

AKADEMIA ROLNICZA W SZCZECINIE
Wydział Nauk o Żywności i Rybactwa



Dominika Plust

**Pojemność przeciwutleniająca wybranych
surowców pochodzenia zwierzęcego**

Praca doktorska wykonana
w Katedrze Towaroznawstwa
i Oceny Jakości
Promotor:
Prof. dr hab. Anna Kołakowska

Szczecin 2007

Spis treści

1	WSTĘP	3
1.1	Wprowadzenie	3
1.2	Wolne rodniki i reaktywne formy tlenu	3
1.3	Przeciwutleniacze	4
1.4	Przeciwutleniacze w żywności pochodzenia zwierzęcego	5
1.4.1	Enzymy antyoksydacyjne	7
1.4.2	Przeciwutleniacze rozpuszczalne w tłuszczach	8
1.4.3	Przeciwutleniacze rozpuszczalne w wodzie, roztworach soli i alkoholu	11
1.5	Metody oznaczania aktywności przeciwutleniającej	15
1.5.1	Metody opierające się na mechanizmie SET	16
1.5.2	Metody opierające się na mechanizmie HAT	19
2	CEL PRACY	21
3	MATERIAŁ I METODY	22
3.1	Material	22
3.2	Metody analizy	26
3.3	Analiza statystyczna	28
4	WYNIKI	29
4.1	Wpływ warunków ekstrakcji na wyniki oznaczeń TEAC i FRAP	29
4.1.1	Stosunek materiał: rozpuszczalnik	29
4.1.2	Czas homogenizacji	31
4.1.3	Czas pomiaru	32
4.1.4	Stężenie NaCl w roztworze ekstrakcyjnym	37
4.1.5	Rodzaj rozpuszczalnika roztworu roboczego w TEAC	38
4.1.6	Sposób przeprowadzania ekstrakcji (sekwencyjnie i jednoetapowo)	40
4.1.7	Wpływ warunków ekstrakcji na wyniki oznaczeń TEAC i FRAP -podsumowanie	41
4.2	Aktywność przeciwutleniająca surowców zwierzęcych	43
4.2.1	Ryby	43
4.2.2	Mięso wieprzowe	51
4.2.3	Mięso wołowe	53
4.2.4	Mięso drobiowe	54
4.2.5	Aktywność przeciwutleniająca surowców zwierzęcych – podsumowanie	57
4.3	Zmiany aktywności przeciwutleniającej pod wpływem obróbki cieplnej	59
4.3.1	Ryby	59
4.3.2	Mięso wieprzowe	77
4.3.3	Mięso wołowe	82
4.3.4	Mięso drobiowe	85
4.3.5	Zmiany aktywności przeciwutleniającej pod wpływem obróbek cieplnych – podsumowanie	92
4.4	Wpływ dodatku soli do gotowania	98
4.4.1	Ryby	98
4.4.2	Mięso wieprzowe	101
4.4.3	Mięso wołowe	102
4.4.4	Mięso drobiowe	104
4.4.5	Wpływ dodatku soli do gotowania - podsumowanie	107
5	DYSKUSJA	108
6	WNIOSKI	117
7	PIŚMIENNICTWO	128
	Załączniki	138

1 WSTĘP

1.1 Wprowadzenie

Żywność pochodzenia zwierzęcego nie jest traktowana jako źródło przeciwutleniaczy w diecie. Zaleca się, aby spożywaniu produktów mięsnych towarzyszyły warzywa i owoce m. in. jako uzupełnienie diety w przeciwutleniacze.

Tkanki zwierząt zawierają jednak w swoim składzie szereg związków zapewniających zachowanie homeostazy między przeciwutleniaczami a związkami o działaniu prooksydacyjnym. Po śmierci zwierzęcia mechanizm ten przestaje być kontrolowany: dochodzi do wyczerpywania się przeciwutleniaczy endogennych, uwalniania się związków prooksydacyjnych, ale również tworzenia nowych układów przeciwutleniających.

Procesy przygotowujące surowce pochodzenia zwierzęcego do spożycia poprzez takie operacje jak rozdrabnianie, obróbka cieplna, dodatek soli kuchennej zaburzają naturalny układ między anty- i prooksydantami przez wymieszanie prooksydantów z lipidami, przeciwutleniaczami, utlenianie mioglobiny, uwalnianie żelaza związanego z białkami i inaktywację enzymów przeciwutleniających, w efekcie powodując zmiany w całkowitej pojemności przeciwutleniającej żywności.

1.2 Wolne rodniki i reaktywne formy tlenu

W normalnych fizjologicznych warunkach żywe komórki są nieprzerwanie atakowane czynnikami stresogennymi pochodzącymi zarówno ze źródeł zewnętrznych jak i wewnętrznych. Najważniejszymi z nich są reaktywne formy tlenu (ROS - Reactive Oxygen Species). Są to wolne rodniki posiadające jeden lub więcej niesparowanych elektronów, charakteryzujące się bardzo krótkim okresem trwania (Kehrer, Smith, 1994, Bartosz, 2003). Przykładami reaktywnych form tlenu są m. in. rodnik hydroksylowy (HO^\bullet) – posiadający najwyższy potencjał oksydacyjny ze wszystkich rodników obecnych w układach biologicznych, anionorodnik ponadtlenkowy ($\text{O}_2^{\bullet-}$) oraz rodniki składników organicznych z centralnie umieszczonym atomem tlenu: peroksydowy (ROO^\bullet) i alkoksydowy (RO^\bullet) (Kehrer, 1993; Bartosz 2003). Do reaktywnych form tlenu należą również związki, które nie mają charakteru wolnych rodników takie jak: kwas podchlorawy (HOCl), nadtlenek wodoru (H_2O_2), tlen singletowy, czy hydronadtlenki. Nie są one wprawdzie wolnymi rodnikami, ale są o wiele bardziej reaktywne od tlenu w stanie trypletowym. (Bartosz, 2003). Do ROS zaliczane są również anion kwasu nadtlenoazotowego $\text{O}=\text{N}-\text{OO}^\bullet$ oraz tlenek i ditlenek azotu (NO^\bullet i NO_2^\bullet) zwane niekiedy reaktywnymi formami azotu (RNS - Reactive Nitrogen Species) (de Zwart i in., 1999; Bartosz, 2003).

Wolne rodniki mogą powstawać w wyniku: promieniowania jonizującego, ultrafioletowego, widzialnego, podczerwonego, reakcji redoks, oraz foto- i radiochemicznych (Głód i in., 2006). W niewielkich ilościach powstają też w organizmie żywym podczas

normalnego tlenowego metabolizmu w mitochondriach komórki (1 - 4% O₂ zużywanego przez mitochondria jest przekształcana w ROS), podczas reakcji katalizowanych przez NADPH-oksydazę, rozpuszczalną oksydazę oraz autooksydacji niewielkich cząsteczek. Wolne rodniki mają również swoje dobre strony, gdyż są zużywane przez fagocyty do inaktywacji bakterii, czy wirusów (Wilhelm Filho i in., 2000).

Wolne rodniki są wysoce reaktywne i reagują właściwie ze wszystkimi składnikami żywych komórek, powodując uszkodzenia lipidów, białek, DNA a nawet węglowodanów (Decker i in., 2000, Głód i in., 2006).

W organizmach żywych istnieje system obronny składający się z przeciwutleniaczy pochodzenia endogennego chroniący przed tego typu uszkodzeniami biomolekuły takie, jak białka, RNA, DNA i membranowe nienasycone kwasy tłuszczowe (de Zwart i in., 1999).

1.3 Przeciwutleniacze

W piśmiennictwie znaleźć można wiele definicji przeciwutleniaczy. W latach sześćdziesiątych ubiegłego wieku Chipault definiowano je jako substancje obecne w żywności małych ilościach, które zdolne są do skutecznego opóźniania utleniania wysoce podatnych na utlenienie produktów, takich jak tłuszcze (Becker i in., 2004). Halliwell i Gutteridge (1989) rozszerzyli tę definicję uznając za przeciwutleniacz każdą substancję, która obecna w niewielkich stężeniach w porównaniu do utlenianych substratów (białek, lipidów, węglowodanów, czy DNA) może hamować utlenienie (Halliwell i in., 1989). Powyższe definicje nie precyzowały jednak jakie grupy związków chemicznych są przeciwutleniaczami ani mechanizmu działania przeciwutleniającego tych związków. Symons i Gutteridge (1998) biorąc pod uwagę, że przeciwutleniacze mogą działać w różnych stadiach procesu utleniania lipidów i mogą mieć więcej niż jeden mechanizm działania sklasyfikowali je w następujące kategorie:

- Usuwające tlen lub zmniejszające lokalne stężenie O₂.
- Usuwające jony metali będące katalizatorami utleniania.
- Usuwające reaktywne formy tlenu takie jak O₂•⁻ i H₂O₂.
- Wychwytyjące rodniki takie jak •OH, LO•, i LOO•.
- Przerywające fazę inicjacji łańcuchowych reakcji utleniania.
- Tłumiące lub wychwytyjące tlen singletowy.

Jeszcze inny podział przypisuje przeciwutleniaczom zdolność bezpośredniego lub pośredniego hamowania fazy inicjacji lub propagacji procesu utlenienia lipidów. Często mają one wieloraki sposób działania, trudny do interpretacji. Zgodnie ze sposobem działania mogą być podzielone na inhibitory ochronne i przeciwutleniacze właściwe. Inhibitory ochronne to te przeciwutleniacze, które są przeszkodą w procesie inicjacji, np. dla prooksydantów. Dzieli się

one na inhibitory pierwszorzędowe i drugorzędowe. Pierwszorzędowe usuwają aktywne produkty redukcji tlenu lub przekształcają metale przejściowe w formy nieaktywne. Drugorzędowe działają na katalizatory utlenienia lipidów. Przeciwutleniacze właściwe (AH), które zwane są również przeciwutleniaczami przerywającymi łańcuch (chain-breaking) zakłócają fazę propagacji utlenienia lipidów przez reakcję z rodnikami lipidowymi (Scott, 1997). Większość przeciwutleniaczy w żywności jest donorami wodoru (Gordon, 1990).

Głównym i najszerzej opisanym w literaturze źródłem przeciwutleniaczy w diecie człowieka są tkanki roślinne. Ze względu na skuteczność działania Buettner i in. (2001) podzielili je na: najlepsze przeciwutleniacze (astaksantyna, aktynoerytrol), dobre (flawonole, tokoferole, β -karoten, likopen) oraz średnie przeciwutleniacze (ζ -karoten, flawony).

1.4 Przeciwutleniacze w żywności pochodzenia zwierzęcego

W żywych tkankach zwierzęcych występuje równowaga między czynnikami prooksydacyjnymi i antyoksydacyjnymi, które stanowią doskonałą i wielostronną kontrolę reakcji utlenienia w organizmie *in vivo* (Hultin, 1994). W okresie pośmiertnym następują biochemiczne zmiany, w wyniku których zdolność do utrzymywania przeciwutleniaczy w zredukowanym stanie maleje z czasem, gdyż następują straty związków redukujących - zostaje utracona zdolność stabilizowania lipidów i ulegają one utlenieniu (Morrissey i in., 1994). Tkanki zwierzęce są bardzo podatne na utlenienie, gdyż zawierają w swym składzie nienasycone lipidy, a także związki o charakterze prooksydantów. W lipidach mięśniowych główne źródło kwasów nienasyconych stanowią polarne fosfolipidy, w dużej części odpowiedzialne za utlenienie lipidów mięsa (Igene i in. 1980, Ackman, 1988, Kołakowska, 2003). Żywność pochodzenia mięśniowego o niskiej zawartości tłuszczu również jest podatna na utlenienie, gdyż zawiera głównie mniej triglicerydów, podczas gdy ilość fosfolipidów pozostaje praktycznie na takim samym poziomie jak w tłustszych (Igene i in. 1980, Kołakowska, 2003). Zarówno w tłustym jak i chudym mięsie jest ich ok. 1,5%. Mięso zawiera również związki, które są zdolne do inicjowania i propagowania utleniania lipidów. Żelazo hemowe jest uznawane za inicjator i propagator utleniania lipidów surowego mięsa (Kanner, Harel, 1985). Podatność lipidów na utlenienie zależy od jego zawartości (Rhee i in., 1996). Żelazo jest uwalniane z barwników hemowych podczas gotowania, czego rezultatem jest wzrost zawartości żelaza niehemowego odpowiedzialnego za szybkie utlenianie lipidów mięsa gotowanego poddanego przechowywaniu (Igene i in., 1979). Mioglobina zyskuje właściwości prooksydacyjne w temperaturze denaturacji (60-70°C), w wyższych temperaturach właściwości te słabną (Kristensen, Andersen, 1997). Udowodniono również właściwości prooksydacyjne ferrytyny ujawniające się po ogrzewaniu (Seman i in., 1991).

Utlenianie związków organicznych, przede wszystkim lipidów, ma istotne znaczenie we wszystkich żywych tkankach. Znaczenie to jest zarówno korzystne jak i niepożądane dla dobra

żywego organizmu (Sevanian, Hochstein, 1985). Większość konsekwencji utlenienia lipidów jest jednak negatywna. Jest ono przyczyną pogorszenia barwy (Smith, Hole, 1991, Jensen i in., 1998), smaku i zapachu (Durnford, Shahidi, 1998), tekstury (Sikorski i in., 1976) oraz wartości odżywczej produktów mięsnych (Pearson, 1983). Pozytywnym aspektem utlenienia lipidów w żywności jest charakterystyczny zapach ryb świeżych oraz powstanie pożądanego smaku w gotowanym mięsie (Farmer, 1992).

Przetwarzanie i przedłużone przechowywanie powodują utratę kontroli nad procesami utlenienia i niemożność ochrony lipidów, białek i kwasów nukleinowych przed tym procesem (Sies, 1986). W tkankach zauważono zdolność do akumulowania przeciwutleniających substancji takich, jak produkty proteolizy i hydrolizy fosfolipidów i tworzenia nowego systemu antyoksydacyjnego. Kołakowska i Szczygielski (1994) i Kołakowska i in. (1995) wykazali, takie działanie podczas zamrażalniczego przechowywania i gotowania tkanki rybnej. Jak długo może ono trwać zależy od typu działania jakiemu poddana jest tkanka i zawartości przeciwutleniaczy endogennych (Decker 1998, Petillo i in., 1998).

System przeciwutleniający w żywych organizmach można podzielić na dwa typy. Pierwszy z nich reprezentowany jest przez enzymy antyoksydacyjne takie jak: dysmutaza ponadtlenkowa, katalaza i peroksydazy, w tym peroksydaza glutationowa, które usuwają reaktywne formy tlenu. Druga grupa substancji przeciwutleniających wychwytuje wolne rodniki. Są to przede wszystkim związki niskocząsteczkowe rozpuszczalne w wodzie lub lipidach. Przewutleniacze te są zdolne do redukcji wolnych rodników, w wyniku czego same ulegają utlenieniu. Następnie mogą być zredukowane do aktywnej formy przez inne systemy redukujące (Hultin, 1994).

Nieenzymatyczne substancje kontrolujące procesy utlenienia to m. in. rozpuszczalne w tłuszczach tokoferole i tokotrienole (wit. E) β -karoten oraz rozpuszczalne w wodzie: kwas askorbinowy (wit. C) oraz inne związki redukujące takie jak: glutation, związki zawierające grupy sulfhydrylowe, peptydy zawierające histydynę (Chan, Decker, 1994). Te rozpuszczalne w tłuszczach kończą reakcje utlenienia lipidów wychwytyjąc wolne rodniki. Witamina C i inne związki redukujące współdziałają z przeciwutleniaczami rozpuszczalnymi w tłuszczach (Packer i in., 1979) przywracając im pierwotną aktywność przeciwutleniającą. Przewutleniacze rozpuszczalne w tłuszczach są donorem atomu wodoru dla kwasów tłuszczowych, a rozpuszczalne w wodzie działają na granicy faz wodnej i lipidowej i poprzez redukcję przeciwutleniaczy rozpuszczalnych w tłuszczach umożliwiają im kontynuację działania przeciwutleniającego. Zdolność przeciwutleniaczy do redukcji innych związków przeciwutleniających lub rodników pochodzenia lipidowego jest zależna od ich potencjału redukującego (Buettner, Jurkiewicz, 1996, Bartosz, 2003).

Podział przeciwutleniaczy obecnych w tkankach zwierzęcych ze względu na ich mechanizm działania przedstawiono w tabeli 1.

Tabela 1 Rodzaje inhibitorów utlenienia lipidów w tkankach zwierzęcych (wg Pokorny, 2001)

Rodzaj inhibitora	Typ działania	Związek chemiczny
Przeciwutleniacze	Hamowanie fazy propagacji, wchodzenie w reakcje z wolnymi rodnikami	Ubichinony, tokoferole, karotenoidy (rozpuszczalne w tłuszczach)
Wychwytywacze tlenu singletowego	Inaktywowanie tlenu w stanie singletowym	SOD, karotenoidy, kwas askorbinowy
Synergenty	Wzmacnianie działania przeciwutleniaczy	Aminokwasy, tokoferole, peptydy, kwas askorbinowy
Chelatory metali	Zapobieganie katalizowaniu produkcji wolnych rodników	Aminokwasy, peptydy, kwas askorbinowy
Opóźniacze	Redukowanie hydronadtlenków	Aminy, peroksydazy, katalaza

1.4.1 Enzymy antyoksydacyjne

Dysmutaza ponadtlenkowa, katalaza oraz peroksydaza glutationowa są enzymami obecnymi w tkankach zwierzęcych (Mei i in., 1994, Lee i in., 1996). Znajdują się głównie w cytosolu komórek (Chan, Decker, 1994, Decker, Xu, 1998).

Dysmutaza ponadtlenkowa jest metaloenzymem działającym jako pierwszorzędowy inhibitor utleniania przez katalizowanie konwersji anionu ponadtlenkowego ($O_2^{\bullet-}$) do H_2O_2 i O_2 (Bartosz, 2003).

Katalaza jest enzymem zawierającym w swej cząsteczce hem. Jest ona bardzo efektywnym enzymem promującym reakcje redoks. Redukuje m. in. nadtlenek wodoru do wody i cząsteczki tlenu zapobiegając w ten sposób utlenieniu oksymyoglobiny w systemie oksymyoglobinowo - liposomowym (Chan i in., 1997), zapobiegając tworzeniu układu H_2O_2 - zaktywowana metmyoglobina, który uważany jest za główny czynnik odpowiedzialny za utlenienie lipidów w przechowywanym mięsie (Rhee, 1988). Nadtlenek wodoru nie jest szczególnie reaktywny w stosunku do większości biologicznie ważnych związków, ale może działać jako prekursor dla bardziej reaktywnych oksydantów takich jak $\bullet OH$.

Peroksydaza glutationowa to kolejny inhibitor fazy propagacji utlenienia lipidów obecny w fazie wodnej. W mięśniach ryb występuje w mitochondriach i cytosolu komórek. GSH-Px jest enzymem zawierającym selen (Symons, Gutteridge, 1998, Bartosz, 2003). Jej działanie polega na katalizowaniu redukcji wodoru w nadtlenkach lipidów przy użyciu zredukowanego glutationu (GSSG) jako kofaktora. Peroksydaza glutationowa różni się od katalazy tym, że jest zdolna do reakcji zarówno z nadtlenkami wodoru jak i nadtlenkami lipidów (Halliwell, Gutteridge, 1989). Enzymy przeciwutleniające wykazują działanie post mortem

w mięsie surowym. Ogrzewanie mięsa do temperatury 60-80°C powoduje istotne obniżenie aktywności katalazy i peroksydazy glutationowej, lecz nie dotyczy aktywności dysmutazy ponadtlenkowej (Mei i in., 1994, Lee i in., 1996). Lee i in. (1996) oraz Williams (1997) sugerują, że jest to jedną z przyczyn utlenienia lipidów w gotowanym mięsie.

Również rodzaj obróbki cieplnej wpływa na aktywność enzymów. Decker i Mei (1996) zaobserwowali że mięśnie piersiowe i udowe indyka ogrzewane do temperatury 60°C mają wyższą aktywność katalazy i peroksydazy glutationowej, gdy są pieczone niż podczas smażenia, gotowania, czy mikrofalowania (Decker i in., 2000). Enzymy antyoksydacyjne mają niewielkie zastosowanie w żywności pochodzenia zwierzęcego i nie są znaczące dla przemysłu żywnościowego (Meyer, Isaksen, 1995).

NaCl o stężeniu 2% powoduje spadek aktywności enzymów wyekstrahowanych z tkanki świni: katalazy, dysmutazy ponadtlenkowej a także glutationu o odpowiednio 18, 58 i 41%. Przechowywanie zamrażalnicze zarówno solonej jak i niesolonej tkanki mięśniowej powoduje spadek aktywności tych enzymów (Lee i in., 1996). Przechowywanie chłodnicze także powoduje zmiany aktywności tego enzymu (Rennerre i in., 1999, Hernandez, 2002).

Aktywność enzymów przeciwutleniających zależy również od paszy. Mięso bydła żywionego na pastwiskach charakteryzuje się wyższą aktywnością dysmutazy ponadtlenkowej, katalazy, czy peroksydazy glutationowej, w porównaniu z żywionym paszą mieszaną (Mercier i in., 2004). DeVore i in. (1983) stwierdzili, że wzrost poziomu selenu w diecie kurcząt powoduje wzrost aktywności peroksydazy glutationowej. Zauważyli również odwrotną zależność między aktywnością peroksydazy glutationowej a utlenieniem lipidów *post mortem* w mięśniach kurcząt. Aktywność enzymów przeciwutleniających mięsa zależy w dużym stopniu od jego rodzaju (Pradhan i in., 2000). Hernandez i in. (2004) wykazali różnice między genotypami świń. Typ mięśni również wpływa na różnice w aktywności tych enzymów (Hernandez i in., 2002).

1.4.2 Przeciwutleniacze rozpuszczalne w tłuszczach

Tę grupę przeciwutleniaczy tworzą głównie tokoferole, tokotrienole, karotenoidy, ubichinony i kwas liponowy.

Tokoferole są grupą roślinnych izomerów fenolowych, które w tkankach zwierzęcych pochodzą z diety (Parker, 1989, Nogala-Kałużka, 2003). Terminem witamina E określa się pochodne tokoferolu i tokotrienolu, które wykazują biologiczną aktywność -tokoferolu. Rezultatem reakcji tokoferoli z rodnikami lipidowymi jest powstanie hydronadtlenków i rodników tokoferoksylowych, które mogą ulegać przemianie w tokoferylchinon a następnie konwersji do tokoferolu (Decker i in., 2000). Witamina E jest rozpuszczalna w tłuszczach. W organizmach ulokowana jest w częściach lipofilnych i w lipoproteidach, gdzie działa jako

pierwszorzędowy wychwytywacz wolnych rodników. Inną ważną funkcją witaminy E może być stabilizacja tlenu singletowego (Niki, 1996).

W tkankach zwierzęcych dominującą formą jest α -tokoferol (Syväoja, Salminen, 1985). W wątrobie zwierząt występuje białko wiążące tokoferole, które jest odpowiedzialne za ich transport do niskocząsteczkowych lipoprotein, które z kolei transportują tokoferole we krwi do najbardziej oddalonych tkanek (Traber, 1994).

Ze wszystkich izomerów i analogów najwyższą biologiczną aktywnością charakteryzuje się α -tokoferol (Niki, 1996). Biopotencjał tokoferoli można przedstawić w następującym porządku α -tokoferol > β -tokoferol > γ -tokoferol > δ -tokoferol i α -tokotrienol, który ma około 25% potencjału α -tokoferolu.

Zawartość tokoferoli w żywności zależy od wielu czynników takich jak: zmienność sezonowa, rodzaj pokarmu, warunki przetwarzania i przechowywania surowców. Zaobserwowano wpływ wieku ryby na zawartość α -tokoferolu w jej mięśniach. Młodsze ryby zawierały go więcej (López i in., 1995). Jasne i ciemne mięśnie również wykazują różnice w zawartości tego przeciwutleniacza. Ciemne mięśnie makreli zawierają ok. 4,4 razy więcej α -tokoferolu niż jasne (Petillo i in., 1998).

Obróbka cieplna wpływa na zawartość wit. E. Już pięciominutowe ogrzewanie mięsa sumy kanałowej w temperaturze 77°C spowodowało utratę 20% β -tokoferolu i 40% α -tokoferolu (Ericsson, 1992). Gotowanie ciemnych mięśni indyka skutkowało zaś spadkiem zawartości tokoferolu o 80% w porównaniu do jego początkowej zawartości. W mięśniach jasnych po gotowaniu zawartość tokoferolu spadała do tak niskiego poziomu, że przestała być oznaczalna (Decker i in., 2000). Smażenie w oleju roślinnym powodowało wzrost zawartości tokoferoli, przez absorbowanie ich z oleju roślinnego. Wędzenie mięsa renifera powodowało spadek zawartości γ -tokoferolu w suchej masie o ok. 20%, a α -tokoferolu o nieco ponad 8%. Suszenie mięsa powodowało znacznie wyższe straty (Sampels i in., 2003).

Przechowywanie chłodnicze również wpływa na obniżenie zawartości tego związku. Już po 2,5 godzinach przechowywania zawartość tokoferolu zmniejszyła się w surowych mięśniach indyka o 50% (Decker i in., 2000). Po jedenastodniowym okresie przechowywania w lodzie jasne i ciemne mięśnie makreli traciły odpowiednio: 40 i 75% początkowej zawartości tokoferoli (Petillo i in., 1998).

Ryby większości gatunków złowione wiosną w okresie tarła mają wyższą zawartość tokoferoli i niższą zawartość lipidów niż złowione jesienią. I tak np. śledź bałtycki wiosną zawierał go 360 mg/kg lipidów a jesienią 200 mg/kg, czyli ponad 50% mniej (Syväoja, Salminen, 1985). Ci sami badacze wykazali również, że ryby chude zawierają średnio 1100 mg tokoferoli/kg tłuszczu, średnio tłuste 300mg/kg a tłuste 160mg/kg. Ryby morskie zawierają więcej tokoferoli niż słodkowodne (Syväoja, Salminen, 1985).

Ubichinon (koenzym Q) jest związkiem fenolowym obecnym w tkankach głównie w błonach mitochondrialnych, lizosomach oraz aparatach Golgiego (Zhang i in., 1996). Jest on obecny zarówno w tkankach zwierzęcych, roślinnych, mikroorganizmach, innymi słowy w prawie każdej komórce żywego organizmu (Lambelet i in. 1992). Ma on ważne bioaktywne znaczenie w metabolizmie energii, reakcjach immunologicznych i antyoksydacyjnych. Koenzym Q jak również jego zredukowane formy i izomery: ubichinon i ubichromenol pełnią istotną rolę w utlenieniu lipidów. Zredukowany ubichinon jest mniej efektywny niż α -tokoferol, gdyż jego potencjał redukcyjny jest dużo niższy.

Ubichinony podawane w diecie powodują wzrost koncentracji w plazmie i wątrobie szczurów. Nie zaobserwowano zwiększenia zawartości tego przeciwutleniacza w nerkach, sercu, mięśniach i mózgu w wyniku suplementacji (Zhang i in., 1996).

Matilla i Kumpulainen (2000) zbadali szereg produktów żywnościowych pod kątem zawartości koenzymu Q₉ i koenzymu Q₁₀ (dominującej formy tego związku w tkankach zwierząt). Najwyższą zawartość koenzymu Q₁₀ wykazali dla serca wieprzowego 126,8 $\mu\text{g/g}$ tkanki a następnie oleju rzepakowego, wołowiny, wieprzowiny, kurczaków i ryb, odpowiednio 63,5, 36,5, 20, 14, 8,5-15,9 $\mu\text{g/g}$. Mięśnie jasne i ciemne makreli różniły się zawartością koenzymu Q. Ciemne miały go więcej (Petillo i in., 1998). Obróbka cieplna również wpływała na jego zawartość: smażenie mięsa powodowało spadek o 14-32%, ale już gotowanie warzyw i jaj kurzych wzrost jego zawartości (Weber i in., 1997). Decker i Xu (1998) uważali, że obecność ubichinonów w mitochondriach sugeruje, że pełnią one istotną rolę w stabilności oksydatywnej czerwonych mięśni. Przechowywanie makreli przez 11 dni w lodzie pokazało, że koenzym Q₁₀ jest najbardziej stabilnym przeciwutleniaczem w jasnych mięśniach i w końcowym okresie przechowywania pozostaje go ok. 75% wartości początkowej. **Karotenoidy** są najbardziej rozprzestrzenionymi barwnikami w przyrodzie. Jest ich ponad 600 różnych polioli o barwie od żółtej do czerwonej, ale tylko 50 z nich posiada aktywność witaminy A, której są prekursorami (Olson, Krinsky, 1995). Karotenoidy, w szczególności β -karoten i likopen uznawane są za istotny przeciwutleniacz do stosowania w żywieniu zwierząt (Decker i in., 2000).

W rybach można je znaleźć w skórze, mięsie, gonadach: ikrze i mleczu, wątrobie oraz oczach. Większość karotenoidów w skórze i mięśniach ryb to ksantofile (Haard, 1992). Najważniejszym pigmentem ryb morskich jest astaksantyna. Jest ona głównym karotenoidem obecnym w skorupiakach m. in. krylu (Kołakowski, Gajowiecki, 1992), a także łososiu i in.. Astaksantyna jest 10 razy silniejszym wychwytywaczem reaktywnych form tlenu niż luteina, zeaksantyna, kantaksantyna, tunaksantyna i aż 100 razy niż α -tokoferol (Miki, 1991). Clark i in. (1999) wykazali aktywność przeciwutleniającą kantaksantyny in vitro i podczas przechowywania chłodniczego farszu pochodzącego z pstrągów tęczowych suplementowanych

kantaksantyną. Zauważyli, że dla zaobserwowania tej aktywności niezbędne jest odpowiednie stężenie kantaksantyny.

Kwas liponowy (tiooctowy) jest przeciwutleniaczem rozpuszczalnym zarówno w tłuszczach, jak i wielu rozpuszczalnikach organicznych (Perricone i in. 1999) związkiem tiolowym, zawierającym dwie grupy sulfhydrylowe. Występuje w mięśniach szkieletowych. Jego obydwie formy zredukowana – kwas dehydroliponowy oraz utleniona – kwas liponowy wykazują aktywność przeciwutleniającą poprzez zdolność do wychwytywania tlenu w stanie singletowym (Devasagayam i in. 1991, Packer i in., 1995), wolnych rodników (Suzuki i in., 1991) i metali (Müller, Menzel, 1990, Devasagayam i in. 1991), przy czym kwas dehydroliponowy jest efektywniejszym chelatorem (Navaro-Izzo i in., 2002). Zredukowana forma tego kwasu może również brać udział w regenerowaniu α -tokoferolu (Podda i in., 1994) jak również bezpośrednim regenerowaniu witaminy C, glutationu i tioredoksyny (Packer, Tritschler, 1996). Ou i in. (1995) potwierdzili przeciwutleniające właściwości tego związku w inhibitowaniu utlenienia lipidów, kwasu askorbinowego i tworzeniu nadtlenu wodoru w wyniku działania kwasu askorbinowego *in vitro* na eryocyty. Perricone i in. (1999) stwierdzili, że kwas tiooctowy chroni białka przed zmianami aktywowanymi przez wolne rodniki hydroksylowe generowane w reakcji Fentona. Kwas dehydroliponowy posiada również zdolności prooksydacyjne objawiające się zdolnościami redukcji żelaza (Bast, Haenen, 1988). Jego rola przeciwutleniająca w żywności jest mało znana.

1.4.3 Przeciwutleniacze rozpuszczalne w wodzie, roztworach soli i alkoholu

Tkanka mięśniowa zawiera sporo metali przejściowych, które biorą udział w tworzeniu wolnych rodników poprzez reakcje Habera-Weissa i Fentona. Tworzenie dużej ilości wysokoreaktywnych rodników w tym środowisku musi być kontrolowane w żywych organizmach przez obecność odpowiedniej ilości wychwytywaczy wolnych rodników, chroniących ważne biologicznie cząsteczki przed utlenieniem. Do tego typu przeciwutleniaczy należą m. in.: związki tiolowe, kwas askorbinowy, aminy, aminokwasy i peptydy (Decker i in., 2000).

Kwas askorbinowy (witamina C) jest przeciwutleniaczem rozpuszczalnym w wodzie. Jego zawartość w tkankach zwierzęcych wynosi od 9 mg/kg mięśni w ciemnych mięśniach indyka, przez 16 mg/kg w wołowinie do 24 mg/kg w jasnych mięśniach makreli (Decker i in., 2000). Sidwell i in. (1978) określili zawartość kwasu askorbinowego w rybach i tak łosoś zawierał go 71mg/kg, pstrąg 11mg/kg, tuńczyk 15mg/kg, a śledź 90mg/kg mięsa.

Zaobserwowano różnice między zawartością tego związku w dziko żyjącym i hodowlanym pstrągu. Hodowlany zawierał o 60% więcej kwasu askorbinowego (Nettleton,

Exler, 1992). Nettleton i Exler (1992) zauważyli również, że we wszystkich gotowanych rybach zawartość witaminy C była wyższa niż w rybie surowej.

Zamrażalnicze przechowywanie suma kanałowego w formie filetów powodowało obniżenie zawartości kwasu askorbinowego o niespełna 20%. W przypadku przechowywania farszu spadek ten wynosił aż 67% (Brannan, Ericsson, 1996). Petillo i in. (1998) mierzyli kinetykę strat przeciwutleniaczy w makreli podczas jedenastodniowego przechowywania w lodzie i zaobserwowali, że straty kwasu askorbinowego są szybsze niż - tokoferolu i ubichinonu a na podobnym poziomie jak glutationu.

Uważa się że kwas askorbinowy może inhibitować aktywność prooksydatywnych form mioglobiny takich jak rodniki ferrytowe (Decker, 2000), jednocześnie może działać prooksydatywnie redukując Fe (III) do Fe (II) – wysoce reaktywnej formy żelaza (Bartosz, 2003, Kołakowska, 2003).

Aminokwasy, aminy, peptydy i białka. Aktywność przeciwutleniającą związków azotowych: aminokwasów, peptydów i białek w żywności potwierdzona jest przez wielu autorów (Karel i in., 1973, Gebicki, Gebicki, 1993, Chan, Decker, 1994, Korczak, 1998, Petillo i in., 1998, Decker i in., 2001, Rudzińska i in., 2006, Wołosiak, Worobiej, 2007).

Związki aminowe, w tym aminokwasy, peptydy i białka są przeciwutleniaczami działającymi przez: konwersję rodników do stabilniejszych związków, chelatowanie metali katalizujących reakcje utlenienia, regenerację przeciwutleniaczy pierwotnych (wł. redukujące), a także tworzenie powierzchni ochronnej na granicy powietrze-olej (Wołosiak, Worobiej, 2007). Wg tych samych autorów aminokwasy siarkowe pełnią rolę przeciwutleniaczy pierwotnych ze względu na grupy –SH oddające labilny atom wodoru i dezaktywując w ten sposób wolne rodniki. Cysteina posiada zdolność do zmiatania rodników, w tym DDPH. Histydyna posiada pierścień imidazolowy odpowiadający za zdolności chelatowania metali i jest pułapką dla rodników tlenowych. Tyrozyna jest potencjalnym donorem atomu wodoru dla wolnych rodników. Białka z kolei zdolne są do zmiatania wolnych rodników, zarówno z procesów biochemicznych (anionorodnik ponadtlenkowy) jak i powstających podczas oksydacji lipidów, autooksydacji, fotosensybilowanego utleniania, czy utleniania katalizowanego enzymatycznie (Wołosiak, Worobiej, 2007). Aminokwasy takie jak histydyna, tyrozyna, fenyloalanina, tryptofan, cysteina, prolina i lizyna mogą inaktywować wolne rodniki (Karel i in., 1973, Gebicki, Gebicki, 1993). Jednak ich właściwości przeciwutleniające zależą od pH środowiska i stężenia związków azotowych. Aminokwasy mają wyższą aktywność w układach modelowych (Pokorny, Korczak, 2001). Związki te przekształcają hydronadtlenki w iminy, a zawierające grupy –SH w odpowiednie pochodne hydrocykliczne. Aminokwasy wykazują również działanie synergistyczne z innymi przeciwutleniaczami. Taylor i in. (1981) uważają, że aminokwasy

wiążą się wiązaniem kowalencyjnym z Troloxem-C (syntetycznym analogiem witaminy E) tworząc związek o istotnie wyższej aktywności niż sam Trolox-C.

Karnozyna, anseryna i ofidyna są dość popularnymi peptydami w mięśniach ryb i organizmów morskich. Ciemne mięśnie ryb mają spore ilości karnozyny, pozostałe ryby zawierają jej znikome ilości (Decker i in., 2000). Karnozyna (-alanylhistydyna) jest dobrze przebadanym dipeptydem. Jej relatywnie wysokie stężenia znajdują się w mięśniach, sercu i mózgu (Diez, Baran, 2003). Karnozyna jest zdolna do chelatowania miedzi, ale nie jest efektywna w inaktywowaniu żelaza. Zdolna jest również do wychwytywania rodników hydroksylowych i tlenu singletowego (Chan, Decker, 1994, Decker, 2000). Bogardus i Boissonneault (2000) wykazali że karnozyna inhibituje utlenienie lipoprotein o niskiej gęstości *in vitro*. Spośród tkanek zwierzęcych najwyższą zawartość karnozyny zaobserwowano w ekstraktach z wołowiny, dalej była wieprzowina, kurczaki i ekstrakt z kości wołowych (Kantha i in., 2000). Wg Crusha (1970) mięśnie piersiowe kurcząt zawierają więcej karnozyny niż wołowina i prawie 7 razy więcej niż mięśnie udowe (Maikhunthod, Intarapichet, 2005).

Hydrolizaty białkowe z makreli zawierające większą ilość peptydów o masie cząsteczkowej ok. 1400 Da mają silniejsze działanie przeciwutleniające od innych (Wu i in., 2003). Aktywność przeciwutleniająca peptydów zależy również od ich składu aminokwasowego, rodzaju peptydów oraz produktów reakcji Maillarda (Korczak, 1998, Korczak, 2004, Flaczyk, 2006). Peptydy zawierające w swej budowie histydynę posiadały wyższą aktywność przeciwutleniającą objawiającą się zdolnościami chelatowania i wychwytywania rodników lipidowych przez pierścień imidazolowy (Uchida i in., 1990, Chen i in., 1998, Wu i in. 2005). Wu i in. (2003) badali aktywność przeciwutleniającą hydrolizatów białkowych z makreli, powstałych w wyniku autolizy i działania proteazy. Zauważyli różnice w inhibitowaniu utlenienia lipidów (mierzonego różnymi metodami) przez produkty tych dwóch procesów. Bardziej aktywne okazały się produkty hydrolizy powstałe pod wpływem proteazy. Sathivel i in. (2003) wykazali aktywność przeciwutleniającą hydrolizatów ze śledzia.

Białka zmiatają wolne rodniki, zarówno z procesów biochemicznych (anionorodnik ponadtlenkowy) jak i powstających podczas oksydacji lipidów, autooksydacji, fotosensybilizowanym utlenianiu, czy katalizowanym enzymatycznie.

Koncentraty i izolaty z wysokobiałkowych produktów zwierzęcych wykazują aktywność przeciwutleniającą zarówno w emulsjach lipidowych (o/w), jak i w bardziej jednorodnych układach. Owoalbumina ogrzewana w zakresie 80-96°C wykazywała lepszą zdolność inhibicji utleniania emulsji kwasu linolowego niż forma natywna. Prawdopodobnie przyczyną jest rozfałdowanie łańcucha polipeptydowego i odsłonięcie reszt aminokwasów hydrofobowych, czyli wzrostem ich powierzchniowej hydrofobowości, ułatwiającej kontakt białko – lipidy i utworzenie bariery ochronnej. Ogrzewanie wpływa również na zwiększenie ekspozycji

aminokwasów, takich jak cysteina i histydyna. Obróbka cieplna prowadzi do ograniczenia interakcji białek z nadtlenkami lipidowymi – spadek o 30% po ogrzaniu do 70°C wysokocząsteczkowej frakcji serwatki w wyniku agregacji, redukcja ilości grup – SH oraz zmniejszenie ilości dostępnych aminokwasów hydrofobowych (tyrozyna) na powierzchni cząsteczki.

Produkty reakcji Maillarda również posiadają aktywność przeciwutleniającą. Dotyczy to także produktów nieenzymatycznego brunatnienia powstałych po interakcji białek i aminokwasów z produktami utlenienia lipidów. Kowalencyjne wiązania powstają tylko w reakcji amin pierwszo- i drugorzędowych. – czyli pewne kierunki przemian białek powodują zwiększenie stabilności oksydacyjnej. Aminokwasy zyskują również aktywność przeciwutleniającą w wyniku reakcji Maillarda ze związkami karbonylowymi powstałymi w wyniku utlenienia lipidów (Alaiz i in., 1996). Frankel (1998) zauważył zarówno właściwości redukujące jak i kompleksowania reduktonu (enaminonu) powstającego w tego typu reakcjach. Stwierdził on również zdolność histydyny, lizyny i argininy do tworzenia wysoce efektywnych produktów przeciwutleniających z cukrami.

Funkcja glutationu jako przeciwutleniacza tkankowego polega na inaktywowaniu wolnych rodników i dostarczanie elektronów pozwalających peroksydazie glutationowej na enzymatyczną dekompozycję nadtlenków lipidowych (Decker, Xu, 1998). Obróbka cieplna nie wpływa istotnie na obniżenie zawartości glutationu. Zaobserwowano natomiast jego gwałtowny spadek w utlenionych mięśniach (Lee i in., 1997). Petillo i in. (1998) określili glutation jako przeciwutleniacz ochronny we wczesnej fazie przechowywania chłodniczego ryb, gdyż jego zawartość obniżała się szybciej niż innych zawartość innych przeciwutleniaczy.

Poliaminy takie jak putrescyna, spermidyna, i spermina występują w wielu tkankach zwierzęcych, w tym w mięśniach szkieletowych. Biorą one udział w inaktywacji wolnych rodników (Droplet, 1986) a ich aktywność przeciwutleniająca wzrasta wraz ze wzrastającą liczbą grup aminowych: spermina > spermidyna > putrescyna (Decker, 2000).

Kwas moczowy występuje w dużych stężeniach w plazmie krwi. Uważany jest za jej główny przeciwutleniacz (Wayner i in., 1987, Niki i in., 1988). Jego działanie przeciwutleniające polega na wychwytywaniu tlenu singletowego, chelatowaniu żelaza i wychwytywaniu wolnych rodników (Halliwell, 1996).

Tlenek trimetyloaminy (TMAO) wykazuje synergistyczny wpływ na tokoferole w tłuszczach i olejach (Ishikawa i in., 1978).

Według Waynera i in. (1987) białka krwi stanowią 10-50% aktywności wyłapywania rodników peroksydowych w plazmie. Østdal i inni (1997) zaobserwowali, że białka zawierające tyrozinę wychwytyują wolne rodniki poprzez tworzenie bityrozyny, a albuminy serum i β -globuliny mają zdolność wychwytywania rodników mioglobulinowych.

Pokorny i Schmidt (2001) podzielili wpływ obróbek cieplnych na przeciwutleniacze na trzy grupy:

- brak wpływu – dotyczący średniointensywnych procesów, gdzie pozytywne i negatywne wpływy równoważą się.
- wzrost oporności przeciw utlenieniu – spowodowany transformacją przeciwutleniaczy w bardziej aktywne składniki, tworzenie się nowych związków przeciwutleniających, takich jak produkty reakcji Mailarda, destrukcja prooksydantów, fotosensybilatorów i metali ciężkich.
- spadek oporności przeciw utlenianiu – destrukcja przeciwutleniaczy przez utlenienie lub interakcje z innymi składnikami żywności, straty przeciwutleniaczy przez parowanie, uwalnianie żelaza z kompleksów i tworzenie prooksydantów.

Gotowanie jest obróbką w temperaturze do 100°C podczas której zachodzi obniżenie aktywności białek w wyniku denaturacji, która rozpoczyna się już 60°C (Korczak, 1999), w tym denaturacja barwników hemowych i wzrost prooksydacyjnego działania żelaza a także straty do wywaru, jeżeli nie będzie on wykorzystywany do spożycia.

Pieczenie jest obróbką, w której zewnętrzna warstwa pieczonego mięsa osiąga 120-200°C. Podczas tego procesu zmiany wewnątrz próby są takie same jak przy gotowaniu, natomiast na zewnątrz może dojść do pirolizy, karmelizacji, reakcji Mailarda, w wyniku czego mogą się tworzyć chelatujące makrozwiązki, chinony, związki dihydroheterocykliczne, chelatory metali, wychwytywacze wolnych rodników. Przy czym produkty reakcji Maillarda zaczynają powstawać w temp. 100-120°C, a maksimum tego procesu przebiega przy temp. 150°C i średniej wilgotności środowiska.

Smażenie – zachodzi w temp 160-180°C i powoduje destylowanie przeciwutleniaczy z parą, w wyniku wymiany między olejem smaźalniczym a produktem – tworzenie chelatujących lipoprotein, redukcję aktywności białek oraz spadek aktywności przeciwutleniającej smażonego mięsa.

Mikrofalowanie powoduje straty α -tokoferolu na poziomie ok. 10% w ciągu pierwszych 6 minut do 40% w ciągu kolejnych 6 minut, wpływa też na dwukrotne zwiększenie stopnia utlenienia lipidów.

1.5 Metody oznaczania aktywności przeciwutleniającej

Żywe organizmy chronione są przed utlenieniem przez skomplikowaną sieć przeciwutleniaczy. Przeciwutleniacze takie, jak albuminy, glutation, kwas askorbinowy, α -tokoferol, β -karoten, kwas moczowy, bilirubina, czy flawonoidy pełnią ważną rolę w tej sieci. Duża liczba różnorodnych przeciwutleniaczy w plazmie, surowicy i innych biologicznych próbach może sprawiać problemy z oszacowaniem zawartości każdego z nich oddzielnie. Poza tym między przeciwutleniaczami zachodzą interakcje, które mogą skutkować obniżeniem lub zwiększeniem aktywności pojedynczych przeciwutleniaczy co niekoniecznie musi wpływać na

całkowity status antyoksydacyjny. W związku z tym zaczęto coraz chętniej stosować metody umożliwiające zmierzenie pojemności przeciwutleniającej układów, a nie każdego z przeciwutleniaczy oddzielnie (Prior, Cao, 1999).

W piśmiennictwie nie znaleziono metody bezpośredniego oznaczania aktywności przeciwutleniającej w materiale biologicznym. W metodach stosowanych do oznaczania aktywności przeciwutleniającej stosuje się więc ekstrakcję, a oznaczanie aktywności przeciwutleniającej przeprowadza się w wyekstrahowanej frakcji.

W przypadku żywności pochodzenia roślinnego najczęściej stosowana jest ekstrakcja alkoholowa, ze względu na związki fenolowe: flawonoidy, polifenole, a także wodą, dla kwasu askorbinowego, enzymów i niektórych polifenoli oraz acetonem ze względu na karotenoidy (Kalt i in., 1999). Do ekstrakcji przypraw korzystniej stosować jest mniej polarne rozpuszczalniki takie jak aceton lub octan etylu (Pokorny, Korczak, 2001).

W przypadku surowców pochodzenia zwierzęcego wykorzystywane są metody zaadaptowane z analizy medycznej, gdzie oznaczenia dotyczą plazmy krwi, płynów ustrojowych i tkanek, a stosowanymi rozpuszczalnikami są zwykle bufor fosforanowe (Gatellier i in., 2003, Kankofer i in., 2004), woda lub etanol (Khanum i in., 1999, Mansur i in., 2002).

Metody oznaczania pojemności przeciwutleniającej w żywności w większości przypadków zaadaptowane zostały z analityki medycznej. Bazują one m. in. na wychwytywaniu rodników peroksydowych (TRAP, ORAC), wychwytywaniu rodników organicznych (TEAC, DPPH), zdolności redukcji metali (FRAP, CUPRAC) lub oszacowaniu produktów powstających podczas utleniania lipidów (TBARS) (Pérez-Jiménez, Saura-Calixto, 2006).

Związki przeciwutleniające dezaktywują rodniki zgodnie z dwoma różnymi mechanizmami: HAT (hydrogen atom transfer) – mechanizm przeniesienia atomu wodoru oraz SET (single elektron transfer – mechanizm przeniesienia pojedynczego elektronu. Mechanizmy te mogą występować jednocześnie (Bartoszek i in., 2007).

1.5.1 Metody opierające się na mechanizmie SET

Mieszanina reakcyjna w tych metodach składa się z dwóch składników: przeciwutleniacza i utleniacza, którego zabarwienie zmienia się na skutek redukcji. Przeniesienie elektronu ze związku przeciwutleniającego na utleniacz skutkuje zmianą zabarwienia mieszaniny, a koniec reakcji osiągnięty zostaje w momencie ustabilizowania się barwy. Zmiana absorbancji jest liniowo zależna od stężenia przeciwutleniacza w analizowanej próbce. Wyniki zazwyczaj wyrażane są w równoważnikach Troloksu – syntetycznego analogu witaminy E rozpuszczalnego w wodzie i alkoholach (Bartoszek i in., 2007). Metody opierające się na tym mechanizmie to m. in. : TEAC, FRAP, DPPH.

TEAC (Trolox Antioxidant Antioxidant Capacity)

Obecnie jest prawdopodobnie najpopularniejszą metodą oznaczania aktywności przeciwutleniającej w żywności i płynach biologicznych spośród metod pośrednich (Roginsky, Lissi, 2005). Jest to metoda spektrofotometryczna. Polega na wygenerowaniu specyficznych rodników chromoforu: kwasu 2,2'-azinobis-(3-etylbezoiazolinowego) (ABTS) przez kontrolowane utlenienie (Aruoma, 2003). Może on być produkowany przez reakcję z rodnikiem ferrylomioglobinowym generowanym z mioglobiny, H₂O₂ i peroksydazy (Miller i in., 1993) lub może powstawać w wyniku reakcji z nadsiarczanem potasu (Re i in., 1999), ditlenkiem manganu (Miller i in., 1996), ABAP (2,2'-azobis-(2 amidynopropan)) (Fogliano i in., 1999, Van den Berg i in., 1999) lub H₂O₂ w kwaśnym środowisku (Erel, 2004).

Powstały kationorodnik ABTS^{•+} wykazuje silną absorpcję w zakresie długości fali 600-750nm i może być w prosty sposób mierzony spektrofotometrycznie (Roginsky, Lissi, 2005). Zasada pomiaru polega na obliczeniu wygaszenia absorbancji tego kationorodnika (co jest tożsame ze zmniejszeniem się jego stężenia) pod wpływem przeciwutleniaczy zawartych w próbie, będących donorami wodoru.

Długość fali przy której mierzone jest to wygaszenie wynosi zazwyczaj 734nm.

Rozpuszczalnikami roztworu roboczego ABTS stosowanymi dla prób żywnościowych są woda destylowana lub etanol (Re i in., 1999).

Zaletą ABTS^{•+} jest to, że w odróżnieniu od innych barwników azowych jest on rozpuszczalny zarówno w wodzie, jak i rozpuszczalnikach organicznych (Arnao, 2000) oraz może być stosowany w szerokim zakresie pH (Prior i in., 2005).

Wadą metody zaś to, że bada ona zdolność wychwytywania kationorodników niż faktyczne inhibitowanie utlenienia (Roginsky, Lissi, 2005) oraz to, że rodniki te są syntetyczne i nie występują naturalnie w organizmach żywych (Prior i in., 2005).

Metoda ta jest szybka, tania i może być rutynowo stosowana w laboratoriach, co znalazło odzwierciedlenie w mnogości jej wykorzystania odnalezionych w literaturze. Była ona wykorzystywana w badaniach medycznych (Rice-Evans, Miller, 1997, Woo i in., 1997, Gosker i in., 2005) oznaczaniu aktywności przeciwutleniającej pojedynczych przeciwutleniaczy (Van den Berg i in., 1999, Bohm i in., 2002, Arts i in., 2004, Gliszczyńska-Świgło, 2005), warzyw i owoców surowych (Bartoszek i in., 2002, Garcia-Alonso i in., 2004), ziół (Gao i in., 2000, Javanmardi i in., 2003, Pabuçcuoğlu i in., 2003, Miliauskas i in., 2004) wina (Vilaño i in., 2004, Vilaño i in., 2005a) i olejów (Gorinstein i in., 2003). Znalaziono również przykłady zastosowania tej metody w analizie tkanek zwierzęcych (Chen i in., 2003, Shea i in., 2003, Gatellier i in., 2004, Katalinic i in., 2005). Zawsze jednak tylko w stanie surowym. Wadą tej metody jest stosowanie rodnika syntetycznego, który nie występuje naturalnie w komórkach żywych organizmów.

Firma Randox Laboratories wyprodukowała szybki test do analizy aktywności przeciwutleniającej oparty na tej metodzie.

FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power)

Metoda ta opiera się na zdolności niektórych przeciwutleniaczy do redukcji $\text{Fe}(3+)$ do $\text{Fe}(2+)$, co w obecności 2,4,6- tripirydylo-s-triazyny objawia się tworzeniem przez ten związek barwnego produktu reakcji ze zredukowanym żelazem (Benzie, Strain, 1996, Benzie, Strain, 1999, Pulido i in., 2000). Warunki reakcji, głównie pH środowiska równe 3,1 ułatwiają powstawanie tego kompleksu i zapobiegają udziałowi żelaza tkankowego w tej reakcji (Benzie, Strain, 1999). Powstały barwny związek mierzy się spektrofotometrycznie przy długości fali 593nm po określonym czasie inkubacji w 37°C. Descalzo i in. (2006) wprowadzili modyfikację metody FRAP dla tkanek zwierzęcych, zapewniającą wykluczenie wpływu endogennego żelaza na końcowy wynik.

W metodzie tej wykrywane są substancje o potencjale redoks $\text{Fe}^{3+}:\text{TPTZ} = 0,7 \text{ V}$, więc może być stosowana jako metoda przesiewowa w oznaczeniach zdolności przeciwutleniającej komórek i tkanek (Grajek, 2007)

Wadą metody FRAP jest możliwość redukcji kompleksu tripirydylo-s-triazyny przez związki, które nie są przeciwutleniaczami (Frankel, Meyer, 2000) jak również brak reakcji z glutationem i innymi związkami tiolowymi (Prior i in., 2005).

Metoda ta używana jest dość chętnie w analizie żywności, ponieważ jest prosta, szybka, niedroga, powtarzalna i nie wymaga wyspecjalizowanego wyposażenia (Prior i in., 2005). Guo i in. (2003) analizowali zdolność redukującą skórki, nasion i pulpy 28 owoców. Mierzono również przy użyciu tej metody aktywność przeciwutleniającą flawonoidów (Firuzi i in., 2005), mleka (Chen i in., 2003), świeżych, mrożonych, i konserwowanych warzyw takich jak groszek, czy szpinak (Hunter, Fletcher, 2002), produktów roślinnych (Halvorsen i in., 2002), miodu (Aljadi, Kamaruddin, 2004). Z tkanek zwierzęcych nie będących żywnością przeprowadzono badania łożysk bydłych (Kankofer i in., 2005), czy tkanek myszy (Katalinic i in., 2005).

Test DPPH

Jest to najstarsza pośrednia metoda oznaczania aktywności przeciwutleniaczy przerywających łańcuch reakcji utlenienia. Opiera się ona na reakcji stabilnego rodnika 2,2-difenyl-1-pikrylhydrazylowego (DPPH) z przeciwutleniaczami będącymi donorami wodoru włącznie z polifenolami. Związek ten posiada bardzo intensywną absorpcję w zakresie światła widzialnego. Pomiaru w tej metodzie dokonuje się przy długości fali 517nm a wynik przedstawia się w EC_{50} (stężenie przeciwutleniacza powodujące spadek początkowego stężenia DPPH o 50%) (Amakura i in., 2000). DPPH jest bardziej selektywny w stosunku do aminokwasów niż ABTS (Roginsky, Lissi, 2005). Związek ten w odróżnieniu od ABTS nie reaguje z flawonoidami, które nie zawierają grup OH w pierścieniu B (Yokozawa i in., 1998).

DPPH rozpuszcza się tylko w rozpuszczalnikach organicznych, w szczególności w alkoholu co jest istotnym ograniczeniem w zastosowaniu tej metody badań (Arnao, 2000). Poza tym przy długości 515 nm, przy której dokonuje się pomiaru dochodzić może do interferencji z karotenoidami i innymi barwnikami (Prior i in., 2005).

W literaturze znaleziono wyniki dotyczące pomiaru aktywności przeciwutleniającej mierzonej testem DPPH między innymi dla owoców i suplementów diety (Dávalos i in., 2003), miodu (Aljadi, Kamaruddin, 2004), soków z owoców cytrusowych w trakcie przechowywania chłodniczego (Del Caro i in., 2004), produktów zbożowych (Yu i in., 2002), olejów roślinnych (Espín i in., 2000) oraz grzybów (Mau i in., 2001)

1.5.2 Metody opierające się na mechanizmie HAT

Zasada tych metod polega zazwyczaj na monitorowaniu kinetyk reakcji, w których konkurują przeciwutleniacze zawarte w próbce z przeciwutleniaczem modelowym (sonda molekularna) do reakcji z rodnikiem nadtlenkowym (Grajek, 2007). Metale obecne w próbce zakłócają przebieg reakcji zawiązując wartości zdolności przeciwutleniającej analizowanej próbki.

ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity)

Metoda ta została opracowana przez Cao i in. (1993) i obecnie jest często używana do analizy pojedynczych związków jak i złożonych układów biologicznych oraz żywności. Wykorzystuje ona B-fikoerytrynę - łatwoutlenialne białko substrat, AAPH jako generator rodników peroksydowych oraz Cu^{2+} - H_2O_2 jako generator rodników hydroksyloowych. Zasada metody opiera się na reakcji rodnika peroksydowego z substancją o właściwościach fluorescencyjnych

dodaną do produktu nie mającego takich właściwości (Prior i in., 2005). Obecność przeciwutleniaczy w próbce powoduje wydłużenie czasu indukcji i/lub spadek stałej szybkości reakcji. Ze względu na ograniczenia w stosowaniu B-fikoerytryny m in. reagowanie na wiele sposobów z rodnikami nadtlenkowymi – niska powtarzalność wyników, utratę właściwości fluorescencyjnych pod wpływem światła aktualnie stosuje się w tej metodzie substancje fluorescencyjne o bardziej stabilnym i mniej reaktywnym charakterze – fluoresceinę (FL) lub dichlorofluoresceinę. Aktywność przeciwutleniającą w tej metodzie dokonuje się integrując pole powierzchni między krzywymi fluorescencji dla badanej próbki i próby ślepej). Zalety tej metody to przede wszystkim możliwość pomiaru aktywności przeciwutleniającej związków hydro- i lipofilnych (Ou i in., 2005). Wady to wcześniej opisane problemy z B-fikoerytryną oraz długi czas pomiaru – ok. 1h (Prior i in., 2005).

TRAP (Total Radical Trapping Parameter)

Metoda ta po raz pierwszy została opisana przez Wayner'a i in. (1985). Stosowana jest chętnie do pomiaru pojemności przeciwutleniającej plazmy i surowicy krwi (Prior, Cao, 1999). Po dodaniu AAPH (dihydrochlorku 2,2' – azobis (2-amidinopropanu) do badanej próby monitoruje się spadek fluorescencji białka R-fikoerytryny pod wpływem działania rodników nadtlenkowych powstałych w wyniku cieplnego rozkładu AAPH. W okresie indukcji utlenienie jest inhibitowane przez przeciwutleniacze zawarte w badanej próbce a długość okresu indukcji porównywana jest ze standardem, którym zazwyczaj jest Trolox (Prior, Cao, 1999). Metoda ta wprawdzie jest czuła, wykrywa wszystkie znane przeciwutleniacze, ale z drugiej strony jest skomplikowana, czasochłonna i wymaga dużego doświadczenia, poza tym rodniki peroksyłowe nie występują naturalnie w organizmach żywych (Prior i in., 2005).

TOSC (Total Oxyradical Scavenging Capacity)

Winston ze współpracownikami (1998) opracowali metodę opierającą się na utlenianiu kwasu α -keto- γ -metiolbutanowego (KMBA) do etylenu przy udziale AAPH (dihydrochlorku 2,2' – azobis (2-amidinopropanu). Przeciwutleniacze zawarte w badanej próbce częściowo inhibitują tworzenie się etylenu. Ilość powstającego etylenu jest monitorowana metodą chromatografii gazowej. Zalety tej metody to występowanie trzech typów rodników: hydroksylowych, peroksyłowych i nadtlenoazotynowych (Prior i in., 2005).

2 CEL PRACY

Danych na temat pojemności przeciwutleniającej surowców roślinnych: warzyw, owoców, ziół a także napojów jest dużo w piśmiennictwie, natomiast dla surowców zwierzęcych znaleziono nieliczne doniesienia. Nie można w oparciu o te wyrywkowe dane wyrobić opinii na temat całkowitej pojemności przeciwutleniającej różnych surowców pochodzenia zwierzęcego i tego jak się ona zmienia podczas obróbki cieplnej.

Celem niniejszej pracy było zbadanie pojemności przeciwutleniającej (TEAC) różnych surowców pochodzenia zwierzęcego oraz zbadanie wpływu na nią obróbki cieplnej. Założono, że największy wpływ na pojemność przeciwutleniającą mają właściwości redukujące, dlatego równolegle stosowano oznaczanie zdolności redukującej (FRAP).

Powyższy cel pracy realizowano przez następujące zadania:

- Zbadanie aktywności przeciwutleniającej i zdolności redukującej wybranych surowców pochodzenia zwierzęcego
- Zbadanie wpływu różnych obróbek cieplnych na aktywność przeciwutleniającą i zdolność redukującą wybranych surowców pochodzenia zwierzęcego
- Zbadanie wpływu dodatku soli podczas gotowania na aktywność przeciwutleniającą i zdolności redukujące wybranych surowców pochodzenia zwierzęcego

3 MATERIAŁ I METODY

3.1 Materiał

Badania prowadzono na następujących surowcach zwierzęcych:

Ryby:

Pstrągi tęczowe (*Oncorhynchus mykiss*):

Do badań wstępnych użyto ryby zakupione na lokalnym rynku, świeże, wg informacji dostawcy w okresie maksymalnie 72h po odłowieniu – do każdej serii badań 5 sztuk każda o masie ok. 500g – 7 partii w latach 2003-2004

Do badań właściwych wykorzystano pstrągi tęczowe pochodzące z gospodarstwa Bogdana Wiśniowskiego w Chełpi (HR Chełpa) – 3 partie odłowione w marcu 2004, grudniu 2005 i styczniu 2006 roku – stanowiące materiał do badań w ramach grantu KBN – 3P06T 06025 Wpływ świeżości na straty wartości odżywczej białek i lipidów podczas obróbki cieplnej pstrąga (listopad 2003 – listopad 2006)

Śledzie bałtyckie (*Clupea harengus membras L.*)

pochodzące z łowisk z okolic Kołobrzegu po 48-72h od złowienia, był to śledź tarła wiosennego o VI stopniu rozwoju gonad „stadium dojrzałe” wg skali Maiera, do badań użyto 50kg śledzi - 1 partia z marca 2006 roku

Dorsze bałtyckie (*Gadus morhua*)

pochodzące z łowisk z okolic Kołobrzegu po ok. 48h od złowienia, każdy o masie ok. 1000g, do badań użyto 18 sztuk– 1 partia z listopada 2006 roku.

Łososie atlantyckie (*Salmo salar*)

hodowlane każdy o masie 4500-5000g, do badań użyto 3 sztuki – 1 partia z marca 2007 roku.

Mięso zwierząt rzeźnych

Wieprzowe

fragmenty mięśni najdłuższych grzbietu *longissimus dorsi* (schab), od znanych dostawców każdy o masie ok. 1500-2000g, po trzy elementy na partię – 3 partie z lipca-sierpnia 2006 roku.

Wołowe

fragmenty mięśni najdłuższych grzbietu *longissimus dorsi* (rostbef) od znanych dostawców każdy o masie ok. 2000g od trzech znanych dostawców z listopada 2006 roku.

Drobiowe

kurczęta pochodzące od znanego dostawcy – tuszki świeże bez wnętrzności, każda o masie 1350-1500g, 18 sztuk na partię – 2 partie z listopada-grudnia 2006 roku.

Przygotowanie prób

Wszystkie surowce zwierzęce do badań były świeże.

- Ryby (pstrągi, śledzie, dorsze, łososie): dostarczono do laboratorium w postaci ryb zalodowanych. Ryby były płukane, w zależności od doświadczenia także patroszone, odgławiane, ponownie płukane, i pozostawiane do ocieknięcia a następnie oprawiane do postaci filetów ze skórą, poza pstrągami przeznaczonymi do przechowywania chłodniczego, które w zależności od serii badań oprawiano do postaci tusz z głową lub pozostawiano w całości. Ryby przeznaczone do badania zmian podczas składowania chłodniczego przechowywano w skrzynkach plastikowych, umieszczając warstwę lodu na dnie skrzynki i na rybach, ułożonych brzuskami do dołu. Przechowywano je w komorze chłodniczej, w temperaturze 3 - 4 °C, kontrolując temperaturę w chłodni i bezpośrednio nad rybami i uzupełniając lód w skrzynkach.
- Mięso wieprzowe – elementy płukano, pozostawiano do ocieknięcia a następnie dzielono na plastry o grubości 15-20mm.
- Mięso wołowe – elementy płukano, pozostawiano do ocieknięcia a następnie dzielono na plastry o grubości 15-20mm.
- Mięso drobiowe – do laboratorium dostarczono tuszki w stanie schłodzonym, tuszki płukano, pozostawiano do ocieknięcia i w zależności od partii badań oddzielano mięśnie piersiowe ze skórą i mięśnie udowe ze skórą, albo tylko mięśnie piersiowe ze skórą.

Powyższe czynności wykonywano niezwłocznie po dostarczeniu prób do laboratorium. Próby do czasu obróbek cieplnych przechowywano w warunkach chłodniczych – maksymalnie 2 godziny.

Obróbki cieplne

Do obróbek cieplnych pobierano w zależności od rodzaju materiału:

- Ryby - do badań każdorazowo pobierano 6 pstrągów, 12 śledzi, 3 dorsze lub po jednym fragmencie filetu z każdego z 3 łososi. Jeden z filetów (fragmentów filetów) każdej ryby przeznaczony był do obróbki cieplnej, drugi do analizy ryby surowej, co oznacza, że do każdej z obróbek cieplnych przeznaczano 6 filetów dla pstrągów, 12 dla śledzi, 3 dla dorszy i 3 powstałe fragmenty filetów łososi z trzech różnych ryb. Skórę z dorszy i łososi zdejmowano po obróbkach.
- Mięso wieprzowe – z każdego schabu pobierano losowo do każdej z obróbek po 3 przygotowane wcześniej plastry, pozostałe przeznaczano do analizy tkanek surowych.
- Mięso wołowe – z każdego rostbefu pobierano losowo do każdej z obróbek po 3 przygotowane wcześniej plastry, pozostałe przeznaczano do analizy tkanek surowych.
- Mięso drobiowe – z każdej tuszki jeden mięsień piersiowy lub udowy przeznaczano do obróbki a drugi do badania tkanek surowych – do każdej obróbki po 3 elementy. Próby poddawano obróbkom bez skóry lub ze skórą, przy czym skórę tę zdejmowano z elementów po obróbce.

Obróbkę cieplną prowadzono do uzyskania temp $68\pm 2^{\circ}\text{C}$ w centrum geometrycznym próby, czas osiągnięcia tej temperatury był różny dla różnych tkanek. Warunki obróbki cieplnej:

- Gotowanie konwencjonalne w wodzie (**G**) - próby umieszczano we wrzącej wodzie w przykrytym naczyniu, stosunek próby do wody 1: 1,5.
- Gotowanie konwencjonalne w 1% roztworze NaCl (**GS**) - próby umieszczano we wrzącym 1% roztworze NaCl, stosunek próby do wody 1: 1,5.
- Gotowanie mikrofalowe (**M**) – próby gotowano w specjalnie przeznaczonym do tego naczyniu w kuchence mikrofalowej firmy LG MS - 191MC moc 600 W.
- Pieczenie (**P**) - próby opakowane w rękaw z poliereftalanu etylenu umieszczano w urządzeniu marki Kromet KROMET PE-0/5 rozgrzanym do temperatury $200\pm 10^{\circ}\text{C}$.
- Smażenie (**S**)- próby smażyło zanurzeniowo w oleju rzepakowym (Kujawski) o temperaturze $170\pm 10^{\circ}\text{C}$, smażalnia Kromet KROMET PE-0/5 – partie pstrągów przechowywanych, pozostałe ryby smażyło na patelni teflonowej, stosunek tkanki do oleju – 10:1, temperatura $170\pm 10^{\circ}\text{C}$, początkowo smażyło po 2 minuty z każdej strony, a następnie obracano porcje co minutę i smażyło, aż do osiągnięcia założonej temperatury

Próby po obróbkach schładzano i do czasu ekstrakcji przechowywano w szczelnie zamkniętych niebieskich workach o wysokiej barierowości – nie dłużej niż 2 godziny.

Bardziej szczegółowe dane oraz ewentualne zmiany odnośnie materiału, postępowania i czasu obróbki zamieszczono przy omawianiu realizacji kolejnych doświadczeń.

Przygotowanie ekstraktów

Rozpuszczalniki używane do ekstrakcji przechowywane były w warunkach chłodniczych i miały temperaturę nie wyższą niż 3-4⁰C.

Materiał surowy i po obróbce cieplnej opisany w punktach 3.2.1, 3.2.2 rozdrabniano mechanicznie przy użyciu maszynki do mielenia „Diana” firmy Zelmer wyposażonej w sitko o średnicy oczek 3mm.

Tak powstałe „farsze” zamykano w szklanych słojach owiniętych folią aluminiową w celu ochrony przed dostępem światła i przechowywano w warunkach chłodniczych do momentu przeprowadzenia ekstrakcji ale nie dłużej niż 2-3h.

Warunki ekstrakcji:

- Frakcje wodne: tkankę homogenizowano z wodą podwójnie destylowaną przy 8600 obr./min. przez 2,5 minuty w szklanych gilzach wirówkowych – stosunek tkanki do rozpuszczalnika wynosił 1:10 (w/v). Powstałe homogenaty wirowano przez 20 minut przy 4000 obr./min. Po tym czasie frakcję z nad osadu ostrożnie zbierano do szklanych buteleczek z ciemnego szkła, szczelnie zakręcano i umieszczano w warunkach chłodniczych do czasu oznaczeń.
- Frakcje 5%NaCl: przygotowano analogicznie jak wodne, z tą różnicą, że do ekstrakcji używano 5% roztwór chlorku sodu rozpuszczonego w podwójnie destylowanej wodzie
- Frakcja metanolowa: pochodziła z ekstrakcji Bligha-Dyera (1959):
 - Homogenizowano 20g farszu z 90cm³ metanolu i 45cm³ chloroformu przez 2 min. przy 2000 obr./min.
 - Po dodaniu 45cm³ chloroformu i 17,5cm³ wody ponownie homogenizowano mieszaninę przez 30s przy 2000 obr./min.
 - Przesączoną przez lejek próżniowy Büchnera ciecz przelewano do rozdzielacza i wytrząsano po dodaniu 12,5cm³ wody a następnie pozostawiano do rozdzielania na warstwę chloroformową (lipidową) oraz metanolowo-wodną (nielipidową)
 - Frakcję chloroformową przenoszono do buteleczek z ciemnego szkła przez sączek z bezwodnym siarczanem sodu, frakcję metanolową przez sączek.

Ekstrakcje przeprowadzano jednocześnie dla dwóch naważek materiału a powstałe frakcje łączono i przechowywano w warunkach chłodniczych do czasu oznaczeń.

3.2 Metody analizy

Aktywność przeciwutleniającą oznaczono we frakcjach: wodnych, roztworach NaCl i metanolowych następującymi metodami:

- **TEAC** (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity) wg Re i in. (1999), opierająca się na spektrofotometrycznym pomiarze wygaszenia rodników ABTS[•] przez przeciwutleniacze zawarte w próbce, przy długości fali 734 nm
 - Sporządzano odczynnik podstawowy rozpuszczając ABTS (kwas 2,2'-azinobis-(3-etylbezotiazolinowy)) w wodzie destylowanej do stężenia końcowego 7 mM a następnie dodając nadsiarczan potasu do końcowego stężenia 2,45 mM.
 - Roztwór pozostawiano na 12-16 h w ciemnym miejscu w temperaturze pokojowej w celu wygenerowania wolnych rodników.
 - Po tym czasie przygotowywano odczynnik roboczy: rozcieńczano odczynnik podstawowy wodą destylowaną (ew. etanolem lub 5 mM buforem fosforanowym o pH 7,4 w zależności od doświadczenia) tak, aby absorbancja mierzona przy długości fali 734 nm wynosiła 0,700 +/- 0,020 (wtedy w roztworze wodnym znajduje się $1.5 \times 10^4 \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ kationorodników ABTS[•]).
 - Wykonywano oznaczenia: zmieszano 30 μl odpowiednio rozcieńzonej próby (frakcji)(jeśli konieczne) z 3 cm^3 odczynnika roboczego, przez 30 min. mierzono absorbancję próby przy długości fali 734 nm (oznaczenie wykonywano również dla rozpuszczalników użytych do ekstrakcji w celu wyeliminowania ich wpływu na wartość aktywności przeciwutleniającej).
 - Równolegle wykonywano krzywą wzorcową dla Troloksu
 - Wyniki przedstawiano jako sumę aktywności przeciwutleniającej frakcji 5%NaCl, wodnej i metanolowej w $\mu\text{M TE}$ (Trolox Equivalent)/g m.m. lub s.m.
- **FRAP** (Ferric Reducing Antioxidant Power) wg Benzie i Strain (1996), opierającą się na spektrofotometrycznym pomiarze redukcji kompleksu Fe(3+) z TPTZ
 - Przygotowywano odczynniki:
 - bufor octanowy (300mm/l o pH 3,6)
 - roztwór 2,4,6, tripirydyl-s-triazyny (10mM/ l w 40mM/l HCl)
 - FeCl₃ ·6H₂O (20mM/l)
 - Przygotowywano odczynnik roboczy: zmieszano wyżej wymienione odczynniki w proporcji 10:1:1 (v:v:v)

- Wykonywano oznaczenia: mieszało 100 µl odpowiednio rozcieńzonej próby (frakcji) (jeśli konieczne) z 3cm³ odczynnika roboczego, po 30 min. zmierzono absorbancję przy długości fali 593 nm (oznaczenie wykonywano również dla rozpuszczalników użytych do ekstrakcji w celu wyeliminowania ich wpływu na zdolność redukującą)
- Równolegle wykonywano krzywą wzorcową dla Troloksu
- Wyniki przedstawiano jako sumę aktywności przeciwutleniającej frakcji 5%NaCl, wodnej i metanolowej w µM TE(Trolox Equivalent)/g m.m. lub s.m..

Stopień utlenienia lipidów i skład kwasów tłuszczowych oznaczano we frakcjach chloroformowych metodami:

- Liczba nadtlenkowa (LN) wyrażona w mgO*/100g lipidów lub mgO*/g tkanki) metodą siarkocyjankową, według normy BN – 74/8020 – 07;
- Liczbę anizydynową (LA) - według normy PN –93/A – 86926
- Liczbę Totox obliczano na podstawie wzoru: 2,6 x LN + LA (PN –93/A – 86926)
- Stopień sprzężenia dienów określono przez pomiar absorbancji w UV przy długości fali 233 nm przy użyciu Hitachi 2000 firmy Mattson, Anglia (Kołakowska, 2003);
- Stopień sprzężenia trienów określono przez pomiar absorbancji w UV przy długości fali 268 nm przy użyciu Hitachi 2000 firmy Mattson, Anglia (Kołakowska, 2003);
- Fluorescencję oznaczono na spektrofotometrze fluorescencyjnym F 2000 firmy Hitachi przy długości fali wzbudzenia λ= 365 nm w zakresie fal 385 – 595 nm. Odczyt wartości fluorescencji przy dł. fali emisji λ= 436 nm (Aubourg, 1995) –dla części prób;
- Skład kwasów tłuszczowych oznaczano metodą chromatografii gazowej, ze spektrometrem masy (GC/MS) przy użyciu chromatografu gazowego firmy Hewlett Packard GC 5890. Kolumna SPTM – 2560, 100 x 0,25 mm ID, 0,20 µm film, numer katalogowy 24056, gaz nośny hel: przepływ stały w tempie 1,2 ml/min, split 1:50, temp. dozownika 220°C, temp. detektora 220°C, temp. pieca – programowana, temp. początkowa 140°C przez 5 min, przyrost temp. od 140°C do 240°C w tempie 4°C/min, temp końcowa 240°C przez 10 min, całkowity czas analizy 40 min. W celu uzyskania metyloestrów kwasów tłuszczowych wzorowano się na PN– ISO 5509 – dla większości surowców przed obróbką cieplną

We frakcjach wodnych i 5%NaCl oznaczono również:

- Zawartość białka metoda biuretową (Mejbaum-Katzenellenbogen i Mochnacka, 1968)
Zawartość azotu ogólnego metodą Kjeldahla przy użyciu aparatu Kjeltex 1026, firmy Tecator (Szwecja) wg PN – 75/A – 04018

- Zawartość azotu aminowego (Nam) metodą Pope'a-Stevensa (Mejbaum-Katzenellenbogen i Mochnacka, 1968) – dla części prób
- Zawartość azotu niebiałkowego – jako różnica między zawartością azotu ogólnego przeliczonego na białko a zawartością białka mierzonego metodą biuretową

We frakcjach metanolowych oznaczono również:

- Zawartość azotu ogólnego metodą Kjeldahla przy użyciu aparatu Kjeltex 1026, firmy Tecator (Szwecja) wg PN – 75/A – 04018
- Zawartość azotu aminowego metodą Pope'a-Stevensa (Mejbaum-Katzenellenbogen i Mochnacka, 1968) – dla części prób

Skład podstawowy tkanek oznaczono metodami:

- Woda – metodą suszarkowa wg normy PN – 71/A – 75101;
- Białko – metodą Kjeldahla przy użyciu aparatu Kjeltex 1026, firmy Tecator (Szwecja) wg PN – 75/A – 04018
- Tłuszcz – grawimetrycznie w ekstraktach wg metody Bligha – Dyera 1959; Wszystkie oznaczenia chemiczne przeprowadzono co najmniej w trzech powtórzeniach.

3.3 Analiza statystyczna

Analizę statystyczną wyników wykonano w oparciu o jedno i wieloczynnikową analizę wariancji. Utworzono grupy jednorodne przy pomocy testu Tukeya dla $p = 0,05$. Wyliczono współczynniki korelacji Pearsona oraz równania regresji dla części badanych parametrów.

Dane opracowano statystycznie korzystając z programu STATISTICA (data analysis software system), version 7.1. www.statsoft.com. firmy StatSoft, Inc. (2005).

4 WYNIKI

4.1 Wpływ warunków ekstrakcji na wyniki oznaczeń TEAC i FRAP

4.1.1 Stosunek materiał: rozpuszczalnik

Badania wpływu stosunku materiału do rozpuszczalnika ekstrakcyjnego przeprowadzono na świeżych pstrągach tęczowych pochodzących z lokalnego rynku. Próbę do badań stanowiło 5 sztuk ryb, każda o masie ok. 500 g. Ryby zostały wypatroszone, opłukane zimną wodą a po ocieknięciu sporządzono z nich filety, które rozdrobniono mechanicznie w maszynce do mielenia marki Zelmer o średnicy oczek sitka 3 mm.

Przeprowadzono ekstrakcję wodą destylowaną, roztworem NaCl o stężeniu 1, 3 i 5%, metanolem oraz chloroformem. Wszystkie rozpuszczalniki pobierano z lodówki a ich temperatura nie przekraczała 3-4°C. Przy ekstrakcji zastosowano następujące stosunki tkanki do rozpuszczalnika: 1:20 (0,05 g/cm³), 1:10 (0,1 g/cm³), 1:8 (0,15 g/cm³), 1:5 (0,2 g/cm³) i 1:4 (0,25 g/cm³). Materiał homogenizowano przez 2 minuty a następnie wirowano przez 20 minut przy 4 tys. obr./min. Frakcję z nad osadu ostrożnie przenoszono do butelek z ciemnego szkła. Procedurę powtarzano dla dwóch naważek a powstałe frakcje łączono. Frakcje przechowywano w warunkach chłodniczych do czasu przeprowadzenia oznaczenia, ale nie dłużej niż 5 godzin. W uzyskanych frakcjach oznaczono aktywność przeciwutleniającą metodami TEAC dla ABTS rozpuszczonego w wodzie destylowanej i w etanolu oraz FRAP. Pomiar absorbancji wykonywano 30 minut po zmieszaniu badanej frakcji z odczynnikiem roboczym. Każdy pomiar wykonywano co najmniej w 3 powtórzeniach.

We wszystkich stosowanych metodach oznaczania aktywności przeciwutleniającej stosunek tkanki do rozpuszczalnika podczas ekstrakcji miał istotny wpływ na aktywność przeciwutleniającą badanych frakcji (Tab.2). W metodzie TEAC z ABTS rozpuszczonym w wodzie najwyższe i nie różniące się statystycznie wartości aktywności przeciwutleniającej dla frakcji wodnych i frakcji solnych zaobserwowano, gdy stosunek tkanki do rozpuszczalnika mieścił się w zakresie 0,05- 0,1g/cm³ a dla wodnych nawet do 0,15 g/cm³ (Tab.2). Dla frakcji metanолоwych stosunek ten mieścił się w zakresie 0,1-0,2 g/cm³, natomiast w przypadku frakcji chloroformowych stosunek tkanki do rozpuszczalnika podczas ekstrakcji nie miał istotnego wpływu na końcowy wynik (Tab.2). W metodzie TEAC, ale z ABTS rozpuszczonym w etanolu frakcje wodna i solne osiągnęły najwyższą aktywność przeciwutleniającą dla stosunku 0,05g/cm³. Dla frakcji 1%NaCl i 5%NaCl również stosunek 0,1g/cm³ nie różnił się istotnie od tych wartości (Tab.2). Frakcje metanолоwe najwyższą aktywność przeciwutleniającą wykazały dla stosunku między 0,15 a 0,2g/cm³ a chloroformowe 0,05 – 0,15g/cm³ (Tab.2).

W metodzie FRAP we wszystkich frakcjach wodnych solnych, i chloroformowych najwyższe zdolności redukujące zaobserwowano dla stosunku tkanka: rozpuszczalnik między 0,05 a 0,15 g/cm³. Zdolności redukujące frakcji metanowych nie zależały od stosunku homogenizowanej tkanki do rozpuszczalnika (Tab.2).

Tabela 2 Aktywność przeciwutleniająca mierzona metodą TEAC z ABTS rozpuszczonym w wodzie TEAC(w) i etanolu TEAC(et) oraz FRAP w zależności od stosunku materiał: rozpuszczalnik [μ MTE/g tkanki]

metoda	Stosunek materiał: rozpuszczalnik (g/ cm ³)				
	0,05	0,1	0,15	0,2	0,25
woda					
TEAC(w)	10,31 ^c	10,28 ^c	10,01 ^c	9,95 ^b	8,45 ^a
TEAC(et)	13,45 ^d	13,25 ^c	13,20 ^c	12,07 ^a	12,42 ^b
FRAP	5,45 ^c	5,25 ^c	5,50 ^c	5,07 ^b	4,42 ^a
1%NaCl					
TEAC(w)	8,64 ^d	8,34 ^d	8,16 ^c	7,92 ^b	7,51 ^a
TEAC(et)	11,87 ^{cd}	11,99 ^d	11,82 ^c	11,49 ^b	9,01 ^a
FRAP	5,58 ^b	5,85 ^c	5,48 ^b	5,85 ^c	2,34 ^a
3%NaCl					
TEAC(w)	10,33 ^d	10,24 ^d	10,09 ^c	9,90 ^b	8,42 ^a
TEAC(et)	13,06 ^d	12,44 ^c	12,37 ^c	10,79 ^a	11,22 ^b
FRAP	5,32 ^d	5,18 ^c	5,38 ^d	4,99 ^b	4,23 ^a
5%NaCl					
TEAC(w)	11,51 ^d	11,48 ^d	10,41 ^c	10,25 ^b	8,45 ^a
TEAC(et)	8,35 ^d	8,25 ^{cd}	8,20 ^c	7,07 ^a	7,42 ^b
FRAP	5,75 ^c	5,55 ^c	5,50 ^c	5,37 ^b	4,72 ^a
metanol					
TEAC(w)	0,44 ^a	0,56 ^b	0,56 ^b	0,52 ^{ab}	0,44 ^a
TEAC(et)	0,52 ^a	0,80 ^{bc}	0,86 ^{cd}	0,89 ^d	0,75 ^b
FRAP	0,13 ^a	0,16 ^a	0,16 ^a	0,19 ^a	0,10 ^a
chloroform					
TEAC(w)	-0,15 ^a	-0,14 ^a	-0,14 ^a	-0,15 ^a	-0,16 ^a
TEAC(et)	0,39 ^c	0,41 ^c	0,38 ^c	0,25 ^b	0,18 ^a
FRAP	0,01 ^b	0,04 ^b	0,02 ^b	-0,07 ^a	-0,09 ^a

Dane w wierszach oznaczone tą samą literą nie różnią się istotnie, Test Tukey'a, p<0,05

Na podstawie powyższych danych, w celu wyekstrahowania maksymalnej ilości związków przeciwutleniających, postanowiono dla dalszych analiz prowadzić ekstrakcję dla stosunku tkanka: rozpuszczalnik 1:10 (w/v).

4.1.2 Czas homogenizacji

Po ustaleniu stosunku materiału do rozpuszczalnika postanowiono określić czas homogenizacji próby z rozpuszczalnikiem do stosowania w badaniach właściwych.

Fracje przygotowano analogicznie jak w poprzednim punkcie, z wyjątkiem czasu homogenizacji, który w tym przypadku wynosił 0 (bez homogenizacji próby z rozpuszczalnikiem), 1, 2,5 i 5 minut.

Czas homogenizacji wpływał na wyniki oznaczeń aktywności przeciwutleniającej i redukującej (Tab.3).

Tabela 3 Aktywność przeciwutleniająca mierzona metodą TEAC z ABTS rozpuszczonym w wodzie TEAC(w) i etanolu TEAC(et) oraz FRAP w zależności od czasu homogenizacji mięsa pszczołków tęczowych surowego z rozpuszczalnikami [$\mu\text{MTE/g}$ tkanki]

metoda	Czas homogenizacji [min]			
	0	1	2,5	5
woda				
TEAC(w)	1,96 ^a	6,91 ^c	6,70 ^c	5,68 ^b
TEAC(et)	0,33 ^a	2,06 ^b	2,07 ^b	1,93 ^b
FRAP	0,52 ^b	2,07 ^d	1,93 ^c	0,50 ^a
1%NaCl				
TEAC(w)	1,34 ^a	3,52 ^b	6,27 ^c	6,08 ^c
TEAC(et)	0,80 ^a	2,43 ^c	2,54 ^c	1,98 ^b
FRAP	1,51 ^a	1,66 ^b	1,88 ^c	1,48 ^a
3%NaCl				
TEAC(w)	0,55 ^a	5,92 ^b	6,63 ^c	5,50 ^b
TEAC(et)	0,87 ^a	1,71 ^b	1,90 ^d	1,80 ^c
FRAP	0,18 ^a	0,84 ^c	0,99 ^d	0,41 ^b
5%NaCl				
TEAC(w)	3,06 ^a	5,23 ^b	8,85 ^c	9,00 ^c
TEAC(et)	0,81 ^a	1,71 ^b	2,56 ^d	2,35 ^c
FRAP	0,35 ^a	0,70 ^b	2,10 ^d	1,44 ^c
metanol				
TEAC(w)	0,45 ^a	0,67 ^b	0,66 ^b	0,43 ^a
TEAC(et)	0,78 ^b	1,28 ^d	1,02 ^c	0,35 ^a
FRAP	0,51 ^a	0,78 ^c	1,16 ^d	0,58 ^b
chloroform				
TEAC(w)	-0,61 ^b	-0,76 ^a	-0,75 ^a	-0,64 ^b
TEAC(et)	0,01 ^a	0,02 ^a	0,02 ^a	0,05 ^b
FRAP	0,19 ^a	0,26 ^b	0,35 ^c	0,37 ^c

Dane w wierszach oznaczone tą samą literą nie różnią się istotnie, test Tukey'a, $p < 0,05$

W metodzie TEAC z ABTS rozpuszczonym w wodzie czas homogenizacji miał istotny wpływ na wartość aktywności przeciwutleniającej poszczególnych frakcji. W większości frakcji czas homogenizacji wynoszący 2,5 minuty zapewniał maksymalne wyekstrahowanie z badanego materiału związków o charakterze przeciwutleniaczy. W przypadku frakcji wodnych i metanолоwych wystarczająca była homogenizacja trwająca 1 minutę (Tab.3).

Również w metodzie TEAC z ABTS rozpuszczonym w etanolu wystąpiły różnice w wartości aktywności przeciwutleniającej dla różnych czasów homogenizacji. Podobnie jak w poprzedniej metodzie optymalnym czasem homogenizacji był czas 2,5 min., poza frakcją metanolową, dla której czas wyniósł 1 minutę i chloroformowej – 5 minut (Tab.3).

Zdolności redukujące podobnie jak aktywność przeciwutleniająca maksymalne wartości osiągały dla homogenizacji trwającej 2,5 minuty. Materiał ekstrahowany wodą potrzebował tylko jednogodzinnej homogenizacji do wyekstrahowania maksymalnej ilości związków o charakterze redukującym (Tab.3).

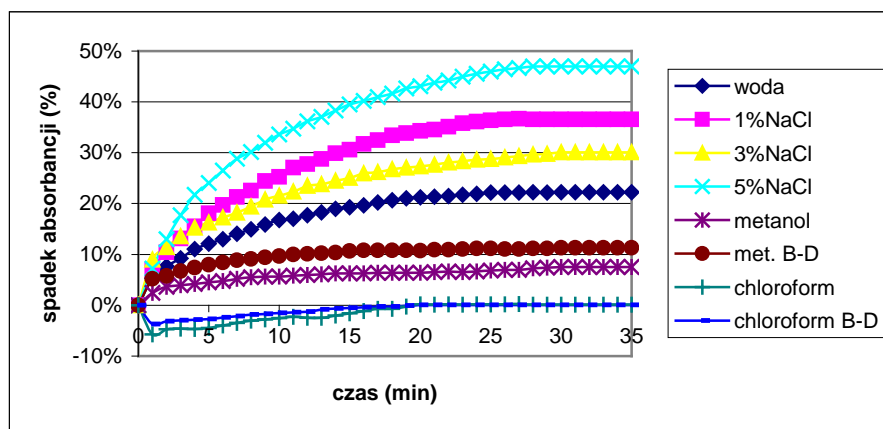
W związku z powyższymi danymi do badań właściwych wybrano czas homogenizacji trwający 2,5 minuty przy 8600 obr./min.

4.1.3 Czas pomiaru

Kolejnym parametrem, który sprecyzowano przed rozpoczęciem badań właściwych na surowcach zwierzęcych było określenie czasu od dodania próby do odczynnika roboczego, po którym powinien być wykonywany pomiar aktywności przeciwutleniającej. Oznaczono aktywność przeciwutleniającą frakcji metodami TEAC z wodą i etanolem jako rozpuszczalnikami odczynnika roboczego oraz metodą FRAP, mierząc absorbancję bezpośrednio po zmieszaniu frakcji i roztworu roboczego a następnie co minutę przez okres 30 minut. Pomiar wykonywano w dwóch powtórzeniach.

W oparciu o przebieg wygaszenia absorbancji kationorodników ABTS* przedstawiony na rysunkach 1-6 zdecydowano o wykonywaniu pomiaru absorbancji we wszystkich metodach po 30 minutach od zmieszania próby z odczynnikiem roboczym, co powinno zapewnić pełne zajście reakcji, na których oparte są stosowane metody. W przypadku metody TEAC z ABTS rozpuszczonym w wodzie taki czas był wymagany do ustabilizowania reakcji, w przypadku TEAC z ABTS w etanolu większość frakcji nie wykazywała wzrostu aktywności po 20 minutach od zmieszania, natomiast w metodzie FRAP wystarczającym czasem było 10 minut. Biorąc pod uwagę różnice w kinetykach postanowiono dla kilku nowo badanych tkanek zwierzęcych sprawdzić zmiany wygaszenia kationorodników ABTS w czasie pomiaru (Zał. 1). Uzyskane wyniki potwierdziły użyteczność pomiaru po 30 minutach od zmieszania frakcji z odczynnikiem roboczym do pomiaru aktywności przeciwutleniającej tkanek zwierzęcych surowych i po obróbce cieplnej.

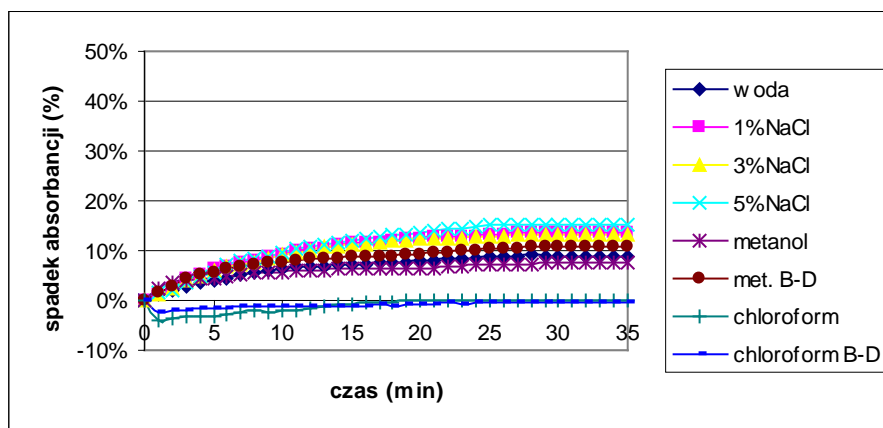
Kinetyki reakcji dla frakcji w metodzie TEAC, poza chloroformowymi z dużym prawdopodobieństwem miały przebieg logarytmiczny (Tab.4-7). W metodzie FRAP również były najbardziej zbliżone do krzywej logarytmicznej, ale już z mniejszym współczynnikiem korelacji (Tab.8-9).



Rysunek 1 Zmiany aktywności przeciwutleniającej TEAC(w) pstrągów surowych w zależności od czasu pomiaru i rozpuszczalnika ekstrakcyjnego

Tabela 4 Równania opisujące kinetykę zmian aktywności przeciwutleniającej (TEAC(w)) pstrągów surowych w czasie pomiaru (x)

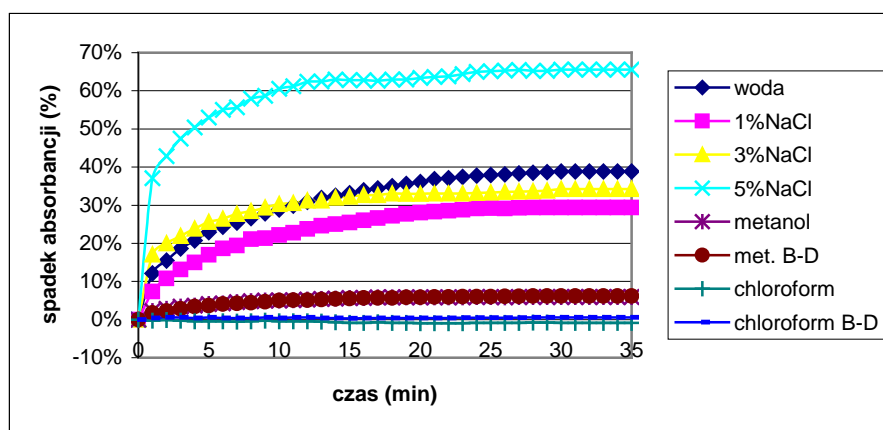
Fracja	$y=a\text{Ln}(x)+b$		
	a	b	r^2
woda	0,0670	0,0034	0,99
1%NaCl	0,1161	0,0188	0,99
3%NaCl	0,0844	0,0147	0,99
5%NaCl	0,1462	0,0174	1,00
metanol	0,0181	0,0114	0,96
metanol B:D	0,0273	0,0262	0,93
chloroform	0,0102	-0,0353	0,53
chloroform B:D	0,0158	-0,0565	0,50



Rysunek 2 Zmiany aktywności przeciwutleniającej TEAC(w) pstrągów gotowanych w zależności od czasu pomiaru rozpuszczalnika ekstrakcyjnego

Tabela 5 Równania opisujące kinetykę zmian aktywności przeciwutleniającej TEAC(w) pstrągów gotowanych w czasie pomiaru (x)

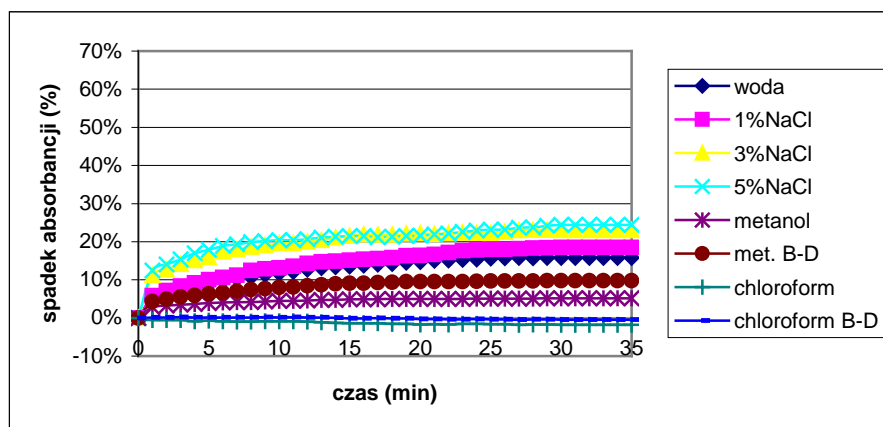
Frakcja	$y=aLn(x)+b$		
	a	b	r^2
woda	0,0286	0,0077	0,99
1%NaCl	0,0450	0,0153	0,99
3%NaCl	0,0444	0,0157	0,98
5%NaCl	0,0526	0,0265	0,98
metanol	0,0185	0,0108	0,97
metanol B:D	0,0317	-0,0002	0,99
chloroform	0,0035	-0,0189	0,31
chloroform B:D	0,0114	-0,0403	0,52



Rysunek 3 Zmiany aktywności przeciwutleniającej TEAC(et) pstrągów surowych w zależności od czasu pomiaru i rozpuszczalnika ekstrakcyjnego

Tabela 6 Równania opisujące kinetykę zmian aktywności przeciwutleniającej TEAC(et) pstrągów surowych w czasie pomiaru (x)

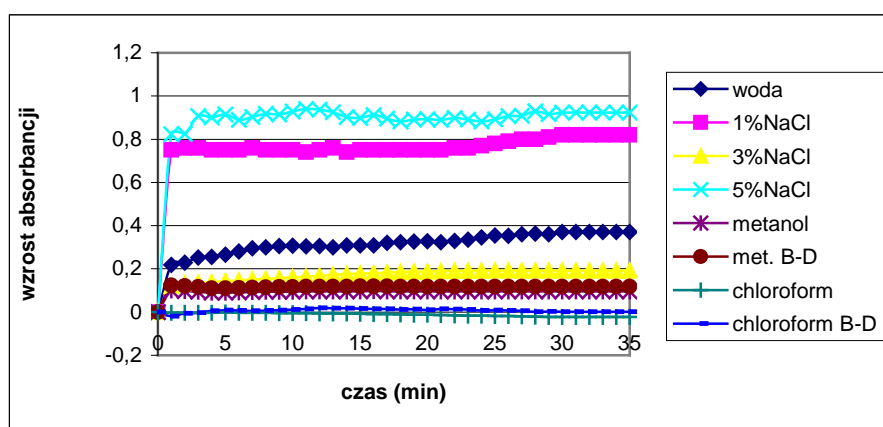
Frakcja	$y=aLn(x)+b$		
	a	b	r^2
woda	0,1076	0,0307	0,99
1%NaCl	0,0860	0,0135	0,99
3%NaCl	0,0772	0,0979	0,89
5%NaCl	0,1356	0,2370	0,81
metanol	0,0154	0,0111	0,94
metanol B:D	0,0175	0,0049	0,98
chloroform	-0,0029	0,001	0,80
chloroform B:D	0,0004	0,0034	0,25



Rysunek 4 Zmiany aktywności przeciwutleniającej TEAC(et) pstrągów gotowanych w zależności od czasu pomiaru rozpuszczalnika ekstrakcyjnego

Tabela 7 Równania opisujące kinetykę zmian aktywności przeciwutleniającej TEAC(w) pstrągów gotowanych w czasie pomiaru (x)

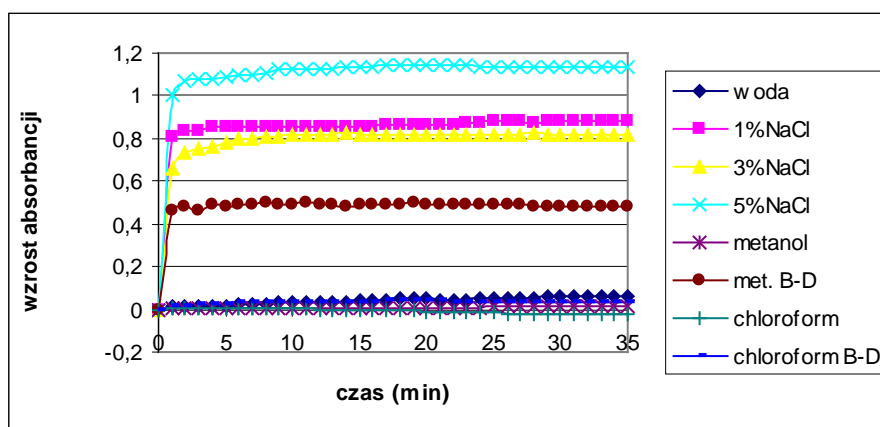
Fracja	$y=a\ln(x)+b$		
	a	b	r^2
woda	0,4470	0,0102	0,99
1%NaCl	0,0512	0,0102	0,99
3%NaCl	0,5430	0,0568	0,92
5%NaCl	0,5120	0,0709	0,87
metanol	0,0114	0,0157	0,88
metanol B:D	0,0250	0,0175	0,96
chloroform	-0,0052	0,0010	0,89
chloroform B:D	-0,0019	0,0043	0,50



Rysunek 5 Zmiany zdolności redukującej FRAP pstrągów surowych w zależności od czasu pomiaru i rozpuszczalnika ekstrakcyjnego

Tabela 8 Równania opisujące kinetykę zmian zdolności redukującej pszczołek gotowanych w czasie pomiaru (x)

Frakcja	$y=a\ln(x)+b$		
	a	b	r^2
woda	0,0723	0,119	0,84
1%NaCl	0,0979	0,4907	0,41
3%NaCl	0,0408	0,0626	0,85
5%NaCl	0,1154	0,5814	0,45
metanol	0,0114	0,0634	0,42
metanol B:D	0,0723	0,119	0,83
chloroform	-0,0065	0,0066	0,68
chloroform B:D	0,005	-0,0048	0,32



Rysunek 6 Zmiany zdolności redukującej FRAP pszczołek gotowanych w zależności od czasu pomiaru i rozpuszczalnika ekstrakcyjnego

Tabela 9 Równania opisujące kinetykę zmian zdolności redukującej FRAP pszczołek gotowanych w czasie pomiaru (x)

Frakcja	$y=a\ln(x)+b$		
	a	b	r^2
woda	0,0177	-0,0081	0,94
1%NaCl	0,1132	0,5468	0,42
3%NaCl	0,1220	0,4707	0,54
5%NaCl	0,1570	0,6881	0,52
metanol	0,0037	-0,0032	0,80
metanol B:D	0,0606	0,3198	0,41
chloroform	-0,0082	0,0151	0,54
chloroform B:D	0,0090	0,0085	0,83

4.1.4 Stężenie NaCl w roztworze ekstrakcyjnym

Sprawdzono również wpływ zawartości soli (NaCl) w roztworze ekstrakcyjnym na aktywność przeciwutleniającą wyekstrahowanych frakcji. Przeprowadzono ekstrakcję materiału wodą i roztworami NaCl o stężeniu 1, 3 i 5%. W uzyskanych frakcjach oznaczono aktywność przeciwutleniającą metodami TEAC dla ABTS rozpuszczonego w wodzie destylowanej i w etanolu oraz FRAP.

Oznaczenia przeprowadzone na trzech partiach pstrągów tęczowych surowych wykazały, że w zależności od partii wpływ stężenia soli na aktywność przeciwutleniającą frakcji nieco się różnił (Tab.10).

W metodzie TEAC(w) średnia aktywność frakcji z zawartością NaCl w zakresie 0-3% nie różniła się istotnie. Dopiero frakcja 5% NaCl wykazała wyższą aktywność.

W metodzie TEAC(et) średnia aktywność frakcji 1 i 3% NaCl była niższa niż frakcji bez NaCl. Wzrost nastąpił dopiero przy 5% NaCl.

Wpływ stężenia NaCl na zdolności redukujące w metodzie FRAP miał inny przebieg niż w metodzie TEAC (Tab.10).

Tabela 10 Aktywność przeciwutleniająca trzech partii pstrągów tęczowych w zależności od stężenia soli w rozpuszczalniku ekstrakcyjnym i metody pomiaru aktywności przeciwutleniającej

TEAC(w)				
zaw. NaCl [g/100g]	A	B	C	średnia
woda	5,30 ^{aA}	6,70 ^{bA}	10,28 ^{cB}	7,43 ^A
1	8,72 ^{bB}	6,27 ^{aA}	8,34 ^{bA}	7,78 ^A
3	7,18 ^{bB}	6,63 ^{aA}	10,24 ^{cB}	8,02 ^A
5	11,32 ^{bC}	8,85 ^{aB}	11,48 ^{bC}	10,55 ^B
TEAC(et)				
zaw. NaCl [g/100g]	A	B	C	średnia
woda	9,82 ^{bB}	2,07 ^{aA}	13,25 ^{cC}	8,38 ^C
1	7,43 ^{bA}	2,54 ^{aB}	11,99 ^{cB}	7,32 ^A
3	8,66 ^{bB}	1,90 ^{aA}	12,44 ^{cB}	7,67 ^B
5	16,61 ^{cC}	2,56 ^{aB}	8,26 ^{bA}	9,14 ^D
FRAP				
zaw. NaCl [g/100g]	A	B	C	średnia
woda	2,71 ^{bB}	1,93 ^{aB}	5,25 ^{cA}	3,30 ^B
1	6,01 ^{bC}	1,88 ^{aB}	5,85 ^{bB}	4,58 ^C
3	1,41 ^{bA}	0,99 ^{aA}	5,18 ^{cA}	2,53 ^A
5	6,76 ^{cC}	2,10 ^{aB}	5,55 ^{bB}	4,81 ^C

Dane w wierszach oznaczone takimi samymi literami: a,b,c oraz w kolumnach: A, B, C nie różnią się istotnie, Test Tukey'a, $p < 0,05$

Na podstawie powyższych danych postanowiono w dalszych badaniach stosować ekstrakcję wodą i 5%NaCl. Ma to na celu zapobieżenie przeszacowaniu sumy aktywności przeciwutleniających. Poza tym taki dobór rozpuszczalników odpowie na pytanie odnośnie aktywności przeciwutleniającej związków rozpuszczalnych w wodzie oraz ekstrahowalnych 5%NaCl białek miofibrylarnych i związków z nimi związanych.

4.1.5 Rodzaj rozpuszczalnika roztworu roboczego w TEAC

Porównanie wody destylowanej i etanolu

Porównano wyniki dotychczasowych doświadczeń na pstrągach, w których stosowano równolegle wodę i etanol jako rozpuszczalniki odczynnika roboczego pod kątem wpływu rozpuszczalnika na aktywność przeciwutleniającą frakcji (Tab.11).

Tabela 11 Wpływ rozpuszczalnika odczynnika roboczego na aktywność przeciwutleniającą wybranych frakcji 5 partii pstrągów surowych

partia	Frakcja							
	wodna		5%NaCl		metanolowa		chloroformowa	
	TEAC(w)	TEAC(et)	TEAC(w)	TEAC(et)	TEAC(w)	TEAC(et)	TEAC(w)	TEAC(et)
A	5,30 ^a	9,82 ^b	11,32 ^a	16,61 ^b	1,19 ^a	1,49 ^b	0,01 ^a	0,07 ^b
B	5,35 ^a	7,85 ^b	4,24 ^b	3,36 ^a	0,54 ^a	1,60 ^b	-0,50 ^a	0,41 ^b
C	1,96 ^a	3,45 ^b	7,57 ^b	4,19 ^a	0,89 ^a	2,86 ^b	-0,62 ^a	0,07 ^b
D	6,70 ^b	2,07 ^a	6,27 ^b	2,54 ^a	0,66 ^a	1,02 ^b	-0,75 ^a	0,02 ^b
E	10,28 ^b	5,25 ^a	11,48 ^b	5,55 ^a	0,56 ^b	0,15 ^a	-0,14 ^a	0,04 ^b
średnia	5,92 ^a	5,69 ^a	8,18 ^a	6,45 ^a	0,77 ^a	1,42 ^b	-0,40 ^a	0,12 ^b
SD	3,00	3,16	3,18	5,79	0,28	0,99	0,32	0,16
W[%]	50,73%	55,65%	38,84%	89,73%	35,93%	69,28%	-80,69%	130,75%

Średnie aktywności przeciwutleniające badanych frakcji wodnych i 5%NaCl nie różniły się istotnie, natomiast średnia aktywność przeciwutleniająca frakcji metanolowych była prawie dwukrotnie wyższa dla odczynnika roboczego rozpuszczonego w etanolu niż w wodzie. Średnia aktywność frakcji chloroformowych dla odczynnika roboczego rozpuszczonego w wodzie tak jak i poszczególnych partii osiągnęła ujemne wartości, co spowodowane było prawdopodobnie nierozpuszczalnością związków ekstrahowanych chloroformem w wodzie. Frakcja chloroformowa w odczynniku opartym na etanolu osiągała wartości dodatnie, ale zazwyczaj niewielkie i bliskie granicy błędu.

Między poszczególnymi partiami badanych pstrągów wykazano istotne różnice w aktywności przeciwutleniającej poszczególnych frakcji w zależności od sposobu przygotowania odczynnika roboczego

Aktywność przeciwutleniająca frakcji oznaczana przy użyciu metody TEAC(w) wykazała mniejszą zmienność zawierającą się między 36% dla frakcji metanolowych do prawie

51% dla frakcji wodnych niż w przypadku oznaczanej przy użyciu metody TEAC(et) od 56% dla frakcji wodnej do aż 90% dla frakcji 5%NaCl. Zmienność frakcji chloroformowych była jeszcze wyższa a wpływ na to miały zapewne niewielkie wartości aktywności przeciwutleniającej (Tab.11).

Podsumowując:

- Aktywność przeciwutleniająca frakcji pochodzących z różnych partii różniła się istotnie w zależności od użytego rozpuszczalnika odczynnika roboczego co może świadczyć o tym, że na aktywność przeciwutleniającą składają się związki o różnej polarności i zmiennym składzie w rybach tego samego gatunku.
- Współczynniki korelacji między aktywnością przeciwutleniającą pstrągów tęczowych mierzoną metodami TEAC(w) i TEAC(et) były nieistotne (0,01 dla frakcji wodnej, 0,42 dla frakcji metanolowej i 0,68 dla frakcji 5%NaCl, przy $p < 0,05$.) poza pstrągami pochodzącymi z tego samego źródła, karmionymi tą samą paszą i pobieranych do badań w odstępie 1 miesiąca, dla których współczynniki korelacji były istotne (frakcja wodna – 1,00, metanolowa – 0,95 a 5%NaCl – 0,85).
- Frakcja chloroformowa w TEAC(w) wykazała wartości ujemne, w TEAC (et) bliskie błędowi, co może sugerować nieprzydatność metody TEAC z ABTS rozpuszczonym w wodzie destylowanej lub etanolu do oznaczania aktywności przeciwutleniającej frakcji chloroformowej tkanek zwierzęcych lub świadczy o utlenieniu lipidów zawartych w tej frakcji.
- Metoda TEAC(w) wykazywała mniejszą zmienność w wartościach aktywności przeciwutleniającej poszczególnych frakcji niż metoda TEAC(et).

Porównanie wody destylowanej i buforu fosforanowego

Oznaczono aktywność przeciwutleniającą metodami TEAC dla ABTS rozpuszczonego w wodzie destylowanej i w 5mM buforze fosforanowym o pH 7,4. Pomiar wykonywano co minutę przez 30 minut od zmieszania badanej frakcji z odczynnikiem roboczym. Każdy pomiar wykonywano co najmniej w 3 powtórzeniach.

Tabela 12 Różnice w aktywności przeciwutleniającej frakcji oraz ich sumy w zależności od rozpuszczalnika odczynnika roboczego.

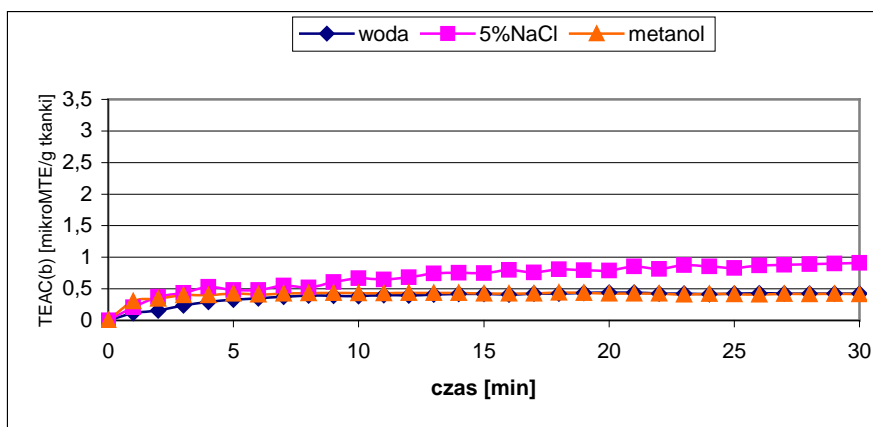
frakcja	bufor fosforanowy	woda
woda	0,42 ^a	1,22 ^b
5%NaCl	0,98 ^a	2,97 ^b
metanol	0,42 ^a	0,24 ^a
suma	1,82	4,43

Dane w wierszach oznaczone tą samą literą nie różnią się istotnie, test Tukey'a $p < 0,05$

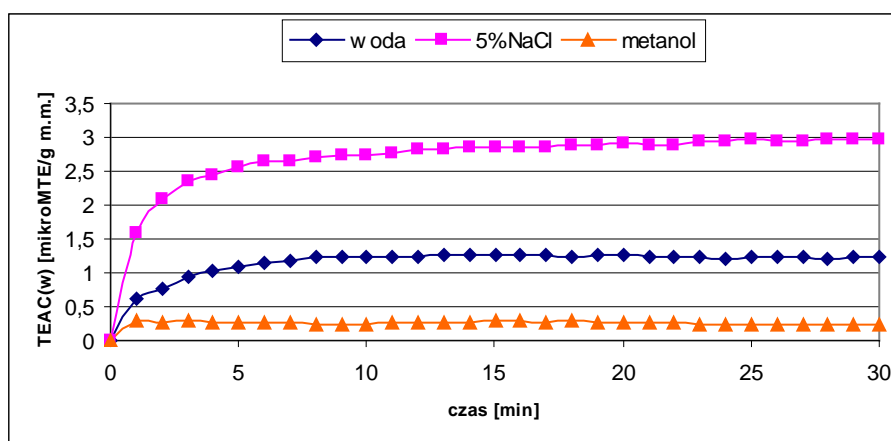
Aktywność przeciwutleniająca frakcji pstrągów surowych w zależności od rozpuszczalnika roztworu roboczego poza frakcjami metanolowymi różniła się istotnie (Tab.12).

Dla odczynnika roboczego rozpuszczonego w wodzie destylowanej aktywność frakcji wodnej i 5%NaCl była 3 razy wyższa niż dla rozpuszczonego w buforze fosforanowym. Poza tym w przypadku użycia buforu fosforanowego jako rozpuszczalnika odczynnika roboczego zaobserwowano przypadki lekkiego zmętnienia roztworu po zmieszaniu frakcji z odczynnikiem roboczym, szczególnie dla frakcji 5%NaCl, co jest wyraźnym ograniczeniem przy pomiarach spektrofotometrycznych.

Kinetyki reakcji potwierdziły użyteczność pomiaru po 30 minutach dla obydwu rozpuszczalników odczynnika roboczego (Rys.7-8).



Rysunek 7 Aktywność przeciwutleniająca frakcji pszczoł surowych mierzona metodą TEAC dla odczynnika roboczego rozpuszczonego w buforze fosforanowym w zależności od czasu pomiaru



Rysunek 8 Aktywność przeciwutleniająca frakcji pszczoł surowych mierzona metodą TEAC dla odczynnika roboczego rozpuszczonego w wodzie destylowanej w zależności od czasu pomiaru

4.1.6 Sposób przeprowadzania ekstrakcji (sekwencyjnie i jednoetapowo)

Przeprowadzono ekstrakcję wodą, 5% NaCl i metanolem. Ekstrakcję prowadzono na dwa sposoby:

- Ekstrakcja jednoetapowa: próbę homogenizowano z odpowiednim rozpuszczalnikiem przez 2,5 minuty a następnie wirowano przez 20 minut przy

4 tys. obr./min. Warstwę z nad osadu ostrożnie przenoszono do butelek z ciemnego szkła.

- Ekstrakcja sekwencyjna: tkankę homogenizowano z wodą destylowaną przez 2,5 minuty a następnie wirowano przez 20 minut przy 4 tys. obr./min. Górną warstwę ostrożnie przenoszono do butelek z ciemnego szkła. Następnie dodawano 5%NaCl i procedurę powtarzano. Po zebraniu frakcji 5%NaCl zastosowano w taki sam sposób ekstrakcję metanolem z pozostałości po poprzednich ekstrakcjach. W każdym sposobie ekstrakcji procedurę powtarzano dla dwóch naważek tkanki a powstałe frakcje łączono. Frakcje przechowywano w warunkach chłodniczych do czasu przeprowadzenia oznaczenia, ale nie dłużej niż 3 godziny. W uzyskanych frakcjach oznaczono aktywność przeciwutleniającą metodami TEAC dla ABTS rozpuszczonego w wodzie destylowanej oraz metodą FRAP.

Z danych z tabeli 13 wynika że sposób ekstrakcji jednoetapowo, czy sekwencyjnie nie miał istotnego wpływu na wartość aktywności przeciwutleniającej badanych frakcji pstrągów tęczowych surowych, poza frakcją metanolową w metodzie TEAC która wykazywała istotnie wyższą aktywność przeciwutleniającą po ekstrakcji jednoetapowej (Tab.13). Oznacza to prawdopodobnie, że metanolem ekstrahowana jest również część substancji zawartych w ekstraktach wodnych.

Jednak ekstrakcja jednoetapowa w porównaniu z sekwencyjną charakteryzowała się krótszym czasem przygotowania ekstraktów, co wiązało się również z krótszym czasem kontaktu prób z tlenem. Poza tym ekstrakt metanolowy z ekstrakcji Bligha – Dyera może być przydatny do porównania aktywności przeciwutleniającej ze wskaźnikami utlenienia lipidów frakcji chloroformowej pochodzącej z tej samej ekstrakcji.

Tabela 13 Wpływ sposobu ekstrakcji na aktywność przeciwutleniającą pstrągów tęczowych surowego mierzoną metodami TEAC i FRAP

	TEAC		FRAP	
	jednoetapowa	sekwencyjna	jednoetapowa	sekwencyjna
woda	12,65 ^a	12,49 ^a	1,30 ^a	1,36 ^a
5%NaCl	21,35 ^a	22,58 ^a	2,08 ^a	2,01 ^a
metanol	8,68 ^a	9,66 ^b	0,89 ^a	0,98 ^a
suma	42,68	45,73	4,27	4,35

Dane w wierszach oznaczone tą samą literą nie różnią się istotnie, test Tukey'a, $p < 0,05$

4.1.7 Wpływ warunków ekstrakcji na wyniki oznaczeń TEAC i FRAP - podsumowanie

Na podstawie badań metodycznych ustalono następujące parametry ekstrakcji:

- Stosunek tkanka: rozpuszczalnik 1:10 (0,1g tkanki/cm³ rozpuszczalnika)

- Czas homogenizacji: 2,5 minuty
- Pomiar po 30 minutach od dodania frakcji do roztworu roboczego

Ustalono również rozpuszczalniki do dalszych ekstrakcji: woda, 5%NaCl oraz metanol (z ekstrakcji Bligha-Dyera).

Jako rozpuszczalnik ABTS ustalona została dla frakcji wodnej i NaCl woda destylowana, a dla frakcji metanolowej - etanol.

Ustalono również przeprowadzanie ekstrakcji każdym rozpuszczalnikiem z osobnej próby tkanki i wykonywanie ekstrakcji dwukrotnie a następnie zmieszanie tych ekstraktów.

4.2 Aktywność przeciwutleniająca surowców zwierzęcych

4.2.1 Ryby

Pstrągi tęczowe

Oznaczono aktywność przeciwutleniającą metodą TEAC w dziesięciu partiach pstrągów tęczowych. Zaobserwowano że badane partie różniły się zarówno sumą aktywności przeciwutleniających, jak i aktywnością przeciwutleniającą poszczególnych frakcji. Zmienność frakcji wodnych i 5%NaCl była na zbliżonym poziomie ok. 75%, natomiast frakcji metanolowych była najwyższa i wyniosła ponad 145%. W przypadku jednej partii pstrągów zaobserwowano ujemną wartość aktywności przeciwutleniającej dla frakcji metanolowej (Tab.14).

Tabela 14 Aktywność przeciwutleniająca TEAC pstrągów tęczowych w zależności od partii [μ MTE/g m.m.]

partia	Fracja				Udziały frakcji		
	wodna	5%NaCl	metanolowa	suma	wodna	5%NaCl	metanolowa
A	5,30 ^d	11,32 ^{cd}	1,22 ^d	17,84	29,71%	63,45%	6,84%
B	5,35 ^d	4,24 ^{ab}	0,54 ^c	10,12	52,87%	41,90%	5,34%
C	1,96 ^c	7,57 ^{bc}	0,89 ^d	10,42	18,81%	72,65%	8,54%
D	6,70 ^e	3,93 ^{ab}	0,66 ^c	11,29	59,34%	34,81%	5,85%
E	10,28 ^f	11,48 ^{cd}	0,56 ^c	22,32	46,06%	51,43%	2,51%
F	15,34 ^h	18,03 ^e	6,80 ^e	40,17	38,19%	44,88%	16,93%
G	0,12 ^a	1,67 ^a	0,17 ^b	1,96	6,12%	85,20%	8,67%
H	12,65 ^g	20,35 ^d	8,68 ^f	41,67	30,36%	48,84%	20,83%
I	4,96 ^d	5,32 ^{ab}	2,34 ^e	12,63	39,27%	42,12%	18,53%
J	1,00 ^b	2,23 ^a	-1,10 ^a	2,13	46,95%	104,69%	-51,64%
średnia	6,37	8,61	2,07 ^e	17,06	37,34%	50,47%	12,13%
SD	4,85	6,40	3,03 ^e	14,00	34,64%	45,71%	21,64%
W[%]	76,13%	74,35%	145,93%	82,09%			

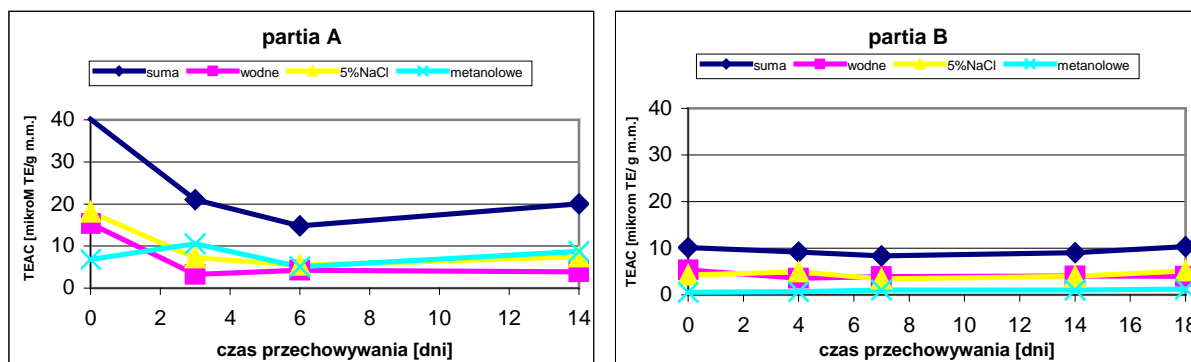
Dane w kolumnach oznaczone tą samą literą nie różnią się istotnie

Całkowita aktywność przeciwutleniająca (suma) oznaczona metodą TEAC nie była skorelowana ze zdolnościami redukującymi FRAP. Nie stwierdzono również korelacji dla aktywności poszczególnych frakcji oznaczonych obiema metodami (Zał. 2).

Wpływ przechowywania chłodniczego

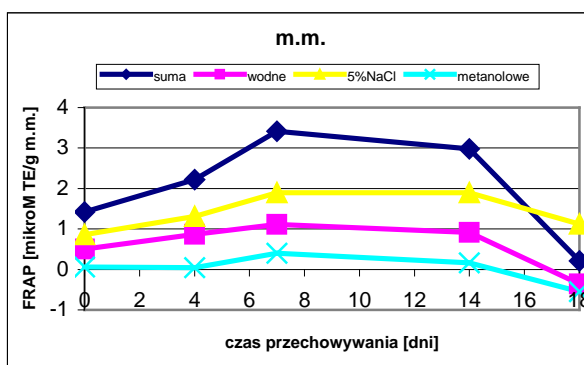
Przechowywaniu chłodniczemu poddano dwie partie pstrągów przechowywanych: jedną w postaci ryb całych i patroszonych, drugą tylko w postaci ryb patroszonych. Partie te różniły się wyjściową aktywnością przeciwutleniającą. Partia B miała 3-4 razy niższą aktywność sumy, frakcji wodnej i 5%NaCl a frakcji metanolowej aż 12 razy niższą (Zał. 3-4).

Podczas przechowywania ryb następował spadek aktywności przeciwutleniającej pstrągów (m.m.) najszybszy był w pierwszych 3-4 dniach i trwał do 6-7 dnia przechowywania chłodniczego. Po tym czasie aktywność przeciwutleniająca wzrastała, nie osiągając jednak w okresie przydatności do spożycia (14 dni). aktywności próby początkowej Aktywność przeciwutleniająca przeliczona na s.m. miała nieco inny przebieg (Rys. 9). Zmiany frakcji 5%NaCl i wodnych przebiegały podobnie jak sumy, natomiast aktywność frakcji metanolowych w trakcie przechowywania ulegała niewielkim wzrostom (Rys. 9).



Rysunek 9 Aktywności przeciwutleniająca frakcji i sumy frakcji podczas chłodniczego przechowywania pstrągów

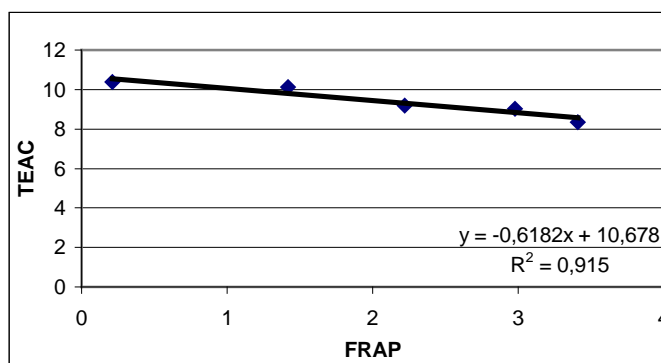
Zdolność redukującą oznaczano w pstrągach partii B wzrastała do 7 dnia w okresie przydatności do spożycia – 14 dni wzrastała i utrzymywała się na poziomie przekraczającym wyjściową zdolność redukującą. Wzrost ten dotyczył wszystkich frakcji. Po tym czasie następował wyraźny spadek zdolności redukujących, aż do wartości ujemnych, czyli uzyskania przez badane tkanki właściwości utleniających (Rys.10).



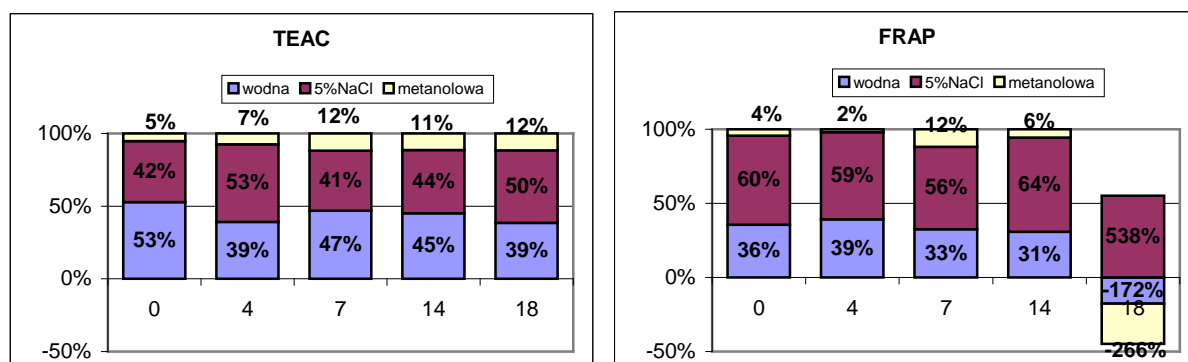
Rysunek 10 Zdolność redukująca frakcji i sumy frakcji podczas chłodniczego przechowywania pstrągów tęczowych partii B w przeliczeniu na mokłą i suchą masę

Jak wynika z rys. 11 zmiany aktywności przeciwutleniającej TEAC i zdolności redukującej FRAP w czasie przechowywania chłodniczego były od siebie odwrotnie zależne – spadek aktywności przeciwutleniającej pociągał za sobą wzrost zdolności redukującej (Rys. 11).

Inny był także udział poszczególnych frakcji w sumie w przypadku TEAC i FRAP (Rys.12).



Rysunek 11 Zależności między wynikami TEAC i FRAP w czasie chłodniczego przechowywania [μ M TE/ g m.m lub s.m.]



Rysunek 12 Udziały frakcji w sumie aktywności przeciwutleniającej mierzonej metodami TEAC i FRAP w czasie przechowywania chłodniczego

Wpływ sposobu opracowania przed przechowywaniem chłodniczym

Porównano również w jaki sposób rodzaj opracowania przed przechowywaniem chłodniczym (ryby całe i ryby patroszone z głowami) wpływa na aktywność przeciwutleniającą pstrągów po przechowywaniu chłodniczym.

Po trzech dniach przechowywania ryby patroszone straciły ok. połowę początkowej sumy aktywności przeciwutleniającej, natomiast ryby całe aż trzy czwarte tej wartości. W kolejnych trzech dniach przechowywania suma aktywności przeciwutleniających pstrągów patroszonych w dalszym ciągu spadała i ostatecznie zatrzymała się na poziomie ok.40% wartości wyjściowej, podczas gdy suma aktywności pstrągów przechowywanych w całości uległa wzrostowi. Po 14 dniach przechowywania różnice między sumą aktywności ryb przechowywanych w obu postaciach zatarły się i pozostały na poziomie ok. 50% wartości początkowej.

Różnice w zależności od sposobu opracowania w pewnym stopniu mogły być spowodowane odmiennymi zmianami masy w czasie przechowywania, ponieważ po przeliczeniu wyników na s.m. różnice między sposobami opracowania nie były tak duże jak w m.m.. Największe różnice dotyczyły frakcji metanolowych (Tab.15).

Tabela 15 Aktywność przeciwutleniająca pstrągów przechowywanych chłodniczo w postaci ryb całych i patroszonych [$\mu\text{M TE/g m.m. i s.m}$]

TEAC [$\mu\text{M TE m.m.}$]					TEAC [$\mu\text{M TE s.m.}$]				
0 dni					0 dni				
	suma	wodna	5%NaCl	metanolowa		suma	wodna	5%NaCl	metanolowa
Patr	40,17	15,34 ^A	18,03 ^A	6,80 ^A	Patr	134,48	51,36 ^A	60,35 ^A	22,76 ^A
Cały	40,17	15,34 ^A	18,03 ^A	6,80 ^A	Cały	134,48	51,36 ^A	60,35 ^A	22,76 ^A
Patr/Cały	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%	Patr/Cały	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%
3 dni					3 dni				
	suma	wodna	5%NaCl	metanolowa		suma	wodna	5%NaCl	metanolowa
Patr	21,06	3,30 ^B	7,21 ^A	10,55 ^B	Patr	53,86	8,44 ^A	18,44 ^A	26,98 ^B
Cały	10,95	2,27 ^A	6,73 ^A	1,95 ^A	Cały	42,63	8,84 ^A	26,18 ^B	7,61 ^A
Patr/Cały	52,02%	68,84%	93,33%	18,53%	Patr/Cały	79,15%	104,73%	142,00%	28,19%
6 dni					6 dni				
	suma	wodna	5%NaCl	metanolowa		suma	wodna	5%NaCl	metanolowa
Patr	14,78	4,26 ^A	5,44 ^A	5,08 ^A	Patr	51,19	14,75 ^A	18,85 ^B	17,59 ^A
Cały	18,14	5,76 ^B	4,85 ^A	7,53 ^B	Cały	63,18	20,07 ^B	16,88 ^A	26,23 ^B
Patr/Cały	122,71%	135,34%	89,00%	148,25%	Patr/Cały	123,42%	136,12%	89,51%	149,11%
14 dni					14 dni				
	suma	wodna	5%NaCl	metanolowa		suma	wodna	5%NaCl	metanolowa
Patr	20,05	3,88 ^A	7,40 ^B	8,77 ^A	Patr	70,91	13,73 ^A	26,18 ^B	31,00 ^A
Cały	19,70	4,53 ^A	6,48 ^A	8,69 ^A	Cały	68,80	15,82 ^B	22,63 ^A	30,34 ^A
Patr/Cały	98,22%	116,67%	87,51%	99,09%	Patr/Cały	97,02%	115,26%	86,45%	97,89%

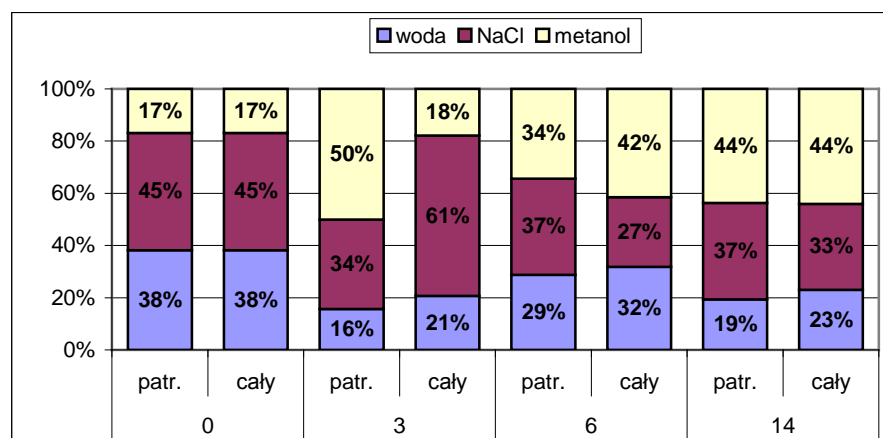
Dane w kolumnach oznaczone tą samą literą nie różnią się istotnie

Udział frakcji w sumie aktywności przeciwutleniających różnił się zarówno w zależności od czasu przechowywania chłodniczego jak i sposobu opracowania przed przechowywaniem (Rys. 13).

Udziały frakcji metanolowych miały większy wpływ na sumę aktywności przeciwutleniającej w pstrągach patroszonych. W czasie przechowywania udział frakcji metanolowych w sumie aktywności przeciwutleniających wzrastał: w pstrągach patroszonych od 3 a w całych od 6 dnia. Frakcje wodne w czasie przechowywania chłodniczego miały mniejszy wpływ na sumę aktywności przeciwutleniającej niż w próbie wyjściowej, przy czym w rybach patroszonych był on mniejszy niż w rybach całych.

Frakcje NaCl miały mniejszy udział w aktywności przeciwutleniającej od 3 dnia przechowywania w rybach patroszonych i od 6 dnia w przypadku ryb całych w stosunku do

próby wyjściowej. Odmienne niż w przypadku frakcji wodnych frakcje NaCl ryb patroszonych miały większy wpływ na sumę aktywności przeciwutleniającej niż w rybach całych (Rys.13).



Rysunek 13 Udziały frakcji w sumie aktywności przeciwutleniających w czasie przechowywania chłodniczego pstrągów patroszonych i całych [%]

Śledzie bałtyckie

Suma aktywności przeciwutleniającej badanych śledzi wynosiła ok. 7μM TE/g m.m., czyli mniej więcej tyle ile średnia aktywność pstrągów tęczowych, natomiast zdolność redukująca była najwyższa ze wszystkich badanych tkanek zwierzęcych i wyniosła 19,93μM TE.g m.m. (Tab.16 i 17).

Udział poszczególnych frakcji w sumie był podobny w obydwu testach. Największy wpływ na całkowitą aktywność przeciwutleniającą i zdolność redukującą miała frakcja 5%NaCl, następnie wodna a najmniejszy frakcja metanolowa (Tab.16 i 17). Aktywność przeciwutleniająca TEAC była istotnie zależna od zdolności redukującej FRAP ($r=0,97$, $p<0,05$).

Tabela 16 Aktywność przeciwutleniająca TEAC frakcji i sumy frakcji śledzi bałtyckich [μMTE/g m.m.] oraz zawartość białka i azotu aminowego [g/100g]

	Frakcja			suma
	wodna	NaCl	metanolowa	
TEAC [μM Te/ g m.m.]	2,17±0,17	4,2±0,10	0,62±0,02	6,99
udział % w sumie	31,05%	60,05%	8,89%	
białko [g/100g]	6,97±0,57	15,14±0,89		
azot aminowy [g/100g]	0,04±0,01	0,11±0,01	0,09±0,01	

W przeliczeniu na białko bardziej aktywne wydawały się być związki azotowe rozpuszczalne w wodzie (Zał. 5).

Tabela 17 Zdolność redukująca FRAP śledzi bałtyckich [$\mu\text{MTE/g m.m.}$]

Frakcja				
	wodna	NaCl	metanolowa	suma
średnia	8,50±0,05	10,19±0,10	1,24±0,06	19,93
udział % w sumie	42,67%	51,13%	6,20%	

Zdolność redukująca przeliczona na białka rozpuszczalne w wodzie i związki aminowe była około dwukrotnie wyższa niż na rozpuszczalne w NaCl (Zał. 6), mimo tego frakcja NaCl miała największy udział w całkowitej aktywności przeciwutleniającej śledzi (Tab.18).

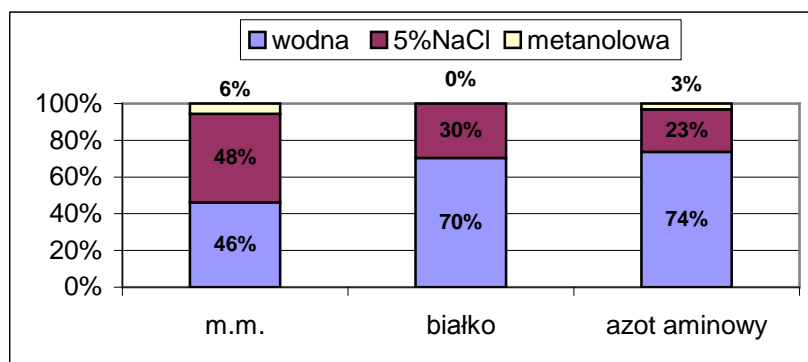
Dorsze bałtyckie

Całkowita aktywność przeciwutleniająca dorszy bałtyckich była stosunkowo wysoka i wynosiła prawie $13\mu\text{M TE/ g m.m.}$. Podobnie jak w przypadku śledzi bałtyckich najwyższą aktywność przeciwutleniającą ze wszystkich frakcji miała frakcja NaCl, następnie wodna a najniższą metanolowa. Udział frakcji wodnej i NaCl w sumie aktywności przeciwutleniającej był podobny i wyniósł ok.47% natomiast frakcji metanolowej niespełna 6% (Tab.18).

Tabela 18 Aktywność przeciwutleniająca TEAC dorszy bałtyckich [$\mu\text{MTE/g m.m.}$] oraz zawartość białka i azotu aminowego [g/100g]

Frakcja				
	wodna	NaCl	metanolowa	suma
TEAC [$\mu\text{MTE/g m.m.}$]	5,99±0,11	6,24±0,09	0,73±0,02	12,96
udział % w sumie	46,25%	48,13%	5,62%	
białko [g/100g]	5,51±0,34	13,6±0,53		
azot aminowy [g/100g]	0,04±0,01	0,13±0,02	0,11±0,01	

Aktywność przeciwutleniająca przeliczona na związki azotowe wyekstrahowane wodą była 2-3 razy wyższa niż rozpuszczalnych w NaCl. Podobnie jak w przypadku śledzi związków przeciwutleniających rozpuszczalnych w NaCl było na tyle dużo, że zapewniły tej frakcji przewagę w udziale w całkowitej aktywności przeciwutleniającej (Rys.14, Zał. 6



Rysunek 14 Udziały frakcji w sumie aktywności przeciwutleniającej doryszy bałtyckich przeliczonej na m.m., białko i azot aminowy

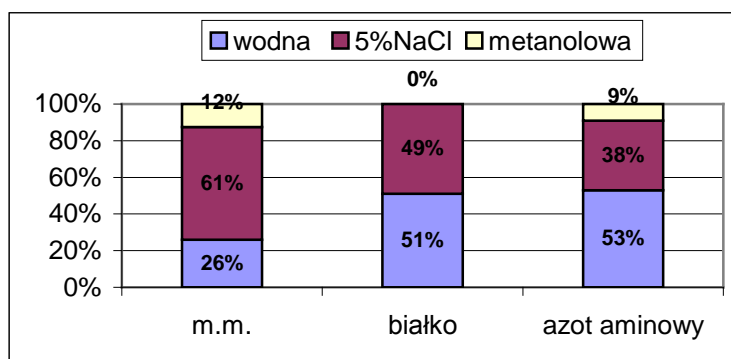
Zdolność redukująca doryszy bałtyckich była niska: wynosiła $3,81\mu$ TE/g m.m. i była istotnie zależna od aktywności przeciwutleniającej TEAC ($r=0,93$, $p<0,05$).

Najwyższe wartości osiągnęła we frakcji 5%NaCl - prawie 2,5 razy wyższe niż frakcji wodnej oraz prawie 5 razy wyższe od frakcji metanolowej (Tab.19).

Tabela 19 Zdolność redukująca FRAP frakcji i sumy frakcji doryszy bałtyckich [μ MTE/g m.m.]

Fracja				
	wodna	NaCl	metanolowa	suma
średnia	$0,99\pm 0,07$	$2,35\pm 0,23$	$0,48\pm 0,01$	3,81
udział % w sumie	26,04%	61,50%	12,47%	

Zdolność redukująca związków rozpuszczalnych w wodzie przeliczona na białko, a zwłaszcza związki aminowe była wyższa o ok. 20% od ekstrahowanych NaCl. Związków tych było jednak mniej, co skutkowało osiągnięciem przez frakcję NaCl wyższego udziału w całkowitej zdolności redukującej doryszy (Rys. 15, Zał. 7).



Rysunek 15 Udziały frakcji w sumie zdolności redukującej doryszy bałtyckich przeliczonej na m.m., białko i azot aminowy

Łososie atlantyckie

Suma aktywności przeciwutleniającej łososi była podobna jak dorszy i wynosiła ok. 13 μ M TE/ g m.m., natomiast zdolność redukująca była na średnim poziomie i wyniosła nieco ponad 2 μ M TE/ g m.m. (Tab.21 i 22). Współczynnik korelacji między wynikami oznaczeń TEAC i FRAP był wysoce istotny statystycznie ($r=1,00$, $p<0,05$).

Największy udział w aktywności przeciwutleniającej TEAC i zdolności redukującej FRAP miała podobnie jak we wcześniej opisanych rybach frakcja 5%NaCl, następnie wodna a najniższy frakcja metanolowa, stanowiąca mniej niż 10% sumy, ale także ich aktywność była wyższa (Tab.20 i 21). Dane na rys. 16 potwierdzają zależność aktywności przeciwutleniającej od zdolności redukującej łososi atlantyckich.

Tabela 20 Aktywność przeciwutleniająca TEAC łososi atlantyckich [μ MTE/g m.m.] oraz zawartość białka i azotu aminowego

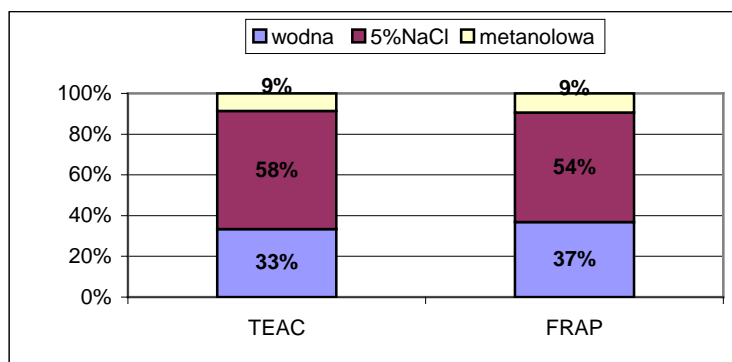
Frakcja				
	wodna	NaCl	metanolowa	suma
TEAC [μ M TE/ g m.m.]	4,34 \pm 0,05	7,55 \pm 0,42	1,13 \pm 0,09	13,02
udział % w sumie	33,31%	58,00%	8,69%	
białko [g/100g]	6,76 \pm 0,41	8,73 \pm 1,01		
azot aminowy [g/100g]	0,04 \pm 0,01	0,04 \pm 0,01	0,04 \pm 0,01	

Aktywność przeciwutleniająca związków azotowych rozpuszczalnych w NaCl była prawie dwukrotnie wyższa niż ekstrahowanych wodą. Udział frakcji NaCl był również większy w związku z tym aktywność przeciwutleniająca frakcji NaCl dominowała w całkowitej aktywności przeciwutleniającej (Rys. 16, Zał. 9).

Zdolność redukująca wyrażona w rozpuszczalnych w wodzie „białkach” była o 13%, a w związkach azotowych aminowych o ok. 50% niższa od rozpuszczalnych w 5%NaCl. Jedynie zdolność redukująca przeliczona na związki azotowe była skorelowana ze zdolnościami redukującymi wyrażonymi w m.m. (Zał. 10).

Tabela 21 Zdolność redukująca FRAP łososi [μ MTE/g m.m.]

Frakcja				
	wodna	NaCl	metanolowa	suma
średnia	0,87 \pm 0,04	1,27 \pm 0,14	0,22 \pm 0,01	2,36
udział % w sumie	36,81%	53,74%	9,45%	



Rysunek 16 Udziały frakcji w sumie aktywności przeciwutleniającej i zdolności redukującej łososi

4.2.2 Mięso wieprzowe

Badane partie mięsa wieprzowego różniły się aktywnością przeciwutleniającą a także znaczeniem grup związków składających się na tę aktywność (Rys.17). Całkowita aktywność przeciwutleniająca schabów wieprzowych mieściła się w zakresie 11-14 $\mu\text{MTE/g m.m.}$ Największy wpływ na sumę miała frakcja 5%NaCl, następnie frakcja wodna i metanolowa (Rys.17). Współczynnik zmienności w zależności od partii mięsa wyniósł 15% Najbardziej zmienną frakcją schabów wieprzowych była frakcja metanolowa i NaCl, najmniej wodna, odpowiednio ok. 28, 24 i 17% (Tab.22).

Frakcje metanolowe w schabach wieprzowych miały większy wpływ na sumę aktywności przeciwutleniającej niż w opisanych wcześniej rybach. Mieścił się on w zakresie 14-30%.

Tabela 22 Aktywność przeciwutleniająca TEAC mięsa wieprzowego mierzona metodą [$\mu\text{MTE/g m.m.}$]

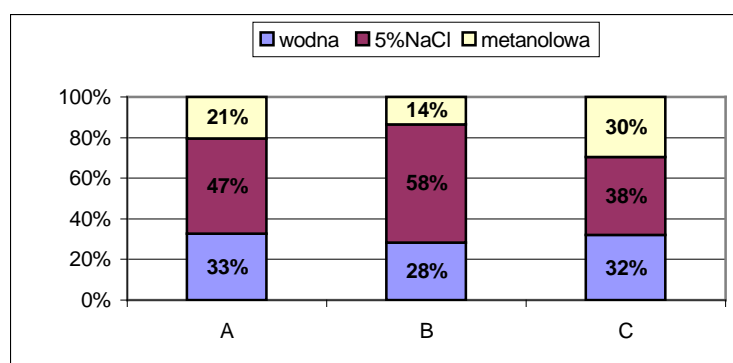
partia	Fracja			suma
	woda	5%NaCl	metanol	
A	4,67 ^B	6,64 ^B	2,92 ^B	14,23
B	3,37 ^A	6,91 ^B	1,62 ^A	11,90
C	3,37 ^A	4,03 ^A	3,11 ^B	10,51
średnia	3,80	5,86	2,55	12,21
SD	0,66	1,39	0,71	1,88
W[%]	17,24%	23,81%	27,91%	15,40%

Podobnie jak w poprzednio omówionych surowcach zwierzęcych frakcja NaCl zdominowała aktywność przeciwutleniającą, głównie ze względu na większą zawartość związków rozpuszczalnych o charakterze przeciwutleniaczy a nie ich „siłę” przeciwutleniającą (Tab.22-23, Zał 11).

Tabela 23 Zawartość białka i azotu aminowego we frakcjach schabów [g/g m.m.]

Fracja	zawartość [g/100g m.m.]					
	białko			azot niebiałkowy		
	A	B	C	A	B	C
wodna	3,18	5,17	1,84	0,54	0,79	0,54
5%NaCl	8,59	8,35	3,23	0,88	0,88	0,64
metanolowa				0,40	0,44	0,41
suma	11,76	13,52	5,07	1,82	2,10	1,59

A,B,C...- poszczególne partie



Rysunek 17 Udziały frakcji w sumie aktywności przeciwutleniającej schabów, A,B,C-partie

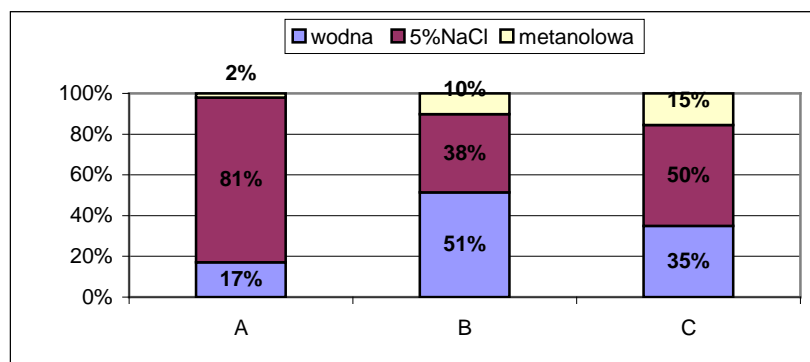
Aktywność przeciwutleniająca zależała istotnie od właściwości redukujących ($r=0,84$, $p<0,05$).

Zdolność redukująca badanych partii schabów zależała od pochodzenia surowca i była na poziomie od ok. 3 do 6 $\mu\text{MTE/g m.m.}$ (Tab.24). Poszczególne partie wieprzowiny różniły się także zdolnościami redukującymi związków rozpuszczalnych w wodzie i NaCl. (Rys.18, Zał. 12).

Tabela 24 Zdolność redukująca FRAP frakcji i sumy frakcji trzech partii schabów wieprzowych [$\mu\text{MTE/g m.m.}$]

Fracja				
partia	woda	5%NaCl	metanol	suma
A	0,96 ^A	4,55 ^B	0,12 ^A	5,63
B	1,58 ^A	1,18 ^A	0,31 ^A	3,07
C	1,13 ^A	1,60 ^A	0,50 ^A	3,24
średnia	1,22	2,44	0,31	3,98
SD	0,33	1,61	0,17	1,43
W[%]	27,04%	65,70%	54,83%	36,00%

Dane w kolumnach oznaczone tą samą literą nie różnią się istotnie, test Tukey'a, $p<0,05$
A,B,C...- poszczególne partie



Rysunek 18 Udziały frakcji w sumie zdolności redukującej trzech partii schabów wieprzowych, A,B,C-partie

4.2.3 Mięso wołowe

Całkowita aktywność przeciwutleniająca badanych rostbefów wołowych była podobna do mięsa wieprzowego i wynosiła prawie $14\mu\text{M TE/ g m.m.}$. Największy wpływ na nią miała (podobnie jak we wszystkich wcześniej opisanych tkankach) frakcja NaCl, która stanowiła prawie połowę, nieco mniejszy wpływ miała frakcja wodna a metanolowa pokrywała niespełna 12% sumy aktywności przeciwutleniającej (Tab.25).

Tabela 25 Aktywność przeciwutleniająca TEAC mięsa wołowego

	Frakcja			
	wodna	5%NaCl	metanolowa	suma
średnia	$5,61\pm 0,12$	$6,62\pm 0,17$	$1,61\pm 0,07$	13,83
udział % w sumie	40,56%	47,83%	11,61%	

Z danych z tabel 25-26 wynika, że w rostbefach wołowych podobnie jak w większości badanych wcześniej tkanek związki białkowe frakcji NaCl miały niższą aktywność przeciwutleniającą niż frakcji wodnej. Mimo tego dominowały w sumie aktywności przeciwutleniających w tkance, ze względu na wyższą zawartość wyekstrahowanych białek. Podobna tendencja dotyczyła również związków rozpuszczalnych w metanolu

Tabela 26 Zawartość białka i aktywność przeciwutleniająca TEAC w przeliczeniu na białko

	Białko [g/100g]	TEAC [$\mu\text{M/ g białka}$]
wodna	6,09	92,16
5%NaCl	7,43	89,05
metanolowa		
suma	13,52	181,21

Aktywność przeciwutleniająca wołowiny istotnie zależała od zawartości związków redukujących ($r=0,98$, $p<0,05$).

Suma zdolności redukującej mięsa wołowego była stosunkowo wysoka ok. 4 μ MTE/g m.m. Składały się na nią w takim samym stopniu frakcja NaCl i wodna, natomiast wpływ frakcji metanolowej był nieistotny - wyniósł niespełna 1% (Tab.27). W przeliczeniu na białko nieco wyższą zdolność redukującą miała frakcja wodna (Zał. 13).

Tabela 27 Zdolność redukująca FRAP rosbefów wołowych [μ MTE/g m.m.]

Frakcja				
	wodna	5%NaCl	metanolowa	suma
średnia	1,70 \pm 0,02	1,84 \pm 0,01	0,03 \pm 0,01	3,58
udział % w sumie	47,64%	51,43%	0,92%	

4.2.4 Mięso drobiowe

Przebadano dwie partie mięśni piersiowych i jedną partię mięśni udowych kurcząt.

Całkowita aktywność przeciwutleniająca mięśni piersiowych wyniosła średnio 14 μ MTE/g m.m., ale różniła się istotnie między partiami (Tab.28). Wpływ na tę różnicę miały frakcja NaCl oraz frakcja wodna.

Największy udział w sumie aktywności przeciwutleniającej odmiennie niż we wcześniej badanych surowcach zwierzęcych miała frakcja wodna ok. 50-60%, następnie NaCl ok. 30-40% a najmniejszy frakcja metanolowa ok. 15% (Tab.28, Rys.19).

Porównując natomiast aktywność przeciwutleniającą mięśni udowych i piersiowych kurcząt pochodzących z tej samej partii można zauważyć, że mięśnie udowe miały aktywność niższą o ok. 13% niż piersiowe, zaś udział poszczególnych frakcji w sumie był podobny jak w mięśniach piersiowych (Tab.28 i 29, Rys. 19). Aktywność przeciwutleniająca frakcji wodnej i NaCl mięśni udowych była istotnie niższa niż piersiowych natomiast metanolowych istotnie wyższa (Tab.28 i 29).

Tabela 28 Aktywność przeciwutleniająca TEAC mięśni piersiowych kurcząt [μ MTE/g m.m.]

Frakcja				
partia	woda	5%NaCl	metanol	suma
A	7,66 ^B	6,48 ^B	2,67 ^B	16,82
B	6,40 ^A	3,32 ^A	1,73 ^A	11,45
średnia	7,03	4,90	2,20	14,13
SD	0,71	1,73	0,52	2,68
W[%]	10,13%	35,40%	23,47%	18,97%

Dane w kolumnach oznaczone tą samą literą nie różnią się istotnie, test Tukey'a, $p < 0,05$

Tabela 29 Aktywność przeciwutleniająca TEAC mięśni udowych kurcząt partii B [$\mu\text{MTE/g m.m.}$]

Frakcja				
	wodna	5%NaCl	metanolowa	suma
średnia	5,33±0,01	2,77±0,04	1,87±0,02	9,97
udział % w sumie	53,47%	27,80%	18,73%	

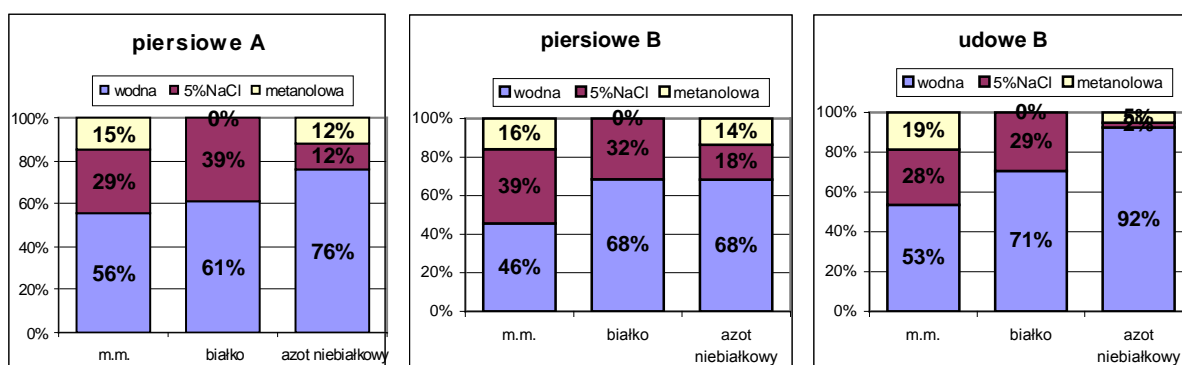
Aktywność przeciwutleniająca przeliczona na związki białkowe rozpuszczalne w wodzie i niebiałkowe związki azotowe wyekstrahowane z mięśni kurcząt była wyższa niż rozpuszczalnych w 5%NaCl. W przypadku związków białkowych różnica ta wynosiła 1,6 i 2,4 razy, dla mięśni piersiowych i udowych, a dla związków niebiałkowych ok. 4 i aż 3 8 razy, odpowiednio. Aktywność związków rozpuszczalnych w metanolu w przeliczeniu na m.m. była wyższa niż w przeliczeniu na azot niebiałkowy, co świadczyć może o tym, że nie tylko tego typu związki odpowiadają za aktywność przeciwutleniającą frakcji metanolowej mięśni kurcząt (Tab.28-31, Rys. 19).

Tabela 30 Zawartość białka i azotu aminowego we frakcjach kurcząt w zależności od rodzaju mięśni

Frakcja						
	białko			azot niebiałkowy		
	piersiowe A	piersiowe B	udowe B	piersiowe A	piersiowe B	udowe B
wodna	3,75	5,15	4,06	2,51	3,26	0,57
5%NaCl	3,08	9,46	5,05	8,06	10,51	10,17
metanolowa				4,28	5,69	3,16

Tabela 31 Aktywność przeciwutleniająca mięśni piersiowych i udowych w przeliczeniu na białko i azot niebiałkowy [$\mu\text{M TE/g}$]

Frakcja	TEAC [$\mu\text{M TE/ g m.m.}$]					
	białko			azot niebiałkowy		
	piersiowe A	piersiowe B	udowe B	piersiowe A	piersiowe B	udowe B
wodna	170,45	148,83	131,33	255,17	234,95	1046,13
5%NaCl	107,80	68,53	54,90	41,17	61,67	27,24
metanolowa				40,47	46,96	59,00
suma	278,25	217,36	186,23	336,81	343,58	1132,38



Rysunek 19 Udziały frakcji w sumie aktywności przeciwutleniającej mięśni piersiowych i udowych kurcząt w przeliczeniu na m.m., białko i Nnb

Właściwości redukujące miały istotny wpływ na aktywność przeciwutleniającą mięsa drobiowego, szczególnie w mięśniach piersiowych ($r=0,99$, $p<0,05$).

Zdolność redukująca mięśni piersiowych kurcząt była niska i nie przekraczała 1,70 $\mu\text{MTE/g}$ m.m. w zależności od badanej partii. Podobnie jak w TEAC całkowite właściwości redukujące uzależnione były przede wszystkim od frakcji wodnej (Rys. 20).

Różnice we właściwościach redukujących między partiami kurcząt wynikały z różnic frakcji NaCl, ale także metanolowych (Tab.32).

Całkowite właściwości redukujące mięśni udowych kurcząt były jeszcze niższe od piersiowych i zależały prawie całkowicie od związków rozpuszczalnych w wodzie (Tab.33).

Tabela 32 Zdolność redukująca frakcji i sumy frakcji dwóch partii mięśni piersiowych kurcząt [$\mu\text{M TE/g}$ m.m.]

partia	Frakcja			
	woda	5%NaCl	metanol	suma
A	0,72 ^A	0,74 ^B	0,20 ^A	1,65
B	0,74 ^A	0,20 ^A	0,25 ^B	1,19
średnia	0,73	0,47	0,23	2,84
SD	0,03	0,30	0,03	0,33
W[%]	4,27%	63,41%	13,96%	11,45%

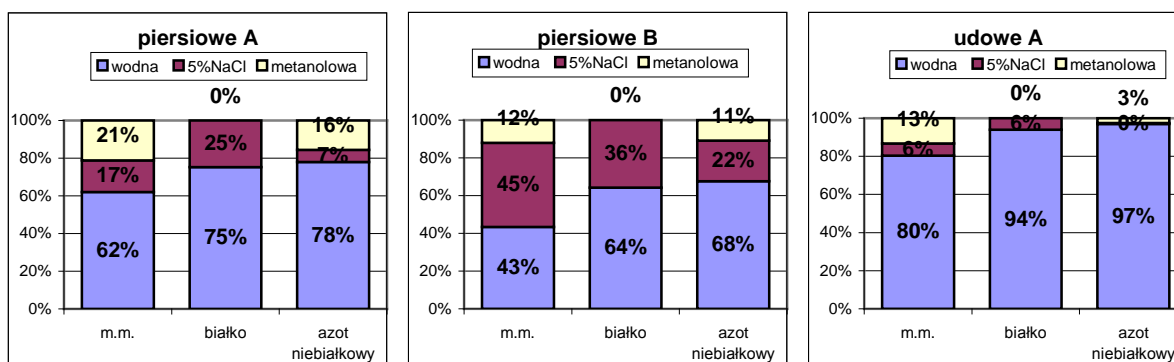
Tabela 33 Zdolność redukująca FRAP frakcji i sumy frakcji mięśni udowych kurcząt partii B [$\mu\text{MTE/g}$ m.m.]

	Frakcja			
	wodna	5%NaCl	metanolowa	suma
średnia	1,04±0,02	0,08±0,02	0,17±0,01	1,29
udział % w sumie	80,41%	6,34%	13,25%	

Zdolność redukująca frakcji NaCl przeliczona na związki azotowe była niższa niż wodnych, przy czym wyraźniejsze różnice dotyczyły mięśni udowych (Tab.34).

Tabela 34 Zdolność redukująca mięśni piersiowych i udowych kurcząt w przeliczeniu na białko i azot niebiałkowy

frakcja	FRAP [$\mu\text{M TE/ g m.m.}$]					
	białko			azot niebiałkowy		
	piersiowe A	piersiowe B	udowe A	piersiowe A	piersiowe B	udowe A
wodna	19,60	13,95	25,61	29,34	22,03	204,03
5%NaCl	6,46	7,79	1,62	2,47	7,01	0,81
metanolowa				5,85	3,51	5,42
suma	26,06	21,74	27,24	37,65	32,54	210,26



Rysunek 20 Udziały frakcji w zdolnościach redukujących w azocie niebiałkowym i białku [$\mu\text{M TE/g m.m.}$]

4.2.5 Aktywność przeciwutleniająca surowców zwierzęcych – podsumowanie

Badane surowce zwierzęce różniły się zarówno całkowitą aktywnością przeciwutleniającą, jak i aktywnością przeciwutleniającą poszczególnych frakcji (Tab.35, Zał. 12).

Aktywność przeciwutleniająca badanych surowców zwierzęcych mieściła się w zakresie od ok.7 do 17 $\mu\text{MTE/g m.m.}$, przy czym ryby obejmowały cały zakres od prawie 7 dla śledzi bałtyckich do 17 $\mu\text{MTE/g m.m.}$ dla pstrągów tęczowych hodowlanych (wartość średnia). Występowały jednak wyraźne różnice w aktywności przeciwutleniającej również w obrębie jednego gatunku, nawet w rybach hodowlanych od tego samego dostawcy. (Tab.35, Zał. 12).

Suma aktywności przeciwutleniającej zwierząt rzeźnych była bardziej stabilna niż ryb i oscylowała wokół 12 – 14 $\mu\text{MTE/g m.m.}$ (Tab.35).

Tabela 35 Aktywność przeciwutleniająca TEAC i zdolność redukująca FRAP wybranych surowców zwierzęcych [$\mu\text{M TE/g m.m.}$]

		TEAC	FRAP
ryby	Pstrąg – średnio	17,06 ± 14,00*	7,07 ± 5,59**
	Śledź	6,99	19,93
	Dorsz	12,96	3,82
	Łosoś	13,02	2,36
	X	12,51	8,30
	SD	4,15	8,00
	CV	33,17%	96,47%
zwierzęta rzeźne	Mięso wieprzowe - średnio	12,21 ± 1,67***	3,98 ± 0,26***
	Mięso wołowe	13,84	3,57
	Mięso drobiowe - średnio	12,05 ± 3,79***	1,38 ± 0,25***
	X	12,70	2,98
	SD	0,99	1,40
	CV	7,80%	46,96%
ogółem	X	12,59	6,02
	SD	2,99	6,38
	CV	23,75%	106,12%

* n=10

** n=7

*** n=3

Całkowita zdolność redukująca surowców zwierzęcych obejmowała zakres od ok. 1,4 do prawie 20 $\mu\text{MTE/g m.m.}$ Podobnie jak w TEAC wyraźniejsze różnice międzygatunkowe dotyczyły ryb. Średnia zdolność redukująca ryb była o ok. 2,5 razy wyższa niż tkanek zwierząt lądowych (Zał. 12).

Największy wpływ na aktywność przeciwutleniającą, poza mięsem kurcząt, miała frakcja NaCl, następnie wodna, a najmniejszy metanolowa. W mięśniach kurcząt frakcja wodna miała nieco wyższy wpływ na aktywność przeciwutleniającą niż frakcja NaCl.

W metodzie FRAP udziały frakcji w sumie zdolności redukującej były podobne jak w TEAC, z tym że frakcja metanolowa miała średnio prawie 2 razy mniejszy wpływ na zdolność redukującą niż aktywność przeciwutleniającą surowca. (Zał. 12).

4.3 Zmiany aktywności przeciwutleniającej pod wpływem obróbki cieplnej

4.3.1 Ryby

Pstrągi tęczowe

Przeprowadzono doświadczenie na temat wpływu obróbki cieplnej na aktywność przeciwutleniającą. Badania wykonano na dwóch partiach pstrągów, przeprowadzając obróbkę cieplną w takich samych warunkach.

Aktywność przeciwutleniająca ryb po obróbce cieplnej obniżyła się od ok. 35% do prawie 54% wartości początkowej (Rys.21, Tab.36). Zmiany zależały od rodzaju obróbki, a także różniły się w obu partiach pstrągów.

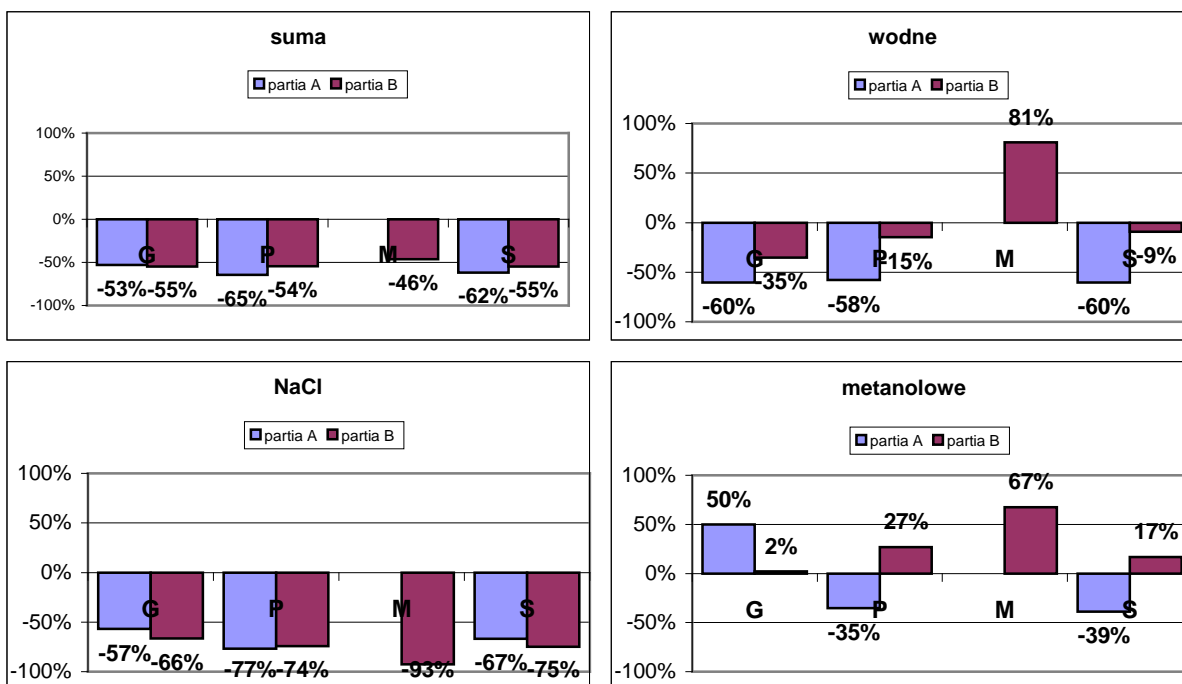
Partia B w przeciwieństwie do partii A wykazywała mniejsze straty i rodzaj stosowanej obróbki miał niewielki wpływ na aktywność przeciwutleniającą ryb, z tym że gotowanie mikrofalowe powodowało mniejsze straty niż pozostałe obróbki.

Przy przeliczeniu aktywności przeciwutleniającej na s.m. wszystkie rodzaje obróbek cieplnych poza pieczeniem powodowały spadek aktywności przeciwutleniającej o ok. 55-60% natomiast pieczenie aż o ok. 72 i 77% w zależności od partii (Tab.36).

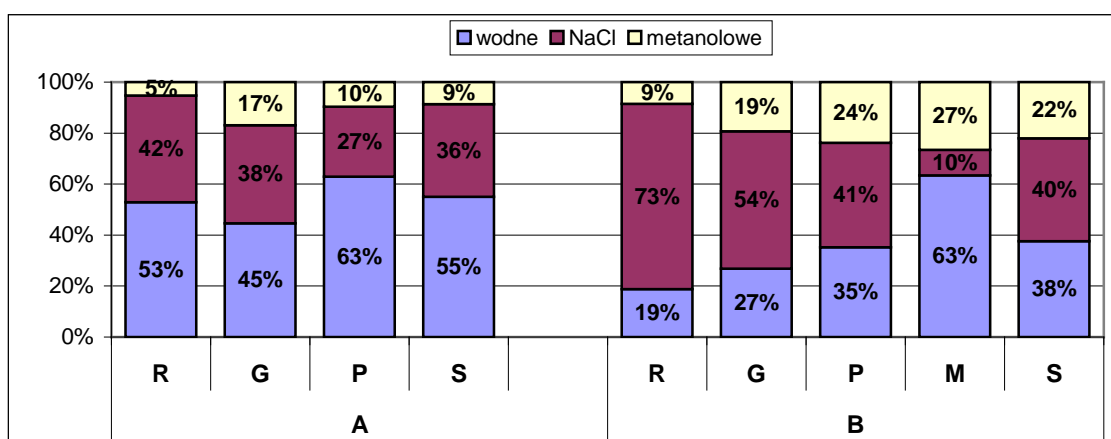
Tabela 36 Aktywność przeciwutleniająca pstrągów przed i po obróbce cieplnej [$\mu\text{M TE/g}$]

Partia A					Partia B					
m.m.	R	G	P	S	m.m.	R	G	P	M	S
suma	10,12	4,76	3,58	3,87	suma	10,42	4,72	4,75	5,59	4,72
wodne	5,35 ^b	2,12 ^a	2,25 ^a	2,12 ^a	wodne	1,96 ^b	1,27 ^a	1,67 ^b	3,55 ^c	1,78 ^b
NaCl	4,24 ^c	1,83 ^b	0,98 ^a	1,41 ^{ab}	NaCl	7,57 ^c	2,54 ^b	1,95 ^b	0,56 ^a	1,91 ^b
metanol	0,54 ^b	0,81 ^b	0,35 ^a	0,33 ^a	metanol	0,89 ^a	0,91 ^a	1,13 ^a	1,49 ^b	1,04 ^a
s.m.					s.m.					
suma	35,86	15,30	8,46	13,80	suma	36,92	15,73	10,47	15,67	16,77
wodne	18,95 ^c	6,83 ^b	5,32 ^a	7,59 ^b	wodne	6,94 ^b	4,22 ^a	3,68 ^a	9,93 ^c	6,31 ^b
NaCl	15,01 ^c	5,87 ^b	2,32 ^c	5,03 ^b	NaCl	26,81 ^d	8,48 ^c	4,29 ^b	1,58 ^a	6,77 ^c
metanol	1,90 ^b	2,59 ^b	0,82 ^a	1,19 ^a	metanol	3,16 ^{ab}	3,04 ^a	2,50 ^a	4,16 ^b	3,69 ^b

Dane w segmentach wierszy oznaczone tą samą literą a,b,c... nie różnią się istotnie
R-surowe, G-gotowane, P-pieczone, S-smażone



Rysunek 21 Zmiana aktywności przeciwutleniającej pstrągów w wyniku obróbek cieplnych w m.m. w stosunku do ryb surowych [%]



Rysunek 22 Udziały frakcji w sumie aktywności przeciwutleniającej dwóch partii pstrągów tęczowych surowych i po obróbce cieplnej [%], A,B – partie pstrągów

Wpływ obróbki cieplnej na zdolność redukującą FRAP mięśni pstrągów był jeszcze większy niż na aktywność przeciwutleniającą TEAC.

Wykazano istotną zależność między wynikami TEAC i FRAP ryb po obróbce cieplnej ($r=0,80$, $p<0,05$).

Zdolność redukująca badanych pstrągów po obróbce cieplnej zmieniła się w szerokim zakresie od 39% spadku do ponad 50% wzrostu tych zdolności, w zależności od partii ryb i rodzaju obróbki cieplnej.

Partia A charakteryzująca się bardzo niską ($1,42\mu\text{M TE/ g m.m.}$) - prawie ośmiokrotnie niższą aktywnością przeciwutleniającą niż partia B, po obróbce cieplnej wykazywała wzrost zdolności redukującej od ok.13 % do 52%. Partia B natomiast po każdej z obróbek cieplnych,

poza mikrofalowaniem, wykazywała spadek zdolności redukującej, jednak końcowa zdolność redukująca tej partii była nadal wyższa niż partii A. Wpływ na to miały odmienne w obu partiach ryb zmiany zdolności redukującej wszystkich frakcji (Tab.37, Rys.23).

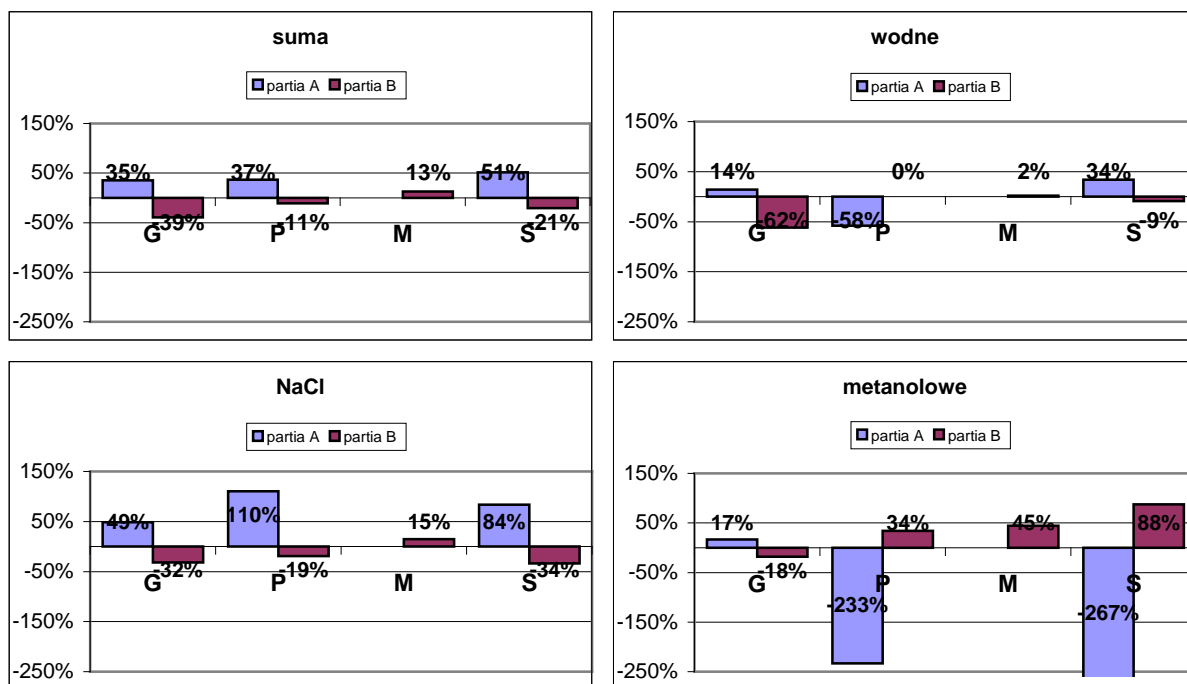
Przy uwzględnieniu strat wody tendencje opisane powyżej utrzymały się, z tym że próby pieczone partii A wykazały prawie dziewięcioprocentowy a mikrofalowane prawie jedenastoprocentowy spadek zdolności redukującej (Tab.37).

Najkorzystniejszymi obróbkami dla właściwości redukujących okazało się smażenie i mikrofalowanie. Największe straty wystąpiły podczas gotowania pstrągów (Tab.37, Rys. 23).

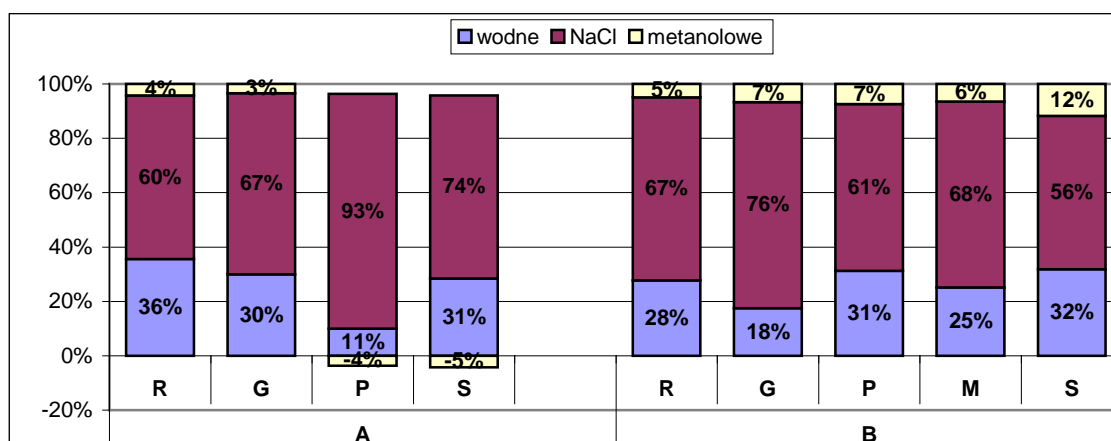
Tabela 37 Zdolność redukująca frakcji i sumy frakcji dwóch partii pstrągów tęczowych przed i po obróbce cieplnej [$\mu\text{M TE/g m.m. i s.m.}$]

partia A					partia B					
m.m.	R	G	P	S	m.m.	R	G	P	M	S
suma	1,42	1,92	1,94	2,15	suma	11,25	6,83	10,00	12,7	8,91
wodne	0,50 ^b	0,57 ^b	0,21 ^a	0,67 ^b	wodne	3,12 ^b	1,20 ^a	3,13 ^b	3,19 ^b	2,84 ^b
NaCl	0,86 ^a	1,28 ^b	1,81 ^c	1,58 ^c	NaCl	7,58 ^b	5,18 ^a	6,13 ^a	8,69 ^b	5,03 ^a
metanol	0,06 ^b	0,07 ^b	-0,08 ^a	-0,10 ^a	metanol	0,56 ^a	0,46 ^a	0,75 ^b	0,81 ^b	1,05 ^c
s.m.					s.m.					
suma	5,03	6,18	4,58	7,69	suma	39,85	22,77	22,02	35,57	31,64
wodne	1,79 ^b	1,85 ^b	0,49 ^b	2,39 ^b	wodne	11,05 ^c	3,99 ^a	6,89 ^b	8,94 ^b	10,09 ^c
NaCl	3,03 ^a	4,12 ^b	4,27 ^b	5,66 ^c	NaCl	26,84 ^c	17,25 ^b	13,49 ^a	24,34 ^c	17,84 ^b
metanol	0,21 ^b	0,21 ^b	-0,18 ^a	-0,36 ^a	metanol	1,97 ^a	1,52 ^a	1,64 ^a	2,28 ^a	3,71 ^b

Zdolność redukująca pstrągów po obróbce cieplnej podobnie jak surowych w większości zależała od frakcji NaCl, wodnej i w niewielkim stopniu od frakcji metanolowej (Rys.24), ale w rybach pieczonych partii A związki redukujące pochodziły w ponad 90% z białek miofibrylarnych, natomiast w partii B białka te odgrywały większą rolę w zdolnościach redukujących ryb gotowanych niż w rybach pieczonych a także niż w surowych (Rys. 24).



Rysunek 23 Zmiany zdolności redukującej pszągów wskutek obróbek cieplnych [%]



Rysunek 24 Udziały frakcji w sumie zdolności redukującej pszągów surowych i po obróbce cieplnej [%]

Wpływ przechowywania chłodniczego pszągów na zmiany aktywności przeciwutleniającej podczas obróbki cieplnej

Zbadano również w jaki sposób zmienia się aktywność przeciwutleniająca i zdolność redukująca pszągów poddawanych obróbkom cieplnym.

W I doświadczeniu pszagi przechowywano po uprzednim patroszeniu przez 18 dni, stosując po określonym czasie obróbki cieplne: gotowanie, pieczenie, smażenie. W doświadczeniu II pszagi przechowywano jako całe i patroszone przez 14 dni, stosując tylko gotowanie.

Doświadczenie I

Najwięcej z aktywności przeciwtleniającej po obróbce cieplnej traciły pstrągi świeże – próba wyjściowa: od ok. 53% do 64% (Tab.52). Następnie do 7 dnia przechowywania straty te były coraz mniejsze. Pstrągi przechowywane 14 dni miały spadki nieprzekraczające 30%, a pstrągi 18-dniowe w zakresie 6-47% aktywności próby surowej (Tab.38, Rys. 25).

Tabela 38 Aktywność przeciwtleniająca pstrągów w zależności od czasu chłodniczego przechowywania i rodzaju obróbki cieplnej [$\mu\text{M TE/ g m.m.}$]

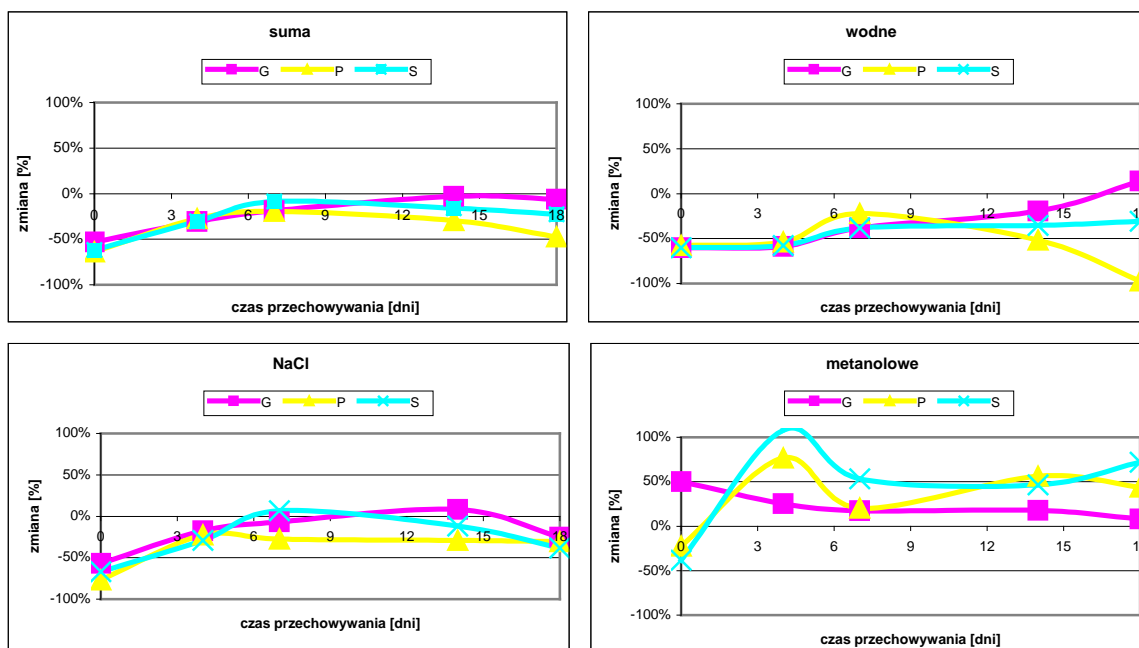
czas	suma				wodne			
[dni]	R	G	P	S	R	G	P	S
0	10,12	4,76	3,65	3,87	5,35 ^{bc}	2,12 ^{ab}	2,25 ^{ab}	2,12 ^{ab}
4	9,18	6,37	6,66	6,4	3,59 ^{ba}	1,48 ^{aA}	1,66 ^{aA}	1,51 ^{aA}
7	8,36	6,8	6,74	7,64	3,91 ^{cA}	2,41 ^{ab}	3,04 ^{bc}	2,41 ^{ab}
14	9,03	8,75	6,37	7,6	4,07 ^{dB}	3,28 ^{cC}	1,97 ^{aBC}	2,63 ^{bc}
18	10,37	9,73	5,45	8,04	4,00 ^{cB}	4,57 ^{dD}	0,12 ^{aA}	2,77 ^{bc}
	NaCl				metanolowe			
[dni]	R	G	P	S	R	G	P	S
0	4,24 ^B	1,83 ^{bA}	0,98 ^{aA}	1,41 ^{abA}	0,54 ^A	0,81 ^{bA}	0,42 ^{aA}	0,33 ^{aA}
4	4,90 ^C	4,04 ^{bc}	3,80 ^{abC}	3,47 ^{ab}	0,68 ^A	0,85 ^{aA}	1,20 ^{bb}	1,42 ^{cB}
7	3,45 ^A	3,22 ^{bb}	2,50 ^{ab}	3,69 ^{bb}	1,00 ^B	1,17 ^{ab}	1,20 ^{ab}	1,53 ^{bb}
14	3,94 ^B	4,27 ^{bc}	2,80 ^{ab}	3,47 ^{bb}	1,02 ^{BC}	1,21 ^{aBC}	1,60 ^{bc}	1,50 ^{bb}
18	5,16 ^C	3,85 ^{bc}	3,58 ^{ab}	3,18 ^{ab}	1,21 ^C	1,31 ^{ac}	1,75 ^{bc}	2,09 ^{cC}

Dane w segmentach wierszy oznaczone literami a,b,c...nie różnią się istotnie

Dane w segmentach kolumn oznaczone literami A,B,C...nie różnią się istotnie

Najkorzystniejszą obróbką, zachowującą maksimum aktywności przeciwtleniającej pstrągów przechowywanych chłodniczo w okresie przydatności do spożycia było gotowanie, najmniej korzystną pieczenie (Tab.38, Rys. 25). Gotowanie było najkorzystniejsze, mimo że do wywaru przeszło, w zależności od czasu chłodniczego przechowywania, 7-15% aktywności przeciwtleniającej gotowanych ryb (Tab.38, Rys. 25).

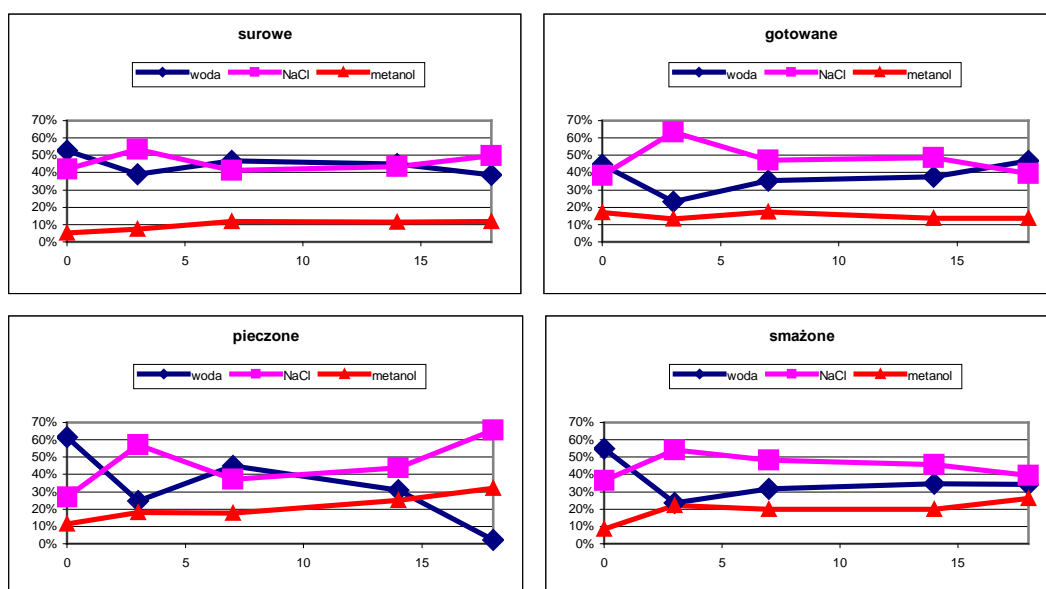
Wrażliwość termiczna związków przeciwtleniających zawartych w poszczególnych frakcjach zmieniała się podczas przechowywania ryb. Frakcje wodne najbardziej stabilne były między 6-7 a 14 dobą przechowywania chłodniczego, frakcje NaCl podobnie jak wodne a frakcje metanolowe różnie w zależności od sposobu obróbki cieplnej (Tab.38)



Rysunek 25 Zmiana aktywności przeciwutleniającej pstrągów wskutek obróbki cieplnej w zależności od czasu chłodniczego przechowywania surowca j [% w stosunku do ryby surowej]

Udziały frakcji w sumie aktywności przeciwutleniającej pstrągów zmieniały się w czasie przechowywania chłodniczego i w zależności od obróbek cieplnych.

Zaobserwowano odwrotne zależności między aktywnością przeciwutleniającą frakcji wodnych i NaCl, które razem miały ok. 75-95% udziałów w sumie aktywności przeciwutleniającej w zależności od rodzaju obróbki i czasu przechowywania surowca. Generalnie największe znaczenie niezależnie od rodzaju obróbki miała frakcja NaCl. W czasie przechowywania chłodniczego surowca wzrastało znaczenie frakcji metanolowej ryb surowych i po obróbce cieplnej. (Rys. 26).



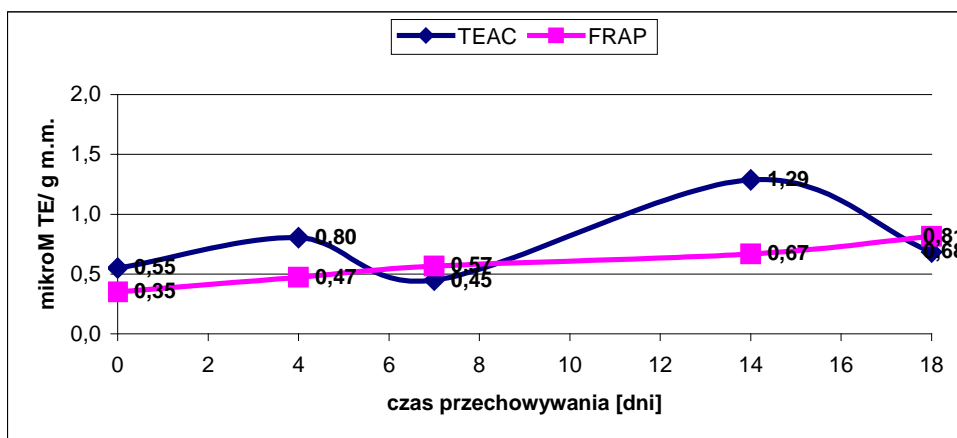
Rysunek 26 Zmiana udziału frakcji w sumie aktywności przeciwutleniającej pstrągów w zależności od czasu chłodniczego przechowywania i obróbki cieplnej [% w stosunku do ryby surowej]

Zdolność redukująca pstrągów w czasie chłodniczego przechowywania surowca ulegała większym zmianom niż aktywność przeciwutleniająca. Do 7 dnia przechowywania wzrastała zarówno w tkankach surowych, jak i po obróbkach. W tym czasie, poza pstrągami gotowanymi w 4 dniu przechowywania, zdolność redukująca była wyższa niż próby surowej. Wyższe wartości zawsze dotyczyły ryb smażonych. W 14 dniu przechowywania chłodniczego suma zdolności redukującej pstrągów gotowanych była zbliżona do ryb surowych, a z pozostałych obróbek nieco wyższa, zaś w dniu 18 wyższa dla każdej z obróbek niż dla prób surowych, ale dużo niższa niż dla obróbek w poprzednich dniach (Tab.39).

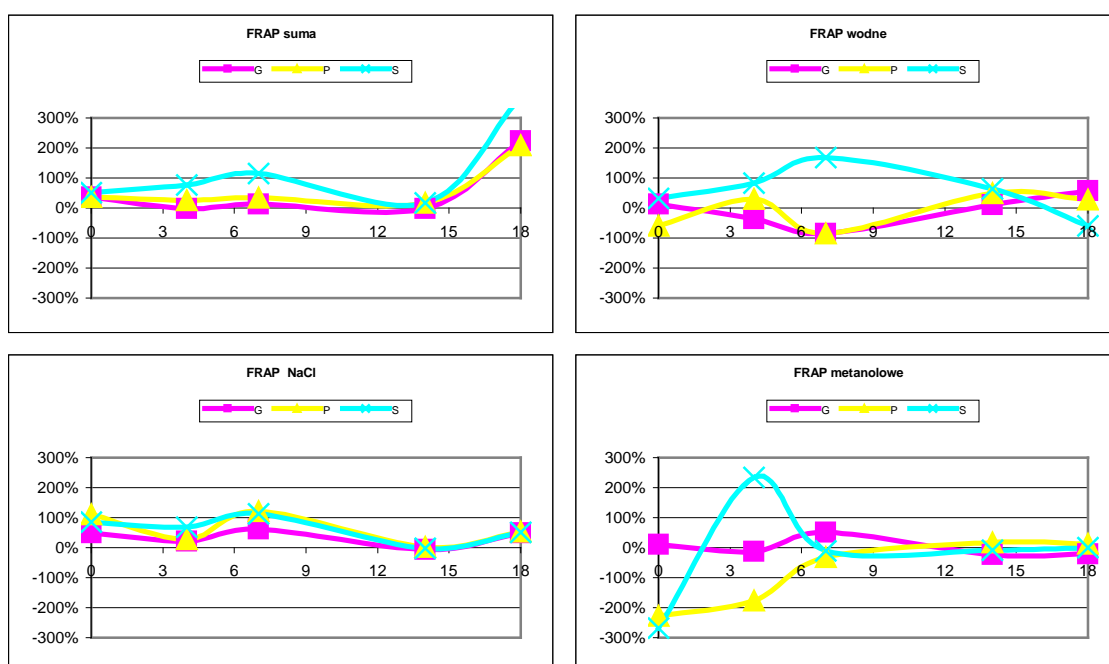
Tabela 39 Zdolność redukująca pstrągów w zależności od czasu chłodniczego przechowywania i rodzaju obróbki cieplnej [$\mu\text{M TE/ g m.m.}$]

czas przechowywania [dni]	suma				wodne			
	R	G	P	S	R	G	P	S
0	1,42	1,92	1,94	2,15	0,50 ^B	0,57 ^{bc}	0,21 ^{ab}	0,67 ^{bb}
4	2,22	2,16	2,78	3,94	0,87 ^C	0,55 ^{ac}	1,13 ^{bc}	1,59 ^{cc}
7	3,41	3,83	4,61	7,37	1,11 ^C	0,18 ^{ab}	0,16 ^{ab}	2,98 ^{bd}
14	2,98	2,89	3,49	3,5	0,92 ^C	1,01 ^{ad}	1,37 ^{bc}	1,50 ^{bc}
18	0,21	0,67	0,64	0,98	-0,36 ^A	-0,56 ^{aA}	-0,46 ^{aA}	-0,15 ^{ba}
	NaCl				metanolowe			
[dni]	R	G	P	S	R	G	P	S
0	0,86 ^A	1,28 ^{aA}	1,81 ^{ba}	1,58 ^{ba}	0,06 ^B	0,07 ^{bb}	-0,08 ^{ab}	-0,10 ^{bB}
4	1,31 ^C	1,58 ^{aB}	1,68 ^{aA}	2,21 ^{ba}	0,04 ^B	0,04 ^{bb}	-0,03 ^{ab}	0,15 ^{cC}
7	1,90 ^D	3,05 ^{aC}	4,18 ^{bb}	4,02 ^{bb}	0,40 ^D	0,60 ^{bc}	0,27 ^{aC}	0,36 ^{ad}
14	1,90 ^D	1,76 ^{aB}	1,93 ^{aA}	1,86 ^{aA}	0,17 ^C	0,13 ^{aB}	0,20 ^{aC}	0,15 ^{aC}
18	1,12 ^B	1,67 ^{aB}	1,72 ^{aA}	1,68 ^{aA}	-0,55 ^A	-0,44 ^{aA}	-0,62 ^{aA}	-0,55 ^{aA}

Najkorzystniejszym sposobem obróbki cieplnej z punktu widzenia zdolności redukującej ryb przechowywanych chłodniczo w okresie przydatności do spożycia (14 dni) było smażenie, najmniej korzystną gotowanie – być może na skutek wycieku związków o charakterze redukującym do wywaru (Rys.27). Do wywaru przeszło od 15 do 23% sumy zdolności redukującej, czyli prawie 2 razy więcej niż ubytki aktywności przeciwutleniającej TEAC (Tab.39, Rys.27).

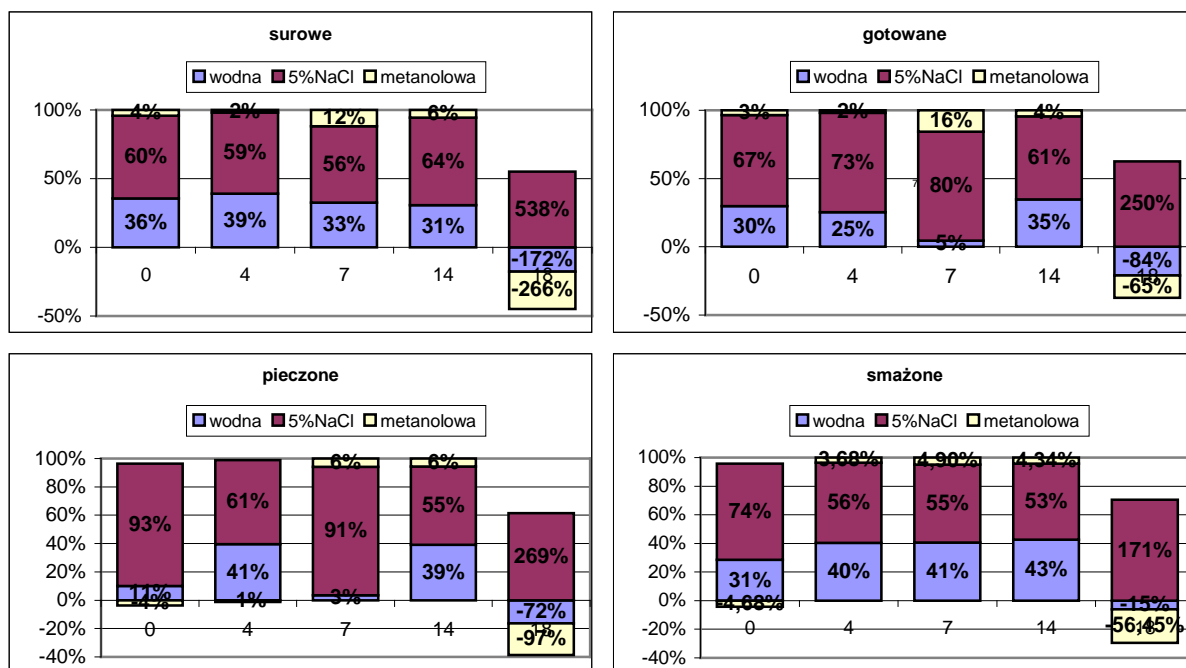


Rysunek 27 Aktywność przeciwutleniająca i zdolność redukująca wywarów z gotowania pstrągów w zależności od czasu chłodniczego przechowywania surowca przed gotowaniem [$\mu\text{M TE/g m.m.}$]



Rysunek 28 Zmiana zdolności redukującej pstrągów poddawanych obróbkom cieplnym w zależności od czasu chłodniczego przechowywania surowca j [% w stosunku do ryby surowej]

Udziały poszczególnych frakcji w sumie zdolności redukującej zmieniały się podczas chłodniczego przechowywania i od rodzaju obróbki cieplnej (Tab.39, Rys.29). Udziały frakcji wodnych i NaCl między 0 a 14 dniem były odwrotnie zależne. Największy wpływ na sumę zdolności redukującej miała frakcja NaCl. Frakcja metanolowa stanowiła co najwyżej 20% sumy zdolności redukującej, a od 14 dnia przechowywania w ogóle nie wykazywała właściwości redukujących podobnie jak frakcja wodna (Tab.40, Rys.29).



Rysunek 29 Udziały frakcji w sumie zdolności redukującej pstrągów w zależności od czasu chłodniczego przechowywania i obróbki cieplnej [%]

Nie zanotowano korelacji między wynikami TEAC i FRAP pstrągów poddawanych obróbką cieplną po czasie przechowywania chłodniczego.

Doświadczenie II

Sposób opracowania przed przechowywaniem chłodniczym miał wpływ na aktywność przeciwutleniającą pstrągów po gotowaniu. Aktywność przeciwutleniająca ryb przechowywanych w całości zmniejszała się mniej wyraźnie po obróbce cieplnej niż pstrągów przechowywanych jako ryby całe. Ryba gotowana z surowca przechowywanego w postaci ryby całej przez 3 dni miała nieco niższą aktywność przeciwutleniającą niż z ryby patroszonej, natomiast przy dłuższym składowaniu (od 6 dnia) korzystniej ze względu na aktywność przeciwutleniającą było przechowywać rybę w całości. Największy wpływ na to miały związki rozpuszczalne w wodzie i metanolu (Tab.40, Rys. 30).

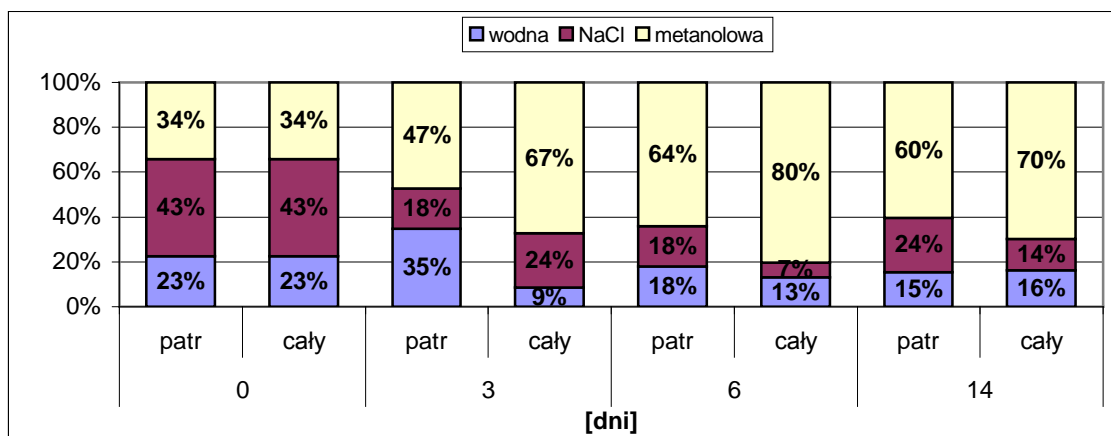
W tej partii pstrągów znaczący wpływ na aktywność przeciwutleniającą miała frakcja metanolowa, która stanowiła aż 34-80% podczas gdy we wcześniej opisywanych partiach nie przekraczała kilkunastu procent (Tab.40, Rys. 30).

Tabela 40 Aktywność przeciwutleniająca frakcji i sumy frakcji pstrągów w czasie chłodniczego przechowywania w zależności od sposobu opracowania przed przechowywaniem [$\mu\text{M TE/ g m.m.}$ lub s.m.]

m.m.	gotowane		zmiana po gotowaniu		s.m.	gotowane		zmiana po gotowaniu	
	Patroszony	Cały	Patroszony	Cały		Patroszony	Cały	Patroszony	Cały
	suma					suma			
0 dni	10,06	10,06	-74,95%	-74,95%	0	33,47	33,47	-75,11%	-75,11%
3 dni	8,29	7,41	-60,64%	-32,31%	3	25,63	24,08	-52,41%	-43,51%
6 dni	9,73	13,50	-34,19%	-25,55%	6	31,75	44,35	-37,99%	-29,80%
14 dni	9,62	11,95	-52,04%	-39,31%	14	31,87	37,65	-55,05%	-45,27%
	wodna					wodna			
0 dni	2,27 ^{aB}	2,27 ^{aC}	-85,21%	-85,21%	0	7,55 ^{aB}	7,55 ^{aA}	-85,30%	-85,30%
3 dni	2,88 ^{bC}	0,63 ^{aA}	-12,73%	-72,18%	3	8,91 ^{bB}	2,05 ^{aA}	5,52%	-76,78%
6 dni	1,75 ^{aA}	1,76 ^{aB}	-58,98%	-69,39%	6	5,70 ^{aA}	5,79 ^{aB}	-61,35%	-71,14%
14 dni	1,49 ^{aA}	1,94 ^{aB}	-61,69%	-57,14%	14	4,93 ^{aA}	6,12 ^{bB}	-64,10%	-61,35%
	NaCl					NaCl			
0 dni	4,35 ^{aC}	4,35 ^{aC}	-75,86%	-75,86%	0	14,48 ^{aC}	14,48 ^{aC}	-76,01%	-76,01%
3 dni	1,49 ^{aA}	1,80 ^{aB}	-79,28%	-73,20%	3	4,62 ^{aA}	5,86 ^{bB}	-74,95%	-77,63%
6 dni	1,76 ^{bA}	0,90 ^{aA}	-67,69%	-81,36%	6	5,74 ^{bA}	2,97 ^{aA}	-69,56%	-82,42%
14 dni	2,33 ^{aB}	1,68 ^{aB}	-68,58%	-74,08%	14	7,71 ^{bB}	5,29 ^{aB}	-70,55%	-76,63%
	metanolowe					metanolowe			
0 dni	3,44 ^{aA}	3,44 ^{aA}	-49,40%	-49,40%	0	11,44 ^{aA}	11,44 ^{aA}	-49,71%	-49,71%
3 dni	3,91 ^{aA}	4,98 ^{bA}	-62,89%	154,78%	3	12,11 ^{aA}	16,17 ^{bB}	-55,13%	112,63%
6 dni	6,22 ^{aB}	10,84 ^{bB}	22,50%	43,90%	6	20,31 ^{aB}	35,59 ^{bD}	15,42%	35,68%
14 dni	5,80 ^{aB}	8,33 ^{bB}	-33,78%	-4,08%	14	19,24 ^{aB}	26,24 ^{bC}	-37,94%	-13,50%

Dane w segmentach wierszy oznaczone literami a,b,c... nie różnią się istotnie

Dane w segmentach kolumn oznaczone literami A,B,C... nie różnią się istotnie



Rysunek 30 Udziały frakcji w aktywności przeciwutleniającej pstrągów surowych i gotowanych w zależności od sposobu opracowania przed przechowywaniem chłodniczym [%]

Śledzie bałtyckie

Obróbka cieplna znacznie obniżyła aktywność przeciwutleniającą śledzi, tak że pozostało jedynie ok.30-40% aktywności przeciwutleniającej ryby surowej. Hierarchia obróbek cieplnych z punktu widzenia pojemności przeciwutleniającej wyglądała następująco: smażenie > pieczenie > mikrofalowanie > gotowanie. Jeżeli aktywność przeciwutleniającą przeliczono na s.m. ryby smażone znalazły się na końcu tego szeregu (Tab.41).

Tabela 41 Aktywność przeciwutleniająca frakcji i sumy frakcji śledzi bałtyckich przed i po obróbce cieplnej w przeliczeniu na m.m., s.m., białko [$\mu\text{M TE/g m.m./ s.m./białko}$]

	R	G	P	M	S
	suma				
TEAC/g m.m.	6,99	1,96	2,92	2,89	3,02
TEAC/g s.m.	28,07	7,21	11,00	7,83	6,10
TEAC/g białka	47,82	7,26	11,40	10,73	15,94
	wodna				
TEAC/g m.m.	2,17 ^d	0,60 ^a	0,93 ^b	0,87 ^b	1,16 ^c
TEAC/g s.m.	8,72 ^c	2,20 ^a	3,49 ^b	2,37 ^a	2,35 ^a
TEAC/g białka	31,13 ^c	3,71 ^a	5,80 ^a	6,57 ^a	10,86 ^b
	NaCl				
TEAC/g m.m.	4,20 ^c	0,82 ^a	1,23 ^b	0,91 ^a	0,89 ^a
TEAC/g s.m.	16,86 ^c	3,01 ^b	4,64 ^c	2,47 ^{ab}	1,81 ^a
TEAC/g białka	16,69 ^d	3,56 ^a	5,60 ^c	4,16 ^{ab}	5,08 ^{bc}
	metanolowa				
TEAC/g m.m.	0,62 ^a	0,54 ^a	0,76 ^b	1,10 ^d	0,96 ^c
TEAC/g s.m.	2,50 ^b	2,01 ^a	2,87 ^{bc}	2,98 ^c	1,94 ^a

Dane w wierszach oznaczone tą samą literą a,b,c... nie różnią się istotnie

Po obróbce cieplnej do ekstraktów wodnych przeszło prawie dwa razy więcej białka niż z ryb surowych, najwięcej po gotowaniu i pieczeniu, natomiast białek rozpuszczalnych w NaCl było mniej zwłaszcza po smażeniu (Tab.42).

Wprawdzie ilość białek rozpuszczalnych w wodzie wzrosła, ale aktywność tej frakcji obniżyła się co najmniej dwukrotnie i jak wynika z przeliczenia aktywności przeciwutleniającej na białko – białka rozpuszczalne charakteryzowały się niską aktywnością przeciwutleniającą (Tab.41). Także aktywność białek rozpuszczalnych w NaCl drastycznie się obniżyła – co najmniej trzykrotnie (Tab.41).

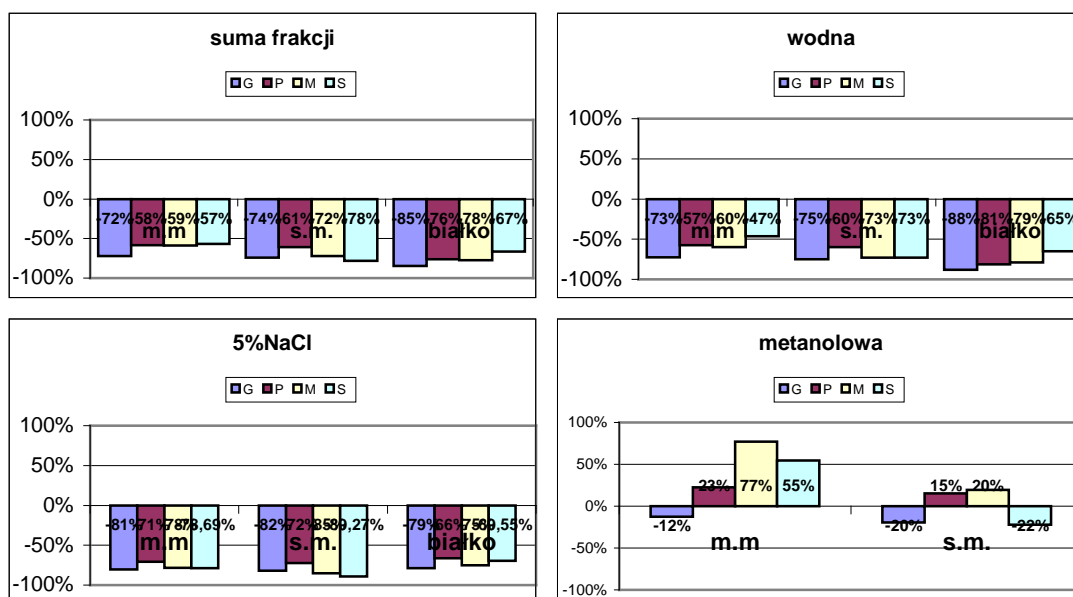
Jak widać z danych na rysunku 31 bez względu na sposób przeliczenia nieco większe straty aktywności przeciwutleniającej nastąpiły podczas gotowania.

Tabela 42 Zawartość białka i azotu aminowego we frakcjach śledzi przed i po obróbce cieplnej [g/100g]

	R	G	P	M	S
	wodna				
białko	6,97 ^a	16,05 ^d	15,95 ^d	13,29 ^c	10,69 ^b
Nam	0,04 ^a	0,04 ^a	0,06 ^b	0,08 ^c	0,06 ^b
	NaCl				
białko	25,14 ^c	22,96 ^b	21,98 ^b	21,91 ^b	17,59 ^a
Nam	0,11 ^c	0,05 ^a	0,06 ^a	0,08 ^b	0,08 ^b
	metanolowa				
Nam	0,09 ^a	0,08 ^a	0,10 ^a	0,17 ^b	0,08 ^a

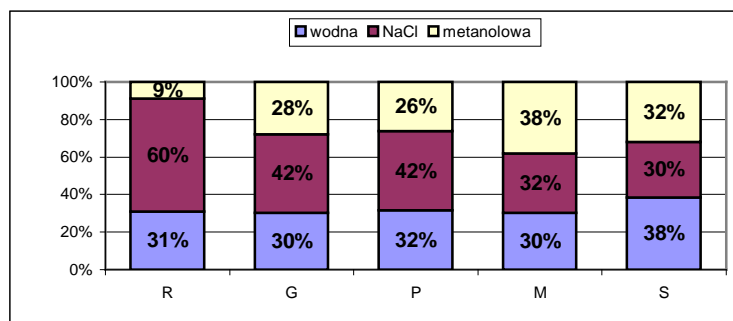
Wszystkie frakcje poza metanolową wykazały termiczny spadek aktywności przeciwutleniającej przekraczający 50% aktywności początkowej. Frakcje metanolowe śledzi

podobnie jak wcześniej opisanych psstrągów po obróbce cieplnej wykazały wzrost aktywności przeciwutleniającej. Wyjątkiem były próby gotowane (Tab.41, Rys.31).



Rysunek 31 Zmiana aktywności przeciwutleniających frakcji i sumy frakcji śledzi po obróbce cieplnej [% w stosunku do próby surowej]

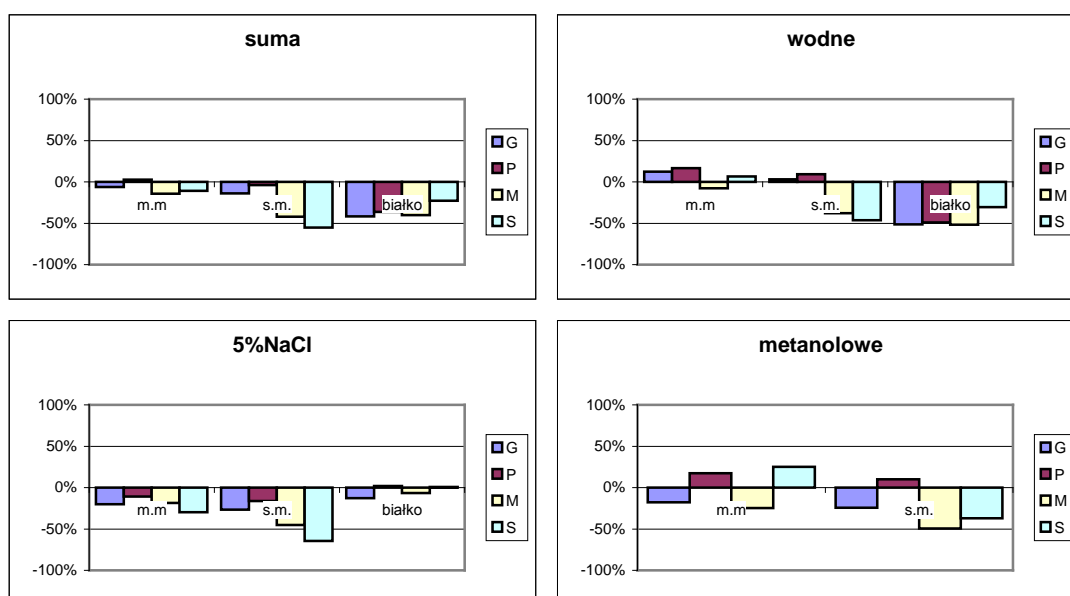
Udziały frakcji w sumie aktywności przeciwutleniającej poza frakcją wodną uległy istotnym zmianom po obróbce cieplnej: metanolowych wzrosły 3-4 razy a NaCl spadły o 30-40% (Rys.32).



Rysunek 32 Udziały frakcji w sumie aktywności przeciwutleniającej śledzi surowych i po obróbce cieplnej przeliczone na m.m. [%]

Zdolność redukująca śledzi w wyniku obróbki cieplnej zmieniła się nieznacznie. Obniżyła się o 6 - 14%, a w przypadku prób pieczonych wzrosła o niespełna 3% (Tab.43, Rys.33). Po przeliczeniu wyników na s.m. różnice te były wyraźniejsze (Tab.43, Rys.33).

W każdym rodzaju obróbki cieplnej zdolność redukująca frakcji NaCl obniżyła się: o 11-30%, a aktywność frakcji wodnej wykazywała niewielkie wzrosty lub spadki (Rys.33). Frakcje metanolowe, poza próbami mikrofalowanymi, miały wyższe zdolności redukujące po obróbce cieplnej (Rys.33).



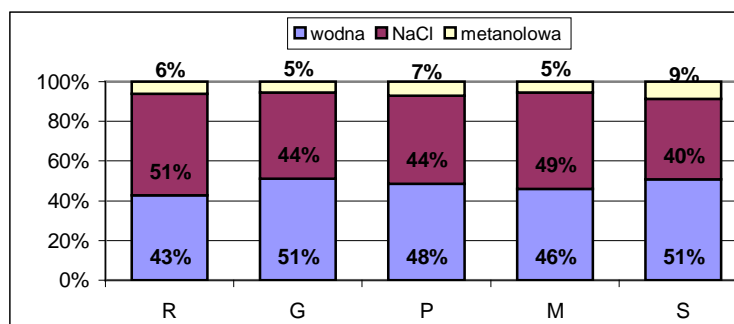
Rysunek 33 Zmiana zdolności redukującej śledzi po obróbce cieplnej [%]

Tabela 43 Zdolność redukująca śledzi bałtyckich przed i po obróbce cieplnej w [$\mu\text{M TE/g}$ m.m./s.m./białka]

	R	G	P	M	S
	suma				
FRAP m.m.	19,93	18,70	20,45	17,09	17,78
FRAP s.m.	80,07	68,99	77,09	46,32	35,97
FRAP/g białka	162,53	94,94	103,46	96,96	125,54
	wodna				
FRAP m.m.	8,50 ^b	9,55 ^d	9,90 ^e	7,85 ^a	9,05 ^c
FRAP s.m.	34,17 ^c	35,22 ^d	37,34 ^d	21,28 ^b	18,32 ^a
FRAP/g białka	122,00 ^d	59,50 ^a	62,09 ^b	59,04 ^a	84,73 ^c
	NaCl				
FRAP m.m.	10,19 ^d	8,14 ^b	9,09 ^c	8,31 ^b	7,18 ^a
FRAP s.m.	40,94 ^e	30,02 ^c	34,29 ^d	22,52 ^b	14,52 ^a
FRAP/g białka	40,54 ^{bc}	35,44 ^a	41,37 ^c	37,92 ^{ab}	40,81 ^{bc}
	metanol				
FRAP m.m.	1,24 ^a	1,02 ^{ab}	1,45 ^{ab}	0,93 ^{ab}	1,55 ^b
FRAP s.m.	4,96 ^{bc}	3,75 ^{ab}	5,46 ^c	2,52 ^a	3,13 ^a

Dane w wierszach oznaczone tą samą literą a,b,c...nie różnią się istotnie

Obróbki cieplne spowodowały kilkuprocentowy wzrost udziałów frakcji wodnych oraz metanolowych w zdolności redukującej śledzi poddawanych obróbkom cieplnym w wysokich temperaturach, czyli pieczeniu i smażeniu. Udział frakcji NaCl w sumie frakcji obniżył się o kilka procent (Rys.34)



Rysunek 34 Zmiana udziałów frakcji w sumie zdolności redukującej śledzi bałtyckich po obróbce cieplnej [%]

Tak znaczące obniżenie aktywności przeciwutleniającej nie pociągnęło za sobą wzrostu utlenienia lipidów zawartych w ogrzewanych tkankach mięśniowych. Wyjątek stanowiły ryby smażone, których lipidy (tkankowe + zaabsorbowany olej) były bardziej utlenione niż w surowcu. W pozostałych próbach zanotowano rozpad produktów utlenienia podczas obróbki cieplnej zwłaszcza mikrofalowania (Tab.44).

Tabela 44 Stopień utlenienia lipidów śledzi bałtyckich surowych i po obróbce cieplnej

	lipidy [100g]			lipidy [1cm/1%]		tkanka [100g]		
	LN [mg O*]	LA	Totox	Dieny	trieny	LN[mg O*]	LA	Totox
R	12,25 ^c	5,39 ^C	37,23	6,53	14,86	1,15 ^C	0,50 ^B	3,49
G	7,68 ^b	3,12 ^B	23,09	6,01	8,64	0,49 ^B	0,20 ^A	1,48
P	0,66 ^a	5,06 ^C	6,78	5,42	8,02	0,04 ^A	0,34 ^A	0,46
M	1,17 ^a	1,91 ^A	4,95	2,88	4,58	0,17 ^B	0,27 ^A	0,70
S	14,00 ^c	16,78 ^D	53,19	1,65	4,15	4,92 ^D	5,89 ^C	18,68

Dane w wierszach oznaczone tą samą literą nie różnią się istotnie

Dorsze bałtyckie

Obróbka cieplna spowodowała ok. 40% spadek aktywności przeciwutleniającej dorszy. Różnice w zależności od rodzaju obróbki były stosunkowo niewielkie (średnio 6%). Większe straty dotyczyły obróbek w wyższych temperaturach: pieczenie, smażenie. Najlepiej aktywność przeciwutleniająca zachowała się po gotowaniu (Tab.45).

Aktywność frakcji wodnych po obróbce cieplnej obniżyła się. Najmniejsze straty dotyczyły dorszy gotowanych - ok. 52%. Pozostałe próby straciły po ok. 90% wyjściowej aktywności przeciwutleniającej frakcji wodnej. Frakcje NaCl ryb po obróbce cieplnej również miały niższą aktywność przeciwutleniającą, natomiast metanolowe wyższą niż ryb surowych. (Tab.45).

Tabela 45 Aktywność przeciwutleniająca dorszy bałtyckich surowych i po obróbce cieplnej [$\mu\text{M TE/g m.m./s.m./białka/Nam}$]

	R	G	P	M	S
	suma				
TEAC/g m.m.	12,96	8,39	6,98	8,02	7,44
TEAC/g s.m.	69,00	38,30	34,35	37,92	23,51
TEAC/g białka	154,67	190,04	121,96	114,48	48,03
	wodna				
TEAC/g m.m.	5,99 ^c	2,86 ^b	0,74 ^a	0,73 ^a	0,85 ^a
TEAC/g s.m.	31,91 ^c	13,05 ^b	3,65 ^a	3,46 ^a	2,67 ^a
TEAC/g białka	108,80 ^c	116,57 ^c	33,13 ^b	25,75 ^b	11,14 ^a
	5%NaCl				
TEAC/g m.m.	6,24 ^c	4,60 ^a	5,36 ^{abc}	6,11 ^{bc}	5,28 ^{ab}
TEAC/g s.m.	33,21 ^c	21,02 ^a	26,37 ^b	28,87 ^{bc}	16,67 ^a
TEAC/g białka	45,88 ^a	73,47 ^b	88,83 ^b	88,73 ^b	36,89 ^a
	metanol				
TEAC/g m.m.	0,73 ^a	0,93 ^{ab}	0,88 ^{ab}	1,18 ^{bc}	1,32 ^c
TEAC/g s.m.	3,87 ^a	4,24 ^a	4,34 ^{ab}	5,58 ^b	4,17 ^a

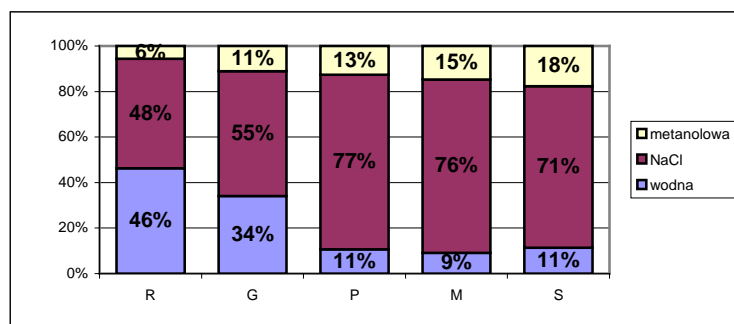
Dane w wierszach oznaczone tą samą literą a,b,c...nie różnią się istotnie

Zawartość białka we frakcjach wyekstrahowanych z dorsza po obróbce cieplnej, poza rybami smażonymi była niższa od zawartości w surowcu. Nie miało to jednak odzwierciedlenia w pojemności przeciwutleniającej (Tab.46, Zał. 6).

Tabela 46 Zawartość białka i azotu aminowego we frakcjach dorszy surowych i po obróbce cieplnej [g/100g]

	R	G	P	M	S
	wodna				
białko	5,51 ^b	2,45 ^a	2,24 ^a	2,84 ^a	7,60 ^c
Nam	0,04 ^a	0,04 ^a	0,06 ^a	0,09 ^a	0,07 ^a
	NaCl				
białko	13,60 ^b	6,26 ^a	6,03 ^a	6,88 ^a	14,30 ^b
Nam	0,13 ^b	0,05 ^a	0,06 ^a	0,09 ^b	0,10 ^b
	metanolowa				
Nam	0,11 ^a	0,10 ^a	0,12 ^a	0,21 ^b	0,11 ^a

Udziały frakcji w sumie aktywności przeciwutleniającej zmieniły się po obróbce cieplnej. Wpływ frakcji wodnych obniżył się w najmniejszym stopniu dla dorszy gotowanych. Natomiast udział frakcji NaCl wzrósł do ponad 70% w gotowanych dorszach i do ok. 23-29% przy pozostałych obróbkach. Udział frakcji metanolowych wzrósł do kilkunastu procent, najbardziej dla dorszy smażonych (Rys.35).



Rysunek 35 Udziały frakcji w sumie aktywności przeciwutleniających dorszy bałtyckich surowych i po obróbce cieplnej [%]

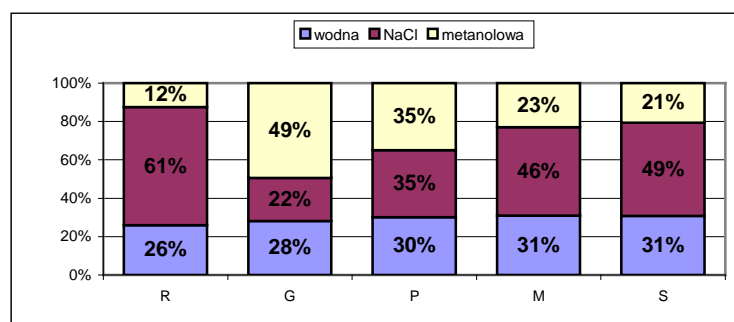
Zdolność redukująca dorszy po obróbce cieplnej poza rybami smażonymi obniżyła się, ale mniej niż aktywność przeciwutleniająca TEAC (Tab.45 i 47). Spadek ten wyniósł 30-43% największy był dla dorszy pieczonych i mikrofalowanych.

Zdolność redukująca dorszy różniła się jakościowo po obróbce cieplnej w zależności od sposobu obróbki. W gotowanych dorszach dominowały związki rozpuszczalne w metanolu w mikrofalowanych i smażonych frakcje NaCl a w pieczonych wszystkie frakcje miały zbliżony udział we właściwościach redukujących (Tab.47, Rys.36).

Tabela 47 Zdolność redukująca frakcji i sumy frakcji dorszy bałtyckich surowych i po obróbce cieplnej [$\mu\text{M TE/ g m.m./s.m./białko/Nam}$]

	R	G	P	M	S
suma					
FRAP m.m.	3,81	2,67	2,26	2,17	4,20
FRAP s.m.	20,30	12,21	11,14	10,24	13,27
FRAP/g białka	35,27	40,24	43,62	38,07	31,27
wodna					
FRAP m.m.	0,99 ^b	0,75 ^a	0,68 ^a	0,67 ^a	1,29 ^c
FRAP s.m.	5,29 ^c	3,43 ^a	3,36 ^a	3,17 ^a	4,09 ^b
FRAP/g białka	18,02 ^a	30,65 ^c	30,49 ^c	23,59 ^b	17,02 ^a
5% NaCl					
FRAP m.m.	2,35 ^d	0,60 ^a	0,79 ^{ab}	1,00 ^b	2,04 ^c
FRAP s.m.	12,48 ^d	2,74 ^a	3,90 ^{ab}	4,71 ^b	6,44 ^c
FRAP/g białka	17,25 ^c	9,59 ^a	13,13 ^b	14,48 ^b	14,24 ^b
metanol					
FRAP m.m.	0,48 ^a	1,32 ^d	0,79 ^b	0,50 ^a	0,87 ^c
FRAP s.m.	2,53 ^{ab}	6,04 ^c	3,89 ^b	2,36 ^a	2,75 ^b

Dane w wierszach oznaczone tą samą literą a,b,c...nie różnią się istotnie



Rysunek 36 Udziały frakcji w sumie zdolności redukującej dorszy bałtyckich surowych i po obróbce cieplnej [%]

Stopień utlenienia lipidów wyekstrahowanych z ryb po obróbce cieplnej był niższy od surowca. Dotyczyło to zarówno nadtlenków, których najwięcej pozostało po mikrofalowaniu, jak i wtórnych produktów utlenienia, których z kolei najwięcej zanotowano w lipidach ryb pieczonych. Po przeliczeniu produktów utlenienia na tkankę ich ilość była niewielka i tylko w rybach smażonych, ze względu na ilość wchłoniętego oleju, zawartość produktów utlenienia była zbliżona do surowca. Zawartość struktur sprzężonych po obróbkach uległa obniżeniu, poza dorszami mikrofalowanymi, które zawierały o ok. 37% więcej tych struktur (Tab.48)

Tabela 48 Stopień utlenienia lipidów dorszy bałtyckich surowych i po obróbce cieplnej

	lipidy [100g]			lipidy [1cm/1%]		tkanka [100g]		
	LN [mg O*]	LA	Totox	Dieny	trieny	LN[mg O*]	LA	Totox
R	46,02 ^D	11,62 ^E	131,27	3,57	4,41	0,52 ^B	0,13 ^B	1,49
G	14,79 ^B	1,75 ^A	40,20	2,92	3,29	0,18 ^A	0,02 ^A	0,50
P	14,51 ^B	9,98 ^D	47,71	3,32	4,00	0,16 ^A	0,11 ^B	0,53
M	22,41 ^C	1,90 ^B	60,16	4,89	6,07	0,22 ^A	0,02 ^A	0,60
S	11,35 ^A	2,98 ^C	32,48	0,90	1,46	0,62 ^B	0,16 ^B	1,77

Dane w kolumnach oznaczone tą samą literą nie różnią się istotnie

Łososie atlantyckie

Pojemność przeciwutleniająca łososi obniżyła się po obróbce cieplnej o ok.50%. Rodzaj obróbki cieplnej miał niewielki wpływ na wielkość spadku aktywności przeciwutleniającej i udziały poszczególnych frakcji (Tab.49)

Wskutek obróbek cieplnych największej destrukcji uległy właściwości przeciwutleniające frakcji NaCl, natomiast w przypadku frakcji metanolowych zanotowano nieznaczny wzrost tych właściwości. Spadki aktywności frakcji wodnych dla poszczególnych obróbek były zbliżone – najwięcej z aktywności przeciwutleniającej straciły łososie gotowane i mikrofalowane, najniższe łososi pieczonych. Frakcja NaCl ryb po gotowaniu miała aktywność przeciwutleniającą na nieco wyższym poziomie: najniższą dla łososi gotowanych a najwyższą dla pieczonych. (Tab.49)

Tabela 49 Aktywność przeciwutleniająca frakcji i sumy frakcji łososi norweskich hodowlanych surowych i po obróbce cieplnej przeliczona na m.m., s.m., i białko [μ MTE/g m.m./s.m./białko]

	R	G	P	M	S
	suma				
m.m.	13,02	6,92	6,25	6,39	6,88
s.m.	40,60	16,96	15,72	16,94	16,99
białko	174,73	194,27	149,16	245,47	379,88
	wodne				
m.m.	4,34 ^d	2,24 ^{ab}	2,43 ^c	2,11 ^a	2,39 ^{bc}
s.m.	13,52 ^c	5,50 ^a	6,10 ^b	5,59 ^a	5,92 ^{ab}
białko	64,11 ^a	129,30 ^c	99,46 ^b	174,96 ^d	301,52 ^e
	5%NaCl				
m.m.	7,55 ^c	3,30 ^b	2,53 ^a	2,86 ^{ab}	3,08 ^b
s.m.	23,55 ^c	8,09 ^b	6,35 ^a	7,59 ^{ab}	7,61 ^{ab}
białko	110,62 ^b	64,97 ^{ab}	49,71 ^a	70,52 ^{ab}	78,37 ^{ab}
	metanolowe				
m.m.	1,13 ^a	1,37 ^b	1,30 ^{ab}	1,42 ^b	1,40 ^b
s.m.	3,53 ^a	3,37 ^a	3,26 ^a	3,76 ^a	3,47 ^a

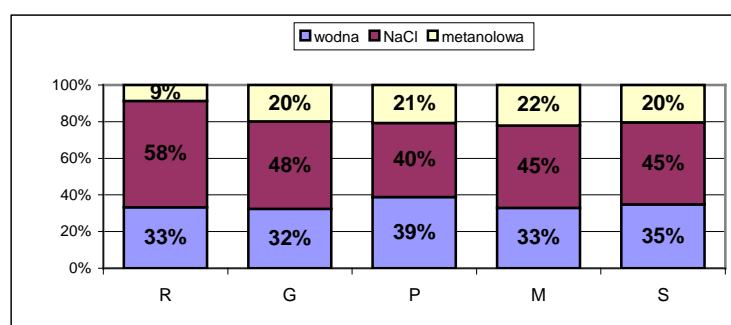
Dane w wierszach oznaczone tą samą literą a,b,c...nie różnią się istotnie

Jak wynika z danych zawartych w tabeli 50 zawartość białek wyekstrahowanych z łososi po obróbkach była niższa, przy czym w rybach mikrofalowanych i smażonych było ich mniej niż po pozostałych (Tab.50). Aktywność przeciwutleniająca białek we frakcjach wodnych była zawsze niższa po obróbce cieplnej. Udział frakcji NaCl w sumie obniżył się nieco – o kilkanaście procent, natomiast metanolowe zwiększyły swój udział do 20% (Rys.37).

Tabela 50 Zawartość białka i azotu aminowego we frakcjach łososi surowych i po obróbce cieplnej [g/100g]

	R	G	P	M	S
	wodna				
białko	6,76 ^c	1,74 ^b	2,44 ^b	1,21 ^a	0,79 ^a
Nam	0,05 ^a	0,04 ^a	0,06 ^a	0,08 ^b	0,07 ^b
	NaCl				
białko	8,73 ^c	4,87 ^b	5,58 ^b	4,34 ^a	3,93 ^a
Nam	0,05 ^a	0,05 ^a	0,06 ^a	0,07 ^a	0,07 ^a
	metanolowa				
Nam	0,04 ^a	0,04 ^a	0,05 ^a	0,08 ^b	0,08 ^b

Dane w wierszach oznaczone tą samą literą nie różnią się istotnie



Rysunek 37 Udziały frakcji w sumie aktywności przeciwutleniających łososi surowych i po obróbce cieplnej [%]

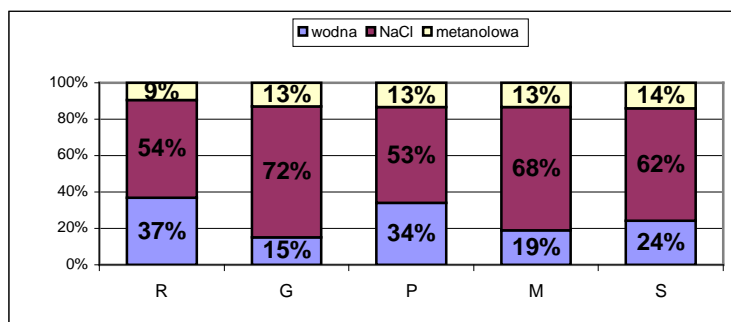
Obróbka cieplna łososi nie spowodowała tak dużych zmian w zdolności redukującej jak w aktywności przeciwutleniającej, a rodzaj obróbki cieplnej miał wpływ na właściwości redukujące po obróbce (Tab.50 i 51). Spadek właściwości redukujących, w zależności od rodzaju obróbki wyniósł od 13 do 30% dla łososi pieczonych i gotowanych odpowiednio.

Destrukcja podczas obróbki cieplnej dotyczyła głównie frakcji wodnej – 19-73%, szczególnie mikrofalowania i gotowania, co znacznie zmieniło udziały frakcji w zdolności redukującej po tych obróbkach (Tab.51, Rys.38). Zdolność redukująca frakcji NaCl spadła zaledwie o 8-14%, a metanolowych uległa niewielkim zmianom (Tab.51, Rys.38).

Tabela 51 Zdolność redukująca frakcji i sumy frakcji łososi surowych i po obróbce cieplnej [$\mu\text{M TE/g m.m./s.m./białka/Nam}$]

	R	G	P	M	S
	suma				
FRAP m.m.	2,36	1,59	2,06	1,64	1,89
FRAP s.m.	7,36	3,89	5,19	4,35	4,66
FRAP/g białka	27,37	37,11	48,26	51,48	86,86
	wodne				
FRAP m.m.	0,87 ^d	0,24 ^a	0,70 ^c	0,31 ^a	0,45 ^b
FRAP s.m.	2,71 ^d	0,58 ^a	1,77 ^c	0,83 ^{ab}	1,12 ^b
FRAP/g białka	12,84 ^a	13,73 ^a	28,82 ^b	25,83 ^b	57,22 ^c
	5% NaCl				
FRAP m.m.	1,27 ^a	1,14 ^a	1,08 ^a	1,11 ^a	1,17 ^a
FRAP s.m.	3,95 ^b	2,79 ^a	2,73 ^a	2,95 ^a	2,88 ^a
FRAP/g białka	14,53 ^a	23,39 ^c	19,44 ^b	25,65 ^c	29,64 ^d
	metanol				
FRAP m.m.	0,22 ^a	0,21 ^a	0,28 ^b	0,22 ^a	0,27 ^b
FRAP s.m.	0,69 ^c	0,51 ^a	0,69 ^c	0,57 ^{ab}	0,66 ^{bc}

Dane w wierszach oznaczone tą samą literą a,b,c...nie różnią się istotnie



Rysunek 38 Udziały frakcji w sumie zdolności redukującej łososi surowych i po obróbce cieplnej [%]

Stopień utlenienia lipidów był niski już w surowcu. Po obróbce cieplnej w wysokiej temperaturze (pieczenie, smażenie) zanotowano podwojenie zawartości nadtlenków, natomiast związki karbonylowe zachowały się stosunkowo dobrze tylko w lipidach ryb mikrofalowanych (Tab.52).

Tabela 52 Stopień utlenienia lipidów łososi norweskich hodowlanych surowych i po obróbce cieplnej

	Lipidy [100g]						Tkanka [100 g]		
	LN	LA	Totox	A232	A268	F436	LN	LA	Totox
R	5,93 ^B	4,17 ^D	19,58	0,42	0,72	436	0,63 ^A	0,44 ^B	2,07
G	4,19 ^A	0,17 ^A	11,07	0,31	0,57	391,27	0,66 ^A	0,03 ^A	1,74
P	10,57 ^C	0,64 ^B	28,13	0,27	0,58	131,61	2,17 ^B	0,13 ^A	5,78
M	4,09 ^A	3,40 ^C	14,03	0,32	0,63	154,54	0,65 ^A	0,54 ^B	2,22
S	12,66 ^D	0,27 ^A	13,37	0,31	0,68	174,35	2,24 ^B	0,05 ^A	5,88

Dane w wierszach oznaczone tą samą literą a,b,c...nie różnią się istotnie

4.3.2 Mięso wieprzowe

Obróbka cieplna spowodowała spadek aktywności przeciwutleniającej schabów wieprzowych. Średni spadek wyniósł ok. 35% dla schabów gotowanych, mikrofalowanych

i smażonych oraz 18% dla schabów pieczonych (Tab.53). Zmienność w zależności od rodzaju partii dla poszczególnych obróbek cieplnych wynosiła od ponad 6% dla smażonych do 22% dla mikrofalowanych.

Najbardziej zmiennymi frakcjami schabów wieprzowych były frakcje metanolowe. Ich zmienność mieściła się w zakresie 29-35%. Najmniejsze spadki aktywności tej frakcji wystąpiły w mięsie pieczonym – niespełna 10%, gdy w pozostałych tkankach od prawie 14% dla mikrofalowanych do ponad 26% dla schabów gotowanych (Tab.53).

Tabela 53 Aktywność przeciwutleniająca trzech partii schabów surowych i po obróbkach [$\mu\text{M TE/g m.m. i s.m.}$]

	m.m.						s.m.						
	Suma frakcji												
	I	II	III	średnia	SD	W		I	II	III	średnia	SD	W
R	14,23	11,90	10,51	12,21	1,88	15,40%	R	50,37	47,83	47,74	48,65	1,49	3,07%
G	11,54	10,49	10,03	10,69	0,78	7,25%	G	32,85	30,00	30,22	31,02	1,59	5,11%
P	13,11	10,27	12,36	11,91	1,47	12,36%	P	39,25	34,58	45,37	39,73	5,41	13,62%
M	12,86	8,52	9,38	10,25	2,30	22,43%	M	27,29	30,94	35,44	31,22	4,08	13,07%
S	11,01	10,00	11,36	10,79	0,71	6,58%	S	31,10	29,96	33,4	31,49	1,75	5,57%
	Frakcje wodne												
	I	II	III	średnia	SD	W		I	II	III	średnia	SD	W
R	4,67 ^{bb}	3,37 ^{ac}	3,37 ^{ab}	3,80	0,75	19,75%	R	16,53 ^{cd}	13,54 ^{ac}	15,31 ^{bb}	15,13	1,50	9,93%
G	3,29 ^{ba}	3,04 ^{abbc}	2,75 ^{aa}	3,03	0,27	8,99%	G	9,37 ^{aa}	8,70 ^{ab}	8,28 ^{aa}	8,78	0,55	6,24%
P	4,86 ^{bb}	2,92 ^{ab}	4,84 ^{bc}	4,20	1,11	26,47%	P	14,54 ^b	9,83 ^{ab}	17,76 ^{cc}	14,05	3,99	28,37%
M	4,98 ^{cb}	1,94 ^{ab}	2,80 ^{ba}	3,24	1,57	48,44%	M	10,56 ^{bb}	7,03 ^{aa}	10,57 ^{ba}	9,39	2,04	21,76%
S	4,66 ^{cb}	2,14 ^{ab}	3,52 ^{bb}	3,44	1,26	36,62%	S	13,16 ^c	6,42 ^{aa}	10,36 ^{ba}	9,98	3,38	33,92%
	Frakcje 5% NaCl												
	I	II	III	średnia	SD	W		I	II	III	średnia	SD	W
R	6,64 ^{bd}	6,91 ^{bc}	4,03 ^{aa}	5,86	1,59	27,19%	R	23,50 ^{bd}	27,78 ^{bc}	18,29 ^{ac}	23,19	4,75	20,49%
G	5,47 ^{bab}	5,67 ^{bb}	4,04 ^{aa}	5,06	0,89	17,50%	G	15,56 ^{bb}	16,20 ^{bb}	12,18 ^{aa}	14,65	2,16	14,75%
P	6,55 ^{bc}	3,85 ^{aa}	4,51 ^{aa}	4,97	1,41	28,29%	P	19,61 ^{cc}	12,98 ^{aa}	16,55 ^{bb}	16,38	3,32	20,26%
M	6,24 ^{bbc}	3,20 ^{aa}	3,68 ^{aa}	4,37	1,64	37,46%	M	13,25 ^{bab}	11,61 ^{aa}	13,90 ^{aa}	12,92	1,18	9,13%
S	4,53 ^{aa}	4,03 ^{aa}	4,51 ^{aa}	4,35	0,29	6,55%	S	12,79 ^{aa}	12,06 ^{aa}	13,25 ^{aa}	12,70	0,60	4,73%
	Frakcje metanolowe												
	I	II	III	średnia	SD	W		I	II	III	średnia	SD	W
R	2,92 ^{bb}	1,62 ^{aa}	3,11 ^{bbc}	2,55	0,81	31,87%	R	10,34 ^{bc}	6,51 ^{aa}	14,14 ^{cc}	10,33	3,82	36,96%
G	2,78 ^{bb}	1,78 ^{aa}	3,24 ^{ccd}	2,60	0,74	28,63%	G	7,92 ^{bb}	5,10 ^{aa}	9,76 ^{ca}	7,59	2,35	30,93%
P	1,70 ^{aa}	3,49 ^{cb}	3,01 ^{bab}	2,74	0,93	33,93%	P	5,09 ^{aa}	11,77 ^{bb}	11,06 ^{bb}	9,31	3,67	39,40%
M	1,64 ^{aa}	3,39 ^{cb}	2,90 ^{ba}	2,64	0,90	34,11%	M	3,48 ^{aa}	12,30 ^{cb}	10,97 ^{bb}	8,91	4,75	53,33%
S	1,82 ^{aa}	3,83 ^{cc}	3,33 ^{bd}	2,99	1,04	34,88%	S	5,15 ^{aa}	11,47 ^{cb}	9,79 ^{bab}	8,80	3,28	37,21%

Dane w segmentach wierszy oznaczone literami a,b,c...nie różnią się istotnie

Dane w segmentach kolumn oznaczone literami A,B,C...nie różnią się istotnie

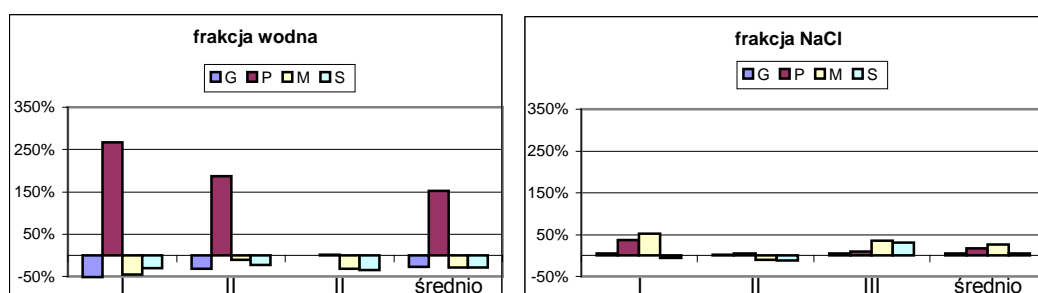
Zawartość białka we frakcjach mięsa wieprzowego różniła się przed i po obróbce cieplnej w zależności od partii. Średnia zawartość białek wyekstrahowanych z mięsa bardzo różniących się partii była po obróbce cieplnej w przypadku białek rozpuszczalnych w NaCl niższa a białek rozpuszczalnych w wodzie często wyższa. Aktywność wyekstrahowanych białek była różna i nieskorelowana z aktywnością przeciwutleniającą. Widoczny na rysunku 39 wzrost średniej aktywności przeciwutleniającej w przeliczeniu na białko rozpuszczalne w NaCl po obróbce, szczególnie pieczeniu i mikrofalowaniu, nie odzwierciedla zmian zachodzących podczas obróbki

cieplnej (Tab.54, Rys.39). Trudno jest określić tendencje ze względu na duże odchylenia od średniej (Tab.54).

Tabela 54 Zawartość białka i azotu niebiałkowego we frakcjach mięsa wieprzowego trzech partii [g.100g]

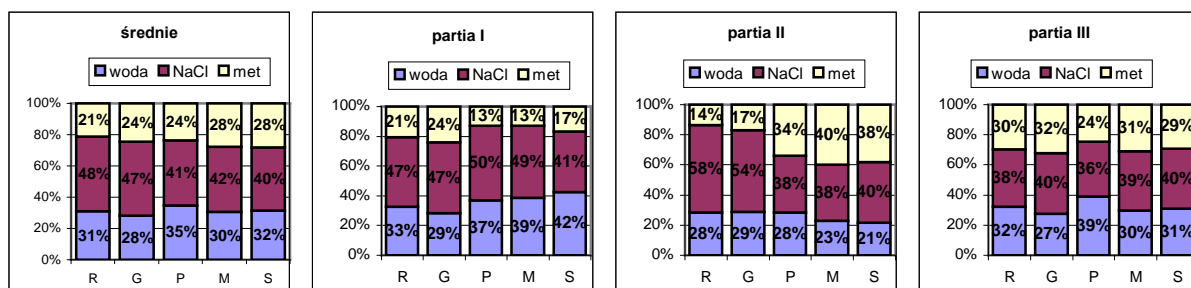
białko		R	G	P	M	S
		wodna				
	I	3,18 ^b	4,69 ^c	0,90 ^a	6,14 ^d	4,58 ^c
	II	5,17 ^c	4,55 ^b	4,26 ^b	3,31 ^a	3,71 ^a
	III	1,84 ^{ab}	1,49 ^a	2,62 ^c	2,24 ^b	2,94 ^d
	średnia	3,40	3,58	2,59	3,90	3,74
		NaCl				
	I	8,59 ^c	6,72	6,17 ^b	5,30 ^a	6,21 ^b
	II	8,35 ^e	6,61 ^d	4,34 ^b	3,96 ^a	4,83 ^c
	III	3,23 ^b	3,09 ^b	3,29 ^b	2,17 ^a	2,76 ^b
	średnia	6,72	5,47	4,60	3,81	4,60
azot niebiałkowy		R	G	P	M	S
		wodna				
	I	1,91 ^c	1,00 ^a	1,45 ^b	1,02 ^a	1,10 ^a
	II	3,17 ^c	1,99 ^b	2,19 ^b	1,69 ^c	1,56 ^c
	III	2,44 ^c	1,31 ^a	2,80 ^c	1,90 ^b	1,94 ^b
	średnia	2,51	1,43	2,15	1,54	1,53
		NaCl				
	I	3,11 ^c	1,44 ^b	1,45 ^b	1,01 ^a	1,32 ^b
	II	3,52 ^d	1,98 ^c	1,53 ^a	1,73 ^b	1,74 ^b
	III	2,91 ^c	1,85 ^a	2,40 ^b	1,97 ^a	1,94 ^a
	średnia	3,18	1,76	1,79	1,57	1,67
		metanolowa				
	I	1,41 ^c	1,08 ^b	1,18 ^b	0,92 ^a	1,14 ^b
	II	1,75 ^b	1,27 ^a	2,72 ^d	2,64 ^d	2,43 ^c
	III	1,86 ^c	1,28 ^b	1,44 ^b	1,32 ^b	1,14 ^d
	średnia	1,67	1,21	1,78	1,63	1,57

Dane w segmentach wierszy oznaczone literami a,b,c...nie różnią się istotnie
Dane w segmentach kolumn oznaczone literami A,B,C...nie różnią się istotnie



Rysunek 39 Aktywność przeciwutleniająca frakcji schabów wieprzowych w przeliczeniu na białko [μ MTE/białko]

Zmienność osobniczą badanych schabów charakteryzują również różnice w udziale poszczególnych frakcji w aktywności przeciwutleniającej (Rys. 40).



Rysunek 40 Udziały frakcji w sumie aktywności przeciwutleniającej trzech partii schabów wieprzowych w m.m. [%]

Mięso wieprzowe w zależności od pochodzenia różniło się zdolnością redukującą, ale po obróbkach cieplnych różnice te jeszcze zwiększyły się (Tab.56)

Badane partie schabów wieprzowych różniły się również zdolnościami redukującymi po obróbce cieplnej. Średnia zdolność redukująca mięsa wieprzowego wzrosła: najbardziej w schabach pieczonych - ponad 160%, następnie mikrofalowanych gotowanych – niespełna 45% (Tab.55).

Pieczenie skutkowało najwyższymi średnimi wartościami zdolności redukującej dla wszystkich frakcji i było najkorzystniejszą z obróbek w przeciwieństwie do gotowania i mikrofalowania (Tab.55).

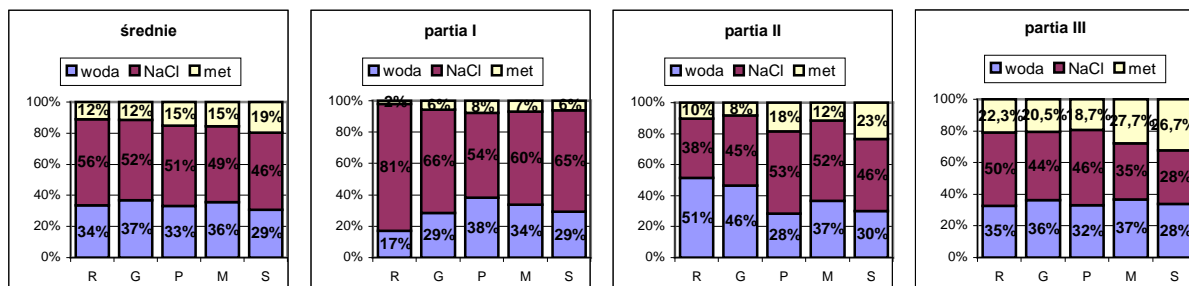
Tabela 55 Zdolność redukująca trzech partii schabów surowych i po obróbce cieplnej [$\mu\text{M TE/ g m.m. i s.m.}$]

	m.m.						s.m.						
	Suma frakcji												
	I	II	III	średnia	SD	W		I	II	III	średnia	SD	W
R	14,23	11,90	10,51	12,21	1,88	15,40%	R	50,37	47,83	47,74	48,65	1,49	3,07%
G	11,54	10,49	10,03	10,69	0,78	7,25%	G	32,85	30,00	30,22	31,02	1,59	5,11%
P	13,11	10,27	12,36	11,91	1,47	12,36%	P	39,25	34,58	45,37	39,73	5,41	13,62%
M	12,86	8,52	9,38	10,25	2,30	22,43%	M	27,29	30,94	35,44	31,22	4,08	13,07%
S	11,01	10,00	11,36	10,79	0,71	6,58%	S	31,10	29,96	33,4	31,49	1,75	5,57%
	Fracje wodne												
	I	II	III	średnia	SD	W		I	II	III	średnia	SD	W
R	4,67 ^{bb}	3,37 ^{ac}	3,37 ^{ab}	3,80	0,75	19,75%	R	16,53 ^{cd}	13,54 ^{ac}	15,31 ^{bb}	15,13	1,50	9,93%
G	3,29 ^{ba}	3,04 ^{abbc}	2,75 ^{aa}	3,03	0,27	8,99%	G	9,37 ^{aa}	8,70 ^{ab}	8,28 ^{aa}	8,78	0,55	6,24%
P	4,86 ^{bb}	2,92 ^{ab}	4,84 ^{bc}	4,20	1,11	26,47%	P	14,54 ^b	9,83 ^{ab}	17,76 ^{cc}	14,05	3,99	28,37%
M	4,98 ^{cb}	1,94 ^{ab}	2,80 ^{ba}	3,24	1,57	48,44%	M	10,56 ^{bb}	7,03 ^{aa}	10,57 ^{ba}	9,39	2,04	21,76%
S	4,66 ^{cb}	2,14 ^{ab}	3,52 ^{bb}	3,44	1,26	36,62%	S	13,16 ^c	6,42 ^{aa}	10,36 ^{ba}	9,98	3,38	33,92%
	Fracje 5%NaCl												
	I	II	III	średnia	SD	W		I	II	III	średnia	SD	W
R	6,64 ^{bd}	6,91 ^{bc}	4,03 ^{aa}	5,86	1,59	27,19%	R	23,50 ^{bd}	27,78 ^{bc}	18,29 ^{ac}	23,19	4,75	20,49%
G	5,47 ^{bab}	5,67 ^{bb}	4,04 ^{aa}	5,06	0,89	17,50%	G	15,56 ^{bb}	16,20 ^{bb}	12,18 ^{aa}	14,65	2,16	14,75%
P	6,55 ^{bc}	3,85 ^{aa}	4,51 ^{aa}	4,97	1,41	28,29%	P	19,61 ^{cc}	12,98 ^{aa}	16,55 ^{bb}	16,38	3,32	20,26%
M	6,24 ^{bbc}	3,20 ^{aa}	3,68 ^{aa}	4,37	1,64	37,46%	M	13,25 ^{bab}	11,61 ^{aa}	13,90 ^{aa}	12,92	1,18	9,13%
S	4,53 ^{aa}	4,03 ^{aa}	4,51 ^{aa}	4,35	0,29	6,55%	S	12,79 ^{aa}	12,06 ^{aa}	13,25 ^{aa}	12,70	0,60	4,73%
	Fracje metanolowe												
	I	II	III	średnia	SD	W		I	II	III	średnia	SD	W
R	2,92 ^{bb}	1,62 ^{aa}	3,11 ^{bbc}	2,55	0,81	31,87%	R	10,34 ^{bc}	6,51 ^{aa}	14,14 ^{cc}	10,33	3,82	36,96%
G	2,78 ^{bb}	1,78 ^{aa}	3,24 ^{ccd}	2,60	0,74	28,63%	G	7,92 ^{bb}	5,10 ^{aa}	9,76 ^{ca}	7,59	2,35	30,93%
P	1,70 ^{aa}	3,49 ^{cb}	3,01 ^{bab}	2,74	0,93	33,93%	P	5,09 ^{aa}	11,77 ^{bb}	11,06 ^{bb}	9,31	3,67	39,40%
M	1,64 ^{aa}	3,39 ^{cb}	2,90 ^{ba}	2,64	0,90	34,11%	M	3,48 ^{aa}	12,30 ^{cb}	10,97 ^{bb}	8,91	4,75	53,33%
S	1,82 ^{aa}	3,83 ^{cc}	3,33 ^{bd}	2,99	1,04	34,88%	S	5,15 ^{aa}	11,47 ^{cb}	9,79 ^{bab}	8,80	3,28	37,21%

Dane w segmentach wierszy oznaczone literami a,b,c...nie różnią się istotnie

Dane w segmentach kolumn oznaczone literami A,B,C...nie różnią się istotnie

Udziały frakcji w zdolności redukującej schabów wieprzowych po obróbkach różniły się w zależności od partii. Średnie udziały frakcji NaCl obniżyły się, wodnych pozostawały na zbliżonym poziomie jak w surowych a metanolowych wzrastały po obróbce cieplnej (Rys.41).



Rysunek 41 Udziały frakcji w sumie zdolności redukującej trzech partii schabów wieprzowych wyrażanych w m.m. [%]

Tabela 56 Stopień utlenienia lipidów schabów wieprzowych surowych i po obróbce cieplnej

LN	obróbka	lipidy [100 g]						tkanka [100 g]					
		partia			średnia	SD	W	partia			średnia	SD	W
		I	II	III				I	II	III			
	R	12,77 ^{dB}	10,13 ^{BA}	4,74 ^{AB}	9,21	4,09	44,41%	0,62	0,23	0,22	0,36	0,23	64,44%
	G	13,75 ^{dB}	13,80 ^{dB}	2,60 ^{BA}	10,05	6,45	64,19%	0,82	0,46	0,12	0,47	0,35	74,75%
	P	6,87 ^{BA}	11,40 ^{CA}	3,62 ^{AB}	7,29	3,91	53,57%	0,41	0,55	0,15	0,37	0,20	54,33%
	M	6,00 ^{BA}	16,06 ^{CC}	3,29 ^{BA}	8,45	6,73	79,64%	0,61	0,65	0,13	0,46	0,29	61,79%
	S	7,21 ^{BA}	16,36 ^{CC}	11,12 ^{BC}	11,56	4,59	39,72%	0,49	0,98	0,65	0,71	0,25	35,53%
LA		I	II	III									
	R	11,30 ^{CC}	24,38 ^{CC}	18,58 ^{BB}	18,08	6,55	36,23%	0,55	0,55	0,86	0,65	0,18	26,84%
	G	12,71 ^{AD}	25,04 ^{CC}	15,48 ^{BA}	17,74	6,47	36,46%	0,76	0,83	0,72	0,77	0,06	7,20%
	P	6,53 ^{AB}	16,99 ^{BA}	23,66 ^{CD}	15,72	8,63	54,91%	0,39	0,81	0,99	0,73	0,31	42,26%
	M	4,19 ^{AA}	18,74 ^{BB}	21,95 ^{CC}	14,96	9,47	63,29%	0,42	0,75	0,89	0,69	0,24	34,65%
	S	7,54 ^{AB}	24,60 ^{BC}	23,93 ^{BD}	18,69	9,66	51,70%	0,51	1,48	1,41	1,13	0,54	47,63%
Totox		I	II	III									
	R	44,51	50,71	30,91	42,04	10,13	24,09%	2,17	1,15	1,42	1,58	0,53	33,32%
	G	48,45	60,91	22,24	43,89	19,74	44,99%	2,88	2,02	1,04	1,98	0,92	46,54%
	P	24,39	46,63	33,07	34,69	11,21	32,31%	1,45	2,23	1,38	1,69	0,47	27,96%
	M	19,79	60,51	30,5	36,93	21,1	57,14%	2,00	2,43	1,23	1,89	0,61	32,12%
	S	26,28	67,14	52,85	48,75	20,73	42,53%	1,78	4,03	3,11	2,97	1,13	38,09%
dieny		I	II	III	średnia	SD	W						
	R	0,77	1,53	0,9	1,07	0,40	37,79%						
	G	0,68	1,09	0,79	0,85	0,21	24,96%						
	P	0,76	0,85	0,96	0,86	0,10	11,31%						
	M	0,43	0,92	0,94	0,76	0,29	37,96%						
	S	0,69	0,81	1,29	0,93	0,32	34,14%						
trieny		I	II	III									
	R	0,98	1,59	1,25	1,27	0,31	24,19%						
	G	0,91	1,22	1,02	1,05	0,16	15,04%						
	P	0,91	0,97	1,34	1,07	0,23	21,96%						
	M	0,60	1,04	1,38	1	0,39	39,16%						
	S	0,88	0,82	1,86	1,19	0,58	49,28%						
razem		I	II	III									
	R	1,75	3,12	2,16	2,34	0,70	30,03%						
	G	1,59	2,31	1,80	1,9	0,37	19,46%						
	P	1,67	1,82	2,30	1,93	0,33	17,03%						
	M	1,02	1,95	2,32	1,77	0,70	37,88%						
	S	1,57	1,63	3,15	2,12	0,90	42,37%						

Lipidy badanych schabów wieprzowych różniły się stopniem utlenienia i ich zmianami po obróbce cieplnej (Tab.56). Średnio najwięcej pierwotnych produktów utlenienia występowało w schabach smażonych i gotowanych i było ich więcej niż w próbach surowych. Związków karbonylowych i struktur sprzężonych mniej było po obróbce cieplnej. Zmienność między wskaźnikami utlenienia lipidów trzech partii schabów była różna dla poszczególnych obróbek i dochodziła do 80% (Tab.56). Zmienność osobnicza największe znaczenie miała dla zmian utlenienia lipidów podczas mikrofalowania. Tkanka mięśniowa schabów charakteryzowała się niskim stopniem utlenienia po obróbce cieplnej i prawdopodobnie to miało wpływ na niewielki spadek aktywności przeciwutleniającej po obróbce cieplnej (Tab.53 i 56).

4.3.3 Mięso wołowe

Obróbki cieplne powodowały spadek aktywności przeciwutleniającej. Największy spadek dotyczył rostbefów gotowanych – prawie 56%. Natomiast w pozostałych obróbkach był niższy i wyniósł 38-48%.

Tabela 57 Aktywność przeciwutleniająca mięsa wołowego surowego i po obróbce cieplnej [$\mu\text{M TE/g m.m./s.m./białka/Nam}$]

	R	G	P	M	S
	suma				
TEAC/g m.m.	13,83	6,27	7,14	7,16	8,52
TEAC/g s.m.	46,49	17,84	23,68	22,13	21,91
TEAC/g białka	184,33	481,47	628,34	831,75	834,06
	wodna				
TEAC/g m.m.	5,61 ^d	2,34 ^{ab}	2,06 ^a	2,61 ^b	2,98 ^c
TEAC/g s.m.	18,86 ^d	6,65 ^a	6,84 ^{ab}	8,06 ^c	7,68 ^{bc}
TEAC/g białka	92,16 ^a	240,73 ^b	314,17 ^c	415,88 ^d	417,03 ^d
	NaCl				
TEAC/g m.m.	6,62 ^d	2,58 ^a	3,31 ^b	2,90 ^{ab}	3,97 ^c
TEAC/g s.m.	22,24 ^d	7,33 ^a	10,97 ^c	8,96 ^b	10,22 ^{bc}
TEAC/g białka	89,05 ^d	40,47 ^a	79,78 ^c	54,26 ^b	72,90 ^c
	metanolowe				
TEAC/g m.m.	1,61 ^b	1,36 ^a	1,77 ^c	1,65 ^b	1,56 ^b
TEAC/g s.m.	5,40 ^b	3,87 ^a	5,86 ^c	5,10 ^b	4,01 ^a

Dane w wierszach oznaczonych tą samą literą nie różnią się istotnie

Na aktywność przeciwutleniającą po obróbce cieplnej składały się: frakcja NaCl w 40-48%, frakcja wodna 29-41% i były proporcjonalnie zbliżone do udziału w surowcu. Spadek aktywności przeciwutleniającej w podobnym stopniu dotyczył dominujących frakcji: NaCl i wodnej, natomiast w przypadku frakcji metanolowej, poza tkankami gotowanymi i smażonymi

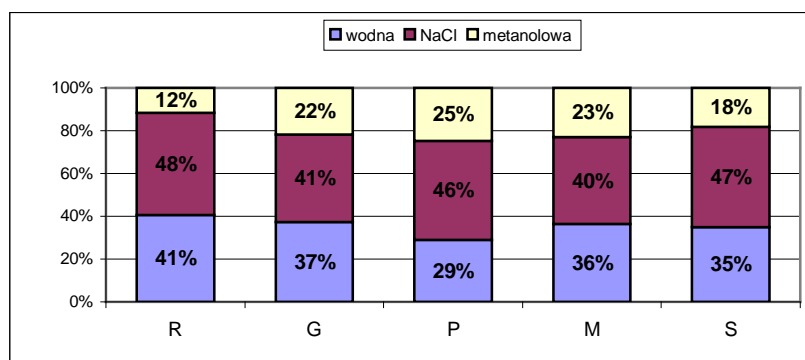
zanotowano wzrost aktywności przeciwutleniającej. Być może związki przeciwutleniające podczas tych obróbek zostały wyekstrahowane do medium grzewczego (Tab.57).

Zawartość białek we frakcjach po obróbkach cieplnych spadła, przy czym bardziej drastyczny spadek dotyczył frakcji wodnej (Tab.58). Aktywność przeciwutleniająca po obróbce termicznej w przeliczeniu na białko w przypadku frakcji wodnej wzrosła a NaCl spadła. Białka mięsa wieprzowego gotowanego miały najniższą aktywność przeciwutleniającą w przeliczeniu na białka rozpuszczalne w wodzie, (zawierało go więcej, może nie przeliczać na białko tylko sprawdzić korelację między zaw. białka a TEAC) natomiast w przypadku rozpuszczalnych w NaCl najmniejsze spadki. Najwyższą aktywnością przeciwutleniającą cechowały się białka rozpuszczalne w wodzie mięsa mikrofalowanego i pieczonego. Mięso mikrofalowane wykazywało także największe spadki we frakcji NaCl.

Tabela 58 Zawartość białka i azotu aminowego we frakcjach łososi surowych i po obróbce cieplnej [g/100g]

	R	G	P	M	S
wodna					
białko	6,09 ^b	0,97 ^a	0,66 ^a	0,63 ^a	0,72 ^a
Nam	0,04 ^a	0,04 ^a	0,06 ^b	0,08 ^b	0,07 ^b
NaCl					
białko	7,43 ^c	6,36 ^c	4,15 ^a	5,34 ^b	5,45 ^b
Nam	0,12 ^b	0,05 ^a	0,06 ^a	0,09 ^b	0,10 ^b
metanolowa					
Nam	0,10 ^a	0,10 ^a	0,11 ^a	0,20 ^b	0,10 ^a

Udziały poszczególnych frakcji w aktywności przeciwutleniającej również zmieniły się po obróbce cieplnej. Zmniejszył się udział frakcji wodnych, najbardziej w rostbefach pieczonych. Frakcje NaCl również zanotowały spadek udziałów w aktywności przeciwutleniającej, w przeciwieństwie do frakcji metanolowych. Najmniejszy wzrost udziału frakcji metanolowych dotyczył mięsa wieprzowego smażonego i związany był prawdopodobnie z wyciekaniem związków o charakterze przeciwutleniaczy do oleju (Tab.57, Rys.42)



Rysunek 42 Udziały frakcji w aktywności przeciwutleniającej rostbefów wołowych surowych i po obróbce cieplnej [%]

Zdolność redukująca mięsa wołowego poddanego obróbce cieplnej obniżyła się w porównaniu z tkankami surowymi a spadek ten był spory: od ponad 47% dla rostbefów smażonych do ponad 76% dla mikrofalowanych (Tab.59, Rys.43).

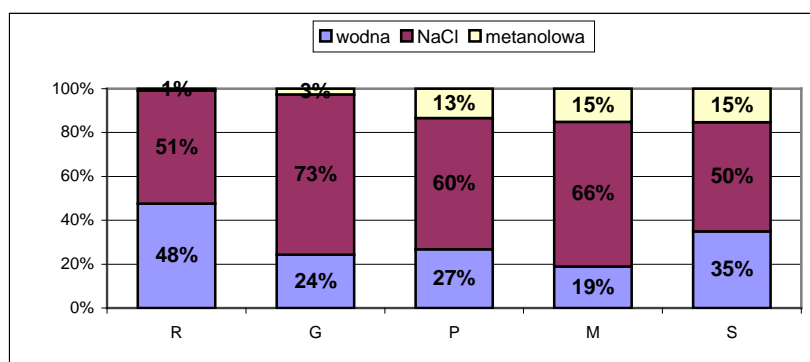
Fracje wodne i NaCl zmniejszyły swoją aktywność po obróbkach, przy czym frakcje wodne bardziej. Największe spadki dotyczyły rostbefów mikrofalowanych, najmniejsze smażonych. Frakcje metanolowe, poza rostbefami gotowanymi, wykazały wzrost zdolności redukującej po obróbce cieplnej – najbardziej smażone (Rys.43).

Tabela 59 Zdolność redukująca frakcji i sumy frakcji rostbefów wołowych surowych i po obróbce cieplnej w przeliczeniu na m.m., s.m., białko, Nam [$\mu\text{M TE/g m.m./s.m./białko/Nam}$]

	R	G	P	M	S
	suma				
FRAP m.m.	3,58	1,12	0,88	0,85	1,88
FRAP s.m.	12,02	3,18	2,90	2,63	4,83
FRAP/g białka	52,74	40,78	48,34	36,19	108,79
	wodna				
FRAP m.m.	1,70 ^d	0,27 ^b	0,23 ^b	0,16 ^a	0,66 ^c
FRAP s.m.	5,73 ^d	0,77 ^b	0,78 ^b	0,50 ^a	1,69 ^c
FRAP/g białka	27,99 ^a	27,94 ^a	35,70 ^b	25,70 ^a	91,65 ^s
	NaCl				
FRAP m.m.	1,84 ^d	0,82 ^b	0,52 ^a	0,56 ^a	0,93 ^c
FRAP s.m.	6,18 ^c	2,32 ^b	1,74 ^a	1,73 ^a	2,40 ^b
FRAP/g białka	24,75 ^c	12,84 ^b	12,64 ^b	10,49 ^a	17,14 ^c
	metanol				
FRAP m.m.	0,03 ^a	0,03 ^a	0,12 ^b	0,13 ^b	0,29 ^c
FRAP s.m.	0,11 ^a	0,08 ^a	0,39 ^b	0,40 ^b	0,74 ^c

Dane w wierszach oznaczone tą samą literą nie różnią się istotnie

Udziały frakcji wodnych w sumie zdolności redukującej zmniejszyły się po obróbce cieplnej: najbardziej w rostbefach gotowanych mikrofalami (o ponad połowę), najslabiej w miesie smażonym. Frakcje NaCl, poza pochodzącymi z rostbefów smażonych zanotowały wzrost wpływu na sumę FRAP. Frakcje metanolowe również miały większy wpływ na sumę zdolności redukującej po obróbkach. (Rys.43).



Rysunek 43 Udziały frakcji w sumie zdolności redukującej rostbefów wołowych surowych i po obróbce cieplnej [%]

Obróbka cieplna mięsa wołowego spowodowała niewielkie zmiany stopnia utlenienia lipidów, z wyjątkiem mikrofalowania, podczas którego zawartość nadtlenków wzrosła prawie pięciokrotnie. Najmniej produktów utlenienia zanotowano w lipidach wołowiny pieczonej

(Tab.60). Stosunkowo wysoki stopień utlenienia wołowiny mikrofalowane może tłumaczyć częściowo intensywniejszy spadek zdolności redukującej tej próby w porównaniu z pozostałymi (Tab.59 i 60).

Tabela 60 Stopień utlenienia lipidów rosbefów wołowych surowych i po obróbce cieplnej

	lipidy [100 g]							tkanka [m.m.]		
	LN	LA	Totox	A232	A268	razem	F436	LN	LA	Totox
R	2,39 ^B	0,97 ^B	7,17	0,77	0,98	1,75	553,96	0,19 ^{AB}	0,08 ^B	0,56
G	2,92 ^C	0,52 ^{AB}	8,11	0,68	0,91	1,59	640,51	0,28 ^B	0,05 ^A	0,77
P	2,33 ^B	0,07 ^A	6,12	0,76	0,91	1,67	381,73	0,16 ^A	0,00 ^A	0,42
M	12,91 ^D	0,26 ^A	33,82	0,43	0,6	1,02	387,6	1,13 ^B	0,02 ^A	2,97
S	1,10 ^A	0,10 ^A	2,95	0,69	0,88	1,57	522,86	0,13 ^A	0,01 ^A	0,34

Dane w kolumnach oznaczone tą samą literą nie różnią się istotnie

4.3.4 Mięso drobiowe

Porównano jak zmienia się aktywność przeciwutleniająca i zdolność redukująca mięśni kurcząt w zależności od rodzaju mięśni: jasne - glikolityczne (piersiowe) i ciemne-lipolityczne (udowe) (doświadczenie I) oraz w zależności od tego, czy poddawano mięśnie piersiowe obróbce cieplnej ze skórą, czy bez skóry, przy czym po obróbce skóra ta była zdejmowana (doświadczenie II).

Doświadczenie I

Aktywność przeciwutleniająca mięśni drobiowych po obróbce cieplnej zmieniła się, ale nie w takim stopniu jak we wcześniejszych omówionych surowcach. Inaczej zachowywały się mięśnie udowe a inaczej piersiowe.

Straty aktywności przeciwutleniającej mięśni piersiowych najmniejsze były dla pieczenia – niespełna 8%, następnie dla mikrofalowania i smażenia 14-15%, a największe dla mięśni piersiowych gotowanych konwencjonalnie w wodzie – 20% (Tab.61).

Aktywność przeciwutleniająca mięśni udowych była wyjściowo niższa od piersiowych. Po obróbkach, poza próbami poddawanych gotowaniu wzrosła – najbardziej w mięsie pieczonym. Obróbki w wysokiej temperaturze: smażenie, pieczenie zwiększyły aktywność przeciwutleniającą mięśni udowych do takiego stopnia, że osiągnęła ona wartość wyższą niż mięśni piersiowych poddawanych takim samym obróbkom cieplnym.

Aktywność przeciwutleniająca frakcji wodnych mięsa drobiowego obniżyła się po obróbce cieplnej. W mięśniach udowych najwyższy spadek nastąpił w mięsie mikrofalowanym a najmniejszy w pieczonym i smażonym. W mięśniach piersiowych po obróbce cieplnej było odwrotnie: największe straty dotyczyły prób pieczonych i smażonych a najmniejsze mikrofalowanych. Frakcje NaCl mięśni kurcząt po obróbkach miały wyższe aktywności przeciwutleniające niż w surowych i w związku z tym stały się dominującą frakcją (Rys.44). Frakcje metanolowe miały znaczący wpływ na aktywność przeciwutleniającą już w surowcu, zwłaszcza mięśniach udowych. I tam obróbka cieplna nie miała istotnego wpływu na

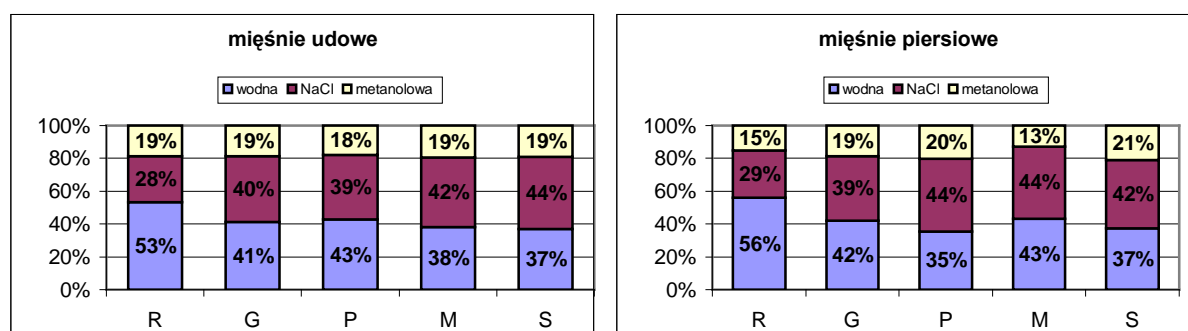
rolę tej frakcji, natomiast w mięśniach piersiowych, poza mikrofalowanymi udział frakcji metanolowej w sumie nieznacznie się zwiększył (Rys. 44).

Tabela 61 Aktywność przeciwutleniająca mięsa drobiowego surowego i po obróbce cieplnej [$\mu\text{M TE/g m.m./s.m.}$]

	m.m.		s.m.		białko	
	udowe	piersiowe	udowe	piersiowe	udowe	piersiowe
suma						
R	9,97	11,45	37,64	11,45	9,97	11,45
G	9,79	9,93	30,8	9,93	9,79	9,93
P	12,16	11,54	31,58	11,54	12,16	11,54
M	10,43	11,23	31,03	11,23	10,43	11,23
S	11,72	10,69	36,46	10,69	11,72	10,69
wodne						
R	5,33 ^{aB}	6,40 ^{bC}	5,33 ^{aB}	6,40 ^{bC}	5,33 ^{aC}	6,40 ^{bC}
G	4,04 ^{aA}	4,18 ^{aA}	4,04 ^{aA}	4,18 ^{aA}	4,04 ^{aB}	4,18 ^{aA}
P	5,21 ^{bB}	4,07 ^{aA}	5,21 ^{bB}	4,07 ^{aA}	5,21 ^{bC}	4,07 ^{aA}
M	3,99 ^{aA}	4,83 ^{bB}	3,99 ^{aA}	4,83 ^{bB}	3,99 ^{aA}	4,83 ^{bB}
S	4,34 ^{aA}	3,98 ^{aA}	4,34 ^{aA}	3,98 ^{aA}	4,34 ^{aB}	3,98 ^{aA}
NaCl						
R	2,77 ^{aA}	3,32 ^{bA}	2,77 ^{aA}	3,32 ^{bA}	2,77 ^{aA}	3,32 ^{bA}
G	3,93 ^{aB}	3,90 ^{aB}	3,93 ^{aB}	3,90 ^{aB}	3,93 ^{aB}	3,90 ^{aA}
P	4,76 ^{aD}	5,13 ^{bE}	4,76 ^{aD}	5,13 ^{bE}	4,76 ^{aC}	5,13 ^{bC}
M	4,41 ^{aC}	4,97 ^{bD}	4,41 ^{aC}	4,97 ^{bD}	4,41 ^{aB}	4,97 ^{bC}
S	5,16 ^{cE}	4,46 ^{aC}	5,16 ^{cE}	4,46 ^{aC}	5,16 ^{bC}	4,46 ^{aB}
metanolowa						
R	1,87 ^{bA}	1,73 ^{aB}	1,87 ^{bA}	1,73 ^{aB}	1,87 ^{aA}	1,73 ^{aA}
G	1,82 ^{aA}	1,85 ^{aB}	1,82 ^{aA}	1,85 ^{aB}	1,82 ^{aA}	1,85 ^{aA}
P	2,20 ^{aC}	2,34 ^{bC}	2,20 ^{aC}	2,34 ^{bC}	2,20 ^{aB}	2,34 ^{aB}
M	2,03 ^{bB}	1,43 ^{aA}	2,03 ^{bB}	1,43 ^{aA}	2,03 ^{bB}	1,43 ^{aA}
S	2,22 ^{aC}	2,25 ^{aC}	2,22 ^{aC}	2,25 ^{aC}	2,22 ^{aB}	2,25 ^{aB}

Dane w segmentach wierszy oznaczone tą samą literą a,b,c... nie różnią się istotnie

Dane w segmentach kolumn oznaczone tą samą literą A,B,C... nie różnią się istotnie



Rysunek 44 Udziały frakcji w sumie aktywności przeciwutleniającej mięśni udowych i piersiowych kurcząt surowych i po obróbce cieplnej [%]

Obróbka cieplna nie wpłynęła negatywnie na zdolność redukującą mięśni piersiowych i udowych kurcząt, a w przypadku prób smażonych zanotowano nawet wzrost tej zdolności (Tab.62). Mięśnie udowe surowe kurcząt miały nieco wyższą zdolność redukującą niż piersiowe. Po obróbkach były one bardziej zbliżone (Tab.62).

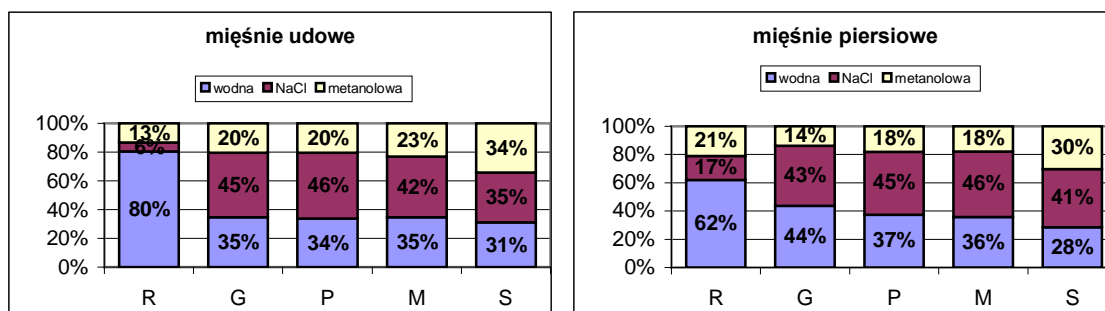
Obróbka cieplna spowodowała spadek aktywności frakcji wodnej i raczej wzrost aktywności frakcji NaCl. Rodzaj obróbki cieplnej nie miał istotnego wpływu na wielkość zmian, z wyjątkiem smażenia.

Tabela 62 Zdolność redukująca mięśni udowych i piersiowych kurcząt surowych i po obróbkach [$\mu\text{M TE/g m.m./s.m./białko}$]

	m.m.		s.m.		białko	
	udowe	piersiowe	udowe	piersiowe	udowe	piersiowe
	suma					
R	1,29	1,19	4,88	4,37	27,24	26,06
G	1,26	1,26	3,97	4,32	30,80	109,04
P	1,22	1,19	3,18	4,02	53,46	78,80
M	1,20	1,14	3,57	3,70	61,05	58,03
S	1,56	1,43	4,86	4,84	110,09	88,21
	wodne					
R	1,04 ^{bc}	0,74 ^{ab}	3,92 ^{bd}	2,71 ^{ad}	25,61 ^{ba}	19,60 ^{aA}
G	0,44 ^{aA}	0,55 ^{aA}	1,38 ^{aC}	1,88 ^{aC}	26,01 ^{aA}	98,52 ^{bE}
P	0,41 ^{aA}	0,44 ^{aA}	1,07 ^{aA}	1,50 ^{bB}	46,09 ^{aB}	62,95 ^{bC}
M	0,42 ^{aA}	0,41 ^{aA}	1,24 ^{ab}	1,32 ^{aA}	55,11 ^{bC}	46,31 ^{aB}
S	0,48 ^{ab}	0,41 ^{aA}	1,51 ^{aC}	1,38 ^{aA}	105,05 ^{ad}	79,66 ^{ad}
	NaCl					
R	0,08 ^{aA}	0,20 ^{bA}	0,31 ^{aA}	0,73 ^{bA}	1,62 ^{aA}	6,46 ^{bA}
G	0,57 ^{aC}	0,54 ^{ab}	1,78 ^{aC}	1,84 ^{aC}	4,78 ^{ab}	10,52 ^{bC}
P	0,56 ^{aC}	0,53 ^{ab}	1,47 ^{ab}	1,80 ^{bBC}	7,37 ^{ad}	15,85 ^{bE}
M	0,50 ^{ab}	0,53 ^{ab}	1,50 ^{ab}	1,71 ^{ab}	5,94 ^{aC}	11,72 ^{bd}
S	0,54 ^{aC}	0,59 ^{aC}	1,69 ^{aC}	2,00 ^{bd}	5,03 ^{ab}	8,54 ^{bB}
	metanolowa					
R	0,17 ^{aA}	0,25 ^{bB}	0,65 ^{aA}	0,92 ^{bC}		
G	0,26 ^{bB}	0,17 ^{aA}	0,81 ^{bB}	0,59 ^{aA}		
P	0,25 ^{ab}	0,22 ^{ab}	0,65 ^{aA}	0,73 ^{ab}		
M	0,28 ^{ab}	0,21 ^{ab}	0,83 ^{bB}	0,67 ^{ab}		
S	0,54 ^{bC}	0,43 ^{aC}	1,67 ^{bC}	1,47 ^{ad}		

Dane w wierszach oznaczone tą samą literą nie różnią się istotnie

Wpływ frakcji na sumę zdolności redukującej zmienił się po obróbce cieplnej. Mięśnie piersiowe i udowe różniły się rolą poszczególnych związków w zdolności redukującej i tym, że obróbka cieplna spowodowała istotne zmiany w składzie związków redukujących. Podczas gdy w surowcu były to głównie związki rozpuszczalne w wodzie, to po obróbce rola tych związków znacznie się zmniejszyła na korzyść rozpuszczalnych w NaCl. W przypadku frakcji metanolowej mięśni udowych szczególną uwagę zwraca udział tej frakcji w próbach smażonych (Rys. 45).



Rysunek 45 Udziały frakcji w sumie zdolności redukującej mięśni udowych i piersiowych kurcząt surowych i po obróbce cieplnej [%]

Lipidy mięśni udowych i piersiowych różniły się istotnie zawartością zarówno pierwotnych, jak i wtórnych produktów utlenienia. Lipidy mięśni udowych zawierały istotnie mniej tych związków. Zawartość nadtlenków w mięśniach udowych najniższa była w mięśniach gotowanych, najwyższa zaś w mięśniach pieczonych i był to zresztą jedyny istotny wzrost zawartości nadtlenków w porównaniu z tkanką surową. Zawartość nadtlenków w lipidach mięśni piersiowych jedynie dla mikrofalowanych była niższa od w surowych, dla gotowanych nie różniła się, a pieczonych i smażonych była istotnie wyższa, przy czym smażonych istotnie najwyższa. W lipidach mięśni udowych ilość wtórnych produktów utlenienia po obróbce cieplnej była istotnie niższa dla mięśni gotowanych i smażonych, w mikrofalowanych była na zbliżonym poziomie a pieczonych istotnie wzrosła. W lipidach mięśni piersiowych jedynie po mikrofalowania znajdowało się istotnie mniej wtórnych produktów utlenienia, po gotowaniu i pieczeniu była ich podobna ilość a po smażeniu istotnie więcej.

Tabela 63 Stopień utlenienia lipidów mięśni udowych i piersiowych kurcząt surowych i po obróbce cieplnej

LN	lipidy [100g]					Tkanka [100g]				
	R	G	M	P	S	R	G	M	P	S
udowe	2,49 ^{ca}	1,34 ^{aa}	2,68 ^{ca}	7,36 ^{da}	1,99 ^{ba}	0,21	0,11	0,41	0,73	0,21
piersiowe	7,88 ^{bb}	8,37 ^{bb}	6,93 ^{ab}	9,32 ^{cb}	15,04 ^{db}	0,24	0,20	0,26	0,31	0,68
LA										
udowe	2,19 ^{ba}	1,18 ^{aa}	2,28 ^{ba}	5,79 ^{ca}	1,25 ^{aa}	0,19	0,09	0,35	0,57	0,14
piersiowe	7,37 ^{bb}	8,20 ^{bb}	6,52 ^{ab}	8,36 ^{bb}	12,29 ^{cb}	0,22	0,20	0,24	0,28	0,56
Totox										
udowe	8,66	4,66	9,25	24,93	6,42	0,74	0,37	1,41	2,47	0,69
piersiowe	27,86	29,96	24,54	32,59	51,39	0,84	0,73	0,91	1,09	2,33
dieny										
udowe	0,51	0,53	0,28	0,43	0,39					
piersiowe	1,25	1,63	1,1	1,14	0,88					
trieny										
udowe	1	1,06	0,72	0,93	0,95					
piersiowe	1,99	2,65	1,88	1,99	1,78					

Wskaźnik utlenienia Totox najwyższy był dla mięśni udowych pieczonych i dla mięśni piersiowych smażonych, najniższy zaś dla mięśni udowych gotowanych i mięśni piersiowych mikrofalowanych (Tab.63). Po przeliczeniu na tkankę zaobserwowano bardzo niski stopień utlenienia mięsa drobiowego, co może tłumaczyć niewielki spadek aktywności przeciwutleniającej i niewielkie zmiany zdolności redukującej.

Doświadczenie II

Aktywność przeciwutleniająca mięśni piersiowych kurcząt poddawanych obróbkom bez skóry nie miała raczej wpływu na aktywność przeciwutleniającą mięśni piersiowych po obróbkach cieplnych, ani na aktywność przeciwutleniającą poszczególnych frakcji (Tab.64). Chociaż z danych z tabeli 65 wynika, że zawartość białka we frakcjach z prób bez skóry po obróbkach cieplnych w wysokiej temperaturze i mikrofalowaniu była niższa, i dotyczyło to zarówno białek wyekstrahowanych wodą jak i NaCl (Tab.65).

Tabela 64 Aktywność przeciwutleniająca mięśni piersiowych kurcząt surowych i po obróbce cieplnej ze skórą i bez skóry [$\mu\text{M TE/g m.m./s.m./białko}$]

	m.m.		s.m.		białko	
	ze skórą	bez skóry	ze skórą	bez skóry	ze skórą	bez skóry
	suma					
R	16,82	16,82	77,11	77,11	217,36	217,36
G	14,27	14,64	55,89	56,30	383,60	376,27
P	14,98	14,48	57,69	57,44	268,36	350,28
M	15,54	15,12	54,15	58,83	243,74	319,85
S	16,87	16,04	63,31	59,71	305,00	434,55
	wodne					
R	7,66 ^{aC}	7,66 ^{aC}	35,12 ^{aD}	35,12 ^{aD}	148,83 ^{aA}	148,83 ^{aA}
G	5,47 ^{aA}	5,11 ^{aA}	21,43 ^{bA}	19,65 ^{aA}	284,76 ^{bD}	234,65 ^{aB}
P	5,87 ^{aA}	6,10 ^{aB}	22,60 ^{aB}	24,20 ^{bC}	180,88 ^{aB}	264,85 ^{bC}
M	5,90 ^{bA}	5,32 ^{aA}	20,57 ^{aA}	20,71 ^{aA}	171,54 ^{aB}	220,69 ^{bB}
S	6,67 ^{bB}	5,95 ^{aB}	25,02 ^{bC}	22,16 ^{aB}	215,84 ^{aC}	279,80 ^{bC}
	NaCl					
R	6,48 ^{aC}	6,48 ^{aB}	29,73 ^{aD}	29,73 ^{aD}	68,53 ^{aA}	68,53 ^{aA}
G	5,97 ^{aA}	6,32 ^{aB}	23,38 ^{aB}	24,30 ^{aB}	98,84 ^{aD}	141,62 ^{bD}
P	5,97 ^{aA}	5,75 ^{aA}	22,98 ^{aB}	22,82 ^{aA}	87,48 ^{bC}	85,43 ^{aB}
M	6,15 ^{aB}	6,65 ^{aC}	21,43 ^{aA}	25,88 ^{bC}	72,21 ^{aB}	99,15 ^{bC}
S	6,91 ^{bC}	6,60 ^{aC}	25,95 ^{bC}	24,56 ^{aB}	89,16 ^{aC}	154,74 ^{bE}
	metanolowa					
R	2,67 ^{aA}	2,67 ^{aA}	12,26 ^{aB}	12,26 ^{aB}		
G	2,83 ^{aA}	3,21 ^{aB}	11,09 ^{aA}	12,35 ^{bB}		
P	3,14 ^{bA}	2,63 ^{aA}	12,11 ^{bB}	10,43 ^{aA}		
M	3,49 ^{aB}	3,14 ^{aAB}	12,15 ^{aB}	12,24 ^{aB}		
S	3,29 ^{aAB}	3,49 ^{aB}	12,34 ^{aB}	12,98 ^{bB}		

Tabela 65 Zawartość białka i azotu aminowego w mięsie drobiowym surowym i po obróbce cieplnej ze skórą i bez skóry [g/100g]

białko		R	G	P	M	S
		wodna				
	ze skórą	5,15 ^{cA}	1,92 ^{aA}	3,25 ^{bB}	3,44 ^{bB}	3,09 ^{bB}
	bez skóry	5,15 ^{bA}	2,18 ^{aA}	2,30 ^{aA}	2,41 ^{aA}	2,13 ^{aA}
		NaCl				
	ze skórą	9,46 ^{cA}	6,04 ^{aB}	6,82 ^{aA}	8,52 ^{bB}	7,75 ^{bB}
	bez skóry	9,46 ^{cA}	4,46 ^{aA}	6,74 ^{bA}	6,71 ^{bA}	4,26 ^{aA}
		metanolowa				
	ze skórą					
	bez skóry					
azot niebiałkowy		R	G	P	M	S
		wodna				
	ze skórą	2,81 ^{abA}	3,63 ^{cA}	2,48 ^{aA}	3,00 ^{bA}	3,15 ^{bA}
	bez skóry	3,26 ^{abA}	4,21 ^{cB}	2,92 ^{aA}	3,53 ^{bB}	3,75 ^{bB}
		NaCl				
	ze skórą	9,27 ^{dA}	3,00 ^{bA}	5,27 ^{cA}	1,97 ^{aA}	1,95 ^{aA}
	bez skóry	10,51 ^{dB}	3,40 ^{bA}	5,97 ^{cB}	2,28 ^{aA}	1,89 ^{aA}
		metanolowa				
	ze skórą	4,71 ^{aA}	4,37 ^{aA}	4,62 ^{aA}	5,59 ^{bA}	4,64 ^{aA}
	bez skóry	5,69 ^{ab}	5,29 ^{ab}	5,54 ^{ab}	6,59 ^{bB}	5,47 ^{ab}

Dane w segmentach wierszy oznaczone tą samą literą a,b,c... nie różnią się istotnie
Dane w segmentach kolumn oznaczone tą samą literą A,B,C... nie różnią się istotnie

Zdolność redukująca mięśni piersiowych poddawanych obróbce ze skórą lub bez skóry uległa obniżeniu po gotowaniu, w większym stopniu w przypadku prób ze skórą. Próby piersiowe bez skóry wykazały również spadek zdolności redukującej po pieczeniu (Tab.66).

Tabela 66 Zdolność redukująca mięśni piersiowych kurcząt surowych i po obróbce cieplnej ze skórą i bez [µM TE/g m.m./s.m.]

	m.m.		s.m.		białko	
	ze skórą	bez skóry	ze skórą	bez skóry	ze skórą	bez skóry
	suma					
R	1,65	1,65	7,59	7,59	21,74	21,74
G	1,04	1,21	4,07	4,67	21,42	28,35
P	1,71	1,29	6,57	5,11	29,96	25,55
M	1,59	1,55	5,55	6,04	22,13	29,81
S	1,81	2,13	6,81	7,94	28,23	52,3
	wodne					
R	0,72 ^{aD}	0,72 ^{aD}	3,29 ^{aD}	3,29 ^{aD}	13,95 ^{aA}	13,95 ^{aA}
G	0,23 ^{aA}	0,31 ^{bA}	0,90 ^{aA}	1,18 ^{bA}	12,01 ^{aA}	14,14 ^{aAB}
P	0,56 ^{bC}	0,36 ^{aAB}	2,17 ^{aC}	1,41 ^{aAB}	17,39 ^{bB}	15,43 ^{aB}
M	0,44 ^{aB}	0,43 ^{aB}	1,54 ^{aB}	1,65 ^{aB}	12,88 ^{aA}	17,62 ^{bC}
S	0,51 ^{aB}	0,55 ^{aC}	1,90 ^{aC}	2,03 ^{aC}	16,37 ^{aB}	25,66 ^{bD}
	NaCl					
R	0,74 ^{aB}	0,74 ^{aAB}	3,38 ^{aB}	3,38 ^{aC}	7,79 ^{aA}	7,79 ^{aA}
G	0,57 ^{aA}	0,63 ^{aA}	2,22 ^{aA}	2,44 ^{aA}	9,40 ^{aB}	14,21 ^{bC}
P	0,86 ^{bBC}	0,68 ^{aA}	3,30 ^{bB}	2,70 ^{aAB}	12,57 ^{bC}	10,12 ^{aB}
M	0,79 ^{aB}	0,82 ^{aB}	2,74 ^{aA}	3,18 ^{aB}	9,25 ^{aB}	12,19 ^{bB}
S	0,92 ^{aC}	1,14 ^{bC}	3,45 ^{aB}	4,23 ^{bD}	11,86 ^{aC}	26,64 ^{bD}
	metanolowa					
R	0,20 ^{aA}	0,20 ^{aA}	0,92 ^{aA}	0,92 ^{aA}		
G	0,24 ^{aAB}	0,27 ^{aB}	0,94 ^{aA}	1,05 ^{aAB}		
P	0,28 ^{aB}	0,25 ^{aAB}	1,09 ^{aAB}	1,00 ^{aA}		
M	0,36 ^{aC}	0,31 ^{aB}	1,26 ^{aBC}	1,21 ^{aB}		
S	0,39 ^{aC}	0,45 ^{aC}	1,46 ^{aC}	1,68 ^{bC}		

Dane w segmentach wierszy oznaczone literami a,b,c... nie różnią się istotnie
Dane w segmentach kolumn oznaczone literami A,B,C... nie różnią się istotnie

Lipidy mięśni piersiowych charakteryzowały się wysoką liczbą nadtlenkową. Podczas obróbki cieplnej następował rozpad nadtlenków i wzrost zawartości związków karbonylowych. Obecność skóry zmniejszała rozpad nadtlenków, ale katalizowała jednocześnie tworzenie się wtórnych produktów utlenienia, zwłaszcza podczas gotowania i pieczenia. Zauważono, że podczas mikrofalowania prób ze skórą powstało więcej trienów (Tab.67).

Tabela 67 Stopień utlenienia lipidów mięśni piersiowych kurcząt poddawanych obróbce cieplnej ze skórą i bez skóry

LN	lipidy [100g]					tkanka [100g]				
	R	G	P	M	S	R	G	P	M	S
Bez skóry	32,96 ^{eA}	6,18 ^{bA}	7,91 ^{cA}	10,40 ^{dA}	2,19 ^{aA}	0,66 ^{cA}	0,14 ^{aA}	0,29 ^{bA}	0,25 ^{bA}	0,06 ^{aA}
Ze skórą	32,96 ^{eA}	9,59 ^{cB}	7,41 ^{aA}	27,24 ^{dB}	7,91 ^{aB}	0,66 ^{bA}	0,27 ^{aB}	0,21 ^{aA}	0,97 ^{cB}	0,21 ^{aB}
LA										
Bez skóry	1,62 ^{aA}	4,11 ^{bA}	11,98 ^{cA}	10,17 ^{cB}	5,90 ^{bB}	0,03 ^{aA}	0,09 ^{bA}	0,44 ^{dA}	0,25 ^{cB}	0,17 ^{bcB}
Ze skórą	1,62 ^{aA}	16,14 ^{cB}	15,52 ^{cB}	2,82 ^{bA}	3,55 ^{bA}	0,03 ^{aA}	0,45 ^{cB}	0,45 ^{cA}	0,10 ^{bA}	0,09 ^{bB}
Totox										
Bez skóry	87,32	20,18	32,55	37,21	11,59	1,75 ^{cA}	0,45 ^{aA}	1,19 ^{bB}	0,90 ^{bA}	0,34 ^{aA}
Ze skórą	87,32	41,07	34,79	73,64	24,12	1,75 ^{cA}	1,15 ^{bB}	1,01 ^{bA}	2,61 ^{dB}	0,64 ^{aB}
dieny										
Bez skóry	2,21	1,71	1,61	1,14	1,36					
Ze skórą	2,21	1,36	1,18	1,46	1,57					
trieny										
Bez skóry	4,02	2,6	2,5	2,06	2,3					
Ze skórą	4,02	2,06	2,2	3,11	3					
F436										
Bez skóry	2051,58	1893,15	1986,96	1468,46	1634,41					
Ze skórą	2051,58	2563,65	2275,38	1410,53	1436,21					

4.3.5 Zmiany aktywności przeciwutleniającej pod wpływem obróbek cieplnych – podsumowanie

Dla lepszego zobrazowania zmian zachodzących podczas obróbki cieplnej w surowcach zwierzęcych wyniki przedstawiono w postaci zbiorczej w tabelach 68-69 i na rysunkach 46-49. W tabeli 68 kolorami przedstawiono pozostałość aktywności przeciwutleniającej po obróbce cieplnej w stosunku do mięsa surowego: kolor czerwony oznacza najmniejsze pozostałości (wrażliwość termiczną), następnie przez pomarańczowy, żółty aż do zielonego straty aktywności przeciwutleniającej są coraz mniejsze maleje (wzrost oporności termicznej). Kolor ciemnozielony symbolizuje wzrost aktywności przeciwutleniającej w stosunku do surowca.

W zależności od rodzaju surowca i sposobu obróbki cieplnej w surowcach zwierzęcych pozostało od ok. 28 do prawie 100% aktywności przeciwutleniającej, natomiast w mięsie kurcząt i jednej partii schabów zanotowano nawet wzrost aktywności przeciwutleniającej (Tab.68, Zał. 15). Z danych tych wynika, że spadki dotyczyły przede wszystkim ryb: pozostało w nich tylko od ok. 28% do prawie 65% aktywności przeciwutleniającej. Najmniej traciły dorsze i łososie. Mięso pozostałych badanych gatunków zwierząt było mniej wrażliwe termicznie, poza wołowiną, w której po obróbce cieplnej pozostało od 45 do ponad 61% aktywności przeciwutleniającej próby surowej. Najmniej wrażliwe okazało się mięso drobiowe. Zanotowano od 15% spadku do 22% wzrostu aktywności przeciwutleniającej tego surowca (Tab.68).

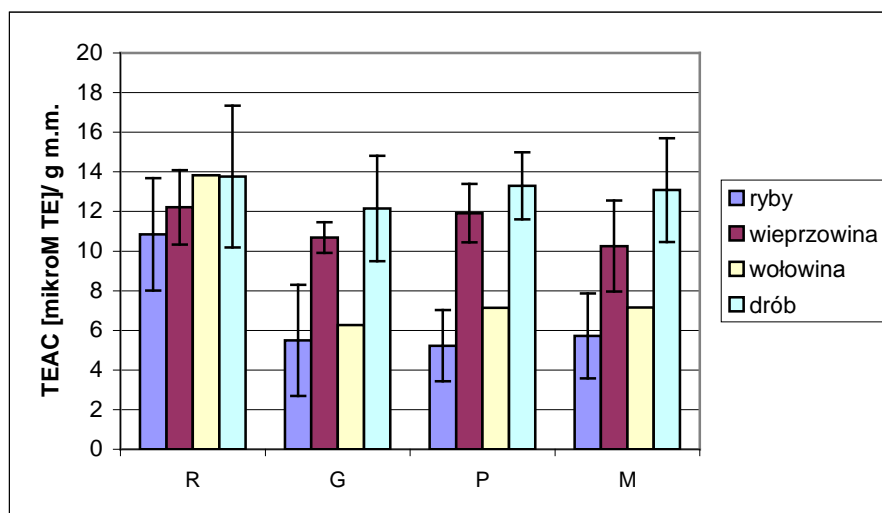
Fracje składające się na aktywność przeciwutleniającą zmieniały się po obróbce cieplnej surowca. W badanym mięsie największe zmiany dotyczyły frakcji NaCl i wodnej: pozostało z nich od kilku do ponad 180% aktywności przeciwutleniającej surowca. Największe spadki dotyczyły ryb i wołowiny. Najmniej wrażliwą na obróbkę cieplną frakcją NaCl charakteryzowało się mięso drobiowe, a frakcją wodną wieprzowe. Aktywność przeciwutleniająca frakcji metanolowej po obróbce cieplnej była generalnie wyższa niż surowca (Tab.68).

Wyniki po przeliczeniu na s.m. świadczą o tym że po wyeliminowaniu zmian masy, głównie wody, spadki termiczne aktywności przeciwutleniającej dotyczyły wszystkich surowców, w największym stopniu ryb (Zał.17)

Tabela 68 Zestawienie pozostałości aktywności przeciwutleniającej surowców zwierzęcych po obróbkach cieplnych [μ MTE/g m.m.]

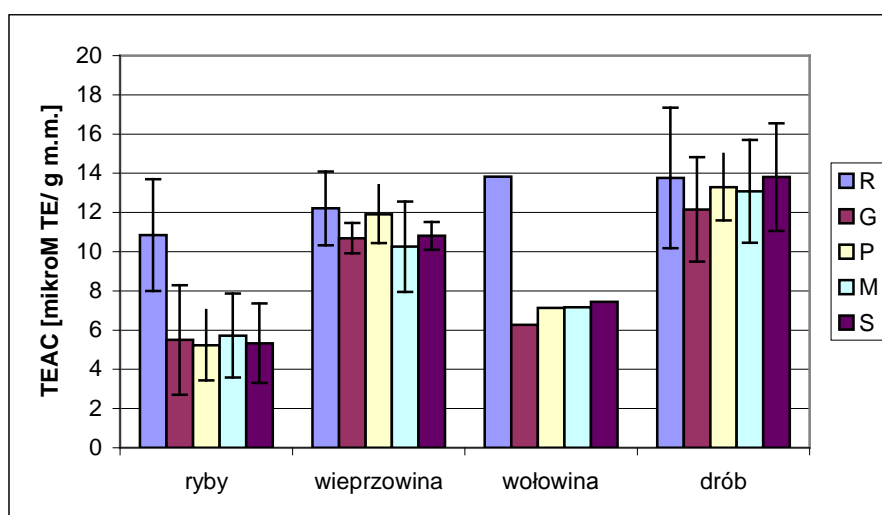
SUMA	śledź	losoś	dorsz	pstrągF	pstrągB	pstrągC	schabA	schabB	schabC	rostbef	pierśAb/s	pierśAz/s	pierśB	udoB
gotowane	27,99%	53,11%	64,73%	25,05%	46,97%	45,32%	81,11%	88,16%	95,43%	45,33%	87,03%	84,86%	86,70%	98,22%
pieczone	41,77%	48,03%	53,84%		35,39%	45,62%	92,12%	86,29%	117,62%	51,61%	86,13%	89,09%	106,22%	115,79%
mikrofalowane	41,32%	49,09%	61,88%			53,69%	90,40%	71,58%	89,29%	51,76%	89,88%	92,42%	98,08%	104,64%
smażone	43,16%	52,83%	57,43%		38,19%	45,62%	77,40%	84,02%	108,16%	61,57%	95,38%	100,29%	99,25%	122,02%
wodna														
gotowane	27,42%	51,74%	47,66%	14,79%	39,72%	64,67%	70,46%	90,26%	81,54%	41,64%	66,67%	71,43%	65,26%	75,83%
pieczone	42,65%	55,98%	12,35%		42,12%	85,33%	104,01%	86,67%	143,59%	36,78%	79,65%	76,62%	81,34%	76,28%
mikrofalowane	40,27%	48,65%	12,21%			180,98%	106,60%	57,44%	83,08%	46,50%	69,48%	77,06%	75,47%	74,79%
smażone	53,49%	55,21%	14,12%		39,72%	85,33%	99,78%	63,59%	104,62%	53,19%	77,71%	87,01%	62,17%	97,66%
NaCl														
gotowane	19,46%	43,68%	73,78%	24,14%	43,07%	33,61%	82,35%	82,00%	100,43%	38,92%	97,44%	92,07%	117,55%	141,92%
pieczone	29,33%	33,48%	85,86%		23,17%	25,74%	98,67%	55,75%	112,02%	50,00%	88,75%	92,07%	143,50%	185,25%
mikrofalowane	21,73%	37,92%	97,89%			7,45%	94,08%	46,25%	91,42%	43,81%	102,56%	94,88%	149,74%	159,24%
smażone	21,31%	40,80%	84,58%		33,25%	25,74%	68,25%	58,25%	112,02%	60,05%	101,79%	106,65%	154,72%	171,81%
metanolowa														
gotowane	87,54%	121,33%	127,66%	50,60%	150,00%	102,14%	95,30%	110,10%	104,00%	84,69%	120,11%	105,87%	106,77%	97,28%
pieczone	122,68%	114,67%	121,06%		64,79%	127,14%	58,22%	215,87%	96,75%	110,05%	98,32%	117,60%	126,74%	125,46%
mikrofalowane	177,19%	125,33%	162,19%			166,43%	56,13%	209,13%	93,25%	102,87%	117,60%	130,45%	82,63%	108,82%
smażone	154,69%	124,00%	181,38%		61,90%	127,14%	62,41%	236,54%	107,00%	97,13%	130,45%	122,91%	129,96%	117,63%
	0-25% aktywności przeciwutleniającej próby surowej													
	25-50% aktywności przeciwutleniającej próby surowej													
	50-75% aktywności przeciwutleniającej próby surowej													
	75-100% aktywności przeciwutleniającej próby surowej													
	ponad 100% aktywności przeciwutleniającej próby surowej													

Jak wynika z danych z rysunku 46, gdzie zestawiono badane surowce w grupach, mięso surowe poszczególnych grup surowców zwierzęcych charakteryzowało się zbliżoną średnią pojemnością przeciwutleniającą. Po obróbce cieplnej wyraźny stał się podział tych grup ze względu na wrażliwość termiczną zawartych w nich związków przeciwutleniających: surowce o wysokiej wrażliwości: ryby i wołowina oraz o niskiej wrażliwości: wieprzowina i drób.



Rysunek 46 Zestawienie pojemności przeciwutleniającej grup surowców pochodzenia zwierzęcego: surowych i po obróbce cieplnej [$\mu\text{M TE/g m.m.}$]

Z danych w tabeli 47 wynika, że sposób obróbki cieplnej miał mniejsze znaczenie dla pojemności przeciwutleniającej niż rodzaj surowca. (Rys. 47).



Rysunek 47 Zestawienie wpływu sposobu obróbki cieplnej na grupy surowców zwierzęcych [$\mu\text{M TE/ g m.m.}$]

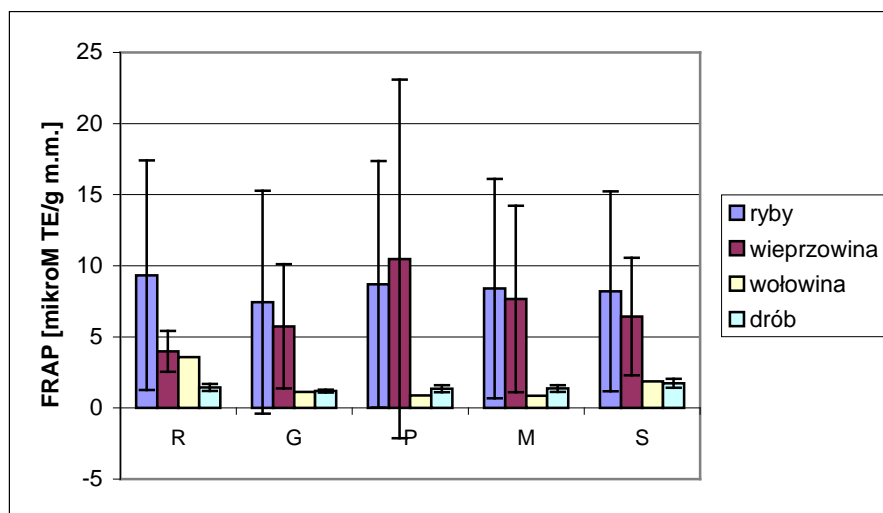
Zdolność redukująca surowców pochodzenia zwierzęcego pod wpływem obróbki cieplnej ulegała różnym zmianom: wzrostowi, a w niektórych surowcach spadkowi od kilku do 75%. Wzrost dotyczył prawie wszystkich schabów i mięśni piersiowych poddawanych obróbkom ze skórą. Największe spadki zdolności redukującej wykazała wołowina, szczególnie mikrofalowana i pieczona (ponad 75%). W rybach w zależności od gatunku po obróbkach cieplnych zanotowano od 60% dla dorszy mikrofalowanych aż do 165% aktywności przeciwutleniającej próby surowej dla jednej z partii pstrągów. Odwrotnie niż w aktywności przeciwutleniającej największe spadki zdolności redukującej w rybach dotyczyły dorszy i łososi (Tab.69, Zał. 17-18).

Tabela 69 Zestawienie pozostałości zdolności redukującej surowców zwierzęcych podczas obróbek cieplnych [$\mu\text{MTE/g m.m.}$]

SUMA	śledź	losoś	dorsz	pstrągB	pstrągC	schabA	schabB	schabC	rostbef	pierśAb/s	pierśAz/s	pierśB	udoB
gotowane	93,84%	67,22%	70,12%	137,85%	60,75%	190,91%	86,77%	117,97%	31,26%	73,38%	62,75%	106,57%	97,56%
pieczone	102,59%	87,48%	59,36%	140,91%	88,86%	444,37%	87,71%	115,08%	24,49%	77,94%	103,09%	100,63%	94,72%
mikrofalowane	85,74%	69,59%	56,79%		112,91%	270,25%	140,09%	107,57%	23,78%	93,84%	96,27%	96,40%	92,75%
smażone	89,21%	79,99%	110,15%	156,47%	79,22%	197,84%	112,73%	144,85%	52,50%	129,00%	109,70%	120,43%	120,90%
wodna													
gotowane	112,29%	27,43%	75,65%	113,78%	38,41%	320,36%	78,19%	122,65%	15,91%	42,86%	32,14%	74,82%	42,19%
pieczone	116,46%	81,01%	68,63%	41,33%	100,23%	994,62%	48,26%	104,53%	13,76%	49,49%	78,57%	60,39%	39,56%
mikrofalowane	92,30%	35,86%	67,53%		102,42%	531,41%	99,54%	124,92%	9,46%	59,18%	61,73%	55,53%	40,01%
smażone	106,48%	52,32%	130,26%	132,84%	91,12%	338,81%	66,13%	142,72%	38,49%	76,02%	70,41%	55,19%	46,56%
NaCl													
gotowane	79,86%	89,88%	25,63%	148,54%	68,38%	154,81%	102,49%	104,11%	44,42%	86,07%	77,11%	271,28%	690,24%
pieczone	89,24%	85,55%	33,75%	209,74%	80,86%	297,11%	122,12%	105,94%	28,49%	92,54%	116,42%	268,05%	688,73%
mikrofalowane	81,54%	87,86%	42,50%		114,77%	199,35%	189,10%	84,93%	30,48%	110,95%	106,97%	265,76%	615,47%
smażone	70,43%	91,91%	86,88%	183,82%	66,33%	158,70%	136,45%	100,68%	50,80%	154,23%	124,88%	295,63%	660,31%
metanolowa													
gotowane	82,23%	93,33%	278,13%	430,94%	82,17%	532,09%	71,05%	151,82%	90,00%	136,36%	119,83%	69,05%	149,76%
pieczone	117,28%	123,70%	166,32%	-766%	134,11%	1653,95%	157,37%	168,32%	355,00%	126,45%	142,15%	85,95%	145,03%
mikrofalowane	75,21%	97,04%	104,86%		146,51%	883,26%	160,53%	140,92%	390,00%	155,37%	180,99%	82,02%	162,49%
smażone	125,16%	120,00%	182,99%	-1008%	187,98%	562,79%	258,42%	291,42%	870,00%	226,45%	195,04%	173,01%	313,71%

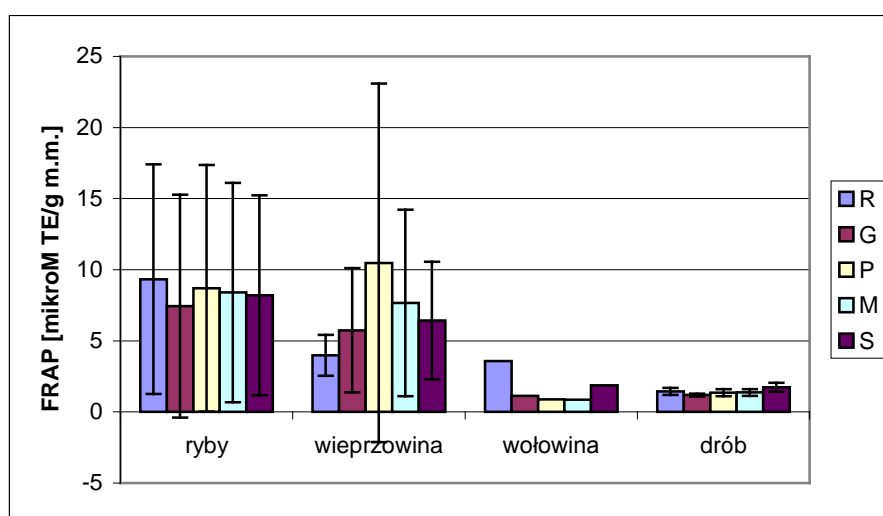
	0-25% aktywności przeciwutleniającej próby surowej
	25-50% aktywności przeciwutleniającej próby surowej
	50-75% aktywności przeciwutleniającej próby surowej
	75-100% aktywności przeciwutleniającej próby surowej
	ponad 100% aktywności przeciwutleniającej próby surowej

Z zestawienia zdolności redukującej dla grup surowców zwierzęcych na rys. 48 wynika, że surowce te różnią się zarówno zdolnością redukującą w próbach surowych jak i po obróbce cieplnej. Generalnie najwyższą zdolność redukującą i niewielką wrażliwość na jej straty pod wpływem obróbki cieplnej miały ryby. Wieprzowina po obróbce cieplnej wykazywała nawet ponad dwukrotny wzrost zdolności redukującej. Mięso wołowe wykazało podobnie jak w aktywności przeciwutleniającej największe ze wszystkich surowców straty zdolności redukującej pod wpływem obróbki cieplnej. Mięso drobiowe surowe miało najniższą zdolność redukującą z badanych surowców, a obróbka cieplna nie wpłynęła na nią znacząco (Rys. 48).



Rysunek 48 Zestawienie zdolności redukującej grup surowców pochodzenia zwierzęcego: surowych i po obróbce cieplnej [$\mu\text{M TE/g m.m.}$]

Sposób obróbki cieplnej, podobnie jak w TEAC, wpływał w mniejszym stopniu na zdolność redukującą mięsa niż rodzaj surowca. W przypadku wieprzowiny pieczenie powodowało zmiany zdolności redukującej o zdecydowanie różnym kierunku w zależności od partii.



Rysunek 49 Zestawienie wpływu sposobu obróbki cieplnej na grupy surowców zwierzęcych [$\mu\text{M TE/g m.m.}$]

4.4 Wpływ dodatku soli do gotowania

4.4.1 Ryby

Dorsze bałtyckie

Dorsze bałtyckie gotowane w wodzie z dodatkiem 1% NaCl miały nieco wyższą aktywność przeciwutleniającą niż dorsze gotowane w samej wodzie, a przyczyniła się do tego aktywność przeciwutleniająca frakcji NaCl – wyższa o prawie 16% i metanolowej – wyższa o ponad 10% w dorszach gotowanych z solą. Powodem tego była głównie lepsza ekstrahowalność białek miofibrylarnych (Tab.70).

Podobne zależności dotyczyły zdolności redukujących.

Tabela 70 Aktywność przeciwutleniająca TEAC i zdolność redukująca FRAP dorszy gotowanych w wodzie z i bez dodatku soli

	TEAC [μ M TE/ g m.m.]			
	suma	wodna	5%NaCl	metanolowa
G	8,39	2,86 ^A	4,60 ^A	0,93 ^A
GS	8,96	2,62 ^A	5,32 ^B	1,03 ^B
GS/G	106,86%	91,55%	115,66%	110,38%
FRAP [μ M TE/ g m.m.]				
	suma	wodna	5%NaCl	metanolowa
G	2,67	0,75 ^B	0,60 ^A	1,32 ^B
GS	2,88	0,61 ^A	1,06 ^B	1,21 ^A
GS/G	107,53%	81,46%	175,61%	91,39%
białko [g/100g]				
	suma	wodna	5%NaCl	metanolowa
G		2,45 ^A	6,26 ^A	
GS		2,37 ^A	7,19 ^B	
GS/G		96,80%	114,71%	

Dane w kolumnach oznaczone tą samą literą nie różnią się istotnie

Obecność soli podczas gotowania nie wpłynęła istotnie na aktywność przeciwutleniającą i zdolności redukujące wywarów. Ich aktywność wyniosła 1,17 μ MTE/ g m.m., co stanowiło ok. 12% sumy aktywności przeciwutleniającej, mimo że do wywaru z gotowania w obecności soli przeszło nieco mniej białka (Tab.71).

Wydaje się że białka wyekstrahowane do wywaru w obecności soli miały niższą aktywność przeciwutleniającą a wyższe zdolności redukujące niż gotowane w samej wodzie.

Tabela 71 Aktywność przeciwutleniająca TEAC i zdolność redukująca FRAP wywarów z gotowania dorszy gotowanych w wodzie z i bez dodatku soli

	TEAC.	FRAP	zaw. białka [g/100g]
G	1,17 ^A	0,02 ^A	0,94 ^B
GS	1,17 ^A	0,04 ^A	0,71 ^A
GS/G	100,46%	247,83%	75,53%

Dane w kolumnach oznaczone tą samą literą nie różnią się istotnie

Dodatek soli do gotowania ryby wpłynął istotnie na poziom utlenienia lipidów: zwiększył ilość nadtlenków i zmniejszył związków karbonylowych (Tab.72). Mimo że sól katalizowała utlenienie lipidów, to ze względu na ich małą zawartość w dorszu nie miało to istotnego wpływu na stopień utlenienia lipidów tkanki i dlatego prawdopodobnie nie obniżyło aktywności przeciwutleniającej mięsa dorsza (Tab.72).

Tabela 72 Stopień utlenienia lipidów dorszy

Lipidy [100g]			
	LN mgO*	LA	Totox
G	14,79 ^A	1,75 ^B	40,2
GS	17,60 ^B	0,72 ^A	46,48
GS/G	119,00%	40,94%	115,60%
Tkanka [100g]			
	LN	LA	Totox
G	0,18 ^A	0,02 ^A	0,49
GS	0,20 ^A	0,01 ^A	0,53
GS/G	109,32%	37,80%	106,22%
struktury sprzężone i utlenione lipidy [1cm/1%]			
	dieny	trieny	F436
G	2,92	3,29	1279,93
GS	3,41	3,49	1217,13
GS/G	116,78%	105,92%	95,09%

Dane w kolumnach oznaczone tą samą literą nie różnią się istotnie

Łososie atlantyckie

Dodatek soli do gotowania obniżył nieznacznie aktywność przeciwutleniającą i zdolność redukującą mięśni łososi i było to związane wyłącznie z frakcją NaCl (Tab.73).

Tabela 73 Aktywność przeciwutleniająca TEAC i zdolność redukująca FRAP łososi gotowanych w wodzie z i bez dodatku soli

TEAC [$\mu\text{M TE/ g m.m.}$]				
	suma	wodna	5%NaCl	metanolowa
G	6,92	2,24 ^A	3,30 ^B	1,37 ^A
GS	5,97	2,14 ^A	2,46 ^A	1,37 ^A
GS/G	86,33%	95,52%	74,62%	99,45%
FRAP [$\mu\text{M TE/ g m.m.}$]				
	suma	wodna	5%NaCl	metanolowa
G	1,59	0,24 ^A	1,14 ^B	0,21 ^A
GS	1,29	0,22 ^A	0,80 ^A	0,27 ^A
GS/G	81,23%	92,31%	70,42%	127,78%
białko [g/100g]				
		wodna	5%NaCl	
G		1,74 ^A	4,87 ^B	
GS		1,79 ^A	4,54 ^A	
GS/G		97,39%	93,18%	

Dane w kolumnach oznaczone tą samą literą nie różnią się istotnie

Podobnie jak w przypadku dorszy aktywność przeciwutleniająca i zdolność redukująca wywaru wynosiła ok. 10%, w porównaniu z wynikami dla tkanki, niezależnie czy uzyskano go podczas gotowania ryby gotowanej z solą, czy bez (Tab.74).

Tabela 74 Aktywność przeciwutleniająca TEAC i zdolność redukująca FRAP wywarów z gotowania łososi w wodzie z i bez dodatku soli

	TEAC [$\mu\text{TE/ g m.m.}$]	FRAP [$\mu\text{TE/ g m.m.}$]	Białko [g/100g]
G	0,81 ^A	0,18 ^A	0,85 ^B
GS	0,72 ^A	0,20 ^A	0,51 ^A
GS/G	88,82%	109,15%	

Dane w kolumnach oznaczone tą samą literą nie różnią się istotnie

Obecność soli katalizowała powstawanie nadtlenków i wtórnych produktów utlenienia lipidów oraz zwiększyła zawartość struktur sprzężonych. Wyższe było również utlenienie po przeliczeniu na tkankę, co prawdopodobnie tłumaczy zmniejszoną aktywność przeciwutleniającą i zdolności redukujące prób gotowanych z solą (Tab.73 i 75)

Tabela 75 Stopień utlenienia lipidów i tkanki mięśniowej łososi

Lipidy [100g]			
	LN mgO*	LA	Totox
G	4,19 ^A	0,17 ^A	11,07
GS	5,60 ^B	0,72 ^B	15,28
GS/G	133,58%	421,16%	138,03%
Tkanka [100g]			
	LN	LA	Totox
G	0,66 ^A	0,03 ^A	1,74
GS	0,98 ^B	0,13 ^B	2,67
GS/G	148,05%	469,15%	152,90%
Lipidy [1cm/1%]			
	dieny	trieny	F436
G	2,92	3,29	1279,93
GS	3,41	3,49	1217,13
GS/G	116,78%	105,92%	95,09%

Dane w kolumnach oznaczone tą samą literą nie różnią się istotnie

4.4.2 Mięso wieprzowe

Średnia całkowita pojemność przeciwutleniająca trzech partii mięsa wieprzowego, w zależności od tego czy gotowano je w obecności soli, czy samej wodzie nie wykazywała istotnych różnic (Tab.76). Dodatek soli do gotowania powodował obniżenie aktywności jednej partii schabu na trzy badane partie (Zał. 12)

Także zdolność redukująca – średnia dla trzech partii nie zmieniła się istotnie po dodaniu soli do gotowania. Należy jednak dodać, że w jednej partii na trzy zanotowano istotne obniżenie zdolności redukujących, ale nie dotyczyło to tej samej, która wyróżniała się aktywnością przeciwutleniającą (Tab.76, Zał. 12).

Tabela 76 Średnia aktywność przeciwutleniająca TEAC, zdolność redukująca FRAP i zawartość białka schabów wieprzowych

		suma	wodna	NaCl	metanolowa
TEAC [μ M TE/ g m.m.]	G	10,69 ^A \pm 0,77	3,03 ^A \pm 0,27	5,06 ^A \pm 0,89	2,60 ^A \pm 0,75
	GS	9,49 ^A \pm 1,42	3,02 ^A \pm 0,44	4,33 ^A \pm 0,74	2,14 ^A \pm 0,80
	G/GS	88,80%	99,89%	85,57%	82,31%
FRAP [μ M TE/ g m.m.]	G	5,74 ^A \pm 4,37	1,90 ^A \pm 1,03	3,31 ^A \pm 3,25	0,53 ^A \pm 0,28
	GS	4,68 ^A \pm 1,56	1,19 ^A \pm 0,36	2,86 ^A \pm 1,96	0,62 ^A \pm 0,34
	G/GS	81,43%	62,81%	86,40%	116,88%
Białko [g/100g]					
	G		4,08 ^B \pm 1,57	5,33 ^A \pm 2,48	
	GS		1,30 ^A \pm 0,52	2,64 ^A \pm 1,34	
	G/GS		31,95%	49,48%	

Dane w kolumnach oznaczone tą samą literą nie różnią się istotnie

Dodatek soli zmniejszył przechodzenie białek z mięsa do wywaru (Tab.77).

Średnia aktywność przeciwutleniająca i zdolność redukująca wywaru z wieprzowiny dla trzech różnych partii również nie zmieniła się po dodaniu soli (Tab.77). Wystąpiły jednak różnice w zależności od partii. Do wywaru wyekstrahowane zostało 11 do 14% sumy aktywności przeciwutleniającej i 16 do 20% całkowitej zdolności redukującej badanych schabów.

Tabela 77 Aktywność przeciwutleniająca TEAC, zdolności redukujące FRAP i zawartość białka w wywarach z gotowania schabów w wodzie z i bez dodatku soli

	TEAC	FRAP	Białko [g/100g]
G	1,49 ^A ± 0,29	1,12 ^A ± 0,84	0,95 ^A ± 0,27
GS	1,52 ^A ± 0,24	0,75 ^A ± 0,42	0,45 ^A ± 0,19
G/GS	102,01%	67,06%	47,08%

Dane w kolumnach oznaczone tą samą literą nie różnią się istotnie

Nie zaobserwowano katalizującego wpływu soli na utlenienie lipidów podczas gotowania mięsa wieprzowego (Tab.78).

Tabela 78 Średnie wskaźniki utlenienia lipidów i tkanki schabów wieprzowych

Lipidy [100g]		LN	LA	Totox
	G	10,05 ^A ± 6,45	17,74 ^A ± 6,47	43,87 ^A ± 19,74
	GS	8,89 ^A ± 7,05	15,56 ^A ± 3,69	38,67 ^A ± 21,83
	G/GS	88,42%	87,71%	88,13%
Lipidy [1cm/1%]		dieny	trieny	
	G	0,85	1,05	
	GS	0,77	0,90	
	G/GS	89,84%	85,40%	
Tkanka [100g]		LN	LA	Totox
	G	0,47 ^A ± 0,35	0,77 ^A ± 0,06	1,98 ^A ± 0,92
	GS	0,44 ^A ± 0,32	0,78 ^A ± 0,12	1,92 ^A ± 0,95
	G/GS	93,57%	101,30%	96,80%

Dane w kolumnach oznaczone tą samą literą nie różnią się istotnie

4.4.3 Mięso wołowe

Obecność soli podczas gotowania zwiększyła o ok. 24% całkowitą aktywność przeciwutleniającą wołowiny i dotyczyło to zarówno frakcji NaCl jak i wodnej.

Zdolność redukująca tego mięsa po dodaniu soli do gotowania była niższa o mniej więcej taką samą wartość. Również za sprawą obu dominujących frakcji: NaCl i wodnej (Tab.79).

Tabela 79 Aktywność przeciwutleniająca TEAC i zdolność redukującą FRAP mięsa wołowego [$\mu\text{M TE/g m.m.}$]

TEAC	suma	wodna	NaCl	metanolowa
G	6,27	2,34 ^A	2,58 ^A	1,36 ^B
GS	7,79	3,05 ^B	3,48 ^B	1,26 ^A
GS/G	124,24%	130,66%	135,10%	92,66%
FRAP	suma	wodna	NaCl	metanolowa
G	1,12	0,27 ^A	0,82 ^B	0,03 ^A
GS	0,80	0,20 ^A	0,54 ^A	0,06 ^B
GS/G	71,67%	72,97%	66,37%	205,56%
białko		wodna	NaCl	metanolowa
G		0,97 ^B	6,36 ^A	
GS		0,58 ^A	4,76 ^A	
GS/G		59,60%	74,88%	

Do wywaru przeszło mniej więcej tyle samo białek, gdy gotowano mięso wołowe w wodzie z i bez dodatku soli, ale aktywność przeciwutleniająca wywaru pochodzącego z gotowania z solą była o 20% wyższa, podczas gdy zdolność redukująca o tyle samo niższa (Tab.80), co świadczy o tym, że związki wyekstrahowane do gotującej się wody z solą mają wyższą aktywność przeciwutleniającą i niższe właściwości redukujące niż gotowane w samej wodzie.

Tabela 80 Aktywność przeciwutleniająca i zdolność redukująca wywarów z gotowania mięsa wieprzowego w wodzie z i bez dodatku soli

	TEAC	FRAP	białko
G	0,82 ^A	0,11 ^B	0,31
GS	0,99 ^B	0,09 ^A	0,29
GS/G	120,25%	81,96%	93,55%

Dane w kolumnach oznaczone tą samą literą nie różnią się istotnie

Rostbify gotowane w wodzie z dodatkiem soli wykazywały niższy stopień utlenienia lipidów i zawierały o ok. 30% więcej struktur sprzężonych (Tab.81). Ten niższy stopień utlenienia może częściowo tłumaczyć wyższą aktywność przeciwutleniającą mięsa gotowanego w obecności NaCl.

Tabela 81 Stopień utlenienia lipidów mięsa wołowego

	Lipidy [100 g]		
	LN	LA	Totox
G	0,52 ^B	2,92 ^B	4,27
GS	0,17 ^A	1,19 ^A	1,62
GS/G	31,94%	40,60%	37,87%
	Tkanka [100g]		
	LN	LA	Totox
G	0,05 ^B	0,28 ^B	0,41 ^B
GS	0,02 ^A	0,13 ^A	0,18 ^A
GS/G	37,53%	46,79%	43,56%
	Lipidy [1cm/1%]		
	dieny	trieny	F436
G	0,68	0,71	640,51
GS	0,91	0,91	411,74
GS/G	133,56%	127,87%	64,28%

4.4.4 Mięso drobiowe

Całkowita aktywność przeciwutleniająca mięsa drobiowego gotowanego z dodatkiem soli była niższa o ok. 10% niż gotowanego bez soli, głównie za sprawą frakcji wodnej, a w mięśniach udowych również frakcji NaCl i metanolowej (Tab.84). Zawartość białek we frakcjach nie wpływała na aktywność przeciwutleniającą (Tab.84 - 85).

Dodatek soli do gotowania miał istotnego wpływu na zdolność redukującą jasnych i ciemnych mięśni drobiu (Tab.84).

Tabela 82 Aktywność przeciwutleniająca i zdolność redukująca mięśni udowych i piersiowych kurcząt [$\mu\text{M TE/g m.m.}$]

udowe	TEAC				FRAP			
	suma	wodna	5%NaCl	metanolowa	suma	wodna	5%NaCl	metanolowa
G	9,79	4,04 ^B	3,93 ^B	1,82 ^B	1,26	0,44 ^B	0,57 ^A	0,26 ^A
GS	8,74	3,74 ^A	3,24 ^A	1,76 ^A	1,24	0,42 ^A	0,55 ^A	0,27 ^A
GS/G	89,26%	92,53%	82,38%	96,91%	98,20%	94,82%	96,95%	106,73%
Piersiowe- średnio*	suma	wodna	5%NaCl	metanolowa	suma	wodna	5%NaCl	metanolowa
G	12,10 ± 3,07 ^A	4,83 ± 0,91 ^A	4,94 ± 1,46 ^A	2,34 ± 0,69 ^A	1,15 ± 0,16 ^A	0,39 ± 0,23 ^A	0,56 ± 0,02 ^A	0,21 ± 0,05 ^A
GS	11,06 ± 2,37 ^A	4,15 ± 0,91 ^A	4,59 ± 0,86 ^A	2,33 ± 0,60 ^A	1,16 ± 0,08 ^A	0,34 ± 0,13 ^A	0,63 ± 0,19 ^A	0,19 ± 0,01 ^A
GS/G	91,36%	85,91%	92,91%	99,36%	100,43%	87,18%	112,61%	92,68%

*średnie wyniki z dwóch partii

Tabela 83 Zawartość białka we frakcji wodnej i NaCl mięśni udowych i piersiowych kurcząt [g/100g]

	białko [g/100g]	
	wodna	NaCl
udowe A		
G	1,69 ^B	11,83 ^A
GS	0,50 ^A	12,63 ^A
GS/G	29,66%	106,71%
piersiowe-średnia*	wodna	NaCl
G	1,13 ± 0,81 ^A	6,59 ± 2,07 ^A
GS	1,80 ± 2,32 ^A	6,10 ± 3,43 ^A
GS/G	159,36%	92,56%

Dane w kolumnach oznaczone tą samą literą nie różnią się istotnie

* średnie wyniki z dwóch partii

Dodatek soli do gotowania nie zmieniał aktywności przeciwutleniającej, ani zdolności redukującej wywarów powstających podczas gotowania mięśni piersiowych i udowych kurcząt, mimo że do wywaru wyługowane zostało więcej białek niż w przypadku gotowania w samej wodzie (Tab.86).

Tabela 84 Aktywność przeciwutleniająca TEAC, zdolność redukująca FRAP i zawartość białka w wywarach z gotowania mięśni kurcząt w wodzie bez i z dodatkiem soli

udowe	TEAC	FRAP	białko
G	0,95 ^A	0,03 ^A	0,31 ^A
GS	0,90 ^A	0,05 ^A	0,47 ^B
GS/G	94,74%	173,99%	151,42%
piersiowe - średnio	TEAC	FRAP	białko
G	1,32 ^A	0,07 ^A	0,37 ^A
GS	1,25 ^A	0,10 ^A	0,63 ^B
GS/G	94,52%	141,11%	170,05%

Dane w kolumnach oznaczone tą samą literą nie różnią się istotnie

Obecność soli podczas gotowania spowodowała ponad czterokrotny wzrost poziomu utlenienia lipidów mięśni udowych (Tab.87). Biorąc pod uwagę stosunkowo wysoką zawartość tłuszczu mogło to wpłynąć na obniżenie pojemności przeciwutleniającej tych mięśni, ale nie obniżyło zdolności redukującej mięśni udowych.

W przypadku mięśni piersiowych obecność soli nie powodowała istotnych zmian w poziomie utlenienia lipidów i całej tkanki, podobnie jak nie wpływała istotnie na ich aktywność przeciwutleniającą i zdolność redukującą (Tab.87-88)

Tabela 85 Stopień utlenienia lipidów mięśni udowych i piersiowych kurcząt w 100g lipidów i tkanki

	Lipidy [100g]			Tkanka [100g]		
	LN	LA	Totox	LN	LA	Totox
udowe A						
G	1,34 ^A	1,18 ^A	4,66	0,11 ^A	0,09 ^A	0,37
GS	5,48 ^B	4,86 ^B	19,12	0,45 ^B	0,40 ^B	1,56
GS/G	409,74%	412,82%	410,52%	416,09%	419,05%	417,46%
piersiowe – średnia*						
	LN	LA	Totox	LN	LA	Totox
G	8,98 ± 0,86 ^A	12,17 ± 5,61 ^A	35,51 ± 7,85 ^A	0,24 ± 0,05 ^A	0,33 ± 0,18 ^A	0,94 ± 0,30 ^A
GS	6,57 ± 1,41 ^A	11,77 ± 6,31 ^A	28,85 ± 2,62 ^A	0,23 ± 0,07 ^A	0,39 ± 0,17 ^A	0,99 ± 0,02 ^A
GS/G	73,16%	96,67%	81,23%	97,87%	120,00%	104,79%

Dane w kolumnach oznaczone tą sama litera nie różnią się istotnie

* średnie wyniki z dwóch partii

Zbadano wpływ dodatku soli na aktywność przeciwutleniającą mięśni piersiowych gotowanych ze skórą, którą usuwano po obróbce i bez skóry

Próby gotowane bez skóry wykazywały wyższą aktywność przeciwutleniającą i zdolność redukującą niż gotowane ze skórą i dotyczyło to wszystkich frakcji (Tab.88).

Porównując frakcję ekstrahowaną 5%NaCl w próbach gotowanych ze skórą i bez skóry obserwuje się znacznie większą ekstrahowalność białek o zdolnościach redukujących w nieobecności soli (Tab.88)

Tabela 86 Aktywność przeciwutleniająca TEAC, zdolność redukująca FRAP i zawartość białka w mięśniach piersiowych kurcząt gotowanych bez skóry i ze skórą w wodzie bez i z dodatkiem soli

TEAC	bez skóry				ze skórą			
	suma	wodna	5%NaCl	metanolowa	suma	wodna	5%NaCl	metanolowa
G	14,64	5,11 ^A	6,32 ^B	3,21 ^B	14,27	5,47 ^B	5,97 ^B	2,83 ^B
GS	15,24	5,77 ^B	6,52 ^A	2,96 ^A	12,73	4,79 ^A	5,19 ^A	2,75 ^A
GS/G	97,41%	112,99%	103,15%	92,09%	89,20%	87,58%	86,94%	97,10%
FRAP	suma	wodna	5%NaCl	metanolowa	suma	wodna	5%NaCl	metanolowa
G	1,21	0,31 ^B	0,63 ^A	0,27 ^A	1,04	0,23 ^A	0,57 ^A	0,24 ^B
GS	1,50	0,27 ^A	0,95 ^B	0,27 ^A	1,21	0,25 ^A	0,76 ^B	0,20 ^A
GS/G	123,24%	89,29%	149,71%	100,00%	116,43%	106,35%	133,55%	85,52%
białko		wodna	5%NaCl			wodna	5%NaCl	
G		2,18 ^A	4,46 ^A			1,92 ^A	6,04 ^A	
GS		2,41 ^A	8,61 ^B			1,71 ^A	8,05 ^B	
GS/G		110,81%	192,97%			88,78%	133,28%	

Dane w kolumnach oznaczone tą sama literą nie różnią się istotnie

Mimo że podczas gotowania z dodatkiem soli prób bez skóry do wywaru przeszło o połowę mniej białka niż dla prób gotowanych w samej wodzie to aktywność przeciwutleniająca i zdolność redukująca wywaru była wyższa. W słonych wywarach prób ze skórą znacznie wyższa zawartość białka nie skutkowała ich aktywnością (Tab.89).

Tabela 87 Aktywność przeciwutleniająca TEAC, zdolność redukująca FRAP i zawartość białka w wywarze z gotowania mięśni piersiowych z kurcząt bez i ze skórą w wodzie bez i z dodatkiem soli

	TEAC	FRAP	białko
bez skóry			
G	1,38 ^A	0,14 ^A	8,92 ^B
GS	1,57 ^B	0,20 ^B	4,26 ^A
GS/G	114,47%	138,55%	47,80%
ze skórą			
G	1,49 ^A	0,15 ^A	5,98 ^A
GS	1,37 ^A	0,15 ^A	8,95 ^B
GS/G	91,68%	100,37%	149,67%

Dane w kolumnach oznaczone tą samą literą nie różnią się istotnie

Obecność soli podczas gotowania prób bez skóry katalizowała wzrost utlenienia lipidów tkanki (Tab.90).

Tabela 88 Stopień utlenienia lipidów mięśni piersiowych kurcząt gotowanych bez skóry i ze skórą bez i z dodatkiem soli

bez skóry	Lipidy [100 g]			ze skórą	Lipidy [100 g]		
	LN	LA	Totox		LN	LA	Totox
G	6,18 ^A	4,11 ^A	20,18		9,59 ^B	16,14 ^A	41,06
GS	16,61 ^B	3,99 ^A	47,18		5,57 ^A	16,23 ^A	30,70
GS/G	268,74%	96,91%	233,73%		58,08%	100,55%	74,77%
	Tkanka [100 g m.m.]				Tkanka [100 g m.m.]		
	LN	LA	Totox		LN	LA	Totox
G	0,14 ^A	0,09 ^A	0,45		0,27 ^B	0,45 ^A	1,15
GS	0,53 ^B	0,13 ^A	1,50		0,18 ^A	0,51 ^A	0,97
GS/G	383,27%	138,44%	333,39%		65,11%	112,72%	83,82%
	Lipidy [1cm/1%]				Lipidy [1cm/1%]		
	dieny	trienny	F436		dieny	trienny	F436
G	1,71	2,60	1893,15		1,36	2,06	2563,65
GS	1,32	2,24	1793,64		1,25	2,01	1237,41
GS/G	77,31%	86,42%	94,74%		92,46%	97,50%	48,27%

4.4.5 Wpływ dodatku soli do gotowania - podsumowanie

Podsumowując można powiedzieć, że wpływ dodatku soli podczas gotowania zależy od rodzaju surowca, zawartości lipidów i ich stopnia utlenienia. Obecność soli podczas gotowania dorsza i wołowiny zawierających mało lipidów powoduje wzrost aktywności przeciwutleniającej, natomiast łososi i ud kurcząt, ze względu na wyższą w tych surowcach zawartość lipidów, ich skład i stopień utlenienia obniża.

Zależność tę potwierdzają wyniki dla mięśni piersiowych gotowanych ze skórą i bez skóry. Dodatek soli do gotowania powodował bowiem zwiększenie aktywności przeciwutleniającej i zdolności redukującej wywarów z mięśni gotowanych bez skóry, natomiast w przypadku mięśni gotowanych ze skórą obniżał pojemność przeciwutleniającą.

5 DYSKUSJA

W ostatnich kilkunastu latach wzrosło zainteresowanie oznaczaniem aktywności przeciwutleniającej w żywności ze względu na coraz większą liczbę dowodów potwierdzających jej związek z chorobami, a także skuteczność chemoprewencji (Johnson, 2001, Virgili i in., 2001, Baer-Dubowska, 2003, Becker i in., 2004,

Oprócz oznaczania poszczególnych przeciwutleniaczy, czy ich grup zaczęto stosować metody umożliwiające określenie statusu antyoksydacyjnego próby, które mają tę przewagę nad metodami oznaczania poszczególnych związków przeciwutleniających, że pozwalają oszacować całościową aktywność przeciwutleniającą substancji przeciwutleniających, a także wynik interakcji zachodzących między nimi (Prior, Cao, 1999, Perez i in., 2000, Llesuy i in., 2001, Roginsky, 2004, Decker i in., 2005, Prior i in., 2005). Najczęściej stosuje się metody: TEAC – określającą zdolność wychwytywania syntetycznych rodników ABTS[•] (Re i in., 1999), ORAC – zdolność do wychwytywania rodników AAPH[•] i hydroksylowych (Cao i in., 1993), DPPH (Amakura i in., 2000) – zdolność do wychwytywania syntetycznych rodników DPPH[•], TRAP - zdolność do wychwytywania rodnika AAPH[•] (Wayner i in., 1995) oraz FRAP – zdolność redukcji kompleksu żelaza (Fe³⁺) z TPTZ (Benzie, Strain, 1996); znane są również inne mniej popularne metody.

Nie napotkano w piśmiennictwie metody bezpośredniego oznaczania aktywności przeciwutleniającej w materiale biologicznym. W metodach stosowanych do oznaczania aktywności przeciwutleniającej stosuje się więc ekstrakcję, a oznaczanie aktywności przeciwutleniającej przeprowadza się w wyekstrahowanej frakcji.

Za właściwości przeciwutleniające surowców zwierzęcych odpowiedzialne są bardzo różne związki takie, jak enzymy przeciwutleniające, związki rozpuszczalne w wodzie, w rozpuszczalnikach organicznych, innymi słowy związki ekstrahowalne rozpuszczalnikami w szerokim zakresie polarności, stąd niemożliwe jest uzyskanie pełnego obrazu aktywności przeciwutleniającej w ekstrakcji tylko jednym rozpuszczalnikiem.

Metody stosowane do oznaczania całkowitej aktywności przeciwutleniającej opierają się zazwyczaj na reakcjach albo w środowisku hydrofilnym (FRAP, TEAC, ORAC) albo lipofilnym (TEAC, ORAC, DPPH). Metodę TEAC można stosować zarówno w jednym jak i drugim środowisku, ze względu na dobrą rozpuszczalność ABTS w wodzie i rozpuszczalnikach organicznych (Re, Pellegrini, 1999, Prior i in., 2000). Z tego powodu w niniejszej pracy stosowano właśnie tę metodę.

Oprócz TEAC stosowano równolegle w tych samych ekstraktach oznaczanie zdolności redukującej FRAP. Przyjęto bowiem jako tezę, że za aktywność przeciwutleniającą surowców

pochodzenia zwierzęcego odpowiadają związki posiadające właściwości redukujące, którymi w tkankach zwierzęcych mogą być: glutation, związki zawierające grupy sulfhydrylowe jak wolne aminokwasy: metionina, cysteina, tryptofan oraz peptydy i białka (Chan, Decker, 1994, Frankel, 1998, Wołosiak, Worobiej, 2007), kwas liponowy (Podda i in., 1994, Bast, Haenen, 1998) oraz kwas askorbinowy (Decker i in., 2000). Słuszność takiego podejścia potwierdza sporządzone ostatnio przez Halvorsena i in (2006) zestawienie aktywności przeciwutleniającej 1113 produktów żywnościowych pochodzących z rynku USA oparte wyłącznie na zdolności redukującej FRAP.

Ze względu na stosowanie przez różnych badaczy (Re, Pellegrini, 1999, Garcia-Alonso i in. 2001, Gatellier i in., 2003, Pellegrini i in, 2003, Kankofer i in, 2005). różnych warunków ekstrakcji i oznaczania aktywności przeciwutleniającej metodą TEAC i redukującej metodą FRAP przed rozpoczęciem badań właściwych w niniejszej pracy przeprowadzono wstępne badania metodyczne. Doświadczenia te przeprowadzono na pstrągach tęczy.

Zbadano wpływ rodzaju rozpuszczalnika, jego stosunku do materiału, czasu i sposobu ekstrakcji oraz dynamiki reakcji z ABTS* (TEAC) i redukcji kompleksu TPTZ-Fe(3+) (FRAP). Zastosowano ekstrakcję wodą, roztworami NaCl o stężeniach 1, 3 i 5%, metanolem, chloroformem oraz ekstrakcję Blich-Dyera, z której również otrzymano frakcję metanolową i chloroformową. Ekstrakcję prowadzono przy stosunku materiału do rozpuszczalnika 1:4 - 20 w czasie ekstrakcji 0-5 minut.

Wykazano, że optymalnym czasem ekstrakcji są 2,5 minuty, a stosunkiem materiału do rozpuszczalnika 1:10, przy czym dla frakcji metanolowej można stosować mniejszą ilość rozpuszczalnika 1:5. W piśmiennictwie do ekstrakcji enzymów i związków przeciwutleniających stosuje się stosunek w zakresie 1:5 - 10, głównie 1:5 (Lee i in., 1997, Khanum i in., 1999, Hernandez i in., 2001, Mansur i in., 2002, Gatellier i in., 2003, Hernandez i in., 2003, Mercier i in., 2003). Lan i in (1993), Kołakowski (2001) sygnalizował, że rozpuszczalność białek zwiększa się wraz ze zwiększającym się rozcieńczeniem materiału po zakresie 1:4 - 1:15.

Wykazano, że stabilność absorbancji uzyskuje się po 10 do 30 minutach od dodania frakcji do odczynnika roboczego w przypadku TEAC i zazwyczaj po kilku - kilkunastu minutach w przypadku FRAP. W dalszych badaniach przyjęto więc dokonywanie pomiaru po czasie 30 minut, przy czym dla niektórych nowych surowców wyznaczono ponownie dynamikę zmian absorbancji w czasie, co potwierdziło wybór czasu 30 minut jako optymalny dla wszystkich badanych surowców. Wg Barton (2007) pomiar aktywności przeciwutleniającej wykonywany po 30 minutach pozwala ponadto wykluczyć różnice wynikające z temperatury inkubacji próby.

Jako rozpuszczalnik ABTS stosuje się wodę (Re, Pellegrini, 1999, Pellegrini i in, 2003), bufor fosforanowy (Gatellier i in., 2003) lub etanol (Re, Pellegrini, 1999, Garcia-Alonso i in. 2001). Zbadano więc aktywność przeciwutleniającą frakcji wyekstrahowanych z surowców

zwierzęcych porównując wodę i etanol, oraz wodę i 5mM bufor fosforanowy o pH 7,4 jako rozpuszczalniki ABTS.

Wykazano, że dla frakcji wodnych i NaCl lepszym rozpuszczalnikiem odczynnika roboczego była woda, a dla rozpuszczalnych w metanolu alkohol (etanol). W związku z tym zdecydowano się na stosowanie tych dwóch rozpuszczalników w dalszych badaniach. Stosowanie buforu fosforanowego wykluczono w pierwszym etapie badań ze względu na przypadki mętnienia roztworu roboczego po dodaniu frakcji zawierającej białka.

Jako frakcję metanolową przyjęto stosowanie górnej warstwy z ekstrakcji Bligh-Dyera, zawierającej oprócz metanolu domieszkę wody z materiału i dodania w procesie ekstrakcji (Bligh-Dyer, 1959). Warstwa chloroformowa z tej samej ekstrakcji, była wykorzystywana do równoległej prowadzonej analizy lipidów, a w początkowym okresie badań także do oznaczania aktywności przeciwutleniającej. Jednak ze względu na uzyskiwanie wartości ujemnych lub na granicy błędu zrezygnowano z tego. Ponieważ tak niskie wyniki uzyskiwano dla lipidów wyekstrahowanych z różnych partii ryb świeżych uznano to za brak efektywności przeciwutleniającej frakcji lipidowej uzyskanej w wyniku ekstrakcji. Jest to zgodne z wynikami wieloletnich badań, w których lipidy nawet bardzo świeżych ryb zawierały nadtlarki i wtórne produkty utlenienia (Kołakowska i in., 1995, Kołakowska i in., 2001, Kołakowska i in., 2007).

Ustalono optymalne stężenie roztworu soli do ekstrakcji związków przeciwutleniających i redukujących stosując ekstrakcję wodą i roztworami soli o stężeniach w zakresie 1 - 5%. Wykazano, że dopiero przy 5% stężeniu soli ekstrahuje się istotnie więcej związków o cechach przeciwutleniających. Przyjęto więc stosowanie ekstrakcji 5% roztworem NaCl, co jak wykazał Kołakowski (1986, 2001) pozwala na najefektywniejsze wyekstrahowanie białek miofibrylarnych z ryb. Białka miofibrylarne zawierają w swym składzie grupy -SH, którym przypisywane są zdolności redukujące (Chan, Decker, 1994, Frankel, 1998, Wołosiak, Worobiej, 2007).

Porównano efektywność ekstrakcji sekwencyjnej i bezpośrednio każdym z rozpuszczalników: wodą, 5%NaCl i metanolem. Wykazano że aktywność przeciwutleniająca frakcji NaCl i wodnej nie różniła się istotnie w wyniku różnych sposobów ekstrakcji, natomiast frakcja metanolowa dawała istotnie wyższe wyniki w ekstrakcji sekwencyjnej. Brak różnic między tymi dwoma sposobami ekstrakcji w przypadku frakcji NaCl i wodnej świadczy o tym, że tymi rozpuszczalnikami ekstrahowane są odmienne związki przeciwutleniające i redukujące niezależnie, czy stosuje się je po sobie, czy oddzielnie bezpośrednio do ekstrakcji materiału. Kołakowski (2001) uważał że nie powinno się ekstrahować białek miofibrylarnych, bezpośrednio po ekstrakcji białek sarkoplazmatycznych, gdyż takie postępowanie pogarsza rozpuszczalność białek miofibrylarnych.

Wyniki uzyskane ze wstępnych badań metodycznych pokazują, że warunki ekstrakcji mają istotny wpływ na wyniki oznaczeń aktywności przeciwutleniającej i redukującej stosowanymi metodami i należałoby przed podjęciem badań na nowej grupie żywności opracować warunki wstępne.

Przyjęto w niniejszej pracy, że na pojemność przeciwutleniającą surowców zwierzęcych składa się suma aktywności przeciwutleniającej frakcji NaCl, wodnej i metanolowej. Pellegrini i in. (2003) uważali że w przypadku żywności w postaci stałej (badali warzywa i owoce) ekstrakcja tylko jednym rozpuszczalnikiem powoduje niedoszacowanie całkowitej pojemności przeciwutleniającej materiału. Wynika to z różnej rozpuszczalności przeciwutleniaczy. Trzeba brać jednak pod uwagę, że zsumowanie w niniejszej pracy aktywności nawet trzech frakcji: NaCl, wodnej i metanolowej nie odzwierciedla pełnego, nienaruszonego układu przeciwutleniającego w materiale biologicznym.

Badaniami właściwymi objęto: cztery gatunki ryb: pstrągi tęczowe (10 partii, łącznie z badaniami metodycznymi), śledzie bałtyckie (1 partia), dorsze bałtyckie (1 partia), łosose atlantyckie (1 partia), mięso wieprzowe – schab (3 partie), mięso wołowe – rostbef (1 partia) i mięso kurcząt -mięśnie piersiowe i udowe (2 partie).

Wykazano wyraźne różnice w aktywności przeciwutleniającej i redukującej między gatunkami, jak i w obrębie gatunku, w zależności od partii surowca. Aktywność przeciwutleniająca badanych surowców zwierzęcych mieściła się w zakresie od ok. 7 do 17 μ MTE/g m.m., przy czym mięso ryb obejmowało cały zakres, a aktywność zwierząt stałocieplnych była bardziej stabilna i oscylowała wokół 12–14 μ MTE/g m.m. Hierarchia aktywności przeciwutleniającej badanych surowców zwierzęcych przedstawiała się następująco: pstrąg > wołowina > łosoś \geq dorsz > wieprzowina \geq drób > śledź.

Potwierdzono założenie, że dla poszczególnych surowców wpływ na aktywność przeciwutleniającą mają właściwości redukujące ($r=0,84$ do $1,00$, przy $p<0,05$).

Stwierdzono, że generalnie największy, chociaż różny dla różnych surowców, wpływ na aktywność przeciwutleniającą i redukującą miała frakcja NaCl, następnie wodna, a w najmniejszym stopniu metanolowa (średnio ok. 15%). W przypadku mięśni kurcząt frakcja wodna wykazywała nieco wyższą aktywność niż frakcja NaCl, mimo że zawierała mniej białek. Można to tłumaczyć wysoką zawartością karnozyny w mięśniach kurcząt w porównaniu z innymi surowcami zwierzęcymi (Crush, 1970). Frakcja NaCl charakteryzowała się bardzo dużą zmiennością, szczególnie w rybach, co związane było zapewne z wrażliwością denaturacyjną materiału podczas ekstrakcji (Kołakowski, 2001). Nie napotkano dotychczas pracy, w której by oznaczano aktywność przeciwutleniającą białek rozpuszczalnych w NaCl, chociaż stanowią one nawet 60-70% wszystkich białek surowców zwierzęcych (Kołakowski,

1986) i zawierają grupy –SH, posiadające zdolności redukujące (Chan, Decker, 1994, Frankel, 1998, Wołosiak, Worobiej, 2007).

Dla porównania wyników z danymi dostępnymi w piśmiennictwie pominięto w sumie aktywności przeciwutleniającej najbardziej znaczącą dla całkowitej pojemności przeciwutleniającej w niniejszej pracy frakcję NaCl. Wyniki badań własnych dla mięsa dorsza, łososia i kurczaka wynoszące odpowiednio 6,72, 5,47, 8,55 $\mu\text{M TE/ g m.m.}$ były wyższe od uzyskanych przez Khanum i in. (1999) dla dorsza pacyficznego (3,58), łososia (4,37) oraz Mansur i in. (1999) dla kurczaków (2,79). Różnice te wynikają przede wszystkim z faktu stosowania przez nich innej metody: metody DPPH, a nie TEAC, jak również to, że w niniejszej pracy do ekstrakcji stosowano metanol, a nie etanol, co jak wykazali Ekanayake i in. (2004) w teście DPPH dla dwóch gatunków węgorki może powodować istotne różnice między wynikami oznaczeń. Etanol w zależności od rodzaju materiału ekstrahował o wiele więcej lub nieco mniej związków wykazujących właściwości przeciwutleniające niż metanol (Ekanayake i in., 2004). Mimo tych różnic wyniki uzyskane w niniejszej pracy mieszczą się w jednym rzędzie wielkości z przytaczanymi wynikami innych autorów.

Autorzy ci badali surowce innego pochodzenia, a w niniejszej pracy wykazano istotne różnice w aktywności przeciwutleniającej surowców między partiami. Wykazane różnice dotyczyły aktywności przeciwutleniającej, nawet w przypadku pstrągów pochodzących z tego samego gospodarstwa hodowlanego. Zmienność ta w rybach wynosiła aż 82%, a między partiami zwierząt rzeźnych różnice te były dużo mniejsze ok. 27% dla kurcząt (mięśnie piersiowe) i ok. 14% dla mięsa wieprzowego. Było tak, mimo że do badań pobierano odpowiednią wielkość próby ryb zapewniającą wyeliminowanie różnic jednostkowych (Kołakowska i in., 2005). W przypadku łososia, mięsa wołowego i wieprzowiny partia wynosiła 3 sztuki, a w przypadku mięsa drobiowego - 18 sztuk, a wielkość tak pobranej próby znacznie przekraczała stosowaną przez Halvorsena (2004) w oznaczaniu zdolności redukującej żywności z rynku USA.

Wyniki uzyskane przez Khanum i in. (1999) dla trzech partii mątwy oznaczane metodą DPPH we frakcjach wodnej i etanolowej oraz wyniki aktywności przeciwutleniającej ostroboków uzyskane przez Khanum i in. (1999) różniące się trzykrotnie od wyników uzyskanych przez Mansur i in. (2002) również przy użyciu rodników DPPH potwierdzają występowanie różnic w aktywności przeciwutleniającej między partiami surowców zwierzęcych. Hernandez i in. (2003) wykazali istotną różnicę w zawartości enzymów przeciwutleniających w mięśniach świń różnych genotypów. W przypadku zwierząt hodowlanych, różnice mogły wynikać ze składu paszy, z tym, że jak wykazali Gatellier i in. (2003) oraz Descalzo i in. (2006) rodzaj paszy wpływa raczej na FRAP, a nie na TEAC wołowiny. Według tych samych autorów płeć, ani wiek nie miały wpływu na aktywność przeciwutleniającą mięsa badanych krów

(Gatellier i in., 2003). Różnice w aktywności przeciwutleniającej między gatunkami zwierząt w niniejszej pracy, w której uwzględniono także aktywność przeciwutleniającą i redukującą frakcji białek miofibrylarnych były jeszcze większe. Skład białek miofibrylarnych, ich ekstrahowalność zależy bowiem od gatunku zwierząt, okresu połowu, w przypadku ryb, a także warunków prowadzenia ekstrakcji (Kołakowski, 1986). Okres połowu wpływa również na zawartość lipidów i ich podatność na utlenienie, co wykazali Kołakowska i in. (1992) w badaniach na śledziu bałtyckim.

Porównując aktywność przeciwutleniającą mięśni pochodzących z tego samego zwierzęcia: mięśni udowych i piersiowych kurcząt wykazano, że udowe miały aktywność istotnie niższą o ok. 13% niż piersiowe. Mięśnie piersiowe kurcząt charakteryzują się niższą zawartością żelaza

i wyższą wit. C (Lombardii Boccia i in, 2005) a także zawierają 5 razy więcej karnozyny (Decker i in. 2001) niż mięśnie udowe. Mięśnie udowe natomiast charakteryzowały się wyższą zawartością lipidów, chociaż ich stopień utlenienia był niski. Podobnie jak w aktywności przeciwutleniającej kurcząt również w zdolności redukującej wystąpiły istotne różnice między mięśniami jasnymi i ciemnymi kurcząt, tym razem na korzyść mięśni udowych i zależały prawie całkowicie od związków rozpuszczalnych w wodzie, co mogło być związane z większą aktywnością enzymów w mięśniach udowych.

Khanum i in. (1999) różnice w aktywności przeciwutleniającej między partiami ostroboków tłumaczyli różnicami w ich świeżości, w rybach świeżych uzyskując niższą aktywność przeciwutleniającą. Jest to w sprzeczności z wynikami uzyskanymi w niniejszych badaniach, gdzie jednoznacznie wykazano, że najwyższą aktywność przeciwutleniającą posiadają ryby świeże. Przechowywanie chłodnicze pstrągów w okresie przydatności do spożycia (14 dni) powodowało spadek całkowitej aktywności przeciwutleniającej, związany ze stratami przeciwutleniaczy rozpuszczalnych w NaCl i wodzie. Pod koniec tego przechowywania nastąpił niewielki wzrost aktywności związany ze wzrostem aktywności frakcji metanolowej, który spowodowała zapewne aktywność przeciwutleniająca powstałych produktów proteolizy białek: m. in. peptydów i wolnych aminokwasów. Zmiany aktywności przeciwutleniającej nie miały prostoliniowego przebiegu co można tłumaczyć destrukcją przeciwutleniaczy obecnych w tkance przyżyciowo i tworzeniem się nowych układów przeciwutleniających (Kołakowska, 1992, 2003, Decker i in., 2000). Kołakowska (1992) wykazała, że podatność śledzi na utlenienie w zależności zmieniała się w szerokich granicach od świeżości śledzi, a najbardziej odporne na utlenienie były ryby po 2-3 dniach przechowywania. Przechowywanie chłodnicze obniżało aktywność przeciwutleniającą badanych w niniejszej pracy pstrągów chociaż właściwości redukujące w miarę przechowywania wzrastały i utrzymywały się. Świadczy to o wyczerpywaniu się przeciwutleniaczy wychytujących wolne rodniki, ulegających przemianom już w kilku pierwszych dniach (Decker, i in. 2000) i wzroście zawartości niskocząsteczkowych związków

redukujących oraz stabilności kwasu askorbinowego podczas przechowywania chłodniczego, co wykazali Brannan i Ericsson (1996) dla suma kanałowego.

Całkowita zdolność redukująca surowców zwierzęcych obejmowała szerszy zakres niż TEAC od ok. 1,4 do prawie 20 $\mu\text{MTE/g m.m.}$. Średnia zdolność redukująca ryb wyniosła $8,30 \pm 96\% \mu\text{M}$ i była ok. 2,5 razy wyższa niż tkanek zwierząt stałocieplnych ($2,98 \pm 47\% \mu\text{MTE/g m.m.}$). Różnica w zdolności redukującej między partiami była nieco niższa od różnicy w aktywności przeciwutleniającej. Hierarchia zdolności redukującej badanych surowców zwierzęcych przedstawiała się następująco: śledź > pstrąg > wieprzowina > dorsz > wołowina > łosoś > kurczak.

Tak więc wykazano, że różnice w aktywności przeciwutleniającej surowców zwierzęcych dotyczyły nie tylko gatunku, partii ale również rodzaju mięśni i świeżości surowca. Potwierdzono w niniejszej pracy, że pojemność przeciwutleniająca poszczególnych surowców zwierzęcych generalnie zależy od ich właściwości redukujących, ale nie dotyczy to surowców po obróbce cieplnej.

Przeprowadzono łącznie 50 prób obróbki cieplnej stosując zarówno gotowanie w wodzie, w 1% roztworze soli, mikrofalowanie, pieczenie i smażenie.

Stwierdzono, że **obróbka cieplna** w istotny sposób zmieniała pojemność przeciwutleniającą i zdolność redukującą surowców zwierzęcych, przy czym większy wpływ na te zmiany miał rodzaj surowca, w mniejszym zaś sposób obróbki cieplnej. Obróbka cieplna generalnie powodowała spadek aktywności przeciwutleniającej badanych surowców: ryb nawet o ponad 60% (średnio) i wołowiny o ponad 50%, w mniejszym zaś stopniu wieprzowiny i drobiu. Było to spowodowane termiczną inaktywacją enzymów (Lee i in., 1996), a także denaturacją innych białek, w tym posiadających właściwości przeciwutleniające np. albuminy i białka miofibrylarne zawierające grupy -SH (Chan, Decker, 1994, Frankel, 1998, Wołosiak, Worobiej, 2007). Mei i in., 1994, Lee i in. (1996) oraz Williams (1997) wykazali, że ogrzewanie mięsa wieprzowego i wołowego do temperatury 60-80°C powodowało istotne obniżenie aktywności enzymów przeciwutleniających: katalazy i peroksydazy glutationowej, przy czym aktywność dysmutazy ponadtlenkowej nie zmieniała się. W wyniku obróbek cieplnych w surowcach zwierzęcych spada również zawartość ubichinonu (Weber i in., 1997), kwasu askorbinowego, tauryny i kreatyniny (Purchas i in., 2006). Stężenie glutationu nie zmienia się pod wpływem ciepła, ale silnie obniża w utlenionym mięsie (Lee i in., 1996, Petillo, 1996). Może to tłumaczyć wykazany w badaniach własnych spadek aktywności przeciwutleniającej całkowitej pojemności przeciwutleniającej. Obróbki cieplne powodują bowiem termiczną aktywację i uwolnienie katalizującego reakcję utlenienia żelaza z mioglobiny (Schricker, Miller, 1983, Kristensen, Andersen, 1997), powstawanie wysoce reaktywnych rodników ferryłmioglobinowych (Bartosz, 2003), ponadto powodują przerwanie błon komórkowych i wystawienie lipidów na działanie

proooksydantów środowiska. Jednakże w oparciu tylko o wyniki uzyskane w niniejszej pracy nie można jednoznacznie powiedzieć o zależności między utlenieniem lipidów a pojemnością przeciwutleniającą.

W niniejszej pracy spadki aktywności dotyczyły w największym stopniu i szerokim zakresie ryb: pozostało w nich od zaledwie 28% do prawie 65% aktywności przeciwutleniającej surowca. Najbardziej odpornymi na zmiany termiczne aktywności przeciwutleniającej rybami były dorsze i łososie. To że największe straty stwierdzono w odniesieniu do ryb spowodowane być mogło większą podatnością białek ryb na denaturację (Kołakowski, 1986, Kołakowski, Sikorski, 1994) a także wyższą w nich zawartością nienasyconych kwasów tłuszczowych, a co się z tym wiąże większym zużyciem związków przeciwutleniających w celu ograniczenia zmian oksydacyjnych w tych kwasach podczas ogrzewania (Rhee, Ziprin, 1987).

Wykazano, że termiczna aktywność przeciwutleniająca zależy także od świeżości surowca, o czym świadczą badania na pstrągach. Najwięcej z aktywności przeciwutleniającej traciły ryby świeże. W zależności od czasu przechowywania zachowało się od 36 do prawie 97% aktywności przeciwutleniającej próby surowej. Ryby świeże najmniej aktywności przeciwutleniającej traciły podczas gotowania, następnie w 3 dniu przechowywania chłodniczego rodzaj obróbki nie miał znaczenia, po tygodniu nieco korzystniej było rybę smażyć a po dwóch tygodniach i starsze, czyli ryby na granicy przydatności do spożycia ponownie gotować. Różnice te przypisać można głównie frakcji metanolowej, gdyż ze wzrostem zawartości związków rozpuszczalnych w metanolu wzrastała odporność na termiczny spadek aktywności przeciwutleniającej badanych surowców zwierzęcych. Świadczy to prawdopodobnie o uwalnianiu się wskutek autolizy wolnych aminokwasów i związków niebiałkowych (Kołakowski, 1986), a także trimetyloamina (TMA) i TVBN (lotne zasady amonowe) (Chytyri, 2003), którym przypisuje się właściwości przeciwutleniające.

Po przeliczeniu wyników na s.m. straty termiczne przeciwutleniaczy dotyczyły już wszystkich surowców zwierzęcych i były sporo wyższe niż w m.m..

Obróbka cieplna nie miała tak jednoznacznego wpływu na **właściwości redukujące** jak na aktywność przeciwutleniającą. Mięso wieprzowe po obróbkach cieplnych miało wyższą o 1,4-2,6 razy zdolność redukującą niż surowiec. Największe straty zdolności redukującej w zależności od obróbki cieplnej dotyczyły wołowiny od 50 do 75%, szczególnie mikrofalowanej i pieczonej (ponad 75%), niewielkie kilkuprocentowe dotyczyły ryb i drobiu. Największe spadki zdolności redukującej wśród ryb dotyczyły dorszy, które są bardziej wrażliwe na denaturację i tworzenie mostków S-S, a co się z tym wiąże na spadek rozpuszczalności białek (Sikorski, 1994), a także łososi i w mniejszym stopniu śledzi.

Halvorsen (2004) wykazał że frakcja metanolowo - wodna tilapii wykazywała po gotowaniu wzrost zdolności redukującej oznaczonej metodą FRAP, co generalnie jest

w zgodzie z wynikami uzyskanymi w niniejszej pracy dla frakcji metanolowej surowców pochodzenia zwierzęcego.

Podsumowując wpływ obróbki cieplnej można stwierdzić, że bez względu na rodzaj obróbki najbardziej odporne termicznie związki przeciwutleniające zawierał drób, najmniej odporne ryby i wołowina, z czego wynika, że surowce te wymagają szczególnie łagodnej obróbki cieplnej i kontroli jej parametrów. Najbardziej odporne termicznie związki redukujące posiadało mięso wieprzowe, przyczyną mogła być wyższa odporność termiczna katalazy w mięsie wieprzowym niż w wołowinie, czy mięsie kurcząt, co wykazał Pradhan. i in, (2000).

Wyniki uzyskane w niniejszej pracy świadczą o tym, że mięso ryb, wieprzowina, wołowina i drób posiadają zdolność wychwytywania rodników ABTS[•] zarówno w próbach surowych, jak i nadal, na ogół niższą, po obróbkach cieplnych. Porównując wyniki uzyskane w niniejszej pracy, bez uwzględnienia dominującej frakcji NaCl, z danymi z piśmiennictwa dla surowców roślinnych, warzyw, owoców, zbóż (Garcia-Alonso i in. 2001, Pellegrini i in., 2003, Soong i Barlow, 2004, Serano i in., 2007) można stwierdzić, że surowce pochodzenia zwierzęcego stanowią nawet dobre źródło przeciwutleniaczy – lepsze niż zboża, warzywa strączkowe i niektóre warzywa i owoce. Oznaczana w naszym laboratorium w takich samych warunkach aktywność warzyw uznawanych za źródło przeciwutleniaczy świadczy o tym, że surowce zwierzęce mają porównywalną aktywność przeciwutleniającą jak popularne w diecie Polaków warzywa: kapusta biała, marchew, cebula i nieco gorsze niż brukselka (Plust i in., 2005, Kołakowska i Aranowska, Kołakowska i Serdyńska, wyniki niepublikowane). Biorąc również pod uwagę fakt, że nie wzięto pod uwagę frakcji NaCl, stanowiącej średnio aż 85 % sumy frakcji wodnej i metanolowej, surowce zwierzęce akcentują swoje znaczenie jako źródło wychwytywaczy wolnych rodników w diecie.

Z drugiej jednak strony zdolność wiązania rodników ABTS przez białka miofibrylarne stanowi pośrednio potwierdzenie udziału białek w procesach utleniania rodnikowego, a co się z tym wiąże uszkodzenie białek, denaturację, utlenienie aminokwasów endogennych, czyli procesów mających wpływ na jakość i wartość odżywczą żywności (Kołakowska, 2003).

6 WNIOSKI

1. Surowce pochodzenia zwierzęcego surowe a także po obróbce cieplnej wykazują właściwości przeciwutleniające.
2. Średnia pojemność przeciwutleniająca tkanki mięśniowej ryb i zwierząt stałocieplnych jest zbliżona ok. $13\mu\text{M TE g m.m.}$, natomiast występują znaczne różnice w zależności od gatunku, a także partii surowca. Surowce te można uszeregować w następujący sposób: mięso kurcząt \geq mięso wołowe \geq mięso wieprzowe \geq ryby
3. Na pojemność przeciwutleniającą poszczególnych surowców zwierzęcych istotny wpływ mają właściwości redukujące ($r=0,84$ do $1,00$, przy $p<0,05$). Hierarchia surowców przedstawia się następująco: ryby \geq mięso wieprzowe \geq mięso wołowe \geq mięso kurcząt. Średnia zdolność redukująca ryb jest 2,5 razy wyższa niż zwierząt stałocieplnych.
4. Pojemność przeciwutleniająca zależy od świeżości surowca. Obniża się w trakcie przechowywania chłodniczego. W trakcie przechowywania chłodniczego aktywność przeciwutleniająca pstrągów jest odwrotnie zależna od zdolności redukującej ($r=0,92$).
5. Obróbka cieplna powoduje obniżenie się pojemności przeciwutleniającej, zależne bardziej od gatunku niż rodzaju obróbki cieplnej.
6. Najbardziej odporne termicznie jest mięso drobiu i wieprzowina, dużo słabiej wołowina i ryby. Badane surowce zwierzęce po obróbce cieplnej można uszeregować w następujący sposób: mięso kurcząt $>$ mięso wieprzowe $>$ mięso wołowe \geq ryby
7. Do wywaru podczas gotowania przechodzi nawet kilkanaście procent aktywności przeciwutleniającej i redukującej. Dodatek soli (1%) podczas gotowania w zależności od rodzaju surowca, zawartości lipidów i ich stopnia utlenienia może spowodować wzrost lub obniżenie aktywności przeciwutleniającej.
8. Warunki ekstrakcji (rodzaj rozpuszczalnika, stosunek materiału do rozpuszczalnika, czas ekstrakcji) mają istotny wpływ na aktywność przeciwutleniającą (TEAC) i redukującą (FRAP), co należy wziąć pod uwagę rozpoczynając badania nowej grupy produktów żywnościowych.

7 PIŚMIENICTWO

1. Ackman, R. G. , 1988. Concerns of Utilization of Marine Lipids and Oils. *Food Technol.* 42 (5): 151-155.
2. Alaiz, M. , Zamora, R. , Hidalgo, F. J. 1996. Contribution of the formation of oxidized lipid/amino acid reaction products to the protective role of amino acids in oils and fats. *J. Agric. Food Chem.* 44: 1890-1895.
3. Aljadi, A.M., Kamarrudin, M.Y. 2004. Evaluation of the phenolic contents and antioxidant capacities of two Malaysian floral honeys. *Food Chem.* 85: 513-518
4. Amakura, Y., Umino, Y., Tsuji, S., Tonogai, Y. 2000. Influence of jam processing on the radical scavenging activity and phenolic content in berries. *J. Agr. Food Chem.* 48: 6292-6297
5. Arnao, M. B. 2000. Some methodological problems in the determination of antioxidant activity using chromogen radicals: a practical case. *Trends Food Sci. Technol.* 11: 419- 421.
6. Arts, M. J. T. J., Dalinga, J. S., Voss, H. P., Haenen, G. R. M. M., Bast, A. 2004 A new approach to asses the antioxidant capacity using the TEAC assay.. *Food Chem.* 88: 567-570.
7. Arts, M. J., Haenen, G. R., Voss, H. P., Bast, A. Antioxidant Capacity of reaction products limits the applicability of the Trolox Equivalent Antioxidant Capacity (TEAC) assay. *Food Chem. Toxicol.* 42(1): 45-49
8. Aruoma, O. I. 2003. Methodical considerations for characterizing potential antioxidant actions of bioactive components in plant foods. *Mutation Res.* 523-524: 9-20.
9. Aubourg, S., Gallardo, J. M., Medina, I., Perez, M. R. 1995. Fluorescent compound formation in sardine muscle during refrigeration and frozen storage. Current status and future trends. *Proceedings of EURO FOOD CHEM VIII, Austria.* 3. 579-583.
10. Baer- Dubowska, W. 2003. Chemoprewencja – profilaktyka i terapia wspomaganą raków głowy i szyi. *Post. Chirurg. Głowy i Szyi.* 2: 3-14
11. Bartoń, H. 2007. Standaryzacja metod oznaczania aktywności przeciwutleniającej żywności i próbek biologicznych. *Zagadnienia analityczne W: W. Grajek, (red), 2007, Przeciwutleniacze w żywności. Aspekty zdrowotne, technologiczne, molekularne i analityczne.* WNT, Warszawa, 550-567
12. Bartosz, G., *Druga twarz tlenu.* Warszawa. PWN
13. Bartoszek, A., Forc, A., Grześkowiak, J. 2002. Antioxidative properties of some vegetable products traditional for diets in central europe – short report. *Pol. J. Food Nutr. Sci.* 66-69.
14. Bartoszek, A., Kusznierevicz, B., Namieśnik, 2007. *Zagadnienia analityczne. Podstawowe mechanizmy reakcji stosowane w metodach pomiaru zdolności przeciwutleniających.* W: *Przeciwutleniacze w żywności.* W Grajek (Red.), WNT, Warszawa, 532-550.
15. Bast, A. , Haenen, G. R. M. M. 1988. Interplay between lipoic acid and glutathione in the protection against microsomal lipid. *Biochim. Biophys. Acta.* 963: 558-561.
16. Becker, E. M., Nissen, L. R., Skibsted, L. H. 2004. Antioxidant evaluation protocols: Food quality or health effects. *Eur. Food Res. Technol.* 219: 561-571.
17. Benzie, I. F. F., Strain, J. J. 1996. The ferric reducing ability of plasma FRAP as a measure of antioxidant power: The FRAP assay. *Anal. Bioch.* 239: 70- 76.
18. Benzie, I. F. F., Strain, J. J. 1999. Ferric reducing/ antioxidant power assay: direct measure of total antioxidant activity of biological fluids and modified version for simultaneous measurement of total antioxidant power and ascorbic acid concentration. *Meth. Enzymol.* 299: 15- 27.
19. Bogardus, S. L. , Boissonneault, G. A. 2000. carnosine inhibits in vitro low density lipoprotein oxidation. *Nutr. Res.* 967-976.
20. Bohm, F., Edge, R., Land, E. J., McGravey, D. J., Truscott, T. G. 1997. Carotenoids enhance vitamin E antioxidant efficiency . *J. Am. Chem. Soc.* 119: 621-622

21. Bohm, V., Puspitasari-Nienaber, N. L., Ferruzzi, M. G., Schwarz, S. J. 2002. Trolox Equivalent Antioxidant Capacity of Different Geometrical Isomers of α - Carotene, β - Carotene, Lycopene , and Zeaxanthin. *J. Agric. Food Chem.* 50: 221- 226.
22. Brannan, R. G. , Erickson, M. C. 1996. Quantification of antioxidants in channel catfish during frozen storage. *J. Agric. Food Chem.* 44: 1361-1366.
23. Buettner, G. R. , Jurkiewicz, B. A. 1996. Chemistry and biochemistry of ascorbic acid. W: *Handbook of Antioxidants (Vol. 3)*, E. Cadenas, L. packer (eds.), Marcel Dekker, New York, 91-116.
24. Cao, G., Alessio, H. M., Culter, R. 1993. Oxygen radical absorbance capacity assay for antioxidants. *Free Rad. Biol. Med.* 14, 303-311.
25. Chan, K. J. , Decker, E. A. 1994. Endogenous skeletal muscle antioxidants. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 34: 403-426.
26. Chan, K. M., Faustman, C., Yin, M., Decker, E. A. 1997. Lipid oxidation by oxymyoglobin and metmyoglobin with involvement of H_2O_2 and superoxide anion. *Meat Sci.* 46: 181-190.
27. Chen, H. M. , Muramoto, K. , Yamaguchi, f. , Fujimoto, K. , Nokihara, K. 1998. Antioxidative properties of histidine-containing designed from peptide fragments found in digest of soybean protein. *J. Agric. Food Chem.* 46: 49-53.
28. Chen, I.-C., Chang, H.-C., Yang, H.-W., Chen, G.-L., 2004 Evaluation of total antioxidant activity of several popular vegetables and Chinese herbs: A fast approach with ABTS/ H_2O_2 /HRP system in microplates. *J. Food Drug Anal.* 12: 29-33
29. Chen, J., Lindmark-Månsson, H., Gorton, L., Åkeson, B. 2003. Antioxidant Capacity of bovine milk as assayed by spectrophotometric and amperometric methods. *Int. Dairy J.* 13: 927- 935.
30. Clark, T. H. , Faustman, C. , Chan, W. K. M. , Furr, H. C. , Riesen, J. W. 1999. Canthaxanthin as an Antioxidant in a Liposome Model System and in Minced Patties from Rainbow Trout. *J. Food Sci.* 64: 982-985.
31. Crush, K. G. 1970. Carnosine and related substances in animal tissues. *Comp. Biochem. Physiol.* 34: 3-30
32. Davalos, A., Gomez-Cordoves, C., Bartolome, B. 2003. Commercial dietary antioxidant supplements assayed for their antioxidant activity by different methodologies. *J. Agric. Food Chem.* 51: 2512-2519
33. de Zwart, L. L., Meerman, J. H. N., Commandeur, J. N. M. & Vermuelen, N. P. E. 1999 Biomarkers of free radical damage. Applications in experimental animals and humans. *Free Radic. Biol. Med.* 26: 202–226
34. Decker, E. A. , Livisay, S. A, Zhou, S. 2000. Mechanism of Endogenous Skeletal Muscle Antioxidants: Chemical and Physical Aspects. W: *Antioxidants in Muscle Foods*, E. Decker, C. Faustman, C. Lopez-Bote (eds.), John Wiley and Sons, Inc.
35. Decker, E. A. , Xu, Z. 1998. Minimizing rancidity in muscle foods. *Food Technol.* 52 (10): 54-59
36. Decker, E. A., Livisay, S.A., Zhou, S. 2000 . Mechanism of Endogenous Skeletal Muscle Antioxidants: Chemical and Physical Aspects. In: *Antioxidants in Muscle Foods: Nutritional strategies to improve quality*. E. A. Decker, C. Faustman, C. J. Lopez-Bote (Eds). John Wiley&Sons, Inc. Publication
37. Del Caro, A., Piga, A., Vacca, V., Agabbio, M. 2004. Changes of flavonoids, vitamin C and antioxidant capacity in minimally processed citrus segments and juices during storage. *Food Chem.* 84: 99-105
38. Descalzo, A. M., Rosetti, L., Grigoni, G., Irurueta, M., Sancho, A. M., Carrete, J., Pensel, N.A. 2007. Antioxidant status and odour profile in fresh beef from pasture or grain-fed cattle. *Meat Sci.* 75: 299-307.

39. Devasagayam, T. P. A. , Di Mascio, P. , Sies, H. 1991. Singlet oxygen induced single –strand breaks in plasmid pBR322 DNA: The enhancing effect of thiols. *Biochim. Biophys. Acta.* 1088: 409-412.
40. DeVore, V. R. , Colnago, G. L. , Jensen, L. S. , Green, B. E. 1983. Thiobarbituric acid values and glutathione peroxidase activity in meat from chickens fed a selenium-supplemented diet. *J. Food Sci.* 48: 300-301.
41. Diaz, R. P., Baran, E. J. 2003. A density functional study of some physical properties of carnosine (N-β-alanyl-L-histidine). *Theochem.* 621:245-251.
42. Droplet, G. , Dumbroff, E. B. , Legge R. L. , Thompson , J. E. 1986. Radical scavenging properties of polyamines. *Phytochem.* 25: 367-371.
43. Durnford, E. , Shahidi, F. 1998. Flavour of fish meat. W: *Flavour of Meat, Meat Products and Seafoods*, F. Shahidi (ed.), Blackie Academic & Professional, Londyn, 131-158.
44. Ekanayake, P.M., Park, G.T., Lee, Y.D., Kim, S.J., Jeong, S.C., Lee, J., Antioxidant Potential of eel (*Anguilla Japonica* and *Conger Myriaster*) flesh and skin. *J Food Lipids.* 12: 34-47.
45. Erel, O., 2004. A novel automated direct measurement method for total antioxidant capacity using a new generation, more stable ABTS radical cation. *Clin. Bioch.* 37: 277- 285.
46. Ericsson, M.C. 1992. Changes in lipid oxidation during cooking of refrigerated minced channel catfish muscle. W: *Lipid Oxidation in Food*, A.J St. Angelo (Ed.), American Chemical Society, Washington, DC, 344-350
47. Farmer, L. J. , 1992. Meat flavour. W: *The Chemistry of Muscle- Based Foods*, D. A. Ledward, D. E. Johnston, M. K. Knight (eds.), 167-182. Cambrige, UK: Royal Society of Chemistry
48. Firuzi, O., Lacanna, A., Petrucci, R., Marrosu, G., Saso, L. 2005. Evaluation of the antioxidant activity of flavonoids by "ferric reducing antioxidant power" assay and cyclic voltammetry. *Bioch. Bioph. Acta.* 1721: 174-184
49. Flaczyk, E., Rudzińska, M., Wąsowicz, E., Korczak, J. 2006. Effect of cracklings hydrolysates on oxidative stability of pork meatballs. *Food Res. Int.* 39: 924-931
50. Fogliano, V., Verde, V., Randazzo, G., Ritteni, A. 1999. Method for measuring antioxidant activity and its application to monitoring antioxidant capacity of wines. *J. Agric. Food Chem.* 47: 1035- 1040.
51. Frankel, E. N., Meyer, A. S. 2000. The problems of using one- dimensional methods to evaluate multifunctional food and biological antioxidants. *J. Sci. Food Agric.* 80: 1925: 1941.
52. Gao, X., Björk, L., Trajkovski, V., Uggla, M. 2000. Evaluation of antioxidant activities of rosehip ethanol extracts in different test systems. *J. Sci. Food Agric.* 80: 2021- 2027.
53. Garcia- Alonso, M., De Pascual- Teresa, S., Santos- Buelga, C., Rivas- Gonzalo, J. C. 2004. Evaluation of the antioxidant properties of fruit. *Food Chem.* 84: 13-18.
54. Gatellier, P., Mercier, Y., Renerre, M. 2004. Effect of diet finishing mode (pasture or mixed diet) on antioxidant status of Charolais bovine meat. *Meat. Sci.* 67: 385- 394.
55. Gebicki, S. , Gebicki, J. M. 1993. Formation of peroxides in amino AIDS and and proteins expose to oxygen free radical. *Biochem. J.* 289: 743-749.
56. Gliszczyńska- Świąło, A. 2005. Antioxidant activity of water soluble vitamins in the TEAC (trolox equivalent antioxidant capacity) and the FRAP (Ferric reducing antioxidant power) assays. *Food Chem.* 96: 131- 136.
57. Głód, B. K., Olszewska, E., Piszcz, P. 2006. Wolne rodniki a stres oksydacyjny. *Tłuszcze jadalne.* 41, 3-4, 254 - 263.
58. Gordon, D. T. 1990. The mechanism of antioxidant action in vitro. W: *Food antioxidants*, B. J. F. Hudson (ed.), Elsevier Applied Science, London, 1-18.
59. Gorinstein, S., Martin- Belloso, O., Katrich, E., Lojek, A., Čiž, M., Gligelmo- Miguel, N., Haruenkit, R., Park, Y. S., Jung, S. T., Trakhtenberg, S. 2003. Comparison of the contents of the

- main biochemical compounds and the antioxidant activity of some Spanish olive oils as determined by four different radical scavenging tests. *J. Nutr. Bioch.* 14: 154- 159.
60. Gosker, H. R., Bast, A., Haenen, G. R. M. M., Fischer, M. A. J. G., Van der Vusse, G. J., Wouters, E. F. M., Schols, A. M. W. J. 2005. Altered antioxidant status in peripheral skeletal muscle of patients with COPD. *Resp. Med.* 99: 118- 125.
 61. Grajek, W. (red), 2007, *Przeciwutleniacze w żywności. Aspekty zdrowotne, technologiczne, molekularne i analityczne.* WNT, Warszawa, s. 519-559.
 62. Halliwell, B., Aeschbach, R., Loelinger, H., Aruoma, O.E. 1995. The characterization of antioxidants. *Food Chem. Toxic.* 33: 601-617
 63. Halliwell, B., Gutteridge, J. M. 1989. Lipid peroxidation: a radical chain reaction. W: *Free Radicals in Biology and Medicine*, Clarendon Press, Oxford, 188-256.
 64. Halvorsen, B. L., Carlsen, M. H., Phillips, K. M., Bohn, S. K., Holte, K., Jacobs, D. R., Blomhof, R., 2006. Content of redox-active compounds (ie, antioxidants) in foods consumed in the United States. *Am. J Clin Nutr.* 84: 95-135.
 65. Halvorsen, B.L., Holte, K., Myhrstad, M. C. W., Barikmo, I., Hvattum, E., Remberg, S. F., Wold, A.-B., Haffner, K., Baugerød, Andersen, L. F., Moskaug, J. Ø, Jacobs, D. R., Blomhoff, R. 2002. A Systematic Screening of Total Antioxidants in Dietary Plants, 461-471.
 66. Hernandez, P., Park, D. K., Rhee, K. S. 2002. Chloride salt type/ ionic strength, muscle site and refrigeration effect on antioxidant enzymes and lipid oxidation in pork. *Meat Sci.* 61: 405:410.
 67. Hernandez, P., Zomeño, L., Ariño, B., Blasco, A. 2004. Antioxidant, lipolytic and proteolytic enzyme activities in pork meat from different genotypes.
 68. Hultin, H. O. 1994. Oxidation of lipids in seafoods. W: *Seafoods: Chemistry, processing technology and quality*, F. Shahidi, J. F. Botta (eds.), Blackie Academic and Professional, Glasgow, 49-74.
 69. Hultin, H.O. 1994. Oxidation of lipids in seafoods. W: *Seafoods: Chemistry, processing technology and quality*, F. Shahidi I J.F. Botta (Eds.), Blackie Academic and professional, Glasgow, 49-74
 70. Igene, J. O., King, J. A., Pearson, A. M., Gray, j. I. 1979. Influence of haem pigments, nitrite and non-haem iron on development of warmed-over flavour in cooked meat. *J. Agric. Food Chem.* 27: 838-842
 71. Igene, J. O., Pearson, A. M., Dugan, A. M., Price, J. F. 1980. Role of triglycerides and phospholipids on development of rancidity in model meat systems during frozen storage. *Food Chem.* 5: 263-276
 72. Ishikawa, Y. , Yuki, E. , Kato, H. , Fujimaki, M. 1978. The mechanizm of synergism between tocopherols and trimethyloamine oxide in the inhibition of the autooxidation of metyl linoleata. *Agric. Boil. Chem.* 42: 711: 716.
 73. Javanmardi, J., Stushnoff, C., Locke, E., Vivanco, J.M. 2003. Antioxidant activity and total phenolic content of Iranian *Ocimum* accessions. *Food Chem.* 83: 5470550
 74. Jensen, C. , Birk, E. , Jokumsen, A. , Skibsted, L. H. , Bertelsen, G. 1998. Effect of dietary levels of fat , α -tocopherol and astaxanthin on colour and lipid oxidation during storage of frozen rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and during chill storage of smoked trout. *Z. Lebensm. Unters. Forsch.* 207: 189-196.
 75. Kalt, W., Forney, C. F., Martin, A., Prior, R. L. 1999. Antioxidant capacity, vitamin C, phenolics, and anthocyanins after fresh storage of small fruits. *J. Agric. Food Chem.* 47: 4638-4643
 76. Kankofer, M., Lipko, J., Zdunczyk, S. 2005. Total antioxidant capacity of bovine spontaneously released and retained placenta. *Pathophysiology* . 215-219.
 77. Kanner, J. , Harel, S. 1985. Initiation of membranial lipid peroxidation by activated metmyoglobin and methemoglobin. *Arch. Biochem. Biophys.* 237: 314-321.

78. Kantha, S. S., Takeuchi, M., Watabe, S., Ochi, H. 2000. HPLC Determination of Carnosine in Commercial Canned Sous and Natura Meat Extracts. *Lebens. Wiss. Technol.* 33: 60-62.
79. Karel, M., Schaich, K., Roy, R. B. 1975. Interaction of peroxidizing methyl linoleate with some proteins and amino acids. *J. Agric. Food Chem.* 23: 159-163.
80. Katalinic, V., Modun, D., Music, I., Boban, M. 2005. Gender differences in antioxidant capacity of rat tissues determined by 2,2'-azinobis-(3-ethylbenzothiazoline 6-sulfonate; ABTS) and ferric reducing antioxidant power FRAP assays. 2005. *Comp. Biochem. Physiol.* C140: 47-52.
81. Kehrer, J. P., Smith, C. V. 1994. In *Natural Antioxidants in Health and Disease*, B. Frei (Ed), Academic Press, London
82. Khanum, M. N., Yamaguchi, T., Hiroishi, S., Muraoka, F., Takamura, H., Matoba, T. 1999. Radical-Scavenging Activities of Fish and Fishery Products. *Food Sci. Technol. Res.* 5(2), 193-199.
83. Kołakowska, A., Zienkiewicz, L., Domiszewski, Z., Bienkiewicz, G. 2006. Lipid changes and sensory quality of whole and gutted rainbow trout during storage in ice. *Acta Ichth. Pisc.* 36(1): 39-47
84. Kołakowska, A., 2003. Lipid Oxidation in Food Systems. In: *Chemical and functional properties of food lipids*. Ed. Z. Sikorski, A. Kołakowska. CRC Press LLC, Cambridge, 133-154.
85. Kołakowska, A., Czerniejewska-Surma, B., Gajowiecki, L., Lachowicz, K., Zienkiewicz, L. 1992. Effect of fishing season on shelf life iced Baltic herring. *Quality Assurance in the fish industry, proceedings of an International Conference, Copenhagen, Denmark, 26-30 August 1991*, 81-93
86. Kołakowska, A., Domiszewski, Z., Bienkiewicz, G. 2007. Effects of biological and technological factors on the utility of fish as a source of n-3 PUFA.
87. Kołakowska, A., Kołakowski, E., Szczygielski, M. 1995. Effect of unidirectional freezing on lipid changes during storage of minced beam, 19th International Congress of Refrigeration, The Hague, Aug. 20-25, Proc II Storage, Transport and Distribution, 196
88. Kołakowska, A., Szczygielski, M., 1994. Stabilization of lipids in minced fish by freeze texturization. *J. Food Sci.* 59: 88-90
89. Kołakowski, E. 2001. Protein determination and analysis in food systems. In: *Chemical and Functional Properties of Food Proteins*, Z. E. Sikorski (Ed.), 57-113.
90. Kołakowski, E., 1986. *Technologia farszów rybnych*, PWN
91. Kołakowski, E., Gajowiecki, L. 1992. Optimization of autolysis to obtain an edible product "precipitate" from Antarctic krill (*Euphausia superba* Dana). W: *Seafood Science and Technology*. Ed. E. G. Bligh. Fishing News Books, 331-337.
92. Korczak, J., 1998. Czynniki warunkujące właściwości przeciwutleniające hydrolyzatów białkowych soi i kazeiny. *Rocz. Ar. Pozn., Nauk.* 281.
93. Korczak, J., 1999. Białka w technologii potraw. W: *Białka w żywności i żywieniu*. Wyd. AR Poznań i Katedra Higieny Żywności Człowieka. Poznań. 72-92.
94. Kristensen, L., Andersen, H. J. 1997. Effect of heat denaturation on the pro-oxidative activity of metmyoglobin in linoleic acid emulsions. *J. Agric. Food Chem.* 45: 7-13.
95. Lambellet, P., Löliger, J., Saucy, F., Bracco, U. 1992. Antioxidant properties of coenzyme Q₁₀ in food systems. *J. Agric. Food Chem.* 40: 581-544.
96. Lan, Y. H., Novakofski, J., Carr, T. R., McKeith, F. 1993. Assay and storage condition affect yield of salt soluble protein from muscle. *J. Food Sci.* 58: 963-967.
97. Lee, S. K., Mei, L., Decker, E. A. 1996. Lipid oxidation in cooked turkey as affected by added antioxidant enzymes. *J. Food Sci.* 61: 726-728.
98. Lee, S. K., Mei, L., Decker, E. A. 1997. Influence of sodium chloride on antioxidant enzyme activity and lipid oxidation in frozen ground pork. *Meat Sci.* 46: 349-355.

99. Llesuy, S., Evelson, P., Campos, A. M., Lissi, E. 2001. Methodologies for evaluation of total antioxidant activities in complex mixture. A critical Review. *Biol. Res.* 34: 51-73
100. Lombardi-Boccia, G., Martinez-Dominguez, Aguzzi, A., Rincon-Leon, F. 2002. optimization of heme iron analysis in raw and cooked red meat. *Food Chem.* 78: 505-510, 2005
101. López, M. C. , Satuè, M. T. , González, M. L. , Agromont, A. 1995. α -Tocopherol content in trout oil. *Food Chem.* . 53: 67-70.
102. Maikhunthod, B., Intarapichet, K. O. 2005. Heat and ultrafiltration extraction of broiler meat carnosine and its antioxidant carnosine. *Meat Sci.* 71: 364-374.
103. Mansur, M. A., Bhadra, A., Takamura, H., Matoba, T. 2002. Effect of processing and storage on the radical scavenging activity of horse mackerel and sardine. *Fisheries Sci.* 68: 1390-1392.
104. Mei, L. , Crum, A. D. , Decker, E. A. 1994. Role of antioxidant enzymes in the development of warmed-over flavor in pork. *J. food lipids* 1: 273-283.
105. Mercier, Y. , Gatellier, P. , Renerre, M. 2003. Lipid and protein oxidation in vitro, and antioxidant potential in meat from Charolais cows finished on pasture or mixed diet. *Meat Sci.* 66: 467-473.
106. Mercier, Y. , Gatellier, P. , Renerre, M. 2004. Effect of diet finishing mode (pasture or mixed diet) on antioxidant status of Charolais bovine meat. *Meat Sci.* 67: 385-394.
107. Meyer, A. S. , Isaksen, A. 1995. Application of enzymes as food antioxidants. *Trends Food Sci. Technol.* 8: 198-203.
108. Miki, W. 1991. Biological functions and activities of animal carotenoids. *Pure & Appl. Chem.* 63: 141-146
109. Miliauskas, G., Venskutonis, P.R., Van Beek, T. A. 2004. Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extracts. *Food Chem.* 85: 231- 237.
110. Miller, N. J., Rice- Evans, C. A., Davies, M. J., Gopinathan, V., Millner, A. A. 1993. A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates. *Clin. Sci.* 84: 407- 412.
111. Miller, N. J., Sampson, J. Caneejas, L. P., Rice- Evans C. A. 1996. Antioxidant activities of carotenes and xanthophylls. *FEBS Lett.* 384: 240-242.
112. Morrissey, P.A., Buckley, D.J., Sheehy, P.J.A. and Monahan, F.J., 1994. Vitamin E and meat quality. *Proceedings of the Nutrition Society* 53: 289–295.
113. Müller, L. , Menzel, H. 1990. Studies on the efficiency on the lipoate and the dihydrolipoate in the alteration of cadmium toxicity in isolated hepatocytes. *Biochim. Biophys. Acta.* 1052: 386-391.
114. Navarro-Izzo, F. , Quartacci, M. F. , Sgherri, C. 2002. Lipoic acid: a unique antioxidant in the detoxification of activated oxygen species. *Plant Phys. Bioch.* 40: 463-470.
115. Nettleton, J. A. , Exler, J. 1992. Nutrients in wild and farmed fish and shellfish. *J. Food Sci.* 57: 257-260.
116. Niki, 1996. α -Tocopherol. In: *Handbook of Antioxidants*, E. Cadenas and L. Packer (Eds.), Marcel Dekker, New York, 3-25
117. Nogala-Kalucka, 2003. Fat-soluble vitamins. In: *Chemical and functional properties of food lipids*. Red Z. Sikorski, A. Kolakowska. CRC Press LLC, Cambridge, 109-133
118. Østdal H. , Daneshvar, B. , Skibsted, L. H. 1997. Reduction of ferrylmyoglobin by β -lactoglobulin. *Free Rad. Res.* 24(6): 429-438.
119. Ou, B., Prior, R. L., Huang, D., 2005, The chemistry behind dietary antioxidant capacity assays. *J. Agric Food Chem.*, 53, 1841-1856
120. Ou, P. , Tritschler, H. J. , Wolff, S. P. 1995. Thiooctic (lipoic) acid: A therapeutic metal-chelating antioxidant? *Bioch. Pharmacol.* 50: 121-126.

121. Pabuçcuoğlu, A., Kivçak, B., Baş, M., Mert, T. 2003. Antioxidant activity of *Arbutus unedo* leaves. *Fitoter.* 74: 597- 599.
122. Packer, J. E. , Slater, T. F. , Wilson R. L. 1979. Direct observation of a free radical interaction between vitamin E and vitamin C. *Nature.* 278: 737-738.
123. Packer, L. , Tritschler, H. J. 1996. Alpha-lipoic acid: The metabolic antioxidant. *Free Rad. Biol. Med.* 20: 625-626.
124. Packer, L., Witt, E.H., Tritschler, H.J. 1995. Alpha-lipoic acid as a biological antioxidant. *Free Radic Biol Med.* 19:227-250
125. Parker, R. S. 1989. Dietary and biochemical aspects of vitamin E. *Adv. Food Nutr. Res.* 33: 157-232.
126. Pearson, A. M. , Gray, J. I. , Wolzak, A. M. , Horenstein, N. A. 1983. Safety implications of oxidized lipids in muscle foods. *Food Technol.* 37(7): 121-129.
127. Pellegrini, N., Serafini, M., Colombi, B., Del Rio, D., Salvatore, S., Bianchi, M., Brighenti, F. 2003. Total Antioxidant Capacity of Plant Foods, Beverages and Oils Consumed in Italz Assessed bz Three Different In Vitro Assays
128. Perez, D. D., Leighton, F., Aspee, A., Aliaga, C., Lissi, E. 2000. A comparison of methods employed to evaluate antioxidant capabilities. *Biol. Res.* 33:
129. Pérez-Jiménez, J., Saura-Calixto, F. 2006. Effect of solvent and certain food constituents on different antioxidant capacity assays. *Food Res. Int.* 39: 791-800
130. Perricone, N. , Nagy, K. , Horváth, F. , Dajkó, G. , Uray, I. , Zs. -Nagy, I. 1999. Alpha lipoic acid (ALA) protects proteins against the hydroxyl free radical-induced alterations: rationale for its geriatric topical application. *Arch. Geront. Geriatr.* 29: 45-56.
131. Petillo, D. , Hultin, H. O. , Krzynowek, J. , Autio, W. R. 1998. Kinetics of antioxidant loss in mackerel light and dark muscle. *J. Agric. Food Chem.* 46: 4128-4137.
132. Podda, M. , Trischler, H. J. , Ulrich, H. , Packer, L. 1994. α -Lipoic acid supplementation prevent symptoms of vitamin E deficiency. *Biochem. Biophys.* 204(1): 98-104.
133. Pokorny, J., Korczak, J., Preparation of natural antioxidants. In: *Antioxidants in Food. Practical Application.* J. Pokorny, N. Yanishlieva, M. Gordon (Eds). Woodhead Publ., Cambridge: 311-330.
134. Pokorny, J., Schmidt, S. 2001. Natural antioxidant functionality during food processing. In: *Antioxidants in Food. Practical Application.* J. Pokorny, N. Yanishlieva, M. Gordon (Eds). Woodhead Publ., Cambridge. 331–354
135. Pradhan, A. A. , Rhee, K. S., Hernandez, P. 2000. Stability of catalase and its potential role in lipid oxidation in meat. *Meat Sci.* 54: 385-390.
136. Prior, R. L., Cao, G. 1999. In vivo Total Antioxidant Capacity: Comparison of Different Analytical Methods. *Free Rad. Biol. Med.* 27: 1173- 1181.
137. Prior, R.L., Wu, X., Schaich, K. 2005. Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* 53(8):3101-3113.
138. Pulido, R., Bravo, L., Saura- Calixto, F. 2000. Antioxidant activity of dietary polyphenols as determined by modified ferric reducing/ antioxidant power assay. *J. Agric. Food Chem.* 48: 3396-3402.
139. Purchas, R. W., Rutherford, S. M., Pearce, P. D., Vather, R., Wilkinson, B. H. P. 2006. Concentration in beef and lamb of taurine, carnosine, coenzyme Q₁₀ and creatine. *Meat Sci.* 66:629-637
140. Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., Rice-Evans, C. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Rad. Biol. Med.* 26: 1231- 1227.

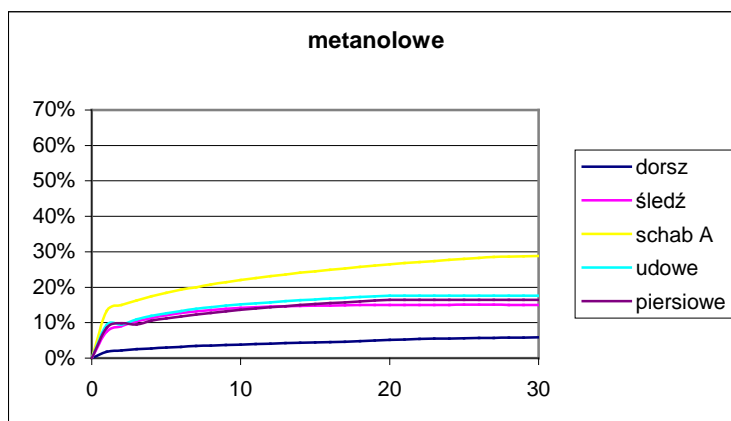
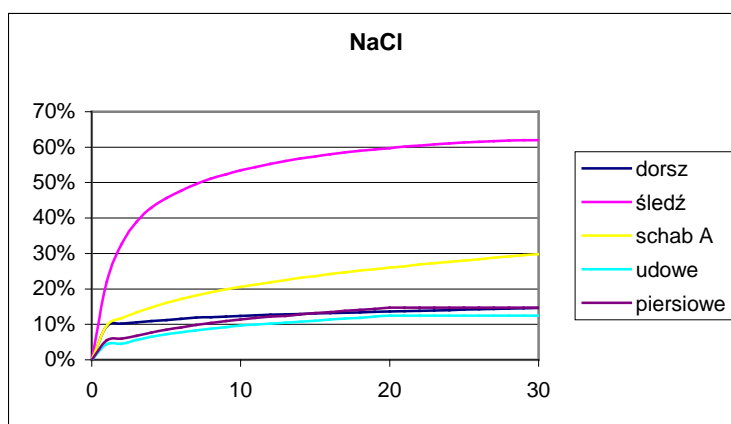
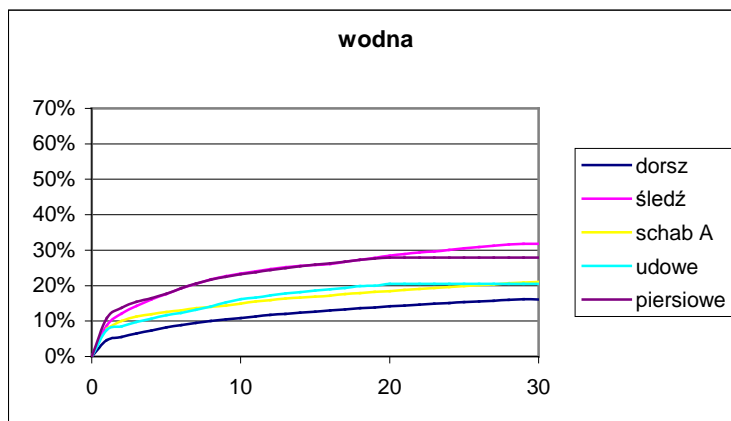
141. Renerre, M., Poncet, K., Mercier, Y., Gatellier, P., Métro, b. 1999. Influence of dietary fat and vitamin E on antioxidant status of muscle of turkey. *J. Agric. Food Chem.* 47: 237-244.
142. Rhee, K. S. , Anderson, L. M. , Sams, A. R. 1996. Lipid oxidation potential of beef, chicken and pork. *J. Food Sci.* 61: 8-12.
143. Rhee, K. S. 1988. Enzymic and nonenzymic catalysis of lipid oxidation in muscle foods. *Food Technol.* 42: 127:132.
144. Rhee, K. S., Zipirin, Y. A., Ordonez, G. 1987. Catalysis of lipid oxidation in raw and cooked beef by metmyoglobin – H₂O₂, nonheme iron, and enzyme systems. *J. Agric. Food Chem.* 35: 1013-1017
145. Rice- Evans, C., Miller, N. Measurement of antioxidant status of dietary constituents, low density lipoproteins and plasma. 1997. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids.* 57: 499-505.
146. Roginsky, V., Lissi, E. A. 2005. Review of methods to determine chain- breaking antioxidant activity in food. *Food Chem.* 92: 235- 254.
147. Rudzińska , M., Flaczyk, E., Amarowicz, R., Wąsowicz, E., Korczak, J. 2006. Antioxidative effect of crakling hydrolysates during frozen storage of cooked pork meatballs. *Eur Food Res. Technol.* 224:293-299
148. Sakai, T., Ueki, N., Munasinghe, D. 2003. Influence of sodium chloride on superoxide dismutase activity and lipid peroxidation in refrigerated and frozen yellowtail meat. *Fish. Sci.* 69: 1060-1064
149. Sampels, S. , Pickova, J. , Wiklund, E. 2003. Fatty acids, antioxidants and oxidation stability of processed reindeer meat. *Meat Sci.* 67: 523-530.
150. Sathivel, S., Bechtel, B. J., Babbitt, J., Smiley, S., Crapo, C., Reppond, K. D., Prinyawiwatkul, W. 20003. 68: 2196- 2200.
151. Schricker, B. R., Miller, D. D., 1983. Effect of cooking and chemical treatment on heme and nonheme iron in meat. *J. Food. Sci.* 48: 1340-1343
152. Scott, G. 1997. Chain-breaking antioxidants. W: *Antioxidants in Science, Technology, Medicine and Nutrition*, G. Scott (ed.), Albion Publishing, Chichester, 80-92.
153. Seman, D. L. , Decker E. A. , Crum, A. D. 1991. Factor affecting catalysis of lipid oxidation by a ferritin-containing extracts of beef muscle. *J. Food Sci.* 56:356.
154. Serrano, J., Goñi, I., Saura-Calixto. 2007. Food antioxidant capacity determined by chemical methods may underestimate the physiological antioxidant capacity. *Food Res. Int.* 40: 15-21
155. Sevanian, A. , Hochstein, P. 1985. Mechanism and consequences of lipid peroxidation in biological systems. *Ann. Rev. Nutr.* 5: 365-390.
156. Shea, T. B., Rogers, E., Ashline, D., Ortiy, D., Sheu, M.-S. 2003. Quantification of antioxidant activity in brain tissue homogenates using the "total equivalent antioxidant capacity". *J. Neurosci. Meth.* 125: 55-58
157. Sidwell, V.D., Loomis, A.L., Foncannon, P.R., buszel, D.H. 1978. Composition of the edible portion of raw (fresh or frozen) crustaceans, finfish, and mollusks. IV. Vitamins. *Mar. Fish. Rev.* 40: 1-16
158. Sies, H. 1986. Oxidative stress: Introductory remarks. W: *Oxidative stress*, H. Sies (ed.), 1-8, Orlando, FL: Academic Press.
159. Sikorski Z. E. 1994 The myofibrillar Proteins in Seafoods In: *Seafood Proteins*. Z. E. Sikorski, B. Sun Pan, F. Shahidi (Eds), Chapman&Hall
160. Sikorski, Sun Pan Z., 1994. The Effect of Heat induced changes in Nitrogenous Constituents on the properties of Seafoods. In: *Seafood Proteins*. Z. E. Sikorski, B. Sun Pan, F. Shahidi (Eds), Chapman&Hall

161. Sikorski, Z. E. , Kostuch, S. , Olley, J. 1976. Protein changes In frozen fish, *Critic. Rev. Food Sci. Nutr.* 8: 97-129.
162. Smith, G. , Hole, M. 1991. Browning of salted sun-dried fish. *J. Sci. Food Agric.* 55: 291-301.
163. Soong, Y.-Y., Barlow, P. J. 2004. Antioxidant activity and phenolic content of selected fruit seeds. *Food Chem*, 411-417.
164. Suzuki, Y. J. , Tsuchiya, M. , Packer, L. 1991. Thiooctic acid and dihydrolipoic acid are novel antioxidants which interact with reactive oxygen species. *Free Rad. Res. Comms.* 15: 255-263.
165. Symons, M. C. R. , Gutteridge, J. M. C 1998. Superoxide, peroxides, and iron in biological systems. W: *Free Radicals and Iron: Chemistry, Biology and Medicine*, M. C. R. Symons, J. M. C. Gutteridge (eds.), University Press, Oxford, 113-137.
166. Syväoja, E. L. , Salminen, K. 1985. Tocopherols and tokotrienols in Finnish foods: Fish and fish products. *JAOCS* 62; 1245-1248.
167. Traber, M. G. 1994. Determinants in plasma vitamin E concentrations. *Free Rad. Biol. Med.* 16: 229-239.
168. Uchida, K., Kawakishi, S. 1990. Formation of the 2-imidazolone structure within a peptide mediated by a copper(II)/ ascorbate system. *J. Agric. Food Chem.* 38: 1896- 1899.
169. Valencia, E., Marin, A., Hardy, G. 2001. Glutathione-Nutritional and Pharmacological Viewpoints: Part II. *Nutr.* 17: 485-486.
170. Van den Berg, , R., Haenen, G. R. M. M. Van den Berg, Bast, A., 1999. Applicability of an improvement Trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) assay for evaluation of antioxidant capacity measurements of mixtures. *Food Chem.* 66: 511-517
171. Vilaño, d., Fernandez –Pachón, M.S., Troncoso, A.M., Garcíá-Parilla, M.C. 2004. The antioxidant activity of wines determined by the ABTS^{•+} method: influence of sample dilution and time. *Talanta.* 64: 501-509
172. Vilaño, d., Fernandez –Pachón, M.S., Troncoso, A.M., Garcíá-Parilla, M.C. 2005. Comparison of antioxidant activity of vine phenolic compounds and metabolism in vitro. *Anal. Chimica Acta.* 538: 391-398
173. Watanabe, T. , 1982. Lipid nutrition in fish. *Comp. Biochem. Physiol.* 73B: 3-15.
174. Wayner, D. D. M. , Burton, G. W. , Ingold, K. U, Barclay, L. R. C. , Locke, S. J. 1987. The relative contributions of vitamine E, urate, ascorbate, and proteins to the total peroxy radical-trapping antioxidant activity in human blood plasma. *Biochim. Biophys. Acta* 924: 408-419.
175. Weber, C., Bysted, A., Hølmer, G., 1997. The coenzyme Q₁₀ content of the average Danish diet. *Int. J. Vit. Nutr. Res.* 67:123-129
176. Williams, S. J. 1997. The oxidative stability of cooked chicken. M. Agr. Sc thesis, University College Dublin. Za: Monahan, F. Oxidation of Lipids in Muscle Foods: Fundamental and Applied Concerns. In: *Antioxidants in Muscle Foods: Nutritional strategies to improve quality*. E. A. Decker, C. Faustman, C. J. Lopez-Bote (Eds). John Wiley&Sons, Inc. Publication
177. Wołosiak, R., Worobiej, E. 2007. Przeciwtleniające białka i peptydy żywności. Potencjał przeciwtleniający żywności pochodzenia zwierzęcego. W: W. Grajek, (red), 2007, *Przeciwtleniacze w żywności. Aspekty zdrowotne, technologiczne, molekularne i analityczne*. WNT, Warszawa, 229-235
178. Woo, J., Leung, S. S. F., Lam, C. W. K., Ho, S. C., Lam, T. H., Janus, E. D. 1997. Plasma Total Antioxidant Capacity in an Adult Hong Kong Chinese Population. *Clin. Bioch.* 30: 553- 557.
179. Wu, H. C. , Chen, H. M. , Shiau, C. Y. 2003. Free aminoacids and peptides as related to antioxidant properties in protein hydrolysates of mackerel (*Scomber austriasicus*). *Food Res. Int.* 36: 949-957.
180. Yanishlieva-Maslarova, N., V., 2001. Inhibiting oxidation . In: *Antioxidants in Food. Practical Application*. Red. J. Pokorny, N. Yanishlieva, M. Gordon. Woodhead Publ., Cambridge: 22-70

181. Yokozawa, T., Chen, C. P., Dong, E., Tanaka, T., Nonaka, G.-I., Nishioka, I. 1998. Study on the inhibitory effect of tannins and flavonoids against 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical. *Biochemical Pharmacology*, 56, 213-222.
182. Yu, L., Haley, S., Perret, J., Harris, Wilson, M. J., Qian, M. 2002. Free radical scavenging properties of wheat extracts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **50**: 1619–1624.
183. Zhang, Y. , Turunen, M. , Appelkvist, E. L. 1996. Restricted uptake of dietary coenzyme Q is in contrast to the unrestricted uptake of α -tocopherol into rat organs and cells. *J. Nutr.* 126: 2089-2097.

ZAŁĄCZNIKI

Załącznik 1 Kinytyki wygaszania rodników ABTS przez frakcje wyekstrahowane z surowców zwierzęcych [%]



Załącznik 2 Współczynniki korelacji między aktywnością przeciwutleniającą TEAC a zdolnościami redukującymi FRAP frakcji i sumą aktywności przeciwutleniającej frakcji z siedmiu różnych partii pszczołków tęczowych

	TEAC wodna	FRAP wodna	TEAC 5%NaCl	FRAP 5%NaCl	TEAC metanolowa	FRAP metanolowa	TEAC suma	FRAP suma
TEAC wodna		0,31	0,80	-0,05	0,68	0,35	0,90	0,12
FRAP wodna	0,31		0,29	0,77	-0,20	-0,06	0,20	0,90
TEAC 5%NaCl	0,80	0,29		0,27	0,85	0,29	0,97	0,32
FRAP 5%NaCl	-0,05	0,77	0,27		-0,17	-0,03	0,08	0,96
TEAC metanolowa	0,68	-0,20	0,85	-0,17		0,46	0,89	-0,15
FRAP metanolowa	0,35	-0,06	0,29	-0,03	0,46		0,37	0,05
TEAC suma	0,90	0,20	0,97	0,08	0,89	0,37		0,17
FRAP suma	0,12	0,90	0,32	0,96	-0,15	0,05	0,17	

Załącznik 3 Aktywność przeciwutleniająca dwóch partii pszczołków tęczowych przechowywanych chłodniczo.

Czas [dni]	m.m.							
	suma		wodna		5%NaCl		metanolowa	
	A	B	A	B	A	B	A	B
0	40,17	10,12	15,34 ^{bc}	5,35 ^{ac}	18,03 ^{bc}	4,24 ^{ab}	6,80 ^{bb}	0,54 ^{aa}
3	21,06		3,30 ^A		7,21 ^B		10,55 ^D	
4		9,18		3,59 ^A		4,90 ^C		0,68 ^A
6	14,78		4,26 ^B		5,44 ^A		5,08 ^A	
7		8,36		3,91 ^A		3,45 ^A		1,00 ^B
14	20,05	9,03	3,88 ^{aAB}	4,07 ^{ab}	7,40 ^{bb}	3,94 ^{aAB}	8,77 ^{bc}	1,02 ^{aBC}
18		10,37		4,00 ^{AB}		5,16 ^C		1,21 ^C
	s.m.							
	suma		wodna		5%NaCl		metanolowa	
	A	B	A	B	A	B	A	B
0	134,48	35,86	51,36 ^{bc}	18,95 ^{ac}	60,35 ^{bc}	15,01 ^{ab}	22,76 ^{bb}	1,90 ^{aa}
3	53,86		8,44 ^A		18,44 ^A		26,98 ^C	
4		30,56		11,96 ^B		16,34 ^C		2,27 ^A
6	51,19		14,75 ^B		18,85 ^A		17,59 ^A	
7		18,42		8,61 ^A		7,61 ^A		2,20 ^A
14	70,91	32,07	13,73 ^{ab}	14,44 ^{ac}	26,18 ^{bb}	13,99 ^{aAB}	31,00 ^{bd}	3,64 ^{ab}
18		37,24		14,37 ^C		18,51 ^C		4,36 ^C

Dane w segmentach wierszy oznaczone literami a,b,c...nie różnią się istotnie
Dane w segmentach kolumn oznaczone literami A,B,C...nie różnią się istotnie
A,B – partie pszczołków

Załącznik 4 Zmiany zdolności redukującej pstrągów tęczowych partii B przechowywanych chłodniczo

	m.m.			
	suma	wodna	5% NaCl	metanolowa
0	1,42	0,50 ^B	0,86 ^A	0,06 ^B
4	2,22	0,87 ^C	1,31 ^C	0,04 ^B
7	3,41	1,11 ^C	1,90 ^D	0,40 ^D
14	2,98	0,92 ^C	1,90 ^D	0,17 ^C
18	0,21	-0,36 ^A	1,12 ^B	-0,55 ^A
	s.m			
	suma	wodna	5% NaCl	metanolowa
0	5,03	1,79 ^B	3,03 ^A	0,21 ^B
4	7,40	2,90 ^C	4,36 ^B	0,14 ^B
7	7,51	2,45 ^C	4,18 ^B	0,89 ^D
14	10,57	3,25 ^C	6,73 ^C	0,59 ^C
18	0,74	-1,28 ^A	4,01 ^B	-1,98 ^A

Dane w kolumnach oznaczone tą sama literą nie różnią się istotnie

Załącznik 5 Aktywność przeciwutleniająca śledzi w przeliczeniu na białko i Nam

Fracja	TEAC [$\mu\text{M TE/ 1g}$]	
	białko	azot aminowy
wodna	31,13	6199,24
NaCl	27,74	3670,07
metanolowa	0,00	719,71
suma	58,87	10589,02

Załącznik 6 Zdolność redukująca śledzi bałtyckich w przeliczeniu na białko i Nam [$\mu\text{M TE/g}$]

Fracja	FRAP [$\mu\text{M TE/g}$]
	białko
wodna	122,00
NaCl	67,30
metanolowa	
suma	189,30

Załącznik 7 Aktywność przeciwutleniająca dorszy bałtyckich przeliczona na białko i Nam [$\mu\text{M TE/g}$]

Fracja	TEAC [$\mu\text{M TE/ g}$]	
	białko	azot aminowy
wodna	108,80	15156,56
5% NaCl	45,88	4773,66
metanolowa		658,66
suma	154,67	20588,88

Załącznik 8 Zdolność redukująca dorszy bałtyckich przeliczona na białko i Nam [$\mu\text{M TE/g}$]

Fracja	FRAP [$\mu\text{M TE/ g}$]	
	białko	azot aminowy
wodna	18,02	2510,81
5%NaCl	17,25	1794,54
metanolowa		430,17
suma	35,27	4735,52

Załącznik 9 Aktywność przeciwutleniająca łososi atlantyckich w przeliczeniu na białko i Nam [$\mu\text{M TE/g}$]

Fracja	TEAC [$\mu\text{M TE/ g}$]	
	białko	azot aminowy
wodna	64,11	11542,27
5%NaCl	110,62	20098,70
metanolowa	0	3011,13
suma	174,73	34652,10

Załącznik 10 Zdolność redukująca łososi atlantyckich w przeliczeniu na białko i azot aminowy [$\mu\text{M TE/g}$]

Fracja	FRAP [$\mu\text{M TE/ g}$]	
	białko	azot aminowy
wodna	12,84	2311,37
5%NaCl	14,53	3439,76
metanolowa		581,44
suma	27,37	6332,57

Załącznik 11 Aktywność przeciwutleniająca trzech partii mięsa wieprzowego w przeliczeniu na białko i azot aminowy

Fracja	TEAC [$\mu\text{M TE/g m.m.}$]					
	białko			azot niebiałkowy		
	A	B	C	A	B	C
wodna	147,01	65,14	182,82	867,06	426,68	627,36
5%NaCl	77,28	82,75	124,59	755,69	788,88	628,47
metanolowa				732,56	370,97	760,71
suma	224,29	147,90	307,42	2355,31	1586,53	2016,53

Załącznik 12 Zdolność redukująca trzech partii schabów wieprzowych w przeliczeniu na białko i azot niebiałkowy [$\mu\text{M TE/g}$]

Fracja	FRAP [$\mu\text{M TE/g m.m.}$]					
	białko			azot niebiałkowy		
	A	B	C	A	B	C
wodna	30,24	38,54	62,76	178,37	252,43	215,36

5%NaCl	53,00	12,37	53,33	518,26	117,90	268,98
metanolowa				29,38	75,40	138,64
suma	83,24	50,91	116,09	726,00	445,73	622,98

A,B,C...- poszczególne partie

Załącznik 13 Zdolność redukująca FRAP rosbefów wołowych przeliczona na białko i Nam

Fracja	FRAP [$\mu\text{M TE/ g}$]	
	białko	azot aminowy
wodna	27,99	4665,60
5%NaCl	24,75	1492,67
metanolowa		31,97
suma	52,74	6190,24

Załącznik 14 Aktywność przeciwutleniająca TEAC i zdolność redukująca FRAP frakcji wybranych surowców zwierzęcych [$\mu\text{M TE/g m.m.}$]

tkanka	TEAC				FRAP			
	wodne	5%NaCl	metanolowe	suma frakcji	wodne	5%NaCl	metanolowe	suma frakcji
Pstrąg A	5,30	11,32	1,22	17,84	2,71	6,76	0,39	9,86
Pstrąg B	5,35	4,24	0,54	10,12	0,5	0,86	0,06	1,42
Pstrąg C	1,96	7,57	0,89	10,42	3,12	7,58	0,56	11,25
Pstrąg D	6,70	3,93	0,66	11,29	1,93	2,08	1,16	5,17
Pstrąg E	10,28	11,48	0,56	22,32	5,25	5,55	0,15	10,95
Pstrąg F	15,34	18,03	6,8	40,17				
Pstrąg G	0,12	1,67	0,17	1,96	0,57	0,99	0,13	1,7
Pstrąg H	12,65	20,35	8,68	41,67	1,30	2,08	0,89	4,27
Pstrąg I	4,96	5,32	2,34	12,63				
Pstrąg J	1,00	2,23	-1,10	2,13				
Śledź	2,17	4,20	0,62	6,99	8,5	10,19	1,24	19,93
Dorsz	5,99	6,24	0,73	12,96	0,99	2,35	0,48	3,82
Łosoś	4,34	7,55	1,13	13,02	0,87	1,27	0,22	2,36
Schab A	4,67	6,64	2,92	14,23	0,96	4,55	0,12	5,63
Schab B	3,37	6,91	1,62	11,9	1,58	1,18	0,31	3,07
Schab C	3,37	4,03	3,11	10,51	1,13	1,60	0,50	3,23
Rostbef	5,61	6,62	1,61	13,84	1,7	1,84	0,03	3,57
Kurczak pierś A	7,66	6,48	2,67	16,81	0,72	0,74	0,20	1,66
Kurczak pierś B	6,4	3,32	1,73	11,45	0,74	0,2	0,25	1,19
Kurczak udo B	5,33	2,77	1,87	9,97	1,04	0,08	0,17	1,29
średni udział frakcji	38,54%	48,25%	13,28%		37,22%	55,26%	7,52%	

Załącznik 15 Zestawienie wyników aktywności przeciwutleniającej TEAC wybranych surowców zwierzęcych [$\mu\text{MTE/g m.m.}$]

	śledź	losoś	dorsz	pstrągF	pstrągB	pstrągC	schabA	schabB	schabC	rostbef	pierśAb/s	pierśAz/s	pierśB	udoB	X	SD	CV
SUMA															X	SD	CV
surowe	6,99	13,02	12,96	40,17	10,12	10,42	14,23	11,90	10,51	13,83	16,82	16,82	11,45	9,97	14,23	7,93	55,76%
gotowane	1,96	6,92	8,39	10,06	4,76	4,72	11,54	10,49	10,03	6,27	14,64	14,27	9,93	9,79	8,84	3,61	40,86%
pieczone	2,92	6,25	6,98		3,58	4,75	13,11	10,27	12,36	7,14	14,48	14,98	12,16	11,54	9,27	4,19	45,18%
mikrofalowane	2,89	6,39	8,02			5,59	12,86	8,52	9,38	7,16	15,12	15,54	11,23	10,43	9,43	3,82	40,51%
smażone	3,02	6,88	7,44		3,87	4,75	11,01	10,00	11,36	8,52	16,04	16,87	11,37	12,16	9,48	4,30	45,35%
X obróbkę	2,69	6,61	7,71	10,06	4,07	4,96	12,13	9,82	10,78	7,27	15,07	15,42	11,17	10,98			
SD	0,50	0,34	0,62		0,61	0,43	1,01	0,89	1,34	0,93	0,70	1,10	0,93	1,07			
CV	18,39%	5,09%	8,08%		15,04%	8,59%	8,36%	9,07%	12,39%	12,76%	4,65%	7,12%	8,29%	9,74%			
wodna																	
surowe	2,17	4,34	5,99	15,34	5,35	1,96	4,67	3,37	3,37	5,61	7,66	7,66	6,40	5,33	5,66	3,30	58,35%
gotowane	0,60	2,24	2,86	2,27	2,12	1,27	3,29	3,04	2,75	2,34	5,11	5,47	4,18	4,04	2,97	1,37	46,02%
pieczone	0,93	2,43	0,74		2,25	1,67	4,86	2,92	4,84	2,06	6,10	5,87	5,21	4,07	3,38	1,87	55,19%
mikrofalowane	0,87	2,11	0,73			3,55	4,98	1,94	2,80	2,61	5,32	5,90	4,83	3,99	3,30	1,73	52,49%
smażone	1,16	2,39	0,85		2,12	1,67	4,66	2,14	3,52	2,98	5,95	6,67	3,98	5,21	3,33	1,85	55,64%
X obróbkę	0,89	2,29	1,29	2,27	2,17	2,04	4,45	2,51	3,48	2,50	5,62	5,98	4,55	4,33			
SD	0,23	0,15	1,04		0,07	1,02	0,78	0,55	0,97	0,39	0,48	0,50	0,57	0,59			
CV	26,13%	6,39%	80,63%		3,41%	50,14%	17,58%	22,01%	28,01%	15,74%	8,56%	8,34%	12,53	13,60			
NaCl																	
surowe	4,20	7,55	6,24	18,03	4,24	7,57	6,64	6,91	4,03	6,62	6,48	6,48	3,32	2,77	6,50	3,68	56,56%
gotowane	0,82	3,30	4,60	4,35	1,83	2,54	5,47	5,67	4,04	2,58	6,32	5,97	3,90	3,93	3,95	1,62	41,02%
pieczone		2,46	5,32				5,14	4,15	3,70	3,48	6,52	5,19	3,98	3,24	4,32	1,21	27,97%
mikrofalowane	1,23	2,53	5,36		0,98	1,95	6,55	3,85	4,51	3,31	5,75	5,97	4,76	5,13	3,99	1,85	46,35%
smażone	0,91	2,86	6,11			0,56	6,24	3,20	3,68	2,90	6,65	6,15	4,97	4,41	4,05	2,06	50,87%
X obróbkę	0,99	2,79	5,35	4,35	1,40	1,69	5,85	4,22	3,98	3,07	6,31	5,82	4,40	4,18			
SD	0,22	0,38	0,61		0,60	1,02	0,66	1,05	0,39	0,41	0,39	0,43	0,54	0,80			
CV	22,00%	13,74%	11,49%		42,48%	60,27%	11,22%	24,81%	9,77%	13,29%	6,25%	7,37%	12,33	19,08			
metanol																	
surowe	0,62	1,13	0,73	6,80	0,54	0,89	2,92	1,62	3,11	1,61	2,67	2,67	1,73	1,87	2,07	1,62	78,29%
gotowane	0,54	1,37	0,93	3,44	0,81	0,91	2,78	1,78	3,24	1,36	3,21	2,83	1,85	1,82	1,92	1,00	52,24%
pieczone	0,76	1,30	0,88		0,35	1,13	1,70	3,49	3,01	1,77	2,63	3,14	2,20	2,34	1,90	1,00	52,37%
mikrofalowane	1,10	1,42	1,18			1,49	1,64	3,39	2,90	1,65	3,14	3,49	1,43	2,03	2,07	0,90	43,31%
smażone	0,96	1,40	1,32		0,33	1,13	1,82	3,83	3,33	1,56	3,49	3,29	2,25	2,20	2,07	1,11	53,41%
X obróbkę	0,84	1,37	1,08	3,44	0,50	1,17	1,99	3,12	3,12	1,58	3,12	3,19	1,93	2,10			

SD	0,24	0,05	0,21		0,27	0,24	0,54	0,91	0,20	0,17	0,36	0,28	0,38	0,23			
CV	28,80%	3,91%	19,32%		54,26%	20,32%	27,02%	29,25%	6,33%	10,87%	11,49%	8,67%	19,57	10,78			

Załącznik 16 Zestawienie aktywności przeciwutleniającej TEAC wybranych surowców zwierzęcych [μ MTE/g s.m.] i jej zmiany podczas obróbek cieplnych [%]

	śledź	losoś	dorsz	pstrągF	pstrągB	pstrągC	schabA	schabB	schabC	rostbef	piersAb/s	piersAz/s	piersB	udoB	X	SD	CV
SUMA																	
surowe	28,07	40,60	69,00	134,48	35,86	36,92	50,37	47,83	47,74	46,49	77,11	77,11	42,21	37,64	55,10	27,43	49,77%
surowe	7,21	16,96	38,30	33,47	15,30	16,86	32,85	30,00	30,22	17,84	56,30	55,89	33,92	30,80	29,71	14,39	48,44%
gotowane	11,00	15,72	34,35		8,46	10,47	39,25	34,58	45,37	23,68	57,44	57,69	38,90	31,58	31,42	16,80	53,46%
pieczone	7,83	16,94	37,92			15,67	27,29	30,94	35,44	22,13	58,83	54,15	36,40	31,03	31,21	14,98	47,99%
mikrofalowane	6,10	16,99	23,51		8,46	10,47	31,10	29,96	33,39	21,91	59,71	63,31	36,27	36,46	29,05	17,72	60,99%
smażone	8,04	16,65	33,52	33,47	10,74	13,37	32,62	31,37	36,10	21,39	58,07	57,76	36,38	32,47			
SD	2,10	0,62	6,91		3,95	3,38	4,99	2,19	6,54	2,49	1,50	3,97	2,03	2,68			
CV	26,17%	3,75%	20,60%		36,74%	25,26%	15,29%	6,98%	18,11%	11,65%	2,59%	6,88%	5,59%	8,26%			
wodna																	
surowe	8,72	13,52	31,91	51,36	18,95	6,94	16,53	13,54	15,31	18,86	35,12	35,12	23,59	20,12	22,11	12,25	55,40%
gotowane	2,20	5,50	13,05	7,55	6,83	4,22	9,37	8,70	8,28	6,65	19,65	21,43	14,27	12,71	10,03	5,58	55,69%
pieczone	3,49	6,10	3,65		5,32	3,68	14,54	9,83	17,76	6,84	24,20	22,60	13,70	13,52	11,17	7,18	64,29%
mikrofalowane	2,37	5,59	3,46			9,93	10,56	7,03	10,57	8,06	20,71	20,57	15,66	11,86	10,53	5,97	56,69%
smażone	2,35	5,92	2,67		5,32	3,68	13,16	6,42	10,36	7,68	22,16	25,02	13,50	13,51	10,13	7,17	70,75%
X obróbkę	2,60	5,78	5,71	7,55	5,82	5,38	11,91	7,99	11,74	7,31	21,68	22,40	14,28	12,90			
SD	0,60	0,28	4,91		0,87	3,04	2,37	1,56	4,14	0,67	1,97	1,93	0,97	0,79			
CV	22,98%	4,83%	86,06%		15,00%	56,59%	19,86%	19,49%	35,28%	9,21%	9,08%	8,63%	6,80%	6,12%			
NaCl																	
surowe	16,86	23,55	33,21	60,35	15,01	26,81	23,50	27,78	18,29	22,24	29,73	29,73	12,23	10,46	24,98	12,31	49,28%
gotowane	3,01	8,09	21,02	14,48	5,87	8,48	15,56	16,20	12,18	7,33	24,30	23,38	13,33	12,37	13,26	6,48	48,90%
pieczone	4,64	6,35	26,37		2,32	4,29	19,61	12,98	16,55	10,97	22,82	22,98	17,30	12,37	13,81	7,90	57,22%
mikrofalowane	2,47	7,59	28,87			1,58	13,25	11,61	13,90	8,96	25,88	21,43	16,11	13,13	13,73	8,43	61,39%
smażone	1,81	7,61	16,67		2,32	4,29	12,79	12,06	13,25	10,22	24,56	25,95	15,13	16,05	12,52	7,52	60,08%
X obróbkę	2,98	7,41	23,23	14,48	3,50	4,66	15,30	13,21	13,97	9,37	24,39	23,44	15,47	13,48			
SD	1,21	0,74	5,47		2,05	2,85	3,12	2,07	1,86	1,60	1,26	1,88	1,68	1,75			
CV	40,54%	10,00%	23,53%		58,53%	61,10%	20,37%	15,69%	13,32%	17,03%	5,15%	8,01%	10,87%	12,99%			
metanolowa																	
surowe	2,50	3,53	3,87	22,76	1,90	3,16	10,34	6,51	14,14	5,40	12,26	12,26	6,39	7,05	8,00	5,80	72,49%
gotowane	2,01	3,37	4,24	11,44	2,59	4,16	7,92	5,10	9,76	3,87	12,35	11,09	6,32	5,71	6,42	3,48	54,23%
pieczone	2,87	3,26	4,34		0,82	2,50	5,09	11,77	11,06	5,86	10,43	12,11	7,89	5,70	6,44	3,84	59,62%
mikrofalowane	2,98	3,76	5,58			4,16	3,48	12,30	10,97	5,10	12,24	12,15	4,64	6,04	6,95	3,78	54,34%
smażone	1,94	3,47	4,17		0,82	2,50	5,15	11,47	9,79	4,01	12,98	12,34	7,64	6,90	6,40	4,13	64,53%
X obróbkę	2,45	3,46	4,58	11,44	1,41	3,33	5,41	10,16	10,39	4,71	12,00	11,92	6,62	6,09			
SD	0,55	0,21	0,67		1,02	0,96	1,85	3,39	0,72	0,94	1,10	0,56	1,49	0,56			
CV	22,55%	6,19%	14,60%		72,36%	28,78%	34,11%	33,39%	6,89%	20,04%	9,16%	4,74%	22,52%	9,26%			

Załącznik 17 Zestawienie zdolności redukującej FRAP wybranych surowców zwierzęcych [μ MTE/g m.m.]

suma	śledź	losoś	dorsz	pstrągB	pstrągC	schabA	schabB	schabC	rostbef	piersAb/s	piersAz/s	piersB	udoB	X	SD	CV
surowe	19,93	3,81	2,36	1,38	11,25	5,63	3,07	3,24	3,58	1,65	1,65	1,19	1,29	4,62	5,33	115,53%
gotowane	18,70	2,67	1,59	1,90	6,83	10,75	2,66	3,82	1,12	1,21	1,04	1,26	1,26	4,22	5,19	122,99%
pieczone	20,45	2,26	2,06	1,94	10,00	25,02	2,69	3,73	0,88	1,29	1,71	1,19	1,22	5,73	7,96	139,01%
mikrofalowane	17,09	2,17	1,64		12,70	15,21	4,30	3,48	0,85	1,55	1,59	1,14	1,20	5,24	6,04	115,16%
smażone	17,78	4,20	1,89	2,15	8,91	11,14	3,46	4,69	1,88	2,13	1,81	1,43	1,56	4,85	4,91	101,30%
X obróbkę	18,50	2,83	1,79	2,00	9,61	15,53	3,28	3,93	1,18	1,55	1,54	1,26	1,31			
SD	1,45	0,94	0,22	0,14	2,44	6,64	0,77	0,53	0,48	0,42	0,35	0,12	0,17			
CV	7,86%	33,35%	12,38%	6,88%	25,42%	42,76%	23,61%	13,40%	40,67%	26,95%	22,45%	9,89%	12,90%			
wodna																
surowe	8,50	0,99	0,87	0,50	3,12	0,96	1,58	1,13	1,70	0,72	0,72	0,74	1,04	1,74	2,14	123,37%
gotowane	9,55	0,75	0,24	0,57	1,20	3,08	1,23	1,39	0,27	0,31	0,23	0,55	0,44	1,52	2,53	166,25%
pieczone	9,90	0,68	0,70	0,21	3,13	9,55	0,76	1,18	0,23	0,36	0,56	0,44	0,41	2,16	3,44	159,02%
mikrofalowane	7,85	0,67	0,31		3,19	5,10	1,57	1,41	0,16	0,43	0,44	0,41	0,42	1,83	2,40	131,13%
smażone	9,05	1,29	0,45	0,67	2,84	3,25	1,04	1,62	0,66	0,55	0,51	0,41	0,48	1,76	2,38	135,55%
X obróbkę	9,09	0,85	0,43	0,48	2,59	5,25	1,15	1,40	0,33	0,41	0,44	0,45	0,44			
SD	0,90	0,30	0,21	0,24	0,94	3,01	0,34	0,18	0,22	0,10	0,15	0,07	0,03			
CV	9,87%	35,13%	48,05%	50,30%	36,31%	57,43%	29,48%	12,62%	67,00%	25,33%	33,35%	14,97%	7,61%			
NaCl																
surowe	10,19	2,35	1,27	0,86	7,58	4,55	1,18	1,60	1,84	0,74	0,74	0,20	0,08	2,55	3,08	120,62%
gotowane	8,14	0,60	1,14	1,28	5,18	7,05	1,21	1,67	0,82	0,63	0,57	0,54	0,57	2,26	2,67	118,31%
pieczone	9,09	0,79	1,08	1,81	6,13	13,52	1,44	1,70	0,52	0,68	0,86	0,53	0,56	2,98	4,08	137,00%
mikrofalowane	8,31	1,00	1,11		8,69	9,07	2,22	1,36	0,56	0,82	0,79	0,53	0,50	2,91	3,52	120,74%
smażone	7,18	2,04	1,17	1,58	5,03	7,22	1,60	1,62	0,93	1,14	0,92	0,59	0,54	2,43	2,40	98,95%
X obróbkę	8,18	1,11	1,13	1,56	6,26	9,22	1,62	1,59	0,71	0,82	0,78	0,55	0,54			
SD	0,79	0,64	0,03	0,26	1,70	3,01	0,44	0,15	0,20	0,23	0,15	0,03	0,03			
CV	9,62%	57,94%	3,07%	17,00%	27,12%	32,70%	26,96%	9,68%	28,06%	27,69%	19,57%	5,02%	5,27%			
metanolowe																
surowe	1,24	0,48	0,22	0,01	0,56	0,12	0,31	0,50	0,03	0,20	0,20	0,25	0,17	0,33	0,32	97,28%
gotowane	1,02	1,32	0,21	0,04	0,46	0,62	0,22	0,76	0,03	0,27	0,24	0,17	0,26	0,43	0,39	90,67%
pieczone	1,45	0,79	0,28	-0,08	0,75	1,94	0,49	0,84	0,12	0,25	0,28	0,22	0,25	0,58	0,57	98,11%
mikrofalowane	0,93	0,50	0,22		0,81	1,03	0,50	0,70	0,13	0,31	0,36	0,21	0,28	0,50	0,30	61,06%
smażone	1,55	0,87	0,27	-0,10	1,05	0,66	0,81	1,46	0,29	0,45	0,39	0,43	0,54	0,67	0,47	71,12%
X obróbkę	1,23	0,87	0,24	-0,04	0,77	1,06	0,51	0,94	0,14	0,32	0,32	0,26	0,33			
SD	0,31	0,34	0,03	0,08	0,24	0,61	0,24	0,35	0,11	0,09	0,07	0,12	0,14			
CV	24,92%	39,18%	14,32%	-172,0%	31,66%	57,49%	47,32%	37,09%	76,19%	28,02%	21,72%	46,39%	42,01%			

Załącznik 18 Zestawienie zdolności redukującej FRAP wybranych surowców zwierzęcych [μ MTE/g s.m.]

	śledź	łosoś	dorsz	pstrągB	pstrągC	schabA	schabB	schabC	rostbef	pierśAb/s	pierśAz/s	pierśB	udoB	X	SD	CV
surowe	80,07	7,36	20,30	4,98	39,85	19,93	12,34	14,71	12,02	7,59	7,59	4,37	4,88	18,15	20,97	115,51%
gotowane	68,99	3,89	12,21	6,10	22,77	30,59	7,62	11,51	3,18	4,67	4,07	4,32	3,97	14,14	18,46	130,49%
pieczone	77,09	5,19	12,16	4,58	22,02	74,91	9,07	10,90	2,90	5,11	6,57	4,02	3,18	18,29	26,13	142,91%
mikrofalo	46,32	4,35	10,96	0,00	35,57	32,28	15,62	13,15	2,63	6,04	5,55	3,70	3,57	13,83	14,79	106,95%
smażone	35,97	4,66	13,27	7,69	31,64	31,45	10,37	13,78	4,83	7,94	6,81	4,84	4,86	13,70	11,47	83,69%
X	57,09	4,52	12,15	4,59	28,00	42,31	10,67	12,34	3,39	5,94	5,75	4,22	3,89			
SD	19,18	0,55	0,94	3,32	6,67	21,74	3,49	1,35	0,99	1,45	1,25	0,49	0,72			
CV	33,59%	12,05%	7,77%	72,17%	23,84%	51,39%	32,69%	10,96%	29,19%	24,43%	21,71%	11,50%	18,52%			
wodna																
surowe	34,17	2,71	5,29	1,79	11,05	3,40	6,35	5,14	5,73	3,29	3,29	2,71	3,92	6,83	8,55	125,05%
gotowane	35,22	0,58	3,43	1,85	3,99	8,76	3,53	4,19	0,77	1,18	0,90	1,88	1,38	5,21	9,29	178,40%
pieczone	37,34	1,77	2,59	0,49	6,89	28,61	2,57	2,55	0,78	1,41	2,17	1,50	1,07	6,90	11,81	171,16%
mikrofalo	21,28	0,83	3,17		8,94	10,83	5,71	5,34	0,50	1,65	1,54	1,32	1,24	5,20	6,08	116,98%
smażone	18,32	1,12	4,09	2,39	10,09	9,19	3,13	4,75	1,69	2,03	1,90	1,38	1,51	4,74	5,01	105,72%
X	28,04	1,08	3,32	1,58	7,48	14,35	3,73	4,21	0,93	1,57	1,63	1,52	1,30			
SD	9,63	0,51	0,62	0,98	2,68	9,55	1,38	1,20	0,52	0,36	0,55	0,25	0,19			
CV	34,35%	47,61%	18,71%	62,03%	35,79%	66,56%	36,83%	28,52%	55,58%	23,13%	33,62%	16,51%	14,52%			
NaCl																
surowe	40,94	3,95	12,48	3,05	26,84	16,11	4,73	7,29	6,18	3,38	3,38	0,73	0,31	9,95	11,85	119,11%
gotowane	30,02	2,79	2,74	4,12	17,25	20,06	3,45	5,04	2,32	2,44	2,22	1,84	1,78	7,39	9,05	122,48%
pieczone	34,29	2,73	4,46	4,27	13,49	40,49	4,84	5,80	1,74	2,70	3,30	1,80	1,47	9,34	12,89	138,04%
mikrofalo	22,52	2,95	3,90		24,34	19,25	8,08	5,15	1,73	3,18	2,74	1,71	1,50	8,09	8,67	107,18%
smażone	14,52	2,88	6,44	5,66	17,84	20,40	4,81	4,75	2,40	4,23	3,45	2,00	1,69	7,00	6,31	90,04%
X	25,34	2,84	4,39	4,68	18,23	25,05	5,29	5,18	2,05	3,14	2,93	1,84	1,61			
SD	8,70	0,10	1,54	0,85	4,51	10,31	1,97	0,44	0,36	0,79	0,56	0,12	0,15			
CV	34,32%	3,48%	35,19%	18,11%	24,72%	41,14%	37,17%	8,58%	17,78%	25,16%	19,13%	6,45%	9,29%			
metanolo																
surowe	4,96	0,69	2,53	0,14	1,97	0,41	1,26	2,27	0,11	0,92	0,92	0,92	0,65	1,37	1,32	96,96%
gotowane	3,75	0,51	6,04	0,14	1,52	1,77	0,64	2,29	0,08	1,05	0,94	0,59	0,81	1,55	1,68	108,29%
pieczone	5,46	0,69	5,11	-0,18	1,64	5,80	1,66	2,55	0,39	1,00	1,09	0,73	0,65	2,05	2,06	100,75%
mikrofalo	2,52	0,57	3,89		2,28	2,20	1,83	2,66	0,40	1,21	1,26	0,67	0,83	1,69	1,05	62,31%
smażone	3,13	0,66	2,75	-0,36	3,71	1,86	2,43	4,28	0,74	1,68	1,46	1,47	1,67	1,96	1,29	65,65%
X	3,71	0,61	4,45	-0,13	2,29	2,91	1,64	2,95	0,40	1,24	1,19	0,86	0,99			
SD	1,27	0,08	1,43	0,25	1,00	1,94	0,74	0,90	0,27	0,31	0,23	0,41	0,46			

CV	34,17%	13,65%	32,23%	-188,30%	43,88%	66,62%	45,43%	30,72%	66,42%	25,24%	18,95%	47,35%	46,88%			
----	--------	--------	--------	----------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--	--	--

Załącznik 19 Skład podstawowy wybranych surowców zwierzęcych: surowych i po obróbkach cieplnych [g/100g]

	R	G	P	M	S
śledzie					
białko	15,47 ^a	16,18 ^{bc}	15,98 ^{ab}	16,85 ^d	16,70 ^{cd}
tłuszcz	9,36 ^b	6,39 ^a	6,77 ^a	14,12 ^c	35,12 ^d
woda	75,11 ^c	72,89 ^c	72,80 ^c	64,22 ^b	50,58 ^a
dorsze					
białko	17,46 ^a	20,61 ^c	19,19 ^b	18,46 ^{ab}	23,29 ^d
tłuszcz	1,14 ^{ab}	1,23 ^b	1,11 ^{ab}	1,00 ^a	5,44 ^c
woda	81,22 ^e	78,10 ^b	79,69 ^d	78,85 ^c	68,34 ^a
łososie					
białko	19,56 ^a	22,06 ^b	22,32 ^b	22,30 ^b	20,43 ^a
tłuszcz	10,56 ^a	15,75 ^b	20,57 ^d	15,79 ^b	17,73 ^c
woda	67,93 ^d	59,22 ^a	60,21 ^b	62,28 ^c	59,52 ^{ab}
Schab A					
białko	23,87 ^a	27,68 ^b	26,77 ^b	33,19 ^c	27,50 ^b
tłuszcz	4,87 ^a	5,95 ^b	5,95 ^b	10,13 ^d	6,77 ^c
woda	71,75 ^c	64,87 ^b	66,60 ^b	52,87 ^a	64,59 ^b
Schab B					
białko	22,73 ^a	31,74 ^d	25,02 ^b	22,29 ^a	27,93 ^c
tłuszcz	2,27 ^a	3,32 ^b	4,78 ^d	4,02 ^c	6,00 ^e
woda	75,12 ^c	65,03 ^a	70,31 ^b	72,47 ^b	66,63 ^a
Schab C					
białko	18,90 ^a	29,31 ^c	23,73 ^b	22,86 ^b	28,76 ^c
tłuszcz	4,61 ^b	4,67 ^b	4,18 ^a	4,05 ^a	5,88 ^c
woda	77,99 ^c	66,82 ^a	72,76 ^b	73,53 ^b	65,96 ^a
wołowina					
białko	22,26 ^a	25,25 ^c	23,68 ^b	23,47 ^b	26,70 ^d
tłuszcz	7,81 ^b	9,52 ^d	6,85 ^a	8,78 ^c	11,57 ^e
woda	70,25 ^d	64,85 ^b	69,85 ^d	67,64 ^c	61,12 ^a
Udowe A					
białko	18,62 ^a	21,82 ^c	22,94 ^d	24,81 ^e	20,38 ^b
tłuszcz	8,49 ^{ab}	8,02 ^a	9,89 ^{bc}	15,28 ^d	10,80 ^c
woda	73,51 ^c	68,21 ^b	66,38 ^b	61,49 ^a	67,86 ^b
Piersiowe A					
białko	24,44 ^a	25,79 ^b	26,12 ^b	25,57 ^b	24,76 ^a
tłuszcz	3,00 ^{ab}	2,44 ^a	3,33 ^{ab}	3,31 ^{ab}	4,54 ^b
woda	72,87 ^b	70,73 ^{ab}	69,15 ^a	70,33 ^{ab}	70,54 ^{ab}
Piersiowe B bez skóry					
białko	20,32 ^a	24,25 ^c	22,66 ^b	25,19 ^d	25,51 ^d
tłuszcz	2,00 ^a	2,23 ^b	3,67 ^e	2,42 ^c	2,93 ^d
woda	78,19 ^d	74,00 ^{bc}	74,84 ^c	73,13 ^b	71,30 ^a
Piersiowe B ze skórą					
białko	20,32 ^a	21,36 ^b	23,66 ^c	23,18 ^c	24,30 ^c
tłuszcz	2,00 ^a	2,81 ^b	2,90 ^b	3,55 ^d	2,67 ^c
woda	78,19 ^c	76,32 ^b	74,03 ^a	74,47 ^a	73,36 ^a

Załącznik 20 Skład kwasów tłuszczowych surowców wybranych surowców zwierzęcych [%]

Zawartość %	dorsz	śledź	schab 1	schab 2	schab 3	wołowina	kurczaki - udowe	kurczaki - piersiowe	kurczaki piersiowe ze skórą	kurczaki piersiowe bez skóry
Σ SFA	26,73	30,99	43,27	40,26	40,40	42,12	39,68	43,05	43,39	42,10
Σ MUFA	29,51	43,47	48,41	49,34	53,21	52,52	44,38	39,94	38,85	39,35
Σ PUFA	43,76	25,54	8,32	10,40	6,39	5,36	15,94	17,02	17,76	18,55