypem *in situ*. W swojej pierwszej dekadzie metaproteomika dostarczyła wielu ważnych informacji na temat funkcji ekosystemu mikrobiologicznego w różnych niszach środowiskowych, od osadu czynnego, gleby do mikroflory jelitowej człowieka (Wilmes i in. 2015). Interpretacja danych proteomicznych może być względnie prosta, jeżeli sekwencja genomu organizmu lub projekt sekwencji są dostępne; ale może być też wyzwaniem, jeśli organizm jest daleko spokrewniony z dobrze scharakteryzowanymi organizmami lub w analizie wielu mikroorganizmów, co zwykle ma miejsce w metaproteomicie fermentowanej żywności. Pomimo tych trudności, istnieje kilka doniesień naukowych o analizach proteomicznych i metaproteomicznych w fermentowanej żywności (Mangiapane i in. 2015, Wang i in. 2015). Metaproteomika pozostaje obiecującą, ale w dużej mierze nieodkrytą dziedziną w fermentowanej żywności.

2.3 Metabolomika

Metabolomika to jednoczesne i wysokoprzepustowe oznaczanie i kwantyfikacja metabolitów małowcząsteczkowych generowanych w wyniku metabolizmu. Obie ukierunkowane lub nieukierunkowane analizy metabolomiczne zależą od separacji metabolitów, wykrywania, identyfikacji oraz kwantyfikacji, jak również wielowymiarowej analizy danych (Mozzi i in. 2013).

Najpopularniejszymi technikami rozdzielania są chromatografia cieczowa (LC), w tym wysokosprawna LC (HPLC) lub ultra-wydajna LC (UPLC), chromatografia gazowa (GC) i elektroforeza kapilarna (CE). Spektroskopia masowa (MS), magnetyczny rezonans jądrowy (NMR) i spektroskopia w bliskiej podczerwieni (NIR). Metabolomika została z powodzeniem zastosowana do określenia profili metabolitów w różnych fermentowanych produktach w celu oceny jakości żywności, a także jej identyfikowalności, autentyczności i bezpieczeństwa (Chen i in. 2017). Po zintegrowaniu z innymi podejściami meta-omowymi, metabolomika dostarcza ważnych informacji, aby rozwickłać podstawowe mechanizmy produkcji fermentowanej żywności (Jung i in. 2013).

3. Meta-omiczne badania fermentowanych warzyw

Istnieją różne rodzaje fermentowanych warzyw na całym świecie, na przykład kimchi w Korei, Doubanjiang i Paocai w Chinach i soido w Indiach (Chen i in. 2017). Różne typy bakterii kwasu mlekowego, takie jak *Leuconostoc*, *Lactobacillus*, *Weissella*, zostały zidentyfikowane i zastosowane w fermentowanych warzywach. Poza licznymi analizami sukcesji drobnoustrojów, omiczne podejścia zostały zastosowane w kilku fermentowanych warzywach w ostatniej dekadzie, a ich wyniki mogą wpłynąć na poprawę jakości i bezpieczeństwa otrzymanych produktów.

Badano zmiany związków smakowych, aminokwasów i różnorodności drobnoustrojów w chińskiej suan-cai podczas jej naturalnej fermentacji (Chen i in. 2017). Analiza GC-MS wykazała ponad dwukrotny wzrost lotnych składników smakowych w środkowym etapie fermentacji, a największą różnorodność stanowiły estry i aldehydy, które determinowały aromat suan-cai. PCR-DGGE zidentyfikował większą liczbę i różnorodność bakterii niż grzybów, z 14 gatunkami bakterii z rodzajów *Leuconostoc*, *Bacillus*, *Pseudomonas* i *Lactobacillus* oraz gatunkami grzybów jak *Debaryomyces hansenii*, *Candida tropicalis* i *Penicillium expansum*. Występowanie bakterii i związków smakowych zostało przeanalizowane i skorelowane w Doubanjiang, chińskiej tradycyjnej paście z czerwonej papryki (Li i in. 2016). Bakterie kwasu mlekowego i rodzinę *Enterobacteriaceae* zidentyfikowano za pomocą metody PCR-DGGE. Sekwencjonowanie amplikonu dopasowało podstawowy mikrobiom do gromady *Proteobacteria*, *Cyanobacteria* i *Firmicutes*. Metodą mikroekstrakcji do fazy stałej w połączeniu z GC-MS (HS-SPME-GC-MS) wyizolowano i zidentyfikowano łącznie 29 lotnych związków organicznych, głównie alkoholi, estrów, aldehydów, ketonów i fenoli. Wysoce kowariancyjną zależność pomiędzy lotnymi związkami a taksonami bakteryjnymi ujawniono metodą częściowej regresji najmniejszych kwadratów i współczynnikiem korelacji Pearsona. Wykazano, że rodzaj *Pseudomonas* najbardziej istotnie związany był z 3-metylobutanalem, 2-metylobutanalem, benzenoacetaldehydem i 2-acetylopirolem ($P < 0,001$) i znacząco skorelowany z 5-metylofurfuralem i 5-metylo-2-fenilo-2-heksem ($P < 0,01$). Metodę metabolomiczną opartą na GC-MS zastosowano w tradycyjnym chińskim Paocai w celu zidentyfikowania związków jako markerów decydujących o jego smaku (Zhao i in. 2016). Jako markery smaku, kwas glutaminowy (umami), sacharoza (słodki), glicyna (słodki), kwas mlekowy (kwaśny) i kwas γ -aminomasłowy znacznie wzrosły w wyniku wzrostu cokultury LAB (*Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus buchneri* i *Pediococcus ethanoliduran*). Ten raport zintegrował określone LAB i ich metabolity mające istotny udział w kreowaniu cech smakowych, a zatem może ułatwić wstępny skrining i optymalizację procesu fermentacji.

Kimchi to warzywa (kapusta, por, rzodkiewka itp.) z dodatkiem różnych przypraw (mielona papryka czerwona, czosnek, imbir itp.) fermentowane spontanicznie lub z udziałem kultury starterowej. Zmiany metaboliczne w kimchi były śledzone podczas fermentacji lub długoterminowego przechowywania i skorelowane z sukcesją drobnoustrojów w kilku badaniach (Jeong i in. 2013a, 2013b; Park i in. 2016). W dongchimi, koreańskiej wodnistej kimchi, analiza mikrobiologiczna za pomocą pirosekwencjonowania ujawniła *Leuconostoc* jako dominujący rodzaj podczas 100-dniowej fermentacji (Jeong i in. 2013a). Tymczasem analiza metabolitów za pomocą ^1H NMR wykazała, że stężenia wolnych cukrów (fruktoza i glukoza) gwałtownie wzrosły; natomiast po 30 dniach fermentacji, szybkie zużywanie wolnych cukrów i wytwarzanie glicerolu oraz etanolu obserwowano równocześnie ze wzrostem *Saccharomyces*. Podobną obserwację opisano w 120-dniowej fermentacji i przechowywaniu kimchi (Jeong i in. 2013b). Różnorodne LAB, w tym *Leuconostoc*, *Lactococcus*, *Lactobacillus* i *Weissella* przyczyniły się do obniżenia pH podczas

wczesnego etapu fermentacji. Spadek występowania bakterii i wzrost ilości *Saccharomyces* obserwowano jednocześnie ze zwiększonym zużyciem cukru i produkcją glicerolu i etanolu. Analiza ¹H NMR wykazała, że kwasy organiczne, mannitol i kwas gamma-aminomasłowy (GABA) zostały wytworzone podczas fermentacji, a szczepy *Leuconostoc* i *Lactobacillus sakei* zostały zidentyfikowane jako producenci odpowiednio mannitolu i GABA. W celu oceny wpływu kultury starterowej *Lactobacillus plantarum* na kimchi, zastosowano GC-MS i wielowymiarową analizę statystyczną (PCA) (Park i in. 2016). Jego wpływ na metabolomikę obejmował wzrost poziomu kwasu mlekowego, glicerolu i spadku waliny, leucyny, kwasu cytrynowego i sacharozy podczas fermentacji.

Wykorzystanie metod metagenomicznych i metatranskryptomicznych w kimchi ujawniło interesujące wyniki (Jung i in. 2011, 2013). Jung i in. (2011) opisali analizę metagenomiczną za pomocą układu 454 GS FLX Titanium i skorelowali ją z analizą metaboliczną uzyskaną metodą ¹H NMR podczas 29-dniowego procesu fermentacji. Analiza filogenetyczna oparta na genach 16S rRNA z metagenomu wykazała, że dominowały rodzaje takie jak, *Leuconostoc*, *Lactobacillus* i *Weissella*. Przypisanie sekwencji metagenomowych ujawniło profil genetyczny charakterystyczny dla heterotroficznej fermentacji mlekowej węglowodanów, co było zgodne z wykrywaniem w próbkach mannitolu, mleczanu, octanu i etanolu jako produktów fermentacji. Większość sekwencji metagenomicznych kimchi wykazała bardzo wysoką identyczność z genami *Leuconostoc mesenteroides* i *Lactobacillus*, co wskazuje na znaczenie tych dwóch rodzajów bakterii w fermentacji kimchi. Zaskakująco zidentyfikowano również dużą liczbę sekwencji faga DNA w metagenomowym zbiorze danych, co sugeruje infekcję bakteriofagów podczas fermentacji jako złożonych społeczności mikroorganizmów. Kompletnie sekwencje genomu sześciu reprezentatywnych bakterii kwasu mlekowego (LAB), *Leuconostoc (Lc.) mesenteroides*, *Lactobacillus (Lb.) sakei*, *Weissella (W.) koreensis*, *Lc. gelidum*, *Lc. carnosum* i *Lc. gasicomitatum*, zostały wykorzystane jako genomy odniesienia w celu zbadania profili metatranskryptomicznych w pięciu etapach 29-dniowej fermentacji. Odczyty sekwencjonowania mRNA mapowano na genomy sześciu szczepów LAB i wykazano, że podczas wczesnej fazy fermentacji *Lc. mesenteroides* był najbardziej aktywnym gatunkiem, podczas gdy ekspresje genów *Lb. sakei* i *W. koreensis* była wysoka podczas późniejszych etapów procesu. Przypisanie sekwencji mRNA szlakom metabolicznym ujawniło, że wiele genów związanych z transportem węglowodanów i hydrolizą oraz fermentacją mleczanową ulegało aktywnej ekspresji, co wskazuje na typową fermentację kwasu mlekowego. Geny dehydrogenazy mannitolu (*mdh*) zidentyfikowano u wszystkich gatunków *Leuconostoc*, a zwłaszcza *Lc. mesenteroides*, który zawierał trzy kopie *mdh* o różnych wzorach ekspresji. Powyższe informacje wskazują, że wyniki analiz metagenomicznych i metatranskryptomicznych zwiększają wiedzę na temat aktywnych populacji i ekspresji genów w procesie fermentacji kimchi (Jung i in. 2013).

4. Podsumowanie

Wzrasta liczba publikacji wykorzystujących metagenomikę, metatranskryptomikę i metaproteomikę w badaniach fermentowanej żywności. Takie podejścia są jednak zależne od dostępności odpowiednich referencyjnych baz danych genomu, z którymi można porównać odczytane sekwencje lub dane widm masowych. Bez odpowiednich referencyjnych baz danych genomu część danych sekwencjonowania lub danych widm masowych byłaby daremna. Na przykład, analiza metagenomiczna mikroflory w dwóch tureckich ziarnach kefiru zmapowała 88,16% i 93,81% odczytów, ale odczytała 4 Mpb danych, które nie wykazywały żadnej homologii ze znanymi sekwencjami bakteryjnymi (Nalbantoglu i in. 2014). Na szczęście w ciągu ostatnich kilku lat opisano sekwencje całych genomów i analizę porównawczą genomów u coraz większej liczby drobnoustrojów wyizolowanych z fermentowanej żywności, takich jak bakterie kwasu octowego i pałeczki *Lactobacillus*, pochodzące ze spontanicznej fermentacji ziaren kakaowca. Taka analiza genomowa pojedynczego szczepu stanowi podstawę jako genom odniesienia dla przyszłej analizy transkryptomicznej i proteomicznej, jak również metagenomicznej, metatranskryptomicznej i metaproteomicznej (Chen i in. 2017).

Tradycyjna fermentowana żywność jest cennym źródłem genów dla naturalnych środków konserwujących, takich jak bakteriocyny, które zapobiegają zanieczyszczeniu i psuciu się żywności.

Przy użyciu starterów PCR ukierunkowanych na konserwatywne motywy, kilka homologów bakteriolizyn amplifikowano z metagenomowego DNA sześciu chińskich tradycyjnych fermentowanych produktów (Zhang i in. 2013). Nienaruszone geny dla enterolizyny A i helweryny J zostały sklonowane, a rekombinowane białko wykazywało aktywność przeciwdrobnoustrojową przeciwko patogenom, w tym *Listeria monocytogenes* i *Staphylococcus aureus*. W innym przykładzie, analiza genomowa trzech genomów *Weissella cibaria* zidentyfikowała szereg genów fosfotransferazy nadających zdolność asymilacji związanego z rośliną polisacharydu i rozległego układu proteolitycznego (Lynch i in. 2015). Tak więc sfermentowane produkty spożywcze są bogatym źródłem cennych genów, składników funkcjonalnych i substancji bioaktywnych oczekujących na dalszą eksplorację.

Wciąż istnieją pewne ograniczenia obecnej analizy meta-omicznej, takie jak ograniczenie wykrywalności gatunków o niskiej liczebności, niska rozdzielczość metaproteomiki, zwykle kilka powtórzeń biologicznych ze względu na wysokie koszty. Jednakże, w oparciu o postępy w sekwencjonowaniu i technologiach MS, większą dostępność sekwencji genomu, a także silną interpretację danych bioinformatycznych i statystycznych, pewne jest, że zintegrowane podejścia meta-omiczne, w tym metagenomika, metatranskryptomika, metaproteomika i metabolomika, oferują szeroki zakres zastosowań w złożonym systemie fermentowanej żywności. Doprowadzą one do szczegółowej charakterystyki funkcjonalnej oraz bardziej wydajnych i zrównoważonych praktyk produkcyjnych produktów w nadchodzącym dziesięcioleciu.

5. Literatura

- Ahn GH, Moon JS, Shin SY i in. (2015) A competitive quantitative polymerase chain reaction method for characterizing the population dynamics during kimchi fermentation. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology* 42: 49-55.
- Alessandria V, Ferrocino I, De Filippis F i in. (2016) Microbiota of an Italian Grana-like cheese during manufacture and ripening, unraveled by 16S rRNA-Based approaches. *Applied and Environmental Microbiology* 82: 3988-3995.
- Chen G, Chen C, Lei Z (2017) Meta-omics insights in the microbial community profiling and functional characterization of fermented foods. *Trends in Food Science & Technology* 65: 23-31.
- Franzosa EA, Hsu T, Sirota-Madi A i in. (2015) Sequencing and beyond: Integrating molecular 'omics' for microbial community profiling. *Nature Reviews Microbiology* 13: 360-372.
- Jeong SH, Jung JY, Lee SH i in. (2013a) Microbial succession and metabolite changes during fermentation of dongchimi, traditional Korean watery kimchi. *International Journal of Food Microbiology* 164: 46-53.
- Jeong SH, Lee, SH, Jung JY i in. (2013b) Microbial succession and metabolite changes during long-term storage of kimchi. *Journal of Food Science* 78: 763-769.
- Jung JY, Lee SH, Jin HM i in. (2013) Metatranscriptomic analysis of lactic acid bacterial gene expression during kimchi fermentation. *International Journal of Food Microbiology* 163: 171-179.
- Jung JY, Lee SH, Kim JM i in. (2011) Metagenomic analysis of kimchi, a traditional Korean fermented food. *Applied and Environmental Microbiology* 77: 2264-2274
- Li Z, Dong L, Huang Q i in. (2016) Bacterial communities and volatile compounds in Doubanjiang, a Chinese traditional red pepper paste. *Journal of Applied Microbiology* 120: 1585-1594.
- Lynch KM, Lucid A, Arendt EK i in. (2015) Genomics of *Weissella cibaria* with an examination of its metabolic traits. *Microbiology-Sgm* 161: 914-930.
- Mangiapane E, Mazzoli R, Pessione A i in. (2015) Ten years of subproteome investigations in lactic acid bacteria: A key for food starter and probiotic typing. *Journal of Proteomics* 127: 332-339.
- Mozzi F, Ortiz ME, Bleckwedel J i in. (2013) Metabolomics as a tool for the comprehensive understanding of fermented and functional foods with lactic acid bacteria. *Food Research International* 54: 1152-1161

- Nair MRB, Chouhan D, Sen Gupta S i in. (2016) Fermented foods: Are they tasty medicines for helicobacter pylori associated peptic ulcer and gastric cancer? *Frontiers in Microbiology*, 7 (2016), p. 1148
- Nalbantoglu U, Cakar A, Dogan H i in. (2014) Metagenomic analysis of the microbial community in kefir grains. *Food Microbiology* 41: 42-51.
- Park SE, Yoo SA, Seo SH i in. (2016) GC-MS based metabolomics approach of Kimchi for the understanding of *Lactobacillus plantarum* fermentation characteristics. *Lwt-Food Science and Technology* 68: 313-321.
- Tamang JP, Watanabe K, Holzapfel WH (2016) Review: Diversity of microorganisms in global fermented foods and beverages. *Frontiers in Microbiology* 7: 1-28.
- Wang Z, Zang N, Shi JY i in. (2015) Comparative proteome of *acetobacter pasteurianus* Ab3 during the high acidity rice vinegar fermentation. *Applied Biochemistry and Biotechnology* 177: 1573-1588.
- Wilmes P, Heintz-Buschart A, Bond PL (2015) A decade of metaproteomics: Where we stand and what the future holds. *Proteomics* 15: 3409-3417.
- Wolfe BE, Button JE, Santarelli M i in. (2014) Cheese rind communities provide tractable systems for in situ and in vitro studies of microbial diversity. *Cell* 158: 422-433.
- Zhang T, Pan Y, Li B i in. (2013) Molecular cloning and antimicrobial activity of enterolysin A and helveticin J of bacteriolysins from metagenome of Chinese traditional fermented foods. *Food Control* 31: 499-507.
- Zhao N, Zhang CC, Yang Q i in. (2016) Selection of taste markers related to lactic acid bacteria microflora metabolism for Chinese traditional Paocai: A gas chromatography-mass spectrometry-based metabolomics approach. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 64: 2415-2422.

17. Fenole w formie związanej – charakterystyka i znaczenie w technologii żywności

Phenolics in bound form - characteristics and importance in food technology

Magdalena Michalak, Klaudia Gustaw, Magdalena Polak-Berecka

Katedra Biotechnologii, Mikrobiologii i Żywnienia Człowieka, Wydział Nauk o Żywności i Biotechnologii, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie

Magdalena Michalak: magdalena.michalak@up.lublin.pl

Słowa kluczowe: fermentacja, hydroliza chemiczna, hydroliza wspomagana ultradźwiękami, słodowanie

Streszczenie

Spośród związków fitochemicznych, fenole zostały szeroko zbadane ze względu na ich różnorodne korzyści zdrowotne. Występują one głównie jako rozpuszczalne koniugaty oraz w formie nierozpuszczalnej, kowalencyjnie związane z ugrupowaniami cukrowymi lub składnikami ściany komórkowej. Mechanizmy absorpcji związanych związków fenolowych w przewodzie pokarmowym w dużym stopniu zależą od uwalniania ugrupowań cukrowych. Procesy, takie jak fermentacja, słodowanie czy też hydroliza enzymatyczna, alkaliczna i kwaśna, niekiedy wspomagane mikrofalami lub ultradźwiękami, mają potencjał uwalniania związków fenolowych związanych ze ścianami komórkowymi. Opracowano różne metody uwalniania i wykrywania związanych fenoli w żywności. Obejmują one obróbki cieplne, modyfikacje chemiczne lub biokatalizę. Niezbędne jest jednak opracowanie nowych protokołów przetwarzania i oznaczania fenoli w matrycach żywnościowych w celu uwolnienia związanych fenoli i kontroli jakości w rozwijającym się funkcjonalnym przemyśle spożywczym.

1. Wstęp

Większość korzystnych właściwości owoców, warzyw i zbóż została przypisana bioaktywnym, nieodżywczym związkom chemicznym, powszechnie nazywanymi związkami fitochemicznymi. Szacuje się, że w żywności znajduje od 5 000 do 25 000 tych związków. Wśród nich, fenole zostały szeroko przebadane ze względu na ich różnorodne korzyści zdrowotne, takie jak działanie przeciwutleniające, a także zapobieganie przewlekłym zapaleniom, chorobom układu sercowo-naczyniowego, nowotworom, czy cukrzycy.

Proste kwasy fenolowe i flawonoidy są najpowszechniejszymi związkami fenolowymi w żywności i na ogół występują jako rozpuszczalne formy skoniugowane (glikozydy) i nierozpuszczalne. W naturze kwasy fenolowe występują głównie w postaciach nierozpuszczalnych lub związanych, podczas gdy flawonoidy występują jako glikozydy z pojedynczą lub wielokrotną grupą cukrową połączoną przez grupę OH (O-glikozydy) lub poprzez wiązania węgiel-węgiel (C-glikozydy). W licznych testach *in vitro* sprawdzających aktywność przeciwutleniającą, nierozpuszczalne związane fenole wykazały znacznie wyższą zdolność przeciwutleniającą w porównaniu do wolnych i rozpuszczalnych sprzężonych fenoli (Chandrasekara i Shahidi 2010).

W pracy dokonano przeglądu literatury dotyczącej związanych fenoli w różnych matrycach żywnościowych i wpływu różnych procesów żywnościowych na zwiększenie ich biodostępności i właściwości funkcjonalnych. Omówiono także procesy ekstrakcji mające na celu uzyskanie związków fenolowych jako funkcjonalnych składników żywności.

2. Związane fenole w żywności

2.1 Fenolowe wiązania kowalencyjne

Fenole w formach nierozpuszczalnych są kowalencyjnie związane z elementami konstrukcyjnymi ściany komórkowej, takimi jak celuloza, hemiceluloza, lignina, pektyny i białka strukturalne. Związki fitochemiczne pełnią istotne funkcje w ścianie komórkowej, zapewniając zarówno fizyczne, jak i chemiczne bariery, ochronę przed inwazją patogenów i integralność, a także

pełni funkcje przeciwbakteryjne, przeciwgrzybiczne i przeciwutleniające. Kwasy fenolowe, takie jak kwasy hydroksycynamonowe i hydroksybenzoesowe, tworzą wiązanie eterowe z ligniną poprzez ich grupy hydroksylowe w pierścieniu aromatycznym i wiązania estrowe ze strukturalnymi węglowodanami i białkami poprzez ich grupę karboksylową (Acosta-Estrada i in. 2014).

2.2 Biodostępność związanych fenoli

Związane formy fenoli mogą ulegać uwalnianiu i absorpcji. Na przykład, po spożyciu kawy, poziom kwasu kawowego w osoczu zwiększa się ze względu na uwalnianie i wchłanianie kwasu kawowego z kwasu chlorogenowego w związanych.

Istnieją różne udowodnione szlaki absorpcji związanych związków fenolowych w przewodzie pokarmowym, w których biorą udział mikroorganizmy, enzymy, a nawet transportery glukozy. Częściowe uwalnianie związanych fenoli odbywa się w obrębie światła przewodu pokarmowego, aby można je było wchłoniąć i zmetabolizować w celu wywierania korzystnego efektu zdrowotnego.

Kroon i in. (1997) zaproponowali, że u ludzi ponad 95% całkowitego uwalniania grup ferulanowych z błonnika pszenicy miało miejsce podczas fermentacji w okrężnicy z powodu enzymatycznego uwalniania (aktywności esteraz i ksylanazy) istniejącej mikroflory. Jedynie niewielkie ilości kwasu ferulowego zostały uwolnione w wyniku pracy żołądka i jelit (2,6%). nierozpuszczalne związane fenole przeżywają trawienie żołądka i jelit i docierają do okrężnicy, ponieważ materiały włókniste ściany komórkowej są trudne do trawienia. Flawonole są również intensywnie rozkładane przez mikroflorę okrężnicy zawierającą *Clostridium spp.* i *Eubacterium spp.* w celu wytworzenia prostszych związków fenolowych (Acosta-Estrada i in. 2014). Liu (2007) zaproponował, że korzyści zdrowotne związane ze związanymi fenolami w całych ziarnach są bardziej skuteczne w okrężnicy. Może to częściowo wyjaśniać mechanizm konsumpcji ziarna w profilaktyce raka okrężnicy i innych nowotworów przewodu pokarmowego, co potwierdzają badania epidemiologiczne.

Esterazy nie ograniczają się jedynie do pochodzenia mikrobiologicznego. Andreasen i in. (2001) zaproponowali, że hydroliza przez esterazy jelitowe jest najprawdopodobniej główną drogą uwalniania i absorpcji *in vivo* kwasu hydroksycynamonowego. W jelicie cienkim aktywność jest zlokalizowana głównie w komórkach nabłonka śluzówki. Badanie to dostarcza pierwszych dowodów na istnienie ludzkiej esterazy cynamonowej, podczas gdy w jelicie grubym większość esteraz ma pochodzenie mikrobiologiczne. Istnieją inne mechanizmy uwalniania i absorpcji związków fenolowych w jelicie cienkim. Może odbywać się w świetle jelita cienkiego, gdzie w rąbku szczoteczkowym aktywna jest hydrolaza florydzykowa (LPH, ang. lactose phlorizin hydrolase). Po odłączeniu grup cukrowych, powstałe aglikony wchłaniane są na drodze biernej dyfuzji przez ścianę jelita. Odłączanie grup cukrowych może też zachodzić w enterocytach. Glukozydy, po wnikięciu do komórek na drodze transportu aktywnego przy udziale Na⁺ - zależnego przenośnika glukozy (SGLT-1, ang. sodium dependent glucose transporter), poddawane są działaniu β-glukozydazy cytozolowej. W komórkach nabłonkowych cytosolowa β-glukozydaza hydrolizuje te glikozydy i aglikony po wcześniejszej absorpcji (Selma i in. 2009).

Zużycie wolnych lub związanych związków fenolowych zależy od pożądanego wpływu na zdrowie. Przyjmowanie w tabletkach związanych form będzie miało działanie chemioterapeutyczne przeciwko rakowi okrężnicy. Ponadto, spożycie wolnych i rozpuszczalnych form skoniugowanych będzie szybciej wchłaniane w żołądku i jelicie cienkim i rozprowadzane w całym ciele z innymi korzyściami zdrowotnymi, takimi jak działania hamujące utlenianie cholesterolu LDL i liposomów. Dlatego też uwalnianie związanych fenoli przed spożyciem będzie konieczne, jeśli pożądane będą inne korzyści zdrowotne poza zapobieganiu nowotworowi okrężnicy (Chandrasekara i Shahidi 2011).

2.3 Uwalnianie związanych fenoli w wyniku przetwarzania żywności

Istnieje kilka procesów żywnościowych, które zwiększają uwalnianie związanych fenoli. Należą do nich fermentacja i słodowanie, a także procesy termomechaniczne, takie jak ekstruzja i hydroliza alkaliczna.

Fermentacja zwiększa całkowitą zawartość wolnych fenoli i aktywność przeciwutleniającą. Na przykład zwiększone ilości związków fenolowych, właściwości DPPH i ABTS zostały

zaobserwowane w pszenicy po inkubacji z *Aspergillus oryzae* przez 4 dni. Podobnie gryka, kielki pszenicy, jęczmień i żyto traktowane *Lactobacillus rhamnosus* i *Saccharomyces cerevisiae* zwiększyły swoją całkowitą zawartość fenoli o $17,2 \pm 39,4\%$ podczas fermentacji z *L. rhamnosus* i $4,9-22,7\%$ z *S. cerevisiae*. W rezultacie zaobserwowano wzrost aktywności przeciwutleniającej, mierzonej za pomocą testu FRAP, po fermentacji oboma mikroorganizmami. Preferowana jest fermentacja zamiast wykorzystania komercyjnych enzymów w celu zwiększenia wartości odżywczej żywności, ponieważ jest ona stosunkowo tania (Đorđević i in. 2010).

Mikroorganizm, który syntetyzuje enzymy zdolne do rozrywania połączeń estrowych i w konsekwencji uwalnia związanych fenoli został wyizolowany przez Sanchez-Gonzalez i in. (2011). Ten odporny na alkalizę drobnoustrój (*Bacillus flexus* NJY2), wyizolowany ze ścieków z zasadowego gotowania kukurydzy, ma aktywność hydrolityczną estrów kwasu ferulowego. Ten mikroorganizm był zdolny do hydrolizowania estrów kwasu ferulowego związanych z nixtamalizacją otrębów kukurydzianych i uwolnił 1-5 g kwasu ferulowego na kg substratu.

Kielkowanie lub słodowanie, praktykowane przez kilka stuleci, jest również związane ze wzrostem wartości odżywczej i nutraceutycznej zbóż i jest innym sposobem poprawy biodostępności związanych fenoli. Proces ten określa się jako kontrolowane kiełkowanie nasion w celu aktywacji wymiany gazowej i wytworzenia różnych enzymów. Dvoráková i in. (2008) stwierdzili znaczny spadek związanych fenoli powiązany ze wzrostem wolnych fenoli i zdolności antyoksydacyjnej na skutek kiełkowania jęczmienia. Kwasy ferulowe i synapinowe wzrosły odpowiednio o 50% i prawie 10 razy. Wzrost zawartości związków fenolowych podczas kiełkowania zaobserwowano również w innych matrycach. Przykładowo, Albishi i in. (2013) zaobserwowali wzrost wolnych form fenoli w czerwonej cebuli podczas kiełkowania z powodu zmian w budowie ściany komórkowej.

Tradycyjne metody produkcji żywności, takie jak działanie alkaliczne, uwalniają związane fenole. Przetwarzanie ziaren kukurydzy do produkcji tortilli zmienia proporcję między wolnymi i związanymi fenolami w masie w porównaniu z surową kukurydzą. Średnia zawartość wolnych fenoli zwiększyła się co najmniej o 20% w porównaniu do stężenia w surowych ziarnach. Związany kwas ferulowy obecny w masie był w przybliżeniu w 1/3 kwasów zawartych w całych ziarnach, podczas gdy wolny kwas ferulowy skoncentrowano był co najmniej 10-krotnie w masie w porównaniu z ziarnami surowymi. Peeling chemiczny (NaOH lub KOH) służy do usuwania skóry z owoców i warzyw. Większość owoców ma znaczące ilości wszystkich związków fenolowych związanych ze skórą. Na przykład skórka brzoskwiń (*Prunus persica*) zawiera 35,4% całkowitej zawartości fenoli związanych z całym owocem. Potrzebne są dalsze badania w celu zbadania wpływu alkalicznego złuszczenia na fenolowy profil owoców i produktów ubocznych skóry (Gutiérrez-Urbe i in. 2010).

2.4 Związane fenole z błonnika w żywności funkcjonalnej

Włókna i otręby są często dodawane do frakcji zbożowych i mlecznych produktów fermentowanych. Suszona skórka jabłek została z powodzeniem dodana do babeczek w celu uzyskania znacznej poprawy pod względem aktywności antyoksydacyjnej i całkowitej zawartości fenolu. W opracowywaniu miękkich ciastek przetestowano także proszek z łupin mango. Wymiana 20% mąki pszennej na proszek z mango zwiększyła całkowitą zawartość fenolu 8,33 razy w porównaniu z kontrolą. Jednakże jedynie herbatniki przygotowane z mniej niż 10% proszku mango zostały zaakceptowane organoleptycznie przez panelistów. Zbadano wpływ 4% dodatku otrębów pszenżyta w jogurtach z *Lactobacillus acidophilus* i *Bifidobacterium lactis* stosowanych jako probiotyki. Ekstrakty wykazywały silniejszą aktywność przeciwutleniającą, a otręby pszenżyta służyły jako źródło prebiotyczne i przeciwutleniające. Dodatek pektyn przed fermentacją mleka skutkowało uzyskaniem jogurtów z większym TEPC i bardziej polarnymi fenolami (Sun-Waterhouse i in. 2012).

2.5 Fenole jako składniki funkcjonalne

Naturalne związki fenolowe zostały zasugerowane jako idealne zamienniki konserwantów w preparatach żywnościowych ze względu na ich właściwości przeciwutleniające i przeciwdrobnoustrojowe. Przykładowo, FDA klasyfikuje kwas ferulowy jako przeciwutleniacz na liście dodatków do żywności (Acosta-Estrada i in. 2014). Ponieważ nie można dodać dużej zawartości procentowej włókien zawierających związki fenolowe, zamiast nich można zastosować ekstrakty

zawierające te związki. Bhangar i in. (2008) wprowadzili metanolowe ekstrakty z otrębów ryżowych bogatych w związki fenolowe w ciastkach i zaobserwowali, że związki te wywierają właściwości przeciwutleniające, a zatem zmniejszają utlenianie lipidów. Zatem związki fenolowe można alternatywnie stosować jako składniki funkcjonalne w celu poprawy zdolności przeciwutleniającej przetworzonej żywności i zapewnienia korzyści zdrowotnych związanych z tymi związkami fitochemicznymi. Oprócz przemysłu spożywczego istnieją inne zastosowania związków fenolowych. Zakres zastosowań obejmuje kosmetyki, nutraceutyki i farmaceutyki. Kwas ferulowy jest również stosowany jako prekursor środka smakowo-zapachowego kwasu wanilinowego (Acosta-Estrada i in. 2014).

Istnieje potrzeba opracowania nowych metod ekstrakcji dla związków fenolowych, aby skutecznie stosować je jako składniki funkcjonalne. Produkty uboczne z sałaty i cykorii są przykładami tanich źródeł bogatych w fenole przeciwutleniaczy, które można ekstrahować w celu zwiększenia właściwości funkcjonalnych produktów spożywczych. Przetwarzanie cebuli i ziemniaków wytwarza duże ilości odpadów, głównie skóry. Te produkty uboczne mogą służyć jako naturalne źródła substancji przeciwzapalnych; wyekstrahowane fenole wykazały hamowanie aktywności COX-2. Skórki ziemniaczano-cebulowe zawierały odpowiednio 1,2-14,42 razy i 6 razy (odmiana perłowa) więcej związków fenolowych niż ich jadalna część. Z drugiej strony, odpady alkalicznego gotowania kukurydzy do produkcji tortilli są również dobrym źródłem związków fitochemicznych, takich jak kwas ferulowy (Gutiérrez-Urbe i in. 2010).

2.6 Metody ekstrakcji związanych fenoli

Opracowano różne metody uwalniania związanych fenoli. Po zastosowaniu którejkolwiek z tych obróbek naturalnie występujące i uwalniane związki fenolowe są zwykle ekstrahowane za pomocą rozpuszczalników organicznych, w tym układów rozpuszczalników do ekstrakcji dwufazowej. Powszechnie stosowanymi rozpuszczalnikami do ekstrakcji są alkohole (metanol i etanol), aceton, eter dietylowy i octan etylu. Jednak ekstremalnie polarne kwasy fenolowe, takie jak kwasy benzoesowy i cynamonowy, nie mogą być skutecznie ekstrahowane za pomocą czystych rozpuszczalników organicznych, dlatego zaleca się mieszanie alkoholu z wodą lub acetonu z wodą. Ponadto często stosuje się zakwaszone lub schłodzone rozpuszczalniki (Acosta-Estrada i in. 2014).

2.6.1. Hydroliza alkaliczna i kwaśna

Hydrolizie alkaliczne i kwasowe są najpowszechniej stosowanymi metodami do uwalniania związków fenolowych. Głównymi zmiennymi tych hydroliz chemicznych są stężenie kwasu/zasady, czas hydrolizy i temperatura. Traktowanie kwasem rozrywa wiązania glikozydowe i rozpuszcza cukry, ale generalnie pozostawia nienaruszone wiązania estrowe. Hydroliza kwasem w podwyższonych temperaturach powoduje utratę niektórych związków fenolowych (Verma i in. 2009).

Związki fenolowe są lepiej uwalniane w wyniku hydrolizy alkalicznej niż w warunkach hydrolizy kwasowej i zmniejszają ich straty. Na przykład, hydroliza alkaliczna spowoduje utratę 4,8% kwasu ferulowego kukurydzy w przeciwieństwie do 78% straty tego kwasu po hydrolizie kwasowej. Hydroliza alkaliczna przerywa wiązanie estrowe łączące kwasy fenolowe ze ścianą komórki, a zatem jest skutecznym sposobem uwalniania związków fenolowych z polisacharydów. Alkaliczne traktowanie jest powszechnie stosowane do ekstrakcji związanych kwasów fenolowych i inne związki z ziaren zbóż. Zasadniczo hydrolizę alkaliczną przeprowadza się w temperaturze pokojowej i pozostawia się ją od 15 minut do całej nocy. Okazuje się, że traktowanie różnymi stężeniami (1-4 M) wodorotlenku sodu przez różny okres czasu jest skuteczne w uwalnianiu tych związanych fenoli (White i in. 2009, Verma i in. 2009).

Dodawano kwas askorbinowy (AA) i kwas etylenodiaminotetraoctowy (EDTA) w celu zapobiegania utracie kwasów fenolowych podczas alkalicznej hydrolizy. Dodatek 10 mM EDTA i 1% AA całkowicie zapobiega degradacji kwasów fenolowych podatnych na degradację oksydacyjną (Acosta-Estrada i in. 2014). Del Pozo-Insfran i in. (2006) badali zakwaszanie próbek masy przetwarzanych na tortille kukurydziane za pomocą kwasu fumarowego i znacznie zmniejszyło utratę całkowitej zawartości fenoli, antocyjanów i zdolności antyoksydacyjnych.

2.6.2. Hydroliza enzymatyczna

Bardziej specyficzną i skuteczną metodą uwalniania związanych związków fenolowych jest hydroliza enzymatyczna. Enzymy hydrolizujące węglowodany, takie jak pektynazy, celulazy, amylazy, hemicelulazy i glukanazy były skutecznie stosowane do uwalniania fenoli. Enzymy te odgrywają rolę w dezintegracji macierzy ściany komórkowej roślin, co w konsekwencji ułatwia ekstrakcję fenoli (Acosta-Estrada i in. 2014).

2.6.3. Hydroliza wspomagana mikrofalami

Ekstrakcja wspomagana mikrofalami (MAE) umożliwia ogrzewanie mieszaniny rozpuszczalników poprzez bezpośrednią interakcję z cząsteczkami wody swobodnej obecnymi w układzie, co powoduje pękanie tkanki roślinnej i uwalnianie składników do rozpuszczalnika. MAE zwykle zwiększa wydajność fenolową i obniża koszty ekstrakcji z powodu skrócenia czasu obróbki i zużycia rozpuszczalnika. Dodatkowo, technika ta łączy wysoką temperaturę i wysokie ciśnienie dla optymalnego uwalniania kwasów fenolowych z równoczesnym rozkładem ścian komórkowych, takimi jak częściowa degradacja hemiceluloz i ligniny (Acosta-Estrada i in. 2014).

Istnieje wiele badań, które koncentrują się na optymalizacji procesu ekstrakcji mikrofalowej dla związków fenolowych. Najczęściej rozważanymi optymalizowanymi zmiennymi są czas ekstrakcji, temperatura, typ i stosunek rozpuszczalnika (ciało stałe / ciecz) i moc promieniowania. Badania te koncentrują się na różnych matrycach, takich jak brokuły i grzyby (Zhang i in. 2012).

Inne badania proponują połączenie mikrofal z alkaliczną hydrolizą. Przykładowo, ekstrakcję sorgo i otrębów kukurydzianych i kwasów fenolowych związanych z mąką przeprowadzono za pomocą MAE (45 s, i 1400 W) w 2 M NaOH w cel uwalniania kwasów ferulowych i kumarowych w 190 °C. Ta temperatura jest wystarczająca do rozbicia wiązań eterowych, które są nietrwałe w temperaturze 170 °C (Chiremba i in. 2012).

2.6.4. Hydroliza ultradźwiękowa

Opracowano hydrolizę wspomaganą ultradźwiękami w celu ługowania i hydrolizy związków fenolowych szybciej niż z wykorzystaniem metod tradycyjnych, ponieważ powierzchnia kontaktu między fazą stałą a fazą ciekłą jest zwiększona przez rozzerwanie cząstek. W truskawkach związki fenolowe, takie jak naringina, rutyna, naringenina, kwas elagowy, kwercetyna i kempferol, są skutecznie ekstrahowane za pomocą ultradźwięków w 3 cyklach po 30 s w porównaniu z 2-20 godzinami tradycyjnych metod (maceracja / mieszanie). Hydrolizę ultradźwiękową można również połączyć z innymi metodami hydrolizy. Zastosowanie ultrasonikacji znacząco przyspieszyło szybkość hydrolizy fenoli sprzężonych z żurawiną z 16 godzin, wymaganej przez konwencjonalną technikę hydrolizy, do mniej niż 1,5 godziny (Wang i in. 2011).

2.6.5. Inna wspomagana hydroliza

Promieniowanie dalekiej podczerwieni (FIR) może skutecznie uwalniać związane fenole z macierzy roślinnych i aktywować naturalne przeciwutleniacze o małej masie cząsteczkowej. Promienie FIR to fale elektromagnetyczne o długości powyżej 4 μm , ale krótsze niż fale mikrofalowe ($\lambda > 0,1 \text{ cm}$), które przenoszą ciepło do środka materiałów i są zdolne do przerwania wiązań kowalencyjnych związków fenolowych, takich jak flawonoidy i garbniki. FIR to również skuteczna i ekonomiczna metoda odwadniania ze znacznie krótszymi czasami suszenia. Pulsujące pole elektryczne (PEF) to kolejny rodzaj wspomaganej hydrolizy. Zastosowanie impulsowych pól elektrycznych o wysokim napięciu (PEF) w tkankach roślinnych zwiększa porowatość komórek roślinnych. Kapusta czerwona została poddana działaniu PEF ze znacznym wzrostem zawartości antocyjanów w ekstraktach. Innym przykładem skuteczności PEF jest ekstrakcja fenoli z wycisków winogronowych i skórki (Acosta-Estrada i in. 2014).

2.6.6. Metody detekcji

Metody detekcji związków fenolowych były szeroko omawiane w literaturze naukowej. Kwantyfikacja i identyfikacja produktów naturalnych może być przeprowadzona różnymi metodami.

Test Folina-Ciocalteu służy do oznaczania całkowitej zawartości fenoli, ale nie wykrywa wszystkich grup fenolowych występujących w ekstraktach i wykazuje interferencję z kwasem askorbinowym i cukrami redukującymi. W ciągu ostatnich dwudziestu lat HPLC była techniką analityczną, która zdominowała separację i charakterystykę związków fenolowych. Preferowany wybór kolumny to prawie wyłącznie faza odwróconej fazy C18 w połączeniu z UV/VIS, matrycą fotodiodową (PDA) lub detektorami fluorescencyjnymi UV. Inne metody stosowane do wykrywania fenoli obejmują detekcję fluorescencyjną i spektroskopię masową (MS). Pomiary chemii mokrej zawartości kwasu fenolowego i flawonoidów wymagają ekstrakcji związków i zniszczenia próbki, co czyni ją czasochłonną i kosztowną. Metodą opartą na strukturze fizycznej jest spektroskopia w podczerwieni (IR). Spektroskopia IR (bliska i środkowa) jest potężnym, szybkim, dokładnym i nieniszczącym narzędziem analitycznym, co czyni ją doskonałą opcją do wyznaczania związanych związków fenolowych, stanowiących alternatywę dla tradycyjnych metod mokrych. Spektroskopia w podczerwieni została wykorzystana do pomiaru związków fenolowych w szerokim zakresie produktów spożywczych, tj. zboża i owoce (Acosta-Estrada i in. 2014).

3. Podsumowanie

Związki fenolowe są rozpowszechnione w całym królestwie roślin i nie trudno znaleźć je w żywności. Większość związków fenolowych w matrycach zbożowych znajduje się w nierozpuszczalnych związkach, a z kolei owoce i warzywa są bogate w rozpuszczalne koniugaty. Należy opracować metodę przetwarzania żywności pochodzenia roślinnego w celu przekształcenia tych nierozpuszczalnych form w bardziej aktywne biologicznie cząsteczki, aby wykorzystać ich działanie terapeutyczne bez zmiany organoleptycznych właściwości przetworzonej żywności. Dodatkowo uwalniane związki fenolowe w matrycy żywności będą służyły jako środek konserwujący żywność. Ponadto, aby wykorzystać związane związki fenolowe w przemyśle spożywczym, farmaceutycznym lub kosmetycznym, należy opracować sposoby uwalniania i ekstrahowania związków fenolowych z przemysłowych produktów ubocznych bez stosowania rozpuszczalników organicznych. Ponadto należy opracować szybkie, dokładne i nieniszczące metody wykrywania jako metody kontroli jakości w produkcji składników funkcjonalnych.

4. Literatura

- Acosta-Estrada BA, Gutiérrez-Urbe JA, Serna-Saldivar SO (2014) Bound phenolics in foods, a review. *Food Chemistry* 152: 46-55.
- Albishi T, John JA, Al-Khalifa AS i in. (2013) Phenolic content and antioxidant activities of selected potato varieties and their processing by-products. *Journal of Functional Foods* 5: 590-600.
- Andreasen MF, Kroon PA, Williamson G i in. (2001) Esterase activity able to hydrolyze dietary antioxidant hydroxycinnamates is distributed along the intestine of mammals. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 49: 5679-5684.
- Bhanger MI, Iqbal S, Anwar F i in. (2008) Antioxidant potential of rice bran extracts and its effects on stabilisation of cookies under ambient storage. *International Journal of Food Science and Technology* 43: 779-786.
- Chandrasekara A, Shahidi F (2010) Content of insoluble bound phenolics in millets and their contribution to antioxidant capacity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 58: 6706-6714.
- Chandrasekara A, Shahidi F (2011) Bioactivities and antiradical properties of millet grains and hulls. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 59: 9563-9571.
- Chiremba C, Rooney LW, Beta T (2012) Microwave-assisted extraction of bound phenolic acids in bran and flour fractions from sorghum and maize cultivars varying in hardness. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 60: 4735-4742.
- Del Pozo-Insfran D, Serna Saldivar SO, Brenes CH i in. (2007) Polyphenolics and antioxidant capacity of white and blue corns processed into tortillas and chips. *Cereal Chemistry* 84: 162-168.

- Dordević TM, Šiler-Marinković SS, Dimitrijević-Branković SI (2010) Effect of fermentation on antioxidant properties of some cereals and pseudo cereals. *Food Chemistry* 119: 957-963.
- Dvořáková M, Guido LF, Dostálek P i in. (2008) Antioxidant properties of free, soluble ester and insoluble-bound phenolic compounds in different barley varieties and corresponding malts. *Journal of the Institute of Brewing*, 114: 27-33.
- Gutiérrez-Urbe JA, Rojas-García C, García-Lara S i in. (2010) Phytochemical analysis of wastewater (nejayote) obtained after lime-cooking of different types of maize kernels processed into masa for tortillas. *Journal of Cereal Science* 52: 410-416.
- Kroon PA, Faulds CB, Ryden P i in. (1997). Release of covalently bound ferulic acid from fiber in the human colon. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 45: 661-667.
- Liu RH (2007) Whole grain phytochemicals and health. *Journal of Cereal Science* 46: 207-219.
- Sanchez-Gonzalez M, Blanco-Gamez A, Escalante A i in. (2011) Isolation and characterization of new facultative alkaliphilic *Bacillus flexus* strains from maize processing waste water (nejayote). *Letters in Applied Microbiology* 52: 413-419.
- Selma MV, Espín JC, Tomás-Barberán FA (2009) Interaction between phenolics and gut microbiota: Role in human health. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 57: 6485-6501.
- Sun-Waterhouse D, Zhou J, Wadhwa SS (2012) Effects of adding apple polyphenols before and after fermentation on the properties of drinking yoghurt. *Food and Bioprocess Technology* 5: 2674-2686.
- Verma B, Hucl P, Chibbar RN (2009) Phenolic acid composition and antioxidant capacity of acid and alkali hydrolysed wheat bran fractions. *Food Chemistry* 116: 947-954.
- Wang C, Zuo Y (2011) Ultrasound-assisted hydrolysis and gas chromatography–mass spectrometric determination of phenolic compounds in cranberry products. *Food Chemistry* 128: 562-568.
- White BL, Howard LR, Prior LR (2010) Release of bound procyanidins from cranberry pomace by alkaline hydrolysis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 58: 7572-7579.
- Zhang Z, Lv G, Pan H i in. (2012) Optimisation of the microwave-assisted extraction process for six phenolic compounds in *Agaricus blazei murrill*. *International Journal of Food Science, & Technology* 47: 24-31.

18. Zawartość kofeiny w wybranych suplementach diety i napojach energetycznych

Caffeine content in selected dietary supplements and energy drinks

Jadwiga Nęcza^(1,2), Renata Polaniak⁽¹⁾, Joanna Nieć⁽¹⁾, Joanna Margasińska-Olejak^(2,3), Rafał Celiński⁽²⁾, Magdalena Kubica⁽¹⁾

⁽¹⁾Zakład Żywienia Człowieka, Katedra Dietetyki, Wydział Zdrowia Publicznego w Bytomiu, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

⁽²⁾Laboratorium toksykologiczne ToxLab, Katowice,

⁽³⁾Katedra i Zakład Toksykologii, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej w Sosnowcu, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

Jadwiga Nęcza: jadned@onet.pl

Słowa kluczowe: kofeina, suplementy diety, napoje energetyczne, wysokosprawna chromatografia cieczowa (HPLC)

Streszczenie

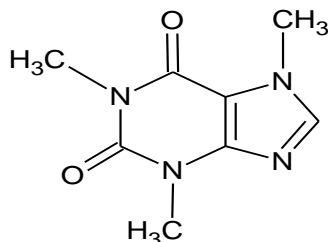
Kofeina jest jednym z najpopularniejszych środków psychoaktywnych. Naturalnymi źródłami tej substancji są m.in.: kawa, herbata, kakao, yerba mate. Produktami zawierającymi kofeinę są także napoje energetyzujące, napoje typu soft drink czy suplementy diety. Biorąc pod uwagę dużą liczbę źródeł kofeiny w diecie przeciętnej osoby dorosłej, występuje ryzyko pojawienia się niekorzystnych skutków zdrowotnych związanych z przedawkowaniem tego alkaloidu. Problem ten może w szczególności dotyczyć osób dążących do redukcji masy ciała, przyjmujących suplementy diety z kofeiną oraz spożywających napoje energetyczne.

1. Wstęp

Propagowany we współczesnym świecie przez media wizerunek osoby zdrowej, szczupłej i aktywnej powoduje, że wiele osób z nadwagą i otyłych podejmuje decyzję o redukcji masy ciała. Bardzo często osoby te sięgają po suplementy diety, które mają pomóc w utracie kilogramów. Problem nadwagi i otyłości dotyczy bardzo dużej liczby mieszkańców krajów wysokorozwiniętych, a także rozwijających się, w tym Polski (Kujawa i in. 2012). Badania prowadzone przez Instytut Żywienia i Żywności wykazują, że w polskim społeczeństwie nadwaga i otyłość występuje już blisko u co czwartego 9-latka (Jarosza praca pod red. 2013). Nadmierna masa ciała jest ściśle związana ze stylem życia. Wydłużony czas przebywania w pracy, sprzyja tzw. szybkim posiłkom, podjadaniu i małej aktywności fizycznej. Wiele osób wykonuje pracę wymagającą wielogodzinne skupienia i pozostawania w gotowości do działania przez długi okres czasu. Praca w dużym napięciu psychicznym sprzyja "zajadaniu stresów" przy jednoczesnym sięganiu po stymulatory - mające poprawić koncentrację i sprawność umysłu. Najpopularniejszym środkiem psychoaktywnym stosowanym w celu osiągnięcia powyższych efektów kofeina. Jest ona w sposób naturalny zawarta w wielu produktach spożywczych (kawa, herbata, kakao, yerba mate), a także w sposób celowy dodawana do napojów energetycznych czy słodzonych napojów gazowanych (Lodato et al. 2013; Ciszowski i in. 2014; McCuser et al. 2006). Produktami zawierającymi kofeinę są także niektóre leki czy suplementy diety.

Popularność kofeiny związana jest z jej właściwościami - pobudza organizm, hamuje znużenie, zmniejsza uczucie senności. Badania naukowe wskazują, że wśród zdrowej populacji osób dorosłych umiarkowana konsumpcja kofeiny w dawce 400 mg/dobę nie powoduje niekorzystnych skutków dla zdrowia (Mitchell et al. 2014). W badaniach dowiedziono, że przyjmowanie kofeiny sprzyja utracie masy ciała, poprawie ulega metabolizm glukozy, zmniejsza się ryzyko cukrzycy typu II, a także zapadalności na chorobę Parkinsona, a nawet zmniejszeniem ryzyka raka (Mitchell et al. 2014; 4. Postuma et al. 2012; Crozier et al. 2011). Pomimo, że jej wpływ na organizm ludzki jest przedmiotem wielu dyskusji wśród badaczy, to od lat obserwuje się wzrost jej spożycia. Kofeina jest

najczęściej spożywaną substancją psychoaktywną. Ponad 75% dorosłych Amerykanów i młodzieży spożywa kofeinę co najmniej raz dziennie (Orbeta et al. 2006). Badania dotyczące jej działania w odniesieniu do chorób sercowo-naczyniowych, nie przynoszą jednoznacznych wyników. Szczególnie niebezpieczne jest jej spożywanie przez młodzież, zwłaszcza w wieku szkolnym, co może powodować nadpobudliwość. Należy zwrócić uwagę na jej powszechną dostępność, głównie w środkach spożywczych takich jak: napoje typu cola, napoje energetyczne, kawa, suplementy diety dla osób uczących się itp. Produkty te są łatwo dostępne i praktycznie bez ograniczeń wiekowych na etykiecie. Rosnące spożycie kofeiny dotyczy głównie osób, których praca wymaga intensywnego wysiłku umysłowego. Zwiększone spożycie kofeiny będzie dotyczyło również ludzi z nadwagą, dążących do redukcji masy ciała - kofeina jest dostarczana wraz z suplementami diety mającymi pomóc w walce z kilogramami.



Ryc. 1. Wzór strukturalny cząsteczki kofeiny.

Po spożyciu, kofeina całkowicie wchłania się z przewodu pokarmowego, następnie rozdysponowana zostaje do tkanek. Nie kumuluje się w organizmie. Wydalana jest z organizmu w ciągu kilkunastu godzin wraz z moczem, w niezmienionej formie i jako metabolity. Maksymalne stężenie we krwi osiąga po godzinie od spożycia, a okres połowicznego półtrwania wynosi od 2,5 do 4,5 godzin (Frankowski i in. 2008). Jak podają liczne doniesienia naukowe w zależności od sposobu przygotowania kawy, filiżanka może zawierać kofeinę w stężeniu od 2 do 115 mg (Frankowski i in. 2008). Maksymalna dawka kofeiny w formie przyjęcia doustnego wynosi 1,5 g, za dawkę letalną przyjmuje się dawkę od 10 do 12 g (Frankowski i in. 2008). Kofeina wykazuje działanie aktywujące receptory dopaminy wywołując efekt stymulacji ośrodkowego układu nerwowego, ośrodków wegetatywnych i kory mózgowej. W ilościach umiarkowanych, powoduje zmniejszenie napięcia mięśni gładkich, przyspieszenie przemiany materii, wzrost sekrecji soku żołądkowego. Objawom tym towarzyszy poprawienie sprawności umysłowych i zniesienie odczuwania zmęczenia (Frankowski i in. 2008). W przypadku spożycia większych dawek kofeiny, można zaobserwować wystąpienie pobudzenia psychoruchowego, niepokoju, bezsenności, prowadzących do zaburzeń pracy serca (Wierzbicka i in. 2013).

Leki i suplementy diety stosowane w celu redukcji masy ciała

Ze względu na uproszczony proces rejestracyjny suplementów diety na rynku dostępnych jest bardzo wiele środków, dedykowanych dla osób z nadwagą i otyłością. Decyzję o dopuszczeniu suplementu diety do obrotu wydaje Inspektor Sanitarno - Epidemiologiczny, pomimo tego, że większość z nich sprzedawanych jest w aptekach.

Substancje zawarte w lekach i suplementach diety przeznaczonych dla osób dążących do redukcji masy ciała, można podzielić na: hamujące łaknienie, nasilające termogenezę oraz hamujące wchłanianie jelitowe (Kujawa i in. 2012). Substancje hamujące łaknienie mogą działać ośrodkowo lub obwodowo. Do grupy o obwodowym mechanizmie działania zaliczamy leki zwiększające objętość spożytego pokarmu jak agar czy metyloceluloza. Wśród leków o ośrodkowym działaniu, ważną grupę stanowią pochodne amfetaminy. Wykazują one jednak liczne działania niepożądane i prowadzą do uzależnienia. Do tego rodzaju substancji należy fentermina: powoduje zwiększone wydzielanie katecholamin: obwodowo adrenaliny, ośrodkowo dopaminy i noradrenaliny, wywołuje pobudzenie ruchowe i działa silnie anorektycznie oraz w krótkim czasie prowadzi do uzależnienia (Kujawa i in. 2012).

Kolejna grupa leków została wyodrębniona ze względu na specyfikę działania, a mianowicie hamowanie wchłaniania jelitowego. Tak działa między innymi orlistat, będący inhibitorem lipaz: lipazy trzustkowej, żołądkowej i lipazy estrów karboksylowych (Kujawa i in. 2012). W wyniku jego działania następuje zmniejszenie wchłaniania jelitowego tłuszczów. W Polsce występuje bez recepty pod nazwą Alli w dawce 60 mg. W celu zmniejszenia masy ciała, często stosowane są leki zwiększające termogenezę. Do tej grupy należą: efedryna w połączeniu z kofeiną i kwasem acetylosalicylowym, sibutramina (wycofana z obrotu w 2010r) (Kujawa i in. 2012). Brak na rynku farmaceutycznym preparatu idealnego do redukcji masy ciała powoduje, że producenci proponują nowe zestawy substancji, rejestrowane w sprzedaży jako suplementy diety. Na polskim rynku farmaceutycznym istnieje duża różnorodność suplementów diety dostępnych bez recepty, służących do redukcji masy ciała. Wśród nich są takie w składzie których znajdują się substancje zwiększające termogenezę np. kofeina (ekstrakt z guarany i kawy) ale również substancje hamujące wchłanianie węglowodanów. Jako dodatek stosowany jest chrom, który obniża zapotrzebowanie na cukry.

Napoje energetyczne

Od momentu wprowadzenia w 1987r w Austrii napoju Red Bull, a następnie w 1997r w USA, rynek napojów energetycznych zaczął się bardzo szybko rozwijać (Skowronek i in. 2015). Kluczowymi składnikami większości napojów energetycznych są: kofeina, różne aminokwasy, witaminy z grupy B i ziołowe dodatki, takie jak guarana czy ginseng (Babu et al. (2008). Napoje energetyczne i izotoniczne od kilku lat są stosowane przy intensywnym wysiłku fizycznym. Napoje energetyczne swoją skuteczność zawdzięczają głównie kofeinie, którą uznano za środek dopingujący, pod warunkiem, że jej stężenie w moczu sportowców przekraczało 12 µg/ml. Od 2004 roku kofeina została objęta Światowym Antydopingowym Programem Monitoringowym, aby śledzić trendy jej stosowania oraz ocenić jej przyszłe ponowne umieszczenie na liście substancji zakazanych (Lara et al. 2015).

Składniki napojów mogą wykazywać względem siebie interferencje tzn. wzmacniać działanie lub osłabiać, trudno jest więc badać funkcje poznawcze i przypisywać działanie poszczególnym składnikom, zwłaszcza gdy każdy ze składników osiąga maksymalne stężenie w krwi po różnym czasie od spożycia. Kofeina i glukoza najwyższe stężenie we krwi osiągają po ok. 30 minutach od spożycia, a tauryna po czasie dłuższym niż 60 minut. Badania takie powinny być prowadzone w godzinach popołudniowych i wieczornych, kiedy to zazwyczaj spożywane są napoje energetyczne, aby wydłużyć czas czujności (Giles et al. 2012). Jak wskazują badania, składniki napojów energetycznych mogą na siebie wzajemnie wywierać wpływ, dotyczy to kofeiny i tauryny, które mają potencjalnie działanie antagonistyczne. Jednak wyniki te nie są jednoznaczne, gdyż nie uwzględniono w nich różnic między płciami oraz badania przeprowadzono na próbie o małej liczebności (Peacock et al. 2013).

Wraz z rozwojem rynku napojów energetycznych wzrasta ilość doniesień o zatruciach i uzależnieniach od napojów energetycznych. U dzieci i młodzieży, wrażliwość na kofeinę może być znacznie większa z powodu braku tolerancji farmakologicznej (Reissing et al. 2009). Ciężkie zatrucia kofeiną zdarzają się rzadko, jednak mogą stanowić zagrożenie dla życia z powodu ryzyka wystąpienia nadkomorowych i komorowych zaburzeń rytmu serca (Ciszowski i in. 2014). Czynniki genetyczne mogą również przyczynić się do podatności na działanie kofeiny (Reissing et al. 2009).

Przyjmowanie kofeiny wraz ze spożywanymi używkami (kawa, herbata, napoje energetyczne), ma na celu polepszenie koncentracji, zwiększenie czujności, zniwelowanie senności. Fakt ten sprawia, że napoje z tą substancją stały się niemal wszechobecne wśród młodzieży studenckiej w USA (Miller 2008). Jak wskazują ostatnie badania, około połowa studentów wykorzystuje napoje energetyczne, co najmniej raz w miesiącu, głównie w celu zrekompensowania niedostatecznej ilości snu, zwiększenia energii, lub mieszania z alkoholem. U studentek odnotowano wyższy wskaźnik spożycia niż u studentów. W badaniach nie były jednak oceniane różnice rasowe i etniczne (Miller 2008).

Biorąc pod uwagę dużą liczbę źródeł kofeiny w diecie przeciętnej osoby dorosłej, występuje ryzyko pojawienia się niekorzystnych skutków zdrowotnych związanych z przedawkowaniem tego alkaloidu. Problem ten może w szczególności dotyczyć osób dążących do redukcji masy ciała,

przyjmujących suplementy diety z kofeiną oraz spożywających napoje energetyczne. W związku z powyższym, celem niniejszej pracy było oznaczenie zawartości kofeiny w popularnych na polskim rynku suplementach diety dedykowanych dla osób dążących do redukcji masy ciała oraz napojach energetycznych, stosowanych m.in. przez osoby uprawiające intensywny wysiłek fizyczny.

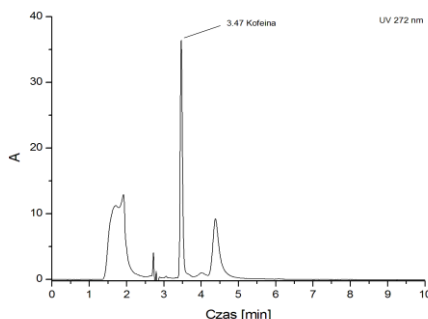
2. Materiał i metody

Analizie poddano suplementy diety wykorzystywane w redukcji masy ciała oraz napoje energetyczne zawierające kofeinę. Stężenie kofeiny w badanych próbkach określono z zastosowaniem techniki chromatografii cieczowej HPLC DAD (*High Pressure Liquid Chromatography with Diode Array Detector*). Analizę prowadzono w warunkach izokratycznych przy składzie fazy ruchomej metanol : woda 55:45 v/v i przepływie 1 ml/min używając kolumny RP C18. Do analizy użyto certyfikowanego wzorca kofeiny Chroma Dex o czystości 99,9 %. W oparciu o ww. wzorzec wykonano krzywą wzorcową o stężeniach: 2, 10, 20, 40, 60, 80 µg/ml.

Próbki napojów energetycznych odgazowano w łaźni ultradźwiękowej, a następnie przesączono przez sączek 0,45 µm. Przed analizą próbki rozcieńczono 100-krotnie. Odważono po 20 mg analizowanych próbek suplementów diety i ekstrahowano 5% roztworem acetonitrylu w wodzie (5 ml), poddając je działaniu ultradźwięków przez 20 min. Następnie próbki przesączono przez sączek 0,45 µm i rozcieńczono 10-krotnie. Tak przygotowane próbki poddano analizie chromatograficznej na chromatografie cieczowej THERMO z detektorem DAD UV-Vis przy długości fali 272 nm.

3. Wyniki

Przy zastosowanych warunkach analizy, czas retencji dla kofeiny wynosił ok. 3,5min., przykładowy chromatogram przedstawia rycina nr 2 (Ryc. 2.).



Ryc. 2. Przykładowy chromatogram próbki z widocznym pikiem kofeiny.

Wyniki analizy chromatograficznej przedstawiono w tabelach nr 1 i 2 (Tab.1., Tab. 2.). Dla napojów energetycznych zawartość kofeiny podano w mg/100 ml napoju, natomiast dla suplementów diety w mg/tabletkę. Średnia zawartość kofeiny w napojach energetycznych wynosiła około 32 mg/100 ml napoju (Tab.1.).

Tab. 1. Zawartość kofeiny w wybranych napojach energetycznych.

| Nr badanego napoju | Zawartość kofeiny [mg/100ml] |
|--------------------|------------------------------|
| 1 | 31,87 |
| 2 | 31,00 |
| 3 | 32,05 |
| 4 | 35,25 |
| 5 | 32,27 |

W tabeli nr 2 (Tab.2.) przedstawiono wyniki analizowanych suplementów diety. Biorąc pod uwagę zalecane dobowe dawkowanie można oszacować dzienną dawkę kofeiny przyjmowaną wraz z zażywanymi suplementami diety.

Tab. 2. Zawartość kofeiny w wybranych suplementach diety.

| Nr badanego suplementu diety | Zawartość kofeiny [mg/tabletkę] | Zalecana dobową ilość tabletek | Szacunkowa dobową dawką kofeiny przyjmowaną wraz z suplementem diety [mg] |
|------------------------------|---------------------------------|--------------------------------|---|
| 6 | 8,29 | 1 | 8,29 |
| 7 | 60,25 | 1 | 60,25 |
| 8 | 2,82 | 1 | 2,82 |
| 9 | 49,96 | 2 | 99,92 |
| 10 | 77,36 | 4 | 309,44 |
| 11 | 135,52 | 2 | 271,04 |

Zawartość kofeiny w suplementach diety była bardzo zróżnicowana. Najmniejszą ilość kofeiny oznaczono w produkcie nr 8 (2,82 mg/tabletkę), a największą w produkcie nr 11 (135,52 mg/tabletkę). Biorąc pod uwagę zalecaną przez producenta ilość tabletek jaką należy przyjąć w ciągu doby celem osiągnięcia najlepszych efektów - największą ilość kofeiny dostarczy do swojego organizmu pacjent stosujący produkt nr 10.

4. Dyskusja

Z przedstawionych badań wynika, że największą dawkę kofeiny przyjmuje się stosując suplementy diety nr 10 i 11 (Tab. 2). Dawka ta, obrazowo może odpowiadać dwóm lub trzem porcjom kawy parzonej, nie jest więc niebezpieczna. W suplementie diety numer 7 i 8 oznaczono różną zawartość kofeiny w tabletkach na wieczór i na dzień. Zawartość kofeiny w tabletkach na wieczór wynosi 2,82 mg (Tab. 2), nie powodując tym samym pobudzenia i trudności w zasypianiu.

Prezentowane wyniki dziennego spożycia kofeiny wynikającego ze stosowania suplementów diety obliczone zostały przy uwzględnieniu dawkowania zgodnie z ilościami podanymi na etykietce. Jeżeli osoby będą przekraczały zalecane dawkowanie, spożycie kofeiny będzie większe i może być przyczyną złego samopoczucia.

Określenie ilości kofeiny dostarczanej do organizmu, a pochodzącej z napojów energetycznych nie jest łatwe ze względu na indywidualne preferencje dotyczące ich spożycia. Trudno tutaj przyjąć jeden model, można założyć, że osoby uprawiające intensywnie sport, będą takich napojów spożywały więcej. W piśmiennictwie naukowym nie ma jednak informacji dotyczącej ilości spożywanych napojów przez osoby dążące do redukcji masy ciała.

Działanie fizjologiczne kofeiny i brak właściwości odżywczych powoduje duże zainteresowanie jej wpływem na zdrowie, zwłaszcza w odniesieniu do ryzyka chorób sercowo-naczyniowych. Wyniki badań naukowych nie dają jednoznacznej odpowiedzi, wskazując na wiele czynników endogennych i środowiskowych wpływających na metabolizm kofeiny i indywidualne reakcje organizmu (Wierzejska 2012). Nadmierne spożycie kofeiny może wywołać niekorzystne efekty, takie jak zbytnią pobudliwość, bezsenność, ból głowy, problemy żołądkowe. Według Międzynarodowej Klasyfikacji Chorób i Zaburzeń Stanu zdrowia WHO objawy wywołane spożyciem dużych ilości kofeiny zakwalifikowane są do działu zaburzeń umysłowych i zaburzeń zachowania, powodowanych przez substancje stymulujące (Wierzejska 2012).

Istotnym problemem, na który warto zwrócić uwagę jest zwiększające się spożycie napojów energetycznych i suplementów diety zawierających kofeinę zwłaszcza przez młodych ludzi. W Polsce są dostępne badania odnośnie spożycia kofeiny wśród młodzieży szkolnej. Szczególnie niepokojącym jest fakt, że w diecie u wszystkich badanych uczniów zidentyfikowana została kofeina, a oszacowane maksymalne pobranie kofeiny dla grupy młodzieży szkolnej wynosiło 4,79 mg/kg mc/dz (ok. 274

mg/dzień) (Wierzbicka i in. 2013). Nie jest to ilość kofeiny, która byłaby niebezpieczna dla dorosłego człowieka spożywającego ją w różnych formach, u którego występuje już tolerancja farmakologiczna. Jednak w przypadku młodzieży może przyczynić się do wystąpienia pobudzenia psychoruchowego, rozdrażnienia, niepokoju, lęku, bezsenności, zaburzeń pracy serca, zwiększenie diurezy i nasilenia objawów dyspeptycznych (Wierzbicka i in. 2013). Istotnym powodem do zastanowienia jest brak adnotacji odnośnie dziennego spożycia napojów energetycznych z dodatkiem kofeiny. Pojawiająca się na etykiecie informacja: „Nie zaleca się stosowania u dzieci, kobiet w ciąży i kobiet karmiących piersią. Nie mieszać z alkoholem. Spożywać z umiarem.”, nie daje jednoznacznej odpowiedzi odnośnie odpowiedniej ilości.

Znany jest przypadek śmiertelnego zatrucia prostego kofeiną u 27-letniego mężczyzny, który po treningu w siłowni spożył 3 łyżki kofeiny w proszku, po czym źle się poczuł. Mimo podjętej akcji resuscytacyjnej, mężczyzna zmarł. Przypadek ten był omawiany podczas XXXII Konferencji Toksykologów Sądowych w Bronisławowie w 2015r. Przeprowadzone badania krwi wykazały obecność kofeiny w stężeniu 140,64 µg/ml, gdzie w przypadkach zatruc śmiertelnych stężenie wynosiło zwykle powyżej 80 µg/ml (Skowronek i in. 2015).

5. Wnioski

- Na polskim rynku suplementów diety dostępnych jest bardzo wiele środków zawierających kofeinę, wśród nich dużą część stanowią produkty dedykowane osobom dążącym do redukcji masy ciała.
- Dobowa dawka kofeiny dostarczana do organizmu przez osoby odchudzające się, stosujące suplementy diety z kofeiną, jest bezpieczna - pod warunkiem stosowania się do zaleceń zawartych na opakowaniach produktów (odpowiada 2-3 porcjom kawy parzonej).
- Napoje energetyczne stanowią obok naturalnych produktów spożywczych istotne źródło kofeiny w diecie, szczególnie wśród dzieci i młodzieży.
- Zawartość kofeiny w opakowaniu jednostkowym napoju energetycznego odpowiada ok 1,5 porcji kawy parzonej.
- Niekorzystne skutki zdrowotne mogą mieć miejsce przy przyjmowaniu dawek kofeiny ponad 300-400 mg/dobę, do czego może dochodzić przy jednoczesnym przyjmowaniu produktów spożywczych o dużej zawartości kofeiny, napojów energetycznych oraz suplementów wzbogacanych o ten alkaloid.

6. Literatura

- Babu K M, Church R J, Lewander W (2008) Energy Drinks: The new Eye-Opener For Adolescents. *Clinical Pediatric Emergency Medicine* 9: 35-42.
- Ciszowski K, Biedroń W, Gomółka E (2014) Acute caffeine poisoning resulting in atrial fibrillation after guarana extract overdose. *Przegl Lek*: 71:9.
- Crozier T W M , Stalmach A, Lean M E J, et al. (2011) Espresso coffees, caffeine and chlorogenic acid intake: potential health implications. *Food & Function* 13.
- Frankowski M, Kowalski A, Ociepa A i wsp. (2008) Kofeina w kawach i ekstraktach kofeinowych i odkofeinowanych dostępnych na polskim rynku. *Bromatologia i Chemia Toksykologiczna*, XLI (1): 21 – 27.
- Giles E G, Mahoney C R, Brunyé T T, et al. (2012) Differential cognitive effects of energy drink ingredients: Caffeine, taurine, and glucose. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior* 102: 569–577.
- Jarosza M (praca pod red.) (2013) Ogólnopolskie działania w zakresie zwalczania nadwagi i otyłości, ze szczególnym uwzględnieniem dzieci i młodzieży: Opracowania Instytutu Żywności i Żywienia.
- Kujawa A, Szponar L, Szponar E, i in. (2012) Szkodliwość leków i środków wspomagających odchudzanie-punkt widzenia toksykologa: *Przegl. Lek.* 69:8.
- Lara B, Ruiz-Vicente D, Areces F, et al. (2015) Acute consumption of a caffeinated energy drink enhances aspects of performance in sprint swimmers. *Br J Nutr.* 1-7.

- Lodato F, Araújo J, Barros H, et al. (2013) Caffeine intake reduces sleep duration in adolescents. *Nutrition Research* 33: 726-732.
- McCuser R, Fuehrlein B, Goldberger B, et al. (2006) Caffeine Content of Decaffeinated Coffee. *J Anal Toxicol* 30.
- Miller K E (2008) Energy Drinks, Race, and Problem Behaviors Among College Students. *J Adelesc Health* 43: 490-497.
- Mitchell D C, Knight C A, Hockenberry J, et al. (2014) Beverage caffeine intakes in U.S. *Food Chem Toxicol*: 63: 136-142.
- Orbeta R L, Overpeck M D , Ramcharran D, et al. (2006) High caffeine intake in adolescents: associations with difficulty sleeping and feeling tired in the morning: *J Adelesc Health*: 38: 451-453.
- Peacock A, Martin F H, Carr A et al. (2013) Energy drink ingredients. Contribution of caffeine and taurine to performance outcomes. *Appetite*, 64:1–4.
- Postuma R B, Lang A E , Munhoz R A, et al. (2012) Caffeine for treatment of Parkinson disease. *Neurology*: 14(79): 651–658.
- Reissing C J, Strain E C, Griffiths R R (2009) Caffeinated energy drinks –A growing problem. *Drug Alcohol Depend* 99: 1-10.
- Skowronek R, Pieprzyca E, Korczyńska M, Kulikowska J, Nowicka J, Szczęsny-Karczewska W. (2015) Przypadek śmiertelnego przedawkowania kofeiny zakupionej w sklepie internetowym. XXXII Konferencja Toksykologów Sądowych, materiały konferencyjne: 63-64.
- Wierzbicka E, Brzozowska A, Drózd K (2013) Ocena ryzyka nadmiernego pobrania kofeiny z diety w wybranej grupie młodzieży szkolnej. *Probl Hig Epidemiol* 94 (4):820-824.
- Wierzejska R (2012) Kofeina – powszechny składnik diety i jej wpływ na zdrowie. *Rocz Panstw Zakł Hig* 63(2): 141-147.

19. Porównanie jakości jaj zielononóżki kuropatwianej i kur w typie araukana

Comparison of the quality of eggs derived from greenleg partridge and araucana type hens

Kamil Drabik⁽¹⁾, Adrian Pluta⁽¹⁾, Patrycja Chabroszewska⁽¹⁾, Kostiantyn Vasiukov⁽¹⁾, Katarzyna Olszak⁽¹⁾, Justyna Batkowska⁽²⁾, Antoni Brodacki⁽²⁾

⁽¹⁾Sekcja Hodowli Drobiu Studenckiego Koła Naukowego Biologów i Hodowców Zwierząt, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie[□]

⁽²⁾Instytut Biologicznych Podstaw Produkcji Zwierzęcej, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie
Opiekun naukowy: dr Justyna Batkowska

Kamil Drabik: kamil.drabik2@gmail.com

Słowa kluczowe: agroturystyka, araukana, drób ozdobny, jakość jaj, zielononóżka kuropatwiana

Streszczenie

Turystyka wiejska zyskuje na popularności, zaś właściciele gospodarstw agroturystycznych wprowadzają nowe, bardziej atrakcyjne rasy zwierząt gospodarskich. Należą do nich kury araukana, które znoszą jaja o zielonej skorupie. Celem pracy było przybliżenie charakterystyki kur rasy araukana, a także ocena jakości jaj tych kur w aspekcie możliwości ich wykorzystania konsumpcyjnego. Materiałem do badań były jaja kur w typie araukana o zielonej barwie skorupy oraz jaj kur zielononóżka kuropatwiana o jasno kremowej barwie skorupy. Rasy zostały wybrane ze względu na identyczne warunki chowu oraz zbliżoną masę jaj. Oceniano cechy całego jaja oraz jego elementów (skorupy, żółtka, białka). Mimo nieznacznie mniejszej masy, jaja o zielonej barwie skorupy charakteryzowały się korzystnym udziałem żółtka i dobrymi cechami białka, wyrażającymi się jego wysokością i liczbą jednostek Haugh'a. Uwagę zwracają wytrzymałość i gęstość skorupy jaj. Cechy te są kluczowe w trakcie zbioru jaj, pakowania i dystrybucji. Wykazano, że cechy jakości jaj o zielonej barwie skorupy nie odbiegają istotnie od standardu wyznaczanego dla jaj zielononóżki kuropatwianej. Wskazuje to na możliwość wykorzystywania kur w typie araukana do pozyskiwania jaj konsumpcyjnych.

1. Wstęp

Dzisiejszy konsument w wielu kwestiach zwraca uwagę na jakość oferowanych mu produktów, mimo ich relatywnie wyższej ceny. Panująca w społeczeństwie moda na zdrowe życie przyczyniła się do wzrostu zainteresowania produktami zarówno ekologicznymi jak i otrzymywanymi metodami ekstensywnymi. Powszechna staje się idea *Slow Food*, mówiąca o produkcji opartej o produkty smaczne i wyjątkowe organoleptycznie, produkowane naturalnie w limitowanej ilości przez niewielkie przetwórnice i gospodarstwa rolne (Gąsiorowski 2010). Produkty pochodzenia zwierzęcego, jak mleko, mięso czy jaja, stanowią jeden z podstawowych elementów diety człowieka. W polskim rolnictwie tradycją jest utrzymanie drobiu w gospodarstwach przydomowych. Zalicza się tu gatunki utrzymywane w celu pozyskania mięsa, jaj lub pierza. Ptaki nie wymagają wysokich nakładów pracy w porównaniu z chowem innych zwierząt (Obrzut i in. 2014). Ilość możliwych do uzyskania produktów wskazuje, że chów drobiu w gospodarstwie może w prosty sposób przekładać się na ekonomikę produkcji, zwłaszcza w prowadzonych na niewielką skalę gospodarstwach agroturystycznych, gdzie ptaki pełnią przede wszystkim funkcje ozdobne.

2. Opis zagadnienia

Stosunkowo niewielkie koszty produkcji jak i niskie rynkowe ceny surowca drobiarskiego przyczyniły się do wzrostu oczekiwań konsumentów dotyczące jego jakości i pochodzenia, popularne stały się bardziej ekstensywne systemy chowu (Sokołowicz i Krawczyk 2010). Konsument poszukuje

* Sekcja działa pod patronatem Krajowej Rady Drobiarstwa

nowych produktów, które cechują niespotykane dotąd walory estetyczne czy sensoryczne. Wydaje się zatem, że jaja pozyskiwane od kur w typie araukana, o zielonej barwie skorupy sprostają wymaganiom, co daje nadzieje na zwiększenie liczebności utrzymywanych ptaków tej rasy.

Barwa skorupy jaj zależy bezpośrednio od genotypu niosek. Zależnie od rasy pozyskujemy jaja o barwie od kredowo białej (np. leghorn) przez kremową (np. zielononóżka kuropatwiana), aż po brązową (np. rhode island red). Konsumenci zwracają uwagę na tę cechę. Brązowa skorupa jest atrakcyjniejsza niż biała i kojarzona z intensywniejszą barwą żółtka, mimo że na prawdę nie wpływa ona ani na wartość odżywczą ani smakową jaj (Biesiada-Drzazga i Janocha 2009, Calik 2013). Takie podejście spowodowało na polskim rynku prawie całkowitą eliminację kur znoszących jaja o białej skorupie. Biorąc jednak pod uwagę preferencje konsumentów każdy „inny” kolor skorupy jaj stanowi atrakcję.

Jedną z ras kur, od których można pozyskać jaj o barwnej skorupie jest rasa araukana. Nazwa wywodzi się od plemienia Indian, od których została przywieziona do Europy w XIX wieku przez kolonizatorów. Cechą wyróżniającą tą rasę są seledynowe skorupy jaj (Brzóska i in. 2012). Nioski znoszące kolorowe jajka cieszą się również dużą popularnością w Ameryce Północnej, gdzie określane są mianem kur wielkanocnych (Kozuszek 2003). Araukany należą do ras lekkich. Koguty ważą około 2-2,5 kg, kury natomiast 1,5-2 kg. Wyróżniają się wyprostowaną postawą ciała i brakiem ogona, choć spotykane są ptaki posiadające kręgi ogonowe. Następną cechą charakterystyczną są baczki, wyrastające z brodawek, które znajdują się na miejscu zausznic. Grzebienie araukan są groszkowe, bardzo małe i czerwone, skoki są koloru zielonkawego. Osobniki tej rasy spotykane są w większości możliwych mutacji barwnych – spotyka się zarówno kury wybarwione jednolicie, jak i dwukolorowe oraz pstrokate (Fournier 2008). Nieśność araukan jest wysoka i wynosi ok. 180 jaj rocznie. Masa jaj wynosi ok. 30-50 g. (Chvapil 2005). Kury tej rasy nie są wymagające, ponieważ bez problemu znoszą mroźne zimy w dobrze ocieplonych, ale nieogrzewanych kurnikach. Są bardzo aktywnymi ptakami, lubią przestrzeń i obserwację okolicy z góry, dlatego często lokują się na gałęziach wysokich drzew (Peitz 2009). Zarówno ze względu na oryginalny wygląd jak i pozyskiwane jaja coraz częściej ptaki tej rasy stanowią dodatkową atrakcję w gospodarstwach agroturystycznych.

3. Badania własne

Celem badań była ocena jakości jaj o zielonej barwie skorupy w aspekcie możliwości ich wykorzystania konsumpcyjnego.

4. Materiał i metody

Materiał stanowiły jaja klasy M o zielonej skorupie, pochodzące od niosek w typie araukan, utrzymywanych z możliwością korzystania z wybiegu oraz jaja o jasnej (kremowej) skorupie od kur rasy zielononóżka kuropatwiana (Zk). Wybór rasy podyktowany był zbliżoną masą jaj oraz identycznymi warunkami chowu.

Wykorzystano elektroniczny zestaw EQM (TSS®) i Instron Mini 55. Analizie poddano cechy jakościowe całych jaja (masę, masę właściwą, proporcje elementów morfologicznych jaja) oraz cechy: żółtka (masę, indeks, barwę, pH), białka (masę, wysokość jednostki Haugh'a, pH) i skorupy (barwę, wytrzymałość, masę, grubość, powierzchnię, objętość, gęstość).

Do opracowania statystycznego uzyskanych danych wykorzystano test t-Studenta dla zmiennych niezależnych pakietu statystycznego SPSS 21.0 PL (IBM 2011).

5. Wyniki

W tab. 1 przedstawiono wyniki analizy cech całego jaja. Średnia masa jaj o zielonej skorupie (49,5g) była niższa o 2,84g niż jaj zielononóżki. Natomiast wartość masy właściwej była prawie identyczna w obu badanych grupach i wynosiła 1,082 g/cm³. Wykazano, że jaja od kur w typie araukana charakteryzuje istotnie większy (o 2,2%) udział skorupy. W jajach kur w typie araukana odnotowano także większy procentowy udział żółtka (26,2%) niż w jajach od zielononózek (25,1%). Odwrotne relacje wykazywała analiza białka, którego większy o 3,3% udział wykazano w jajach od zielononózek w stosunku do jaj o zielonej skorupie.

Tab. 1. Cechy jaj objętych doświadczeniem.

| Cecha | Jaja o barwie skorupy | | | |
|---|-----------------------|-----------|-----------|-----------|
| | kremowej | | zielonej | |
| | \bar{x} | <i>SD</i> | \bar{x} | <i>SD</i> |
| masa jaja (g) | 52,43** | 2,826 | 49,59 | 4,227 |
| masa właściwa jaja (g/cm ³) | 1,082 | 0,007 | 1,082 | 0,017 |
| proporcje (%) | 25,1 | 5,700 | 26,2 | 6,159 |
| żółtka | 63,2 | 7,644 | 59,9 | 5,950 |
| białka | 11,7 | 2,346 | 13,9 | 1,648 |
| skorupy | 52,43** | 2,826 | 49,59 | 4,227 |

** średnie różnią się istotnie przy $p \leq 0,01$

Cechy żółtka badanych jaj przedstawiono w tab. 2. Nieznacznie większa masa charakteryzowała żółtka w jajach o kremowej skorupie, te jaja cechowała nieco ciemniejszą barwą żółtka, wynosiła ona średnio 10,21 pkt, podczas gdy w jajach o zielonej skorupie 9,80 pkt. Pod względem indeksu żółtka jaja obu grup były zbliżone. Średnia pH żółtka w grupie kontrolnej utrzymywała się na poziomie 5,64, a w przypadku zielonych jaj była istotnie większa i wynosiła 5,85.

Tab. 2. Cechy żółtka jaj objętych doświadczeniem.

| Cecha | Jaja o barwie skorupy | | | |
|--------------------|-----------------------|-----------|-----------|-----------|
| | kremowej | | zielonej | |
| | \bar{x} | <i>SD</i> | \bar{x} | <i>SD</i> |
| masa żółtka (g) | 13,62 | 1,520 | 12,99 | 3,126 |
| barwa żółtka (pkt) | 10,21 | 1,346 | 9,80 | 1,448 |
| indeks żółtka (%) | 39,77 | 2,509 | 40,03 | 3,871 |
| pH żółtka | 5,64 | 0,150 | 5,85** | 0,153 |

** średnie różnią się istotnie przy $p \leq 0,01$

W tab. 3 zostały przedstawione cechy białka jaj objętych doświadczeniem. Masa białka wyrażona w gramach była istotnie wyższa w grupie o kremowej skorupie i wynosiła 33,14 vs 29,72g w jajach o zielonej barwie skorupy. Jednak jaj o zielonej barwie skorupy wykazywały istotną większą wysokość białka (8,34mm) w porównaniu z jajami drugiej grupy (7,57mm), co znalazło potwierdzenie także w liczbie jednostek Haugh'a. Obie te cechy, a także niższe pH białka w jajach od kur w trypie araukana wskazują na lepszą jakość białka oraz ich większą przydatność technologiczną.

Tab. 3. Cechy białka jaj objętych doświadczeniem.

| Cecha | Jaja o barwie skorupy | | | |
|----------------------|-----------------------|-----------|-----------|-----------|
| | kremowej | | zielonej | |
| | \bar{x} | <i>SD</i> | \bar{x} | <i>SD</i> |
| masa białka (g) | 33,14** | 4,119 | 29,72 | 3,949 |
| wysokość białka (mm) | 7,57 | 1,388 | 8,34* | 1,254 |
| jednostki Haugh'a | 88,41 | 7,741 | 94,10** | 6,347 |
| pH | 8,81* | 0,168 | 8,65 | 0,211 |

* średnie różnią się istotnie przy $p \leq 0,05$

** średnie różnią się istotnie przy $p \leq 0,01$

Tab. 4. Cechy skorup jaj objętych doświadczeniem.

| Cecha | Jaja o barwie skorupy | | | |
|---------------------------------|-----------------------|-----------|-----------|-----------|
| | kremowej | | zielonej | |
| | \bar{x} | <i>SD</i> | \bar{x} | <i>SD</i> |
| kolor (%) | 57,77 | 6,68 | 55,08 | 3,11 |
| wytrzymałość (N) | 35,62 | 10,38 | 45,50** | 11,51 |
| masa (g) | 6,33 | 0,509 | 6,88** | 0,730 |
| grubość (mm) | 0,296 | 0,045 | 0,285 | 0,030 |
| powierzchnia (cm ²) | 66,64** | 2,28 | 64,11 | 3,62 |
| objętość (cm ³) | 1,97* | 0,32 | 1,83 | 0,23 |
| gęstość (g/cm ³) | 3,28 | 0,52 | 3,82** | 0,59 |

* średnie różnią się istotnie przy $p \leq 0,05$

** średnie różnią się istotnie przy $p \leq 0,01$

W tab. 4 przedstawiono cechy skorup jaj w zależności od barwy. Zaobserwowano, że zielona barwa skorupy odbijała 55,08% światła reflektometru, a skorupa jaj od zielononózek 57,77%, zatem różnica nie była duża mimo innego odcienia. Dodatkowo średnie dotyczące wytrzymałości różniły się wysoko istotnie z korzyścią dla skorup od kur w typie araukana (45,50N) od jaj o kremowej skorupie od zielononózek (35,62N). Różnica wynosiła prawie 22%. Masa skorupy również w jajach o zielonej barwie była większa o prawie 8% w stosunku do grupy kontrolnej. Nie przełożyło się to jednak na grubość oraz powierzchnię, gdyż w przypadku obu tych wskaźników dominowały jaja od niosek Zk. Przepuszczalnie większa masa skorup wynikała z większej gęstości, która w jajach o zielonej skorupie wynosiła 3,82g/cm³ i różniła się wysoko istotnie w porównaniu do jaj o jasnej skorupie (3,28 g/cm³).

Dyskusja

Na rynku żywnościowym zwraca się wyjątkową uwagę na potrzeby i preferencje konsumenta, które wskazują na nastawienie nabywcy odnośnie produktu, określają chęć i priorytet posiadania (Dąbrowska i Babicz-Zielińska 2011). Preferencje poniekąd są zależne od satysfakcji nabywcy i łączą się z takimi czynnikami jak: wiek, płeć, kulturowość, religijność, wzorce, status ekonomiczny, moda, reklama oraz środowisko. Potencjalny konsument, wybierając produkt przed zakupem, najczęściej skupia uwagę na trzech szczególnych właściwościach, które świadczą o jakości. Wykazano, że głównym elementem jest zdrowotność, która obejmuje wartość odżywczą, kaloryczną, jak i dietetyczną oraz bezpieczeństwo danego produktu. Pozostałe dwie cechy to atrakcyjność sensoryczna, a tu wygląd, zapach, smakowitość, konsystencja, struktura, oraz dyspozycyjność na którą składa się łatwość przygotowania oraz wielkość jednostkowa (Lewko i Gornowicz 2016). Konsument wybierając produkt najpierw skupia swoją uwagę na wyglądzie fizycznym. Ocenia opakowanie, wygląd, przydatność do spożycia i właściwości odżywcze (Liczmańska 2015).

W niniejszych badaniach pierwszym określanym parametrem była masa i masa właściwa jaj. Jest to istotny parametr przy klasyfikacji wagowej określonej w przepisach regulujących obrót jajami (Sokołowicz i Krawczyk 2010). Na wielkość masy może wpływać dostęp niosek do wybiegu jednak w przedstawionych badaniach obie grupy były utrzymywane w podobnych warunkach (Sekeroglu i in. 2008). Ważnym czynnikiem, który odpowiada za masę jaja są niektóre cechy indywidualne niosek (wiek, genotyp) oraz tempo nieśności. Mała nieśność umożliwia kurom zgromadzenie większej ilości materiału niezbędnego do zwiększenia i budowy masy jaja (Calik 2011). Konsument niekorzystnie wyrażają się o małej wielkości jaj, ponad 74% z nich najczęściej wybiera jaja duże, lub średnie (Trziszka 2006).

W badaniach Biesiady-Drzazgi i Janochy (2009) oraz Lewko i Gornowicz (2016) wykazano, że im większą masą odznaczało się jajo tym cieńszą miało skorupę. W niniejszej pracy również wykazano, że jaja o większej masie charakteryzowały się mniejszym udziałem skorupy, zaś

większym białka. Potwierdzono badania Somes i in. (1977), którzy również wykazali, że jaja kur rasy araucana charakteryzuje korzystny udział elementów morfologicznych treści jaja, w tym większym udziałem żółtka. Biesiada-Drzazga i Janocha (2009) podają, że udział żółtka jest większy w jajach mniejszych niż w jajach o dużej masie. Tę relację potwierdzają uzyskane wyniki. Barwa żółtka była zbliżona niezależnie od pochodzenia jaj, ale stosunkowo jasna mimo wybiegowego sposobu utrzymania ptaków. Na intensywność barwy wpływa skład botaniczny oraz faza wzrostu roślin, głównie zawartość ksantofili (Wilkanowska 2011). Kaźmierska i in. (2011) wskazują, że wśród konsumentów istnieje przekonanie, że intensywniejsza barwa żółtka świadczy o większej ilości zawartych w nim składników odżywczych.

Analizowane cechy białka jaj to: masa, wysokość, jednostki Haugh'a oraz pH. Białko to wodny roztwór, koloidalny białek, zawierający cukry, sole mineralne, ale pozbawiony tłuszczu (Świerczewska i Siennicka 2002). Zarówno doświadczenie własne, jak i piśmiennictwo wskazują, że masa tego elementu jest znacznie większa w jajach o większej masie całkowitej (Lewko i Gornowicz 2016). Jednostki Haugh'a określają jakość białka i ich wartość ulega obniżeniu wraz z wiekiem kur od 89,6 do 68,8 JH (Gilewski oraz Wężyk 2015). W badaniu własnym obie rasy kur charakteryzują wysokie wartości tej cechy, co może świadczyć o stosunkowo młodym wieku niosek. Najkorzystniejsze wartości cech jakościowych białka (wysokość i jednostek Haugh'a) odnotowuje się w przypadku jaj o najniższej masie (Lee i in. 2015). Niniejsze badania potwierdzają te obserwacje.

Skorupa jest twardą wapienną osłoną, składającą się głównie z węglanu wapnia, fosforanu trójwapieniowego i węglanu magnezu. Parametry jakości skorupy oraz jej udział w jajach są determinowane genotypem, ale także czynnikami pozagenetycznymi, jak wiek niosek i ich żywienie (Scott i Silversides, 2000). Za mechaniczne właściwości skorupy odpowiada koncentracja białek matrycy oraz jej struktura (Hunton 2005). Zachodzące zmiany, takie jak zmniejszenie grubości i gęstości oraz pogorszenie wytrzymałości na zgniecenie (Hocking 2003), które obserwuje się wraz z wiekiem niosek są skutkiem spowolnienia procesu mineralizacji oraz zmniejszenia przyswajalności wapnia i fosforu z paszy. Wytrzymałość skorupy jest wyjątkowo ważna przy wyborze jaj, obniżenie tego parametru wpływa na wzrost liczby stłuczonych jaj podczas transportu i dystrybucji (Decuyper i Baerdemaeker 2006). Niektóre badania wskazują na zależność między barwą skorupy a masą właściwą jaj. Na podstawie związku tych wskaźników można pośrednio wnioskować o jakości skorupy jaja, ponieważ jej pigmentacja może zwiększać zawartość wapnia w skorupie (Ingram i in. 2008), a zatem przekładać się na jej lepszą wytrzymałość. W tych badaniach również odnotowano podobną zależność, ciemniejsze, zielone skorupy jaj od kur w typie araukana były istotnie bardziej wytrzymałe na zgniecenie niż kremowe skorupy jaj od zielononóżki kuropatwianej. Konsumenty preferują jaja o wytrzymałej, ciemnej (brązowej) skorupie (Gawęcka 2001). Natomiast na rynku amerykańskim zainteresowanie zyskują jaja o jasnej skorupie, ze względu na łatwość rozpoznania nawet drobnych zanieczyszczeń (Wężyk 2009). W niniejszych badaniach jaja o zielonej skorupie charakteryzowała stosunkowo jasna barwa skorupy (55,08%) oraz znaczna jej wytrzymałością (45,50N).

6. Podsumowanie

Mimo nieznacznie niższej masy, w stosunku do jaj od zielononóżki kuropatwianej, jaja o zielonej barwie skorupy charakteryzuje korzystny udział żółtka i dobre cechy białka wyrażające się jego wysokością i liczbą jednostek Haugh'a. Uwagę zwracają wytrzymałość i gęstość skorupy jaj, ponieważ cechy te są kluczowe w trakcie czynności związanych ze zbiorem, pakowaniem i dystrybucją surowca.

Wykazano, że jakość jaj o zielonej barwie skorupy nie odbiega istotnie od pewnego standardu wyznaczanego dla zielononóżki kuropatwianej, rasę kur bardzo popularną w gospodarstwach agroturystycznych. Wskazuje to na możliwość wykorzystywania kur w typie araukana do pozyskiwania jaj zarówno o walorach estetycznych, jak i konsumpcyjnych.

7. Literatura

Biesiada-Drzazga B, Janocha A (2009) Wpływ pochodzenia i systemu utrzymania kur na jakość jaj spożywczych. *ŻYWNÓŚĆ – Nauka. Technologia. Jakość.* 64(3): 67-74.

- Brzóska F, Dobrowolska D, Kłopotek E i in. (2012) Drób ozdobny - hodowany przez człowieka dla przyjemności. *Wiadomości Zootechniczne* 50(4): 67-76.
- Calik J (2011) Ocena jakości jaj sześciu ras kur nieśnych w zależności od ich wieku. *ŻYWNOSĆ – Nauka. Technologia. Jakość.* 5(78): 85-93.
- Calik J (2013) Zmiany cech jakościowych jaj pochodzących od kur nieśnych Żółtonóżka Kuropatwiana (Ż-33), w zależności od warunków ich przechowywania. *ŻYWNOSĆ – Nauka. Technologia. Jakość.* 2(87): 73-79.
- Chvapil S (2005) Ptaki ozdobne. Leksykon przyrody. Wydawnictwo Delta W-Z.
- Dąbrowska A, Babicz-Zielińska E (2011) Zachowania konsumentów w stosunku do żywności nowej generacji. *Hygeia Public Health* 46(1): 39-46.
- Decuyper E, Baerdemaeker De J (2006) Monitoring of eggshell breakage and eggshell strength in different production chains of consumption eggs. *Poultry Science* 85: 1670-1677.
- Fournier A (2008) Kury. Poradnik hodowcy. Wydawnictwo RM.
- Gawęcka EK (2001) Nioski jaj o białej i brązowej skorupie. *Polskie Drobiarstwo*, 11: 7-9.
- Gąsiorowski M (2010) Kilka słów o Slow Food. *Zagadnienia Doradztwa Rolniczego* 1/2: 127-132.
- Gilewski R, Wężyk S (2015) Jakość jaj w wydłużonych cyklach nieśności. *Ogólnopolski Informator Drobiarski* 10: 10-20.
- Hocking PM, Bain M, Channing CE i in. (2003) Genetic variation for egg production, egg quality and bone strength in selected and traditional breeds of laying fowl. *British Poultry Science* 44(3): 365–373.
- Hunton P (2005) Research on eggshell structure and quality: An historical overview, *Brazilian Journal of Poultry Science* 7: 67-71.
- IBM Corp. Released (2011) IBM SPSS Statistics for Windows, Version 20.0. Armonk, NY: IBM Corp.
- Ingram DR, Hatten III LF, Homan KD (2008) A study on the relationship between eggshell color and eggshell quality in commercial broiler breeders. *International Journal of Poultry Science* 7(7): 700-703.
- Każmierska M, Kosmański B, Jarosz B i in. (2011) Wpływ zróżnicowanego systemu chowu kur na zawartość luteiny w jajach. *ŻYWNOSĆ – Nauka. Technologia. Jakość.* 18(5): 75-84.
- Kozuszek R (2003) Modne piórka. *Kwietnik* 8: 52-54.
- Lee JCH, Kim SH, Sun CHW i in. (2013) Comparison of principle components and internal quality of eggs by age of laying hens and weight standard. *Korean Journal of Poultry Science* 40 (1): 49-55.
- Lewko L, Gornowicz E (2016) Jakość jaj kurzych w zależności od ich kategorii wagowej. *Roczniki Naukowe Polskiego Towarzystwa Zootechnicznego* 12(4): 85-94.
- Liczmańska K (2015) Kluczowe czynniki determinujące zachowania konsumenckie na przykładzie mieszkańców województwa Kujawsko-Pomorskiego. *Zeszyty Naukowe Uniwersytetu Szczecińskiego. Problemy Zarządzania, Finansów i Marketingu* 41(2): 107-118.
- Obrzut J, Pasternak M, Krawczyk J (2014) Możliwości wykorzystania krajowych populacji kur objętych ochroną do produkcji pulard. *Wiadomości Zootechniczne* 52: 66–75.
- Peitz B, Peitz L (2009) Hodowla kur. Wydawnictwo RM.
- Scott TA, Silversides FG (2000) The effect of storage and strain of hen on egg quality. *Poultry Science* 79(12): 1725-1729.
- Sekeroglu A, Sarica M, Demir E i in. (2008) The effects of housing system and storage length on the quality of eggs produced by two lines of laying hens. *Archiv für Geflügelkunde* 72: 106-109.
- Sokołowicz Z, Krawczyk J (2010) Znaczenie chowu drobiu w gospodarstwach agroturystycznych w opinii mieszkańców województwa podkarpackiego. *Roczniki Naukowe SERiA* 12(4): 314–316.
- Somes RG, Francis PV, Tlustohowicz JJ (1977) Protein and cholesterol content of Araucana chicken eggs. *Poultry Science* 56: 1636–1640.
- Świerczewska E, Siennicka A (2002) Jajo konsumpcyjne - budowa i jakość. *Polskie Drobiarstwo* 1: 19-25.

- Trziszka T, Nowak M, Kaźmierska M (2006) Preferencje konsumentów jaj na rynku wrocławskim. ŻYWNOSĆ – Nauka. Technologia. Jakość. 3(48): 107-117.
- Wężyk S (2009) Białe czy brązowe? Polskie Drobiarstwo 7: 38-40.
- Wilkanowska A (2011) Aspekty jakości jaj konsumpcyjnych. Hodowca Drobiu 10: 23-25.

20. Mikotoksyny produkowane przez grzyby z rodzaju *Fusarium*, *Penicillium* i *Aspergillus* i ich znaczenie dla bezpieczeństwa żywności

Mycotoxins produced by *Fusarium*, *Penicillium* and *Aspergillus* fungi species and their importance in food safety

Anna Rykaczewska

Katedra Prewencji Weterynaryjnej i Higieny Pasz, Wydział Medycyny Weterynaryjnej,
Uniwersytet Warmiński – Mazurski w Olsztynie
opiekun naukowy: dr hab. Magdalena Gajęcka prof. UWM

Anna Rykaczewska: anna.rykaczewska@uwm.edu.pl

Słowa kluczowe: paulina, aflatoksyny, zearalenon, deoksyniwalenon, ochra toksyna

Streszczenie

Mikotoksyny są wtórnymi metabolitami grzybów pleśniowych należących głównie do rodzajów *Aspergillus*, *Penicillium* i *Fusarium*. Toksyny grzybów pleśniowych wykazują szkodliwe działanie na organizm zarówno zwierząt jak i ludzi, a w niewielkich nawet dawkach mogą wykazywać właściwości rakotwórcze, mutagenne, teratogenne i estrogenne. Opisane w niniejszym artykule aflatoksyny, trichoteceny, deoksyniwalenol, zearalenon, patulina, ochra toksyna oraz fumonizyny zaliczane są do miko toksyn stanowiących największe zagrożenie dla bezpieczeństwa żywności. Kluczową rolę w zabezpieczeniu ludzi i zwierząt przed negatywnym wpływem mikotoksyn na ich organizm odgrywa monitoring jakości zdrowotnej roślinnej produkcji pierwotnej, podczas pozyskiwania i przechowywania materiałów roślinnych oraz podczas produkcji i dystrybucji środków spożywczych i pasz pochodzenia roślinnego. Nie bez znaczenia jest też system RASFF (Rapid Alert System for Food and Feed).

1. Wstęp

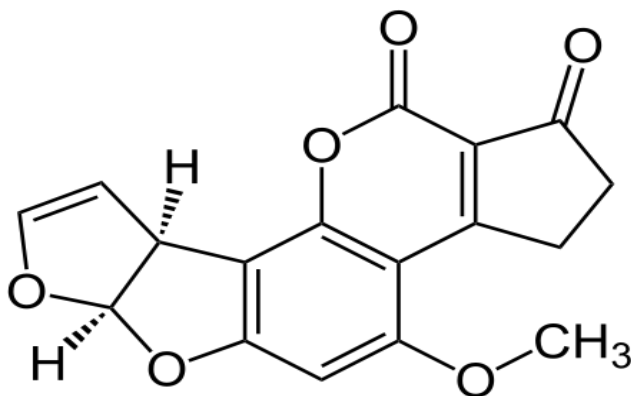
Mikotoksyny są wtórnymi metabolitami grzybów pleśniowych należących głównie do rodzajów *Aspergillus*, *Penicillium* i *Fusarium*. Ze względu na ich budowę chemiczną zalicza się je do węglowodorów aromatycznych rzadziej alifatycznych. Mała masa cząsteczkowa mikotoksyn decyduje o ich znacznej odporności na czynniki środowiskowe oraz o braku lub słabych właściwościach immunogennych. Duży problem dla bezpieczeństwa ludzi i zwierząt stanowi ich znaczna oporność na wysoką temperaturę co uniemożliwia neutralizację tych związków w procesach przetworstwa żywności i produkcji pasz (Borowski i Dulcet 2011). Mikotoksyny mogą być wytwarzane przez grzyby zarówno podczas wzrostu roślin jak również w czasie ich przechowywania, transportu i przetwarzania, a ich produkcja przez grzyby pleśniowe zależy od sprzyjających temu procesowi warunków środowiska (Suchorzynska i Misiewicz 2009).

Toksyny grzybów pleśniowych wykazują szkodliwe działanie na organizm zarówno zwierząt jak i ludzi, a w niewielkich nawet dawkach mogą wykazywać właściwości rakotwórcze, mutagenne, teratogenne i estrogenne. Zanieczyszczenie żywności i pasz mikotoksynami uznaje się za problem globalny z uwagi na szerokie rozpowszechnienie grzybów pleśniowych na świecie (Cegielska-Radziejewska i in. 2009).

2. Opis zagadnienia i przegląd literatury

Aflatoksyny wytwarzane głównie przez *A. flavus* i *A. parasiticus* są uznawane za najbardziej niebezpieczne mikotoksyny. W produktach spożywczych pochodzenia zwierzęcego najczęściej stwierdza się obecność aflatoksyny B1 i G1. Duży problem stanowi również aflatoksyna M1 przenikająca do mleka krów. Jest ona również wykrywana w mięsie tych zwierząt spożywających spleśniałą paszę. Główną drogą narażenia człowieka na aflatoksyny jest droga pokarmowa. Dostają się one do organizmu poprzez spożywanie skażonych produktów rolnych np.: owoców suszonych, ziaren zbóż głównie kukurydzy i ryżu, olejów roślinnych, przypraw oraz nabiału i mięsa

pochodzących od zwierząt skarmianych spleśniałymi paszami. Aflatoksyny posiadają właściwości kancerogenne, mutagenne, immunotoksyczne oraz teratogenne. Do najczęstszych skutków ich oddziaływania na organizm ludzki zaliczamy uszkodzenie i zaburzenie funkcjonowania nerek, wątroby oraz ośrodkowego układu nerwowego. Nasilenie objawów chorobowych zależy przede wszystkim od pochłoniętej dawki i częstotliwości ekspozycji. Charakterystyczne dla ostrych zatruc są m.in. wymioty, żółtaczkę, obrzęk płuc, krwotoki do narządów wewnętrznych, drgawki i śpiączka. Zatrucia przewlekłe mogą prowadzić do marskości wątroby, zaburzenia rozwoju, upośledzeń umysłowych, alergii skórnych i oddechowych oraz obrzęków kończyn dolnych (Kowalska i in. 2017).



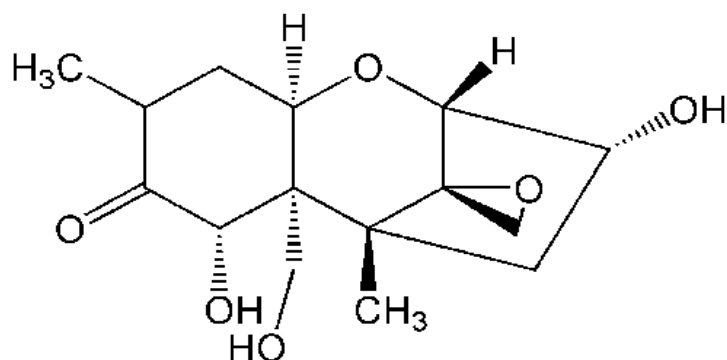
Rys. 1. Wzór strukturalny aflatoksyny B1.

Trichoteceny są metabolitami grzybów z rodzaju *Fusarium*. Wyróżnia się trichoteceny A i B oraz C i D. Do grupy A zaliczane są silne toksyny T-2 i HT-2, które wywołują zapalenia skóry. Głównymi reprezentantami grupy B są deoksyniwalenol (DON, womitoksyna), nazywany toksyną wymiotną i niwalenol. Natomiast trichoteceny C i D to grupa toksyn wielocyklicznych, które w doświadczeniach nakulturach komórek okazały się dziesięciokrotnie silniejsze niż trichoteceny z grupy A.. Najsilniejszymi toksynami wśród trichotecen są jednak T-2 toksyna i diacetokscirpenol (DAS). Występują zdecydowanie rzadziej niż deoksyniwalenon i są typowe dla krajów o chłodnym klimacie. DON natomiast ma największe znaczenie toksykologiczne, ponieważ może być on wytwarzany już na polu niekiedy równocześnie z zearalenonem (Wróbel 2014).

Do Trichotecenów typu A należą między innymi Toksyna T-2 i HT-2. Toksyna T-2 bardzo łatwo metabolizuje do toksyny HT-2. Mikotoksyny te wytwarzane są przez kilka gatunków grzybów z rodzaju *Fusarium*, przede wszystkim przez głównie *Fusarium sporotrichioides* jak również *F. poae*, *F. equiseti*, *F. acuminatum* i *F. langsethiae*. Toksynę T-2 oraz HT-2 wykrywa się głównie w zbożach, najczęściej w owsie, ale też w pszenicy, życie, kukurydzy czy jęczmieniu. Występowaniu tych związków sprzyja dodatkowo zbyt późny zbiór zbóż, zwłaszcza podczas chłodnej pogody. Podobnie jak inne trichoteceny pozostają stabilne podczas obróbki termicznej i nie ulegają rozkładowi pod wpływem wysokiej temperatury. Toksyna T-2 zaliczana jest do związków o dużej toksyczności ostrej z uwagi na wysoki LD₅₀, który wynosi od 0,06 do 10 mg kg⁻¹ m.c. Obie mikotoksyny mają bardzo szeroki zakres szkodliwego oddziaływania na organizmy żywe. Hamują syntezę DNA i RNA a co za tym idzie również syntezę białka w komórce, w warunkach *in vitro* wywołują apoptozę oraz zakłócają transport elektronów w mitochondriach. Związki te mają także działanie neurotoksyczne, hematotoksyczne oraz immunotoksyczne oraz wykazują właściwości silnie drażniące śluzówki i skórę. Trichoteceny z grupy A uważa się za przyczynę toksycznej aleukii pokoromowej na terenie związku Radzieckiego w latach 1941-47 objawiającą się krwawieniami, wymiotami, leukopenią, różnorodnymi zaburzeniami ze strony układu nerwowego i nie rzadko kończąca się śmiercią (Pustopolski i in. 2008).

Z kolei mikotoksyny fuzaryjne m. in. deoksyniwalenol (DON) zearalenon (ZEN) należą do wtórnych metabolitów grzybów pleśniowych z rodzaju *Fusarium*. Mogą występować na wszystkich gatunkach zbóż, traw oraz zimować w nasionach, resztkach poźniowych oraz w glebie. DON należący

do trichotecenów wytwarzany jest przez *F. graminearum* i *F. culmorum*. Mikotoksyna ta jest szczególnie niebezpieczna ponieważ ze względu na swoją budowę może wnikać do organizmu człowieka i zwierząt przez przewód pokarmowy, drogą inhalacji oraz przez skórę. Narażenie dużymi dawkami DON powoduje zmiany anatomopatologiczne w przewodzie pokarmowym oraz osłabia aktywność miejscową i ogólną układu immunologicznego. Do głównych objawów długotrwałego narażenia na DON zaliczyć można spadek apetytu, wymioty, krwotoki, zapalenie skóry, uszkodzenie szpiku kostnego oraz anemię (Selwet 2010). ZEN jest toksyną o działaniu estrogenopodobnym, produkowanym przez *F. graminearum* i *F. culmorum*. Związek ten charakteryzuje się małą toksycznością ostrą jednakże obecność tej mikotoksyny w pobieranej przez zwierzęta paszy przez dłuższy okres czasu może spowodować silne perturbacje w układzie rozrodczym. Wynika to z wywoływania przez nią zaburzeń cyklu płciowego prowadzących nawet do bezpłodności (głównie u loszek). Brak dotychczas jednoznacznych dowodów na toksyczne oddziaływanie zearalenonu na organizm człowieka niemniej istnieją sugestie co do wywoływania zmian nowotworowych macicy i jajników zarówno u młodych kobiet jak i tych w okresie menopauzy.



Rys. 2. Wzór strukturalny strukturalny deoksyniwalenolu.

Dużym zagrożeniem dla zdrowia konsumentów jest ochratoksyna A (OTA). Wytwarzana jest ona w zależności od warunków klimatycznych przez *Penicillium verrucosum* (klimat umiarkowany) oraz niektóre gatunki *Aspergillus* (w cieplejszych i tropikalnych obszarach świata). Uważa się, że mikotoksyna ta wytwarzana jest przez grzyby po zbiorze roślin i zbóż i wykrywana jest głównie w źle wysuszonych surowcach oraz składowanych w warunkach wysokiej temperatury i wilgotności. Występowanie OTA stwierdzono zarówno w zbożach jak i wielu innych środkach spożywczych m. In. W ziarnach soi, ciecierzycy, fasoli, ziarnach surowej kawy, ziarnach kakao, winie i soku z winogron a także w przetworach mięsnych zawierających krew, suszonych owocach takich jak rodzynki czy porzeczeki. (Pokrzywa i In., 2007) Ochratoksyna A (OTA) wykazuje działanie nefrotoksyczne, hepatotoksyczne, immunosupresyjne oraz prawdopodobnie działanie teratogenne i kancerogenne. Odkłada się ona w nerkach, a następnie w wątrobie, mięśniach i tkance tłuszczowej. U ludzi jest czynnikiem etiologicznym endemicznej bałkańskiej nefropatii oraz choroby endemicznej w Danii (Ptawińska-Czarnak i Zarzyńska 2010).

Patulina jest toksycznym, wtórnym metabolitem niektórych gatunków grzybów, zarówno z rodzaju *Aspergillus*, jak i *Penicillium*. Paulina w warunkach naturalnych wykrywana jest najczęściej w jabłkach i soku jabłkowym, w mniejszym stopniu natomiast w innych owocach (bananach, ananasach, winogronach, brzoskwiniach i morelach) z objawami brązowej zgnilizny tzw. Brown rot. W znacznie mniejszych ilościach wykrywana jest też w spleśniałych kompotach i soku gruszkowym (Pokrzywa i in. 2007). Długotrwałe narażenie na patulinę może być przyczyną wielu przewlekłych chorób. Paulina powoduje m. in. zaburzenia ze strony przewodu pokarmowego np. uszkodzenia jelit, w tym zwyrodnienie komórek nabłonkowych, jak również zapalenia, owrzodzenia i krwawienia. Ma ona także działanie rakotwórcze, teratogenne, genotoksyczne, immunotoksyczne oraz neurotoksyczne (Polak-Śliwińska i in. 2013).

Fumonizyny to grupa mikotoksyn o podobnej strukturze chemicznej występujących głównie w ziarnach kukurydzy i w produktach z ich przetwórstwa zarówno przeznaczonych na cele spożywcze jak i paszowe. Mikotoksyny te produkowane są przez endofity kukurydzy tj. *Fusarium verticillioides* (występuje w zależności od warunków środowiska panujących w okresie wegetacyjnym) oraz *F. proliferatum* (występowanie sporadyczne). Poznano około piętnastu analogów tych związków, jednak największe znaczenie dla bezpieczeństwa żywności ma fumonizyna B1. Wszystkie fumonizyny zaliczamy do neurotoksyn. Powodują one także uszkodzenie nerek (Wróbel 2014).

Tab. 1. Występowania wybranych mikotoksyn w żywności.

| ZANIECZYSZCZ ONE PRODUKTY | NAJWAŻNIEJSZE MIKOTOKSYNY | | | | | |
|---|---------------------------|------------|-----|-----|-------------|----------|
| | OTA | FUMONIZYNY | ZEN | DON | AFLATOKSYNY | PATULINA |
| Zboża | | | | | | |
| Owies | | | | * | | |
| Pszenica | | | * | * | | |
| Jęczmień | | | * | * | | |
| Kukurydza | * | * | * | * | * | |
| Ryż | | * | * | * | | |
| Żyto | | | | * | | |
| Sorgo | | * | | * | | |
| Przetwory np. pieczywo, kasze | * | * | * | * | * | |
| Inne produkty rolne | | | | | | |
| Fasola zwykła | | * | | | * | |
| kakao | * | | | | | |
| Kawa | * | | | | | |
| Piwo | * | * | * | * | * | |
| Wino | * | | | | | |
| Owoce suszone | * | | | | * | |
| Owoce liofilizowane | * | | * | | | |
| Orzechy | | | | | * | |
| Owoce świeże | | | | | | * |
| Soki owocowe | | | | | | * |
| Przyprawy | | | | | * | |
| Produkty pochodzenia Zwierzęcego | | | | | | |
| Mięso | | | * | | | |
| Mleko | | | * | | * | |
| Jaja | | | * | | | |
| Przetwory np. wędliny, kielbasy | | | | | | * |

Synteza większości mikotoksyn znajdujących się w paszach ma miejsce jeszcze na polu. Zapobieganie występowania tych związków w gotowej paszy wymaga odpowiednich zabiegów prewencyjnych począwszy od pola a na gotowej paszy kończąc. Aby ograniczyć rozwój grzybów

toksynotwórczych podczas uprawy i zbiorów zaleca się przede wszystkim wybieranie odmian roślin odpornych na choroby grzybowe, stosowanie płodozmianu, zastosowania nawozów sztucznych, fungicydów, olejków eterycznych jak również przestrzeganie terminów wysiewu nasion, kontrolę liczebności gryzoni, owadów i chwastów. Istotne znaczenie ma również staranny zbiór płodów rolnych w sposób uniemożliwiający zanieczyszczenie płodów rolnych ziemią w której bytują zarodniki grzybów. Możliwe jest również wprowadzanie konkurencyjnych gatunków grzybów pleśniowych, które zasiedlając niszę zajmowaną przez gatunki toksynotwórcze, mogą znaczenie ograniczyć ich rozwój a w konsekwencji zanieczyszczenie surowca do produkcji paszy mikotoksynami. Kolejny etap zapobiegania zanieczyszczenia pasz mikotoksynami to odpowiednie ich magazynowanie. Powinno uwzględniać ono cechy genetyczne oraz wymagania poszczególnych surowców, a także zanieczyszczenie ich ziemią, kurzem, fragmentami chwastów (lokalnie zwiększając poziom wilgotności plonów) jak również stopień uszkodzenia przez owady. Bardzo ważna jest też stała kontrola temperatury i wilgotności panującej w magazynie (Wróbel 2014).

Kluczową rolę w zabezpieczeniu ludzi i zwierząt przed negatywnym wpływem mikotoksyn na ich organizm odgrywa monitoring jakości zdrowotnej roślinnej produkcji pierwotnej, podczas pozyskiwania i przechowywania materiałów roślinnych oraz podczas produkcji i dystrybucji środków spożywczych i pasz pochodzenia roślinnego. Nie bez znaczenia jest też system RASFF (Rapid Alert System for Food and Feed). Ma on

ogromne znaczenie w swobodnym przepływie informacji i towarów między państwami jakości zdrowotnej materiałów roślinnych lub produktów z nich pozyskiwanych. Na podstawie Rozporządzenia WE nr 178/2002 Parlamentu Europejskiego i Rady ustanowiono ogólne zasady i wymagania prawa żywnościowego powołujące Europejski Urząd ds. Bezpieczeństwa Żywności oraz ustanowiono procedury w zakresie bezpieczeństwa żywności. System ten ma ogromne znaczenie w zapewnianiu swobodnego przepływu bezpiecznej i zdrowej żywności. Działa on na zasadzie wymiany informacji na temat produktów żywnościowych. Obowiązuje w nim prosta zasada działania – Państwa Członkowskie Unii Europejskiej tworzą punkty kontaktowe, które zbierają informację dotyczące niebezpieczeństwa pochodzącego z pasz lub żywności, a następnie przekazuje je do Komisji Europejskiej, która niezwłocznie powiadamia pozostałych członków sieci. System ten zapewnia szybką reakcję w przypadku zagrożenia konsumentów żywnością skażoną drobnoustrojami patogennymi, pestycydami oraz opisywanymi w niniejszej pracy mikotoksynami. Zgłoszenie odnoszące się do obecności mikotoksyn w produktach rolno-spożywczych stanowią trzecią grupę najczęściej przekazywanych powiadomień do RASFF jednak z biegiem czasu ich ilość stopniowo się zmniejsza (Buczkowska i in. 2014).

3. Podsumowanie

Mikotoksyny stanowią bardzo duże zagrożenie dla bezpieczeństwa żywności i pasz. Powodują one poważne uszkodzenia narządów wewnętrznych, wywołują zaburzenia funkcjonowania całego organizmu, a spożywanie ich w dużych ilościach zarówno przez ludzi i zwierząt nierzadko może prowadzić do śmierci. Ze względu na to monitoring jakości zdrowotnej oraz system RASFF odgrywają kluczową rolę w zapewnieniu ochrony życia i zdrowia zwierząt i ludzi w odniesieniu do problemu skażenia pasz i żywności grzybami pleśniowymi. System RASFF stanowi obecnie ważny element nadzoru sanitarno - epidemiologicznego oraz jest on niezbędny do zapewnienia bezpieczeństwa żywności i pasz. Dzięki sprawnemu działaniu, współpracy między Państwami Członkowskimi Unii Europejskiej oraz poszukiwania coraz doskonalszych metod badawczych i analitycznych konsumenci mogą mieć pewność, że żywność wprowadzana na rynek jest bezpieczna, a jej produkcja stale kontrolowana u tych związków na zdrowie zwierząt i ludzi.

4. Literatura

- Borowski S, Dulcet E (2011) Aplikacja dodatków do pasz w aspekcie jakości uzyskanej żywności. Inżynieria i aparatura chemiczna 50 (2): 30-31.
- Buczkowska M, Sadowski T, Gadomska J (2014) System wczesnego ostrzegania dotyczący żywności i pasz. Problemy Higieny i Epidemiologii, 95(3): 550-555.

- Cegielska-Radziejewska R, Szablewski T, Karolczak K i in. (2009) Ocena zawartości mikotoksyn w zbożach paszowych i paszach metodą immunoenzymatyczną. *Nauka Przyroda Technologie* 3 (4): 1-9.
- Kowalska A, Walkiewicz K, Kozieł P i in. (2017) Aflatoksyny –charakterystyka i wpływ na zdrowie człowieka: *Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej* 71: 315-327.
- Pokrzywa P, Cieślak E, Topolska K (2007) Ocena zawartości mikotoksyn w wybranych produktach spożywczych: *ZYWNOŚĆ. Nauka. Technologia. Jakość* 3 (52): 139 – 146.
- Polak-Śliwińska M, Łamejko Ł, Kubiak MS (2013) Zawartość patuliny i 5-HMF w sokach owocowo-warzywnych z produkcji ekologicznej i komercyjnej: *Bromatologia i Chemia Toksykologiczna XLVI* (1): 80 – 88
- Ptawińska-Czarnak J, Zarzyńska J (2010) Mikotoksyny w żywności pochodzenia zwierzęcego: *Mikologia Lekarska* 17 (2): 128-133
- Pustopolski J, Rybińska K, Lenzion E i in. (2008) Badania monitoringowe w zakresie oznaczania poziomu toksyn T-2 i HT- 2 w przetworach zbożowych: *Roczniki Państwowego Zakładu Higieny* 59(4): 429-435.
- Selwet M (2010) Negatywne aspekty występowania wybranych mikotoksyn w paszach. *Wiadomości Zootechniczne, R. XLVIII* (2010) 1: 9–13.
- Suchorzyńska M, Misiewicz A (2009) Mikotoksynotwórcze grzyby fitopatogeniczne z rodzaju *Fusarium* i ich wyrywanie technikami PCR. *Postępy Mikrobiologii* 48(3): 221-230.
- Wróbel B (2014) Zagrożenia zwierząt i ludzi toksynami grzybów pleśniowych zawartych w paszach i żywności. *Woda-Środowisko-Obszary Wiejskie* 47: 159-176.

21. Analiza fizykochemiczna i organoleptyczna produktów seropodobnych

Physicochemical and organoleptic analysis of cheese-like products

Toczek Kamil⁽¹⁾, Nastaj Maciej⁽²⁾, Szafrńska Jagoda⁽²⁾, Sołowiej Bartosz⁽²⁾

⁽¹⁾Katedra Biotechnologii, Mikrobiologii i Żywienia Człowieka, Wydział Nauk o Żywności i Biotechnologii, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie

⁽²⁾Zakład Technologii Mleka i Hydrokoloidów Katedry Technologii Surowców Pochodzenia Zwierzęcego, Wydział Nauk o Żywności i Biotechnologii, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie
Opiekun naukowy: dr hab. Paweł Glibowski, prof. nadzw. UP

Toczek Kamil: kamil.tocz@gmail.com

Słowa kluczowe: produkty seropodobne, topliwość, właściwości fizykochemiczne, ocena organoleptyczna

Streszczenie

W ostatnim czasie asortyment produktów mleczarskich poszerza się o produkty, w których dokonuje się substytucji naturalnych składników mleka. Produkt seropodobny, zawiera w swoim składzie substytuty tłuszczu mlekowego oraz białek. Celem niniejszej pracy była ocena właściwości fizykochemicznych i organoleptycznych produktów seropodobnych. Materiał badany składał się z wyrobów sześciu marek dostępnych na rynku lubelskim. Przeprowadzono ocenę organoleptyczną, oznaczono kwasowość ogólną, topliwość, zawartość soli kuchennej oraz wykonano profilową analizę tekstury (TPA). Wyroby seropodobne charakteryzowały się zbliżonymi cechami organoleptycznymi w stosunku do serów naturalnych. Różnice można było dostrzec głównie w smaku i zapachu produktów.

1. Wstęp

Mleko i jego przetwory są atrakcyjnymi produktami z punktu widzenia konsumentów. W ostatnim czasie asortyment produktów mleczarskich poszerza się o produkty, w których dokonuje się substytucji naturalnych składników mleka (Aljewicz i in. 2011). Wyroby seropodobne czy też analogi sera, to produkty, które zachowują niektóre cechy upodabniające je do sera (smak, zapach, konsystencję, barwę), zmiany dotyczą ich składu (Paprocki 2010). Produkt seropodobny zawiera w swoim składzie substytuty tłuszczu mlekowego oraz białek. Są nimi głównie, tańsze odpowiedniki roślinne. Do alternatywnych źródeł białka zaliczyć można m.in. kazeiniany i preparaty białek mleka, zamiennikami tłuszczu mlecznego są oleje roślinne, np. palmowy, kokosowy czy kukurydziany (Aljewicz i in. 2011; Chavan i Jana 2007). Istnieje kilka czynników, dzięki którym wyroby seropodobne są atrakcyjnym towarem rynkowym. Do głównych należy zaliczyć ich cenę. Substytuty składników mleka są tańsze, co wpływa na obniżenie ceny produktu finalnego nawet o połowę (Paprocki 2010). Ponadto, produkty zastępcze oferują szeroką gamę funkcjonalności w niższej cenie, dają możliwość wytworzenia produktu, który będzie spełniał szczególne potrzeby żywieniowe (np. o niższej zawartości laktozy, tłuszczów nasyconych i cholesterolu, podwyższonej zawartości witamin i minerałów) (Bachmann 2001; Chavan i Jana 2007; Aljewicz i in. 2011).

Zgodnie z prawem, produkty imitujące ser, nie mogą zawierać w swojej nazwie słowa „ser”. Nazwa ta jest zarezerwowana wyłącznie dla produktów uzyskiwanych w 100% z mleka krowiego. Wyroby, które w swoim składzie zawierają substytuty składników mleka, nazywane są produktami seropodobnymi i analogami sera (Rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady (UE) nr 1388/2013 z dnia 17 grudnia 2013 r.).

W Polsce, zwiększa się zainteresowanie wyrobami seropodobnymi nie tylko wśród przedstawicieli usług sektora żywnościowego, ale także klientów detalicznych. Grupa akceptująca takiego rodzaju produkty stale powiększa się, ze względu na sytuację ekonomiczną. Obawy Polaków o najbliższą przyszłość powodują, że szukają oni tańszych odpowiedników wśród produktów codziennego zakupu, w których znajduje się ser. Zamienniki sera naturalnego nie są wyrobami niebezpiecznymi, są produkowane w takich samych warunkach, z zachowaniem niezbędnych i najwyższych standardów produkcyjnych oraz technologicznych. Klienci nie chcą zmieniać swoich

przyzwyczajęń i upodobań żywieniowych, w poszukiwaniu oszczędności sięgają po tańsze odpowiedniki produktów kupowanych dotychczas. Producenci wyrobów mlecznych wciąż wzbogacają swój asortyment o analogi serów żółtych, topionych, jak również pleśniowych.

Celem pracy była ocena właściwości fizykochemicznych i organoleptycznych produktów seropodobnych, na przykładzie sześciu wybranych wyrobów dostępnych na rynku.

2. Materiał i metody

Do badań użyto sześć różnych wyrobów seropodobnych. Ocenie poddane zostały wyroby sześciu marek (nazw producentów w pracy nie zamieszczono). Badanie poszczególnych cech wyrobów seropodobnych przeprowadzono na wyrobach świeżych.

Ogół właściwości produktu oraz jego atrakcyjność oceniano za pomocą zmysłów. Ocenie podlegały następujące cechy: wygląd zewnętrzny i wewnętrzny – kształt, skórka, barwa oraz konsystencja, zapach i smakowitość. Na podstawie PN-ISO 22935-2 i PN-ISO 22935-3.

Oznaczenie zawartości soli kuchennej polegało na wytrąceniu białka kwasem azotowym z wodnego wyciągu wyrobu seropodobnego i oznaczeniu chlorków poprzez miareczkowanie nadmiaru azotanu srebra roztworem rodanku amonu.

Oznaczenie kwasowości ogólnej wykonano poprzez miareczkowanie zawiesiny wyrobu seropodobnego w wodzie, roztworem wodorotlenku sodowego, wobec fenoloftaleiny. Kwasowość została obliczona wg wzoru i wyrażona w stopniach Soxhleeta-Henkla.

Pomiary pH były wykonywane przy pomocy pehametru (ELMETRON, CP-401, Zabrze, Polska), każdorazowo w trzech powtórzeniach.

Topliwość wyrobów badano w oparciu o zmodyfikowany test Schreiber'a. Z próbek wyrobów seropodobnych wycięto krążki o średnicy 41 mm i grubości 5 mm. Następnie umieszczano je na środku płytek Petriego, korzystając z testu Schreiber'a i kolejno badano ich topliwość w kuchence mikrofalowej o mocy 300 W w czasie 30 s. Po wyjęciu płytki z roztopioną próbką, przykładano do wzorca oraz sumowano wartości w sześciu wyznaczonych punktach, dzieląc przez 6 i w ten sposób uzyskiwano średnią topliwość badanego wyrobu seropodobnego. Zakres testu wynosi 0 - 10 jednostek. Wynik poniżej 4 oznacza nieodpowiednią topliwość, wartość powyżej 4 topliwość dobrą. Wykonywano 2 pomiary dla każdego rodzaju wyrobu.

Profilowa analiza tekstury (TPA) została wykonana za pomocą teksturometru TA-XT2i (Stable Micro Systems, Surrey, Wielka Brytania). Z każdego rodzaju wyrobu badano 3 próbki. Uzyskane wyniki były rejestrowane komputerowo za pomocą programu Texture Expert. Program pozwolił określić następujące cechy: twardość, przyległość, spójność, sprężystość i żujność wyrobów seropodobnych.

3. Wyniki i dyskusja

Wyroby seropodobne należą do asortymentu produktów mleczarskich, mimo iż naturalne składniki mleka zastępowane są w nich tańszymi odpowiednikami, np. tłuszczem roślinnym. Zgodnie z obowiązującymi przepisami, wyroby takie nie mogą nosić nazwy zastrzeżonej dla oryginalnych produktów mleczarskich, tj. ser. Natomiast podlegają one takiemu samemu sposobowi kontroli i oceny. Wyniki oceny organoleptycznej przedstawiono w poniższej tabeli (Tab.1). Ocena pozwoliła stwierdzić, że nie wszystkie produkty swoim wyglądem, zapachem i smakiem, przypominały prawdziwy ser. Zapach i smak wyrobów w większości przypadków był nieczysty, mało wyrazisty, poszczególne cechy odbiegały od tych przyjętych za pożądane i typowe dla produktu, jakim jest ser. Cechy organoleptyczne wyrobów seropodobnych podobnie jak serów naturalnych tworzone są na każdym z etapów procesu technologicznego. Pożądany wyrób seropodobny, tak samo jak ser, musi spełniać określone wymagania konsumentów. Klienci zwracają szczególną uwagę na cechy organoleptyczne takie jak barwa, konsystencja, zapach i smak (Czechowska-Liszka 2007). Z badań przeprowadzonych przez Dysz i Krasnowską (2013), znaczna większość konsumentów wie co to są wyroby seropodobne. 61 % natomiast deklarowało, że nie potrafiło odróżnić produktu seropodobnego od sera. Według Departamentu Inspekcji Handlowej różnica między serem a wyrobem seropodobnym jest duża nie tylko w ocenie organoleptycznej, dlatego istotne jest odpowiednie oznakowanie tego

rodzaju produktów. Można przyjąć, że badane wyroby seropodobne charakteryzują się zbliżonymi cechami do serów. Różnica uwidacznia się głównie w smaku i zapachu, które nie są tak wyraziste,

Tab.1. Ocena organoleptyczna badanych wyrobów seropodobnych.

| Produkt | Produkt 1 | Produkt 2 | Produkt 3 | Produkt 4 | Produkt 5 | Produkt 6 |
|--|---|--|---|--|--|---------------------------------------|
| Wygląd zewnętrzny: | bez ciał obcych, wolnego tłuszczu, pleśni, cząstek, przypalonych, powierzchniowych zmian barwy, wklęśnień | | | | | |
| Kształt | prostopadłościenny, regularny, | cylintryczny, zwarty, regularny | prostopadłościenny, zwarty, regularny | prostopadłościenny, zwarty, regularny | prostopadłościenny, zwarty, regularny, widoczne drobne dziurki | prostopadłościenny, zwarty, regularny |
| Barwa skórki/powierzchnia | jasnozłota, jednolita, sucha, krucha, bez plam | skórka żółto-brązowa, gładka, jednolita, bez plam, bez uszkodzeń mechanicznych, czysta, zwartą | jasnozłota, jednolita, bez plam, | żółto-złota, intensywna, jednolita, zwartą, bez plam | jasnozłota, jednolita, bez plam, zwartą | żółta, jednolita, bez plam |
| Wygląd wewnętrzny: powierzchnia cięcia/barwa | sucha, jasnozłota, błada, matowa, jednolita w całej masie, chropowata, krucha | gładka, barwa wyrobu żółta, jednolita w całej masie | wilgotna, jasnozłota, jednolita w całej masie | gładka, żółto-złota, intensywna, jednolita w całej masie | gładka, barwa wyrobu jasnozłota, jednolita w masie, tłusta | gładka, jasnozłota, błada, tłusta |
| Konsystencja (mięsz) | krucha, łamiwa, mięczysta, luźna tekstura | zwartą, elastyczna, delikatnie gumowata, | krucha, łamiwa | elastyczna, zwartą, gumowa, wilgotna | elastyczna, zwartą, gumowa, ciagliwa, wilgotna, mazista | elastyczna, zwartą, wilgotna |
| Zapach | intensywny, maślany, | serowy, wędzony, łagodny | intensywny, maślany | intensywny, serowy | serowy, słabo wyczuwalny | serowy, słabo wyczuwalny |
| Smak | mdły, tekturowy, nieczysty | smak serowy, słony wędzony, mocny, wyrazisty | smak delikatny, słabo wyczuwalny | smak śmietankowy, łagodny, kwaskowy | łagodny, mdły, tekturowy, mało intensywny, | serowy, kwaśny |

oraz konsystencji. Ze względu na użycie substytutów pochodzenia mlecznego, trudno odróżnić ser od wyrobu seropodobnego na podstawie barwy.

Dodatek soli w wyrobie seropodobnym ma spełniać dwie zasadnicze funkcje: być konserwantem i zapobiegać rozwojowi szkodliwych drobnoustrojów oraz decydować o smaku i konsystencji produktu. Zawartość soli podobnie jak inne cechy fizykochemiczne produktów imitujących ser nie są normalizowane. Według Bachmann'a (2001), zawartość NaCl w analogach serowych wynosi od 1,5 do 3,5 %. Wartości te są różne w zależności od typu wyrobów. W tabeli (Tab.2) przedstawiono zawartość procentową soli kuchennej w wyrobach seropodobnych. W przypadku wszystkich badanych rodzajów wyrobów seropodobnych, zawartość soli była zbliżona i mieściła się w granicach 1,87 - 2,34 %. Z przeprowadzonego oznaczenia wynika, że najwyższą zawartością soli odznaczał się produkt seropodobny oznaczony numerem 2. Wynik ten może stanowić potwierdzenie oceny organoleptycznej, w której to wychwycono słony smak wyrobu w porównaniu z innymi produktami (Tab.1).

Tab. 2. Zawartość soli kuchennej w badanych wyrobach seropodobnych.

| Wyrób | Zawartość soli kuchennej (w %) |
|-----------|--------------------------------|
| Produkt 1 | 1,90 |
| Produkt 2 | 2,34 |
| Produkt 3 | 1,87 |
| Produkt 4 | 2,19 |
| Produkt 5 | 2,00 |
| Produkt 6 | 2,20 |

W badanych wyrobach seropodobnych oznaczono pH przy użyciu pH-metru oraz kwasowość potencjalną – wyrażoną w °SH – metodą miareczkową. Wyniki oznaczeń przedstawiono w poniższej tabeli (Tab.3). Stwierdzono stosunkowo duże różnice w wartościach kwasowości wyrobów, które wynosiły od 40 do 72 °SH. Wartość pH różniła się znacznie w przypadku 2 z 6 badanych wyrobów, w których wykazano wartość powyżej 6. W pozostałych produktach wartości pH wynosiły od 5,03 do 5,35. Czechowska-Liszka (2007) w swoich badaniach wskazywała duże różnice w kwasowości poszczególnych serów (20 do 50°SH) oraz brak wpływu tego parametru na cechy sensoryczne wyrobu.

Tab. 3. Kwasowość ogólna i pH badanych wyrobów seropodobnych.

| Wyrób | pH | Kwasowość ogólna (w °SH) |
|-----------|------|--------------------------|
| Produkt 1 | 6,10 | 40,00 |
| Produkt 2 | 5,13 | 50,00 |
| Produkt 3 | 6,08 | 50,00 |
| Produkt 4 | 5,03 | 60,00 |
| Produkt 5 | 5,21 | 46,00 |
| Produkt 6 | 5,35 | 72,00 |

Sołowiej i in. (2014) wykazali w swoich badaniach, że topliwość analogów sera zmniejszała się wraz ze zwiększaniem zawartości kazeiny. Podobna zależność występuje w przypadku dodatku mączki chleba świętojańskiego. Po jej dodaniu do produktu topliwość analogów zmniejszała się. Mimo wszystko, topliwość badanych analogów sera z tymi dodatkami za pomocą testu Schreiber'a,

charakteryzowała się akceptowalną liczbą powyżej 4 jednostek. W badaniach własnych stwierdzono, iż analizowane wyroby seropodobne nie charakteryzowały się dobrą topliwością. Pięć produktów z sześciu badanych, osiągnęło wynik poniżej 4 jednostek. Jedna próba charakteryzowała się zadowalającą liczbą równą 5,08 (Tab.4). Istotne jest, iż produkt o najlepszej spośród badanych topliwości charakteryzował się najniższą twardością, potwierdzając tym samym przedstawioną w badaniach Sołowieja i Gustawa (2013) zależność między twardością i topliwością analogów sera: topliwość sera jest odwrotnie proporcjonalna do jego twardości. Badania własne, pozwoliły również stwierdzić, że zastosoane do produkcji wyrobów seropodobnych substytuty tłuszczu i białek, wpłynęły negatywnie na ich topliwość. Nieodpowiednia topliwość dyskwalifikuje użycie tych wyrobów jako dodatek do tostów i pizzy.

Tab. 4. Topliwość badanych wyrobów seropodobnych (wynik poniżej 4 - nieodpowiednia topliwość; powyżej 4 - dobra topliwość).

| Wyrób | Pomiar | | Średnia ± odchylenie standardowe |
|-----------|--------|------|----------------------------------|
| | I | II | |
| Produkt 1 | 2,50 | 2,16 | 2,33 ± 0.24 |
| Produkt 2 | 2,00 | 2,30 | 2,15 ± 0.57 |
| Produkt 3 | 3,67 | 3,33 | 3,67 ± 0.24 |
| Produkt 4 | 3,00 | 2,67 | 2,84 ± 0.23 |
| Produkt 5 | 4,83 | 5,33 | 5,08 ± 0.35 |
| Produkt 6 | 3,67 | 3,00 | 3,34 ± 0.47 |

Ocena twardości, polega na pomiarze siły potrzebnej do uzyskania określonego stopnia deformacji wyrobu (Dolik i Szczepańska 2012). Analogi sera otrzymywane na bazie kazeinianu wapniowego, wykazywały większą twardość wraz z rosnącą zawartością jonów wapnia (Sołowiej i Gustaw 2013). Według Sołowieja (2014) zwiększenie twardości następuje wraz ze wzrostem zawartości białka w produkcie. Sołowiej i inni (2014) wykazali zwiększenie twardości produktów imitujących ser w przypadku zwiększenia zawartości kazeiny w produkcie. W analogach otrzymywanych z kazeiny i różnych rodzajów skrobi, twardość zwiększała się wraz ze zwiększającą się zawartością skrobi w produkcie końcowym. Rodzaj dodawanej skrobi również ma znaczenie przy ocenie twardości analogów. Na podstawie badań stwierdzono, że o twardości wyrobu z dodatkiem skrobi decyduje ilość zawartej w niej amylazy. Wraz ze zwiększeniem się zawartości amylazy w skrobi, zwiększała się twardość analogów serowych (Sołowiej i in. 2014).

Z badań własnych wynika, że badane wyroby seropodobne charakteryzowały się wysokim wskaźnikiem twardości, co może świadczyć o wysokiej zawartości substytutów białka (kazeiniany) oraz dodatków w postaci skrobi.

Przylegalność produktów (adhezyjność) to siła potrzebna do usunięcia próbki z podłoża lub jej rozprowadzenia po powierzchni. W przypadku wyrobów seropodobnych, do oderwania produktu od podniebienia, podczas spożywania (Dolik i Szczepańska 2012). W badaniach własnych wykazano stosunkowo niską przylegalność wyrobów seropodobnych, co jest właściwością pożądaną przez konsumentów, gdyż preferują oni żywność, którą w łatwy sposób można oddzielić od opakowania. Przylegalność analogów sera zwiększa się wraz ze wzrostem zawartości białka, kazeiny oraz skrobi modyfikowanych (Sołowiej i in. 2014; Sołowiej 2014). W wielu publikacjach autorzy wskazują, że na przylegalność analogów sera wpływa również dodatek tłuszczu sojowego. Przylegalność poszczególnych przebadanych wyrobów seropodobnych była bardzo zróżnicowana. Występowały stosunkowo duże różnice między produktami (Tab.5).

Tab. 5. Wyniki TPA wyrobów seropodobnych.

| Wyrób | Twardość [G] | Przylegalność [N · s] | Sprężystość | Spójność | Żujność [G] |
|-----------|-----------------------|-----------------------|--------------------|--------------------|-----------------------|
| Produkt 1 | 4096,833 ^b | 0,664 ^d | 0,588 ^b | 0,078 ^b | 200,093 ^d |
| Produkt 2 | 3777,228 ^b | 69,816 ^b | 0,821 ^a | 0,484 ^a | 1511,316 ^a |
| Produkt 3 | 5160,335 ^a | 15,647 ^c | 0,510 ^b | 0,056 ^b | 137,487 ^d |
| Produkt 4 | 4197,223 ^b | 114,597 ^a | 0,809 ^a | 0,475 ^a | 1619,637 ^a |
| Produkt 5 | 2973,251 ^d | 160,193 ^a | 0,749 ^a | 0,465 ^a | 1032,389 ^c |
| Produkt 6 | 2931,405 ^c | 106,612 ^a | 0,783 ^a | 0,495 ^a | 1136,646 ^b |

* a-d wartości średnie w danej kolumnie oznaczone różnymi literami różnią się w sposób statystycznie istotny przy $p \leq 0,05$

Sprężystość jest to cecha opisująca szybkość z jaką produkt powraca do swojej pierwotnej postaci po usunięciu siły deformującej (Dolik i Szczepańska 2012).

W badaniach stwierdzono wysoką sprężystość analogów serowych (wartości $> 0,358$). Podobne wyniki uzyskali Balkir i Metin (2011), wszystkie próbki badanych przez nich wyrobów, przekroczyły wartość 0,4. W wyniku przeprowadzonych badań przez Sołowieję i innych (2014) stwierdzono, że sprężystość nie jest zależna od stężenia kazeiny kwasowej oraz od innych właściwości tekstury. Balkir i Metin (2011) sugerują, że dodatek tłuszczu sojowego zmniejsza sprężystość analogów sera.

Spójność analogów sera zmienia się w zależności od dodatku skrobi oraz ich rodzaju. Uważa się, że imitacje serów zawierające dodatek skrobi kukurydzanej, pszenicy oraz ziemniaków wykazują mniejszą spójność niż produkty nie zawierające skrobi. Nie zaobserwowano podobnej zależności w wyniku dodatku do produktu skrobi pochodzącej z ryżu (Sołowiej i in. 2014). Na zmniejszenie spójności wpływa dodatek tłuszczu sojowego, który zmniejsza również sprężystość wyrobu (Bachmann 2001).

Spójność badanych wyrobów seropodobnych osiągnęła niższe wartości (0,03 – 0,5) niż wyroby badane przez Balkir'a i Metin'a (2011) (0,5 – 1,5). Należy jednak podkreślić, że test TPA potwierdził analizę sensoryczną (Tab.1), wskazując dwa produkty charakteryzujące się zdecydowanie najniższą spójnością w porównaniu do pozostałych produktów. Według oceny organoleptycznej spójność tych produktów nie była zachowana, gdyż wyroby te były kruche i przy użyciu niewielkiej siły można było je złamać.

Żujność jest to energia potrzebna podczas żucia, która jest niezbędna do rozdrobnienia produktu do takiego stopnia, aby nadawał się on do przełknięcia (Dolik i Szczepańska 2012). Na parametr żujności wpływa dodatek koncentratów białek serwatkowych. Badania Sołowieję (2014) potwierdzają, że wraz ze wzrostem zawartości białka w produkcie zwiększa się ich żujność. Zmniejszenie zawartości wody w wyrobie imitującym ser, także prowadzi do zwiększenia jego żujności. Według El Soda (2014), istnieje zależność między żujnością a twardością, ze względu na fakt, iż twardszy produkt zdecydowanie trudniej jest przeżuć. W przeprowadzonych badaniach własnych, nie dla każdego z sześciu analizowanych wyrobów, zależność ta została potwierdzona.

4. Wnioski

- Wyroby seropodobne charakteryzowały się zbliżonymi cechami organoleptycznymi w stosunku do serów naturalnych. Różnice można było dostrzec głównie w smaku i zapachu produktów.
- Zawartość soli w wyrobach seropodobnych osiągała wartości zbliżone do produktów oryginalnych i pełniła w produktach takie same funkcje jak w przypadku serów naturalnych.

- Topliwość produktów seropodobnych w większości była nieodpowiednia (< 4), co dyskwalifikuje je jako dodatek do pizzy, zapiekanek oraz tostów, gdzie preferowane jest uzyskanie jak najwyższej liczby jednostek w cieście Schreibera.
- Rodzaj substytutów użytych do produkcji wyrobów seropodobnych miał wpływ na ich teksturę, kwasowość czynną oraz potencjalną

5. Literatura

- Aljewicz M, Cichosz G Kowalska M (2011) Produkty seropodobne, analogi serów topionych i dojrzewających. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 5: 16 – 25.
- Bachmann HP (2001) Cheese analogues. *International Dairy Journal*, 11: 505 – 515.
- Balkir P Metin M (2011) Physicochemical and textural properties of imitation fresh kashar cheeses prepared from casein, caseinates and soy protein. *GIDA*: 36, 17 – 24.
- Chavan RS Jana A (2007) Cheese substitutes: an alternative to natural cheese. - a review, *Int. J. Food. Sci. Technol. Nutr*, 2: 25 – 39.
- Czechowska-Liszka M (2007) Jakość serów podpuszczkowych dojrzewających dostępnych w handlu detalicznym na terenie Krakowa. *Zeszyty Naukowe*, 743: 135 – 147.
- Dolik K Szczepańska K (2012) Ocena tekstury żywności, wybrane metody mechaniczne. *Przemysł Spożywczy*, 66: 38 – 42.
- Dysz K Krasnowska G (2013) Preferencje konsumentów polski południowo-zachodniej przy wyborze serów podpuszczkowych dojrzewających. *Nauki inżynierskie i technologie engineering sciences and technologies*, 2: 9.
- El Soda M (2014) Production of Low Fat Cheddar Cheese Made Using Exopolysaccharide-Producing Cultures and Selected Ripening Cultures. *Advanced in Microbiology*, 4: 986 – 995.
- Paprocki J (2010) Ser analogowy, czyli czym nas karmią. *Przegląd Piekarski i Cukierniczy*, 3: 92 – 93.
- Sołowiej B (2014), Zastosowanie inuliny jako zamiennika tłuszczu w analogach sera topionego. http://www.apbiznes.pl/wp-content/uploads/2014/10/solowiej_bart2014FS.pdf,
- Sołowiej B Gustaw (2013) Wpływ chlorku wapnia na właściwości fizykochemiczne analogów serów topionych na bazie białek mleka i tłuszczu mlecznego. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 86: 137 – 150.
- Sołowiej B i in. (2014) Wpływ skrobi modyfikowanych na teksturę i topliwość analogów serów topionych. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 1: 52 – 65
- Sołowiej B Nastaj M Gustaw W (2014) Ocena właściwości fizykochemicznych analogów serów topionych z dodatkiem mączki chleba świętojańskiego. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 94: 65 – 77.

22. Charakterystyka jakości technologicznej wybranych mięs zwierząt łownych

Characteristics of the technological quality of selected meat of game animals

Kamil Toczek⁽¹⁾, Paulina Kęska⁽²⁾

⁽¹⁾Katedra Biotechnologii, Mikrobiologii i Żywienia Człowieka, Wydział Nauk o Żywności i Biotechnologii, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie

⁽²⁾Zakład Technologii Mięsa i Zarządzania Jakością, Wydział Nauk o Żywności i Biotechnologii, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie
Opiekun naukowy: dr hab. Paweł Glibowski

Kamil Toczek: kamil.toczek@gmail.com

Słowa kluczowe: dziczyzna, jakość mięsa, analiza fizykochemiczna mięsa

Streszczenie

Mięso i produkty mięsne zawierają szereg substancji bioaktywnych, które mają potencjalnie korzystny wpływ na zdrowie człowieka. Jako alternatywę dla mięsa zwierząt rzeźnych wyróżnia się mięso zwierząt dziko żyjących. Celem przeprowadzonych badań było porównanie jakości technologicznej wybranych mięs pochodzących z różnych zwierząt łownych (dzik, sarna, królik) dostępnych na rynku krajowym. Analizom poddano równocześnie mięso wieprzowe oraz wołowe i cielęce w celu lepszej interpretacji wyników. Ocenie poddano takie wyróżniki jakości jak: kwasowość czynna, aktywność wody, wydajność obróbki cieplnej oraz wielkość wycieku. Analizowano także zmiany barwy i tekstury pod wpływem obróbki cieplnej. Biorąc pod uwagę dużą wartość odżywczą i prozdrowotną dziczyzny, z powodzeniem mogłyby stanowić alternatywę dla mięs zwierząt hodowlanych. Mięso z dzikich zwierząt nie różni się w znaczący sposób od popularnych rodzajów mięs pozyskanych od zwierząt hodowlanych w aspekcie ich jakości technologicznej.

1. Wstęp

Mięso od wieków było najważniejszym źródłem pokarmu dla ludzi. Jednak na przestrzeni lat zmienia się jego postrzeganie przez konsumentów. Nie służy ono już tylko jako źródło energii, ale jest zasobne w wiele cennych odżywczo składników, jest zatem ważnym elementem w diecie człowieka. Mięso i produkty mięsne zawierają szereg substancji bioaktywnych, które mają potencjalnie korzystny wpływ na zdrowie człowieka, takie jak karnozyna, anseryna, L-karnityna, sprzężony kwas linolowy, glutation, tauryna i kreatyna czy biologicznie aktywne peptydy. Z drugiej strony nadmierne spożycie mięsa, szczególnie wysoko przetworzonego, może być związane z występowaniem chorób cywilizacyjnych, takich jak otyłość czy nadciśnienie. Zgodnie z raportem Międzynarodowej Agencji Badań nad Rakiem (IARC 2015) istnieje korelacja między spożyciem mięsa czerwonego a wzrostem ryzyka zachorowalności na nowotwory. Dodatkowo pojawiające się zagrożenia, jak: dioksyny w mięsie drobiu, BSE krów czy pryszczycza, przyczyniają się do obserwowanej tendencji zmniejszania spożycia mięsa, a w szczególności mięsa czerwonego (Ziemińska i Krasnowska 2007). Jako alternatywę dla mięsa zwierząt rzeźnych wyróżnia się mięso zwierząt łownych (dziko żyjących). Mięso takie jest potocznie nazywane dziczyzną. Do tej grupy zaliczane są takie gatunki jak: łoś, jeleń, daniel, sarna, dzik, zając, królik, bażant, kuropatwa, krzyżówka i cyranka. Spożycie mięsa zwierząt dziko żyjących od wieków wpisane jest w kanon polskiej tradycji kulinarnej. Współcześnie silnie rozwinięte tradycje łowieckie przyczyniają się do popularyzacji tego surowca. Na podstawie badań ankietowych stwierdzono, że aż 92% osób spożywało przynajmniej raz w życiu dziczyznę, a najczęściej było to mięso z dzika europejskiego. Mimo obiecujących wyników, ogólny poziom spożycia dziczyzny przez polskich konsumentów jest niewielki i wynosi około 0.08 kg/osobę w ciągu roku (Kniżewska i in. 2016). Niskie spożycie mięsa zwierząt łownych wynika z braku ciągłości dostaw oraz wynikającej z tego faktu wysokiej ceny surowca (ze względu na okresy ochronne gatunków łownych) i ograniczonej dostępności w sklepach

(ze względu na wymogi sanitarno-epidemiologiczne), a także dużego popytu na mięsa zwierząt gospodarskich (Kilar i in. 2015). Amatorzy dzicyzny cenią ją przede wszystkim za nietypowe walory smakowe i odżywcze (dietetyczne). Mięso zwierząt łownych dzięki charakterystycznym cechom i właściwościom może być bardzo cennym uzupełnieniem i urozmaiceniem diety. Mięso zwierząt łownych cechuje się przede wszystkim dużą zawartością białka o wysokim stopniu przyswajalności oraz korzystnym składem aminokwasowym (Tab.1). Wyróżnia się również niską zawartością tłuszczu przy jednocześnie korzystnym, z punktu widzenia konsumentów, stosunku kwasów wielonienasyconych $n-6$ do $n-3$ (Werpachowski i Zalewski 2012).

Tab. 4. Podstawowy skład chemiczny mięsa wybranych zwierząt (Werpachowski, Zalewski 2012).

| Wariant badawczy | Parametr | | |
|------------------|-----------|-------------|------------|
| | Woda [%] | Tłuszcz [%] | Białko [%] |
| sarna | 66.0-74.6 | 0.7-3.7 | 19.2-24.0 |
| dzik | 66.5-74.5 | 0.4-3.2 | 21.3-23.2 |
| zając | 72.8-74.1 | 1.1-2.3 | 23.5-24.8 |
| bażant | 73.5-76.2 | 1.9-3.2 | 21.8-25.4 |
| świnia | 71.5-73.8 | 3.5-7.3 | 21.3-23.5 |
| bydło | 69.7-71.3 | 4.6-7.1 | 21.8-23.0 |
| kurczak | 62.5-68.0 | 4.5-7.0 | 17.6-18.2 |

Wieprzowina zawiera istotnie więcej cholesterolu niż mięso z dzika (Kasprzyk 2015). Jest także cennym źródłem witamin (m.in. tiamina, retinol, ryboflawina, niacyna, kobalamina) oraz składników mineralnych (m.in. sód, potas, wapń, cynk, żelazo). Średnia wartość energetyczna mięsa zwierzyny leśnej kształtuje się na poziomie od 95 kcal/100 g (mięso z daniela) do 125 kcal/100 g (w przypadku mięsa z dzika), dla porównania, średnia wartość energetyczna wołowiny wynosi 140 kcal/100 g (Ziemińska i Krasnowska 2007). Tak wysoka wartość odżywcza jest powodowana odmiennymi warunkami bytowania, między innymi w okresie wzrostu/rozwoju oraz uboju zwierząt dzikich w porównaniu do zwierząt gospodarskich. Zwierzęta dzikie odławiane są przez człowieka ze swojego naturalnego środowiska. Zatem zwierzęta dziko żyjące nie przeżywały stresu związanego z hodowlą przemysłową (tzw. „szczęśliwe zwierzęta”), a okres wzrostu i rozwoju przechodziły w warunkach typowego dla gatunku ekosystemu. Żywią się karmą, którą same znajdują, bez znacznej ingerencji człowieka, zatem nie były karmione paszami zawierającymi hormony, antybiotyki i inne dodatki chemiczne. Zwierzęta upolowane w wyniku prawidłowo przeprowadzonego odstrzału nie przeżywały stresu związanego z ubojem w specjalnie przystosowanych rzeźniach (Skorupski i Wierzbicka 2014). Mięso pozyskane z takiego zwierzęcia cechuje się korzystniejszymi walorami organoleptycznymi, odróżniającymi je od mięsa zwierząt rzeźnych, przez co jest pożądanym i cenionym surowcem kulinarnym. Wyroby z dzicyzny mogą stać się jedną z polskich specjalności. Obecnie mięso zwierząt dzikich, odłowionych z terenów Polski cieszy się ogromnym zainteresowaniem konsumentów i przetwórców z Francji, Włoch i Niemiec. W Polsce, mimo silnych tradycji, popyt na dzicyznę jest w dalszym ciągu znikomy. Rozwój tego sektora jest możliwy po zaangażowaniu wszelkich środków na promocję kultury spożycia dzicyzny oraz tradycji polskiego łowiectwa. Konieczne jest także unormowanie wymagań jakościowych w odniesieniu do surowca, który spełniałby wymagania technologiczne, a produkty z nich wytwarzane były atrakcyjne dla konsumentów.

Celem przeprowadzonych badań było porównanie jakości technologicznej wybranych mięs pochodzących z różnych zwierząt łownych (dzik, sarna, królik) dostępnych na rynku krajowym. Ocenie poddano takie wyróżniki jakości jak: kwasowość czynna, aktywność wody, wydajność obróbki cieplnej oraz wielkość wycieku. Analizowano także zmiany barwy i tekstury pod wpływem

obróbki cieplnej. Analizom poddano równocześnie mięso wieprzowe oraz wołowe i cielęce w celu lepszej interpretacji wyników.

2. Materiał i metody

Materiał doświadczalny stanowiło mięso surowe zwierząt łownych (dzik, sarna, królik) oraz rzeźnych (świnia, bydło), pochodzące z lokalnego sklepu w mieście Lublin, zakupione w jednym okresie, tj. listopad 2017r. Surowiec (surowy oraz po gotowaniu) poddano analizom fizykochemicznym. Określono zmienność wartości kwasowości czynnej (pH), aktywności wody (a_w), wielkość wycieku cieplnego. Określono także całkowitą zmianę barwy (ΔE) w systemie CIE $L^*a^*b^*$ oraz parametry tekstury badanych wariantów po obróbce termicznej (gotowanie w woreczkach foliowych przez 20 min we wrzącej wodzie). Wartość pH oznaczono w przesączu otrzymanym z homogenatu (mięso:woda destylowana 1:10). Pomiaru dokonano za pomocą CP-501 (Elmetron) oraz elektrody zespolonej typu ERH-111 (PN ISO 2917:2001). Aktywność wody (a_w) w wyrobie oznaczano w temp. 20°C przy użyciu urządzenia LabMaster (Novasina). Z różnicy mas próby mięsa przed i po ogrzewaniu obliczy straty masy powstałe podczas gotowania, tj. wielkość wycieku cieplnego (W_c) i wyrazi w procentach według wzoru:

$$W_c = \frac{a - b}{a} \times 100$$

gdzie: W_c – wyciek cieplny [%]; a- masa mięsa surowego [g]; b- masa mięsa po obróbce cieplnej [g]. Wyniki uzyskane z poprzedniego oznaczenia wykorzystają do oceny wydajności obróbki cieplnej według wzoru:

$$W = \frac{m_2}{m_1} \times 100$$

gdzie: W = wydajność obróbki cieplnej [%]; M_2 = masa mięsa po obróbce cieplnej [g]; M_1 – masa surowca surowego [g]. Pomiaru parametrów barwy w systemie CIE $L^*a^*b^*$ dla części mięśniowej dokonywana świeżo przeciętej powierzchni mięsa. Do pomiaru użyto spektrofotometru sferycznego X-RiteColor 8200 (X-Rite Inc.) ze szczeliną pomiarową \varnothing 13 mm. Zastosowano iluminat D65 (widmo światła słonecznego) dla pola widzenia 10° i wzorzec bieli o parametrach: $L^* = 95.87$, $a^* = -0.49$ i $b^* = 2.39$. Pomiaru barwy wykonywano w temperaturze pokojowej, w pięciu różnych miejscach powierzchni, określając parametry jasności (L^*), udziału barwy czerwonej (a^*) oraz udziału barwy żółtej (b^*). Określono również całkowitą zmianę barwy baleronów w czasie, zgodnie z zależnością (CIE 2004):

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

gdzie: $\Delta L^* = L^* - L$ (różnica barwy przed i po gotowaniu); $\Delta a^* = a^* - a$; $\Delta b^* = b^* - b$

Analizę tekstury (TPA) przeprowadzono w próbach po obróbce termicznej (gotowanie) o kształcie walca o długości 2 cm w dwóch sekwencyjnych zdarzeniach penetracji przy użyciu analizatora tekstury TA-XT Plus (Stable Microsystems, Goalding, UK). Wyniki poddano dwuczynnikowej analizie wariancji, uwzględniając wpływ rodzaju surowca i procesu obróbki termicznej (wybrane oznaczenia) na zmiany wybranych parametrów. Istotność różnic wartości średnich weryfikowano testem t -Tukeya, przy poziomie istotności $p < 0.05$. Analizy przeprowadzono trzech równoległych powtórzeniach. Analiza statystyczna obejmowała także ocenę podobieństwa w obrębie wariantów badawczych w oparciu o analizę skupień metodą minimalnych wariancji Warda. Obliczenia zostały wykonane przy użyciu programu statystycznego KyPlotver 2.0 (Kyens Lab Inc., Tokyo, Japan).

3. Wyniki i dyskusja

Dla podmiotów zajmujących się przetwórstwem mięsa istotna jest informacja dotycząca wydajności surowca. W niniejszym badaniu oceniano wydajność wybranych rodzajów mięs po obróbce cieplnej. Im niższa wydajność obróbki cieplnej, tym większa ilość wody utraconej z tkanki mięsnej pod wpływem gotowania (tzw. wyciek cieplny). W efekcie działania wysokiej temperatury

zaobserwować można twardnienie tkanki mięśniowej, która kurczy się gdyż białka zawarte we włóknach mięśniowych denaturują i zmniejszają swoją objętość. Podczas kurczenia się tkanki mięśniowej wycieka z niej sok, a wraz z nim część rozpuszczalnych białek, składników mineralnych, witamin, substancji wyciągowych i innych zawartych w mięsie (Kasprzyk 2012).

Tab. 5. Wyniki oceny podstawowych parametrów technologicznych wybranych mięs.

| Wariant badawczy | Wydatność obróbki cieplnej [%] | Wyciek cieplny [%] | Kwasowość czynna | | Aktywność wody | |
|------------------|--------------------------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|
| | | | przed obróbką cieplną | po obróbce cieplnej | przed obróbką cieplną | po obróbce cieplnej |
| wieprzowina | 83.15 ±4.16 ^a | 16.85 ±0.85 ^a | 6.05 ±0.30 ^{acA} | 6.32 ±0.32 ^{aA} | 0.979 ±0.01 ^{aA} | 0.984 ±0.01 ^{aA} |
| wołowina | 75.2 ±3.76 ^{ab} | 24.8 ±1.24 ^b | 5.23 ±0.26 ^{bcA} | 5.52 ±0.28 ^{bA} | 0.984 ±0.01 ^{aA} | 0.988 ±0.01 ^{aA} |
| cielęcina | 69.75 ±3.49 ^b | 30.25±1.51 cde | 5.03 ±0.25 ^{bA} | 5.66 ±0.28 ^{abB} | 0.981 ±0.01 ^{aA} | 0.988 ±0.01 ^{aA} |
| dzik | 71.76 ±3.59 ^b | 28.24 ±1.41 ^{db} | 5.02 ±0.25 ^{bA} | 5.48 ±0.27 ^{bA} | 0.979 ±0.01 ^{aA} | 0.985 ±0.01 ^{aA} |
| sarna | 67.96 ±3.40 ^b | 32.04 ±1.60 ^e | 5.15 ±0.26 ^{bcA} | 5.74 ±0.29 ^{abA} | 0.981 ±0.01 ^{aA} | 0.981 ±0.01 ^{aA} |
| królik | 76.2 ±3.81 ^{ab} | 23.8 ±1.19 ^{tb} | 5.78 ±0.29 ^{cA} | 6.04 ±0.30 ^{abA} | 0.980 ±0.01 ^{aA} | 0.984 ±0.01 ^{aA} |

średnie ± odchylenie standardowe oznaczone tą samą małą literą (wariant badawczy) oraz tą samą dużą literą (proces obróbki termicznej) nie różnią się istotnie statystycznie (p<0,05) (n = 3)

Związane jest to także z ubytkiem masy, zmniejszeniem objętości mięsa. Zatem duży wyciek cieplny jest zjawiskiem niepożądanym. Spośród analizowanych wariantów, najniższą wartość wskaźnika wycieku cieplnego odnotowano w przypadku mięsa pochodzącego od świń (16.85%; p<0.05), najwyższy zaś w przypadku sarniny (32.04%; Tab.2). Spośród cech technologicznych priorytetowe znaczenie ma również aktywność wody oraz pH. Wpływają nie tylko na jakość finalną wyrobów, ale służą jako wskaźniki jakości mięsa. Parametr aw służy do określania trwałości żywności, odnosząc się pośrednio do intensywności przebiegu procesów fizykochemicznych i biochemicznych (w tym enzymatycznych). Ponadto wskaźnik aktywność wody wskazuje na możliwości rozwoju mikroorganizmów. Zahamowanie wzrostu patogenów żywności następuje w zakresie aw od 0.85 do 0.98 (Kowal 2012).W badaniach własnych wartości parametru aw są zbliżone w obrębie analizowanych prób, wahając się od 0.979 (dla wieprzowiny oraz mięsa z dzika) do 0.984 dla wołowiny, przy czym różnice między nimi nie były istotne statystycznie. Nie odnotowano wpływu procesu gotowania na analizowany parametr (p>0.05) Uzyskane wartości są korzystne dla rozwoju większości mikroorganizmów, zatem obróbka takich mięs musi być przeprowadzana z uwzględnieniem wymagań technologicznych (np. temperatury) oraz sanitarnych, ograniczając tym samym możliwości zanieczyszczeń krzyżowych bądź niekontrolowanego wzrostu szkodliwej mikroflory. Wartość pH mięsa jest odzwierciedleniem przemian tkanki mięsnej zachodzących po uboju. Jest to wskaźnik dojrzałości mięsa, jego trwałości i przydatności do różnych celów przerobowych. W badaniach własnych odnotowano niższą wartość pH mięsa surowego zwierząt łownych w porównaniu z wieprzowiną (p<0.05), wyniki te są zbliżone w doniesieniach innych autorów (Ivanović i in. 2013). Zaobserwowano wzrost wartości pH po procesie gotowania, jednak zmiany te nie były istotne statystycznie (z wyjątkiem cielęciny; p<0.05; Tab.2).

Zaobserwowano zależność między wartością procentową wycieku cieplnego a wartościami pH surowego mięsa – im niższe wartości kwasowości czynnej tym większy wyciek cieplny. W mięsniu o szybkim spadku pH powstają większe objętości zewnątrzkomórkowe, a błony ulegają destrukcji, powodując zwiększenie „wycieku” białek sarkoplazmatycznych. Przekłada się to bezpośrednio na właściwości organoleptyczne surowca i jego przydatność kulinarną (Kasprzyk 2015).

Tab. 6. Wyniki oceny zmian parametrów barwy wybranych mięs pod wpływem obróbki termicznej.

| Wariant badawczy | parametr L | | parametr a | | parametr b | |
|------------------|------------------------------|-------------------------------|-----------------------------|------------------------------|-------------------------------|--------------------------------|
| | L* | L | a* | a | b* | b |
| wieprzowina | 43.02 ±2.85 ^{aA} | 54.89 ±2.67 ^{aB} | 3.18 ±0.16 ^{aA} | 4.25 ±0.21 ^{aB} | 15.23 ±0.76 ^{aA} | 14.94 ±0.75 ^{abcA} |
| wołowina | 31.62 ±3.42 ^{bA} | 40.86 ±2.96 ^{bB} | 5.24 ±0.26 ^{bA} | 21.64 ±1.08 ^{bB} | 13.00 ±0.65 ^{bA} | 15.95 ±0.80 ^{bB} |
| cielęcina | 33.98 ±3.31 ^{bA} | 44.88 ±2.76 ^{bcB} | 3.16 ±0.16 ^{aA} | 4.50 ±0.22 ^{aB} | 15.55 ±0.78 ^{aA} | 13.32 ±0.67 ^{cdB} |
| dzik | 29.24 ±3.54 ^{bA} | 32.17 ±3.39 ^{dA} | 4.76 ±0.24 ^{bA} | 13.02 ±0.65 ^{cb} | 14.28 ±0.71 ^{abA} | 13.69 ±0.68 ^{cdA} |
| sarna | 34.15 ±3.29 ^{bA} | 44.20 ±2.21 ^{aB} | 3.76 ±0.24 ^{bA} | 10.28 ±0.61 ^{cb} | 13.01 ±0.65 ^{bA} | 11.84 ±0.59 ^{dA} |
| królik | 43.89 ±2.81 ^{aA} | 50.91 ±2.55 ^{acA} | 1.30 ±0.06 ^{cA} | 4.50 ±0.22 ^{aB} | 15.55 ±0.78 ^{aA} | 13.32 ±0.67 ^{cdB} |

*oznacza próbę przed obróbką termiczną;

średnie ± odchylenie standardowe oznaczone tą samą małą literą (wariant badawczy) oraz tą samą dużą literą (proces obróbki termicznej) nie różnią się istotnie statystycznie ($p < 0.05$) ($n = 3$)

Parametr barwa jest jednym z najważniejszych wyróżników oceny artykułów spożywczych. Jest wizualną miarą świeżości i jakości, zatem wpływa na decyzję konsumenta o zakupie (Jukna i Valaitienė 2012). Zależy od stężenia i formy chemicznej barwników hemowych – mioglobiny, w mniejszym stopniu hemoglobiny. Podczas obróbki termicznej mięsa zachodzą różne procesy (fizyczne, chemiczne, biochemiczne) w wyniku których otrzymujemy produkt o znacznie zmienionej wartości odżywczej, jakości sensorycznej, barwie, konsystencji oraz zapachu. Dlatego istotne jest określenie stopnia zmian w surowcu pod wpływem działania wysokich temperatur. W zakresie zmian barwy wybranych rodzajów mięs odnotowano duże zróżnicowanie w obrębie analizowanych wariantów. Najjaśniejszą barwą cechowało się mięso wieprzowe oraz mięso królika ($p < 0.05$). Mięso dzików oraz sarny charakteryzowało się mniejszą jasnością (L*). Statystycznie istotnie większym ($p < 0.05$) udziałem barwy czerwonej cechuje się mięso wołowe, z dzika oraz sarny. Wyniki te korespondują z otrzymanymi przez Kasprzak (2012) oraz Marchiori i de Felício (2003), którzy stwierdzili, iż mięso dzików charakteryzuje się ciemniejszą barwą w porównaniu z wieprzowiną. Dzikie zwierzęta mają ciemniejsze mięśnie od zwierząt rzeźnych ze względu na większe stężeniemioglobiny w wyniku ich intensywnej aktywności fizycznej (Marchiori i de Felício 2003). Odnotowano istotny statystycznie ($p < 0.05$) wzrost jasności barwy oraz udziału barwy czerwonej analizowanych wariantów mięs pod wpływem obróbki termicznej. Udział barwy żółtej (b) w ogólnym tonie barwy był zbliżony (od 13.00 dla wołowiny do 15.55 dla mięsa królika). Uległ również niewielkim wahaniom pod wpływem obróbki cieplnej – o około 1.5 jednostki.

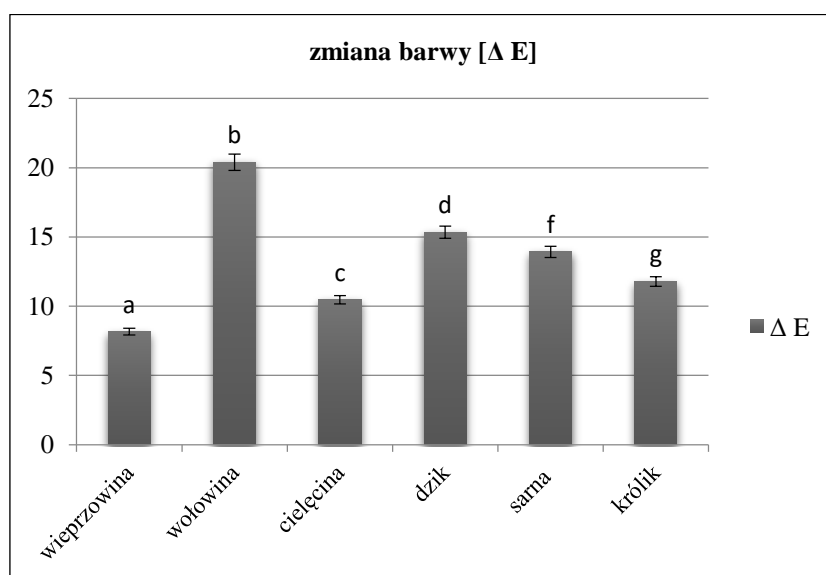
Obserwowane ogólne zmiany barwy różnych rodzajów mięs przedstawiono na Rys.1. Otrzymane wyniki (to jest $5 < \Delta E$) świadczą, że obserwator odnosi wrażenie dwóch różnych barw. Największe różnice w barwie odnotowano w przypadku wołowiny ($\Delta E = 20.40$), w dalszej kolejności w mięsie pozyskanym z dzika ($\Delta E = 15.35$) oraz sarny ($\Delta E = 13.92$). Najmniejsze wahania w barwie wykazano dla wieprzowiny ($\Delta E = 8.16$).

Wyniki oceny parametrów tekstury wybranych mięs określono w Tab.4. Test TPA jest imitowaniem przeżuwania (kompresji) przez szczęki człowieka próbki danego produktu. Jako deskryptory wybrano twardość, sprężystość, kohezyjność, adhezyjność oraz żujność. Twardość, rozumiana w teście TPA jako siła potrzebna do całkowitego ściśnięcia próby, jako cecha subiektywna opisywana jest jako miękki lub twardy. Adhezyjność związana jest z siłami przyciągającymi pomiędzy żywnością a materiałem, z którym wchodzi w kontakt. Opisywana jest jako wrażenie materiału lepiałego się lub suchego. Sprężystość z kolei odnosi się do stopnia w jakim ciało może być zdeformowane zanim ulegnie uszkodzeniu. Cecha subiektywna opisywana jest jako elastyczna, plastyczna (Szczesniak 2002). Parametr żujność z kolei opisuje materiał jako jędrny, ciągnący się lub twardy.

Analiza pomiarów wartości twardości wykazała, że najbardziej delikatnym (najmniej twardym) surowcem było mięso wieprzowe ($p < 0.05$). Największą wartością opisywanego parametru

cechowało się mięso wołowe oraz mięso z sarny, zaś różnice między nimi nie były istotne statystycznie ($p>0.05$). Biorąc pod uwagę wyniki parametru sprężystości otrzymanych dla mięs zwierząt łownych, wynosiły one średnio 0.805 i były one zbliżone do wartości dla surowca bydłęcego ($p>0.05$). Gatunek zwierzęcia wpływał także na parametr adhezji. Najniższe wartości odnotowano w przypadku mięsa wieprzowego, najwyższe zaś dla mięsa wołowego i cielęcego oraz z dzika, zaś różnice między nimi nie były istotne statystycznie ($p<0.05$).

W celu oceny stopnia podobieństwa analizowanych rodzajów mięs wykorzystano wielowymiarowe metody statystyczne (analiza skupień). Jak przedstawiono na rysunku (Rys.2), mięso zwierząt rzeźnych nie różni się w znaczący sposób od popularnych rodzajów mięs pozyskanych od zwierząt hodowlanych. Szczególnym podobieństwem cechuje się wołowina oraz sarnina biorąc pod uwagę analizowane wyróżniki jakości, które tworzyły odrębny grupę (klastery) na przedstawionym dendrogramie. Znacznym podobieństwem cechowało się także mięso z królika oraz cielęcina. Z kolei mięso pozyskane z dzików było w większym stopniu zbliżone do mięsa wieprzowego niż wołowego.

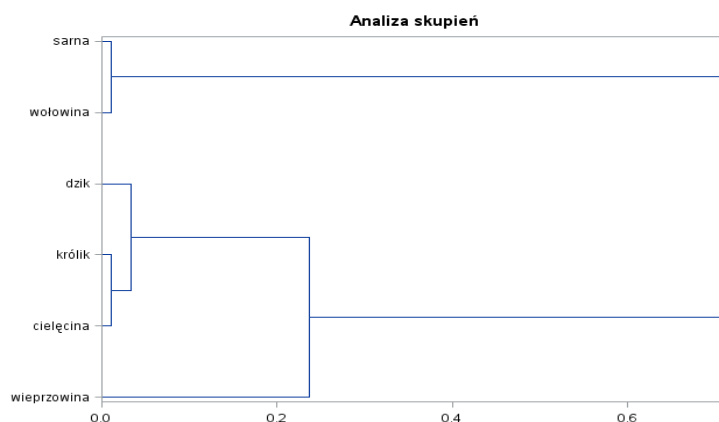


Rys. 3. Zmiany barwy analizowanych mięs pod wpływem obróbki termicznej.

Tab. 7. Wyniki oceny parametrów tekstury wybranych mięs po obróbce termicznej.

| Wariant badawczy | Parametry tekstury | | | |
|------------------|------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|------------------------------|
| | twardość [N] | sprężystość [m] | adhezja [J] | żujność [J] |
| wieprzowina | 23.48 ±1.17 ^a | 0.672 ±0.034 ^a | -5.211 ±0.265 ^a | 17.18 ±0.85 ^{ac} |
| wołowina | 71.79 ±3.58 ^b | 0.752 ±0.038 ^{ab} | -1.703 ±0.085 ^b | 26.18 ±1.30 ^b |
| cielęcina | 55.25 ±2.76 ^c | 0.726 ±0.036 ^{ab} | -1.811 ±0.091 ^b | 20.16 ±1.01 ^a |
| dzik | 43.31 ±2.16 ^d | 0.830 ±0.042 ^b | -1.812 ±0.091 ^b | 14.20 ±0.71 ^c |
| sarna | 76.56 ±3.82 ^b | 0.775 ±0.039 ^{ab} | -2.740 ±0.137 ^c | 30.90 ±1.54 ^d |
| królik | 48.90 ±2.44 ^{cd} | 0.811 ±0.041 ^b | -3.607 ±0.180 ^d | 18.49 ±0.92 ^a |

średnie ± odchylenie standardowe oznaczone tą samą małą literą (wariant badawczy) nie różnią się istotnie statystycznie ($p<0.05$) ($n = 3$)



Rys. 4. Dendrogram otrzymany w wyniku analizy skupień metodą Warda.

4. Wnioski

Mięso pozyskane z dzikich zwierząt jest poszukiwanym i cenionym surowcem kulinarnym ze względu na wyjątkowy smak, aromat i inne cechy sensoryczne odróżniające je od mięsa zwierząt domowych. Rosnąca popularność tego mięsa przyczyniła się do rozwoju jego przetwórstwa. Jak sugerują badania własne, amatorzy dań mięsnych prawdopodobnie chętnie sięgali by po wyroby/produkty na bazie dziczyzny. Biorąc pod uwagę dużą wartość odżywczą i prozdrowotną mięsa zwierząt dzikich, z powodzeniem mogłyby stanowić alternatywę dla mięs zwierząt hodowlanych.

5. Literatura

- CIE (2004) Technical Report: Colorimetry nr 15.3rd edition. International Commission on Illumination. Washington. (<https://law.resource.org/pub/us/cfr/ibr/003/cie.15.2004.pdf>) (data dostępu: 30.12.2017)
- Honikel KO (1998) Reference methods for the assessment of physical characteristics of meat. *Meat Science*.49 (4):447–457.
- IARC (2015), International Agency for Reserach on Cancer, Press release No. 240, October 26, 2015: Monographs evaluate consumption of red meat and processed meat, (https://www.iarc.fr/en/media-centre/pr/2015/pdfs/pr240_E.pdf)
- Ivanović SD, Stojanović ZM, Popov-Raljić JV i in. (2013) Meat quality characteristics of Duroc x Yorkshire, Duroc x Yorkshire x wild boar and wild boar. *Hemijaska industrija* 67(6): 999–1006.
- Jukna V, Valaitienė V (2012) The comparison of meat nutritional and technological properties in different animals. *Vet. Zootech.* 59 (81): 34–39.
- Kasprzyk A (2012) Przydatność technologiczna i kulinarna mięsa mieszańców pochodzących z krzyżowania dzika (*Sus strofa scrofa*) z wybranymi rasami hodowlanymi świń. *Rozpr. Nauk.UP w Lublinie* 362.
- Kasprzyk A (2015) Porównanie parametrów chemicznych i fizycznych mięśnia *longissimusdorsi* dzików i tuczników. *Annales Universitatis Mariae Curie-Skłodowska. Sectio EE: Zootechnica*(1): 33.
- Kilar J, Ruda M, Kilar M (2015) Konsumenckie zainteresowanie dziczyzną. *Trendy w żywieniu człowieka*. M. Karwowska. W. Gustaw (red.). Wyd. Nauk. PTTŻ. Kraków: 101–110.
- Knizewska W, Batoska M, Więcek J i in. (2016) Dzikczyzna w ocenie polskich konsumentów. *Rocz. Nauk. Zoot.* 43(2): 285–291.
- Kowal K (2012) Wpływ aktywności wody na wzrost drobnoustrojów. *Przemysł Spożywczy* 66: 50–52.

- Marchiori AF, de Felicio PE (2003) Quality of wild boar meat and commercial pork. *Sci. Agric.* 60 (1): 1–5.
- PN ISO 2917:2001. Mięso i przetwory mięsne. Pomiar pH. Metoda odwoławcza.
- Skorupski M, Wierzbicka A (2014) Dzikizna jako źródło zdrowej żywności – problemy i perspektywy *16* (38): 171–174.
- Szczesniak AS (2002) Texture is a sensory property. *Food quality and preference* 13(4): 215–225.
- Werpachowski M, Zalewski D (2012) Dzikizna–mięso niedoceniane przez polskich konsumentów. *Przegląd hodowlany* 3(4): 29–31.
- Ziembińska A, Krasnowska G (2007) Zapewnienie bezpieczeństwa zdrowotnego w obrocie tuszami zwierzątłownych. *Żywność Nauka Technologia Jakość*, 14(1): 16–25.

23. Smak słodki – przykładowe kierunki badań

Sweet taste - examples of research directions

Wanat Gabriela⁽¹⁾, Jaruga Sylwia⁽¹⁾, Grajek Mateusz⁽¹⁾, Malinowska Agnieszka⁽²⁾

⁽¹⁾Katedra Dietetyki, Wydział Zdrowia Publicznego w Bytomiu, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

⁽²⁾Studium doktoranckie, Wydział Zdrowia Publicznego w Bytomiu, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

Gabriela Wanat: gwanat@sum.edu.pl

Słowa Kluczowe: próg rozpoznania, wrażliwość smakowa, receptor

Streszczenie

W ostatniej dekadzie badania nad genetyką chemoreceptorów i neurobiologią dotyczące odczuwania smaku wprowadziły nowe dane. Z ewolucyjnej perspektywy zróżnicowane odczuwanie chemosensoryczne związane ze smakiem powstało w odpowiedzi na różne środowiska życia człowieka, głównie w celu uniknięcia toksyn i lepszego wykrywania ważnych źródeł składników odżywczych w żywności. Uważa się, że różnice te mogą prowadzić do zróżnicowanych preferencji i wyborów żywnościowych, co może wpływać na zdrowie i dobre samopoczucie. Duża liczba badań wskazuje, że różnice w odczuwaniu istnieją, ale może to być znacznie bardziej złożone zagadnienie niż wcześniej sądzono. Polimorfizm genetyczny powoduje zmienioną funkcję receptora w hodowanych komórkach, a nawet fenotypach behawioralnych w laboratorium, ale nie wiadomo czy to wystarczy, żeby wpłynąć na wybór żywności w ludzi żyjących w różnych środowiskach.

1. Wstęp

Główną funkcją zmysłu smaku jest utrzymanie homeostazy organizmu żyjącego w określonym środowisku i mającego określone potrzeby. Receptory zmysłu smaku pobierają z środowiska zewnętrznej informacje o obecności substancji chemicznych, które mogą mieć potencjalne znaczenie żywieniowe. Dodatkowo środowisko wewnętrzne oraz aktualne potrzeby organizmu również mogą wpływać na receptor i zmieniać jego wrażliwość sensoryczną. Receptory smaku pobudzane są przez substancje rozpuszczalne w wodzie wśród, których znajdują się zarówno substancje odżywcze jak i nie odżywcze a nawet szkodliwe. Odbiór bodźca odbywa się przez komórki receptorowe skupione głównie w kubkach smakowych rozmieszczonych na brzegach i powierzchni języka, podniebieniu miękkim oraz w gardle (Breslin 2013). Wcześniej sądzono, że na języku znajdują się tylko małe obszary wyczuwania poszczególnych smaków. Obecnie z badań wynika, że w pojedynczej brodawce smakowej znajdują się receptory wszystkich smaków. Każdy smak odbierany jest przez swoiste dla niego komórki receptorowe. Następnie informacje z receptorów są przekazywane dalej do obszarów smakowych w centralnym systemie nerwowym gdzie dochodzi do analizy hedonistycznej bodźca. Ewolucyjnie wykształcony mechanizm nagrody ma za zadanie motywować do podejmowania działań sprzyjających przeżyciu. Składniki odżywcze w pożywieniu są preferowane i wywołują uczucie zadowolenia oraz przyjemność. Substancje nie odżywcze lub potencjalnie toksyczne wywołują zachowanie awersyjne. Budowa i wrażliwość receptora smaku kodowana jest genetycznie, co może wpływać na różnice w odczuwaniu smaków w populacji (Yarmolinsky et al. 2009).

2. Opis zagadnienia

Ukształtowanie się receptora smaku słodkiego u człowieka pozwoliło na identyfikowanie pokarmów roślinnych bogatych w węglowodany, czyli źródeł energii. Preferencja i „lubienie” smaku słodkiego jest wrodzone chociaż doświadczenia w trakcie życia mogą modyfikować odpowiedź na ten smak. Pobudzanie receptorów smaku słodkiego uruchamia mechanizm nagrody w centralnym układzie nerwowym. Ewolucyjnie wykształcona zdolność gwarantowała przodkom człowieka

przetrawianie gatunku. Jedną z metod badania indywidualnego czucie smaku słodkiego jest oznaczenie progów wrażliwości smakowej, definiowanych jako próg wyczuwalności (odczucia) lub próg rozpoznania (identyfikacji). Próg wyczuwalności smakowej to najmniejsza ilość substancji smakowej, która wywołuje uchwytnie wrażenie smakowe przy braku jego identyfikacji. Natomiast najmniejsza ilość substancji smakowej, która pozwala określić jakość bodźca to próg rozpoznania. Sugeruje się, że preferencje pokarmowe człowieka są determinowane przez indywidualną zdolność percepcji bodźców smakowych oraz doświadczenie. Preferencje najczęściej rozumiane są jako względnie trwałe postawy wobec produktów i postaw, które wyrażane są jako stopień lubienia na podstawie ogólnego wyobrażenia o ich cechach. Nie przesądzają, że dane produkty i potrawy zawsze będą wybierane i spożywane ale w warunkach alternatywnego wyboru jest to bardzo prawdopodobne (Gawęcki J. & Galiński G. 2010). Wrażliwość smakowa jest opisywana w literaturze jako żywieniowy portier/odźwierny (ang. nutritional gatekeeper). Indywidualna wrażliwość smakowa, preferencje i awersje mogą odgrywać kluczową rolę i wpływać na częstotliwość spożycia pokarmów a w konsekwencji na stan odżywienia. Uważa się również, że mogą mieć wpływ na ryzyko występowania chorób dieto-zależnych (Webb et al. 2015).

3. Przegląd literatury

Badania smaku słodkiego dotyczą przede wszystkim budowy i funkcji receptorów. W badaniu Li et al. 2002 nad ludzkimi receptorami smaku słodkiego i umami wykazano, że receptory T1R2/T1R3 reagują na naturalne cukry, sacharozę i fruktozę, oraz na sztuczne słodzik, takie jak sacharyna i acesulfam. Sprzeczne dowody sugerują, że komórki szczurzych receptorów T1R2/T1R3 były tylko nieznacznie aktywowane glukozą i nie wykazywały aktywacji aspartamem. Receptory szczurów nie reagowały na wiele naturalnych i sztucznych cukrów, co prowadziło do wniosku, że musi istnieć więcej niż jeden rodzaj receptora słodkiego smaku. Pokazują, też że odpowiadają za szeroki zakres różnych słodkich smaków. Podczas gdy receptory słodkiego smaku T1R2/T1R3 rozpoznają naturalne i syntetyczne substancje słodzące, T1R1/T1R3 przeciwnie reagują na 1 - glutaminian stymulujący smak umami, a odpowiedź ta jest wzmacniana przez 5'- rybonukleotydy, znak rozpoznawczy smaku umami. Zatem receptory smaku słodkiego i umami mają wspólną podjednostkę T1R (Li et al. 2002).

Badania obrazowania mózgu (Peng et al. 2015) u ssaków pokazały, jak informacje z komórek receptora smaku w języku są przesyłane przez wiele stacji neuronowych do pierwotnej kory smakowej w mózgu. Wykazały między innymi, że bodźce słodkie są przewodzone w pierwotnej korze smakowej przez neurony a każdy smak ma odrębne pola korowe. Manipulując tymi polami mózgu reprezentującymi smak słodki bezpośrednio kontrolujemy percepcję zmysłową i działania behawioralne zwierzęcia. Wyniki te pokazują wrodzoną naturę apetycznych i awersyjnych reakcji smakowych i ilustrują zdolność kory podniebienia do złożonych zachowań nawet przy braku bodźca sensorycznego.

W badaniach nad intensywnością smaku słodkiego zastanawiano się czy i w jakim stopniu sztuczne substancje słodzące mają wpływ na dietetyczne praktyki. Literatura tematu sugerowała, że intensywne substancje słodzące zwiększają wskaźniki głodu w niektórych badaniach na ludziach, ale nie są to spójne i powtarzalne obserwacje. Jakikolwiek niewielki wpływ na odczuwany głód nie przekłada się na wzrost spożycia pokarmu lub wpływ na stężenie insuliny lub glukozy we krwi. Opublikowana baza danych nie potwierdziła koncepcji, że spożywanie intensywnych słodzików powoduje paradoksalny wzrost spożycia kalorii i masy ciała (Renwick 1994). W badaniu przeprowadzonym na grupie kobiet badano wpływ słodkiego smaku i podaży energii na późniejszy krótkotrwały apetyt „wysokich” i „niskich” konsumentów sztucznie słodzonych napojów. Badanie opierało się na założeniu, że wpływ słodkiego smaku na apetyt może się różnić w wyniku zwykłego odczuwania słodczy z/lub bez energii. Badane w grupie niskich konsumentów sztucznie słodzonych napojów wykazywały wzrost apetytu w odpowiedzi na słodki smak, natomiast w grupie wysokich konsumentów nie. Wpływ przyjmowanej energii na apetyt nie różnił się między konsumentami. Brak reakcji na słodki smak wśród konsumentów sztucznie słodzonych napojów można wytłumaczyć w wyniku wielokrotnego odczuwania słodczy bez energii przez tych konsumentów. Ten brak reakcji

sugeruje przystosowanie do słodkiego smaku w wyniku nawykowego sposobu żywienia tych konsumentów (Appleton & Blundell 2007).

Słodziki o wysokiej intensywności i niskiej energii (LES) są często oskarżane o utrzymywanie preferencji do słodczy, co z kolei uniemożliwiłoby kontrolę masy ciała. Jedna z teorii mówi, że są "słodsze niż cukier" o wysokiej sile działania i zachęcają do przesadnych reakcji (Bellisle 2015). Analizowano wpływ słodzików o wysokiej intensywności i niskiej energii (LES) na odczuwanie intensywności smaku słodkiego. Uczestnicy ocenili intensywność odczuć słodkich, gorzkich i metalicznych różnych substancji odżywczych (sacharozy, syropu klonowego i agawy nektarowej) oraz LES (acesulfam-K (AceK), rebaudiozyd A (RebA), aspartam i sukraloza). Wyciągnięto wnioski, że nie ma dowodów na to, że LES ma maksymalną słodkość (intensywność) większą niż sacharoza. Maksymalna słodkość AceK, RebA i sukralozy była znacznie niższa niż dla stężonej sacharozy. W przypadku LES tłumienie smaku słodkiego zależy od dawki gorzkich lub metalicznych odczuć i wydaje się ograniczać maksymalną odczuwaną słodkość. Nieodżywcze substancje słodzące nie mogą być zatem uważane za bodźce nadnaturalne. Dane te nie potwierdzają poglądu, że przejmują lub nadmiernie stymulują receptory smaku słodkiego, aby zwiększyć słodkie wrażenia (Antenucci & Hayes 2014).

Bada się również związek odczuwania smaków w tym słodkiego w różnych stanach chorobowych. Dla przykładu poniżej badanie odczuwania smaku w cukrzycy typu II i podczas tlenoterapii. Badano związek pomiędzy odczuwaną intensywnością smaku słodkiego a spożyciem pokarmu u pacjentów z cukrzycą typu II i grupą kontrolną, dobranymi pod względem wieku, wagi i płci. Badani oceniali intensywność odczuwania smaku słodkiego i poziom przyjemności serii próbek napojów słodzonych różnymi substancjami słodkimi sacharozą, fruktozą lub aspartamem. Nie stwierdzono różnic grupowych w percepcji słodkiego smaku, ocenach przyjemności, dziennych poborach energii lub składzie makroskładników odżywczych w diecie. Pacjenci z cukrzycą spożywali mniej sacharozy, ale 3,5 razy więcej alternatywnych substancji słodzących niż grupa kontrolna. Szczytowe oceny przyjemności dla próbek napoju były dodatnio skorelowane z zawartością substancji słodzących w diecie osób z cukrzycą, czego nie zauważono w grupie kontrolnej. Te odkrycia sugerują, że w cukrzycy ocena hedonistyczna dla słodzonego napoju była raczej związana z ilością substancji słodzących w diecie niż zmianami w percepcji słodkiego smaku (Tepper et al. 1996). Następne badanie oceniało wpływ hiperbarycznej terapii tlenowej na wrażliwość smakową, hedonistyczne postrzeganie smaku i preferencje pokarmowe. Wszyscy pacjenci z grupy badanej byli leczeni tlenoterapią hiperbaryczną z powodu chronicznych nie gojących się ran. Badano intensywność smaku, progi rozpoznania i percepcję hedoniczną. Badania przeprowadzono przed pierwszą ekspozycją na hiperbaryczny tlen, a następnie pod koniec terapii, po co najmniej 25 sesjach leczenia. Pacjenci z nie gojącymi się ranami charakteryzowali się mniejszą wrażliwością smakową w porównaniu do grupy kontrolnej. Po wzięciu udziału w hiperbarycznej terapii tlenowej wśród pacjentów z nie gojącymi się ranami wystąpiła poprawa w odczuwaniu odczuć smakowych i zmian w ocenie hedonicznej. Pod względem preferencji żywieniowych obserwowano zmniejszone pragnienie spożywania słodkich deserów, czekolady i chipsów u pacjentów, którzy otrzymywali tlenoterapię hiperbaryczną (Hartman-Petrycka et al. 2016).

Ciekawe badanie analizowało powiązania słodkiej i tłustej preferencji smakowej w otyłości z cechami osobowości i zachowaniami żywieniowymi (Elfhag & Erlanson-Albertsson 2006). Celem było sprawdzenie powiązania pomiędzy zgłaszanymi przez uczestników preferencjami smakowymi a psychologicznymi konstrukcjami zachowań żywieniowych i osobowości w otyłości. Silna preferencja smaku słodkiego związana była z bardziej nerwicowymi cechami osobowości, w szczególności brakiem asertywności i zgorzknieniem. Silna preferencja słodkiego smaku była powiązana ze stylem osobowości w otyłości.

Inne badania dotyczyły wpływu zjedzonego posiłku o określonych cechach na percepcję smaku. Przykładem może być badanie Sucheckiej i wsp. w którym badano ochotników na czczo i po posiłku wysokowęglowodanowym. Posiłek o wysokiej zawartości węglowodanów wpłynął na postrzeganie smaku słodkiego i kwaśnego, a efekt był zależny od płci. U mężczyzn wrażliwość smakowa na sacharozę i reakcja hedoniczna na słodki smak zmniejszyła się, podczas gdy u kobiet takiego wpływu nie zaobserwowano. Zaobserwowano negatywną korelację pomiędzy intensywnością

percepcji smaku a reakcją hedoniczną na słodki smak zarówno u mężczyzn, jak i kobiet po posiłku bogatym w węglowodany. Na czczo nie obserwowano takiej korelacji (Suchacka 2011).

Wpływ smaku diety 24-godzinnej na preferencje żywieniowe i sytość. Badane preferencje żywieniowe to wybór jedzenia i spożycie określonych kategorii żywności oraz uczucie sytości. Smak diety istotnie wpływał na zmianę preferencji. Po pikantnej diecie spożycie słodkich pokarmów było wyższe niż pikantnych pokarmów. Po słodkiej diecie preferowane były smakowite potrawy. Nie zaobserwowano różnic w całkowitym poborze energii (kJ). Wydaje się, że u zdrowych osób smak 24-godzinnej diety w dużym stopniu wpływa na późniejsze preferencje pokarmowe pod względem apetytu sensorycznego, przy czym słony smak wywiera najsilniejszy efekt modulujący. Smak diety 24-godzinnej nie miał wpływu na pobór makroskładników (Griffioen-Roose et al. 2012).

Kolejny kierunek to indywidualne różnice w percepcji intensywności smaku, które mogą wpływać na nawyki żywieniowe, stan odżywienia, a ostatecznie na chroniczne ryzyko choroby związane z odżywianiem. Związek pomiędzy postrzeganą intensywnością smaku słodkiego a spożyciem pokarmu u młodych dorosłych badał Cicerale i wsp.. Nie zaobserwował korelacji w odniesieniu do postrzeganej intensywności słodkości i średniego spożycia całkowitej energii (kJ), procentowej energii z całkowitego tłuszczu, tłuszczów nasyconych, białka, węglowodanów i gramów włókna, a także do spożycia mikroelementów: kwasu foliowego, magnezu, wapnia, żelaza i cynku. Stwierdzono jedynie niewielkie korelacje między spożyciem sodu, witaminą C i spożyciem potasu i odczuwaną intensywnością słodkości. Ogólnie rzecz biorąc, postrzegana intensywność słodczy nie wydaje się odgrywać roli w zachowaniach żywieniowych związanych z konsumpcją cukru i spożyciem pokarmu u dorosłych (Cicerale et al. 2012).

W kolejnym badaniu poszukiwano predyktorów i korelat preferencji smakowych u europejskich dzieci. W próbie brało udział 1705 dzieci w wieku od 6 do 9 lat z ośrodków badawczych we Włoszech, Estonii, na Cyprze, w Belgii, Szwecji, Niemczech, na Węgrzech i w Hiszpanii. Preferencje dzieci dotyczące różnych poziomów sacharozy w soku jabłkowym i tłuszczu, chlorku sodu (sól) i glutamianu monosodu w krakersach zostały ocenione przy użyciu testów porównawczych. Kraj zamieszkania był najsilniejszym czynnikiem związanym z preferencjami dla wszystkich czterech smaków. Preferencje dotyczące smaku różniły się także wiekiem. Preferencja dla cukru i soli wzrosła między 6 a 9 rokiem życia, podczas gdy preferencja dla glutamianu sodu spadła. Różnice wieku pozostawały znaczące nawet po dostosowaniu do płci, kraju zamieszkania, edukacji rodziców i wczesnych nawyków żywieniowych (Lanfer et al. 2013).

Różnice w zdolności wykrywania, rozpoznawania i postrzegania smaku słodkiego mogą wpływać na spożycie żywności, a ostatecznie na przewlekłe stany związane z odżywianiem, takie jak nadwaga i otyłość. Zbadanie związku między funkcją słodkiego smaku, antropometrią i spożyciem pokarmu u dorosłych było celem następnego badania. Wykazało duże różnice między poszczególnymi osobami w zakresie wykrywania, rozpoznawania i pomiaru intensywności słodczy. Mimo to współczynnik korelacji nie wykazał silnych korelacji pomiędzy pomiarami funkcji słodkiego smaku, antropometrią i spożyciem produktów spożywczych. Wyjątkiem było odczuwanie intensywności smaku powyżej progu („suprathreshold”), co było umiarkowanie skorelowane z całkowitym poborem energii. Nie wykazano znaczących różnic między najbardziej i najmniej wrażliwymi sensorycznie uczestnikami pod względem BMI, obwodu talii i spożycia pokarmowego dla wszystkich miar słodkiego smaku i słodzików. Nie stwierdzono istotnych różnic w żadnej mierze funkcji słodkiego smaku pomiędzy uczestnikami o normalnej wadze a uczestnikami z nadwagą / otyłością. Wyniki badania pokazały, że funkcja słodkiego smaku nie jest powiązana z antropometrią, a miary intensywności słodczy nie są najodpowiedniejszą miarą przy ocenie związków między słodkim smakiem a spożywaniem żywności (Low et al. 2016).

Zupełnie nowy kierunek to pojawiające się dowody, że mechanizmy sygnalizowania słodkiego smaku zidentyfikowane w jamie ustnej działają również w układzie żołądkowo-jelitowym i mogą wpływać na rozwój sytości. Zrozumienie indywidualnych różnic w wykrywaniu smaku słodkiego zarówno w układzie doustnym, jak i żołądkowo-jelitowym może być ważne w zrozumieniu przyczyn nadmiernego spożycia energii (Low et al. 2014). Receptory w układzie żołądkowo-jelitowym "smakują" zawartość światła i transmitują sygnały, które regulują ekspresję przekaźnika odżywczego i pobieranie składników odżywczych, a także uwalnianie hormonów jelitowych

i przekazników nerwowych zaangażowanych w regulację homeostazy energii i glukozy. Mogą odgrywać znaczącą rolę w komunikacji między światłem, nabłonkiem, komórkami mięśni gładkich, doprowadzającymi włóknami nerwowymi i mózgiem w celu wywołania reakcji adaptacyjnych, które wpływają na funkcje przewodu pokarmowego, spożycie pokarmu i metabolizm glukozy. Poznanie tych receptorów może stanowić obiecującą nową drogę leczenia wielu z tych chorób (Depoortere 2014).

4. Podsumowanie:

Pierwsze, nieliczne próby odpowiedzi na pytanie o funkcjonowanie zmysłu smaku i jego rolę można znaleźć w artykułach z XX w. Obecnie coraz więcej publikuje się doniesień o nowych kierunkach i sposobach badań smaku słodkiego. Doniesienia często są sprzeczne ze sobą i nie potwierdzają wszystkich założeń naukowców. Okazuje się, że temat jest bardziej złożony niż sądzono i jest potrzeba szukania coraz to nowych metod badania.

5. Literatura:

- Antenucci RG, Hayes JE (2015) Non-nutritive sweeteners are not super-normal stimuli. *International Journal of Obesity* 39(2): 254-259
- Appleton K.M, Blundell JE (2007) Habitual high and low consumers of artificially-sweetened beverages: Effects of sweet taste and energy on short-term appetite. *Physiology and Behavior* 92(3):479–486.
- Bellisle F (2015) Intense Sweeteners, Appetite for the Sweet Taste, and Relationship to Weight Management. *Current Obesity Reports* 4(1):106–110.
- Breslin PAS (2013) An evolutionary perspective on food and human taste. *Current Biology* 23(9):409-418
- Cicerale S, Riddell LJ, Keast RSJ (2012) The association between perceived sweetness intensity and dietary intake in young adults. *Journal of Food Science* 77(1): H31–H35
- Depoortere I (2014) Taste receptors of the gut: emerging roles in health and disease. *Gut* 63(1):179–90
- Elfhag K, Erlanson-Albertsson C (2006) Sweet and fat taste preference in obesity have different associations with personality and eating behavior. *Physiology and Behavior* 88(1–2):61–66
- Garcia-Bailo B et al. (2009) Genetic variation in taste and its influence on food selection. *OMICS: A Journal of Integrative Biology* 13(1):69-80
- Gawęcki J, Galiński G (2010) Sensoryczne mechanizmy regulacji apetytu. *Kosmos* 3-4:281–290
- Hartman-Petrycka M et al. (2016) Alterations in taste perception as a result of hyperbaric oxygen therapy. *Appetite* 107: 159-165
- Lanfer A et al. (2013) Predictors and correlates of taste preferences in European children: The IDEFICS study. *Food Quality and Preference* 27(2):128–136
- Li X et al. (2002) Human receptors for sweet and umami taste. *Proc Natl Acad Sci U S A* 99(7):4692–4696
- Low JYQ et al. (2016) The association between sweet taste function, anthropometry, and dietary intake in adults. *Nutrients* 8(4):241
- Low YQ, Lacy K, Keast R (2014) The role of sweet taste in satiation and satiety. *Nutrients* 6(9):3431–3450
- Peng Y et al. (2015) Sweet and bitter taste in the brain of awake behaving animals. *Nature* 527(7579):512-515
- Renwick AG (1994) Intense sweeteners, food intake, and the weight of a body of evidence. *Physiology and Behavior* 55(1):139–143
- Tepper BJ, Hartfiel LM, Schneider SH (1996) Sweet taste and diet in type II diabetes. *Physiology & behavior* 60(1):13–8
- Webb J et al. (2015) The Relationships Between Common Measurements of Taste Function. *Chemosensory Perception* 8(1):11–18
- Yarmolinsky DA, Zuker CS, Ryba NJP (2009) Common Sense about Taste: From Mammals to Insects. *Cell* 139(2):234–244

24. Barwniki stosowane w hodowli ryb w kontekście bezpieczeństwa żywności pochodzenia zwierzęcego

Dyes used in fish farming in the context of food safety of animal origin

Wątróbka Luiza, Mitrowska Kamila, Posyniak Andrzej

Zakład Farmakologii i Toksykologii, Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy w Puławach

Opiekun naukowy: dr hab. Kamila Mitrowska, prof. nadzw.

Wątróbka Luiza: luiza.watrobka@piwet.pulawy.pl

Słowa kluczowe: zieleń malachitowa, błękit metylenowy, akryflawina, kinetyka zanikania, pozostałości

Streszczenie

Stosowane w hodowli ryb barwniki odnaleźć możemy w grupach barwników trifenylometanowych, tiazynowych i akrydynowych. Barwniki te będąc substancjami farmakologicznie czynnymi używane są u ryb jako środki zwalczające grzyby, pierwotniaki pasożytnicze czy bakterie chorobotwórcze. Doniesienia literaturowe przedstawiające badania przeprowadzone na zwierzętach laboratoryjnych potwierdzają ich toksyczność oraz możliwość powodowania zmian w materiale genetycznym i wywoływania efektów kancerogennych. W konsekwencji nie są zarejestrowane jako leki weterynaryjne przeznaczone do leczenia zwierząt, z których lub od których pozyskuje się żywność a jedynie mogą być stosowane w hodowlach ryb akwariowych i ozdobnych. Barwniki te w organizmie ryby są metabolizowane do lipofilnych form leuko, które również są toksyczne a okres ich eliminacji jest wydłużony w stosunku do substancji macierzystych. Wyniki uzyskane w ramach krajowych i unijnych programów badań kontrolnych występowania barwników w żywności pochodzenia zwierzęcego pokazują, że najczęściej stosowanym barwnikiem, którego pozostałości są oznaczane w mięśniach ryb, jest przedstawiciel barwników trifenylometanowych – zieleń malachitowa. Sytuacja taka występuje mimo zakazów prawnych, dlatego istotna jest kontrola pozostałości w szerszym zakresie gdyż hodowcy ryb przeznaczonych do konsumpcji mogą nielegalnie stosować także inne barwniki.

1. Wstęp

Barwniki stosowane w hodowli ryb jako środki zwalczające grzyby, pierwotniaki pasożytnicze czy bakterie chorobotwórcze należą do grup trifenylometanowych (zieleń malachitowa, fiolet krystaliczny), tiazynowych (błękit metylenowy) i akrydynowych (akryflawina, proflawina). Jednakże, ze względu na swoje właściwości toksyczne barwniki te nie są zarejestrowane jako leki weterynaryjne przeznaczone do leczenia zwierząt, z których lub od których pozyskuje się żywność, a co za tym idzie zabronione jest ich stosowanie w hodowlach ryb przeznaczonych do konsumpcji; mogą być używane jedynie w hodowlach ryb akwariowych i ozdobnych. Wyniki krajowych i unijnych programów badań kontrolnych pokazują, że mimo zakazów prawnych barwniki te są nielegalnie stosowane przez hodowców ryb przeznaczonych do konsumpcji.

Barwniki te używane są również jako substancje barwiące w różnych gałęziach przemysłu takich jak przemysł tekstylny do barwienia tkanin, przemysł biurowy do barwienia artykułów biurowych oraz produkcja tuszy i past długopisowych. Fiolet krystaliczny i błękit metylenowy znajdują zastosowanie w barwieniu cytochemicznym bakterii oraz w kryminalistyce przy sporządzeniu proszku daktyloskopijnego (Mitrowska 2014).

2. Terapia ryb barwnikami

Dzięki swoim właściwościom terapeutycznym barwniki znalazły zastosowanie w profilaktyce i leczeniu infekcji u ryb wywołanych przez grzyby z rodzaju *Saprolegnia* i *Achlya*, pierwotniaki z rodzaju *Trichodina*, *Chilodonella* i *Lechthyophirius multifiliis* oraz bakterie z rodzaju *Flexibacter*. Terapia polega na kąpielach długotrwałych bądź krótkotrwałych w zależności od

stosowanego barwnika, jego stężenia a także gatunku ryb. Leczenie może dotyczyć zwierząt na każdym stadium rozwojowym. Aplikacja polega na podaniu do wody roztworu pojedynczej substancji czynnej bądź jej mieszaniny. Zieleń malachitowa stosowana jest w roztworach o stężeniu od 0,1 mg l⁻¹ w przypadku ikry i narybku do 5 mg l⁻¹ przy osobnikach dorosłych. Kąpiele trwają od 20 minut do 3 dni. Błękit metylenowy stosowany jest w kąpielach 20 minutowych o stężeniach od 5 do 20 mg l⁻¹. Terapia akryflawiną trwa dłużej gdyż zalecane kąpiele trwają od 2 do 10 dni i stężenie barwnika w wodzie wynosi 10 mg l⁻¹. Mieszaniną barwników stosowaną przez hodowców ryb jest roztwór FMC złożony ze 100 ml formaliny, 370 mg zieleni malachitowej i 370 mg błękitu metylenowego. Innym rodzajem mieszaniny może być połączenie barwnika z formaldehydem, którego pH działa korzystnie na działanie terapeutyczne barwnika (Antychowicz 1996).

3. Farmakokinetyka i kinetyka zanikania barwników u ryb

Po zastosowaniu barwnika jest on wchłaniany z miejsca podania do krążenia ogólnego przez skrzela oraz skórę ryby. Na efektywność tego procesu wpływa gatunek oraz wiek ryby a także czynniki takie jak stężenie barwnika oraz czas ekspozycji. Następnie dochodzi do dystrybucji leku, a więc jego rozprządzenie w obrębie organizmu. Etap ten umożliwia substancji czynnej dotarcie do miejsca działania. Polega to na przenikaniu barwnika oraz jego metabolitów z krwi do tkanek poprzez błony biologiczne na zasadzie biernego i aktywnego transportu. Na metabolizm substancji czynnej farmakologicznie składa się szereg czynników zmierzających do unieczynnienia leku co w konsekwencji prowadzić ma do wydalenia go z organizmu. Zieleń malachitowa i fiolet krystaliczny w organizmie ryb pod wpływem enzymów zredukowane są do swoich bezbarwnych form nazywanych formami leuko. Z zieleni malachitowej tworzy się zieleń leukomalachitową a z fioleto krystalicznego fiolet leukokrystaliczny. Formy te są bardziej lipofilne od form macierzystych przez co ich akumulacja następuje w tkance tłuszczowej. Czas eliminacji z organizmu jest różny, zależy od barwnika a także ryby: wieku, gatunku i ilości tkanki tłuszczowej (Tab. 1) (Allen i in. 1994; Bergwerff i in. 2004; Mitrowska i in. 2008; Plakas i in. 1996; Thompson i in. 1999; Turnipseed i in. 1997). Po trzygodzinnej kąpeli karpia królewskiego w roztworze zieleni malachitowej o stężeniu 2 mg l⁻¹ stężenie barwnika w mięśniach wynosiło maksymalnie 341 µg kg⁻¹, a jej głównego metabolitu zieleni leukomalachitowej maksymalnie 518 µg kg⁻¹. Interesujące jest, że o ile zieleń malachitowa

Tab. 1. Kinetyka zanikania poszczególnych barwników u różnych gatunków ryb.

| Barwnik | Ryba | Stężenie roztworu barwnika | Czas kąpeli | Najwyższe stężenie barwnika w tkance mięśniowej | Czas pozostawania barwnika w tkance mięśniowej |
|---------------------|-------------------|----------------------------|-------------|---|--|
| Zieleń malachitowa | Karp królewski | 2 mg l ⁻¹ | 3 godziny | 341 µg kg ⁻¹ MG 502 µg kg ⁻¹ LMG | MG: 56 dni LMG: 252 dni |
| | Pstrąg tęczy | 1 mg l ⁻¹ | 1 godzina | 15 µg kg ⁻¹ MG 230 µg kg ⁻¹ LMG | - |
| | Sum kanałowy | 0,8 mg l ⁻¹ | 1 godzina | 12 µg kg ⁻¹ MG 518 µg kg ⁻¹ LMG | MG: 14 dni LMG: 42 dni |
| | Węgorz europejski | 0,1 mg l ⁻¹ | 24 godziny | 2 µg kg ⁻¹ MG 139 µg kg ⁻¹ LMG | MG: 62 dni LMG: 100 dni |
| Fiolet krystaliczny | Sum kanałowy | 0,1 mg l ⁻¹ | 1 godzina | 0,5 µg kg ⁻¹ CV 12 µg kg ⁻¹ LCV | CV: 1 godzina LCV: 72 dni |
| Błękit metylenowy | Sum kanałowy | 5 mg l ⁻¹ | 1 godzina | 10-20 µg kg ⁻¹ MB | - |

Objaśnienia: MG – zieleń malachitowa, LMG – zieleń leukomalachitową, CV – fiolet krystaliczny, LCV – fiolet leukokrystaliczny, MB – błękit metylenowy.

utrzymywała się w stężeniu możliwym do oznaczenia w 56 dniu, to jej forma leuko pozostawała w organizmie ryby znacznie dłużej, bo aż do 252 dnia od zakończenia kąpeli (Mitrowska i in. 2008). Sytuacja jest podobna w przypadku fioleto krystalicznego, mimo że stężenie roztworu było znacznie

mniejsze bo jedynie 0,1 mg l⁻¹, to analogicznie do doświadczenia z zielenią, stężenie formy leuko było znacznie wyższe (12 µg kg⁻¹) w stosunku do formy macierzystej (0,5 µg kg⁻¹), a czas zanikania fioletu leukokrystalicznego w tkance mięśniowej znacznie dłuższy (72 dni) niż dla fioletu krystalicznego (1 godzina) (Thompson i in. 1999). Dotychczas opublikowane wyniki badań nad metabolizmem i kinetyką zanikania błękitu metylenowego u ryb pokazały, że u suma, po godzinnej kąpeli w roztworze błękitu metylenowego o stężeniu 5 mg l⁻¹, wykryto ten barwnik w mięśniach na poziomie od 10 do 20 µg kg⁻¹. Obecne były również pozostałości azuru B, co może świadczyć o tym, że jest to główny produkt metabolizmu błękitu metylenowego (Turnipseed i in. 1997).

4. Aspekt toksykologiczny barwników

Wszystkie wymienione barwniki działają bardzo toksycznie na organizmy wodne, powodując długotrwałe negatywne skutki. Doniesienia literaturowe przedstawiające badania przeprowadzone na zwierzętach laboratoryjnych potwierdzają toksyczność głównych przedstawicieli analizowanych grup oraz możliwość powodowania przez nie zmian w materiale genetycznym. Nie wszystkie substancje zostały szczegółowo przebadane pod kątem toksyczności, jednak przyjmuje się, że ze względu na podobieństwo struktur substancje w obrębie grup wywołują analogiczne efekty toksyczne.

Według podziału kategorii toksyczności dla środowiska wodnego (GHS - ang. Globally Harmonised System of Classification and Labelling of Chemicals) wszystkie barwniki tryfenylometanowe działają bardzo toksycznie na organizmy wodne, powodując długotrwałe negatywne skutki. Po zastosowaniu zarówno zieleni malachitowej jak i fioletu krystalicznego obserwowane są zmiany histopatologiczne w wątrobie, skrzelach, nerkach, jelitach, gonadach i komórkach gonadotropowych zwierząt laboratoryjnych. Badania na zwierzętach laboratoryjnych oceniają wartość średniej dawki śmiertelnej (LD₅₀) dla zieleni malachitowej na poziomie 275 mg kg⁻¹ dla szczura po podaniu doustnym. Wartość ta dla fioletu krystalicznego wynosi 420 mg kg⁻¹ w badaniach na szczurach oraz 96 mg kg⁻¹ dla myszy. Wartość stężenia letalnego (LC₅₀) dla zieleni malachitowej oceniona została dla różnych gatunków ryb. Wyniki badań wskazują na to, że LC₅₀ zmienia się w zależności od gatunku badanego organizmu, pH i temperatury wody a także czasu ekspozycji na barwnik; wartość ta waha się od 0,5 do 5,6 mg l⁻¹ (Alderman 1985). W organizmie ryby zieleń malachitowa ulega redukcji do zieleni leukomalachitowej i analogicznie fiolet krystaliczny do fioletu leukokrystalicznego. Zarówno dla zieleni malachitowej jak i jej leuko formy określony został poziom bez obserwowanego działania szkodliwego (NOAEL - ang. No Observed Adverse Effect Level) i wynosi on u szczurów odpowiednio 9,4 mg kg⁻¹ i 10 mg kg⁻¹. Jako że zieleń malachitowa i zieleń leukomalachitowa uznane są za substancje mogące być genotoksyczne i rakotwórcze dlatego Europejski Urząd ds. Bezpieczeństwa Żywności (EFSA - European Food Safety Authority) za toksykologiczne wartości odniesienia (TRV - ang. Toxicological Reference Value) przyjął wartość BMDL₁₀ (ang. lower 95% confidence limit for a benchmark response of 10% extra risk) dla efektów nowotworowych (gruczolakach i rakach wątrobowokomórkowy) która wynosi 13 mg kg⁻¹ masy ciała, oraz BMDL₀₅ (ang. lower 95% confidence limit for a benchmark response of 5% extra risk) równe 6 mg kg⁻¹ masy ciała dla efektów nienowotworowych (zwiększania masy wątroby i ciała) (EFSA CONTAM Panel 2016). Wspólny Komitet Ekspertów FAO/WHO ds. dodatków do żywności (JECFA - Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives) na podstawie dotychczasowych badań oceniła ryzyko wpływu zieleni malachitowej i fioletu krystalicznego w hodowli ryb na zdrowie publiczne. Po dokonaniu przeglądu badań dotyczących genotoksyczności tych barwników i metabolitów komitet nie poparł stosowania ani zieleni malachitowej ani fioletu krystalicznego u zwierząt hodowanych przeznaczonych do konsumpcji.

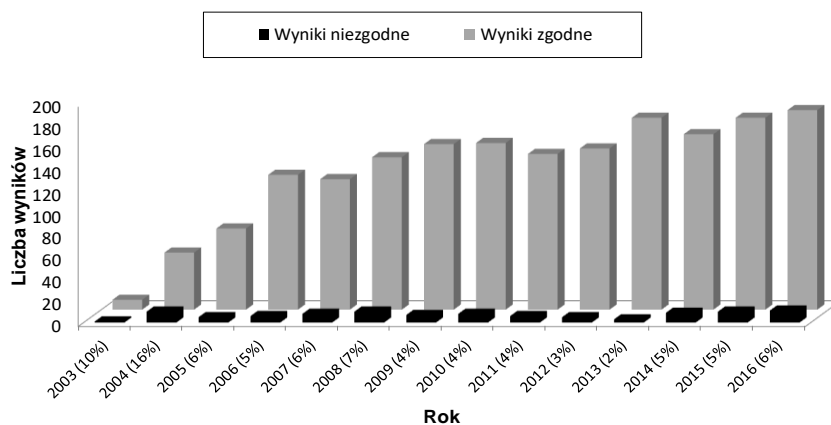
Błękit metylenowy wykazuje negatywne działania na organizmy żywe, takie jak działania mutagenne, teratogenne czy cytotoksyczne. Oprócz tego wywołuje szereg efektów nowotworowych, a dowodzą tego wyniki badań na myszach i szczurach laboratoryjnych zestawione w raportach Europejskiej Agencji Leków (EMA - European Medicines Agency) oraz w monografiach Międzynarodowej Agencji Badań nad Rakiem (IRAC - ang. International Agency for Research on Cancer), wg których błękit metylenowy zakwalifikowano do 3 grupy toksyczności, czyli substancji niemożliwych do zaklasyfikowania jako rakotwórcze dla człowieka. Wartość średniej dawki

śmiertelnej (LD_{50}) znajduje się w granicach od 42 mg kg^{-1} dla owcy przy podaniu dożylnym do 1250 mg kg^{-1} dla myszy przy podaniu doustnym. Określony został poziom bez obserwowanego działania (NOEL - ang. No Observed Effect Level) dla szczura i królika, który wynosi kolejno 4 i 6 mg kg^{-1} (NTP Technical Report 2008).

Analizując pod kątem toksyczności grupę barwników akrydynowych zaznaczyć należy, że brak jest wyników świadczących jednoznacznie o toksyczności tej grupy. Jednakże na uwagę zasługuje fakt, że zarówno akryflawina jak i proflawina w testach na bakteriach wykazują działanie genotoksyczne i mutagenne.

5. Regulacje prawne dotyczące stosowania barwników oraz kontrola ich pozostałości w rybach

W świetle obowiązujących przepisów barwniki należące do grup trifenylometanowych, tiazynowych i akrydynowych mogą być stosowane jedynie w akwarystyce, i hodowli ryb ozdobnych. Jako substancje farmakologicznie czynne nie znajdują się w wykazie leków weterynaryjnych przeznaczonych do stosowania u zwierząt, z których lub od których pozyskuje się żywność (Rozporządzenie Komisji (UE) nr 37/2010) w związku, z czym ich stosowanie w hodowli ryb przeznaczonych do konsumpcji jest całkowicie niedozwolone. Sytuacja taka wynika z faktu, że dla żadnego z omawianych barwników nie wyznaczono akceptowalnego dziennego pobrania (ADI - ang. Acceptable Daily Intake) ani maksymalnego limitu pozostałości (MRL - ang. Maximum Residue Limit). Niestety, szeroka dostępność oraz niska cena tych substancji połączona z wysoką skutecznością spowodowała, że część hodowców w sposób nielegalny wykorzystuje je do leczenia ryb. Barwniki znajdują się w wykazie substancji objętych obowiązkowymi badaniami kontrolnymi żywności i należą do grupy B3 obejmującej substancje skażające środowisko i inne substancje (Dyrektywa Rady 96/23/WE). Wymagany minimalny poziom oznaczania (MRPL - ang. Minimum Required Performance Limit) dla sumy zieleni malachitowej oraz zieleni leukomalachitowej w mięśniach ryb wynosi $2 \text{ } \mu\text{g kg}^{-1}$. Powoduje to, że oznaczona ilość barwników w badanej próbce powyżej tej wartości kwalifikuje ją jako niezgodną, a w konsekwencji żywność jako nienadającą się do obrotu i konsumpcji (Decyzja Komisji 2004/25/WE).

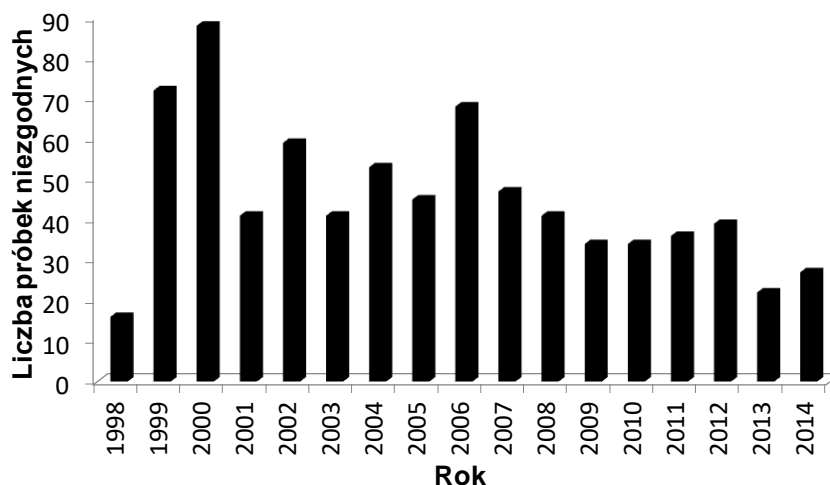


Rys. 1. Wyniki krajowych badań kontrolnych pozostałości barwników w rybach (2003-2016).

W Polsce krajowym laboratorium referencyjnym w zakresie badań pozostałości chemicznych, w tym barwników w produktach żywnościowych pochodzenia zwierzęcego jest Zakład Farmakologii i Toksykologii Państwowego Instytutu Weterynaryjnego – Państwowego Instytutu Badawczego (PIWet-PIB) w Puławach. Do oznaczania barwników w mięśniach ryb wykorzystywana jest technika chromatografii cieczowej połączonej ze spektrometrią mas (Mitrowska i in. 2005b). Krajowe badania

kontrolne ryb rozpoczęto w roku 2003 w ramach Krajowego Programu Badań Kontrolnych Pozostałości Chemicznych, Biologicznych i Leków (Mitrowska i in. 2005a). Jak widzimy na Rys. 1 przedstawiającym wyniki krajowych badań kontrolnych barwników w rybach na przełomie lat 2003-2016 problem próbek niezgodnych jest cały czas aktualny. Zaobserwować możemy również zwiększenie liczby próbek badanych.

Badania kontrolne ryb w kierunku barwników w Unii Europejskiej rozpoczęto wraz z wejściem w życie Dyrektywy Rady nr 96/23/WE. Na przełomie lat 1998-2014 wyniki niezgodne dotyczyły głównie zieleni leukomalachitowej, którą znajdowano w próbkach mięśni ryb w zakresie stężeń od kilku do kilkudziesięciu $\mu\text{g kg}^{-1}$. Ponadto od 2010 roku pojawiają się także próbki zawierające fiolet krystaliczny i leukokrystaliczny (Rys. 2). Najwięcej wyników niezgodnych wykazuje się w krajach o dużej produkcji ryb (Tab. 1).



Rys. 2. Wyniki unijnych badań kontrolnych pozostałości barwników w rybach (1998-2014).

Ze względu na potrzebę stałej kontroli pozostałości chemicznych w produktach odzwierzęcych powstał System Wczesnego Ostrzegania o Substancjach Niebezpiecznych w Żywności i Paszach (RASFF - ang. Rapid Alert System for Food and Feed); jego zadaniem jest zbieranie i analizowanie próbek niezgodnych przybyłych z poza granic Unii Europejskiej. W latach 2002-2008 zgłaszano najczęściej produkty pochodzące z rynku azjatyckiego; alarmy dotyczyły zwłaszcza pangii z Wietnamu, suma z Tajlandii oraz węgorza importowanego z Chin i Indonezji. Dane europejskie pokrywają się z ustaleniami Agencji Żywności i Leków (FDA – ang. Food and Drug Administration), jak również informacjami z Kanady i Japonii, gdzie na ostrzegawczej liście krajów importujących produkty akwakultury znajdowały się takie państwa jak: Wietnam, Tajlandia, Chiny, Indonezja oraz Tajwan. Najczęściej sprowadzanymi produktami, które były skażone barwnikami były ryby, mięczaki oraz skorupiaki, a zwłaszcza kraby i krewetki (Love i in. 2011).

Tab. 2. Wyniki niezgodne w poszczególnych krajach UE na przełomie lat 1998-2014.

| Rok | Poszczególne kraje (liczba wyników niezgodnych) | | |
|------|---|----------------------|---------------------|
| 1998 | Belgia (14) | Niemcy (1) | Wielka Brytania (1) |
| 1999 | Francja (42) | Belgia (16) | Wielka Brytania (8) |
| 2000 | Francja (56) | Belgia (22) | Wielka Brytania (8) |
| 2001 | Francja (18) | Wielka Brytania (17) | Belgia (5) |

| Rok | Poszczególne kraje (liczba wyników niezgodnych) | | |
|------|---|----------------------|------------------------------------|
| 2002 | Francja (27) | Wielka Brytania (16) | Niemcy (6) |
| 2003 | Francja (15) | Irlandia (9) | Wielka Brytania (7) |
| 2004 | Finlandia (12) | Francja (11) | Polska (10) |
| 2005 | Niemcy (11) | Czechy (9) | Francja (6) |
| 2006 | Austria (16) | Włochy (13) | Francja (10) |
| 2007 | Niemcy (12) | Polska (8) | Austria (6) |
| 2008 | Niemcy (18) | Polska (10) | Grecja (5) |
| 2009 | Niemcy (10) | Grecja (9) | Austria (9) |
| 2010 | Niemcy (15) | Polska (8) | Słowacja (4) |
| 2011 | Czechy (19) | Polska (6) | Austria (3) |
| 2012 | Czechy (15) | Polska/Niemcy (5) | Słowacja/Belgia (3) |
| 2013 | Czechy (9) | Polska (3) | Holandia/Słowacja/Niemcy (2) |
| 2014 | Polska (9) | Czechy (8) | Bułgaria/Wielka Brytania/Dania (2) |

6. Podsumowanie

Wyniki uzyskane w ramach krajowych i unijnych programów badań kontrolnych występowania barwników w żywności pochodzenia zwierzęcego pokazują, że mimo oficjalnego zakazu, barwniki stosowane są w hodowli ryb przeznaczonych do konsumpcji. Dlatego istotna jest kontrola pozostałości w szerszym zakresie gdyż hodowcy ryb przeznaczonych do konsumpcji mogą nielegalnie stosować różne barwniki. Jako że od kilkudziesięciu lat obserwuje się wzrost produkcji akwakultury, a przy intensywnej hodowli stosowanie środków farmakologicznie czynnych jest nieuniknione, to w niektórych regionach świata, zwłaszcza w krajach rozwijających się, stosowanie barwników wciąż ma miejsce. Dlatego w celu ochrony zdrowia konsumentów kontrola produktów importowanych jak i tych z rynku krajowego jest konieczna. Ważne także jest poznanie metabolizmu i kinetyki zanikania barwników, gdyż, pomimo że forma podstawowa może zostać wydalona, to ich metabolity, jak ma to miejsce w przypadku zieleni malachitowej i fioletu krystalicznego, mogą pozostawać w organizmie ryb znacznie dłużej.

7. Finansowanie

Sfinansowano ze środków dotacji KNOW Konsorcjum Naukowego "Zdrowe Zwierzę - Bezpieczna Żywność", decyzja Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego nr 05-1/KNOW2/2015.

8. Literatura

- Alderman DJ (1985) Malachite green: a review. *Journal of Fish Diseases* 8: 289-298.
- Allen JL, Gofus JE, Meinertz JR (1994) Determination of malachite green residues in the eggs, fry, and adult muscle tissue of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Journal of AOAC International* 77(3), 553-557.
- Antychowicz J (1996) Choroby i zatrucia ryb. Wydawnictwo SGGW.
- Bergwerff AA, Kuiper RV, Scherpenisse P (2004) Persistence of residues of malachite green in juvenile eels (*Anguilla Anguilla*). *Aquaculture* 233, 55-63.
- Decyzja Komisji 2004/25/WE z dnia 22 grudnia 2003 r. zmieniająca decyzję 2002/657/WE w odniesieniu do ustalania minimalnych wymagalnych wartości granicznych wydajności

- (MRPL) dla niektórych pozostałości w żywności pochodzenia zwierzęcego Dz.U. L 6 z 10.1.2004.
- Dyrektywa Rady 96/23/WE z dnia 29 kwietnia 1996 r. w sprawie środków monitorowania niektórych substancji i ich pozostałości u żywych zwierząt i w produktach pochodzenia zwierzęcego oraz uchylająca dyrektywy 85/358/EWG i 86/469/EWG oraz decyzje 89/187/EWG i 91/664/EWG. Dz.U. L 125 z 23.5.1996.
- EFSA CONTAM Panel (EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain) (2016) Scientific opinion on malachite green in food. *EFSA Journal* 14 (7): 4530: 1-80.
- Love DC i in. (2011) Veterinary Drug Residues in Seafood Inspected by the European Union, United States, Canada and Japan from 2000 to 2009. *Environmental Science & Technology* 45: 7232-7240.
- Mitrowska K, Posyniak A, Zmudzki J (2008) Rozmieszczenie i kinetyka zanikania zieleni malachitowej i zieleni leukomalachitowej w tkankach i narządach karpia. *Medycyna Weterynaryjna* 64(8): 1055-1058.
- Mitrowska K (2014) Występowanie pozostałości barwników u ryb słodkowodnych. Zagrożenia i ochrona zdrowia ryb. Wyd. PIWet-PIB Puławy pod redakcją J. Żelaznego i M. Reicherta, 239-260.
- Mitrowska K, Posyniak A (2005a) Zielen malachitowa - aspekty farmakologiczne, toksykologiczne i kontrola pozostałości. *Medycyna Weterynaryjna* 61: 742-745.
- Mitrowska K, Posyniak A, Zmudzki J (2005b) Determination of malachite green and leucomalachite green in carp muscle by liquid chromatography with visible and fluorescence detection. *Journal of Chromatography A*, 1089(1-2): 187-192.
- NTP Technical Report (2008) Toxicology and carcinogenesis studies of methylene blue trihydrate (Cas No. 7220-79-3) in F344/N rats and B6C3F1 mice (gavage studies). National Toxicology Program Technical Report Series 540: 1-224.
- Plakas SM, El Said KR, Stehly GR i in. (1996) Uptake, tissue distribution, and metabolism of malachite green in the channel catfish (*Ictalurus punctatus*). *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 53(6): 1427-1433.
- Rozporządzenie Komisji (UE) nr 37/2010 z dnia 22 grudnia 2009 r. w sprawie substancji farmakologicznie czynnych i ich klasyfikacji w odniesieniu do maksymalnych limitów pozostałości w środkach spożywczych pochodzenia zwierzęcego Dz.U. L 15 z 20.1.2010.
- Thompson HC, Jr. Rushing LG, Gehring T i in. (1999) Persistence of gentian violet and leucogentian violet in channel catfish (*ictalurus punctatus*) muscle after water-borne exposure *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications* 723(1-2): 287-291.
- Turnipseed SB, Roybal JE, Plakas SM i in. (1997) Determination of methylene blue in channel catfish (*Ictalurus punctatus*) tissue by liquid chromatography with visible detection. *Journal of AOAC International* 80(1): 31-35.

25. Żywność funkcjonalna - przykłady zastosowań

Functional food – application examples

Gabriela Widelska⁽¹⁾, Aleksandra Dymek⁽²⁾, Monika Drózd⁽³⁾, Dominik Straszak⁽⁴⁾

⁽¹⁾Katedra Chemii, Zakład Chemii Nieorganicznej, Uniwersytet Medyczny w Lublinie

⁽²⁾Katedra i Zakład Farmakognozji z Pracownią Roślin Leczniczych, Uniwersytet Medyczny w Lublinie

⁽³⁾Katedra i Zakład Chemii Organicznej, Uniwersytet Medyczny w Lublinie

⁽⁴⁾Katedra i Zakład Syntezy i Technologii Chemicznej Środków Leczniczych, Uniwersytet Medyczny w Lublinie

Opiekun naukowy: dr hab. Anna Oniszczuk

Widelska Gabriela: gabrielachodun@yahoo.com

Słowa Kluczowe: żywność programowana, polifenole, Alzheimer

Streszczenie

Żywnością funkcjonalną możemy określić produkty spożywcze, które dzięki dodatkowym składnikom (minerałom, ekstraktom roślinnym, białkom itd.) poprawiają odporność organizmu, przeciwdziałają schorzeniom cywilizacyjnym (m. in. demencji, miażdżycy, nadciśnieniu tętniczemu, chorobom układu sercowo-naczyniowego, chorobom nowotworowym, otyłości czy cukrzycy), wspomagają leczenie określonych schorzeń, przyczyniając się do odzyskania pełni dobrostanu fizycznego i psychicznego organizmu oraz jego utrzymania.

Przy produkcji różnych postaci żywności funkcjonalnej używane są ekstrakty otrzymywane z licznych roślin zawierających substancje aktywne w tym związki polifenolowe, charakteryzujące się licznymi właściwościami prozdrowotnymi. Źródłem takich związków mogą być m.in. kwiatostany lipy czy ziele pokrzywy, ziele skrzypu i wiele innych.

1. Wstęp

W dzisiejszych czasach żywność nie jest już postrzegana tylko jako źródło podstawowych wartości odżywczych, coraz ważniejsze staje się znaczenie jakie wywiera na ludzkie zdrowie, jaki wpływ ma na kondycję psychiczną oraz w jaki sposób może zapobiegać coraz powszechniejszym nękającym ludzką chorobom cywilizacyjnym (Menrad, 2003). Prowadzone na szeroką skalę badania zarówno akademickie jak i badania rynku donoszą o zwiększonym zainteresowaniu zdrową i funkcjonalną żywnością. Wiąże się to głównie z rozpoznaniem związku między jakością pożywienia a zachowaniem zdrowia, wzrostem średniej długości życia, a co za tym idzie zwiększeniem nakładów na służbę zdrowia, w dziedzinie prewencji chorób układu sercowo-naczyniowego, cukrzycy czy nowotworów (Krystallis i in. 2008; Menrad 2003).

2. Opis zagadnienia

Idea żywności funkcjonalnej bierze swój początek w tradycji dalekiego Wschodu, według której nie ma znaczącej różnicy między lekiem a pożywieniem. Podobną opinię wyrażał ojciec medycyny Hipokrates z Kos. Naturalne wydaje się zatem, że pierwsze badania nad żywnością funkcjonalną zapoczątkowano właśnie w Japonii w latach 80-tych XX wieku. Japońscy naukowcy również jako pierwsi na świecie zdefiniowali ją jako żywność o określonej przydatności zdrowotnej (ford for specified health use – FOSHU). Od tamtej pory różne kraje zaadaptowały ideę żywności funkcjonalnej, równocześnie redefiniując ją w charakterystyczny dla siebie sposób. W Europie pierwszy raz zagadnienie pojawia się w 1996r. co łączy się z rozpoczęciem programu badawczego finansowanego z ramienia Unii Europejskiej – Functional Food Science In Europe (FUFOSE). Celem tego programu było określenie podstaw naukowych dla pojęcia żywności funkcjonalnej. Ustalono, że żywność może być traktowana jako funkcjonalna, jeśli oprócz dostarczania wartości odżywczych będzie w znaczący sposób wpływać na zachowanie stanu zdrowia i dobrego samopoczucia, a także

będzie zmniejszać zachorowalność na choroby cywilizacyjne (Diplock i in. 1999). Może zawierać komponenty pozyskane z naturalnych surowców powszechnie uważanych za zdrowe, czyli owoców i warzyw; chleb i płatki mogą być przyrządzane z pełnego ziarna i lepiej przyswajanego błonnika (produkt zmieniony); soki owocowe wzbogacane dodatkowo witaminą C i mleko z witaminą D (produkty wzmacniane) (Siro i in. 2008). Często w celu uczynienia z żywności funkcjonalnej usuwa się z produktów naturalnych szkodliwe alergeny, nie umniejsza się tym samym jej wartości odżywczych, a dodaje prozdrowotne funkcje. Zdecydowano również, że żywność ta swoim wyglądem musi przypominać zwykłe produkty spożywcze, nie może występować w formie tabletek, kropli czy żadnej innej postaci leku. Korzystny wpływ na zdrowie powinna wywierać w ilościach spożywanych standardowo jako dopełnienie codziennej diety. Prozdrowotne działanie żywności funkcjonalnej musi być również udowodnione w badaniach klinicznych prowadzonych przez niezależne ośrodki badawcze z zachowaniem ścisłych wymogów dotyczących ilości badanych osób jak i czasu trwania badania.

Klasyfikacja różnych typów żywności funkcjonalnej może przysparzać pewnych trudności. Większość naukowców dokonując podziału bierze pod uwagę wskazania medyczne i dzieli na żywność:

- zmniejszającą zachorowalność na choroby układu sercowo-naczyniowego
- zmniejszającą zachorowalność na nowotwory
- zmniejszającą zachorowalność na choroby neurodegeneracyjne
- zmniejszającą ryzyko rozwoju osteoporozy
- dla niemowląt
- dla kobiet w ciąży i karmiących
- dla osób starszych
- dla sportowców

Inni z kolei dokonują podziału żywności funkcjonalnej zgodnie z jej składem, tj. na żywność konwencjonalną i wzbogacaną. Za konwencjonalną uznaje się tą naturalnie bogatą w składniki o korzystnym profilu zdrowotnym, takie jak błonnik, fitoestrogeny, niezbędne nienasycone kwasy tłuszczowe (NNKT), witaminy, antyoksydanty i składniki mineralne. Wzbogacona, inaczej fortyfikowana, to taka gdzie celowo wprowadzono wyżej wymienione substancje. Biorąc pod uwagę skład można wyróżnić żywność bogatobłonnikową, niskosodową, niskocholesterolową, probiotyczną, niskoenergetyczną lub wysoce energetyczną.

Popularność żywności funkcjonalnej wciąż wzrasta i rozprzestrzenia się na całym świecie, stając się częścią codziennej diety wielu konsumentów. Przewiduje się, że w 2020 roku światowy rynek żywności funkcjonalnej (włączając również napoje wzbogacone) osiągnie wartość 192 miliardów dolarów. Dużym wyzwaniem dla przemysłu będzie zatem odpowiednie dostosowanie zakładów produkcyjnych tak by wytwarzana żywność była najwyższej jakości, satysfakcjonująca wciąż rosnący rynek konsumentów (Menezes i in. 2011; Kaur i in. 2017). Poza pożądanym, interesującym wyglądem składniki żywności funkcjonalnej poddanej obróbce cieplnej lub mechanicznej muszą pozostać aktywne, być bioprzyswajalne, charakteryzować się odpowiednio długim czasem magazynowania i przydatności. Nie powinny ulegać zmianom w wyniku zamrażania lub rozmrażania. Z perspektywy przemysłu powinny być również łatwe w produkcji, a oprócz tego powinny być po prostu smaczne.

Prawie wszystkie produkty żywnościowe, oprócz świeżych warzyw i owoców, przed spożyciem poddawane są odpowiedniej obróbce termicznej. Bardzo dobrą i coraz popularniejszą metodą produkcji żywności jest ekstruzja, technika wykorzystywana również do produkcji żywności funkcjonalnej. Ekstruzja jest procesem zachodzącym pod wpływem krótkotrwałego działania wysokiej temperatury, przy czym jej szkodliwy wpływ na substancje odżywcze jest minimalizowany (Kosińska-Cagnazzo i in. 2017). Ekstrudaty najczęściej wytwarzane są z bogatych w skrobię składników, takich jak ryż, pszenica czy ziemniaki. Oprócz działania wysokiej temperatury (120-200°C) substraty poddawane są działaniu wysokiego ciśnienia (do 20 MPa), tak by przy odpowiedniej wilgotności i po uprzedniej obróbce mechanicznej powstał termoplastyczny materiał. Ostatnimi czasy obserwuje się tendencję do wzbogacania ekstrudowanych produktów błonnikiem lub antyoksydantami pozyskiwanymi z owoców i warzyw. Mogą być one dodawane w postaci miazgi,

ekstraktów bądź proszków (Leyva-Corral i in. 2016). Wprowadzenie dodatku owoców nie tylko podniosło ogólny poziom substancji bioaktywnych ale także w znaczący sposób przyczyniło się do wzrostu atrakcyjności produktu końcowego pod względem wizualnym i smakowym (Camire i in.2016).

Ekstruzja sama w sobie, jako proces, może poprawiać przyswajalność skrobi i niektórych protein. Niektórzy naukowcy sygnalizują utratę wartości odżywczych w jej wyniku (Singh i in. 2007), z drugiej jednak strony dzięki łatwości modyfikacji składników w procesie technologicznym, zwiększa się zarówno ilość substancji bioaktywnych jak i ich biodostępność (Gui i Ryu 2013).

3. Przegląd literatury

Żywność funkcjonalna coraz częściej stosowana jest jako jeden ze środków służących prewencji chorób, zyskując uznanie nie tylko wśród konsumentów i lekarzy lecz również wśród badaczy. Najpopularniejszym przykładem nutraceutyków są produkty mleczne powszechnie wzbogacane w żywe kultury bakterii mlekowych. Wiadomo, że rozwój flory bakteryjnej w przewodzie pokarmowym w znacznym stopniu zależy od diety i wieku. Już w momencie porodu zachodzi kolonizacja przewodu pokarmowego noworodka (najczęściej bakteriami z rodziny *Enterobacteriaceae*), która później stopniowo postępuje. Pierwsze tygodnie życia mają zatem znaczny wpływ na stabilizację flory bakteryjnej układu pokarmowego noworodka, a co za tym idzie główny wpływ na jego odporność. U noworodków karmionych piersią stwierdzono dominujący udział bifidobakterii, co uznano za korzystne dla zdrowia dziecka. U noworodków karmionych mlekiem modyfikowanym stwierdzono znaczne zróżnicowanie flory bakteryjnej, co nie zawsze jest właściwe. Dodatek probiotycznych bakterii do mleka modyfikowanego pozwolił na zasiedlanie układu pokarmowego noworodka odpowiednimi drobnoustrojami (Krawczyński, 2003). Ponadto stwierdzono zdolność probiotyków do wychwytywania cholesterolu, a także do wiązania kwasów żółciowych, przez co przyczyniają się do osiągnięcia korzystnego profilu lipidowego. Najpopularniejsze szczepy bakterii probiotycznych takich jak *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus plantarum* oraz *Bifidobacterium bifidum* aby się namnażać potrzebują odpowiedniej pożywki (Nowak i in. 2010). Badania wykazały liczne mechanizmy, za których pośrednictwem probiotyki wywierają korzystny wpływ na zdrowie zarówno zwierząt laboratoryjnych jak i ludzi. Zarówno prebiotyki jak i probiotyki mogą wspomagać terapię wielu zaburzeń układu pokarmowego, między innymi immunologiczno-zapalnych, a także profilaktykę niektórych chorób zakaźnych (Baron 2009). Istnieją również przesłanki mówiące o sprzyjającym wpływie bakterii pre- i probiotycznych w zapobieganiu epidemii otyłości i cukrzycy typu 2 (Oelschlaeger 2010). Do wielu produktów spożywczych dodaje się prebiotyki, tj. skrobię, gumę guar lub oligosacharydy; takie połączenie pre- i probiotyków ma miejsce w jogurtach, kefirach i tzw. mlekach acidofilnych szeroko występujących na rynku spożywczym.

Innym przykładem żywności funkcjonalnej są oleje tłoczone na zimno. Zgodnie z Codex Alimentarius do olejów tłoczonych na zimno zalicza się oleje roślinne i tłuszcze jadalne uzyskane w skutek procesów mechanicznych (tłoczenie) bez zastosowania wysokiej temperatury. Stanowią one bogate źródło antyoksydantów (głównie tokoferole i związki polifenolowe), dzięki czemu wykazują silną aktywność przeciwutleniającą. Zawierają także NNKT (niezbędne nienasycone kwasy tłuszczowe), między innymi kwas alfa-linolenowy, kwas beta-linolenowy i kwas linolowy oraz sterole roślinne. Olejami tłoczonymi na zimno zawierającymi duże ilości NNKT są: olej lniany, olej z lnianki (tzw. olej rydzowy), olej rokitnikowy i olej z nasion malin (Obiedzińska i Waszkiewicz-Robak 2012). Kwasy te są prekursorami syntezy długołańcuchowych kwasów tłuszczowych w organizmie człowieka. Badania naukowe dowiodły wpływ kwasów tłuszczowych należących do grupy n-3 na zmniejszenie ryzyka zapadalności na choroby sercowo-naczyniowe. Dzieje się tak na skutek obniżenia poziomu trójglicerydów i frakcji LDL cholesterolu we krwi. Istnieją również dowody na to, że kwasy te zmniejszają zachorowalność na choroby psychiczne, między innymi na depresję (Logan 2004). Oleje tłoczone na zimno stosuje się głównie jako dodatek do już gotowych potraw, jednak oprócz tego, tradycyjnego użycia mogą być one zastosowane jako surowiec wzbogacający produkty spożywcze (np. pieczywo lub majonezy) w pożądane składniki bioaktywne (Obiedzińska i Waszkiewicz-Robak 2012).

Liczną grupę substancji wchodzących w skład żywności funkcjonalnej stanowią te o działaniu przeciwutleniającym, czyli hamującym reakcje z wolnymi rodnikami czy reaktywnymi formami tlenu (Szajdek i Borowska 2004). Do antyoksydantów zaliczane są również substancje, które indukują działanie enzymów o charakterze przeciwutleniającym lub hamują te enzymy, które katalizują procesy utleniania. Na szczególną uwagę zasługuje zdolność naturalnych przeciwutleniaczy do niszczenia aktywności wolnych rodników. Wolne rodniki w organizmie człowieka mogą powstawać na skutek działania promieniowania ultrafioletowego, jonizującego lub ultradźwięków. Oddziaływanie wolnych rodników na kwasy nukleinowe, białka czy lipidy może prowadzić do poważnych uszkodzeń, takich jak; defragmentacja nici DNA, mutacji punktowych, zmian chromosomalnych, a także do śmierci komórki. Zazwyczaj w warunkach homeostazy te reaktywne formy tlenu ulegają degradacji lub ulegają kolejnym przemianom biochemicznym, w skutek czego ich działanie jest unieczynniane. Niestety, nadmiar nie zneutralizowanych wolnych rodników może przyczynić się do zmian w DNA, co może stać się sygnałem inicjującym patologiczne podziały komórkowe, a to z kolei jest pierwszym krokiem procesie kancerogenezy. Uważa się również, że wolne rodniki, a w zasadzie stres oksydacyjny przez nie wywoływany, przyczyniają się do rozwoju chorób cywilizacyjnych (w tym chorób neurodegeneracyjnych), takich jak: cukrzyca, zaćma, miażdżyca, choroba Parkinsona i choroba Alzheimera (Szajdek i Borowska 2004; Wojtunik-Kulesza i in. 2016).

Żywność funkcjonalna może stanowić bogate źródło antyoksydantów, głównie polifenoli (kwasy fenolowe, flawonoidy z antocyjanami), witamin A i C, karotenoidów i kwasów organicznych. Odgrywa ona istotną rolę w profilaktyce wielu chorób, przez swój wpływ na całkowity reaktywny potencjał przeciwutleniający (CRPA). Prowadzone na szeroką skalę badania epidemiologiczne sugerują zależność między stopniem zachorowalności na niedokrwienną chorobę serca a spożyciem bogatej we flawonoidy żywności. Wykazano również, że flawonoidy dzięki hamowaniu fosfodiesterazy i cyklooksigenazy skuteczniej od aspiryny zmniejszają agregację płytek krwi, co może być wykorzystane w prewencji miażdżycy (Szajdek i Borowska 2004). Uważa się również, że polifenole pochodzenia roślinnego mogą przeciwdziałać powstawaniu wrzodów żołądka i dwunastnicy, powstałych na skutek stresu, działania ubocznego leków lub alkoholu. Ważnym wydaje się jednak fakt, że aktywność biologiczna antyoksydantów uzależniona jest od ich przyswajalności, która wynika z tego, jaka część przyjętych z pożywieniem substancji jest trawiona, wchłonięta i dodana do procesów metabolicznych (Oniszczuk i in. 2016).

Zakrojone coraz szerzej i dokładniejsze badania, w związku ze stale starzejącym się społeczeństwem, prowadzone są nad przyczyną powstawania i możliwością terapii, a co za tym idzie profilaktyką, choroby Alzheimera, najczęściej występującej choroby neurodegeneracyjnej (Wojtunik_Kulesza i in. 2016). Według najnowszych badań ilość osób na świecie dotkniętych tą chorobą sięga 44 milionom i w najbliższych latach będzie gwałtownie wzrastać. Cechą procesu chorobowego jest stopniowe zwyrodnienie i obumieranie neuronów, któremu towarzyszy powstawanie złożeń amyloidowych. W przebiegu choroby zaobserwowano również aktywację wydzielania czynników zapalnych, takich jak cytokiny, reaktywne formy tlenu i tlenek azotu. Typowymi objawami choroby Alzheimera jest stopniowy zanik pamięci połączony z zaburzeniami procesów poznawczych, takimi jak liczenie, orientacja przestrzenna, upośledzenie mowy. W trakcie rozwoju schorzenia zanika odporność, następuje ubytek masy ciała, a także zwiększa się ryzyko infekcji płuc i gardła. Jedną z głównych przyczyn powstawania tej choroby jest stres oksydacyjny i wpływ reaktywnych form tlenu na komórki mózgu. Dlatego stosowanie środków o aktywności przeciwutleniającej, w tym żywności funkcjonalnej, wzbogaconej o takie składniki wydaje się więcej niż zasadne.

4. Podsumowanie

Zarówno wyniki licznych badań naukowych dotyczących żywności funkcjonalnej, jak i rosnące z roku na rok zainteresowanie nią okazywane przez konsumentów świadczą o celowości jej wytwarzania i stosowania. Niezwykle istotnym jest poznanie i zrozumienie mechanizmów jakie odpowiadają za działanie profilaktyczne składników wykorzystywanych do produkcji wielu rodzajów żywności funkcjonalnej.

Potwierdza to słuszność stwierdzeń starożytnych mędrców, którzy nawoływali do tego by żywność stała się lekiem. Być może współczesna nauka potwierdzi po raz kolejny prawdy znane od starożytności. Jednego możemy być pewni, że badania nad żywnością funkcjonalną mają charakter interdyscyplinarny i będą się rozwijać dynamicznie z pożytkiem dla nauki, a przede wszystkim społeczeństwa.

5. Literatura

- Baron M (2009) A patented strain of *Bacillus coagulans* increased immune response to viral challenge. *Postgraduate Medical Journal* 121, 114-118
- Camire ME, Chaovanalikit A, Dougherty MP i in. (2016) Blueberry and grape anthocyanins as breakfast cereal colorants. *Journal of Food Science*, 67(1), 438-441
- Diplock AT, Aggett PJ, Ashwell M i in. (1999) Scientific concepts of functional foods in Europe: consensus document. *British Journal of Nutrition* 81(4), S1-S27
- Gui Y, Ryu GH (2013) The effect of extrusion conditions on the acidic polysaccharide, ginsenoside contents and antioxidant properties of extruded Korean red ginseng. *Journal of Ginseng Research* 37(2), 2019-226
- Kaur N, Pal Singh D (2017) Deciphering the consumer behaviour facets of functional foods: A literature review. *Appetite*, 112, 167-187
- Kosinska-Cagnazzo A, Bocquel D, Marmillod I i in. (2017) Stability of goji bioactives during extrusion cooking process. *Food Chemistry* 230(2017), 250-256
- Krawczynski M (2003) Probiotyki, prebiotyki, żywność funkcjonalna w praktyce pediatri i lekarza rodzinnego. *Przewodnik Lekarski* 6(2), 110-115
- Krystallis A, Maglaras G, Mamalis S (2008) Motivations and cognitive structures of consumers in their purchasing of functional foods. *Food Quality and Preference*, 19(6), 525-538
- Leyva-Corral J, Quintero-Ramos A, Camacho-Davila A (2016) Polyphenolic compound stability and antioxidant capacity of apple pomace in an extruded cereal. *LWT – Food Science and Technology*, 65, 228-236
- Logan A.C (2004) Omega-3 fatty acids and major depression: A primer for the mental health professional. *Lipids in Health and Disease Journal* 3(25), 1-8
- Menezes E, Deliza R, Chan HL i in. (2011) Preferences and attitudes towards acai-based products among North American consumers. *Food Research International*, 44(7), 1997-2008
- Menrad K (2003) Market and marketing of functional food in Europe. *Journal of Food Engineering* 56(2), 181-188
- Nowak A, Śliżewska K, Libudzisz Z (2010) Probiotyki – historia i mechanizmy działania. *ŻYWNOSĆ. Nauka. Technologia. Jakość* 4(71)5-19
- Obiedzinska A, Waszkiewicz-Robak B (2012) Oleje tłoczone na zimno jako żywność funkcjonalna. *ŻYWNOSĆ. Nauka. Technologia. Jakość* 1(80), 27-44
- Oelschlaeger T.A (2010) Mechanisms of probiotic actions: a review. *International Journal of Medical Microbiology* 300, 57-62
- Oniszczyk A, Olech M, Oniszczyk T i in. (2016) Extraction methods LC-ESI-MS/MS analysis of phenolic compounds and antiradical properties of functional foods enriched with elderberry flowers or fruits. *Arabian Journal of Chemistry* (2016)
<http://dx.doi.org/10.1016/j.arabjc.2016.09.003>
- Szajdek A, Borowska J (2004) Właściwości przeciwutleniające żywności pochodzenia roślinnego. *ŻYWNOSĆ. Nauka. Technologia. Jakość* 4(41)S,5-28
- Singh S, Gamlath S, Wakeling L (2007) Nutritional aspects of food extrusion: a review. *International Journal of Food Science & Technology* 42(8), 916-929
- Siro I, Kapolna E, Kapolna B i in. (2008) Functional Food. Product development, marketing and consumer acceptance – a review. *Appetite* 51(3), 456-467
- Wojtunik-Kulesza K, Oniszczyk A, Oniszczyk T i in. (2016) The influence of common free radicals and antioxidants on development of Alzheimer's Disease. *Biomedicine & Pharmacotherapy* 79(2016), 39-49

Recenzje rozdziałów w monografiach z kolekcji ISBN 978-83-65677-93-8:

dr hab. Damian Absalon, dr Jan Andrzejewski, prof. dr hab. Krzysztof Anusz, dr hab. inż. Piotr Arlet, dr hab. Katarzyna Bagan-Kurluta, dr hab. Maciej Barczewski, dr inż. Jacek Bartman, dr hab. inż. Marian Bartoszek, dr inż. Justyna Batkowska, dr inż. Piotr Bąska, dr hab. Teresa Bednarczyk, dr Jerzy Bednarski, dr Katarzyna Bergier, dr inż. Agnieszka Bielaszka, prof. dr hab. inż. January Bień, dr Barbara Bilewicz-Kuźnia, dr inż. Mariola Błaszczyk, dr Tomasz Błądek, prof. dr hab. Jacek Błęszyński, dr hab. Adam Bobryk, dr Michał Borodo, dr inż. Marta Borowska, dr inż. Tomasz Brynk, prof. dr hab. Jarosław Całka, dr Beata Całyniuk, dr hab. Witold Chabuz, dr hab. Piotr Chęłpiński, dr Dorota Chrobak-Chmiel, dr Agnieszka Chruścikowska, dr hab. Andrzej Ciążela, prof. dr hab. Jan Cielichowski, dr hab. inż. Adam Cwudziński, prof. dr hab. inż. Anna Cysewska-Sobusiak, dr Paweł Czarniecki, dr hab. Ewa Katarzyna Czech, dr inż. Małgorzata Czichy, dr inż. Klara Czyńska, dr Krzysztof Damaziak, dr hab. Paweł Daniel, dr hab. Anna Doliwa-Klepcka, dr Wioleta Drobik-Czwaro, prof. dr hab. Leszek Drodz, dr Renata Dudziak, prof. dr hab. inż. Włodzimierz Dudziński, dr inż. Krzysztof Durka, dr hab. Marzena Dyjakowska, dr Gabriela Dyrda, dr Magdalena Dziedzic, dr hab. Małgorzata Dzierżęcka-Gappa, dr inż. Małgorzata Dzieciół, prof. dr hab. inż. Marek Dziubiński, dr Marcin Dziwisz, prof. dr hab. Leonard Etel, dr hab. Beata Feledyn-Szewczyk, dr Wiesław Fidecki, dr hab. Marek Figura, dr hab. Paweł Filipiak, dr Piotr Filipiak, dr Jarosław Frączak, dr hab. Magdalena Gajęcka, dr inż. Mariusz Gamracki, prof. dr hab. Ryszard Gerlach, dr Artur Giełdoń, dr Wojciech Glac, prof. dr hab. Tomasz Głowiński, prof. dr hab. Agnieszka Gmitrowicz, dr hab. Sławomir Gonkowski, prof. dr hab. Józef Górniewicz, ks. prof. dr hab. Krzysztof Gózdź, dr Marcin Grąz, dr hab. Joanna Hawlena, dr Iga Hołyńska-Iwan, dr Magdalena Jaciow, dr Magdalena Jankowska-Wajda, dr inż. Tomasz Jankowski, dr inż. Paweł Jelec, dr hab. Andrzej Junkuszew, dr Agata Kabała-Dzik, dr Alena Kacmarova, dr Marta Kaczmarek-Ryś, dr hab. Hanna Karakuła-Juchnowicz, dr inż. Robert Kasner, prof. dr hab. inż. Nina Kazhar, dr inż. Krzysztof Kazuń, dr inż. Agata Kiciak, dr Dominika Kidaj, prof. dr hab. Marek Klimek, dr Joanna Klonowska, dr hab. Zbigniew Kobus, dr hab. Beata Kolny, dr Przemysław Kołodziej, dr inż. Bogusław Kołodziejski, dr hab. Jerzy Kopiński, dr Agnieszka Korchut, dr Grzegorz Korcyl, dr Monika Kornacka, dr hab. inż. Marta Kosior-Kazberuk, dr inż. Łukasz Kotwica, dr hab. Małgorzata H. Kowalczyk, dr Kamil Kowalski, prof. dr hab. Wojciech Kowalski, dr hab. Katarzyna Kozłowicz, dr hab. Piotr Krakowiak, dr Marlena Krawczyk-Suszek, dr hab. Marta Krenz-Niedbała, ks. dr hab. Piotr Kroczek, dr inż. Karol Król, dr Celina Kruszniak-Rajs, dr inż. Krzysztof Krzysztofowicz, dr Waldemar Kuczma, dr inż. Edyta Kudlek, dr Joanna Kula-Gradziak, dr hab. inż. Andrzej Kulig, dr inż. Tomasz Kulpa, dr Marcin Kunecki, dr hab. inż. Robert Kunkel, dr hab. Małgorzata Kwiecień, dr Marzanna Lament, prof. dr hab. Katarzyna Laskowska, dr inż. Magdalena Lech, dr inż. Justyna Libera, prof. dr hab. Tadeusz Linkner, prof. dr hab. Anna Lityńska, dr hab. Wiesław Lizak, dr inż. Aneta Lorek, dr hab. inż. Magdalena Janus, dr Tariq Mahmood, dr inż. Ewa Malczyk, dr hab. inż. Justyna Martyniuk-Pęczek, dr Sławomir Maślanka, dr hab. Jacek Matulewski, dr Artur Mazurek, dr Anna Michalska-Bañkowska, dr inż. Paweł Michalski, prof. dr hab. Jan Miciński, dr hab. ks. Bogusław Migut, dr hab. Krzysztof Mikołajczuk, dr Barbara Milewicz-Bednarska, prof. dr hab. inż. Piotr Miller, dr hab. Maria Mocarz-Kleindienst, dr Sylwia Mojsym-Korybska, dr Marta Mozgawa-Saj, dr inż. Adam Mroziński, dr hab. Dorota Narożna, dr hab. Oktawian Nawrot, prof. dr hab. Stanisław Sławomir Nicieja, dr Joanna Nieć, prof. dr hab. Mateusz Nieć, dr Jacek Niedźwiecki, dr hab. Jerzy Nita, dr Katarzyna Nowak, dr hab. Zbigniew Nowak, prof. dr hab. inż. Lucyna Nyka, dr hab. Ireneusz Ochmian, dr inż. Paweł Ogrodnik, dr hab. Dorota Olszewska-Słonina, dr hab. Krzysztof Oplustil, prof. dr hab. inż. Leszek Opyrchal, prof. dr hab. Lucjan Pająk, prof. dr hab. inż. Zbigniew Paszkowski, dr inż. Agnieszka Pawłowska, dr inż. Marek Piątek, dr inż. Paweł Pietrusiewicz, dr Karol Pilorz, dr hab. Monika Pitucha, dr hab. Magdalena Polak-Berecka, dr hab. Renata Polaniak, dr inż. Kornelia Polek-Dvraj, dr Piotr Pomorski, dr inż. Arkadiusz Popławski, dr Agnieszka Potyrańska, dr hab. Krzysztof Pudelko, dr Rafał Raczyński, dr hab. Zenon Rajfur, prof. dr hab. Konrad Rejda, dr hab. Piotr Romańczyk, dr inż. Andrzej Roszkowski, dr hab. Lucyna Rotter, dr hab. Monika Różańska-Boczula, dr inż. Jarosław Rubacha, dr inż. Maciej Rumiński, dr inż. Bogdan Ruszczak, dr hab. Justyna Rybak, dr hab. Stanisław Rybicki, dr Liliana Rytel, dr inż. Martyna Rzelewska, dr inż. Beata Sadowska, prof. dr hab. Zygmunt Sadowski, dr Artur Sajnog, dr Rafał Sawicki, dr hab. inż. Gabriela Siawrys, dr hab. inż. Jarosław Sidun, dr Grzegorz Siebielec, dr hab. inż. Waldemar Skomudek, dr hab. Agnieszka Skowrońska, prof. dr hab. Wojciech Skóra, prof. dr hab. Elżbieta Skrzypek, dr inż. Grzegorz Sławiński, dr hab. Beata Smolik, dr Marta Sobańska, prof. dr hab. Wojciech Sońta, dr hab. inż. Michał Stosiak, dr hab. Maria Straś-Romanowska, dr hab. Alicja Sułek, dr hab. Lech Szczegół, dr inż. Mirosława Szewczyk, dr Sebastian Szklener, dr Agnieszka Szkuclarek, dr Łukasz Szleszkowski, dr hab. Magdalena Zulc-Brzozowska, dr hab. Józef Szymański, dr Lidia Szymczak-Mazur, prof. dr hab. inż. Adam Maria Szymski, dr inż. Małgorzata Śmist, dr hab. Janusz Świniarski, dr hab. Bożena Targońska-Stępnik, prof. dr hab. inż. Elżbieta Trocka-Leszczyńska, prof. dr hab. Paweł Turzyński, dr inż. Lechosław Tuz, dr hab. Witold Tyborowski, dr inż. Ewa Ura-Bińczyk, dr inż. Krystyna Urbańska, dr inż. Urszula Warzyńska, dr hab. Adam Waśko, dr inż. Dariusz Wawrentowicz, dr hab. Adrian Wiater, dr hab. Jacek Wilczyński, dr Lidia Anna Wiśniewska, dr hab. Piotr Wiśniewski, dr inż. Agnieszka Witecka, dr Wojciech Witkowski, dr inż. Alicja Wodnicka, dr Krzysztof Kamil Wojtanowski, dr hab. Filip Wolański, dr Łukasz Wolko, dr hab. Karolina Wójcik, prof. dr hab. Maria Wróbel, dr inż. Joanna Wyczarska-Kokot, dr Adrian Zajac, dr hab. Przemysław Zalewski, dr hab. Jerzy Zalewski, dr hab. Bożena Zawadzka, prof. dr hab. Anna Zdziennicka, prof. dr hab. Piotr Ziółkowski, prof. dr hab. Dariusz Złotkowski, dr inż. Maciej Zwierzchowski

W kolekcji „Badania i Rozwój Młodych Naukowców w Polsce” (ISBN 978-83-65677-93-8) ukazały się:

1. Nauki przyrodnicze - Część I – Żywnienie i żywność
(online: ISBN 978-83-65917-96-6; druk: ISBN 978-83-65917-97-3)
2. Nauki przyrodnicze - Część II (online: ISBN 978-83-65917-99-7; druk: ISBN 978-83-65917-98-0)
3. Nauki przyrodnicze - Część III (online: ISBN 978-83-66139-00-8; druk: ISBN 978-83-66139-01-5)
4. Nauki przyrodnicze - Część IV (online: ISBN 978-83-66139-03-9; druk: ISBN 978-83-66139-02-2)
5. Nauki przyrodnicze - Część V (online: ISBN 978-83-66139-04-6; druk: ISBN 978-83-66139-05-3)
6. Nauki przyrodnicze - Część VI – Ochrona środowiska
(online: ISBN 978-83-66139-07-7; druk: ISBN 978-83-66139-06-0)
7. Nauki medyczne i nauki o zdrowiu - Część I (online: ISBN 978-83-65917-92-8; druk: ISBN 978-83-65917-93-5)
8. Nauki medyczne i nauki o zdrowiu - Część II (online: ISBN 978-83-65917-95-9; druk: ISBN 978-83-65917-94-2)
9. Nauki techniczne i inżynierskie - Część I – Budownictwo i architektura
(online: ISBN 978-83-66139-08-4; druk: ISBN 978-83-66139-09-1)
10. Nauki techniczne i inżynierskie - Część II (online: ISBN 978-83-66139-11-4; druk: ISBN 978-83-66139-10-7)
11. Nauki techniczne i inżynierskie - Część III (online: ISBN 978-83-66139-12-1; druk: ISBN 978-83-66139-13-8)
12. Nauki techniczne i inżynierskie - Część IV (online: ISBN 978-83-66139-15-2; druk: ISBN 978-83-66139-14-5)
13. Nauki techniczne i inżynierskie - Część V (online: ISBN 978-83-66139-16-9; druk: ISBN 978-83-66139-17-6)
14. Nauki humanistyczne i społeczne - Część I (online: ISBN 978-83-65917-83-6; druk: ISBN 978-83-65917-82-9)
15. Nauki humanistyczne i społeczne - Część II – Ekonomia, działalność gospodarcza i bankowość
(online: ISBN 978-83-65917-84-3; druk: ISBN 978-83-65917-85-0)
16. Nauki humanistyczne i społeczne - Część III (online: ISBN 978-83-65917-86-7; druk: ISBN 978-83-65917-87-4)
17. Nauki humanistyczne i społeczne - Część IV – Pedagogika, edukacja, rodzina
(online: ISBN 978-83-65917-89-8; druk: ISBN 978-83-65917-88-1)
18. Nauki humanistyczne i społeczne - Część V – Prawo i administracja
(online: ISBN 978-83-65917-90-4; druk: ISBN 978-83-65917-91-1)