

Karolina Gaczkowska

**Przydatność wybranych naturalnych  
antyoksydantów do przedłużenia trwałości masła  
przechowywanego w warunkach chłodniczych**

*The usefulness of selected natural antioxidants to extend the life of the butter  
stored under refrigeration*

Praca doktorska wykonana  
w Zakładzie Technologii Mleczarskiej i Przechowalnictwa Żywności

Promotor:

**dr hab. Małgorzata Jasińska prof. nadzw.**

Recenzenci:

**prof. dr hab. Józef Korczak**  
Katedra Technologii Żywnienia Człowieka  
Wydział Nauk o Żywności i Żywieniu  
Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu

**prof. dr hab. inż. Piotr Przybyłowski**  
Katedra Towaroznawstwa i Zarządzania Jakością  
Wydział Przedsiębiorczości i Towaroznawstwa  
Akademia Morska w Gdyni

## Spis treści

|                                                                                                                            |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Wykaz skrótów .....                                                                                                        | 5  |
| 1. Wstęp.....                                                                                                              | 6  |
| 2. Przegląd piśmiennictwa.....                                                                                             | 8  |
| 2.1. Technologia produkcji masła.....                                                                                      | 8  |
| 2.2. Właściwości funkcjonalne masła.....                                                                                   | 12 |
| 2.3. Mechanizmy utleniania tłuszczu.....                                                                                   | 15 |
| 2.4. Antyoksydanty i wolne rodniki.....                                                                                    | 17 |
| 2.4.1. Polifenole.....                                                                                                     | 21 |
| 2.4.1.1. Flawonoidy.....                                                                                                   | 22 |
| 2.4.1.2. Kwasy fenolowe.....                                                                                               | 23 |
| 2.4.1.3. Stilbeny.....                                                                                                     | 24 |
| 2.4.2. Karotenoidy .....                                                                                                   | 24 |
| 2.4.3. Tokoferole .....                                                                                                    | 26 |
| 2.4.4. Kwas askorbinowy .....                                                                                              | 27 |
| 2.5. Wykorzystanie naturalnych antyoksydantów w przemyśle spożywczym .....                                                 | 27 |
| 2.5.1. Antyoksydanty naturalne stosowane do masła.....                                                                     | 30 |
| 3. Cel pracy .....                                                                                                         | 32 |
| 4. Materiał i metody badań.....                                                                                            | 33 |
| 4.1. Materiał.....                                                                                                         | 33 |
| 4.1.1. Przygotowanie materiału do badań .....                                                                              | 35 |
| 4.1.1.1. Przygotowanie sproszkowanych ekstraktów roślinnych do oznaczania<br>aktywności antyoksydacyjnej metodą DPPH ..... | 36 |
| 4.1.1.2. Przygotowanie masła z dodatkiem ekstraktów roślinnych .....                                                       | 36 |
| 4.1.1.3. Przygotowanie masła z dodatkiem olejów .....                                                                      | 36 |
| 4.1.1.4. Przygotowanie masła z dodatkiem zmielonych suszy roślinnych, nasion<br>i cyjanobakterii .....                     | 37 |

|          |                                                                                                                                       |    |
|----------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 4.1.1.5. | Przygotowanie próbek masła i masła z dodatkami do analiz.....                                                                         | 37 |
| 4.2.     | Metody badań .....                                                                                                                    | 37 |
| 4.2.1.   | Oznaczanie aktywności antyoksydacyjnej metodą DPPH .....                                                                              | 37 |
| 4.2.2.   | Oznaczanie kwasowości tłuszczu.....                                                                                                   | 39 |
| 4.2.3.   | Oznaczanie zawartości aldehydu malonowego testem TBA jako wskaźnika<br>oksydacji tłuszczu .....                                       | 39 |
| 4.2.4.   | Oznaczenie profilu kwasów tłuszczowych metodą chromatografii gazowej.....                                                             | 40 |
| 4.2.5.   | Ocena organoleptyczna.....                                                                                                            | 41 |
| 4.2.6.   | Analiza statystyczna wyników .....                                                                                                    | 42 |
| 5.       | Wyniki badań .....                                                                                                                    | 43 |
| 5.1.     | Sproszkowane ekstrakty roślinne jako antyoksydanty .....                                                                              | 43 |
| 5.1.1.   | Sproszkowane ekstrakty z pestek winogron, czerwonej herbaty i miłorzębu ....                                                          | 43 |
| 5.1.1.1. | Masło z dodatkiem wodnego roztworu ekstraktów z pestek winogron,<br>czerwonej herbaty i miłorzębu .....                               | 45 |
| 5.1.2.   | Sproszkowane ekstrakty z pietruszki, papryki, pieprzu czarnego, czosnku, pora,<br>wiśni, pomarańczy, banana i maliny .....            | 47 |
| 5.1.3.   | Sproszkowane ekstrakty z pestek winogron, czerwonej herbaty, miłorzębu,<br>wiśni i maliny .....                                       | 48 |
| 5.1.3.1. | Masło z dodatkiem wodnego roztworu sproszkowanych ekstraktów z<br>pestek winogron, czerwonej herbaty, miłorzębu, wiśni i maliny ..... | 50 |
| 5.2.     | Wybrane oleje roślinne jako antyoksydanty .....                                                                                       | 54 |
| 5.2.1.   | Oleje z ostropestu plamistego, czarnuszki i rzepaku .....                                                                             | 54 |
| 5.2.1.1. | Masło z dodatkiem oleju z ostropestu plamistego, czarnuszki i rzepaku....                                                             | 55 |
| 5.2.2.   | Oleje z awokado, pestek dyni i orzecha włoskiego .....                                                                                | 59 |
| 5.2.2.1. | Masło z dodatkiem oleju z awokado, pestek dyni i orzecha włoskiego.....                                                               | 60 |
| 5.3.     | Ostropest plamisty w postaci mielonych nasion i ekstraktu jako antyoksydant.....                                                      | 63 |
| 5.3.1.   | Masło z dodatkiem świeżo mielonych nasion ostropestu.....                                                                             | 63 |

|                                                                                                                      |     |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| 5.3.2. Masło z dodatkiem ekstraktu oraz mielonych nasion ostropestu zakupionych w handlu detalicznym.....            | 66  |
| 5.4. Masło z dodatkiem nasion czarnuszki, pestek dyni, liści miłorzębu i nasion ostropestu jako antyoksydantów ..... | 70  |
| 5.5. Masło z dodatkiem spiruliny, czystka, ostrokrzewu, pestek dyni oraz miłorzębu jako antyoksydantów .....         | 74  |
| 5.6. Masło i mix tłuszczowy z dodatkiem pestek dyni i miłorzębu .....                                                | 77  |
| 5.7. Profil kwasów tłuszczowych.....                                                                                 | 80  |
| 5.7.1. Masło z dodatkiem mielonych pestek dyni i liści miłorzębu .....                                               | 81  |
| 5.7.2. Masło i mix tłuszczowy z dodatkiem mielonych pestek dyni i liści miłorzębu .....                              | 83  |
| 6. Dyskusja .....                                                                                                    | 87  |
| 7. Wnioski .....                                                                                                     | 101 |
| 8. Literatura .....                                                                                                  | 103 |
| Spis tabel .....                                                                                                     | 119 |
| Spis rycin .....                                                                                                     | 122 |
| Streszczenie .....                                                                                                   | 125 |
| Summary.....                                                                                                         | 127 |
| Aneks.....                                                                                                           | 129 |

## Wykaz skrótów

- BHA – syntetyczny przeciwutleniacz (butylohydroksyanizol)
- BHT – syntetyczny przeciwutleniacz (butylohydroksytoluen)
- CLA – sprzężony kwas linolowy (ang. *conjugated linoleic acid*)
- DPPH – stabilny wolny rodnik (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl)
- GMP - dobra praktyka produkcyjna (ang. *good manufacturing practice*)
- HACCP - analiza zagrożeń i krytyczne punkty kontroli (ang. *hazard analysis and critical control points*)
- IARC - Międzynarodowa Agencja Badań nad Rakiem (ang. *International Agency for Research on Cancer*)
- LDL - lipoproteina niskiej gęstości (ang. *low-density lipoprotein*)
- NNKT – niezbędne nienasycone kwasy tłuszczowe
- RFT – reaktywne formy tlenu
- TBA – kwas tiobarbiturowy (ang. *thiobarbituric acid*)
- TBARS – substancje reagujące z kwasem tiobarbiturowym (ang. *thiobarbituric acid reactive substances*)
- TBHQ - syntetyczny przeciwutleniacz (tert-butylohydrochinon)
- WKT - wolne kwasy tłuszczowe
- WSJC - wskaźnik sensorycznej jakości całkowitej

## 1. Wstęp

Masło jest produktem wysokotłuszczowym, otrzymywanym w wyniku zmaśnięcia wydzielonej z mleka i odpowiednio przygotowanej (wysoko pasteryzowanej, dojrzałej fizycznie i ewentualnie biologicznie) śmietanki. Jest ono produktem składającym się z tych samych składników co mleko, ale występujących w innych proporcjach, dominującym składnikiem jest tłuszcz. Masło zawiera nie mniej niż 80%, ale mniej niż 90% tłuszczu mlecznego, do 16% wody i co najwyżej 2% suchej masy beztłuszczowej. Natomiast w lipidach mleka dominują triacyloglicerole zaś w mniejszych ilościach występują di- i monoacyloglicerole, fosfolipidy, sterole, wolne kwasy tłuszczowe, karotenoidy i witaminy. Tłuszcz mlekowy zawiera ok. 2,5% niezbędnych nienasyconych kwasów tłuszczowych głównie kwasu linolowego [Jensen 2002, Stołyhwo i Rutkowska 2007].

Masło posiada wysoką wartość odżywczą, a także cenne walory zdrowotne. Tłuszcz mlekowy, dzięki specyficznemu składowi kwasów tłuszczowych jest najlepiej przyswajalnym tłuszczem jadalnym. Jego wysoka strawność wynosząca ok. 96% wynika z obecności w nim krótko- i średniołańcuchowych kwasów tłuszczowych (C4-C12), które są łatwo trawione i wchłaniane przez organizm, nie obciążając wątroby szybko ulegają przemianie na energię [Staniewski 2005].

Główną przyczyną niepożądanych zmian w produktach wysokotłuszczowych, do których zalicza się masło, są procesy jęlczenia hydrolitycznego i oksydacyjnego lipidów, które powodują obniżenie jakości i trwałości gotowych produktów, a także niekorzystnie wpływają na zdrowie człowieka. Przemiany hydrolityczne zachodzą pod wpływem lipaz i polegają na hydrolizie wiązań estrowych kwasów tłuszczowych głównie triacylogliceroli, co prowadzi do zmian kwasowości oraz pogorszenia cech sensorycznych, spowodowanych uwalnianiem się szczególnie kwasu masłowego i kapronowego.

Samorzutne utlenianie lipidów (autooksydacja), jako reakcja łańcuchowa, prowadzi do powstawania wolnych rodników nadtlenkowych i wodoronadtlenków oraz rodników tlenowych i wodoronadtlenkowych. Z kolei w wyniku fotoutleniania nienasyconych kwasów tłuszczowych pod wpływem tlenu powstają wodoronadtlenki, nie mające wpływu na smak i zapach masła, ale również ich pochodne aldehydy i ketony, które są przyczyną wad smaku, zwanych jełkością oksydacyjną. Daleko zaawansowane procesy oksydacyjne czynią produkty niezdadnymi do spożycia [Jaworski i in.1997; Stołyhwo i Rutkowska 2007].

W celu ograniczenia niepożądanych zmian lipidów żywności od dawna stosuje się syntetyczne przeciwutleniacze, jednakże wielu z nich udowodniono niepożądane, a wręcz toksyczne działanie [Kahl i Kappus 1993; Chen i in. 1992]. W związku z powyższym jednym z obecnie obserwowanych trendów w przetwórstwie żywności, głównie mięsa i jego przetworów, ale także olejów oraz masła, jest zastępowanie syntetycznych przeciwutleniaczy naturalnymi inhibitorami utleniania o różnym pochodzeniu. Stwarza to duże możliwości wykorzystania surowców roślinnych, które stanowią bogate źródło szerokiej gamy związków o właściwościach przeciwutleniających. Część z nich znalazła już praktyczne zastosowanie (np. rozmaryn, szałwia) [Cuvellier i in. 1990; Cuvellier i in. 1995; Pokorny i in. 1997], ale wiele roślin stanowiących potencjalne źródło antyoksydantów, nie zostało jeszcze pod tym względem przebadane, co było inspiracją do podjęcia badań w tym kierunku.

## 2. Przegląd piśmiennictwa

Umiejętność otrzymywania masła sięga bardzo dawnych czasów. Już wiele tysięcy lat przed naszą erą stosowano ten produkt nie tylko jako żywność, ale także w celach kultowych, medycznych i kosmetycznych. Benno Martiny (1836–1923) w swojej rozprawie *Die Milch* podał informację o wyrobie i spożywaniu masła przez Hindusów, Izraelitów, Arabów, Egipcjan, Persów, Greków i Rzymian 2000 lat przed narodzeniem Chrystusa. Solon (638–559 p.n.e.) odwołuje się do „dziwnego tłuszczu” otrzymywanego w wyniku wytrząsania mleka. Herodot (484–424 p.n.e.) opisuje natomiast sposób otrzymywania masła z mleka kobyłego przez hordy Scytów. O wyrobie masła z mleka krowiego przez Traków pisał także Hipokrates (460–377 p.n.e.) [Staniewski 1997]. Sposób otrzymywania masła (...Bo uciskanie mleka daje masło...) opisany jest również w Starym Testamencie (Ks. Przysłów 30:30-31:4) [Staniewski 2005].

Pierwszy zakład produkujący masło na dużą skalę uruchomiono w mieście Manchester w 1871 roku. Dalszy rozwój przemysłowej produkcji masła był związany z coraz szerszym wprowadzaniem do zakładów mleczarskich wirówki odtłuszczającej skonstruowanej przez dr. De Lavalą w 1879 r. [Staniewski i Kroll 1997].

Zgodnie z wymaganiami standardu A–1 (*Standard for butter and whey butter*) z 1971 roku (uaktualnionego w 1999 roku) opracowanego przez Komisję Kodeksu Żywnościowego FAO/WHO, masło jest produktem tłuszczowym otrzymywanym wyłącznie z mleka. Definicję masła, jako produktu otrzymywanego wyłącznie z mleka przyjęto również, jako obowiązującą w PN–A–86155:1995. Przewiduje ona możliwość stosowania w produkcji masła, obok pasteryzowanej śmietanki, zakwasów maślarskich oraz innych preparatów zakwaszających dopuszczonych przez Państwowy Zakład Higieny. Dopuszcza ona ponadto stosowanie barwnika naturalnego, a w przypadku masła solonego soli kuchennej. W ostatnich latach na rynkach wielu krajów pojawiają się coraz częściej produkty masłopodobne (ang. *spreads*) o zmienionym składzie chemicznym [Staniewski 1997].

### 2.1. Technologia produkcji masła

Podstawowym surowcem do wyrobu masła jest śmietanka odznaczająca się świeżym, czystym i naturalnym smakiem oraz zapachem, jednolitą konsystencją bez grudek tłuszczu oraz białka, a także barwą białą lub z lekkim odcieniem kremowym. Kwasowość plazmy śmietanki nie powinna przekraczać 8°SH, zaś zawartość tłuszczu powinna kształtować się na

poziomie 30-35% w metodzie periodycznej lub 38-45% w metodzie ciągłej produkcji masła [Staniewski i Kroll 1997; Borowy i Kubiak 2012].

Produkcja masła obejmuje następujące etapy: wydzielenie śmietanki z mleka, pasteryzację i odgazowanie śmietanki, chłodzenie, dojrzewanie fizyczne i biologiczne (niekoniecznie), dodatek barwników (niekoniecznie), przygotowanie śmietanki lub śmietany do zmaślania, zmaślenie śmietanki lub śmietany, płukanie masła, wygniatanie, formowanie i pakowanie [Borowy i Kubiak 2012].

Duży wpływ na jakość oraz trwałość masła wywierają poszczególne etapy procesu technologicznego. Podczas wirowania mleka oddzielona zostaje od niego śmietanka, stanowiąca podstawowy surowiec, do produkcji masła. Następuje wówczas ponad 10-krotna koncentracja tłuszczu, która ma wpływ na zawartość wolnych kwasów tłuszczowych (WKT) w maśle. Wraz z wyższą niż w mleku koncentracją tłuszczu dochodzi w niej do większego stężenia WKT (9-10-krotnie w przeliczeniu na produkt). Obserwuje się także pewne zmniejszenie niektórych WKT. Stwierdzono, że podczas wirowania mleka kwasy tłuszczowe o dłuższym łańcuchu w większości przechodzą do śmietanki, a kwasy tłuszczowe o krótszym łańcuchu, w tym i kwas masłowy, do mleka odtłuszczonego [Lehmann i Zettier 1994; Staniewski 2000]. Stosowanie, podczas wirowania mleka, niższej temperatury niż przewidział producent urządzenia, prowadzi nie tylko do pogorszenia wydajności procesu, ale także do wzrostu zawartości wolnego tłuszczu oraz WKT w śmietance. Wzrost zawartości tych składników w śmietance można ograniczyć stosując wirówki odtłuszczające z łagodnym dopływem strumienia mleka (soft stream) [Lehmann i Zettier 1994].

Decydujące znaczenie w uzyskaniu dobrej jakości masła, szczególnie jego bezpieczeństwa zdrowotnego i trwałości ma pasteryzacja śmietanki. Śmietankę przeznaczoną do wyrobu masła powinno się pasteryzować w temp. nie niższej niż 92°C przez 30-40 s. Stosowanie tak wysokiej temperatury pasteryzacji śmietanki - oprócz zniszczenia vegetatywnych form mikroflory patogennej i toksykogennej, prawie wszystkich bakterii saprofitycznych oraz drożdży i pleśni łącznie z ich zarodnikami - ma również na celu: maksymalną inaktywację ciepłoopornych enzymów lipolitycznych oraz proteaz pochodzenia bakteryjnego, a także laktoperoksydazy; podwyższenie stabilności oksydacyjnej oraz stworzenie korzystnych warunków do rozwoju bakterii fermentacji mlekowej wprowadzanych wraz z zakwasem w procesie biologicznego dojrzewania śmietanki [Bylund 1995; Staniewski 2000; Rogiński 2002]. Pasteryzacja, oprócz inaktywacji lipaz, ma również

wpływ na zawartość WKT w śmietance. W praktyce mleczarskiej coraz częściej są stosowane nowoczesne rozwiązania techniczne pozwalające na obróbkę cieplną śmietanki w temp. 98-120°C. Możliwość stosowania obróbki w temp. do 105°C przewidują także krajowe instrukcje technologiczne produkcji masła metodą periodyczną i ciągłą. Wywiera to pozytywny wpływ na jakość i trwałość masła, m.in. zmniejszając ryzyko niekorzystnych zmian w fazie tłuszczowej [Staniewski 2000].

Następnym po pasteryzacji procesem jest odgazowanie śmietanki. Wpływa ono w pewnym stopniu na trwałość oksydacyjną gotowego produktu oraz obniżenie zawartości niepożądanych w surowcu lotnych wolnych kwasów tłuszczowych. Obniża się tym samym ryzyko pojawienia się w gotowym produkcie wad związanych z utlenieniem oraz lipolizą tłuszczu mlecznego. Z reguły najlepsze wyniki uzyskuje się odgazowując śmietankę w temp. 95-98°C i pod ciśnieniem zredukowanym do 50-70kPa.

Bardzo ważnym zabiegiem w przygotowaniu śmietanki do zmaśniania jest jej schłodzenie (dojrzewanie fizyczne), w celu wykrystalizowania odpowiedniej ilości tłuszczu zawartego w kuleczkach. Pozwala to na otrzymanie masła o prawidłowych cechach struktury i konsystencji [Kisza 1983].

Na końcowe cechy jakościowe masła wywiera także wpływ proces zmaśniania. Podobnie jak podczas wirowania mleka, proces zmaśniania wywiera dwojaki wpływ na poziom WKT. Z jednej bowiem strony zachodzi dalsza (2-3-krotna, w przeliczeniu na produkt) koncentracja WKT, z drugiej zaś dochodzi także do obniżenia zawartości niektórych WKT. Przyjmuje się, że podczas zmaśniania śmietany do maśłanki przechodzi ok. 75% niskocząsteczkowych oraz 30% długołańcuchowych WKT. Są to proporcje orientacyjne i w dużym stopniu zależą od parametrów zmaśniania, a także metody wyrobu masła [Staniewski 2000].

Po zmaśnaniu następuje płukanie oddzielonego od maśłanki masła. Podstawowe korzyści wynikające z płukania masła to: poprawa jakości mikrobiologicznej i ogólnej jego trwałości, obniżenie zakresu przemian lipolitycznych w maśle oraz możliwość regulacji temperatury wygniatania masła i związana z tym możliwość wpływania na reologiczne cechy gotowego produktu. Niepożądanym zjawiskiem jest natomiast wypłukanie znacznych ilości substancji smakowo-zapachowych, głównie diacetylu (do 75-90%) [Varnam i Sutherland 1994; Bylund 1995].

Istotny wpływ na jakość, a także trwałość masła wywiera proces wygniatania. Ma ono na celu: połączenie ziaren masła w jednolitą bryłę, nadanie masłu właściwych cech struktury i konsystencji w wyniku zapewnienia odpowiedniej ilości płynnego tłuszczu wydobywającego się w trakcie procesu z wnętrza uszkodzonych kuleczek tłuszczowych, usunięcie z masła nadmiaru wody i doprowadzenie do właściwej dyspersji fazy wodnej, tj. uzyskania kropelek wody o średnicy 3-5  $\mu\text{m}$ , zwiększenie trwałości masła w wyniku ograniczenia możliwości rozwoju drobnoustrojów, a także niekorzystnych przemian lipolitycznych [Staniewski i in. 1993; Varnam i Sutherland 1994; Bylund 1995].

Na właściwą jakość i trwałość wyprodukowanego masła ma również wpływ odpowiednie opakowanie [Berg 1995; Staniewski 1997]. Najczęściej do pakowania masła stosuje się laminaty aluminiowo-pergaminowe. W celu optymalnego zabezpieczenia folii przed niekorzystnym wpływem podwyższonej kwasowości i ewentualnej zawartości soli jest ona od wewnątrz pokrywana odpowiedniej jakości lakierem. Coraz częściej do pakowania masła stosuje się materiał ECOR FPO wrap. Składa się on z minerałów związanych tworzywami sztucznymi (poliolefinami). Zastosowanie minerałów w składzie surowcowym materiału ECOR FPO znacznie zmniejsza obciążenie środowiska naturalnego i po wykorzystaniu jako materiał opakowaniowy umożliwia użycie ECOR FPO jako surowca wtórnego przy innej produkcji, tym samym dodatkowo oszczędzając zużycie zasobów naturalnych [Staniewski 2009b].

Niezależnie od wyjściowej jakości masła, jego skład chemiczny oraz specyficzna budowa sprawiają, że ma ono ograniczoną trwałość. Bezpośrednio po zapakowaniu powinno być więc właściwie zmagazynowane. Według normy PN-A-86155:1995 i instrukcji technologicznych powinno być umieszczone w czystym, suchym, przewiewnym, wolnym od obcych zapachów i zabezpieczonym przed światłem magazynie o temperaturze gwarantującej wychłodzenie masła do ok. 0-4°C. Wychładzanie masła ma duży wpływ na utrzymanie właściwej ogólnej jakości produktu gotowego, wyglądu i konsystencji oraz zwiększenie jego odporności na deformacje podczas transportu. W razie konieczności magazynowania masła w dłuższym okresie, musi być ono poddane głębokiemu zamrożeniu w chłodniach, nawet do temp. -30°C. Dopiero tak niska temperatura może zabezpieczyć masło przed niekorzystnymi zmianami chemicznymi i związanym z tym obniżeniem walorów smakowo-zapachowych, w czasie długotrwałego przechowywania.

Ważne jest, aby masło kierowane do chłodni miało najwyższą jakość. Duży wpływ na jakość składowanego produktu ma również stabilność warunków temperaturowo-

wilgotnościowych. Wpływ warunków przechowywania na jakość masła został szczegółowo zbadany i opisany w literaturze fachowej. Zależność jakości masła od temperatury przechowywania była przedmiotem badań między innymi Świtki i Palicha [1992]. Wpływ temperatury przechowywania masła na lipolizę i oksydację tłuszczu mlecznego badali również Kołakowska i wsp. [2004]. Zależności czasowo-temperaturowe zmian jakości masła zostały przedstawione w opracowaniu Palicha [1992]. Jakość masła przechowywanego w chłodniach przebadali także Gołębiowski i wsp. [1991]. Z opracowań tych wynika, że im wyższa temperatura przechowywania masła, tym większa zawartość wolnych kwasów tłuszczowych i produktów utlenienia tłuszczu. Również utlenianie tłuszczu masła przechowywanego w niskiej temperaturze było ściśle skorelowane z czasem jego przechowywania. Im ten czas był dłuższy, tym większe zmiany oksydacyjne zachodziły w maśle.

Natomiast Staniewski i wsp. [1993] przeprowadzili badania nad wpływem dyspersji wody w maśle na intensywność przemian lipolitycznych. Prawidłowe wygniatanie zwiększa w znacznym stopniu udział fazy wodnej w postaci jałowych kropelek, co ogranicza zakres niekorzystnych przemian mikrobiologicznych. Z kolei badania nad zmianami frakcji lipidowej, dostępnego na rynku masła, pochodzącego od różnych producentów, w trakcie chłodniczego przechowywania, prowadzili między innymi Jasińska i Wąsik [2010]. Autorzy ci stwierdzili, że w czasie chłodniczego przechowywania, oceniane masła różniły się między sobą zarówno pod względem kwasowości tłuszczu, jak i zawartości aldehydu malonowego.

Właściwą jakość masła i produktów masłopodobnych w zakresie bezpieczeństwa zdrowotnego zapewniają powszechnie już wprowadzane systemy zapewnienia bezpieczeństwa, w tym przede wszystkim GMP oraz HACCP. Właściwy monitoring wskazanych punktów powinien zapewnić nie tylko bezpieczeństwo zdrowotne. Może również wpłynąć na standaryzację jakościowych cech masła, takich jak smak i zapach, czy też struktura i konsystencja [Ziajka i in. 2000].

## **2.2. Właściwości funkcjonalne masła**

Tłuszcz mleczny i masło mają ważne właściwości funkcjonalne: bukiet smakowo-zapachowy, odczucie w ustach (ang. *mouthfeel*), teksturę, konsystencję i jej składowe takie jak twardość, lepkość, plastyczność i smarowność.

Cechy smakowo-zapachowe masła są przez konsumentów powszechnie akceptowane. Pełny skład związków wpływających na smak i zapach masła nie jest do końca poznany.

Duży wpływ na ogólną smakowość masła wywierają składniki lipidowe, ze względu na ponad 80% udział w produkcie. Są to nie tylko samodzielne substancje smakowo-zapachowe, ale także prekursorzy powstających z nich związków oraz substancje mogące wpływać na modyfikację percepcji smakowo – zapachowej innych składników. Do ważnych substancji kształtujących cechy organoleptyczne, związanych z fazą tłuszczową masła należą m.in.: krótkołańcuchowe wolne kwasy tłuszczowe (WKT od C4:0 do C10), delta ( $\delta$ ) i gamma ( $\gamma$ ) laktony, metyloketony i alifatyczne aldehydy. Natomiast z innych substancji należy wymienić natomiast: alkohole, estry, fenol, m-krezol, p-krezol, a z występujących w bardzo małych stężeniach: indol, skatol, a także siarczek dimetylu [Staniewski 2009a]. Staniewski i wsp.[1993] wykazali statystycznie istotną zależność pomiędzy ogólnym poziomem WKT a punktową oceną organoleptyczną lipolitycznych zmian smakowo-zapachowych masła. Szczególną rolę w kształtowaniu tych cech przypisali grupie krótkołańcuchowych WKT C4 – C12.

W produkcji przemysłowej aromat masła jest kształtowany przez zastosowanie odpowiednich procesów i operacji technologicznych, jednak najistotniejszy wpływ ma rodzaj użytego surowca. Słodkawy aromat masła zawdzięcza wytworzeniu z nieukwaszonej śmietanki o pH ok. 6,0 i jest on znacznie bardziej delikatny niż aromat masła wytworzonego ze śmietanki ukwaszonej do pH 4,4-5,6. Orzeźwiający, lekko kwaskowaty smak oraz „orzechowy” aromat uzyskuje się w wyniku metabolicznej aktywności mikroflory zakwasów, poprzez przeprowadzenie biologicznego dojrzewania śmietanki przeznaczonej do zmaśniania. Szczególnie intensywnym aromatem charakteryzuje się masło ze śmietanki ukwaszonej przez kultury bakterii *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* var *diacetylactis*, wytwarzających w znacznym stężeniu diacetyl,  $\text{CH}_3\text{COCOCH}_3$ , powstający w wyniku przemian cytrynianów. O smakowo-zapachowych walorach masła ze śmietanki ukwaszonej decydują jeszcze m.in. takie substancje jak: kwas mlekowy, aldehyd octowy oraz kwas octowy [Stołyhwo i Rutkowska 2007; Staniewski 2009a].

W maśle ze śmietanki ukwaszonej, jako prawidłową należy przyjąć zawartość diacetylu na poziomie 1-2 mg/kg, chociaż już przy stężeniu 0,5-0,6 mg/kg nadaje ona temu produktowi przyjemny i orzeźwiający zapach. Należy też dodać, że zawartość diacetylu powinna być 3-5 razy wyższa niż zawartość aldehydu octowego [Staniewski 2009a].

W ocenie sensorycznej obok cech smakowo-zapachowych ważną pozycję zajmuje tekstura masła. Pojęcie to obejmuje pełny opis właściwości reologicznych

i makrostrukturalnych produktu. Uznaje się ją także za jeden z głównych wyróżników jakościowych wielu produktów mleczarskich. Często uważa się, że jest ona bardziej pojęciem psychologicznym niż opisującym właściwości fizyczne produktu [PN ISO 5492:1997, PN ISO 11036:1999, Staniewski 2009b]. Zróżnicowanie sezonowe i regionalne w składzie tłuszczu mlecznego powoduje różnice we właściwościach fizycznych masła, co może wpływać na występowanie wad jego struktury, takich jak zbyt twarda lub zbyt miękka konsystencja i związana z nimi krucha oraz luźna struktura, co często powiązane jest ze złą dyspersją fazy wodnej. Główną przyczyną jest zbyt niski udział kwasów nienasyconych w okresie żywienia oborowego lub zbyt wysoki w okresie żywienia pastwiskowego [Elgersma i in. 2004].

Wyróżnik jakościowy - odczucie w ustach, dotyczący tekstury masła nie jest w Polsce uwzględniany podczas jego oceny sensorycznej. Pojęcie to wiąże się ściśle z proporcją frakcji tłuszczowej krystalicznej (stałej) do frakcji niekrystalicznej (ciekłej). Masło rozpływa się w temperaturze 37,8°C i tylko ok. 5% frakcji pozostaje w formie stałej. Zmiana tej proporcji, czyli zwiększenie udziału w maśle fazy stałej powoduje niepożądane odczucie „woskowatości” [Pluta i Ziarno 1998]. Ali i Dimick [1994] wskazali na związek zawartości tłuszczu stałego z właściwościami topnienia tłuszczu mlecznego w ustach podczas jedzenia. Podkreślają, że fizyczne właściwości, takie jak temperatura topnienia i zawartość tłuszczu stałego są jednymi z ważniejszych wskaźników funkcjonalności tłuszczu mlecznego. Dla przykładu masło klarowane powstające poprzez usunięcie białek i innych substancji stałych z masła, które ulegając koagulacji wytrącają się w podwyższonej temperaturze w postaci białego osadu, dzięki czemu pozostaje prawie czysty tłuszcz mleczny (99,8%), krystalizuje w temperaturze pokojowej, dając odczucie „woskowatości” w ustach.

Masło bierze udział w kształtowaniu tekstury różnych produktów spożywczych, m.in. posiada właściwości kremotwórcze i napowietrzające oraz stabilizujące kremy i piany. Dzięki obecności mikrokryształków tłuszczu z okludowanymi na nich mikrobanieczkami powietrza lub dwutlenku węgla służy zwiększeniu objętości oraz poprawieniu pulchności i delikatności ciast. Dodatek masła do wyrobów piekarskich i cukierniczych wpływa również na ich barwę i połysk, a także powolne uwalnianie się rozpuszczonych w nim dodatków aromatycznych. Dzięki swoim właściwościom hydrofobowym tłuszcz mleczny w znacznym stopniu zapobiega utracie wody, opóźnia procesy retrogradacji skrobi i z tego powodu opóźnia procesy czerstwienia pieczywa [Stołyhwo i Rutkowska 2007].

### 2.3. Mechanizmy utleniania tłuszczu

Generalnie reakcje oksydacji wpływają niekorzystnie na właściwości fizykochemiczne żywności, poprzez pogorszenie jej smaku i zapachu, a także doprowadzają do tego, że staje się szkodliwa dla zdrowia. Produkty utleniania lipidów powstają już w trakcie produkcji żywności, a także podczas jej przechowywania. Szczególnie niebezpieczne są wtórne produkty utleniania lipidów, takie jak niskocząsteczkowe aldehydy i ketony. Są to bardzo lotne związki, odpowiedzialne w głównej mierze za zmiany sensoryczne produktu i doprowadzające do jego zepsucia. Cechuje je wysoka reaktywność, przez co łatwo reagują z innymi składnikami żywności, tworząc z nimi trwałe połączenia, obniżając przy tym wartość odżywczą produktów spożywczych [Hęś i Korczak 2004; Kamal-Eldin i Pokorny 2005; Cichosz i Czeczot 2011]. Utlenianie zachodzi pod wpływem czynników fizykochemicznych lub biologicznych. Do czynników fizykochemicznych należą: światło, powietrze, woda, temperatura oraz metale katalizujące hydrolizę. Natomiast do biologicznych: enzymy i drobnoustroje. W czasie przechowywania tłuszczów następuje hydroliza, utlenianie kwasów tłuszczowych i ich rozpad na mniejsze cząsteczki, przy czym zmieniają się liczby stałe tych produktów. Cechą charakterystyczną utleniania tłuszczów pod wpływem czynników fizykochemicznych jest powstawanie aldehydów a pod wpływem czynników biologicznych – ketonów. Tłuszcze mają zdolność pochłaniania dość dużej ilości tlenu z powietrza. W wyniku połączenia tlenu z kwasami tłuszczowymi powstają nadtlenki. Proces ten zwany jest peroksydacją (od angielskiego słowa *peroxide*, oznaczającego właśnie nadtlenki). Jest to wolnorodnikowy proces utleniania nienasyconych kwasów tłuszczowych lub innych lipidów, w którym powstają nadtlenki tych związków, zaś produktem końcowym jest aldehyd malonowy. Podczas tworzenia się nadtlenków powstają wolne rodniki, które są szkodliwe dla zdrowia. Wolne rodniki są to atomy, grupy atomów lub cząsteczki mające na ostatnim orbitalu nieparzysty elektron i odznaczające się dużą reaktywnością chemiczną. Utlenianie lipidów jest procesem lawinowym, ciągle dostarczającym wolnych rodników, które inicjują następne reakcje utlenienia. Proces ten przebiega w trzech etapach: inicjacji, czyli zapoczątkowania reakcji, tworzenia się wolnych rodników (inicjatorem jest światło, temperatura, dostęp tlenu, enzymy oraz jony metali), propagacji, czyli rozwinięcia reakcji, wielorodnikowej reakcji łańcuchowej, gdzie powstają rodniki nadtlenkowe oraz terminacji, czyli zakończenia reakcji i tworzenie się nierodnikowych produktów [Bartosz 2013].

Jednocześnie przebiegają także procesy związane z rozkładem wodoronadtlenków do wtórnych produktów utlenienia [Frankel 1991]. Powstaje szeroki wachlarz lotnych oraz nielotnych produktów, przyczyniających się do pogorszenia jakości produktu żywnościowego [Frankel 1980; Frankel 1991; Kamal-Eldin i Pokorny 2005].

Światło słoneczne znacznie przyspiesza reakcję utleniania tłuszczów. Również obecność wody wywiera ujemny wpływ i przyspiesza psucie. Pod wpływem czynników fizycznych i chemicznych powstaje dwutlenek węgla, woda, aldehydy, kwasy o parzystej i nieparzystej liczbie atomów węgla oraz nadtlutki. Niektóre z tych związków nadają tłuszczom nieprzyjemny smak i zapach oraz działają jako katalizatory dla dalszego rozwoju procesów samoutlenienia. Psucie się tłuszczów pod wpływem czynników biologicznych rozwija się tylko w tłuszczach zawierających związki azotowe i wodę np. w maśle i margarynie mlecznej. Do tej grupy czynników należą bakterie, drożdże i pleśnie. Niektóre z nich powodują powstawanie związków o silnym zapachu (jelenie wonne). Psucie się tłuszczów może również nastąpić pod wpływem zawartych w nich enzymów (lipaz). Utleniany tłuszcz wchodzi w interakcję z białkami tworząc nierozpuszczalne polimery i zmniejszając w ten sposób przyswajalność białek. Zjełczałe tłuszcze na skutek eliminowania witaminy E, selenu i aminokwasów siarkowych prowadzą między innymi do wystąpienia dystrofii mięśni szkieletowych, a także mięśnia serca [Ziemiański i Budzyńska-Topolowska 1991]. Przy daleko posuniętym procesie jelenia mogą powstawać substancje toksyczne. Do nich należą również rodniki. Zniszczeniu ulegają NNKT i witaminy. NNKT, jako kwasy wielonienasycone są najbardziej narażone na utlenienie, wskutek czego tracą właściwości biologiczne kwasów niezbędnych. Przy daleko posuniętych zmianach oksydacyjnych tłuszczów powstawać mogą również różne substancje toksyczne. Ponadto utleniony tłuszcz może niszczyć wartościowe składniki pokarmowe zawarte w innych produktach żywnościowych np.: biotynę, ryboflawinę, kwas askorbinowy, kwas pantotenowy oraz utrudnia wykorzystanie przez ustrój białka dostarczonego z pokarmem [Ziemiański i Budzyńska-Topolowska 1991, Korczak i in. 2004].

Niepożądanym zjawiskiem podczas przechowywania masła jest lipoliza oraz utlenianie lipidów. Tłuszcz mlekowy nie jest zbyt wrażliwy na autooksydację, ze względu na małą liczbę wiązań nienasyconych, obecność tokoferoli, witaminy A i sprzężonego kwasu linolowego (CLA), który posiada właściwości przeciwutleniające [Pariza i Ha 1990; Bartnikowska 2000; Rafałowski 2003]. Natomiast lipoliza tłuszczu mlekowego ma

decydujący wpływ na pogorszenie się jakości masła ze względu na obecność krótkołańcuchowych kwasów tłuszczowych [Staniewski i in. 1993].

W świeżym mleku występują lipazy rodzime oraz pochodzenia mikrobiologicznego. Mechaniczne wytrząsanie mające na celu zmaślenie śmietanki aktywuje lipazy w niej zawarte, a podczas obróbki surowca może dojść do jego zakażenia mikroorganizmami produkującymi lipazy [Downey 1980; Kurczak 1983; Palich 1992; Żegarska 2002]. Proces pasteryzacji inaktywuje część lipaz, jednak te pochodzenia mikrobiologicznego są odporniejsze na temperaturę i nawet kilkukrotna obróbka cieplna ich nie inaktywuje [Chen i in. 2003]. Dodatkowo masło już po wyprodukowaniu może zostać zanieczyszczone bakteriami lipolitycznymi, które mogą się namnażać w warunkach chłodniczych (bakterie psychrotrofowe). Również wahania temperatury zarówno podczas chłodniczego, jak i zamrażalniczego przechowywania masła mogą stymulować niekorzystne zmiany w tłuszczu [Świtka i Palich 1992; Palich 1992; Kołakowska i in. 2004]. Ograniczenie niepożądanych zmian w lipidach można uzyskać poprzez zastosowanie antyoksydantów.

## **2.4. Antyoksydanty i wolne rodniki**

Antyoksydanty, czyli przeciwutleniacze, są substancjami, które opóźniają lub hamują proces oksydacji, czyli utleniania danej substancji, przy czym działają one w dużo mniejszym stężeniu w porównaniu do stężenia substancji, która ulega utlenianiu. Antyoksydanty hamują utlenianie substancji poprzez wchodzenie w reakcje z czynnikami utleniającymi (antyoksydanty prewentywne, ang. *preventive antioxidants*) lub z produktami pośrednimi utleniania, jakimi są zwykle wolne rodniki, przerywając łańcuch reakcji przez nie powodowanych (antyoksydanty interwentywne, ang. *chain-breaking antioxidants*) [Bartosz 2013].

Wystąpienie procesu utleniania uzależnione jest od obecności tlenu w środowisku. Cząsteczka tlenu w stanie podstawowym jest mało reaktywna chemicznie, ale może być źródłem reaktywnych form (RFT), takich jak tlen singletowy ( $^1\text{O}_2$ ), anionorodnik ponadtlenkowy ( $\text{O}_2\cdot^-$ ), rodnik hydroksylowy ( $\text{OH}\cdot$ ), nadtlenek wodoru ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) itp. [Bartosz 2013].

Najprostszym wolnym rodnikiem jest rodnik wodorowy  $\text{H}^+$ . Zawiera on jeden niesparowany elektron, który może zapoczątkować reakcję niekorzystnych zmian. Ten najprostszy wolny rodnik może powstać przykładowo podczas peroksydacji lipidów. Można

również wymienić inne wolne rodniki, o bardziej skomplikowanej budowie, np. rodnik hydroksylowy, rodniki alkoksylowe, rodniki nadtlenkowe itd. Można również wyróżnić inne związki, które nie są wolnymi rodnikami, jednak ze względu na swoją dużą reaktywność powodują podobne zmiany jak wolne rodniki, np. reaktywne formy tlenu.

Proces powstawania wolnych rodników posiada różnorakie podłoże. Najczęściej powstają one w wyniku reakcji z innymi rodnikami. W organizmach żywych prekursorem rozpoczynającym lawinową produkcję wolnych rodników jest anionorodnik ponadtlenkowy. Czynniki inicjującymi lub sprzyjającymi powstawaniu rodników jest promieniowanie elektromagnetyczne, promieniowanie jonizujące, temperatura [Puzanowska-Tarasiewicz i in. 2008].

### **Podział przeciwutleniaczy ze względu na mechanizm działania**

Ze względu na mechanizm działania przeciwutleniacze możemy podzielić na dwie grupy związków: pierwszorzędowe, przerywające łańcuch reakcji wolnorodnikowych oraz wtórne, których charakter ma działanie synergistyczne.

Działanie przeciwutleniaczy pierwszorzędowych związane jest z przerwaniem łańcucha autooksydacji przez wygaszenie powstających rodników lipidowych, nadtlenkowych i tlenkowych oraz przez dostarczenie atomu wodoru lub elektronów. Powoduje to przejście rodnika w związek o wyższej stabilności. Do takich związków można zaliczyć fenole typu galusanów, hydrochinonów, trihydroksy-butyro-fenonów i tokoferoli.

Do grupy przeciwutleniaczy wtórnych zaliczamy wszystkie substancje opóźniające utlenianie lipidów w inny sposób niż przerywanie łańcucha autooksydacji. Tworzą je związki zdolne do wychwytywania tlenu oraz do chelatowania jonów biorących udział w tworzeniu się rodników. Ich aktywność polega na przekazywaniu wodoru do fenoksyrodników, przez co przywracana jest im pierwotna aktywność przeciwutleniająca [Grajek 2004].

Mechanizm ich działania może być następujący:

- substancje rozkładające nadtlenki na drodze nierodnikowej - przekształcają nadtlenki lipidowe w nieaktywne pochodne hydroksylowe,
- substancje regenerujące przeciwutleniacze pierwszorzędowe - nasilają lub wielokrotnie przedłużają przeciwutleniające działanie pierwszorzędowych przeciwutleniaczy, choć same nie posiadają aktywności przeciwutleniających,

- substancje wiążące metale - wiążą takie metale jak żelazo, czy miedź do nieaktywnych kompleksów (chelatowanie) i w ten sposób opóźniają utlenianie tłuszczów,
- zmiatacze tlenu - związki łatwo ulegające utlenieniu,
- wygaszacze tlenu singletowego - usuwają go ze środowiska przez wygaszanie do stanu tripletowego [Grajek 2004].

### **Podział przeciwutleniaczy ze względu na pochodzenie**

Przeciwutleniacze ze względu na ich pochodzenie możemy podzielić na naturalne i syntetyczne. Do pierwszej grupy należą wszystkie substancje pochodzenia roślinnego lub, rzadziej, zwierzęcego o właściwościach antyoksydacyjnych. Mogą one naturalnie występować w żywności lub zostać dodane za zasadzie fortyfikowania żywności wyekstrahowaną uprzednio substancją. Przeciwutleniacze syntetyczne natomiast są substancjami stworzonymi sztucznie przez człowieka w celu dodawania do gotowej żywności w procesie produkcji. Głównie zalicza się do nich: butylohydroksyanizol (BHA), butylohydroksytoluen (BHT) oraz estry kwasu galusowego. Wykazują one dużą aktywność przeciwutleniającą, lecz mogą mieć szkodliwy wpływ na zdrowie człowieka [Ito i in. 1983], przez co bezpieczeństwo ich stosowania coraz częściej jest poddawane w wątpliwość [Grice 1986]. Badania toksykologiczne i żywieniowe wskazują na szkodliwość syntetycznych przeciwutleniaczy, gdyż mogą się one przyczyniać do powstawania nowotworów i innych chorób. W laboratoriach Międzynarodowej Agencji do Badań nad Rakiem (*The International Agency for Research on Cancer* IARC) przeprowadzono badania wpływu BHA na występowanie raka, które potwierdziły jego rakotwórczość [IARC Monographs 1986a]. Dla BHT otrzymano jedynie ograniczone dane dotyczące rakotwórczości [IARC Monographs 1986b]. Stwierdzono, że BHA w dużych dawkach (ok. 3000 ppm) wywołuje raka nabłonka żołądka u gryzoni. Ponadto wstrzymuje przekazywanie sygnałów między komórkami. Przeprowadzone badania wykazały mniejszą zapadalność na nowotwór żołądka u ludzi niż u gryzoni. Może to być spowodowane tym, że dawka BHA przyjmowana przez ludzi (0,1 mg/kg/dzień) jest dużo mniejsza od stosowanej w eksperymencie [Whysner i in. 1994; Williams i in. 1995; Whysner i in. 1996]. Nie stwierdzono genotoksycznego działania BHT, nie jest on sklasyfikowany przez IARC jako rakotwórczy, jednakże nie można całkowicie wykluczyć jego wpływu na powstawanie nowotworów.

Ze względu na bezpieczeństwo, wzrasta zainteresowanie naturalnymi produktami i prowadzone są intensywne poszukiwania nowych związków o aktywności antyoksydacyjnej

[Rice-Evans i in. 1997; Chu i in. 2002; Materska i Perucka 2005; Bera i in. 2006]. Są one lepiej akceptowalne przez konsumentów, a także nie wymagają zgody o dopuszczalności stosowania w żywności [Rosicka-Kaczmarek 2004].

Z tego względu w niniejszej rozprawie badania dotyczyły jedynie antyoksydantów pochodzenia naturalnego.

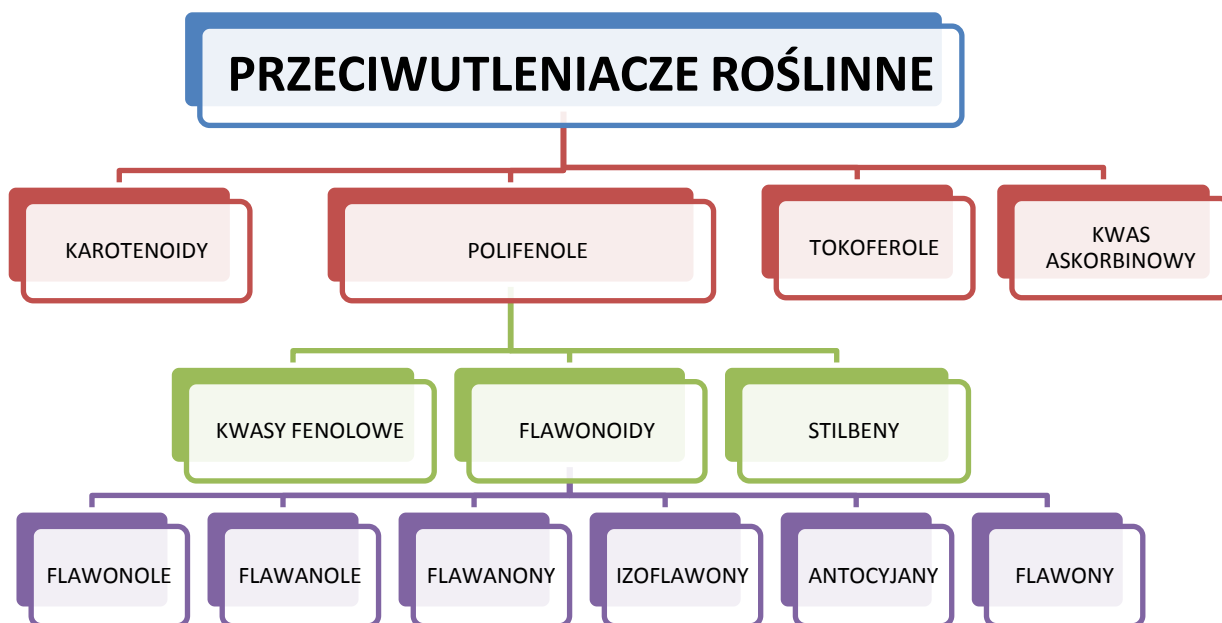
### Przeciwutleniacze naturalne

Trudno jest precyzyjnie zdefiniować termin naturalne przeciwutleniacze, ale generalnie nawiązuje on do substancji, które występują i mogą być pozyskiwane z tkanek roślinnych lub zwierzęcych. Naturalne antyoksydanty znajdują się w prawie wszystkich roślinach, również w mikroorganizmach i grzybach, a nawet w tkankach zwierzęcych [Kamal-Eldin i Pokorny 2005].

Właściwości antyoksydacyjne wykazuje wiele rodzajów związków chemicznych występujących w roślinach - najczęściej w ich częściach jadalnych, takich jak: owoce (skórka), liście, bulwy, korzenie czy nasiona. Dzięki ogromnemu postępowi chemii analitycznej udało się zidentyfikować tysiące związków wykazujących działanie przeciwutleniające - samych flawonoli zidentyfikowano i wyodrębniono już ok. 5000 [Friedli; Hendrich i in. 2002; Bors 2004].

Przeciwutleniacze roślinne można podzielić na następujące grupy (ryc. 1):

- polifenole tworzące dwie główne klasy związków: kwasy fenolowe (kwas kawowy, elagowy, ferulowy) oraz flawonoidy z sześcioma podgrupami, do których należą: flawonole (kwercetyna, kempferol), flawanole (katechina, gallusan epikatechiny), flawanony (naringenina, hesperydyna), flawony (apigenina, luteolina), antocyjany (cyjanidyna, malwidyna) i izoflawonoidy (genisteina, daidseina); osobną grupę polifenoli tworzą stilbeny (resweratrol);
- karotenoidy, m.in. alfa i beta-karoten, likopen;
- kwas askorbinowy;
- tokoferole [Czerwiecki 2009].



Ryc. 1. Podział przeciwutleniaczy roślinnych [Czerwiecki 2009]

#### 2.4.1. Polifenole

Polifenole to największa grupa naturalnych antyoksydantów. Związki te są bardzo zróżnicowane pod względem struktury, masy cząsteczkowej oraz właściwości fizykochemicznych i biologicznych. Związki fenolowe występują prawie w każdej rodzinie roślin wyższych, nie są jednak syntetyzowane w organizmach zwierzęcych. Powstają z metabolitów pierwotnych, według dwóch do tej pory poznanych mechanizmów biosyntezy (za pomocą kwasów szikimowego i octanowo-malonowego). Enzymy uczestniczące w tych przemianach nie występują w organizmach zwierzęcych, dlatego zwierzęta nie mogą syntetyzować pierścieni fenolowych, jak i również ich rozkładać. Mają jednak zdolność przyswajania ich z diety roślinnej i akumulacji w tkankach [Gasik 1983].

Polifenole wykazują właściwości antyutleniające ponieważ:

- są substancjami redukującymi,
- blokują wolne rodniki,
- tworzą kompleksy z metalami będącymi katalizatorami reakcji utlenienia,
- zapobiegają reakcjom powodowanym przez pojedynczy atom tlenu,
- hamują aktywność enzymów utleniających (np. lipooksygenaz) [Oszmiański 1995].

#### 2.4.1.1. Flawonoidy

Flawonoidy są pochodnymi 2-fenylo-benzo- $\gamma$ -pironu. Wspólną częścią w strukturze chemicznej wszystkich flawonoidów jest szkielet węglowy oparty na układzie flawanu (C6-C3-C6), utworzony z dwóch pierścieni benzenowych połączonych heterocyklicznym pierścieniem piranu lub pironu.

Ze względu na różnice w budowie strukturalnej związki flawonoidowe dzieli się na:

- flawanony (naryngenina, naryngina, hesperetyna, hesperedyna),
- flawanole (epikatechina, epigallokatechina, katechina),
- flawony (apigenina, diosmetyna, luteolina),
- izoflawony (daidzeina, genisteina),
- flawonole (kwercetyna, kemferol, mirecetyna, fisteina, morina),
- antocyjany (cyjanidyna, pelargonidyna, malwidin).

Do związków flawonoidowych zaliczane są również biflawonoidy (np. ginkgetyna), flawonolignany (np. sylibina), prenyloflawonoidy, glikozydoestry flawonoidowe, chalkony oraz proantocyjany [Bravo 1998; Cieczot 2000].

Dotychczas poznano i opisano około 4000 związków flawonoidowych, występujących powszechnie w liściach, kwiatach, owocach i nasionach roślin. Są one barwnikami, które nadają roślinom różne barwy – od żółtej w owocach cytrusowych po granatową w owocach jagodowych. Oprócz nadawania barwy roślinom, flawonoidy chronią je przed szkodliwym działaniem promieniowania nadfioletowego, grzybów i owadów. Ponadto mogą pełnić funkcje hormonów roślinnych, regulatorów wzrostu i inhibitorów wielu reakcji enzymatycznych. Głównym źródłem flawonoidów w diecie są warzywa (przede wszystkim cebula, pomidory, papryka, brokuły) i owoce (owoce cytrusowe, jabłka, jagody, czarne porzeczki czy winogrona). Występują one również w niektórych zbożach, nasionach roślin (szczególnie strączkowych), przyprawach, a także w czerwonym winie, herbacie (zwłaszcza zielonej), kawie i kakao. Szczególnie bogate we flawonoidy (ok. 1 g/l) są czerwone wino i sok z owoców grejpfruta. Najwięcej związków flawonoidowych zawiera jednak gorzka, ciemna czekolada (>70% kakao) [Aherne i O'Brien 2002; Manach i in. 2004].

Aktualny stan wiedzy na temat aktywności biologicznej związków flawonoidowych wskazuje jednoznacznie, że ich pozytywne działanie na organizm człowieka wynika głównie z właściwości antyoksydacyjnych. Jest to możliwe dzięki obecności w ich strukturze grup

hydroksylowych (głównie w pozycjach C-3, C-5, C-7, C-3', C-4'), wiązania podwójnego w pozycji C-2 i C-3, a także grupy karbonylowej w pozycji C-4. Aktywność antyoksydacyjna poszczególnych flawonoidów zależy od liczby grup hydroksylowych i ich położenia. Wykazano, że im więcej grup hydroksylowych w cząsteczce, tym silniejsze działanie antyoksydacyjne oraz, że położenie tych grup w pozycji *para* i *orto* zwiększa te właściwości [Majewska i Czeczot 2009].

#### 2.4.1.2. Kwasy fenolowe

Kwasy fenolowe to najczęściej pochodne kwasu benzoowego i cynamonowego. Występują najczęściej w formie estrów lub glikozydów. Wykazują m. in. zdolność łączenia się z białkami enzymów, hamują działanie lipaz i lipooksygenaz.

Wśród monohydroksy pochodnych kwasu benzoowego właściwości przeciwutleniające wykazują tylko meta pochodne. Siła działania antyoksydacyjnego dihydroksypochodnych jest uzależniona od pozycji grup OH. Najsilniejszymi zdolnościami wyróżnia się kwas rezorcynowy (2,5-pochodna). Jeszcze silniejszym oddziaływaniem charakteryzują się pochodne zawierające trzy grupy hydroksylowe np. kwas galusowy (3,4,5-pochodna).

Aktywność przeciwutleniająca związków fenolowych polega na różnorodnych mechanizmach ich działania, między innymi wykazują one charakter:

- związków o właściwościach redukujących – mogą oddać elektron lub atom wodoru,
- związków wiążących wolne rodniki – mogą stabilizować lub delokalizować niesparowany elektron,
- czynników chelatujących jony metali enzymów katalizujących reakcje utleniania,
- inhibitorów oksydaz,
- terminatorów przerywających łańcuchowe reakcje rodnikowe,
- stabilizatorów wolnych rodników powstających w reakcjach oksydacyjnych poprzez ich uwodornianie lub kompleksowanie [Panczenko-Kresowska 1997; Rice-Evans i in. 1997; Parus 2013].

W licznych badaniach dotyczących właściwości przeciwutleniających kwasów fenolowych wykazano zależność tych właściwości od struktury chemicznej, a dokładniej od liczby grup hydroksylowych w cząsteczce oraz stopnia ich zestryfikowania. W związkach z jedną grupą hydroksylową, aktywność przeciwutleniającą zwiększa dodatkowo obecność

jednej lub dwóch grup metoksyłowych w pierścieniu. Wprowadzenie w pozycji *orto*- grupy z donorami elektronów, alkiłowej lub metoksyłowej, zwiększa stabilność właściwości przeciwutleniających kwasów fenolowych [Shahidi i Wanasundara 1992; Cuvelier i in. 1996]. Kwasy fenolowe występują w największych ilościach w owocach (jabłka, winogrona, gruszki, wiśnie), zbożach, ziołach oraz herbacie.

#### 2.4.1.3. Stilbeny

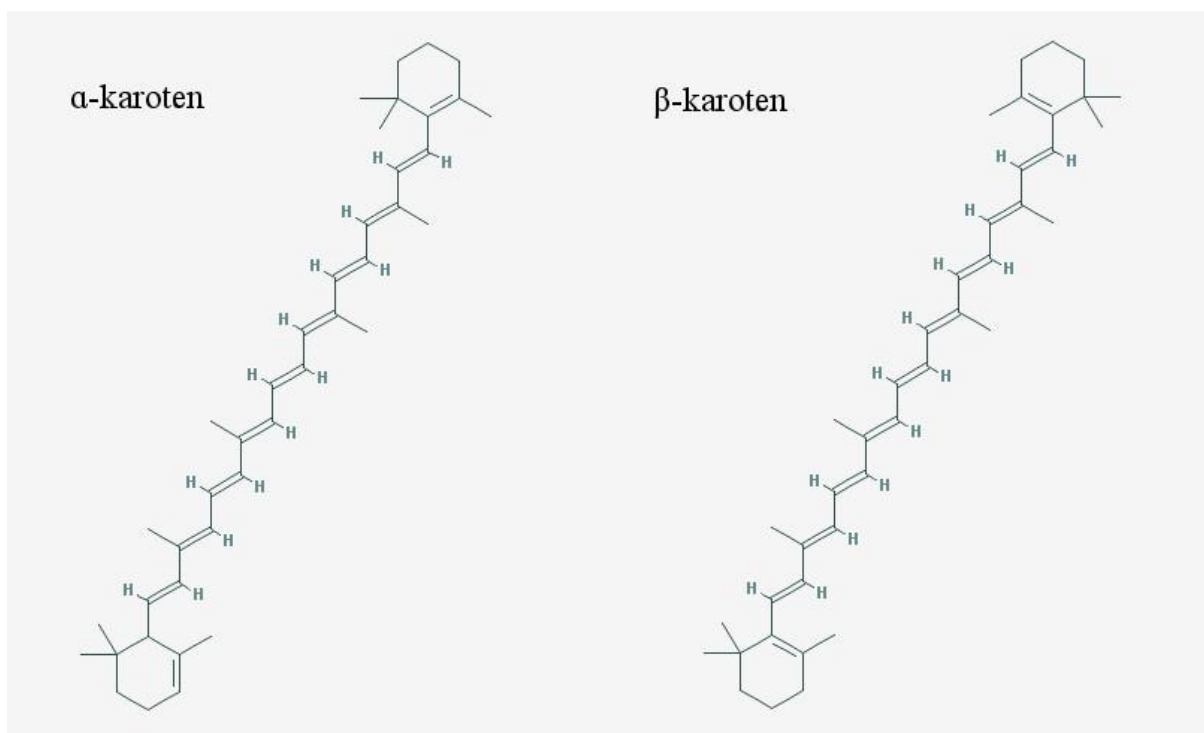
Stilbeny to grupa polifenoli zbudowanych z dwóch pierścieni fenolowych połączonych częścią etenu. Głównym przedstawicielem jest resweratrol, związek rozpuszczalny w tłuszczach, występujący w izomerycznych formach *cis* i *trans*. W roślinach występuje w formie glikozydowo związanej z jedną cząsteczką glukozy.

Stilbeny są produkowane przez rośliny w odpowiedzi na stres, uszkodzenie, zagrzybenie i promieniowanie UV. Bogatym źródłem resweratrolu są owoce o intensywnej czerwono-fioletowej barwie, takie jak czerwone winogrona, jagody leśne, borówka amerykańska, żurawina, owoce morwy, jeżyny, a także orzeszki ziemne [Majewski i in. 2012].

W badaniach *in vitro* wykazano, że resweratrol jest silnym przeciwutleniaczem, efektywnie usuwającym wolne rodniki i hamującym utlenianie lipoprotein o niskiej gęstości (LDL) [Stojanovic i in. 2001].

#### 2.4.2. Karotenoidy

Karotenoidy są barwnikami roślinnymi uczestniczącymi w procesie fotosyntezy. Posiadają barwę żółtą, pomarańczową lub czerwoną. Są hydrofobowymi związkami, nierozpuszczalnymi w wodzie. Właściwości przeciwutleniające karotenoidów zależą od ilości sprzężonych wiązań podwójnych oraz obecności grupy ketonowej [Gryszczyńska i in. 2011]. Chemiczną budowę  $\alpha$ - i  $\beta$ -karotenu, dwóch związków reprezentujących liczną grupę karotenoidów przedstawiono na ryc. 2. Postacie czynne związków karotenoidowych dostępne ze źródeł naturalnych, znacznie przewyższają skutecznością związki pochodzenia syntetycznego. Dodatkowo nie wykazują oddziaływań toksycznych, czy kancerogennych. Właściwości barwiące oraz związana z barwą aktywność biologiczna powodują, że spektrum karotenoidów wciąż się rozszerza [Bogacz-Radowska i Harasym 2016].



Ryc. 2. Wzór  $\alpha$ - i  $\beta$ -karotenu [PubChem CID 5280489 i 4369188]

Karotenoidy posiadają szerokie spektrum działania. Są silnymi wygaszczaczami tlenu singletowego. W doświadczeniach *in vitro* wykazano, że karotenoidy zmiatają wolne rodniki - rodniki utleniające reagują z karotenoidami przez przeniesienie elektronów, bądź też tworzenia z nimi adduktów. W badaniach *in vitro* wykazano również, że  $\beta$ -karoten hamuje peroksydację lipidów przy małym stężeniu tlenu, natomiast nie hamuje tego procesu gdy stężenie tlenu jest duże [Omaye i in. 1997; Zhang i Omaye 2001].

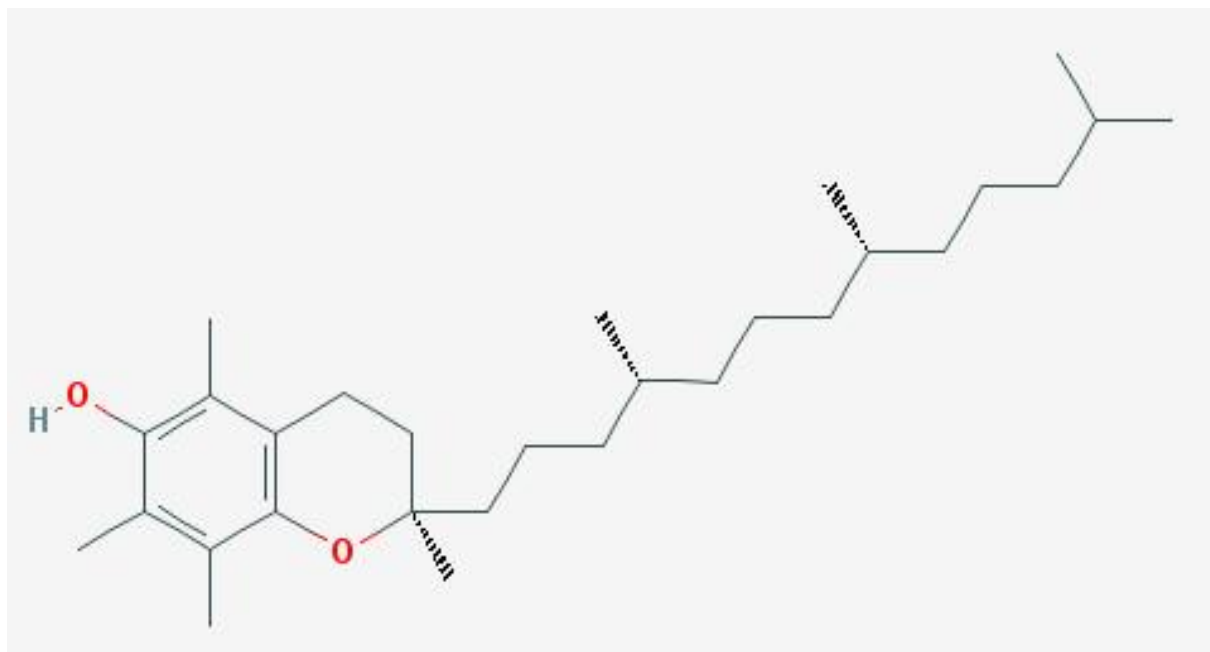
Karotenoidy wykazują aktywność przeciwutleniającą szczególnie chroniąc struktury lipidowe. Przykładowo zapobiegają niszczeniu błon erytrocytarnych (katalizator –  $\text{Fe}^{+2}$ ), bądź też działają ochronnie na lipidy o małej gęstości (LDL). Najlepsze właściwości antyoksydacyjne wykazuje likopen. Należy jednak podkreślić, że najlepszy efekt antyoksydacyjny uzyskuje się stosując mieszanki karotenoidów wraz z innymi odpowiednio dobranymi przeciwutleniaczami.

Omawiane substancje w największej ilości występują w owocach (brzoskwinia, pomarańcza, ananas), warzywach (marchew, pomidor, papryka, brokuł, kapusta) i zbożach [Gryszczyńska i in. 2011].

### 2.4.3. Tokoferole

Witamina E jest zmiataczem rodników ponadtlenkowych i prawdopodobnie najważniejszym, choć nie jedynym, inhibitorem łańcuchowej reakcji wolnorodnikowej przebiegającej podczas utleniania (peroksydacji) lipidów. Wykryto osiem naturalnie występujących związków mających aktywność witaminy E: d- $\alpha$ -, d- $\beta$ -, d- $\gamma$ -, d- $\delta$ -tokoferole i d- $\alpha$ -, d- $\beta$ -, d- $\gamma$ -, d- $\delta$ -tokotrienole. Najbardziej biologicznie aktywną postacią jest d- $\alpha$ -tokoferol, obecnie częściej zwany RRR- $\alpha$ -tokoferolem (ryc. 3). Tokoferole i tokotrienole szczególnie skutecznie hamują peroksydację lipidów głównie dlatego, że eliminują z dużą skutecznością rodniki peroksyłowe ( $RO_2\cdot$ ) zanim te zdążą uszkodzić cząsteczki kwasów tłuszczowych. Reakcja wygaszania rodników peroksyłowych przebiega w następujący sposób:  $\alpha\text{-TH (tokoferol)} + RO_2\cdot \rightarrow \alpha\text{-T}\cdot + RO_2H$ .

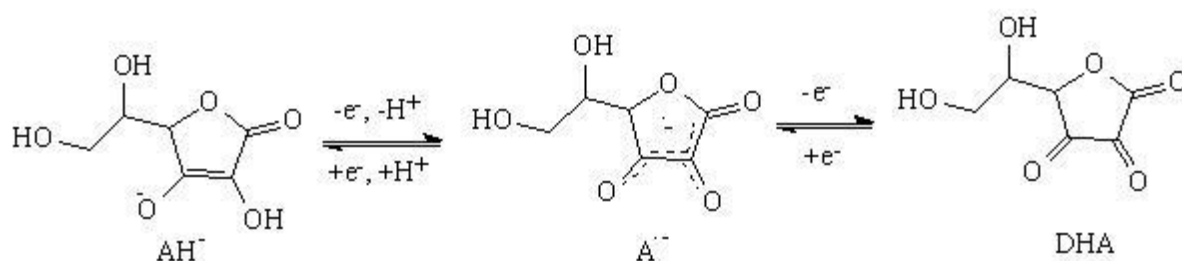
Tokoferole wygaszają również tlen singletowy i w ten sposób zabezpieczają dodatkowo błony komórkowe przed procesem peroksydacji. W wyniku reakcji  $\alpha$ -tokoferolu z anionorodnikiem ponadtlenkowym  $O_2^{\cdot-}$  lub rodnikiem  $OH\cdot$  powstaje rodnik  $\alpha\text{-T}\cdot$ , który następnie może reagować z rodnikami nadtlenkowymi dając produkty niebędące rodnikami:  $RO_2\cdot + \alpha\text{-T}\cdot \rightarrow \alpha\text{-TOOR}$  [Sroka i in. 2005; Zhang i Omaye 2001].



Ryc. 3. Wzór najbardziej aktywnej biologicznie postaci witaminy E, czyli RRR- $\alpha$ -tokoferolu (d- $\alpha$ -tokoferolu) [PubChem CID 14985]

#### 2.4.4. Kwas askorbinowy

Kwas askorbinowy to  $\gamma$ -lakton endiolu kwasu 2-okso-L-gulonowego. Posiada on dwa asymetryczne węgle, mianowicie C4 i C5 przez co może występować w formie czterech stereoizomerów. Największa właściwość antyoksydacyjna przejawia się przy małych stężeniach kwasu askorbinowego. Stabilizuje on wtedy skutecznie rodniki nadtlenkowe [Maćkowiak i Trolński 2007]. W wyniku oddania elektronu (ryc. 4) askorbinian ( $AH^-$ ) przechodzi w postać rodnikową  $A^\bullet$  – (rodnik askorbylowy), który może być w dalszym ciągu utleniany do dehydroaskorbinianu (DHA). Rodniki o dużej aktywności reagują z askorbinianem, w wyniku czego powstaje znacznie mniej reaktywny rodnik askorbylowy. Dehydroaskorbinian jest natomiast związkiem niestabilnym i rozpada się do kwasu szczawiowego i kwasu treozowego [Sroka i in. 2005].



Ryc. 4. Utlenianie askorbinianu ( $AH^-$ ) do rodnika askorbylowego ( $A^{\bullet-}$ ) i dehydroaskorbinianu (DHA) [Halliwell i Gutteridge 1999]

Bogatymi źródłami witaminy C są owoce i warzywa (owoce dzikiej róży, czarna porzeczka, truskawki, kiwi, papryka, natka pietruszki, brukselka, kalarepa, brokuły) [Janda i in. 2015].

#### 2.5. Wykorzystanie naturalnych antyoksydantów w przemyśle spożywczym

Bardzo ważną funkcją polifenoli jest stabilizacja tłuszczów, a tym samym opóźnianie jęlczenia oksydacyjnego. Właściwość ta jest wykorzystywana w przemyśle spożywczym, poprzez dodatek ich w formie suszu lub ekstraktu do majonezów, margaryn, masła, ryb i produktów mięsnych [Jeszka i in. 2010].

Badania przeprowadzone nad zastosowaniem ekstraktów roślinnych zawierających tokoferole, kwas askorbinowy, karotenoidy, flawonoidy, związki fenolowe i wiele innych o charakterze przeciwutleniającym wykazywały ich wysoką skuteczność w zapobieganiu niekorzystnym zmianom składników mięsa i produktów mięsnych [Makała 2010].

Nakatani i Inatani już w 1984 roku prowadzili badania dotyczące właściwości antyoksydacyjnych rozmarynu (*Rosmarinus officinalis* L.). Wyizolowali z jego liści dwa związki o działaniu antyoksydacyjnym, które nazwali epirosmanol i isorosmanol. Wykazali, że obie substancje były czterokrotnie bardziej aktywne pod względem przeciwutleniającym niż syntetyczne BHA i BHT. Barbut i wsp. [1993] przeprowadzili badania dotyczące wpływu oleorezyny z rozmarynu w dawce 20 ppm z BHA i BHT w dawce 200 ppm na utlenianie lipidów w kiełbasie. Dowiedziono, że oleorezyna rozmarynowa w 10-krotnie mniejszej dawce dawała podobne rezultaty jak zastosowane syntetyczne przeciwutleniacze. Należy też zaznaczyć, że na podstawie wieloletnich badań na różnych rodzajach mięsa ekstrakt rozmarynu został dopuszczony na mocy Dyrektywy 95/2/WE jako nowy dodatek do żywności z kodem E 392. Bragagnolo i wsp. [2007] zastosowali ekstrakt z rozmarynu do zahamowania utleniania lipidów mięsa kurcząt. Wykazał on skuteczność w opóźnianiu utleniania lipidów, mięso z jego dodatkiem charakteryzowało się niższym poziomem zużycia tlenu i mniejszą tendencją do tworzenia wolnych rodników po obróbce cieplnej niż w próbkach bez rozmarynu. Georgantelis i wsp. [2007] obok rozmarynu użyli chitozanu i tokoferolu w kiełbasach wieprzowych. Uzyskane przez nich wyniki wskazują na wysoką skuteczność zastosowania kombinacji rozmarynu z chitozanem na zahamowanie utleniania lipidów, okres przydatności do spożycia produktu był porównywalny z tym, gdzie jako konserwant zastosowano azotyny lub inne syntetyczne dodatki. Tyburcy i wsp. [2008] badali wpływ ekstraktu z rozmarynu na zmiany oksydacyjne w farszu i pieczeniach wieprzowych. Wykazali zahamowanie wzrostu wskaźnika TBA w pieczeni wieprzowej po 1 i 6 dniach przechowywania w temp. 4 - 6°C oraz zaobserwowali, że wpływ ekstraktu był podobny jak w przypadku zastosowania dodatku kwasu askorbinowego w ilości 0,05 lub 0,1%. Szczepanik [2007] prowadził badania nad zastosowaniem ekstraktów z kopru, podbiału, rozmarynu, skrzypu, szalwii i tymianku do zahamowania utlenienia lipidów wyekstrahowanych z tkanki mięśniowej kurcząt i indyków. Stwierdził, że najlepsze właściwości ochronne wobec lipidów wyekstrahowanych ze świeżej tkanki mięśni piersiowych kurcząt wykazały ekstrakty kopru i podbiału, a w przypadku lipidów pochodzących z mięśni indyków były to ekstrakty z podbiału, rozmarynu i skrzypu.

Również skuteczne w przeciwdziałaniu niekorzystnym zmianom przechowalniczym mięsa okazały się m.in. ekstrakty zielonej herbaty, kawy, kory sosny, łusek orzechów. Badania Mitsumoto i wsp. [2005] nad zastosowaniem katechin zielonej herbaty wykazały, że ich dodatek na poziomie 200 i 400 mg/kg do kotletów z polędwicy wołowej oraz piersi drobiowej redukowało utlenianie lipidów ok. dziesięciokrotnie w porównaniu do prób

kontrolnych. Colindres i Brewer [2011] badali skuteczność zapobiegania zmianom oksydacyjnym w mielonej wołowinie przez wybrane ekstrakty roślinne oraz syntetyczne przeciwutleniacze. Najefektywniejszy był galusan propylu i ekstrakt z pestek winogron, następnie oleożywica z rozmarynu, syntetyczny BHA oraz wodny ekstrakt oregano. Wysoki potencjał antyoksydacyjny ekstraktu z pestek winogron w produktach mięsnych wykorzystał także Kulkarni ze współpracownikami [2011]. Efekt dodatku ekstraktu z pestek winogron w porównaniu do galusanu propylu był badany na modelu kielbasy wołowej po 4 miesiącach zamrażalniczego przechowywania. Użycie ekstraktu pestek winogron w stężeniu 100 oraz 300 ppm skutkowało podobnym, a nawet wyższym efektem oksydacyjnym w porównaniu z galusanem propylu (100 ppm), co stwierdzono na podstawie wskaźnika TBARS oraz cech sensorycznych. Barwa produktów wołowych była najbardziej stabilna w przypadku wyższego udziału w nich ekstraktu pestek winogron (300 i 500 ppm). Naturalne antyoksydanty można uzyskać także z odzysku przy produkcji innych surowców, są to tzw. antyoksydanty wtórne. Korczak i wsp. [1998] wykazali skuteczność hydrolizatu białkowego z odtłuszczonej śruty rzepakowej. Jego aktywność przeciwutleniającą określano w smalcu i oleju rzepakowym w aparatach Rancimat i Oxidograph oraz testem termostatowym Schaala przy stężeniu 0,1; 0,5; 1,0; 2,5 i 5,0%. Oceniany hydrolizat białkowy wykazał aktywność przeciwutleniającą w obu substratach przy wszystkich zastosowanych metodach pomiaru ich stabilności. Badania wykazały, że śruta rzepakowa, uboczny produkt przemysłu olejarskiego, posiada znaczące właściwości przeciwutleniające. Hęś i wsp. [2015] oznaczali właściwości przeciwutleniające gryki oraz produktów ubocznych otrzymanych w procesie wytwarzania kaszy gryczanej. Stwierdzili, że wśród produktów ubocznych największą zawartością polifenoli oraz najwyższą zdolnością wygaszania wolnych rodników DPPH charakteryzowały się metanolowe ekstrakty z łuski gryczanej, natomiast najniższą wodne ekstrakty z otrąb. Szczucińska i wsp. [2006] z kolei opracowali sposób otrzymywania oleju z bielma ostropestu plamistego, stanowiącego odpad przy produkcji leku zawierającego sylimarynę. Olej z rozproszoną w nim sylimaryną wykazywał lepszą stabilność oksydacyjną niż oleje spożywcze znajdujące się w sprzedaży i dobrze zabezpieczał przed utlenianiem niektóre tłuszcze spożywcze i emulsje kosmetyczne.

Naturalne ekstrakty mają swoje zastosowanie również przy produkcji sera. Agboola i Radovanovic-Tesic [2002] badali wpływ dodatku ziół na dojrzewanie sera pakowanego próżniowo, stwierdzając że rodzaj i ilość stosowanych ziół mają znaczący wpływ na skład chemiczny, stan mikrobiologiczny i aktywność biochemiczną serów podczas dojrzewania.

Natomiast Bandyopadhyay i wsp. [2007] wprowadzali do sera ekstrakty z buraka, mięty i imbiru jako przeciwutleniacze. Ich wpływ antyoksydacyjny został następnie porównany z syntetycznymi przeciwutleniaczami, takimi jak TBHQ, BHA i BHT. Stwierdzono, że mieszanina ekstraktów z buraka oraz imbiru wykazała najwyższy poziom antyoksydacyjny wśród naturalnych źródeł, a wartość ta była porównywalna z zastosowaniem TBHQ w ilości 200 mg/kg.

#### **2.5.1. Antyoksydanty naturalne stosowane do masła**

Ze względu na zmniejszające się zaufanie konsumentów do sztucznych dodatków do żywności, prowadzonych jest coraz więcej badań nad wykorzystaniem naturalnych antyoksydantów do przedłużenia trwałości między innymi masła. Badania z tego zakresu dotyczyły porównania wpływu syntetycznych i naturalnych przeciwutleniaczy na frakcję lipidową masła. Ayar i wsp. [2001] przebadali masło z dodatkiem ekstraktów z szałwii, rozmarynu, oregano oraz BHA. Zastosowano dwa stężenia dodatku: 0,02 i 0,05%, oraz dwie temperatury przechowywania: 25°C i 5°C. Stwierdzono, że największą skutecznością antyoksydacyjną odznaczały się ekstrakty z szałwii, rozmarynu oraz ich mieszaniny w stężeniu 0,05%, a także masło przechowywane w temp. 5°C było bardziej stabilne niż to przetrzymywane w 25°C. Gramza-Michałowska i wsp. [2007] przeprowadzili badania dotyczące dodatku ekstraktów z zielonej herbaty i rozmarynu do masła wyprodukowanego w sezonie letnim oraz zimowym. Dla porównania przeprowadzono również badania z dodatkiem syntetycznych przeciwutleniaczy, takich jak tokoferol i BHT. Zastosowano stężenie 0,02%, w stosunku do zawartości lipidów w maśle. Badania wykazały silne działanie przeciwutleniające dodawanych ekstraktów roślinnych na lipidy. Analiza stabilności lipidów masła w testach Rancimat i Oxidograph wykazała istotny wpływ ekstraktu z zielonej herbaty. Wysoką aktywność użytych ekstraktów roślinnych można tłumaczyć wysoką zawartością polifenoli. BHT odznaczał się mniejszą aktywnością w badanych próbach. Wpływ dodatku ekstraktu z propolisu na stabilność oksydacyjną masła względem syntetycznego przeciwutleniacza BHA przebadali Ozcan i Ayar [2003]. Zastosowano dwa różne stężenia (0,02% i 0,05%) oraz dwie różne temperatury przechowywania próbek (5°C i 25°C). Oba zastosowane stężenia propolisu wykazały działanie antyoksydacyjne w porównaniu z próbką kontrolną. BHA wykazywał podobny efekt. Stwierdzono, że ekstrakt z propolisu można uznać za nowe źródło naturalnych przeciwutleniaczy o umiarkowanych właściwościach antyoksydacyjnych. Dagdemir i wsp. [2009] zastosowali dodatek olejków eterycznych

z tymianku i oregano w dwóch stężeniach (0,1% i 0,2%). Porównano ich efektywność z próbką kontrolną (bez dodatku antyoksydantów) oraz z próbką zawierającą syntetyczny antyoksydant BHT. Próbki były przechowywane w temperaturze 4°C przez okres 90 dni. Najlepszymi efektami odznaczały się próbki z BHT oraz 0,2% stężeniem olejków eterycznych. Tymianek wykazywał silniejsze właściwości przeciwutleniające niż oregano. Analiza sensoryczna wykazała, że masło z większym dodatkiem substancji roślinnych charakteryzowało się niższą oceną aromatu od tych z 0,1% dodatkiem antyutleniaczy. Z kolei Ozturk i Cakmakci [2006] przeprowadzili porównanie właściwości antyoksydacyjnych naturalnego  $\alpha$ -tokoferolu i syntetycznych antyoksydantów BHA i BHT, które dodano do próbek masła w dwóch stężeniach: 50 i 100 ppm. Przechowywano je w ciemności w temperaturach 4 i -20°C przez okres 6 miesięcy. Próbki do analiz pobierano w odstępach 30-dniowych począwszy od drugiego dnia aż do końca okresu przechowywania. Wyniki badań wykazały, że zarówno naturalny jak i syntetyczne przeciwutleniacze były w stanie ograniczyć zmiany oksydacyjne masła w czasie przechowywania w obu temperaturach. Stwierdzono, że próbki z dodatkiem 50 ppm przeciwutleniaczy mogą być przechowywane dłużej niż 180 dni w temperaturze 4°C bez oznak zepsucia. W temperaturze 20°C dodanie przeciwutleniaczy spowodowało zmniejszenie ilości aldehydu malonowego w próbkach względem próbki kontrolnej. Wyniki te wykazały, że zastosowanie naturalnego przeciwutleniacza dało efekty porównywalne z tymi uzyskanymi przy zastosowaniu przeciwutleniaczy syntetycznych. W maśle efekt antyoksydacyjny wykazują również fosfolipidy, proteiny mleka i  $\alpha$ -tokoferol [Allen i Wrieten 1982a; Allen i Wrieten 1982b; Hamzawi 1990; Haumann 1990].

Z dokonanego przeglądu piśmiennictwa wynika, że rośliny są bardzo bogatym źródłem antyoksydantów o zróżnicowanej budowie chemicznej i właściwościach przeciwutleniających. Jednak nadal istnieje wiele roślin, które nie zostały przebadane, lub wiedza na temat ich działania na frakcję lipidową produktów spożywczych jest niewielka. W związku z powyższym należy przypuszczać, że mogą one zastąpić syntetyczne przeciwutleniacze (BHA, BHT itp.), które niekorzystnie mogą oddziaływać na organizm ludzki. Na tej podstawie sformułowano hipotezy badawcze i cel pracy.

### 3. Cel pracy

W pracy weryfikowano hipotezy badawcze zakładające, że:

- spośród bardzo licznej grupy roślin posiadających udowodnione właściwości przeciwutleniające, niektóre mogą ograniczać lub hamować niepożądane zmiany w lipidach masła w czasie przechowywania,
- zastosowane naturalne antyoksydanty oprócz oddziaływania przeciwutleniającego nie powinny powodować niekorzystnych zmian cech sensorycznych masła,
- możliwe jest uzyskanie najwyższej skuteczności działania przeciwutleniacza przy jego jak najmniejszym stężeniu w maśle.

W związku z powyższym głównym celem pracy było określenie przydatności wybranych naturalnych antyoksydantów pochodzenia roślinnego do ograniczenia niepożądanych zmian lipidów masła w czasie chłodniczego przechowywania, a tym samym zapewnienie jego dłuższej trwałości.

Szczegółowymi celami badawczymi było wskazanie:

- roślin, z których można pozyskać najbardziej aktywne przeciwutleniacze,
- postaci w jakiej ich dodatek do masła będzie najbardziej skuteczny,
- najmniejszego stężenia dodawanego przeciwutleniacza niezbędnego do spowolnienia lub zahamowania niepożądanych zmian frakcji lipidowej masła.

## 4. Materiał i metody badań

### 4.1. Materiał

Przedmiotem badań było masło „Łaciate” o zawartości 82% tłuszczu mlecznego oraz „Mix Łaciaty” zawierający 68% tłuszczu, w tym 50% tłuszczu mlecznego oraz 18% oleju rzepakowego, a także śmietankę, annato oraz aromat. W obu przypadkach był to skład deklarowany przez producenta. Wyroby te zostały wyprodukowane przez Spółdzielnię Mleczarską „Mlekpól” w Grajewie, oraz kupowane od tego producenta za pośrednictwem Spółdzielni Obrotu Towarowego w Szczecinie, zaraz po dostawie. Masło i mix przez cały okres trwania doświadczenia, tj. cztery tygodnie, były w okresie przydatności do spożycia.

Jako źródło naturalnych antyoksydantów w przeprowadzonych badaniach wykorzystano: sproszkowane ekstrakty roślinne, oleje roślinne tłoczone na zimno oraz suszone części roślin (tab. 1) Wyboru objętych badaniami naturalnych dodatków pochodzenia roślinnego dokonano na podstawie danych zawartych w specjalistycznym piśmiennictwie, wskazujących na obecność w ich składzie przeciwutleniaczy. Ponadto przy wyborze dodatków kierowano się również ich dostępnością na rynku krajowym, mając na względzie ewentualne praktyczne wykorzystanie uzyskanych wyników badań.

Tabela 1. Dodatki zastosowane do masła w badaniach własnych

| Rodzaj surowca                                   | Nazwa rośliny       | Część rośliny | Producent                                                       | Sprzedawca        |  |
|--------------------------------------------------|---------------------|---------------|-----------------------------------------------------------------|-------------------|--|
| sproszkowane ekstrakty roślinne                  | winogrono           | pestka        | brak danych                                                     | Nanga ze Złotowa  |  |
|                                                  | czerwona herbata    | liść          |                                                                 |                   |  |
|                                                  | miłorząd dwuklapowy | liść          |                                                                 |                   |  |
|                                                  | pietruszka          | korzeń        | firma produkcyjno-handlowa Paula, Zakład Produkcyjny w Parzewie |                   |  |
|                                                  | papryka             | owoc          |                                                                 |                   |  |
|                                                  | pieprz czarny       | nasiona       |                                                                 |                   |  |
|                                                  | czosnek             | ząbek         |                                                                 |                   |  |
|                                                  | por                 | liść          |                                                                 |                   |  |
|                                                  | wiśnia              | owoc          |                                                                 |                   |  |
|                                                  | pomarańcza          | owoc          |                                                                 |                   |  |
|                                                  | banan               | owoc          |                                                                 |                   |  |
|                                                  | malina              | owoc          |                                                                 |                   |  |
|                                                  | ostropest plamisty  | nasiona       | Fundacja Polski Instytut Biochemii Stosowanej z Poznania        | handel detaliczny |  |
| oleje roślinne, tłoczone na zimno, nierafinowane | ostropest plamisty  | nasiona       | Zakład Produkcyjny PPHU Vitacorn Sp. Z o.o. z Poznania          |                   |  |
|                                                  | czarnuszka          | nasiona       | Primavera Life GMBH Oy-Mittelberg, Niemcy                       |                   |  |
|                                                  | rzepak              | nasiona       | Biooil Laboratorium z Zielonej Góry                             |                   |  |

|                |                                                     |         |                                           |                   |
|----------------|-----------------------------------------------------|---------|-------------------------------------------|-------------------|
|                | awokado                                             | owoc    |                                           |                   |
|                | dynia                                               | nasiona | Oleofarm z Wrocławia                      |                   |
|                | orzech włoski                                       | nasiona |                                           |                   |
|                | ostropest plamisty                                  | nasiona | Intenson z Józefowa                       |                   |
|                | czarnuszka                                          | nasiona |                                           |                   |
|                | dynia                                               | pestka  | SemCo® z Szamotuł                         |                   |
|                | miłorząd dwuklapowy                                 | liść    |                                           |                   |
|                | czystek                                             | ziele   | Dary Natury z Grodziska                   |                   |
|                | ostrokrzew paragwajski (nazwa handlowa: Yerba Mate) | ziele   | Kraus S.A. z Argentyny                    |                   |
| cyjanobakteria | spirulina                                           | alga    | Kosmetyka Naturalna Sp. z o.o. z Warszawy | handel detaliczny |

Objęte badaniami dodatki zawierały następujące składniki aktywne:

- pestki winogron – proantocyjanidyny, bioflawonoidy (oligomeryczne procyjanidyny), resveratrol [Gabetta i in. 2000; Stivala i in. 2001],
- czerwona herbata – polifenole, katechiny [Ostrowska 2008],
- miłorząd dwuklapowy – frakcja flawonoidów składająca się z glikozydów: kwercetyny, kemferolu i izorametyny [Kalisz i in. 2006],
- pietruszka – witamina C, związki fenolowe, flawonoidy (apigenina, apiina i 6-acetlapiina), olejki eteryczne (myristycyna i apiol) oraz kumaryny [Wong i Kitts 2006; Farzaei i in. 2013],
- papryka – witaminy C i E, beta-karoten, flawanoidy i kapsainocydy [Marin i in. 2004],
- pieprz czarny – polifenole [Gulcin 2009],
- czosnek – flawonoidy, witamina C [Leelarungrayub i in. 2006],
- por – flawonole, witamina C [Proteggente i in. 2002],
- wiśnia – flawonoidy (cyjanidyny, antocyjanidyny i proantocyjanidyny) [Wang i in. 1999],
- pomarańcza – fenole i witamina C [Lagha-Benamrouche i Madani 2013],
- banan – fenole i witamina C [Lim i in. 2007],
- malina – związki polifenolowe, spośród których dominującymi są elagotaniny i antocyjany [Krauze-Baranowska i in. 2014],
- ostropest plamisty – zespół flawonolignanów (1,5% – 3,0%), złożony z silybiny, silybininy, silydianiny, silykrystyny, izosilybiny oraz z tzw. silybinomerów, czyli oligomerycznych pochodnych silymarynowych; związki te mają w budowie swoich cząsteczek fenylochromanon (jako składnik flawonoidowy) oraz kwas koniferylowy

- (jako składnik lignanowy); zespół fitosteroli: kampesterol, stigmasterol, beta-sitosterol; zespół flawonoidów: kwercetyna, apigenina, luteolina, naringenina, eriodictiol taxifolina [Karłowicz-Bodalska i Bodalski 2007],
- czarnuszka – witamina E, beta-karoten, fosfolipidy, tymochinon i inne składniki olejku lotnego (karwakrol, trans-anetol, 4-terpineol) [Burtis i Bucar 2000; Salem 2005; Mańkowska i in. 2009],
  - rzepak – tokochromanole, karotenoidy, flawonoidy, fitosterole, kwasy fenolowe [Pieszka i in. 2013],
  - awokado – fitosterole (beta-sitosterol), luteina, karotenoidy (beta-karoten), witamina C i E, tokoferole (alfa-tokoferol), tokotrienole [Bergh 1992],
  - dynia – witaminy C i E, beta-karoten, fitosterole, skwalen [Roszkowska i in. 2014; Rabrenović i in. 2014],
  - orzech włoski – witamina E [Borecka i in. 2013],
  - czystek – fitosterole, kwasy fenolowe, flawonoidy [Attaguile i in. 2000; Dudonné i in. 2009; Różański 2014],
  - ostrokrzew paragwajski – polifenole [Matsumoto i in. 2009],
  - spirulina – fitocyjanina [Romain i in. 2003].

Spośród wyżej wymienionych dodatków do masła zastosowano: sproszkowane ekstrakty z pestek winogron, czerwonej herbaty, miłorzębu, wiśni, maliny i ostropestu plamistego; tłoczone na zimno oleje z ostropestu plamistego, czarnuszki, rzepaku, awokado, pestek dyni i orzecha włoskiego; suszone nasiona ostropestu, czarnuszki, dyni, liście miłorzębu, ziele czystka, ostrokrzewu. Jako dodatku do masła użyto również cyjanobakterii spiruliny.

#### **4.1.1. Przygotowanie materiału do badań**

Poniżej przedstawiono sposób przygotowania materiału do badań w zależności od zastosowanych grup dodatków czyli sproszkowanych ekstraktów roślinnych, olejów roślinnych oraz zmielonych suszy roślinnych, nasion i cyjanobakterii.

#### **4.1.1.1. Przygotowanie sproszkowanych ekstraktów roślinnych do oznaczania aktywności antyoksydacyjnej metodą DPPH**

Wstępne badania wykazały znacznie lepszą rozpuszczalność sproszkowanych ekstraktów roślinnych w wodzie, niż w etanolu, zatem w dalszych badaniach przygotowywano wyłącznie wodne roztwory tych ekstraktów.

Przeprowadzono również badania dotyczące określenia stężenia tych roztworów o największej aktywności przeciwutleniającej. W tym celu porównano następujące stężenia ekstraktów: 0,2; 0,5 oraz 2,5 mg/ml.

Doświadczalnie określono również czas inkubacji próbek, po jakim dokonywano pomiaru spektrofotometrycznego. Przeprowadzono pomiary po 15, 30, 45 i 60 minutach inkubacji w temperaturze pokojowej, bez dostępu światła.

#### **4.1.1.2. Przygotowanie masła z dodatkiem ekstraktów roślinnych**

Do masła wprowadzano oceniane ekstrakty roślinne w postaci roztworu wodnego o różnych stężeniach w zależności od użytego ekstraktu w ilości 5 ml na 450 g masła, gdyż większa jego ilość nie była w 100% wiązana przez masło. Zastosowano następujące stężenia: 0,2 i 0,5 mg/ml w przypadku ekstraktów z pestek winogron, czerwonej herbaty i miłorzębu; 0,5 mg/ml w przypadku ekstraktów z wiśni i maliny; oraz 1 i 2,5 mg/ml w przypadku ekstraktu z ostropestu. Po dokładnym wymieszaniu formowano kostki o masie ok. 100 g, pakowano w folię aluminiową laminowaną pergaminem i przechowywano przez 4 tygodnie w temperaturze  $4 \pm 1^{\circ}\text{C}$ . Próby do analiz pobierano po 1, 2, 3 i 4 tygodniu chłodniczego przechowywania.

#### **4.1.1.3. Przygotowanie masła z dodatkiem olejów**

W przypadku oleju z ostropestu, czarnuszki i rzepaku zastosowano dodatek 3 i 5% w stosunku do masy masła (450 g), odpowiednio 13,5 g i 22,5 g oleju. Natomiast olej z awokado, pestek dyni i orzechów włoskich dodawano w ilości 10% (45 g). Podobnie jak w przypadku ekstraktów roślinnych, po wymieszaniu, formowano kostki o masie ok. 100 g, pakowano w folię aluminiową laminowaną pergaminem i składowano w warunkach chłodniczych ( $4 \pm 1^{\circ}\text{C}$ ). Próbkę do oznaczeń, pobierano podobnie jak poprzednio, po 1., 2., 3. i 4. tygodniu chłodniczego przechowywania.

#### **4.1.1.4. Przygotowanie masła z dodatkiem zmielonych suszy roślinnych, nasion i cyjanobakterii**

Dodatki roślinne były mielone bezpośrednio przed dodaniem do masła, gdyż wtedy wykazują najsilniejsze właściwości antyoksydacyjne (wyjątkiem była mąka z pestek dyni, sproszkowana spirulina oraz porównawcza próbka ostropestu plamistego). Proces mielenia przeprowadzono w młynku elektrycznym nożowym. Następnie otrzymany surowiec przesiano przez sito o drobnych oczkach w celu oddzielenia większych kawałków roślin, które mogłyby wpłynąć negatywnie na ocenę organoleptyczną. W poszczególnych doświadczeniach zastosowano różne ilości dodatków, dokładnie rozprowadzając je w masle.

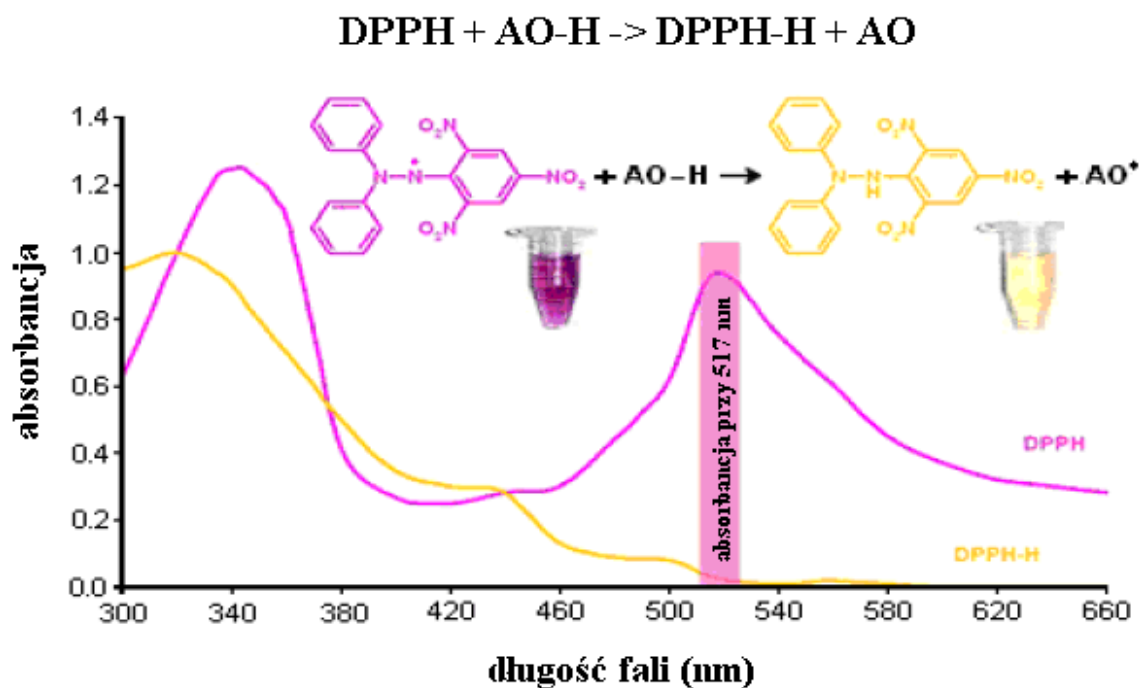
#### **4.1.1.5. Przygotowanie próbek masła i masła z dodatkami do analiz**

Przygotowanie próbek masła bez dodatków i z dodatkami do oznaczeń przeprowadzono według instrukcji zawartej w normie PN-80/A-86207. Pobraną do analiz próbkę ogrzano w łaźni wodnej do temperatury nie wyższej niż 30°C, ciągle mieszając. Następnie przeniesiono tak przygotowane masło do gilz wirówkowych i roztopiono w łaźni wodnej w temperaturze 50°C. Po osiągnięciu przez masło stanu płynnego umieszczono gilzy w wirówce i wirowano przez 10 min przy 1500 obrotach/minutę, po czym ponownie wstawiono próbki do łaźni na 5 minut. Do oznaczeń pobierano klarowny tłuszcz z nad wydzielonego podczas wirowania osadu.

### **4.2. Metody badań**

#### **4.2.1. Oznaczanie aktywności antyoksydacyjnej metodą DPPH**

Metoda z wykorzystaniem stabilnego rodnika 2,2-difenylo-1-pikrylohydrazylu (DPPH), polegająca na kolorymetrycznym oznaczeniu zdolności do neutralizowania wolnych rodników przez badane substancje [Brand-Williams i in. 1995; Bondet i in. 1997; Sanchez-Moreno i in. 1998; Bandoniene i in. 2002].



Ryc. 5. Struktura chemiczna rodnika DPPH oraz jego reakcja z substancją przeciwutleniającą [Boligon i in. 2014].

Procedura pomiaru aktywności przeciwutleniającej przedstawia się następująco: wodny roztwór antyoksydantu mieszano z metanolem roztworem DPPH (0,078864 mg/ml). Próbkę inkubowano w temperaturze pokojowej bez dostępu światła. Doświadczalnie stwierdzono, że optymalnym czasem inkubacji jest 30 minut. Po tym czasie mierzono absorbancję przy długości fali 517 nm wobec mieszaniny wody i metanolu (4:1) jako próby ślepej. Próbką kontrolną jest mieszanina wody z metanolem roztworem DPPH (4:1). Wyniki pomiaru są podawane jako stopień zmiatania rodnika w procentach, obliczone wg wzoru:

$$AA\% = [(A_0 - A_1) \times 100] / A_0$$

gdzie:

AA – aktywność antyoksydacyjna,

$A_0$  – absorbancja próbki kontrolnej,

$A_1$  – absorbancja badanej próbki [Okawa i in. 2001].

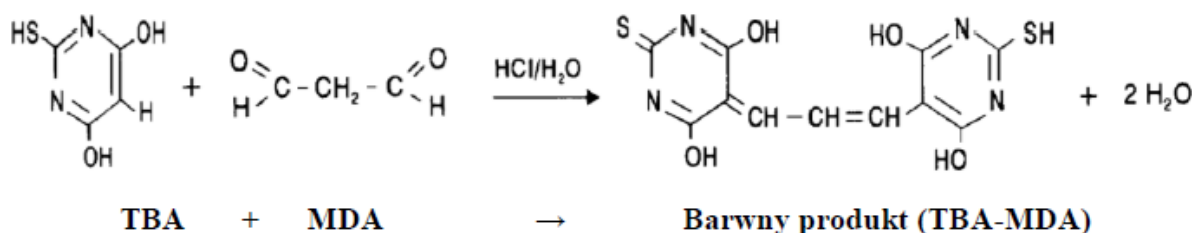
Wszystkie próby wykonano w trzech powtórzeniach i obliczono z nich średnią arytmetyczną.

#### 4.2.2. Oznaczanie kwasowości tłuszczu

Zasada oznaczania polega na miareczkowaniu tłuszczu masła 0,1N roztworem wodorotlenku sodowego wobec 2% alkoholowego roztworu fenoloftaleiny (wg normy PN-A-86207). Otrzymany z trzech powtórzeń wynik uśredniono, a następnie przeliczono na stopnie kwasowości (ilość cm<sup>3</sup> 1N roztworu NaOH na 100g tłuszczu) [PN-80/A-86207].

#### 4.2.3. Oznaczanie zawartości aldehydu malonowego testem TBA jako wskaźnika oksydacji tłuszczu

Zawartość aldehydu malonowego, jako wskaźnika stopnia utlenienia lipidów, oznaczono za pomocą testu z wykorzystaniem kwasu tiobarbiturowego. Metoda opisana przez Schmedes i Holmer [1989] polega na spektrofotometrycznym pomiarze barwy przy długości fali 532 nm roztworu uzyskanego podczas reakcji ekstraktu chloroformowo-metanolowego (2:1) tłuszczu z odczynnikiem mającym w składzie kwas tiobarbiturowy, wobec mieszaniny wszystkich odczynników i samego roztworu chloroformowo-metanolowego jako próby kontrolnej.



Ryc. 6. Reakcja kwasu tiobarbiturowego (TBA) z aldehydem malonowym (MDA) prowadząca do powstania barwnego kompleksu TBA-MDA [Osawa i in. 2005].

W niniejszej pracy oznaczenie to przeprowadzono w następujący sposób: przygotowano dwa odczynniki (A i B), które należało mieszać ze sobą tuż przed dodaniem do badanej próby. Odczynnik A składał się z kwasu tiobarbiturowego, wody destylowanej i kwasu octowego, natomiast odczynnik B z siarczyny sodu wody destylowanej i chlorku żelazowego. Następnie zmieszane oba odczynniki dodawano do ekstraktu chloroformowo-metanolowego tłuszczu wyizolowanego metodą wirówkową z masła i ogrzewano w łaźni wodnej o temp. 85°C przez 30 min. Po upływie tego czasu próbki schładzano i dodawano 5% roztwór wodny kwasu trichlorooctowego. Tak przygotowane próbki wirowano w wirówce przez 10 min. przy 1500 obr./min., a następnie oznaczano absorbancję przy długości fali 532 nm. Uzyskaną absorbancję przeliczono na mg aldehydu malonowego w 100 g tłuszczu korzystając z krzywej wzorcowej. Wszystkie próby wykonano w trzech powtórzeniach i obliczono z nich średnią arytmetyczną.

#### 4.2.4. Oznaczenie profilu kwasów tłuszczowych metodą chromatografii gazowej

Oznaczenie to zostało wykonane w zewnętrznym laboratorium w Zakładzie Biochemii i Żywienia Człowieka Pomorskiego Uniwersytetu Medycznego w Szczecinie, ze względu na brak odpowiedniej aparatury badawczej w jednostce macierzystej, według poniżej przedstawionej procedury. Bezpośrednio po pobraniu próby do analiz zostały zamrożone do ok.  $-25^{\circ}\text{C}$ . Również ich transport odbywał się w warunkach zamrażalniczych, w styropianowym pojemniku wypełnionym lodem o tej samej temperaturze, w czasie krótszym niż pół godziny.

Tłuszcz z próbek ekstrahowano metodą Folch'a [Folch i in. 1957]. Kwasy tłuszczowe obecne w próbce przeprowadzano w estry metylowe kwasów tłuszczowych (FAME – fatty acid methyl ester) przy użyciu metanolu i trifluorku boru ( $\text{BF}_3$ ) i przeprowadzono analizę składu kwasów tłuszczowych z zastosowaniem chromatografu gazowego 7890AGC System firmy Agilent Technologies przy wykorzystaniu kolumny chromatograficznej SUPELCOWAX™ 10 Capillary GC Column ( $L \times \text{I.D. } 15 \text{ m} \times 0.10 \text{ mm}$ ,  $\text{df } 0.10 \mu\text{m}$ ) (Supelco, nr kat.: 24343).

Procedura izolacji kwasów tłuszczowych przebiegała następująco:

- pobrano 0,2 mg próbki masła i dodano 1,5 ml mieszaniny Folcha (1 ml chloroformu: 0,5 ml metanolu) w celu ekstrakcji lipidów z próbki,
- dodano 50  $\mu\text{l}$  roztworu BHT (0,5%) w celu zabezpieczenia kwasów tłuszczowych przed utlenianiem oraz 100  $\mu\text{l}$  wzorca wewnętrznego ( $\text{C}_{21:0}$ ) i wytrząsano przez 20 min. przy użyciu vortex'u,
- otrzymaną mieszaninę wirowano przez 10 min. przy 12000 obr./min.,
- pobrano 0,5 ml ekstraktu i dodano 0,5 ml 2M metanolowego roztworu KOH, a następnie ogrzewano przez 20 min. w temp.  $70^{\circ}\text{C}$ , w wyniku czego nastąpiło oderwanie reszt kwasów tłuszczowych od glicerolu (zmydlanie),
- dodano 1 ml  $\text{BF}_3$  i ponownie ogrzewano przez 20 min. w temp.  $70^{\circ}\text{C}$ , w wyniku czego nastąpiła metylacja – przyłączenie grupy  $\text{CH}_3$ , co umożliwiło otrzymanie pików na chromatografie,
- po ostudzeniu do temp. pokojowej dodano 2 ml heksanu (umożliwia przejście estrów kwasów tłuszczowych do warstwy heksanowej, jako nośnika), po wymieszaniu dodano 10ml nasyconego roztworu NaCl i pozostawiono do rozdzielenia,

- z górnej, heksanowej, warstwy pobrano ok. 1 ml do szklanej fiolki do autosamplera i dodano szczyptę bezwodnego  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , w celu usunięcia resztek wody.

Warunki rozdziału chromatograficznego: początkowa temperatura rozdziału wynosiła 40°C przez 0,5 min. Dalszy profil temperaturowy wyglądał następująco: wzrost temperatury do 195°C z szybkością 25°C/min oraz wzrost temperatury do 205°C z prędkością 3°C/min. W końcowej fazie rozdziału temperatura pieca wynosiła 250°C przez 0,5 min, osiągnięta z prędkością 8°C/min. Całkowity czas rozdziału wynosił 16,2 min., przy przepływie wodoru, jako gazu nośnego, z prędkością 1 ml/min. Temperatura detektora FID (płomieniowo-jonizacyjnego, ang. Flame Ionization Detector) wynosiła 260°C.

Analiza jakościowa i ilościowa była możliwa dzięki wykorzystaniu oprogramowania specjalistycznego ChemStation Software B.01.04 (Agilent Technologies, Cheshire, UK). Kwasy tłuszczowe były identyfikowane na podstawie czasów retencji ustalonych wcześniej dla odpowiednich wzorców, wykorzystanych w metodzie. W metodzie wykorzystano wzorzec kwasów tłuszczowych w produktach spożywczych firmy RESTEK (Food Industry FAME Mix, 37 components) oraz jako uzupełnienie, wzorce dla wybranych kwasów z szeregu Omega 3 i Omega 6. Wyniki były normalizowane z wykorzystaniem wzorca wewnętrznego C21:0 (ang.: heneicosanoic acid) dodawanego do każdej próby w czasie izolacji.

#### **4.2.5. Ocena organoleptyczna**

Ocenę organoleptyczną wykonano metodą 5-punktową uwzględniając takie wyróżniki jak: wygląd, barwa, konsystencja, smak i zapach. Wymagania dotyczące masła ekstra zostały zawarte w normie PN-A-86155 i brzmią następująco:

- wygląd i barwa – jednostka starannie uformowana, barwa jednolita, dopuszcza się nieznacznie intensywniejszą na powierzchni, wygniecenie prawidłowe, powierzchnia gładka i sucha,
- konsystencja – jednolita, zwarta, smarowna, dopuszcza się lekko twardą, lekko mazistą,
- smak i zapach – czysty, lekko kwaśny, mlekowy, lekki posmak pasteryzacji, lekko tłuszczowy, dopuszcza się niepełny smak i zapach, lekko odbiegający od czystego.

Podane kryteria odpowiadają najwyższej wartości 5 punktów. W przypadku odchyleń od tych wartości przyznawano odpowiednio niższe noty punktowe. Przypadki najbardziej

odbiegające od podanych wymagać otrzymywały 1 punkt (wygląd i barwa – odkształcenia, niejednorodna barwa; konsystencja – niejednorodna, rozwarstwiona; smak i zapach – nieczysty, mocno kwaśny, jełki).

Poszczególnym wyróżnikom jakości przyporządkowano współczynniki ważkości. Za ich pomocą obliczono wskaźnik sensorycznej jakości całkowitej (WSJC) (tab. 2) [Czechowska-Liszka 2005].

Tabela 2. Wyznaczanie wskaźnika sensorycznej jakości całkowitej (WSJC)

| Wyróżnik jakości | Współczynnik ważkości (a) | Średnia ocen (b) | Iloczyn (a*b) |
|------------------|---------------------------|------------------|---------------|
| Wygląd i barwa   | 0,1                       |                  |               |
| Konsystencja     | 0,2                       |                  |               |
| Smak             | 0,4                       |                  |               |
| Zapach           | 0,3                       |                  |               |
| suma             |                           |                  |               |

Zakresy wartości WSJC dla określonego poziomu jakości:

- 4,6 – 5,0 ocena bardzo dobra
- 3,6 – 4,5 ocena dobra
- 2,6 – 3,5 ocena dostateczna
- <2,5 ocena niedostateczna

#### 4.2.6. Analiza statystyczna wyników

Wyniki badań uzyskane w przeprowadzonych doświadczeniach poddano analizie statystycznej za pomocą programu Statistica 12 w oparciu o jednoczynnikową analizę wariancji (ANOVA) oraz testy post-hoc (Scheffé'go, NIR) na oszacowanie różnic między poszczególnymi zmiennymi. W przypadku nieparametrycznego rozkładu danych zastosowano test Kruskala-Wallisa. Wnioskowanie statystyczne przeprowadzono przy poziomie istotności  $\alpha = 0,05$ .

## **5. Wyniki badań**

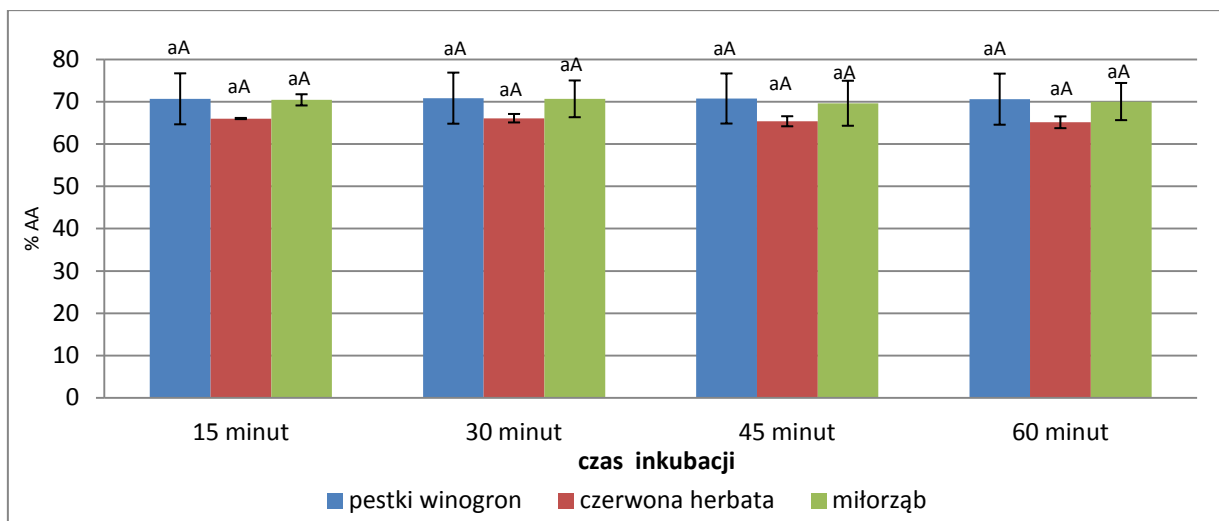
Badania właściwe poprzedzono badaniami wstępnymi, które miały na celu zoptymalizowanie czasu inkubacji i stężenia wodnego roztworu sproszkowanych ekstraktów roślinnych, niezbędnych parametrów, służących do określenia ich właściwości antyoksydacyjnych.

### **5.1. Sproszkowane ekstrakty roślinne jako antyoksydanty**

Zdecydowano się na zastosowanie ekstraktów roślinnych w sproszkowanej formie ze względu na łatwość wprowadzenia do materiału badawczego, jakim jest masło. Dostępne w handlu sproszkowane ekstrakty roślinne są standaryzowane na obecność substancji czynnych. Doświadczalnie stwierdzono, że najlepiej rozpuszczają się w wodzie, więc do badań nad aktywnością antyoksydacyjną stosowano ich roztwory wodne. Również w tej postaci w późniejszych badaniach były dodawane do masła.

#### **5.1.1. Sproszkowane ekstrakty z pestek winogron, czerwonej herbaty i miłorzębu**

W pierwszej kolejności przeprowadzono pomiar aktywności antyoksydacyjnej trzech ekstraktów: z pestek winogron, czerwonej herbaty oraz miłorzębu dwuklapowego. W tym celu sporządzono wodne roztwory poszczególnych substancji o stężeniu 0,2 mg/ml. Pomiaru aktywności antyoksydacyjnej dokonano po upływie 15, 30, 45 i 60 minut inkubacji celem określenia optymalnego czasu pomiaru. Uzyskane wyniki wykazały, że aktywność antyoksydacyjna po 30 minutach była minimalnie większa od pozostałych, dlatego też w dalszych doświadczeniach przyjęto ten czas za obowiązujący. Również w literaturze zaleca się inkubację prób przez 30 minut [Sanchez-Moreno i in. 1998]. Zaobserwowano również, że aktywności antyoksydacyjne ekstraktów z pestek winogron i z miłorzębu były bardzo do siebie zbliżone oraz większe niż ekstraktu z czerwonej herbaty (ryc. 7). Analiza statystyczna nie wykazała jednak istotnych różnic pomiędzy wynikami na poziomie istotności  $\alpha=0,05$ .

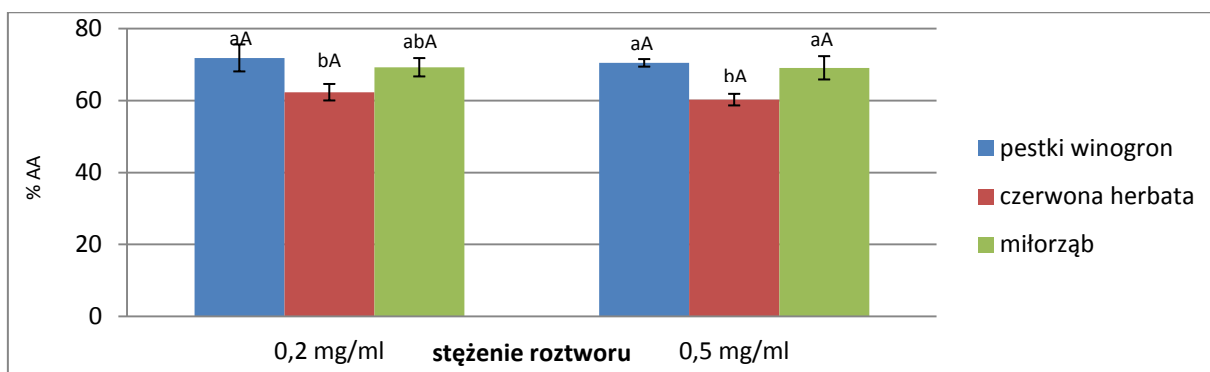


Ryc. 7. Wpływ czasu inkubacji na aktywność antyoksydacyjną wodnych roztworów sproszkowanych ekstraktów z pestek winogron, czerwonej herbaty i miłorzębu

a - wartości średnie próbek ze wszystkimi dodatkami w tym samym czasie pomiaru, oznaczone taką samą literą, nie różnią się statystycznie istotnie ( $p < 0,05$ ).

A - wartości średnie próbek z poszczególnymi dodatkami we wszystkich czasach pomiaru, oznaczone taką samą literą, nie różnią się statystycznie istotnie ( $p < 0,05$ ).

Następnie, celem określenia optymalnego stężenia, przygotowano trzy różne stężenia wodnych roztworów ekstraktów: 0,2, 0,5 i 2,5 mg/ml. Stwierdzono, że sproszkowane ekstrakty dodane w ilości 2,5 mg/ml nie uległy całkowitemu rozpuszczeniu w wodzie, co uniemożliwiało prawidłowy pomiar aktywności. Natomiast roztwory o stężeniu 0,2 oraz 0,5 mg/ml posiadały bardzo zbliżoną aktywność antyoksydacyjną, a zaobserwowane różnice nie były statystycznie istotne (ryc. 8). W związku z powyższym do dalszych badań jako dodatek do masła wybrano roztwory ekstraktów o niższym stężeniu czyli 0,2 mg/ml. Statystycznie istotne różnice stwierdzono pomiędzy aktywnością antyoksydacyjną ekstraktów z pestek winogron i miłorzębu, a znacznie mniejszą aktywnością ekstraktu z czerwonej herbaty (ryc. 8).



Ryc. 8. Wpływ na aktywność antyoksydacyjną wybranych stężeń roztworów wodnych sproszkowanych ekstraktów z pestek winogron, czerwonej herbaty i miłorzębu

a – b - wartości średnie próbek ze wszystkimi dodatkami o tym samym stężeniu, oznaczone taką samą literą, nie różnią się statystycznie istotnie ( $p < 0,05$ ).

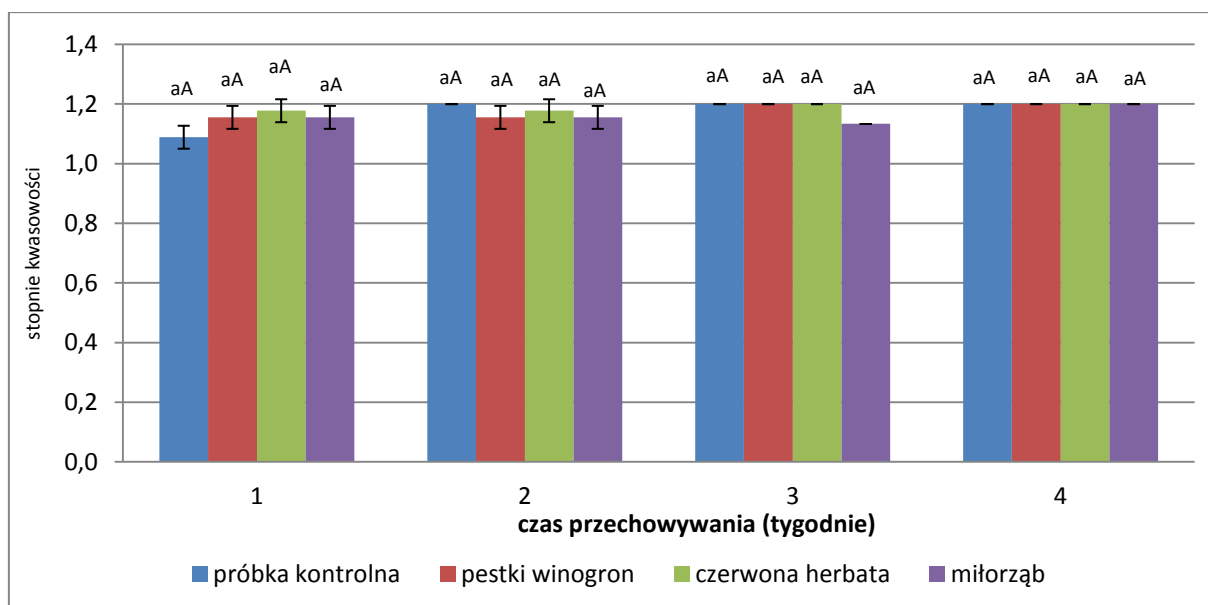
A - wartości średnie próbek z poszczególnymi dodatkami dla obu stężeń, oznaczone taką samą literą, nie różnią się statystycznie istotnie ( $p < 0,05$ ).

#### 5.1.1.1. Masło z dodatkiem wodnego roztworu ekstraktów z pestek winogron, czerwonej herbaty i miłorzębu

Kolejnym etapem prowadzonych badań było zastosowanie ocenianych ekstraktów o stężeniu 0,2 mg/ml jako dodatku do masła przechowywanego w warunkach chłodniczych przez cztery tygodnie i ocena ich oddziaływania na jego frakcję lipidową w odstępach jednotygodniowych.

##### *Kwasowość lipidów masła*

Przeprowadzone badania wykazały nieistotne zwiększenie się kwasowości tłuszczu masła w czasie czterech tygodni przechowywania we wszystkich ocenianych próbkach masła. Najniższą kwasowość lipidów, po pierwszym tygodniu badań, odnotowano w próbce kontrolnej, a najwyższą w maśle z dodatkiem czerwonej herbaty. Po czterech tygodniach taką samą kwasowością charakteryzowały się wszystkie oceniane próbki masła. (ryc. 9). Po trzecim tygodniu przechowywania, spośród ocenianych ekstraktów, w największym stopniu ograniczał procesy hydrolityczne lipidów masła ekstrakt z miłorzębu. Jednak stwierdzone różnice pomiędzy ocenianymi próbkami nie były statystycznie istotne (ryc. 9), a co za tym idzie należy przyjąć, że dodatek badanych ekstraktów do masła nie wpłynął w sposób znaczący na jego kwasowość.



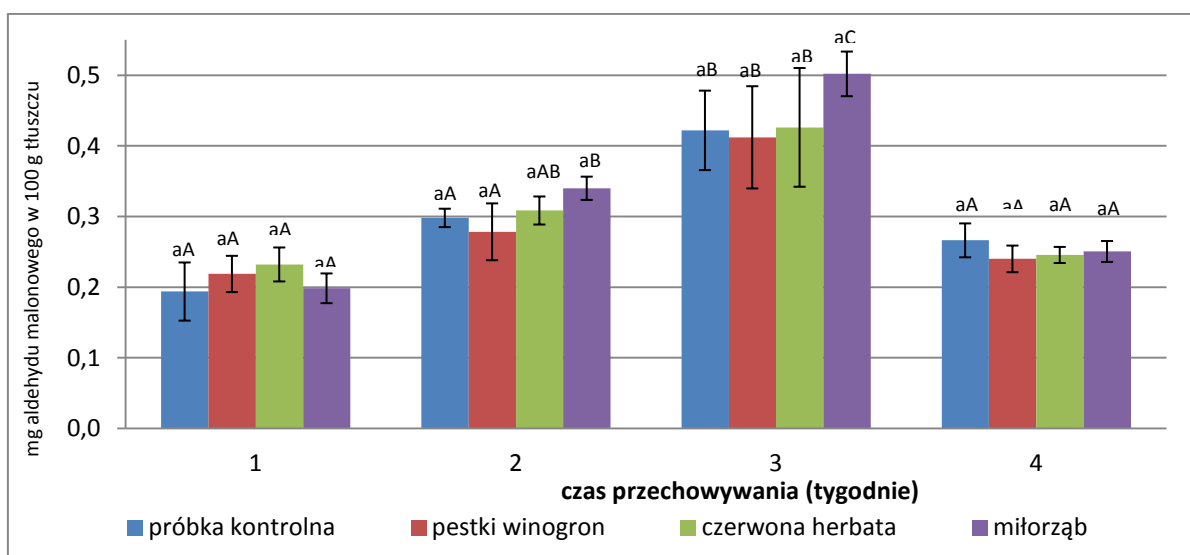
Ryc. 9. Wpływ czasu przechowywania na kwasowość lipidów masła z dodatkiem wodnych roztworów sproszkowanych ekstraktów roślinnych

a – wartości średnie próbek ze wszystkimi dodatkami w tym samym tygodniu badań, oznaczone taką samą literą, nie różnią się statystycznie istotnie ( $p < 0,05$ ).

A - wartości średnie próbek z poszczególnymi dodatkami dla wszystkich tygodni przechowywania, oznaczone taką samą literą, nie różnią się statystycznie istotnie ( $p < 0,05$ ).

### Zawartość aldehydu malonowego w lipidach masła

W wyniku przeprowadzonych badań stwierdzono we wszystkich ocenianych próbkach masła stopniowy wzrost zawartości aldehydu malonowego przez pierwsze trzy tygodnie przechowywania. Natomiast po czwartym tygodniu trwania badań zawartość aldehydu malonowego uległa obniżeniu we wszystkich próbkach badawczych, a największą ich zawartość, po tym czasie, zaobserwowano w próbce kontrolnej (masło bez dodatków). Po 2., 3. i 4. tygodniu przechowywania najmniejszą zawartość aldehydu malonowego obserwowano w maśle z dodatkiem ekstraktu z pestek winogron. Analiza statystyczna wykazała brak istotnych różnic pomiędzy próbkami w poszczególnych tygodniach trwania badań. Natomiast zawartość aldehydu malonowego we wszystkich próbkach masła, po trzech tygodniach przechowywania była istotnie wyższa od ich zawartości w pozostałych tygodniach (ryc. 10). Przeprowadzona analiza statystyczna uzyskanych wyników badań, dotyczących zawartości aldehydu malonowego w lipidach masła, pozwoliła stwierdzić, że zastosowane w tym doświadczeniu ekstrakty z pestek winogron, czerwonej herbaty i miłorzębu, nie przyspieszały, ani nie opóźniały procesu oksydacji w odniesieniu do masła bez dodatków. Natomiast w czasie trzech pierwszych tygodni przechowywania istotnie zwiększył się proces utlenienia w maśle z dodatkiem ekstraktu z miłorzębu. Istotne zmniejszenie się zawartości aldehydu malonowego po 4. tygodniu przechowywania prawdopodobnie było spowodowane jego dalszymi przemianami do związków nietworzących barwnych kompleksów z TBA.



Ryc. 10. Wpływ czasu przechowywania na zawartość aldehydu malonowego w maśle z dodatkiem wodnych roztworów sproszkowanych ekstraktów roślinnych

a – wartości średnie próbek ze wszystkimi dodatkami w tym samym tygodniu badań, oznaczone taką samą literą, nie różnią się statystycznie istotnie ( $p < 0,05$ ).

A – C - wartości średnie próbek z poszczególnymi dodatkami dla wszystkich tygodni przechowywania, oznaczone taką samą literą, nie różnią się statystycznie istotnie ( $p < 0,05$ ).

Dodatek ekstraktów nie spowodował zmian cech organoleptycznych badanego masła, pozostały takie same jak w próbce kontrolnej (tab. 3). Nie zmieniały się także z przeciągu czterech tygodni trwania badań. Wszystkie próbki otrzymały najwyższe noty. Badane próbki odznaczały się prawidłowym wyglądem, bez przebarwień, o barwie kremowej z lekko żółtym odcieniem. Konsystencja była jednolita, zwarta i smarowna. Smak czysty, bez obcych posmaków, tłuszczowy, śmietankowy. Zapach również czysty, śmietankowy, średnio intensywny.

Tabela 3. Wyniki punktowej oceny sensorycznej masła z dodatkiem ekstraktów z pestek winogron, czerwonej herbaty i milorzębu

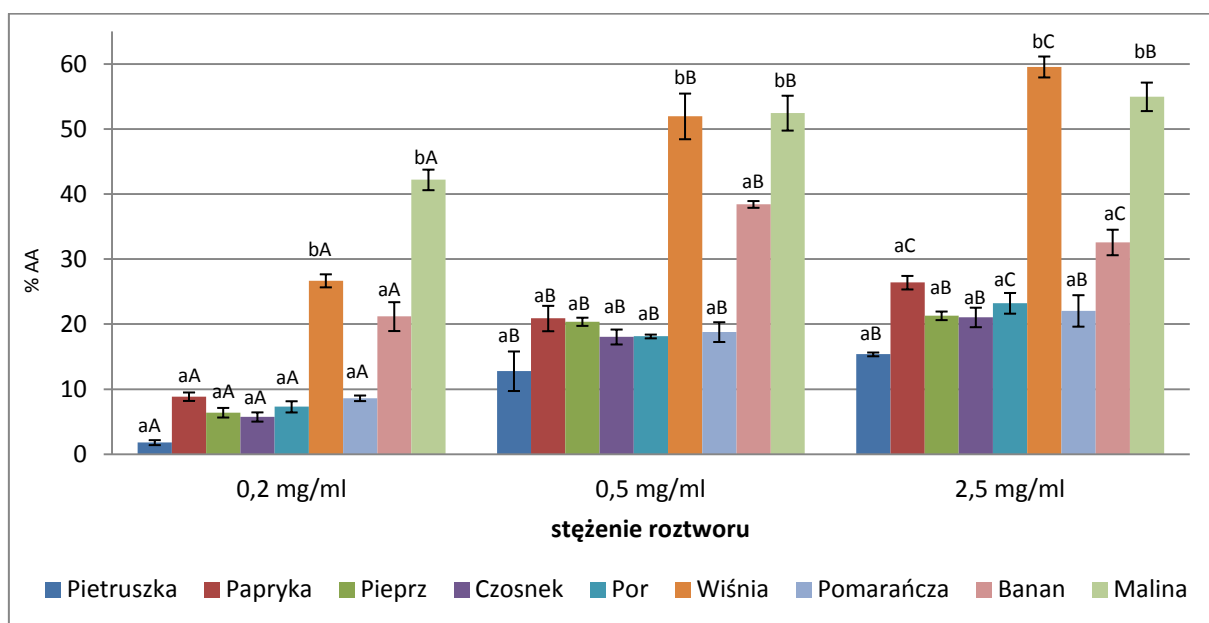
|                 |              | Masło z dodatkiem ekstraktów |                 |                  |            |
|-----------------|--------------|------------------------------|-----------------|------------------|------------|
|                 |              | Kontrolna                    | Pestki winogron | Czerwona herbata | Milorzáb   |
| Czas (tygodnie) | Wyróznik     | Liczba punktów               |                 |                  |            |
| 1               | Wygląd       | 5,0                          | 5,0             | 5,0              | 5,0        |
|                 | Barwa        | 5,0                          | 5,0             | 5,0              | 5,0        |
|                 | Konsystencja | 5,0                          | 5,0             | 5,0              | 5,0        |
|                 | Smak         | 5,0                          | 5,0             | 5,0              | 5,0        |
|                 | Zapach       | 5,0                          | 5,0             | 5,0              | 5,0        |
|                 | <b>WSJC</b>  | <b>5,0</b>                   | <b>5,0</b>      | <b>5,0</b>       | <b>5,0</b> |
| 2               | Wygląd       | 5,0                          | 5,0             | 5,0              | 5,0        |
|                 | Barwa        | 5,0                          | 5,0             | 5,0              | 5,0        |
|                 | Konsystencja | 5,0                          | 5,0             | 5,0              | 5,0        |
|                 | Smak         | 5,0                          | 5,0             | 5,0              | 5,0        |
|                 | Zapach       | 5,0                          | 5,0             | 5,0              | 5,0        |
|                 | <b>WSJC</b>  | <b>5,0</b>                   | <b>5,0</b>      | <b>5,0</b>       | <b>5,0</b> |
| 3               | Wygląd       | 5,0                          | 5,0             | 5,0              | 5,0        |
|                 | Barwa        | 5,0                          | 5,0             | 5,0              | 5,0        |
|                 | Konsystencja | 5,0                          | 5,0             | 5,0              | 5,0        |
|                 | Smak         | 5,0                          | 5,0             | 5,0              | 5,0        |
|                 | Zapach       | 5,0                          | 5,0             | 5,0              | 5,0        |
|                 | <b>WSJC</b>  | <b>5,0</b>                   | <b>5,0</b>      | <b>5,0</b>       | <b>5,0</b> |
| 4               | Wygląd       | 5,0                          | 5,0             | 5,0              | 5,0        |
|                 | Barwa        | 5,0                          | 5,0             | 5,0              | 5,0        |
|                 | Konsystencja | 5,0                          | 5,0             | 5,0              | 5,0        |
|                 | Smak         | 5,0                          | 5,0             | 5,0              | 5,0        |
|                 | Zapach       | 5,0                          | 5,0             | 5,0              | 5,0        |
|                 | <b>WSJC</b>  | <b>5,0</b>                   | <b>5,0</b>      | <b>5,0</b>       | <b>5,0</b> |

WSJC – wskaźnik sensorycznej jakości całkowitej

### 5.1.2. Sproszkowane ekstrakty z pietruszki, papryki, pieprzu czarnego, czosnku, pora, wiśni, pomarańczy, banana i maliny

W kolejnym doświadczeniu przebadano wodne roztwory sproszkowanych ekstraktów z pietruszki, papryki, pieprzu czarnego, czosnku, pora, wiśni, pomarańczy, banana i maliny uwzględniając trzy stężenia: 0,2; 0,5 oraz 2,5 mg/ml. Większość przebadanych próbek

wykazała bardzo niską aktywność przeciwutleniającą. Jedynie ekstrakt z wiśni i maliny, o stężeniu 0,5 i 2,5 mg/ml, odznaczały się aktywnością powyżej 50%, z tego powodu wybrano je do dalszych badań. Analiza statystyczna również wykazała, że tylko ekstrakty z wiśni i maliny w tych dwóch stężeniach odznaczały się istotnie wyższą aktywnością antyoksydacyjną od pozostałych próbek (ryc. 11). Porównując ze sobą aktywność antyoksydacyjną ocenianych ekstraktów w zależności od stężenia roztworu, można zauważyć, że 2,5-krotne zwiększenie stężenia z 0,2 mg/ml do 0,5 mg/ml powodowało znacznie większy wzrost aktywności przeciwutleniającej niż 5-krotny wzrost stężenia z 0,5 mg/ml do 2,5 mg/ml. Ma to swoje odzwierciedlenie w wynikach analizy statystycznej, które wskazują na istotne różnice pomiędzy wszystkimi wartościami aktywności przeciwutleniającej ekstraktów o stężeniu 0,2 mg/ml a pozostałymi. Natomiast różnice w tej aktywności pomiędzy ekstraktami o stężeniu 0,5 i 2,5 mg/ml, jedynie w 4 przypadkach były statystycznie istotne (ryc.11).



Ryc. 11. Wpływ na aktywność antyoksydacyjną wybranych stężeń wodnych roztworów ocenianych sproszkowanych ekstraktów roślinnych

a – b - wartości średnie próbek ze wszystkimi dodatkami w tym samym stężeniu, oznaczone taką samą literą, nie różnią się statystycznie istotnie ( $p < 0,05$ ).

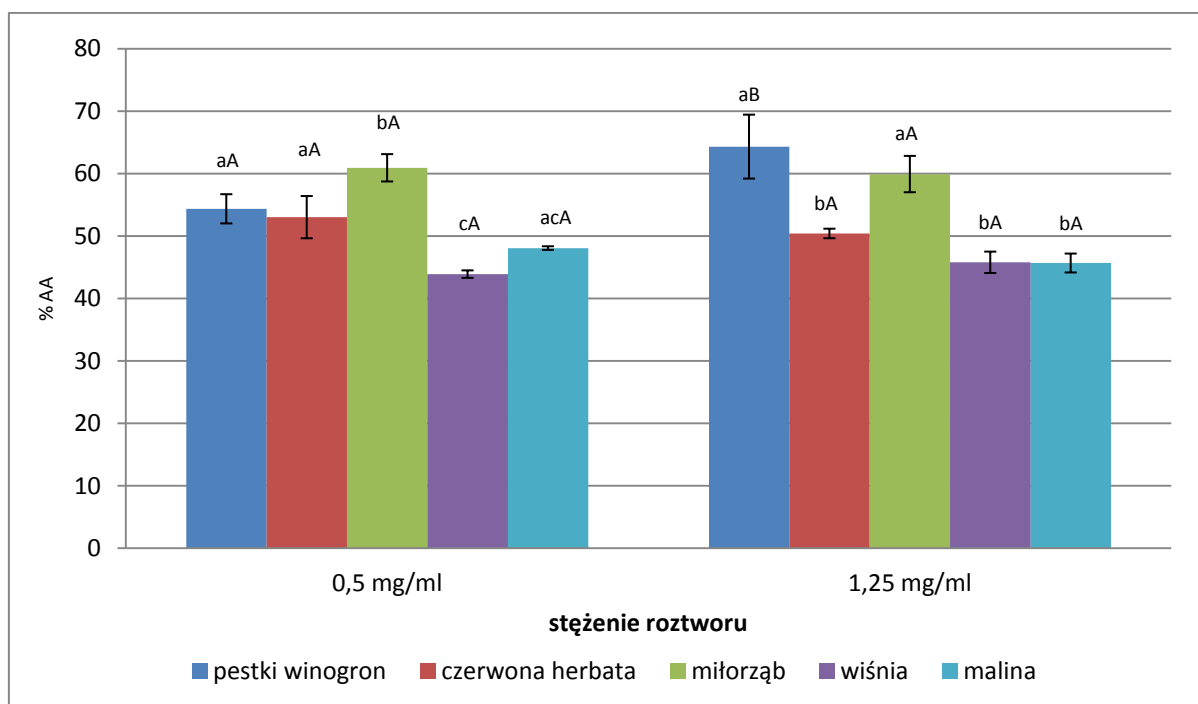
A – C - wartości średnie próbek z poszczególnymi dodatkami dla wszystkich stężeń, oznaczone taką samą literą, nie różnią się statystycznie istotnie ( $p < 0,05$ ).

### 5.1.3. Sproszkowane ekstrakty z pestek winogron, czerwonej herbaty, miłorzębu, wiśni i maliny

Porównano aktywność antyoksydacyjną wodnych roztworów sproszkowanych ekstraktów z pestek winogron, czerwonej herbaty, miłorzębu, wiśni i maliny w dwóch

stężeniach: 0,5 oraz 1,25 mg/ml (ryc. 12). Stężenia te wybrano na podstawie wyników badań wcześniejszego doświadczenia, w którym aktywność antyoksydacyjna wodnych roztworów sproszkowanych ekstraktów z pestek winogron, czerwonej herbaty i miłorzębu o stężeniu 0,2 i 0,5 mg/ml była bardzo zbliżona (ryc. 9), z kolei przy stężeniu 2,5 mg/ml nie następowało całkowite rozpuszczenie sproszkowanych ekstraktów, co uniemożliwiło określenia aktywności antyoksydacyjnej. W stężeniu 1,25 mg/ml większą aktywność wykazywały jedynie ekstrakty z pestek winogron oraz wiśni, natomiast pozostałe oceniane ekstrakty wyższe wartości przyjmowały w przypadku niższego stężenia. Dlatego też przy badaniu wpływu tych dodatków na masło zastosowano stężenie wynoszące 0,5 mg/ml.

Analiza statystyczna wykazała istotne różnice pomiędzy ocenianymi stężeniami jedynie w przypadku ekstraktu z pestek winogron (ryc. 12).



Ryc. 12. Wpływ na aktywność antyoksydacyjną wybranych stężeń wodnych roztworów ocenianych sproszkowanych ekstraktów roślinnych

a – c - wartości średnie próbek ze wszystkimi dodatkami w tym samym stężeniu, oznaczone taką samą literą, nie różnią się statystycznie istotnie ( $p < 0,05$ ).

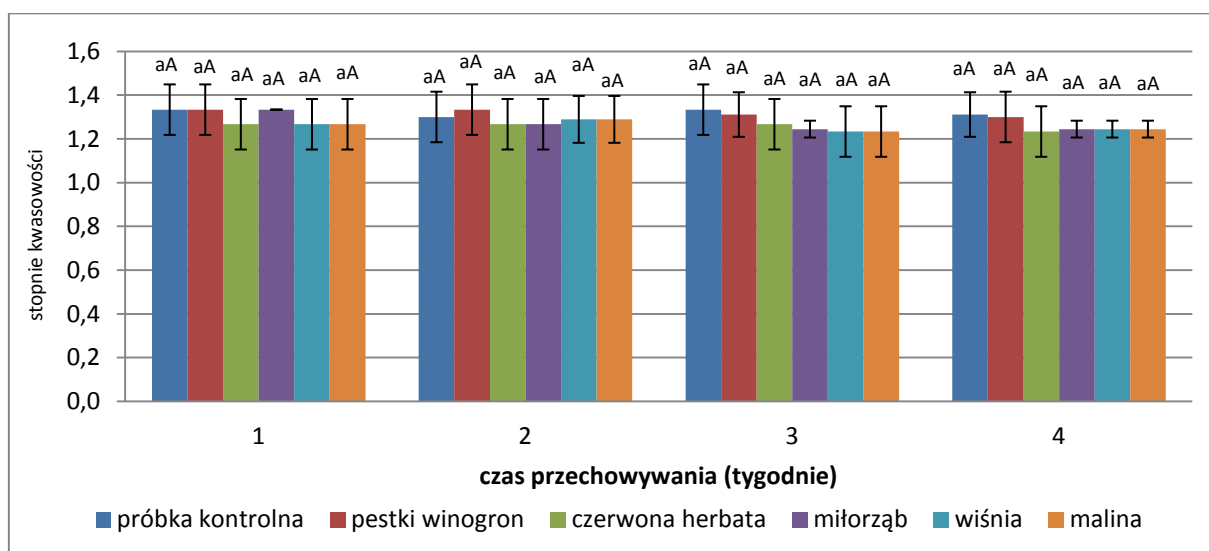
A – B - wartości średnie próbek z poszczególnymi dodatkami dla wszystkich stężeń, oznaczone taką samą literą, nie różnią się statystycznie istotnie ( $p < 0,05$ ).

### 5.1.3.1. Masło z dodatkiem wodnego roztworu sproszkowanych ekstraktów z pestek winogron, czerwonej herbaty, miłorzębu, wiśni i maliny

W kolejnym doświadczeniu oceniono wpływ na frakcję lipidową masła, wymienionych powyżej, 5 wodnych roztworów sproszkowanych ekstraktów o stężeniu 0,5 mg/ml w czasie czterech tygodni chłodniczego przechowywania.

#### *Kwasowość lipidów masła*

Zaobserwowano, że kwasowość wszystkich objętych badaniami próbek masła (ryc. 13) nie uległa znaczącej zmianie w czasie czterech tygodni przechowywania i przyjmowała wartości w zakresie od 1,30 do 1,33° kwasowości dla próbki kontrolnej i masła z dodatkiem ekstraktu z pestek winogron. Również kwasowość próbki z dodatkiem miłorzębu po pierwszym tygodniu przechowywania wyniosła 1,33° kwasowości, natomiast w kolejnych tygodniach jej kwasowość obniżyła się ostatecznie do 1,24°. Kwasowość pozostałych próbek masła również wykazywała tendencję spadkową. Przeprowadzona analiza statystyczna nie wykazała istotnych różnic zarówno pomiędzy poszczególnymi próbkami w kolejnych tygodniach trwania badań, jak i pomiędzy poszczególnymi tygodniami przechowywania dla ocenianych próbek. Z obliczeń statystycznych wynika, że zastosowane wodne roztwory sproszkowanych ekstraktów roślinnych nie miały istotnego wpływu na proces jęlczenia hydrolitycznego lipidów masła.



Ryc. 13. Wpływ czasu przechowywania na kwasowość lipidów masła z dodatkiem wodnych roztworów sproszkowanych ekstraktów roślinnych

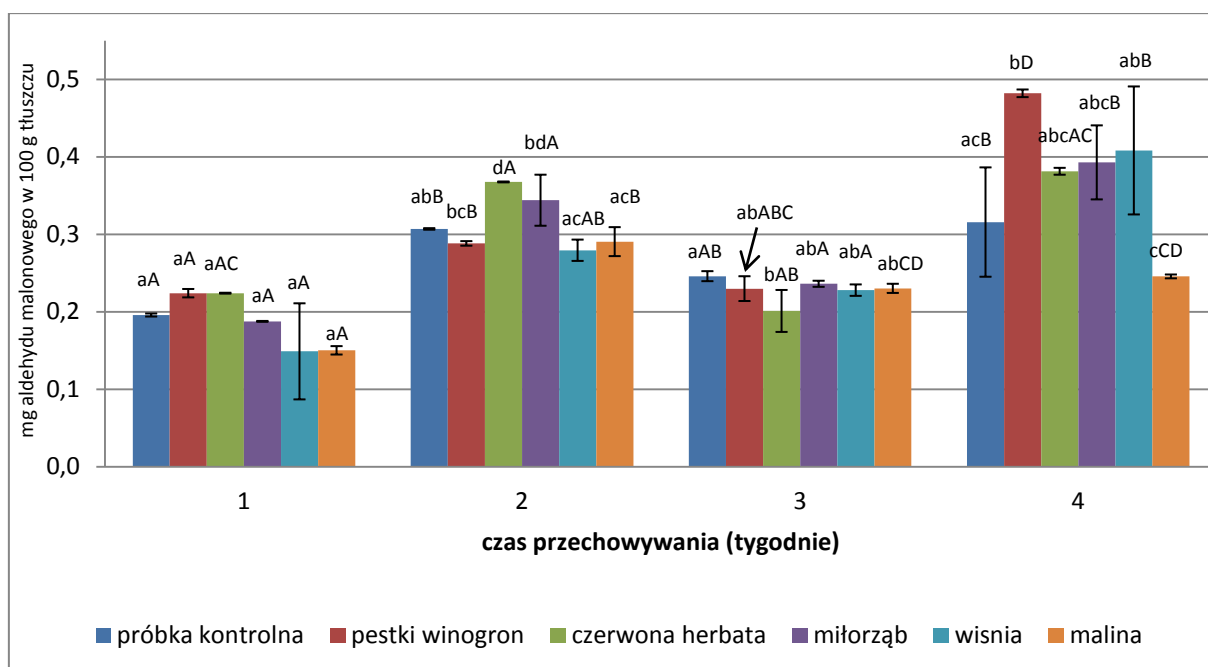
a – wartości średnie próbek ze wszystkimi dodatkami w tym samym tygodniu badań, oznaczone taką samą literą, nie różnią się statystycznie istotnie ( $p < 0,05$ ).

A - wartości średnie próbek z poszczególnymi dodatkami dla wszystkich tygodni przechowywania, oznaczone taką samą literą, nie różnią się statystycznie istotnie ( $p < 0,05$ ).

### *Zawartość aldehydu malonowego w lipidach masła*

---

W czasie czterech tygodni trwania badań zawartość aldehydu malonowego w próbkach masła była bardzo zróżnicowana. Po pierwszym tygodniu kształtowała się w przedziale 0,150–0,22 mg/100 g tłuszczu i nie odnotowano istotnych statystycznie różnic pomiędzy próbkami (ryc. 14). Po dwóch tygodniach nastąpił wzrost i zawartość aldehydu malonowego w maśle kształtowała się od 0,28 mg/100g tłuszczu w przypadku dodatku ekstraktu z wiśni do 0,37 mg/100g tłuszczu w maśle z dodatkiem ekstraktu z czerwonej herbaty, która to wartość była istotnie wyższa od pozostałych. Z kolei po trzech tygodniach przechowywania odnotowano zmniejszenie zawartości tego związku we wszystkich próbkach do wielkości 0,20 - 0,25 mg/100 g tłuszczu, na ogół bez istotnych różnic pomiędzy poszczególnymi wartościami, zaś po czterech tygodniach ponownie nastąpił zróżnicowany wzrost zawartości aldehydu malonowego. Jego zawartość w maśle z dodatkiem ekstraktu z pestek winogron podwoiła swoją wartość osiągając niemalże 0,5 mg/100g tłuszczu aldehydu malonowego, a stwierdzone różnice były istotne w stosunku do próbki kontrolnej oraz z dodatkiem ekstraktu z malin. Natomiast w maśle z dodatkiem czerwonej herbaty, miłorzębu i wiśni nastąpił wzrost zawartości aldehydu malonowego do około 0,4 mg/100 g tłuszczu. Jedynie w maśle z dodatkiem ekstraktu z maliny odnotowano niższą wartość tego związku od próbki kontrolnej wynoszącą 0,25 mg/100 g tłuszczu, jednak różnica ta nie była istotna statystycznie. Wahania zawartości aldehydu malonowego we wszystkich ocenianych próbkach badawczych w tym doświadczeniu, mogły być spowodowane z jednej strony powstawaniem tego związku w wyniku procesu utleniania, a z drugiej dalszymi przemianami aldehydu malonowego do związków nie reagujących z kwasem tiobarbiturowym.



Ryc.14. Wpływ czasu przechowywania na zawartość aldehydu malonowego w maśle z dodatkiem wodnych roztworów sproszkowanych ekstraktów roślinnych

a – d - wartości średnie próbek ze wszystkimi dodatkami w tym samym tygodniu badań, oznaczone taką samą literą, nie różnią się statystycznie istotnie ( $p < 0,05$ ).

A – D - wartości średnie próbek z poszczególnymi dodatkami dla wszystkich tygodni przechowywania, oznaczone taką samą literą, nie różnią się statystycznie istotnie ( $p < 0,05$ ).

### Ocena organoleptyczna

Wyróżniki organoleptyczne takie jak wygląd, barwa i konsystencja, wszystkich ocenianych próbek badawczych, przez cały okres trwania doświadczenia, były wysoko ocenione, za każdym razem uzyskując maksymalną liczbę punktów (5,0). Nie odnotowano żadnych przebarwień, wygląd pozostawał prawidłowy (tab. 4). Dodatek ekstraktów nie wpłynął na zmianę barwy, we wszystkich wariantach pozostawała ona kremowa z lekko żółtym odcieniem. Konsystencja wszystkich ocenianych próbek masła, przez cały okres trwania badań, pozostawała jednolita, zwarta i smarowna.

Natomiast w przypadku oceny smaku i zapachu, w pierwszych dwóch tygodniach przechowywania wyróżniki te uzyskały najwyższe noty (5,0). Próbkę odznaczały się czystym, śmietankowym, tłuszczowym, średnio intensywnym smakiem i zapachem. Zmiany, tych wyróżników pojawiły się po trzecim i czwartym tygodniu przechowywania. Po trzech tygodniach w smaku próbek masła z dodatkiem miłorzębu, wiśni i maliny wyczuwalna była lekka kwasowość, pogłębiająca się po czwartym tygodniu badań w przypadku masła z dodatkiem wiśni. Zapach po trzech tygodniach badań stał się lekko kwaskowy w przypadku próbek kontrolnej, z czerwoną herbata i miłorzębem, zaś w przypadku pozostałych próbek pogorszenie to nastąpiło po czwartym tygodniu badań. Należy jednak podkreślić, że zgodnie

z przyjętą punktacją, jakość masła po 3. i 4. tygodniu przechowywania była bardzo dobra lub dobra, w zależności od zastosowanego dodatku.

Tabela 4. Wyniki punktowej oceny sensorycznej masła z dodatkiem ekstraktów z pestek winogron, czerwonej herbaty, miłorzębu, wiśni i maliny

| Masło z dodatkiem ekstraktów |              |                |                 |                  |            |            |            |
|------------------------------|--------------|----------------|-----------------|------------------|------------|------------|------------|
|                              |              | Kontrolna      | Pestki winogron | Czerwona herbata | Milorząg   | Wiśnia     | Malina     |
| Czas (tygodnie)              | Wyróżnik     | Liczba punktów |                 |                  |            |            |            |
| 1                            | Wygląd       | 5,0            | 5,0             | 5,0              | 5,0        | 5,0        | 5,0        |
|                              | Barwa        | 5,0            | 5,0             | 5,0              | 5,0        | 5,0        | 5,0        |
|                              | Konsystencja | 5,0            | 5,0             | 5,0              | 5,0        | 5,0        | 5,0        |
|                              | Smak         | 5,0            | 5,0             | 5,0              | 5,0        | 5,0        | 5,0        |
|                              | Zapach       | 5,0            | 5,0             | 5,0              | 5,0        | 5,0        | 5,0        |
|                              | <b>WSJC</b>  | <b>5,0</b>     | <b>5,0</b>      | <b>5,0</b>       | <b>5,0</b> | <b>5,0</b> | <b>5,0</b> |
| 2                            | Wygląd       | 5,0            | 5,0             | 5,0              | 5,0        | 5,0        | 5,0        |
|                              | Barwa        | 5,0            | 5,0             | 5,0              | 5,0        | 5,0        | 5,0        |
|                              | Konsystencja | 5,0            | 5,0             | 5,0              | 5,0        | 5,0        | 5,0        |
|                              | Smak         | 5,0            | 5,0             | 5,0              | 5,0        | 5,0        | 5,0        |
|                              | Zapach       | 5,0            | 5,0             | 5,0              | 5,0        | 5,0        | 5,0        |
|                              | <b>WSJC</b>  | <b>5,0</b>     | <b>5,0</b>      | <b>5,0</b>       | <b>5,0</b> | <b>5,0</b> | <b>5,0</b> |
| 3                            | Wygląd       | 5,0            | 5,0             | 5,0              | 5,0        | 5,0        | 5,0        |
|                              | Barwa        | 5,0            | 5,0             | 5,0              | 5,0        | 5,0        | 5,0        |
|                              | Konsystencja | 5,0            | 5,0             | 5,0              | 5,0        | 5,0        | 5,0        |
|                              | Smak         | 5,0            | 5,0             | 5,0              | 4,0        | 4,0        | 4,0        |
|                              | Zapach       | 4,0            | 5,0             | 4,0              | 4,0        | 4,0        | 5,0        |
|                              | <b>WSJC</b>  | <b>4,7</b>     | <b>5,0</b>      | <b>4,7</b>       | <b>4,3</b> | <b>4,3</b> | <b>4,6</b> |
| 4                            | Wygląd       | 5,0            | 5,0             | 5,0              | 5,0        | 5,0        | 5,0        |
|                              | Barwa        | 5,0            | 5,0             | 5,0              | 5,0        | 5,0        | 5,0        |
|                              | Konsystencja | 5,0            | 5,0             | 5,0              | 5,0        | 5,0        | 5,0        |
|                              | Smak         | 5,0            | 5,0             | 5,0              | 4,0        | 4,0        | 3,0        |
|                              | Zapach       | 4,0            | 4,0             | 4,0              | 4,0        | 4,0        | 4,0        |
|                              | <b>WSJC</b>  | <b>4,7</b>     | <b>4,7</b>      | <b>4,7</b>       | <b>4,3</b> | <b>4,3</b> | <b>3,9</b> |

WSJC – wskaźnik sensorycznej jakości całkowitej

Podsumowując etap badań dotyczący zastosowania sproszkowanych ekstraktów roślinnych jako antyoksydantów, należy podkreślić, że wysoka aktywność antyoksydacyjna stwierdzona w testach z wykorzystaniem wolnego rodnika DPPH, nie przekładała się znacząco na zadowalające efekty przeciwutleniające po dodaniu badanych ekstraktów do masła. Jak zostało to już wcześniej zaznaczone, niektóre ekstrakty po dodaniu do masła wykazywały pewne właściwości antyoksydacyjne, lecz były one zbyt małe by produkcja masła z ich udziałem była opłacalna. Zaobserwowano również, że aktywność antyoksydacyjna stosowanych w badaniach sproszkowanych ekstraktów w czasie przechowywania ulegała obniżeniu, o czym świadczą różnice w aktywności antyoksydacyjnej ocenianej bezpośrednio po otwarciu opakowania ze sproszkowanym ekstraktem, w porównaniu z aktywnością tych samych ekstraktów wykorzystywanych w późniejszych badaniach. Można też przypuszczać, że spowodowane to było dostęp powietrza, a szczególnie tlenu, który mógł mieć wpływ na obniżenie zdolności przeciwutleniających badanych

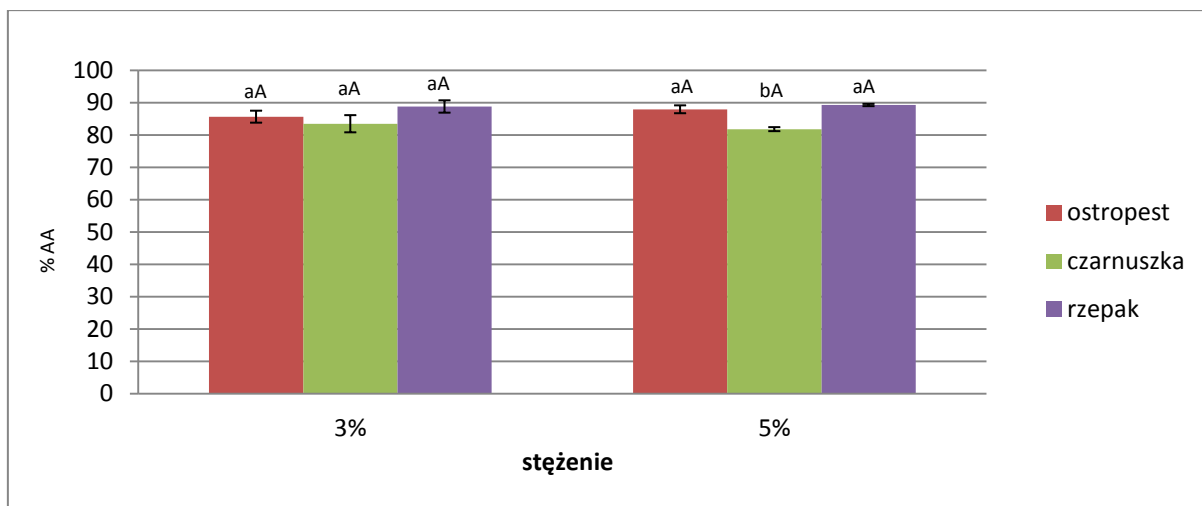
sproszkowanych ekstraktów, a także ewentualne pogorszenie ich jakości mikrobiologicznej. Należy również zaznaczyć, że objęte badaniami sproszkowane ekstrakty roślinne nie miały wpływu na jęłczenie hydrolityczne lipidów masła.

## **5.2. Wybrane oleje roślinne jako antyoksydanty**

Tłoczone na zimno oleje roślinne dzięki zawartości związków fenolowych odznaczają się udowodnionymi właściwościami antyoksydacyjnymi [Visioli i in. 1998; Espin i in. 2000; Siger i in. 2005]. Właściwości te przebadano w stosunku do rodników 1,1-difenylo-2-pikrylohydrazylowych (DPPH) i oznaczono zdolność wybranych olejów do zmiatania wolnych rodników DPPH, przez związki w nich zawarte. Następnie przeprowadzono badania nad wpływem dodatku tych olejów do masła na proces utlenienia się tłuszczu mlecznego i jego kwasowość.

### **5.2.1. Oleje z ostropestu plamistego, czarnuszki i rzepaku**

Określono aktywność antyoksydacyjną olejów z ostropestu, czarnuszki i rzepaku rozpuszczonych w roztworze metanolowo-chloroformowym (w proporcji 1:2). Zawartość olejów w roztworze wynosiła 3 i 5%. Zaobserwowano, że w obu przypadkach zdolność zmiatania wolnych rodników była bardzo wysoka zbliżona nawet do 90% i znacznie wyższa niż uzyskana w przypadku sproszkowanych ekstraktów roślinnych. Nie stwierdzono istotnych różnic w aktywności przeciwutleniającej pomiędzy dwoma stężeniami ocenianych olejów. Analiza statystyczna wykazała jedynie istotne różnice pomiędzy olejem z czarnuszki, a pozostałymi olejami w przypadku stężenia 5% (ryc. 15). W związku z powyższym w dalszych badaniach oceniono wpływ zarówno 3 jak i 5% dodatku tych olejów na frakcję lipidową masła w czasie przechowywania.



Ryc. 15. Wpływ stężenia na aktywność antyoksydacyjną oleju z ostropestu, czarnuszki i rzepaku  
a – b - wartości średnie próbek ze wszystkimi dodatkami o tym samym stężeniu, oznaczone taką samą literą, nie różnią się statystycznie istotnie ( $p < 0,05$ ).  
A - wartości średnie próbek z poszczególnymi dodatkami dla obu stężeń, oznaczone taką samą literą, nie różnią się statystycznie istotnie ( $p < 0,05$ ).

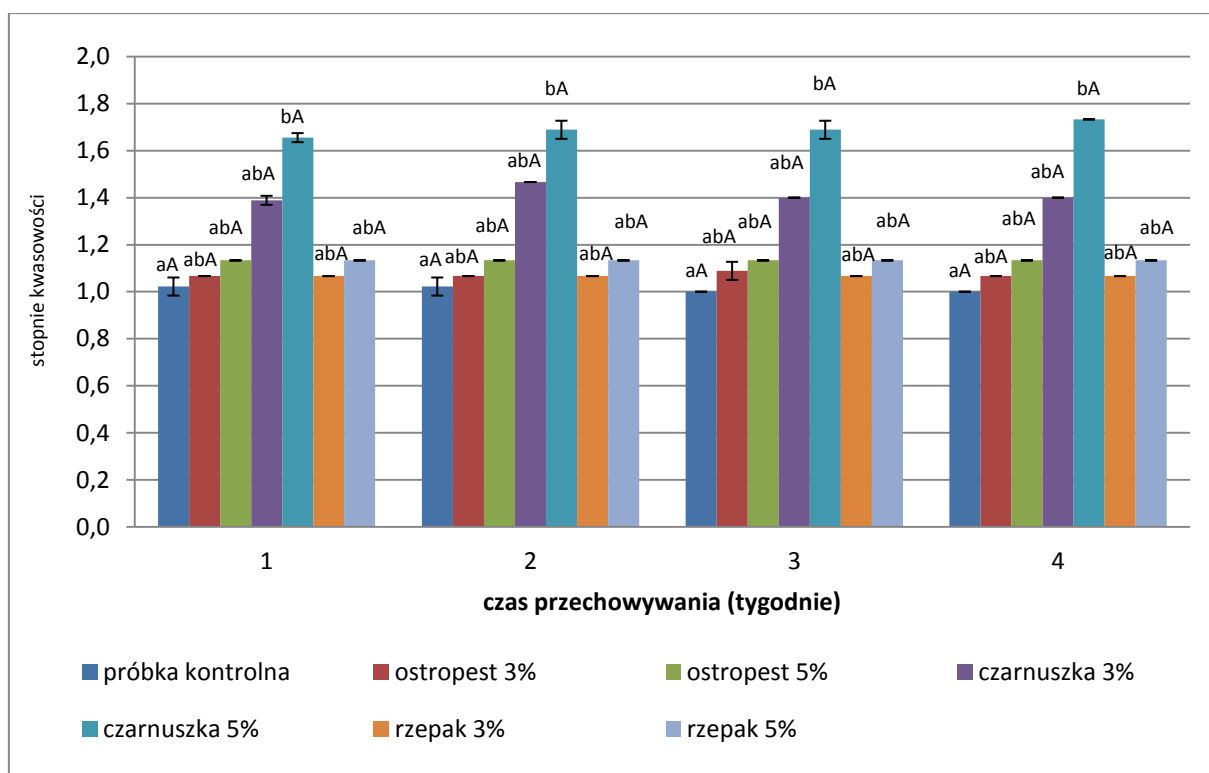
#### 5.2.1.1. Masło z dodatkiem oleju z ostropestu plamistego, czarnuszki i rzepaku

W kolejnym doświadczeniu oceniono wpływ dodatku objętych badaniami olejów roślinnych na lipidy masła. Zastosowano dodatek 3 i 5% oleju każdego rodzaju w stosunku do masy badanego masła.

##### *Kwasowość lipidów masła*

Kwasowość tłuszczu masła bez dodatków oraz z dodatkiem olejów roślinnych z ostropestu plamistego czarnuszki i rzepaku nie uległa istotnym zmianom w trakcie czterech tygodni chłodniczego przechowywania (ryc. 16). Najniższą kwasowością charakteryzowała się próbka kontrolna, nieco wyższe wartości przyjmowały warianty z dodatkiem olejów z ostropestu i rzepaku. Zaobserwowano też, w obu tych przypadkach, że 5% dodatek olejów powodował większy wzrost kwasowości masła niż 3%. Stwierdzono również, że kwasowość lipidów masła z dodatkiem 5% oleju z ostropestu plamistego i rzepaku była taka sama przez cały okres trwania badań, a w przypadku 3% dodatku tych olejów bardzo zbliżona. Natomiast w przypadku zastosowania oleju z czarnuszki w obu zastosowanych stężeniach zaobserwowano znacznie wyższą kwasowość lipidów masła niż w przypadku oleju z ostropestu plamistego i rzepaku. Podobnie jak w pozostałych przypadkach, większy dodatek tego oleju spowodował zwiększenie kwasowości próbek masła. Istotne statystycznie różnice odnotowano jedynie w przypadku próbki kontrolnej i próbki z 5% dodatkiem oleju z czarnuszki, której kwasowość lipidów była istotnie wyższa.

Wprawdzie nie oceniano kwasowości zastosowanych w doświadczeniu olejów, to jednak stabilna kwasowość lipidów masła z ich dodatkiem w czasie przechowywania, pozwala sądzić, że obserwowane różnice w kwasowości masła wynikają z właściwości poszczególnych olejów, a nie są spowodowane jęłczeniem hydrolitycznym zachodzącym w maśle. Jak wynika z literatury [Ustun i in. 1990], olej z czarnuszki charakteryzuje się wysoką liczbą kwasową w porównaniu z innymi olejami.



Ryc. 16. Wpływ czasu przechowywania na kwasowość lipidów masła z dodatkiem wybranych olejów roślinnych a – b - wartości średnie próbek ze wszystkimi dodatkami w tym samym tygodniu badań, oznaczone taką samą literą, nie różnią się statystycznie istotnie ( $p < 0,05$ ).

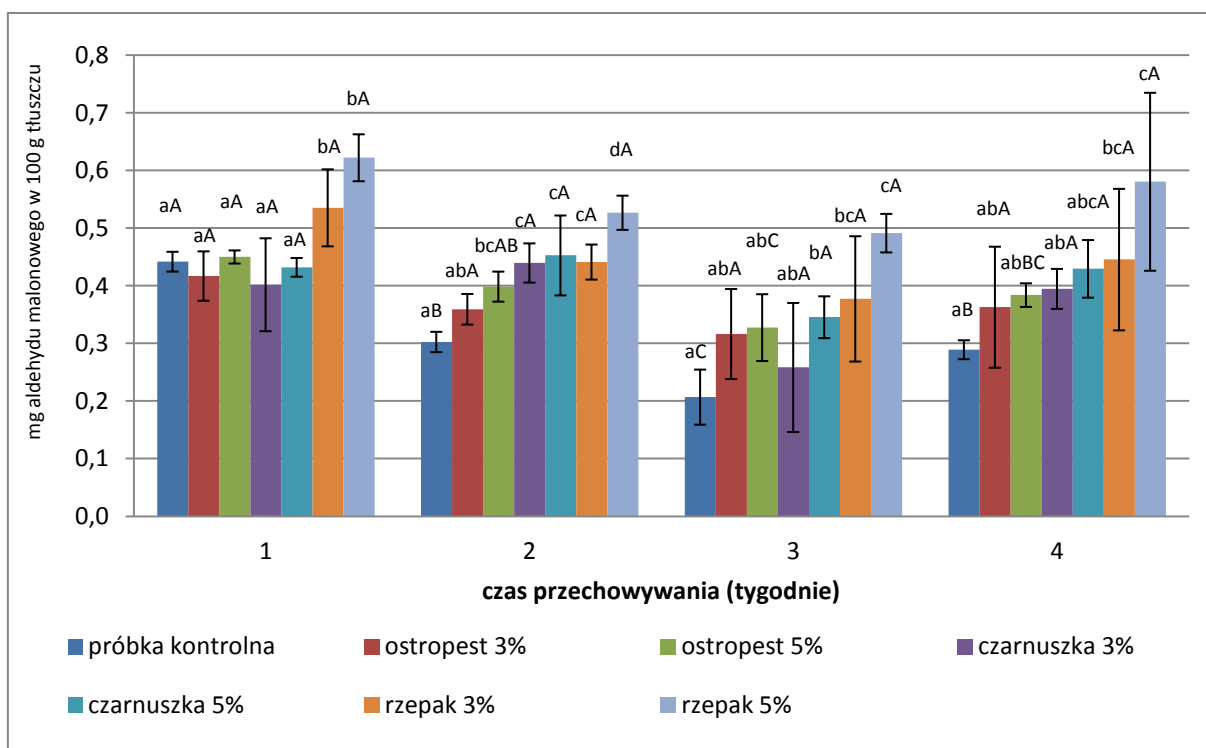
A - wartości średnie próbek z poszczególnymi dodatkami dla wszystkich tygodni przechowywania, oznaczone taką samą literą, nie różnią się statystycznie istotnie ( $p < 0,05$ ).

### ***Zawartość aldehydu malonowego w lipidach masła***

Przeprowadzone badania wykazały, że po pierwszym tygodniu badań próbki masła z 3% dodatkiem oleju z ostropestu plamistego oraz 3 i 5% dodatkiem oleju z czarnuszki wykazały nieznacznie niższą zawartość aldehydu malonowego w porównaniu z próbką kontrolną (ryc. 17). Analiza statystyczna nie wykazała jednak istotnych różnic w tych przypadkach. Natomiast próbki z dodatkiem 3 i 5% oleju rzepakowego wykazały, istotnie większą zawartość aldehydu malonowego w stosunku do pozostałych próbek. W dalszych dwóch tygodniach przechowywania zawartość aldehydu malonowego uległa obniżeniu we wszystkich objętych badaniami próbkach masła, oprócz masła z dodatkiem oleju z czarnuszki

po drugim tygodniu przechowywania. Jednak najniższą zawartość tego związku stwierdzono w próbce kontrolnej. Po czwartym tygodniu badań zawartość aldehydu malonowego we wszystkich próbkach ponownie wzrosła w porównaniu do trzeciego tygodnia.

Różnice w zawartości aldehydu malonowego w poszczególnych próbkach podczas czterech tygodni przechowywania, były statystycznie istotne jedynie w przypadku próbki kontrolnej oraz masła z 5% dodatkiem oleju z ostropestu (ryc. 12). Natomiast próbki masła z dodatkiem oleju rzepakowego przez cały czas trwania doświadczenia wykazywały zdecydowanie wyższą zawartość aldehydu malonowego od pozostałych próbek, a w przypadku 5% jego dodatku stwierdzone różnice były statystycznie istotne. Nie znając składu chemicznego ocenianych olejów, trudno jednoznacznie określić z czego wynika większa podatność na oksydację masła z olejem rzepakowym zawierającym znacznie więcej kwasów jednonienasyconych, niż z dodatkiem oleju z czarnuszki lub ostropestu płamistego bogatych w kwasy wielonienasycone. Badaniami objęto oleje tłoczone na zimno, które zawierają oprócz frakcji lipidowej również składniki nietłuszczowe o właściwościach zarówno antyoksydacyjnych jak i prooksydacyjnych, co mogło mieć wpływ na proces oksydacji [Krygier i in. 1998; Obiedzińska i Waszkiewicz-Robak 2012].



Ryc. 17. Wpływ czasu przechowywania na zawartość aldehydu malonowego w maśle z dodatkiem wybranych olejów roślinnych

a – d - wartości średnie próbek ze wszystkimi dodatkami w tym samym tygodniu badań, oznaczone taką samą literą, nie różnią się statystycznie istotnie ( $p < 0,05$ ).

A - wartości średnie próbek z poszczególnymi dodatkami dla wszystkich tygodni przechowywania, oznaczone taką samą literą, nie różnią się statystycznie istotnie ( $p < 0,05$ ).

Dodatek olejów nie spowodował zmiany wyglądu, barwy oraz konsystencji próbek masła. Jedynie w przypadku dodatku oleju rzepakowego zauważono nieco intensywniejszą żółtawą barwę masła (tab. 5). Natomiast zróżnicowane zmiany zaobserwowano w jego smaku i zapachu. Smak próbki kontrolnej (masło bez dodatków) był czysty, bez obcych posmaków, śmietankowy i tłuszczowy. W maśle z 3 i 5% dodatkiem oleju z ostropestu, po trzecim tygodniu był wyczuwalny nieznaczny obcy posmak, pochodzący od użytego dodatku. Zastosowanie oleju z czarnuszki dało wyraźny posmak zastosowanego dodatku przy 3% i bardzo wyraźny posmak przy 5% jego dodatku. Dodatek oleju rzepakowego w ilości 3% po drugim tygodniu powodował lekko kwaskowy posmak masła z jego dodatkiem, zaś w ilości 5% posmak ten był wyczuwalny już po pierwszym tygodniu przechowywania.

Zapach w przypadku próbki kontrolnej nie ulegał zmianom w czasie przechowywania, był czysty, śmietankowy i tłuszczowy. Przy dodatku oleju z ostropestu po trzecim tygodniu słabo wyczuwalny był obcy zapach. Zapach próbek z dodatkiem oleju z czarnuszki był we wszystkich próbach typowy dla tego dodatku. W przypadku oleju rzepakowego w stężeniu 3% przez trzy tygodnie badań nie wykryto obcego zapachu, a w stężeniu 5% był on wyczuwalny przez cały okres trwania badań.

Tabela 5. Wyniki punktowej oceny sensorycznej masła z dodatkiem olejów z ostropestu, czarnuszki i rzepaku

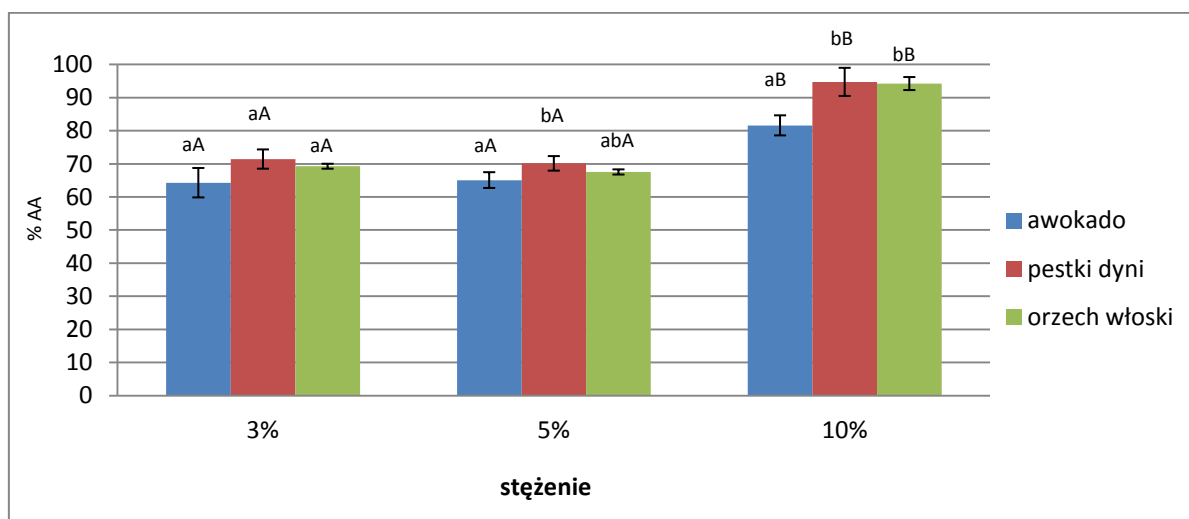
| Masło z dodatkiem olejów |              |                |            |            |            |            |            |            |
|--------------------------|--------------|----------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|
|                          |              | Kontrolna      | Ostropest  |            | Czarnuszka |            | Rzepak     |            |
|                          |              |                | 3%         | 5%         | 3%         | 5%         | 3%         | 5%         |
| Czas (tygodnie)          | Wyróżnik     | Liczba punktów |            |            |            |            |            |            |
| 1                        | Wygląd       | 5,0            | 5,0        | 5,0        | 5,0        | 5,0        | 5,0        | 5,0        |
|                          | Barwa        | 5,0            | 5,0        | 5,0        | 5,0        | 5,0        | 5,0        | 5,0        |
|                          | Konsystencja | 5,0            | 5,0        | 5,0        | 5,0        | 5,0        | 5,0        | 5,0        |
|                          | Smak         | 5,0            | 5,0        | 5,0        | 3,0        | 2,0        | 5,0        | 4,0        |
|                          | Zapach       | 5,0            | 5,0        | 5,0        | 5,0        | 5,0        | 5,0        | 4,0        |
|                          | <b>WSJC</b>  | <b>5,0</b>     | <b>5,0</b> | <b>5,0</b> | <b>4,2</b> | <b>3,8</b> | <b>5,0</b> | <b>4,3</b> |
| 2                        | Wygląd       | 5,0            | 5,0        | 5,0        | 5,0        | 5,0        | 5,0        | 5,0        |
|                          | Barwa        | 5,0            | 5,0        | 5,0        | 5,0        | 5,0        | 5,0        | 5,0        |
|                          | Konsystencja | 5,0            | 5,0        | 5,0        | 5,0        | 5,0        | 5,0        | 5,0        |
|                          | Smak         | 5,0            | 5,0        | 5,0        | 3,0        | 2,0        | 4,0        | 4,0        |
|                          | Zapach       | 5,0            | 5,0        | 5,0        | 3,0        | 3,0        | 5,0        | 4,0        |
|                          | <b>WSJC</b>  | <b>5,0</b>     | <b>5,0</b> | <b>5,0</b> | <b>3,6</b> | <b>3,2</b> | <b>4,6</b> | <b>4,3</b> |
| 3                        | Wygląd       | 5,0            | 5,0        | 5,0        | 5,0        | 5,0        | 5,0        | 5,0        |
|                          | Barwa        | 5,0            | 5,0        | 5,0        | 5,0        | 5,0        | 5,0        | 5,0        |
|                          | Konsystencja | 5,0            | 5,0        | 5,0        | 5,0        | 5,0        | 5,0        | 5,0        |
|                          | Smak         | 5,0            | 5,0        | 4,0        | 3,0        | 2,0        | 4,0        | 3,0        |
|                          | Zapach       | 5,0            | 5,0        | 4,0        | 3,0        | 3,0        | 5,0        | 4,0        |
|                          | <b>WSJC</b>  | <b>5,0</b>     | <b>5,0</b> | <b>4,3</b> | <b>3,6</b> | <b>3,2</b> | <b>4,6</b> | <b>3,9</b> |

|   |              |            |            |            |            |            |            |            |
|---|--------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|
| 4 | Wygląd       | 5,0        | 5,0        | 5,0        | 5,0        | 5,0        | 5,0        | 5,0        |
|   | Barwa        | 5,0        | 5,0        | 5,0        | 5,0        | 5,0        | 5,0        | 5,0        |
|   | Konsystencja | 5,0        | 5,0        | 5,0        | 5,0        | 5,0        | 5,0        | 5,0        |
|   | Smak         | 5,0        | 5,0        | 4,0        | 3,0        | 2,0        | 4,0        | 3,0        |
|   | Zapach       | 5,0        | 5,0        | 4,0        | 3,0        | 3,0        | 4,0        | 4,0        |
|   | <b>WSJC</b>  | <b>5,0</b> | <b>5,0</b> | <b>4,3</b> | <b>3,6</b> | <b>3,2</b> | <b>4,3</b> | <b>3,9</b> |

WSJC – wskaźnik sensorycznej jakości całkowitej

### 5.2.2. Oleje z awokado, pestek dyni i orzecha włoskiego

W następnym doświadczeniu określono aktywność przeciwutleniającą olejów o znacznie wyższej smakowitości, co miało wpływ na cechy organoleptyczne masła po ich dodaniu. Wybrano olej z awokado, pestek dyni oraz z orzecha włoskiego. Oceniono aktywność antyoksydacyjną tych olejów dla dwóch stężeń zastosowanych w poprzednim doświadczeniu (3 i 5%) oraz znacznie większego, bo 10% stężenia, przypuszczając, że może okazać się efektywniejsze. Zaobserwowano, że analogiczne stężenia olejów w metanolowo-chloroformowym roztworze jak w poprzednim doświadczeniu odznaczały się znacznie mniejszą aktywnością przeciwutleniającą, natomiast 10% stężenie ocenianych olejów odznaczało się istotnie wyższą aktywnością antyoksydacyjną w porównaniu z 3 i 5% ich stężeniem (ryc. 18). W związku z powyższym jako dodatek do masła wybrano właśnie 10% dodatek olejów.



Ryc. 18. Wpływ stężenia na aktywność antyoksydacyjną oleju z awokado, pestek dyni i orzecha włoskiego  
a – b - wartości średnie próbek ze wszystkimi dodatkami o tym samym stężeniu, oznaczone taką samą literą, nie różnią się statystycznie istotnie ( $p < 0,05$ ).

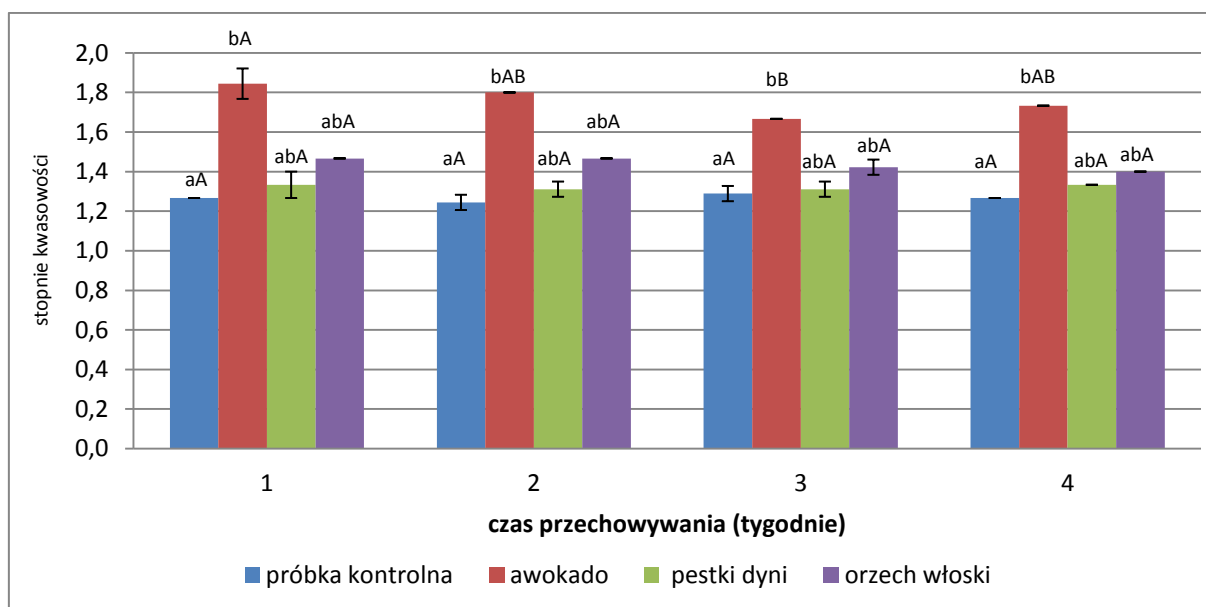
A – B - wartości średnie próbek z poszczególnymi dodatkami dla wszystkich stężeń, oznaczone taką samą literą, nie różnią się statystycznie istotnie ( $p < 0,05$ ).

### 5.2.2.1. Masło z dodatkiem oleju z awokado, pestek dyni i orzecha włoskiego

W kolejnym doświadczeniu przebadano wpływ dodatku wybranych olejów roślinnych na lipidy masła. Zastosowano dodatek 10% olejów w stosunku do masy masła, ze względu na jego wysoką aktywność antyoksydacyjną stwierdzoną w poprzednim doświadczeniu.

#### *Kwasowość lipidów masła*

Również w przypadku tego zestawu olejów kwasowość lipidów masła zmieniała się nieznacznie na przestrzeni czterech tygodni prowadzenia badań. Jedynie w przypadku dodatku oleju z awokado kwasowość była istotnie wyższa po pierwszym tygodniu niż po trzecim tygodniu trwania badań (ryc. 19). Najniższą kwasowością charakteryzowała się próba kontrolna, niewiele wyższą masło z dodatkiem oleju z pestek dyni, a następnie orzecha włoskiego. Próbką z dodatkiem oleju z orzecha włoskiego w pierwszych dwóch tygodniach przyjmowała wartości ok. 1,5 a następnie zmniejszyła się do 1,4<sup>o</sup> kwasowości. Natomiast najwyższą kwasowością charakteryzowały się lipidy próbki masła z olejem z awokado – początkowo 1,84 a po dwóch ostatnich tygodniach odpowiednio 1,67 i 1,73<sup>o</sup> kwasowości. Jednak statystycznie istotna była różnica jedynie pomiędzy próbką kontrolną i z dodatkiem oleju z awokado (ryc. 19).



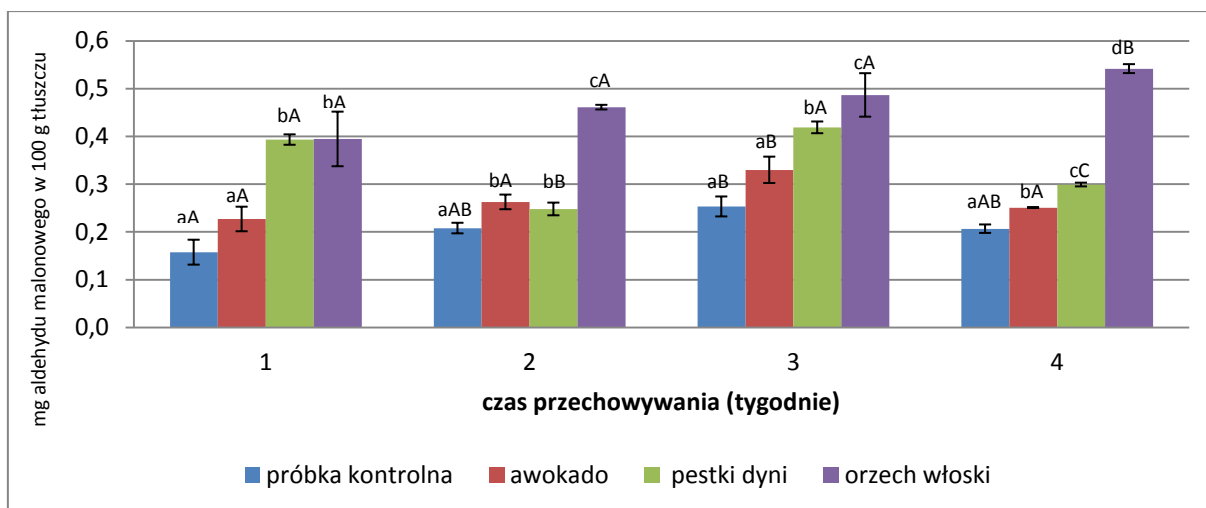
Ryc. 19. Wpływ czasu przechowywania na kwasowość lipidów masła z dodatkiem olejów z awokado, pestek dyni i orzecha włoskiego

a – b - wartości średnie próbek ze wszystkimi dodatkami w tym samym tygodniu badań, oznaczone taką samą literą, nie różnią się statystycznie istotnie ( $p < 0,05$ ).

A - wartości średnie próbek z poszczególnymi dodatkami dla wszystkich tygodni przechowywania, oznaczone taką samą literą, nie różnią się statystycznie istotnie ( $p < 0,05$ ).

### Zawartość aldehydu malonowego w lipidach masła

Wyniki badań dotyczące wpływu zastosowanych olejów na zawartość aldehydu malonowego w próbkach masła również nie przyniosły oczekiwanych rezultatów – próbka kontrolna za każdym razem wykazywała najniższą zawartość aldehydu malonowego, a stwierdzone różnice pomiędzy próbkami w większości przypadków były statystycznie istotne (ryc. 20). Jakkolwiek próbka z dodatkiem oleju z awokado przyjmowała wartości zbliżone do kontrolnej, to jednak za każdym razem nieco wyższe, natomiast różnice te były istotne statystycznie po drugim i czwartym tygodniu trwania badań (ryc. 20). Z kolei zawartość aldehydu malonowego w maśle z dodatkiem oleju z pestek dyni była istotnie większa niż w maśle kontrolnym przez cały okres trwania badań. Natomiast zawartość tego związku w maśle z dodatkiem orzecha włoskiego zwiększała się w całym okresie przechowywania, i na ogół była ponad dwukrotnie większą od próbki kontrolnej, a stwierdzone różnice w całym okresie przechowywania były statystycznie istotne (ryc. 20). Uzyskane wyniki wskazują, że 10% dodatek do masła olejów z awokado, pestek dyni i orzecha włoskiego na ogół działał prooksydacyjnie na frakcję lipidową masła. W największym stopniu przyspieszał ten proces olej z orzecha włoskiego, a w najmniejszym olej z awokado. Mogło to wynikać, między innymi, z różnicy w składzie nienasyconych kwasów tłuszczowych tych olejów. W oleju z awokado kwasy tłuszczowe jednonienasycone, mniej podatne na utlenianie niż wielonienasycone, stanowią ok. 70%, w oleju z pestek dyni ok. 33%, a w oleju z orzecha włoskiego ok. 19% [Łoźna i in. 2012].



Ryc. 20. Wpływ czasu przechowywania na zawartość aldehydu malonowego w maśle z dodatkiem oleju z awokado, pestek dyni i orzecha włoskiego

a – d - wartości średnie próbek ze wszystkimi dodatkami w tym samym tygodniu badań, oznaczone taką samą literą, nie różnią się statystycznie istotnie ( $p < 0,05$ ).

A – C - wartości średnie próbek z poszczególnymi dodatkami dla wszystkich tygodni przechowywania, oznaczone taką samą literą, nie różnią się statystycznie istotnie ( $p < 0,05$ ).

## Ocena organoleptyczna

10% dodatek objętych badaniami olejów wpłynął na barwę masła. Oleje z awokado i pestek dyni nadawały mu zielonkawe zabarwienie, a olej z orzecha włoskiego rozjaśniał początkową barwę masła (tab. 6). Zauważono również wpływ na konsystencję, dodatek olejów spowodował lepszą smarowność w porównaniu z próbką kontrolną. Po dodaniu oleju zmienił się także smak i zapach badanych próbek wyczuwalny był smak i zapach charakterystyczny dla zastosowanego oleju.

Tabela 6. Wyniki punktowej oceny sensorycznej masła z dodatkiem olejów z awokado, pestek dyni i orzecha włoskiego

|                    |              | Masło z dodatkiem olejów |             |             |               |
|--------------------|--------------|--------------------------|-------------|-------------|---------------|
|                    |              | Kontrolna                | Awokado     | Pestki dyni | Orzech włoski |
| Czas<br>(tygodnie) | Wyróżnik     | Liczba punktów           |             |             |               |
| 1                  | Wygląd       | 5,0                      | 5,0         | 5,0         | 5,0           |
|                    | Barwa        | 5,0                      | 4,5         | 4,5         | 4,5           |
|                    | Konsystencja | 4,5                      | 5,0         | 5,0         | 5,0           |
|                    | Smak         | 5,0                      | 4,5         | 4,5         | 4,5           |
|                    | Zapach       | 5,0                      | 4,5         | 4,5         | 4,5           |
|                    | <b>WSJC</b>  | <b>4,9</b>               | <b>4,55</b> | <b>4,55</b> | <b>4,55</b>   |
| 2                  | Wygląd       | 5,0                      | 5,0         | 5,0         | 5,0           |
|                    | Barwa        | 5,0                      | 4,5         | 4,5         | 4,5           |
|                    | Konsystencja | 4,5                      | 5,0         | 5,0         | 5,0           |
|                    | Smak         | 5,0                      | 4,5         | 4,5         | 4,5           |
|                    | Zapach       | 5,0                      | 4,5         | 4,5         | 4,5           |
|                    | <b>WSJC</b>  | <b>4,9</b>               | <b>4,55</b> | <b>4,55</b> | <b>4,55</b>   |
| 3                  | Wygląd       | 5,0                      | 5,0         | 5,0         | 5,0           |
|                    | Barwa        | 5,0                      | 4,5         | 4,5         | 4,5           |
|                    | Konsystencja | 4,5                      | 5,0         | 5,0         | 5,0           |
|                    | Smak         | 5,0                      | 4,5         | 4,5         | 4,5           |
|                    | Zapach       | 5,0                      | 4,5         | 4,5         | 4,5           |
|                    | <b>WSJC</b>  | <b>4,9</b>               | <b>4,55</b> | <b>4,55</b> | <b>4,55</b>   |
| 4                  | Wygląd       | 5,0                      | 5,0         | 5,0         | 5,0           |
|                    | Barwa        | 5,0                      | 4,5         | 4,5         | 4,5           |
|                    | Konsystencja | 4,5                      | 5,0         | 5,0         | 5,0           |
|                    | Smak         | 5,0                      | 4,5         | 4,5         | 4,5           |
|                    | Zapach       | 5,0                      | 4,5         | 4,5         | 4,5           |
|                    | <b>WSJC</b>  | <b>4,9</b>               | <b>4,55</b> | <b>4,55</b> | <b>4,55</b>   |

WSJC – wskaźnik sensorycznej jakości całkowitej

Podsumowując uzyskane wyniki badań ,dotyczące wpływu dodatku wybranych olejów roślinnych na utlenianie lipidów masła w czasie chłodniczego przechowywania, stwierdzono, że pomimo znacznie większej aktywności antyoksydacyjnej (80-90%) niż w przypadku sproszkowanych ekstraktów roślinnych wpływ na ograniczenie lub zahamowanie utleniania tłuszczu po dodaniu ich do masła był znikomy, a nawet niektóre z nich działały prooksydacyjnie. Wpływ na to może mieć fakt, że podatność na utlenianie rośnie w postępie geometrycznym proporcjonalnie do liczby wiązań nienasyconych w poszczególnych kwasach tłuszczowych. Dlatego też oleje o dużej zawartości kwasu linolenowego i linolowego

odznaczają się wyższą podatnością na utlenianie niż bogate w kwas oleinowy [Cichosz i Czeczot 2011]. Jednak powyższe stwierdzenie, dotyczące składu kwasów tłuszczowych, nie znajduje uzasadnienia w przypadku oleju rzepakowego bogatego w kwasy jednonienasycone. W związku z powyższym, należy przypuszczać, że zawierał on w swym składzie dodatkowe związki o właściwościach prooksydacyjnych.

W związku z powyższym wydaje się nieuzasadnione wprowadzanie do masła tego typu dodatków jako antyoksydantów.

### **5.3. Ostropest plamisty w postaci mielonych nasion i ekstraktu jako antyoksydant**

W tym i następnych doświadczeniach nie oceniano aktywności antyoksydacyjnej użytych dodatków, ponieważ nie ulegały całkowitemu rozpuszczeniu i nie można było, uzyskać klarownego roztworu, który jest niezbędny dla prawidłowego oznaczenia aktywności przeciwutleniającej metodą DPPH. Z tego względu badania prowadzono jedynie na próbkach masła z wymienionymi dodatkami. Badania obejmowały zmielone nasiona ostropestu zakupione w handlu detalicznym oraz nasiona mielone bezpośrednio przed dodaniem do masła.

#### **5.3.1. Masło z dodatkiem świeżo mielonych nasion ostropestu**

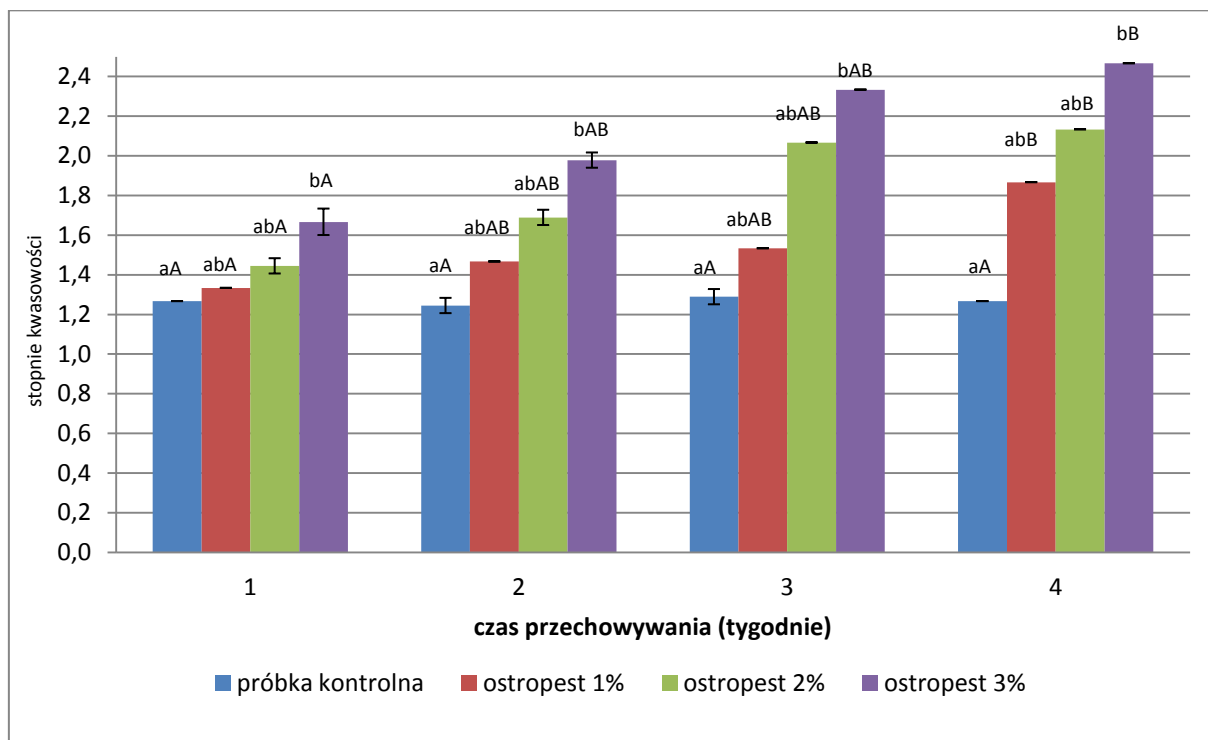
Prowadzone, na tym etapie badania, dotyczyły wpływu świeżo zmielonych nasion ostropestu dodanych w ilości 1, 2 i 3% w stosunku do masy masła, na lipidy masła w czasie czterech tygodni chłodniczego przechowywania.

##### ***Kwasowość lipidów masła***

---

Próbka kontrolna (masło bez dodatków) przez cały okres trwania doświadczenia przybierała podobne wartości w przedziale od 1,24 do 1,29° kwasowości i były to wartości najniższe spośród przebadanych próbek. Zauważono, że wraz ze zwiększeniem ilości dodanych nasion ostropestu, kwasowość lipidów masła wzrastała. Również podczas przechowywania, wszystkie próbki masła zawierające dodatek nasion ostropestu, z tygodnia na tydzień odznaczały się coraz większą kwasowością. Stwierdzone różnice były statystycznie istotne dla próbek z dodatkiem nasion ostropestu pomiędzy pierwszym i czwartym tygodniem przechowywania oraz pomiędzy próbką kontrolną i z 3% dodatkiem

nasion ostropestu (ryc. 21). Można więc przyjąć, że dodatek mielonych nasion ostropestu wpłynął na zwiększenie kwasowości lipidów masła, a wzrost ten był istotny przy jego 3% dodatku. Może być to spowodowane wysoką liczbą kwasową tego surowca, na co w swojej pracy zwrócili uwagę Szczucińska i wsp. [2006], stwierdzając, że jest to mankament w przypadku wprowadzania ostropestu do artykułów spożywczych. Należy przypuszczać, że pewien wpływ na zwiększenie kwasowości mogły mieć też drobnoustroje o uzdolnieniach lipolitycznych zawarte w nasionach ostropestu.



Ryc. 21. Wpływ czasu przechowywania na kwasowość lipidów masła z dodatkiem świeżo mielonych nasion ostropestu

a – b - wartości średnie próbek ze wszystkimi dodatkami w tym samym tygodniu badań, oznaczone taką samą literą, nie różnią się statystycznie istotnie ( $p < 0,05$ ).

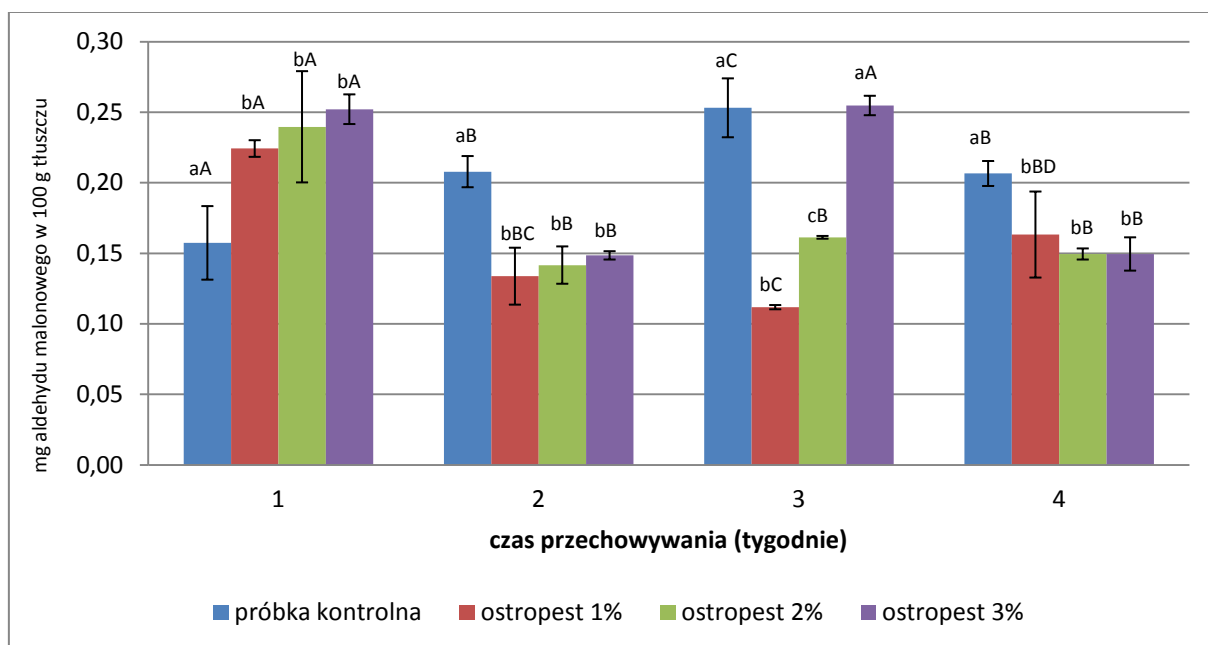
A – B - wartości średnie próbek z poszczególnymi dodatkami dla wszystkich tygodni przechowywania, oznaczone taką samą literą, nie różnią się statystycznie istotnie ( $p < 0,05$ ).

### ***Zawartość aldehydu malonowego w lipidach masła***

Przeprowadzone badania wykazały, że podczas pierwszych trzech tygodni przechowywania, wyższy dodatek zmielonych nasion ostropestu powodował zwiększenie zawartości aldehydu malonowego w lipidach masła. Jednak różnice te były istotne jedynie po trzech tygodniach przechowywania (ryc. 22). Stwierdzono również, że wszystkie próbki z dodatkiem zmielonych nasion ostropestu po pierwszym tygodniu badań charakteryzowały się istotnie wyższą zawartością aldehydu malonowego niż próbka kontrolna, Natomiast

w kolejnych tygodniach przechowywania w próbce kontrolnej obserwowano istotnie większą lub taką samą zawartość tego związku jak w maśle z dodatkiem nasion ostropestu.

W doświadczeniu tym zaobserwowano wyraźny antyoksydacyjny wpływ mielonych nasion ostropestu w odniesieniu do próbki kontrolnej. Ilość zastosowanego dodatku nie miała jednoznacznego wpływu na stopień inhibicji utleniania tłuszczu. Uwzględniając wpływ nasion ostropestu na wzrost kwasowości próbek masła należałoby przyjąć najmniejsze aktywne stężenie.



Ryc. 22. Wpływ czasu przechowywania na zawartość aldehydu malonowego w maśle z dodatkiem świeżo mielonych nasion ostropestu

a – c - wartości średnie próbek ze wszystkimi dodatkami w tym samym tygodniu badań, oznaczone taką samą literą, nie różnią się statystycznie istotnie ( $p < 0,05$ ).

A – D - wartości średnie próbek z poszczególnymi dodatkami dla wszystkich tygodni przechowywania, oznaczone taką samą literą, nie różnią się statystycznie istotnie ( $p < 0,05$ ).

### *Ocena organoleptyczna*

W maśle widoczne i wyczuwalne były drobiny mielonych nasion ostropestu, których ilość uzależniona była od wielkości ich dodatku (tab. 7). Nasiona ostropestu nie wpływały na barwę masła, która tak jak w próbce kontrolnej pozostała kremowo żółta. Konsystencja próbki kontrolnej została oceniona na 3,0 ze względu na widoczne rozwarstwienia masła zakupionego w handlu, dodatek mielonych nasion ostropestu nieznacznie wpłynął na poprawę konsystencji.

Smak i zapach masła zależał ściśle od zawartości nasion ostropestu, im większy był jego dodatek, tym bardziej wyczuwalny był charakterystyczny dla ostropestu posmak i zapach.

Tabela 7. Wyniki punktowej oceny sensorycznej masła z dodatkiem świeżo mielonych nasion ostropestu

| Masło z dodatkiem mielonych nasion ostropestu |              |                |            |             |            |
|-----------------------------------------------|--------------|----------------|------------|-------------|------------|
|                                               |              | Kontrolna      | 1%         | 2%          | 3%         |
| Czas (tygodnie)                               | Wyróżnik     | Liczba punktów |            |             |            |
| 1                                             | Wygląd       | 5,0            | 4,0        | 3,5         | 3,0        |
|                                               | Barwa        | 5,0            | 5,0        | 5,0         | 5,0        |
|                                               | Konsystencja | 3,0            | 3,5        | 3,5         | 3,5        |
|                                               | Smak         | 5,0            | 5,0        | 4,0         | 3,0        |
|                                               | Zapach       | 5,0            | 5,0        | 4,0         | 3,0        |
|                                               | <b>WSJC</b>  | <b>4,6</b>     | <b>4,6</b> | <b>3,85</b> | <b>3,1</b> |
| 2                                             | Wygląd       | 5,0            | 4,0        | 3,5         | 3,0        |
|                                               | Barwa        | 5,0            | 5,0        | 5,0         | 5,0        |
|                                               | Konsystencja | 3,0            | 3,5        | 3,5         | 3,5        |
|                                               | Smak         | 5,0            | 5,0        | 4,0         | 3,0        |
|                                               | Zapach       | 5,0            | 5,0        | 4,0         | 3,0        |
|                                               | <b>WSJC</b>  | <b>4,6</b>     | <b>4,6</b> | <b>3,85</b> | <b>3,1</b> |
| 3                                             | Wygląd       | 5,0            | 4,0        | 3,5         | 3,0        |
|                                               | Barwa        | 5,0            | 5,0        | 5,0         | 5,0        |
|                                               | Konsystencja | 3,0            | 3,5        | 3,5         | 3,5        |
|                                               | Smak         | 5,0            | 5,0        | 4,0         | 3,0        |
|                                               | Zapach       | 5,0            | 5,0        | 3,0         | 3,0        |
|                                               | <b>WSJC</b>  | <b>4,6</b>     | <b>4,6</b> | <b>3,55</b> | <b>3,1</b> |
| 4                                             | Wygląd       | 5,0            | 4,0        | 3,5         | 3,0        |
|                                               | Barwa        | 5,0            | 5,0        | 5,0         | 5,0        |
|                                               | Konsystencja | 3,0            | 3,5        | 3,5         | 3,5        |
|                                               | Smak         | 5,0            | 5,0        | 4,0         | 3,0        |
|                                               | Zapach       | 5,0            | 4,0        | 3,0         | 3,0        |
|                                               | <b>WSJC</b>  | <b>4,6</b>     | <b>4,3</b> | <b>3,55</b> | <b>3,1</b> |

WSJC – wskaźnik sensorycznej jakości całkowitej

### 5.3.2. Masło z dodatkiem ekstraktu oraz mielonych nasion ostropestu zakupionych w handlu detalicznym

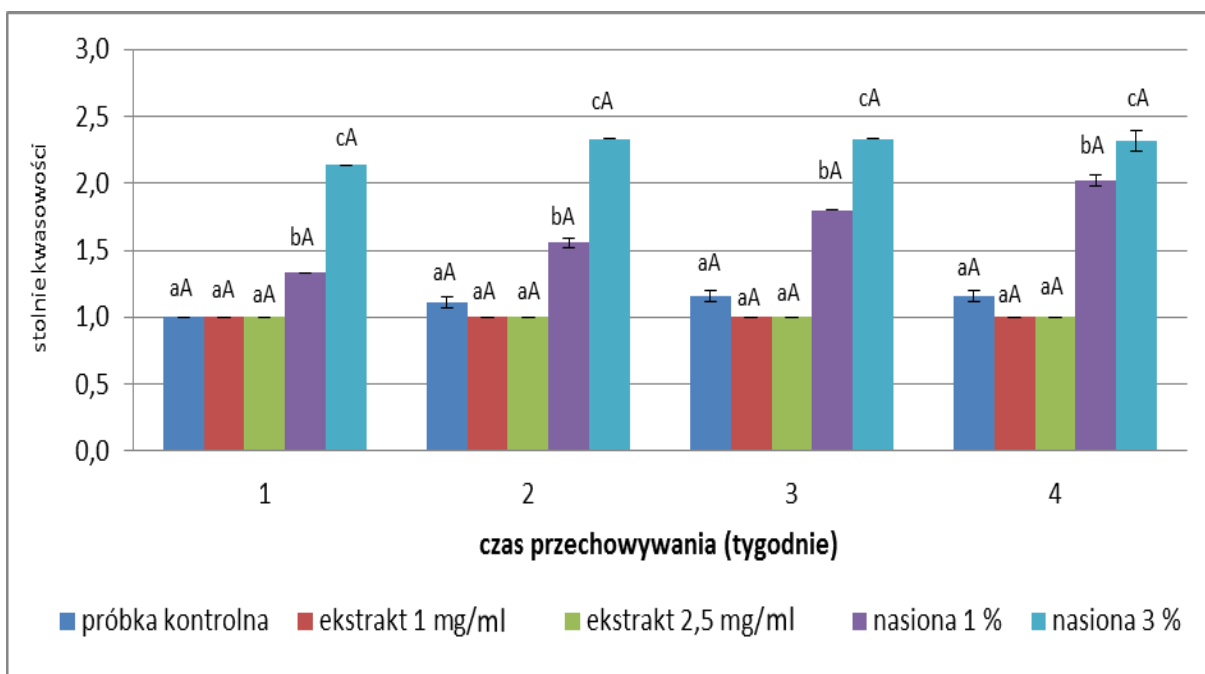
Ze względu na obiecujące wyniki uzyskane w poprzednim doświadczeniu, dotyczące zmniejszenia zawartości aldehydu malonowego, postanowiono kontynuować badania nad wpływem ostropestu na frakcję lipidową masła. Pomimo wykazania skuteczności w obniżeniu stopnia utlenienia masła wzbogaconego tym dodatkiem, przeprowadzona ocena organoleptyczna wykazała obniżenie jego smakowitości. Dlatego zdecydowano się na wprowadzenie do masła wodnego roztworu sproszkowanego ekstraktu z ostropestu w dwóch stężeniach 1 i 2,5 mg/ml i porównawczo zakupionych w handlu detalicznym zmielonych nasion ostropestu w ilości 1 i 3%.

#### *Kwasowość lipidów masła*

Zaobserwowano, że kwasowość lipidów masła z dodatkiem ekstraktu z ostropestu, w obu stężeniach, nie uległa zmianie przez cały okres trwania badań (4 tygodnie) i wynosiła 1 stopień kwasowości. Stwierdzone różnice w kwasowości masła z dodatkiem ekstraktu,

względem próbki kontrolnej, nie były statystycznie istotne (ryc. 23). Natomiast dodatek zmielonych nasion ostropestu, odpowiednio do zastosowanej dawki, istotnie zwiększył kwasowość badanego masła, w przypadku 3% dodatku ostropestu nawet ponad dwukrotnie, co potwierdza obserwacje uzyskane w poprzednim doświadczeniu.

Zwiększenie się kwasowości lipidów masła ocenianych próbek podczas czterech tygodni przechowywania w żadnym przypadku nie było statystycznie istotne (ryc. 23). W związku z powyższym, opierając się na analizie statystycznej uzyskanych wyników, można przypuszczać, że zwiększenie kwasowości lipidów masła w czasie przechowywania, było spowodowane właściwościami samego dodatku, a nie postępującym jęłczeniem hydrolitycznym.



Ryc. 23. Wpływ czasu przechowywania na kwasowość lipidów masła z dodatkiem ekstraktu i zakupionych mielonych nasion ostropestu

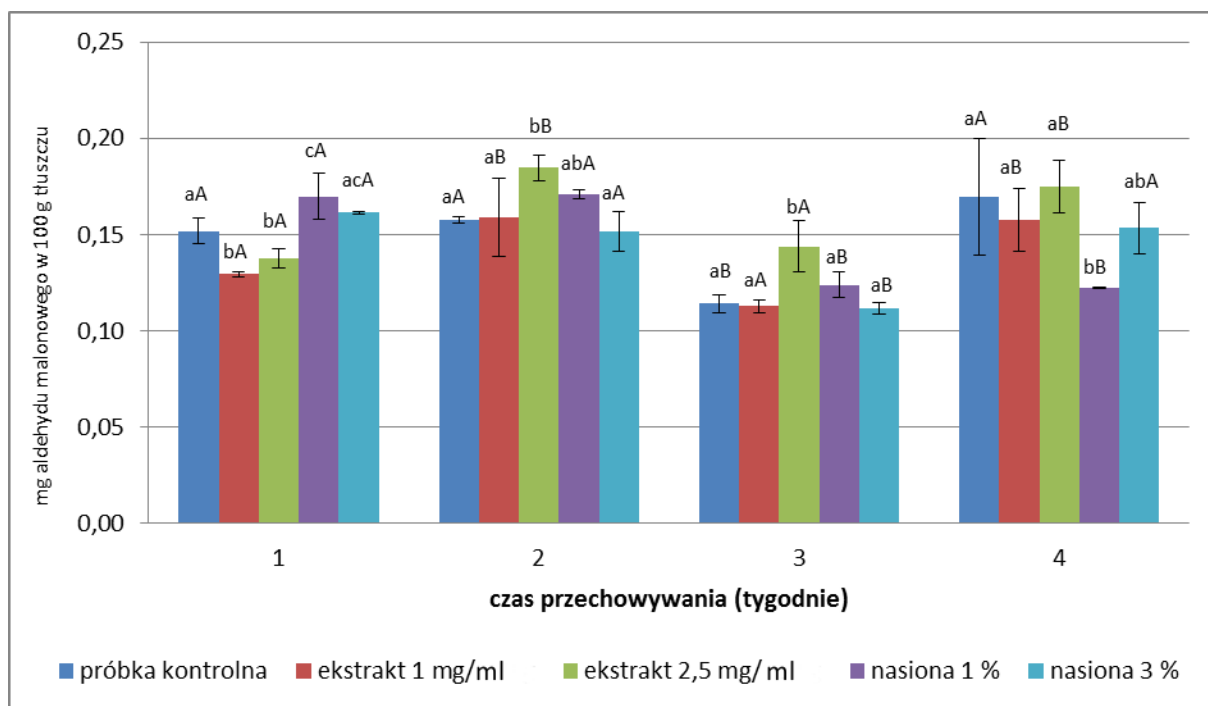
a – c - wartości średnie próbek ze wszystkimi dodatkami w tym samym tygodniu badań, oznaczone taką samą literą, nie różnią się statystycznie istotnie ( $p < 0,05$ ).

A - wartości średnie próbek z poszczególnymi dodatkami dla wszystkich tygodni przechowywania, oznaczone taką samą literą, nie różnią się statystycznie istotnie ( $p < 0,05$ ).

### Zawartość aldehydu malonowego w lipidach masła

Próbki masła z dodatkiem wodnego roztworu sproszkowanych ekstraktów z ostropestu po pierwszym tygodniu badań odznaczały się istotnie mniejszą zawartością aldehydu malonowego w porównaniu do próbki kontrolnej, a masło z 1% dodatkiem mielonych nasion ostropestu istotnie większą zawartością tego związku (ryc. 24). Po drugim tygodniu zawartość aldehydu malonowego w próbkach z ekstraktami wzrosła i była większa niż w próbce

kontrolnej (w maśle z większym dodatkiem ekstraktu wzrost ten był istotny), natomiast w maśle z dodatkiem nasion pozostał prawie bez zmian. Po trzecim tygodniu we wszystkich ocenianych próbkach obserwowano zmniejszenie zawartości aldehydu malonowego, zachowując podobną do drugiego tygodnia proporcję względem siebie. Po czwartym tygodniu ponownie nastąpił wzrost zawartości tego związku, jednak we wszystkie próbkach badawczych z wyjątkiem tej z dodatkiem ekstraktu o stężeniu 2,5 mg/ml stwierdzono wartości niższe niż w próbce kontrolnej. Najniższą i istotnie mniejszą od próbki kontrolnej wartość zanotowano w przypadku masła z 1% dodatkiem nasion ostropestu.



Ryc. 24. Wpływ czasu przechowywania na zawartość aldehydu malonowego w maśle z dodatkiem ekstraktu i zakupionych mielonych nasion ostropestu

a – b - wartości średnie próbek ze wszystkimi dodatkami w tym samym tygodniu badań, oznaczone taką samą literą, nie różnią się statystycznie istotnie ( $p \leq 0,05$ ).

A – B - wartości średnie próbek z poszczególnymi dodatkami dla wszystkich tygodni przechowywania, oznaczone taką samą literą, nie różnią się statystycznie istotnie ( $p \leq 0,05$ ).

Stwierdzono, że po 2, 3 i 4 tygodniu przechowywania próbki masła z dodatkiem nasion ostropestu charakteryzowały się mniejszą zawartością aldehydu malonowego w porównaniu do ekstraktu z tego samego surowca. Z biegiem czasu przyjmowały również coraz niższe wartości, w czwartym tygodniu osiągając wartość mniejszą od próbki kontrolnej. Uzyskane wyniki wskazują, że mielone nasiona ostropestu są bogatszym źródłem antyoksydantów niż otrzymany z nich ekstrakt. Można przypuszczać, że nie wszystkie antyoksydanty zawarte w nasionach ostropestu udało się wyekstrahować, stąd jego mniejsze właściwości przeciwutleniające.

Dodatek ostrypestu w formie ekstraktu nie wpłynął na ogólny wygląd próbek, były one identyczne z próbką kontrolną. Natomiast zastosowanie mielonych nasion ostrypestu spowodowało to, że były one widoczne w maśle, w postaci mniej lub bardziej licznych drobin, w zależności od wielkości zastosowanego dodatku (tab. 8). W przypadku próbki kontrolnej po dwóch tygodniach zaobserwowano lekkie żółtawe przebarwienia na krawędziach, co w pozostałych próbkach nie miało miejsca – przez cały okres badań ich barwa pozostawała kremowo żółta. Konsystencja ocenianych próbek badawczych, przez cały okres przechowywania (4 tygodnie) nie uległa zmianie i była jednolita zwarta, smarowna. Jak już wcześniej wspomniano, uzyskane wyniki pozwalają przypuszczać, że mielone nasiona ostrypestu są bogatszym źródłem antyoksydantów niż otrzymany z nich ekstrakt.

Zarówno w próbce kontrolnej, jak i w próbce z mniejszym dodatkiem ekstraktu, w smaku niewyczuwalne był obcy posmak. Natomiast w próbce z większym dodatkiem ekstraktu, był on wyczuwalny po trzecim tygodniu przechowywania. W przypadku dodatku mielonych nasion ostrypestu, charakterystyczny dla tego dodatku, smak i zapach był obecny w próbkach masła przez cały okres trwania badań i nasilał się w miarę upływu czasu przechowywania i ilości dodawanych nasion ostrypestu.

Tabela 8. Wyniki punktowej oceny sensorycznej masła z dodatkiem ekstraktu z ostrypestu zakupionych mielonych nasion ostrypestu

| Masło z dodatkiem ostrypestu |              |                |            |            |            |            |
|------------------------------|--------------|----------------|------------|------------|------------|------------|
|                              |              | Kontrolna      | Ekstrakt   |            | Nasiona    |            |
|                              |              |                | 1 mg/ml    | 2,5 mg/ml  | 1%         | 3%         |
| Czas (tygodnie)              | Wyróżnik     | Liczba punktów |            |            |            |            |
| 1                            | Wygląd       | 5,0            | 5,0        | 5,0        | 4,0        | 4,0        |
|                              | Barwa        | 5,0            | 5,0        | 5,0        | 5,0        | 5,0        |
|                              | Konsystencja | 5,0            | 5,0        | 5,0        | 5,0        | 5,0        |
|                              | Smak         | 5,0            | 5,0        | 5,0        | 4,0        | 3,0        |
|                              | Zapach       | 5,0            | 4,0        | 3,0        | 4,0        | 3,0        |
|                              | <b>WSJC</b>  | <b>5,0</b>     | <b>4,7</b> | <b>4,4</b> | <b>4,2</b> | <b>3,5</b> |
| 2                            | Wygląd       | 5,0            | 5,0        | 5,0        | 4,0        | 4,0        |
|                              | Barwa        | 5,0            | 5,0        | 5,0        | 5,0        | 5,0        |
|                              | Konsystencja | 5,0            | 5,0        | 5,0        | 5,0        | 5,0        |
|                              | Smak         | 5,0            | 5,0        | 5,0        | 4,0        | 3,0        |
|                              | Zapach       | 5,0            | 4,0        | 3,0        | 4,0        | 3,0        |
|                              | <b>WSJC</b>  | <b>5,0</b>     | <b>4,7</b> | <b>4,4</b> | <b>4,2</b> | <b>3,5</b> |
| 3                            | Wygląd       | 5,0            | 5,0        | 5,0        | 4,0        | 4,0        |
|                              | Barwa        | 3,5            | 5,0        | 5,0        | 5,0        | 5,0        |
|                              | Konsystencja | 5,0            | 5,0        | 5,0        | 5,0        | 5,0        |
|                              | Smak         | 5,0            | 5,0        | 4,0        | 3,0        | 3,0        |
|                              | Zapach       | 5,0            | 4,0        | 3,0        | 3,0        | 3,0        |
|                              | <b>WSJC</b>  | <b>4,85</b>    | <b>4,7</b> | <b>4,0</b> | <b>3,5</b> | <b>3,5</b> |

|   |              |             |            |            |            |            |
|---|--------------|-------------|------------|------------|------------|------------|
| 4 | Wygląd       | 5,0         | 5,0        | 5,0        | 4,0        | 4,0        |
|   | Barwa        | 3,5         | 5,0        | 5,0        | 5,0        | 5,0        |
|   | Konsystencja | 5,0         | 5,0        | 5,0        | 5,0        | 5,0        |
|   | Smak         | 5,0         | 5,0        | 4,0        | 3,0        | 3,0        |
|   | Zapach       | 5,0         | 4,0        | 3,0        | 3,0        | 3,0        |
|   | <b>WSJC</b>  | <b>4,85</b> | <b>4,7</b> | <b>4,0</b> | <b>3,5</b> | <b>3,5</b> |

WSCJ – wskaźnik sensorycznej jakości całkowitej

Z przeprowadzonych badań wynika, że dodatek do masła ostropestu w postaci zmielonych nasion, skutkował, w większości przypadków, istotnym zwiększeniem kwasowości lipidów masła w porównaniu z próbą kontrolną. Natomiast dodatek ekstraktu z ostropestu powodował nieistotne zmniejszenie kwasowości lipidów masła w porównaniu do próbki kontrolnej. Może to wynikać z faktu, że ekstrakty przypraw w przeciwieństwie do przypraw naturalnych cechują się wysoką czystością mikrobiologiczną, a za zwiększenie kwasowości lipidów odpowiadają też lipazy pochodzenia mikrobiologicznego.

W cieście TBA (zawartość aldehydu malonowego) początkowo lepsze rezultaty uzyskano poprzez zastosowanie ekstraktów ostropestu, lecz w końcowym etapie badań masło z dodatkiem mielonych nasion charakteryzowało się najniższą zawartością aldehydu malonowego. W przypadku 1% dodatku nasion ostropestu wartość ta była istotnie niższa niż w próbce kontrolnej.

Ocena organoleptyczna badanych próbek wykazała, że mniejszy dodatek ekstraktu z ostropestu w najmniejszym stopniu wpłynął na zmianę całkowitej jakości sensorycznej. Wprowadzenie mielonych nasion ostropestu było zauważalne w wyglądzie ogólnym oraz w znacznym stopniu pogorszyło smak i zapach badanych próbek.

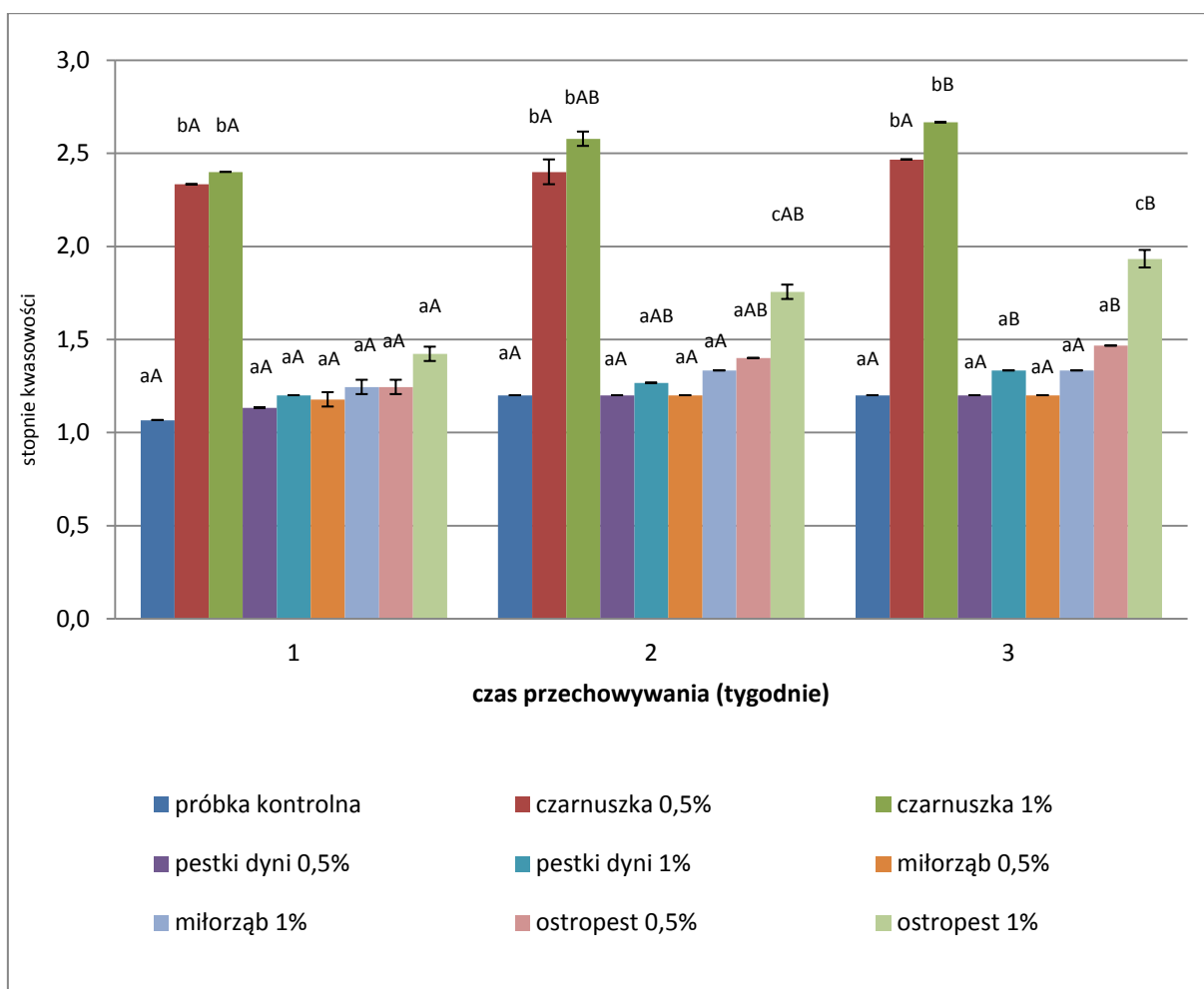
#### **5.4. Masło z dodatkiem nasion czarnuszki, pestek dyni, liści miorzębu i nasion ostropestu jako antyoksydantów**

W badaniach zastosowano kolejne surowce roślinne o prawdopodobnym działaniu ograniczającym lub hamującym utlenianie tłuszczu, ze względu na składniki antyoksydacyjne w nich zawarte. Dla uzyskania jak najlepszego efektu dodatki te zakupiono w postaci nierozdrobnionej, mieląc je tuż przed dodaniem do masła. Powyższe dodatki wprowadzono do masła w ilości 0,5 i 1%.

##### ***Kwasowość lipidów masła***

Spośród ocenianych dodatków zdecydowanie najwyższą kwasowością tłuszczu, w całym okresie przechowywania, odznaczały się próbki masła z dodatkiem nasion czarnuszki,

wartości te, w większości przypadków przekraczały około dwukrotnie wartości przyjmowane przez pozostałe próbki, a stwierdzone różnice były statystycznie istotne (ryc. 25). Zależność ta w nieco mniejszym stopniu była obserwowana w przypadku oleju z czarnuszki, co może wskazywać na naturalną zdolność tego składnika do, w tym przypadku, podwyższania kwasowości lipidów masła. Oprócz czarnuszki istotnie większą kwasowością charakteryzowały się lipidy masła z 1% dodatkiem ostropestu po drugim i trzecim tygodniu przechowywania. Kwasowość tłuszczu pozostałych próbek masła była taka sama lub nieco wyższa niż próbki kontrolnej, a stwierdzone różnice nie były statystycznie istotne. Po trzech tygodniach przechowywania, istotnie większą kwasowością w stosunku do wartości po pierwszym tygodniu trwania badań, odznaczały się lipidy masła z 1% dodatkiem czarnuszki i dyni oraz 0,5 i 1% dodatkiem ostropestu (ryc. 25).



Ryc. 25. Wpływ czasu przechowywania na kwasowość lipidów masła z dodatkiem mielonych surowców roślinnych

a – c - wartości średnie próbek ze wszystkimi dodatkami w tym samym tygodniu badań, oznaczone taką samą literą, nie różnią się statystycznie istotnie ( $p < 0,05$ ).

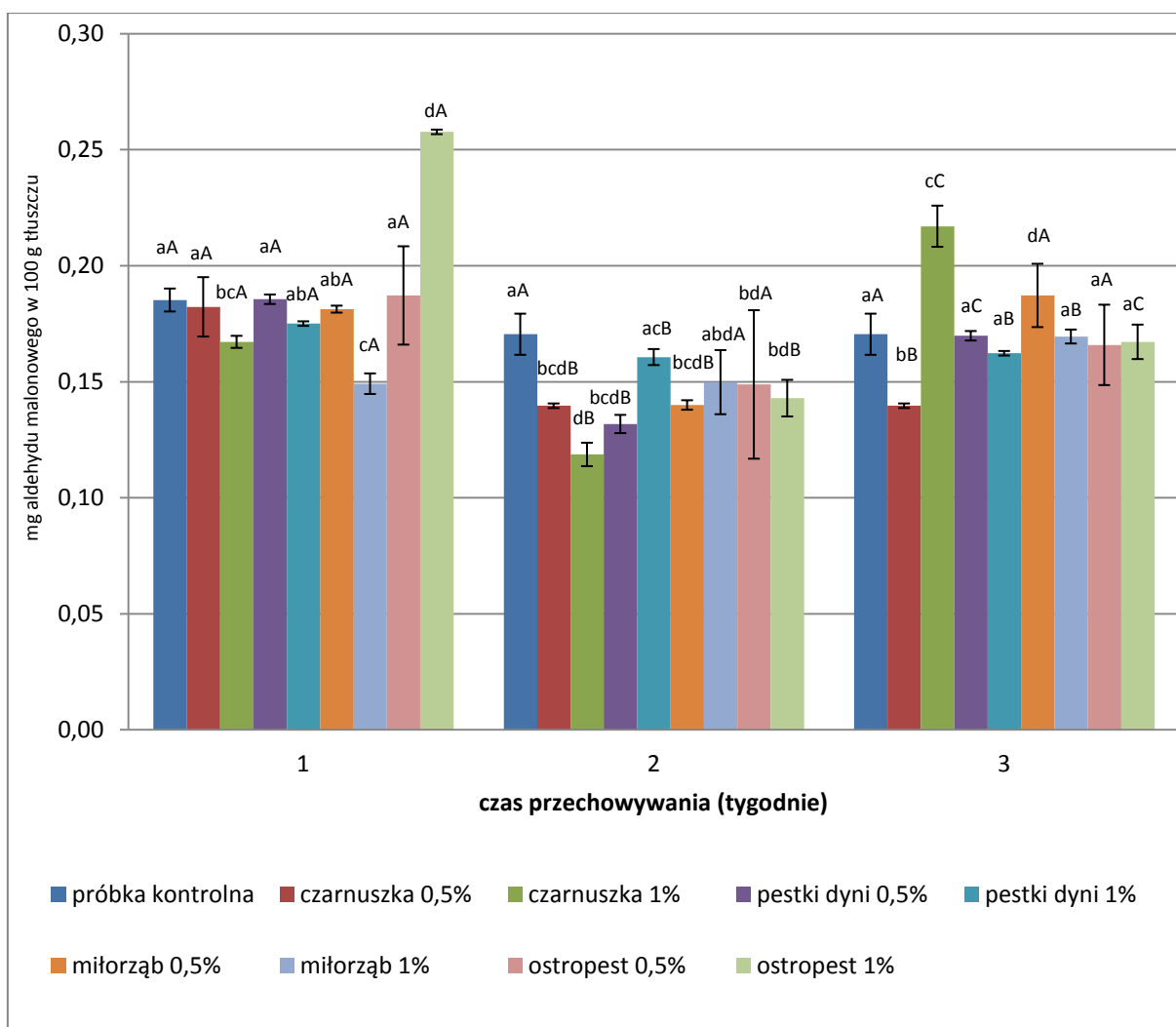
A – B - wartości średnie próbek z poszczególnymi dodatkami dla wszystkich tygodni przechowywania, oznaczone taką samą literą, nie różnią się statystycznie istotnie ( $p < 0,05$ ).

### *Zawartość aldehydu malonowego w lipidach masła*

---

Po pierwszym tygodniu trwania badań zawartość aldehydu malonowego w ocenianych próbkach masła wynosiła od 0,15 do 0,26 mg/100g tłuszczu. Najniższą zawartość aldehydu malonowego stwierdzono w próbkach masła z 1% dodatkiem czarnuszki i 1% dodatkiem miłorzębu, wielkości te były istotnie niższe od pozostałych (w tym próbki kontrolnej). Natomiast próbka z 1% dodatkiem ostropestu, zawierała istotnie więcej aldehydu malonowego (0,26 mg/100 g tłuszczu) niż pozostałe oceniane próbki masła. Po drugim tygodniu badań zawartość aldehydu malonowego w ocenianych próbkach masła istotnie się zmniejszyła, oprócz próbki kontrolnej oraz z 1% dodatkiem miłorzębu i 0,5% dodatkiem nasion ostropestu. Zawartość tego związku w próbkach masła z użytymi dodatkami była mniejsza niż w próbie kontrolnej (maśle bez dodatków). Po trzecim tygodniu przechowywania zawartość aldehydu malonowego ponownie się zwiększyła, najwięcej było go w maśle z 1% dodatkiem czarnuszki, a najmniej z 0,5% jej dodatkiem.

Uzyskane w tym doświadczeniu wyniki nie pozwalają na jednoznaczną ich interpretację, ani nawet na wskazanie tendencji odnośnie zastosowanych dodatków. Zawartość aldehydu malonowego w próbce kontrolnej przez cały okres była praktycznie niezmienna. Istotne obniżenie się tego wskaźnika nastąpiło od drugiego tygodnia w przypadku próbki z 0,5% dodatkiem czarnuszki. Z kolei 1% dodatek tego surowca początkowo dawał lepsze rezultaty, by w ostatnim tygodniu osiągnąć wartość aldehydu malonowego przewyższającą wszystkie pozostałe warianty.



Ryc. 26. Wpływ czasu przechowywania na zawartość aldehydu malonowego w maśle z dodatkiem mielonych surowców roślinnych

a – d - wartości średnie próbek ze wszystkimi dodatkami w tym samym tygodniu badań, oznaczone taką samą literą, nie różnią się statystycznie istotnie ( $p < 0,05$ ).

A – C - wartości średnie próbek z poszczególnymi dodatkami dla wszystkich tygodni przechowywania, oznaczone taką samą literą, nie różnią się statystycznie istotnie ( $p < 0,05$ ).

### Ocena organoleptyczna

Dodatek mielonych surowców roślinnych wpłynął na wygląd próbek masła, widoczne były drobinki zastosowanego surowca. Barwa również uległa zmianie, zależnie od barwy dodatku, jedynie ostropest nie wpływał na zabarwienie. Konsystencja we wszystkich próbkach pozostawała jednolita, zwarta i smarowna (tab. 9).

Największy wpływ na smak i zapach miał dodatek nasion czarnuszki, w kolejnych tygodniach w smaku wyczuwalne były nuty kwaskowe i goryczkowe. Dodatek dyni nie wpłynął na smak, w przypadku miłorzębu i ostropestu stał się on lekko obcy. Natomiast słabo wyczuwalny, nietypowy zapach masłu nadawała czarnuszka i ostropest.

Tabela 9. Wyniki punktowej oceny sensorycznej masła z dodatkiem mielonych surowców roślinnych (czarnuszka, pestki dyni, miłorząb i ostropest)

| Masło z dodatkiem surowców roślinnych |              |                |            |            |             |             |             |             |            |            |
|---------------------------------------|--------------|----------------|------------|------------|-------------|-------------|-------------|-------------|------------|------------|
| Czas<br>(tygodnie)                    | Wyróżnik     | Kontrolna      | Czarnuszka |            | Pestki dyni |             | Miłorząb    |             | Ostropest  |            |
|                                       |              |                | 0,5%       | 1%         | 0,5%        | 1%          | 0,5%        | 1%          | 0,5%       | 1%         |
|                                       |              | Liczba punktów |            |            |             |             |             |             |            |            |
| 1                                     | Wygląd       | 5,0            | 4,0        | 4,0        | 4,0         | 4,0         | 4,0         | 4,0         | 4,0        | 4,0        |
|                                       | Barwa        | 5,0            | 4,5        | 4,5        | 5,0         | 5,0         | 4,5         | 4,5         | 5,0        | 5,0        |
|                                       | Konsystencja | 5,0            | 5,0        | 5,0        | 5,0         | 5,0         | 5,0         | 5,0         | 5,0        | 5,0        |
|                                       | Smak         | 5,0            | 4,0        | 4,0        | 5,0         | 5,0         | 4,0         | 4,0         | 4,0        | 4,0        |
|                                       | Zapach       | 5,0            | 5,0        | 3,0        | 4,5         | 4,5         | 4,5         | 4,5         | 4,0        | 4,0        |
|                                       | <b>WSJC</b>  | <b>5,0</b>     | <b>4,5</b> | <b>3,9</b> | <b>4,75</b> | <b>4,75</b> | <b>4,35</b> | <b>4,35</b> | <b>4,2</b> | <b>4,2</b> |
| 2                                     | Wygląd       | 5,0            | 4,0        | 4,0        | 4,0         | 4,0         | 4,0         | 4,0         | 4,0        | 4,0        |
|                                       | Barwa        | 5,0            | 4,5        | 4,5        | 5,0         | 5,0         | 4,5         | 4,5         | 5,0        | 5,0        |
|                                       | Konsystencja | 5,0            | 5,0        | 5,0        | 5,0         | 5,0         | 5,0         | 5,0         | 5,0        | 5,0        |
|                                       | Smak         | 5,0            | 3,0        | 3,0        | 5,0         | 5,0         | 4,0         | 4,0         | 4,0        | 4,0        |
|                                       | Zapach       | 5,0            | 5,0        | 3,0        | 4,5         | 4,5         | 4,5         | 4,5         | 4,0        | 4,0        |
|                                       | <b>WSJC</b>  | <b>5,0</b>     | <b>4,1</b> | <b>3,5</b> | <b>4,75</b> | <b>4,75</b> | <b>4,35</b> | <b>4,35</b> | <b>4,2</b> | <b>4,2</b> |
| 3                                     | Wygląd       | 5,0            | 4,0        | 4,0        | 4,0         | 4,0         | 4,0         | 4,0         | 4,0        | 4,0        |
|                                       | Barwa        | 5,0            | 4,5        | 4,5        | 5,0         | 5,0         | 4,5         | 4,5         | 5,0        | 5,0        |
|                                       | Konsystencja | 5,0            | 5,0        | 5,0        | 5,0         | 5,0         | 5,0         | 5,0         | 5,0        | 5,0        |
|                                       | Smak         | 5,0            | 1,0        | 1,0        | 5,0         | 5,0         | 4,0         | 4,0         | 4,0        | 4,0        |
|                                       | Zapach       | 5,0            | 5,0        | 3,0        | 4,5         | 4,5         | 4,5         | 4,5         | 4,0        | 4,0        |
|                                       | <b>WSJC</b>  | <b>5,0</b>     | <b>3,3</b> | <b>2,7</b> | <b>4,75</b> | <b>4,75</b> | <b>4,35</b> | <b>4,35</b> | <b>4,2</b> | <b>4,2</b> |

WSJC – wskaźnik sensorycznej jakości całkowitej

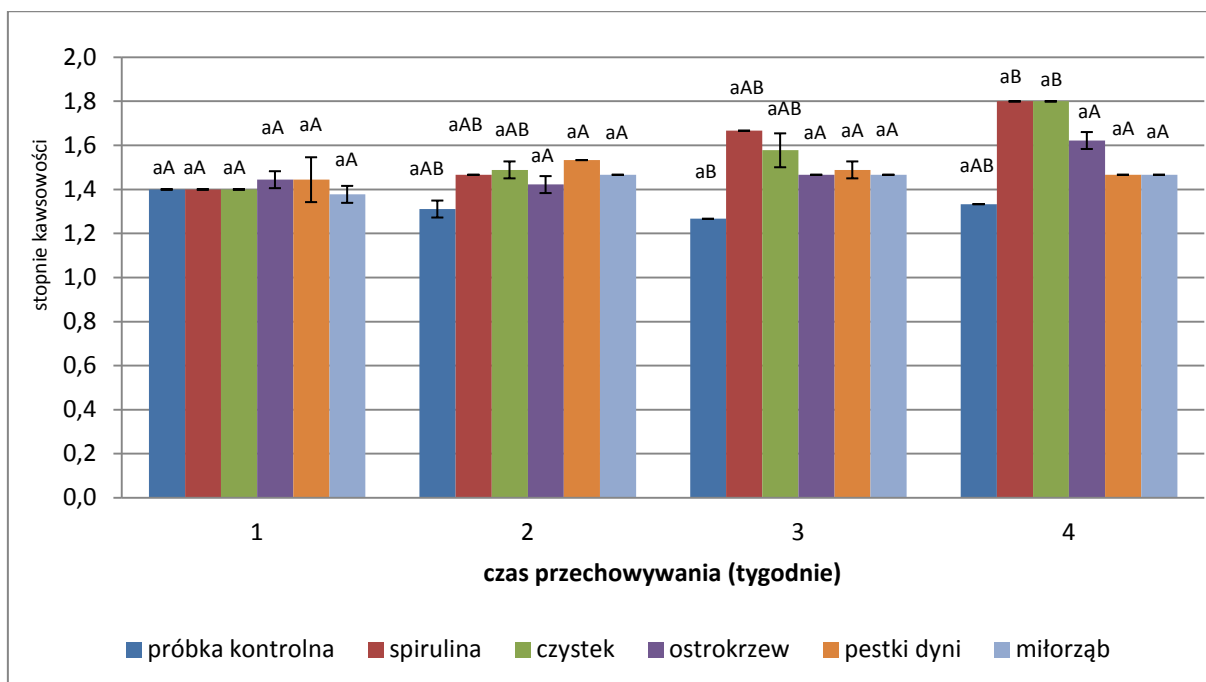
### 5.5. Masło z dodatkiem spiruliny, czystka, ostrokrzewu, pestek dyni oraz miłorzębu jako antyoksydantów

Ze względu na w miarę korzystne działanie pestek dyni i miłorzębu na frakcję lipidową masła wybrano je do dalszych badań, porównując z kolejnymi surowcami roślinnymi. Natomiast czarnuszka jako dodatek oddziałujący negatywnie na cechy organoleptyczne masła nie była już stosowana w dalszych badaniach. Tak jak w poprzednim doświadczeniu surowce roślinne zostały poddane rozdrobnieniu tuż przed dodaniem do masła, z wyjątkiem spiruliny, która już była pod postacią drobnego proszku. Zastosowano 1% dodatek mielonych surowców w stosunku do masy próbki masła.

#### *Kwasowość lipidów masła*

Oceniane próbki masła z dodatkami odznaczały się zbliżoną kwasowością do próbki kontrolnej i nie różniły się istotnie między sobą (ryc. 27). Po trzecim tygodniu badań głównie zwiększyła się kwasowość masła z dodatkiem spiruliny i czystka, jednak stwierdzone różnice nie były statystycznie istotne. Natomiast po czterech tygodniach badań wzrosła kwasowość próbek z dodatkiem spiruliny, czystka i ostrokrzewu, a pozostałe warianty próbek pozostały bez większych zmian. Stwierdzono również, że jedynie kwasowość masła z dodatkiem

spiruliny i czystka po czterech tygodniach przechowywania była istotnie większa niż po pierwszym tygodniu trwania badań.



Ryc. 27. Wpływ czasu przechowywania na kwasowość lipidów masła z dodatkiem mielonych surowców roślinnych

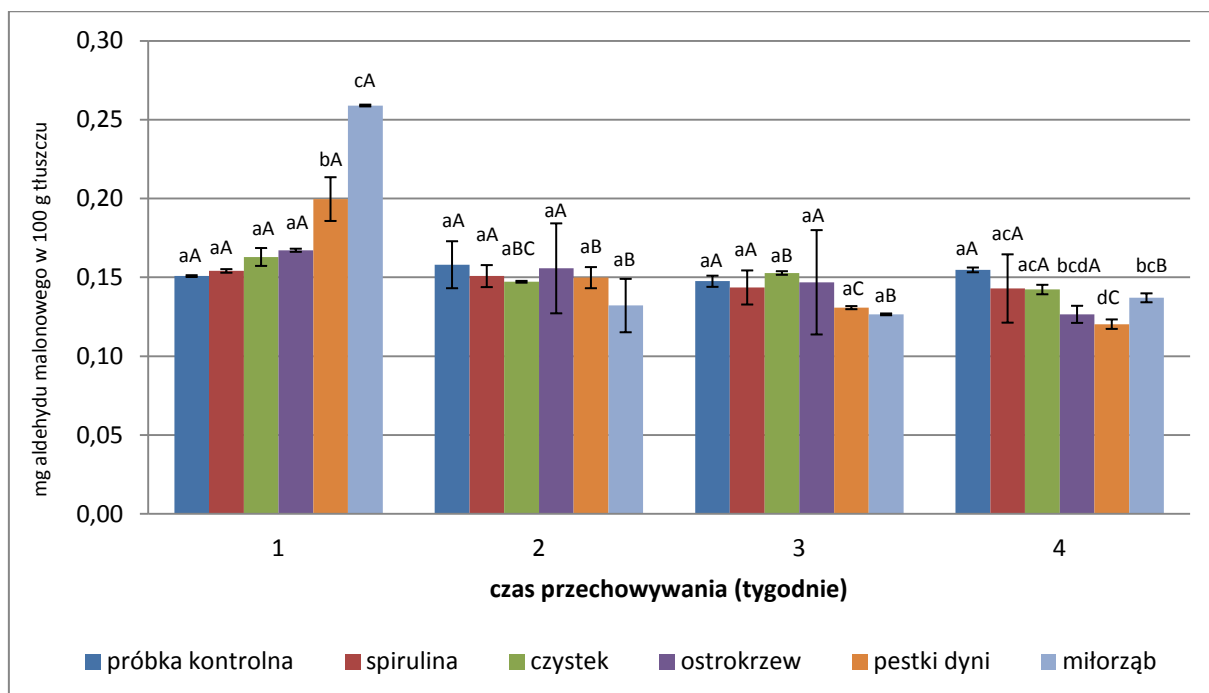
a – b - wartości średnie próbek ze wszystkimi dodatkami w tym samym tygodniu badań, oznaczone taką samą literą, nie różnią się statystycznie istotnie ( $p < 0,05$ ).

A – B - wartości średnie próbek z poszczególnymi dodatkami dla wszystkich tygodni przechowywania, oznaczone taką samą literą, nie różnią się statystycznie istotnie ( $p < 0,05$ ).

### ***Zawartość aldehydu malonowego w lipidach masła***

Zawartość aldehydu malonowego, w ocenianych próbkach masła była zróżnicowana w zależności od zastosowanego dodatku i czasu przechowywania. Po pierwszym tygodniu najniższą wartością odznaczała się próbka kontrolna i z dodatkiem spiruliny – 0,15 mg aldehydu malonowego/100g tłuszczu. Pozostałe próbki masła przyjmowały niewiele wyższe wartości, nie różniące się istotnie między sobą, oprócz próbek z dodatkiem pestek dyni (0,2 mg) i miłorzębu (0,26 mg), których wartości były istotnie wyższe od pozostałych. Po drugim tygodniu stwierdzone różnice w zawartości tego związku w tłuszczu masła pomiędzy poszczególnymi próbkami badawczymi nie były statystycznie istotne (ryc. 28). W kolejnych tygodniach tendencja ta się utrzymała, zawartość aldehydu malonowego w maśle z dodatkami była na ogół mniejsza niż w próbce kontrolnej. Po czwartym tygodniu badań zaobserwowano istotnie niższą zawartość aldehydu malonowego w próbkach z dodatkiem ostrokrzewu, pestek dyni i miłorzębu niż w próbce kontrolnej. Istotnie mniejszą zawartość aldehydu malonowego

po czwartym tygodniu przechowywania w porównaniu z pierwszym tygodniem zaobserwowano w maśle z dodatkiem czystka, dyni i miłorzębu (ryc. 28).



Ryc. 28. Wpływ czasu przechowywania na zawartość aldehydu malonowego w maśle z dodatkiem mielonych surowców roślinnych

a – d - wartości średnie próbek ze wszystkimi dodatkami w tym samym tygodniu badań, oznaczone taką samą literą, nie różnią się statystycznie istotnie ( $p < 0,05$ ).

A – C - wartości średnie próbek z poszczególnymi dodatkami dla wszystkich tygodni przechowywania, oznaczone taką samą literą, nie różnią się statystycznie istotnie ( $p < 0,05$ ).

### Ocena organoleptyczna

Wygląd próbki kontrolnej przez pierwsze trzy tygodnie doświadczenia był prawidłowy, a po czwartym tygodniu zaobserwowano ciemniejszą, żółtawą barwę na powierzchni masła bez dodatków (tab. 10). Dodatek spiruliny spowodował zmianę barwy masła na intensywnie zieloną, nie ulegającą zmianie w trakcie trwania doświadczenia. Zmiany barwy, w czasie czterech tygodni przechowywania, nie stwierdzono też w przypadku czystka i ostrokrzewu, zaobserwowano jedynie widoczne drobinki dodatku. Natomiast pozostałe dodatki (pestki dyni i miłorzęb), początkowo widoczne były jedynie poprzez regularnie rozmieszczone drobinki, a po czwartym tygodniu obserwowano pociemnienia i zażółcenia powierzchni próbek masła z ich dodatkiem. Konsystencja we wszystkich przypadkach pozostawała zwarta, jednolita i smarowna.

Większość omawianych dodatków nie miała wyraźnego wpływu na smak i zapach masła, jedynie słabo wyczuwalne były aromaty charakterystyczne dla każdego z nich. W przypadku spiruliny jej smak i zapach były bardzo intensywne, dominujące i nieakceptowane.

Tabela 10. Wyniki punktowej oceny sensorycznej masła z dodatkiem mielonych surowców roślinnych (czystek, ostrokrzew, pestki dyni i miłorzęb) i spiruliny

| Masło z dodatkiem mielonych surowców roślinnych i spiruliny |              |                |            |             |             |             |             |
|-------------------------------------------------------------|--------------|----------------|------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
|                                                             |              | Kontrolna      | Spirulina  | Czystek     | Ostrokrzew  | Pestki dyni | Milorzęb    |
| Czas (tygodnie)                                             | Wyróżnik     | Liczba punktów |            |             |             |             |             |
| 1                                                           | Wygląd       | 5,0            | 4,5        | 4,5         | 4,5         | 4,5         | 4,5         |
|                                                             | Barwa        | 5,0            | 4,0        | 5,0         | 5,0         | 5,0         | 5,0         |
|                                                             | Konsystencja | 5,0            | 5,0        | 5,0         | 5,0         | 5,0         | 5,0         |
|                                                             | Smak         | 5,0            | 2,0        | 4,0         | 4,0         | 4,0         | 4,0         |
|                                                             | Zapach       | 5,0            | 2,0        | 4,0         | 4,0         | 5,0         | 4,0         |
|                                                             | <b>WSJC</b>  | <b>5,0</b>     | <b>2,8</b> | <b>4,25</b> | <b>4,25</b> | <b>4,5</b>  | <b>4,5</b>  |
| 2                                                           | Wygląd       | 5,0            | 4,5        | 4,5         | 4,5         | 4,5         | 4,5         |
|                                                             | Barwa        | 5,0            | 4,0        | 5,0         | 5,0         | 5,0         | 5,0         |
|                                                             | Konsystencja | 5,0            | 5,0        | 5,0         | 5,0         | 5,0         | 5,0         |
|                                                             | Smak         | 5,0            | 2,0        | 4,0         | 4,0         | 4,0         | 4,0         |
|                                                             | Zapach       | 5,0            | 2,0        | 4,0         | 4,0         | 5,0         | 4,0         |
|                                                             | <b>WSJC</b>  | <b>5,0</b>     | <b>2,8</b> | <b>4,25</b> | <b>4,25</b> | <b>4,5</b>  | <b>4,5</b>  |
| 3                                                           | Wygląd       | 5,0            | 4,5        | 4,5         | 4,5         | 4,5         | 4,5         |
|                                                             | Barwa        | 5,0            | 4,0        | 5,0         | 5,0         | 5,0         | 5,0         |
|                                                             | Konsystencja | 5,0            | 5,0        | 5,0         | 5,0         | 5,0         | 5,0         |
|                                                             | Smak         | 5,0            | 2,0        | 4,0         | 4,0         | 4,0         | 4,0         |
|                                                             | Zapach       | 5,0            | 2,0        | 4,0         | 4,0         | 5,0         | 4,0         |
|                                                             | <b>WSJC</b>  | <b>5,0</b>     | <b>2,8</b> | <b>4,25</b> | <b>4,25</b> | <b>4,5</b>  | <b>4,5</b>  |
| 4                                                           | Wygląd       | 5,0            | 4,5        | 4,5         | 4,5         | 3,5         | 3,5         |
|                                                             | Barwa        | 4,0            | 4,0        | 5,0         | 5,0         | 4,0         | 4,0         |
|                                                             | Konsystencja | 5,0            | 5,0        | 5,0         | 5,0         | 5,0         | 5,0         |
|                                                             | Smak         | 5,0            | 2,0        | 4,0         | 4,0         | 4,0         | 4,0         |
|                                                             | Zapach       | 5,0            | 2,0        | 4,0         | 4,0         | 5,0         | 4,0         |
|                                                             | <b>WSJC</b>  | <b>4,7</b>     | <b>2,8</b> | <b>4,25</b> | <b>4,25</b> | <b>4,45</b> | <b>4,45</b> |

WSJC – wskaźnik sensorycznej jakości całkowitej

## 5.6. Masło i mix tłuszczowy z dodatkiem pestek dyni i miłorzębu

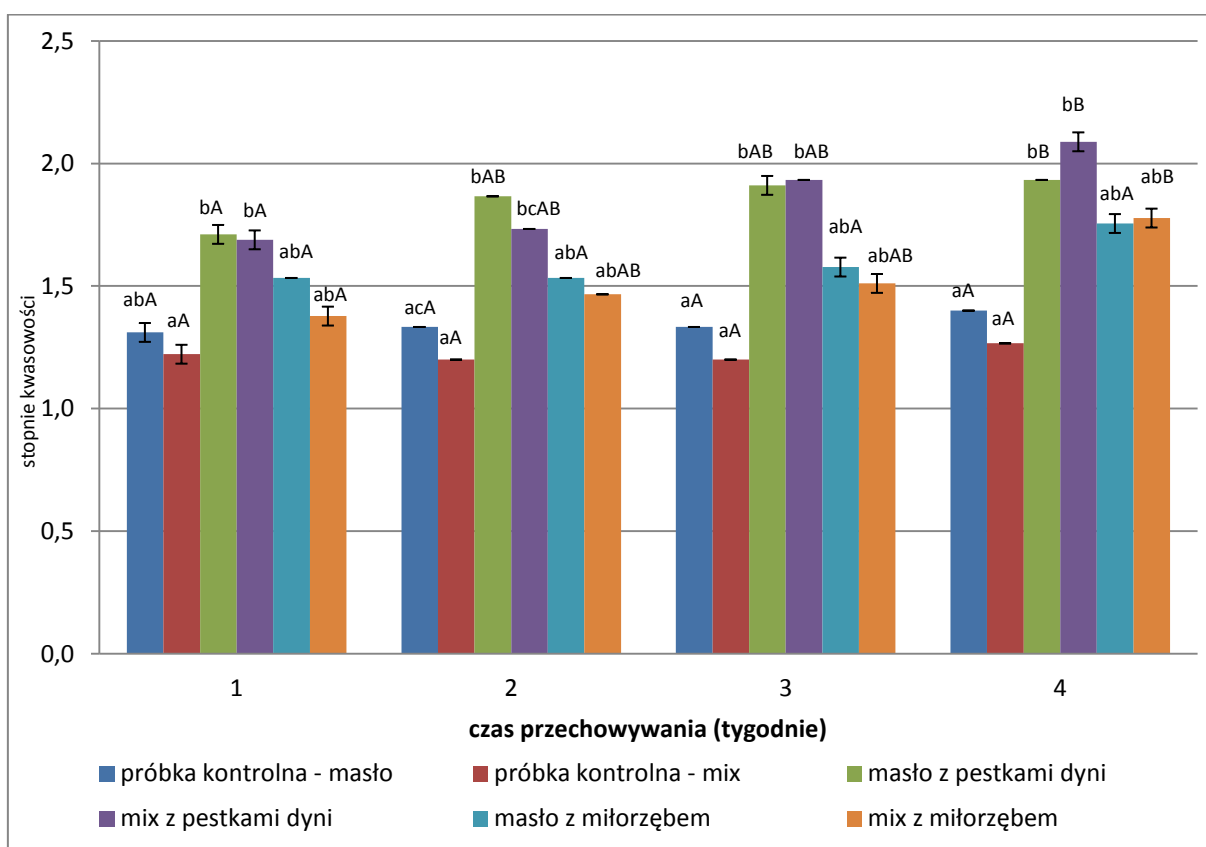
Na zakończenie serii doświadczeń z zastosowaniem wybranych dodatków do masła, w celu oceny ich przydatności do hamowania lub ograniczania niepożądanych zmian we frakcji lipidowej masła w czasie przechowywania, przeprowadzono badania porównawcze dodając te same substancje również do mixu tłuszczowego. Podobnie jak w poprzednim doświadczeniu zastosowano 1% dodatek mielonych surowców w stosunku do masy próbki masła i mixu.

### *Kwasowość lipidów masła i mixu tłuszczowego*

Największą kwasowością odznaczały się próbki zarówno masła jak i mixu z dodatkiem mielonych pestek dyni, przez cały okres trwania doświadczenia (ryc. 29) Natomiast najmniejszą kwasowość, istotnie różniącą się od próbek z dodatkiem pestek dyni, wykazywały próby kontrolne obu produktów, przy czym mix tłuszczowy za każdym razem przyjmował wartość nieznacznie niższe niż masło. Natomiast kwasowość próbek z dodatkiem miłorzębu przyjmowała wartości pośrednie pomiędzy próbkami kontrolnymi i z dodatkiem

pestek dyni, a stwierdzone różnice pomiędzy tymi próbami były statystycznie nieistotne. Istotnie większą kwasowością, po czwartym tygodniu przechowywania w porównaniu z pierwszym, odznaczały się lipidy masła i mixu z dodatkiem pestek dyni oraz mixu z dodatkiem miłorzębu.

Zaobserwowano, że oba dodatki, zarówno w maśle jak i w mixie tłuszczowym wpłynęły na podwyższenie kwasowości próbek, z czego w przypadku dodatku mielonych pestek dyni różnica ta była istotna statystycznie. Porównując to do poprzedniego doświadczenia z wykorzystaniem pestek dyni można zauważyć znaczącą różnicę – poprzednio wartości stopni kwasowości nie przekraczały 1,5°, w tym doświadczeniu oscylują w okolicy 2°. Mogło to być spowodowane tym, że pomiędzy pierwszym a drugim doświadczeniem był miesiąc przerwy i w bogatym w tłuszcze nienasycone dodatku, jakim są pestki dyni, mogło dojść do niepożądanych zmian, między innymi związanych ze wzrostem enzymów lipolitycznych pochodzenia mikrobiologicznego, a w konsekwencji zwiększeniem kwasowości lipidów masła i mixu.



Ryc. 29. Wpływ czasu przechowywania na kwasowość lipidów masła oraz mixu tłuszczowego z dodatkiem mielonych surowców roślinnych

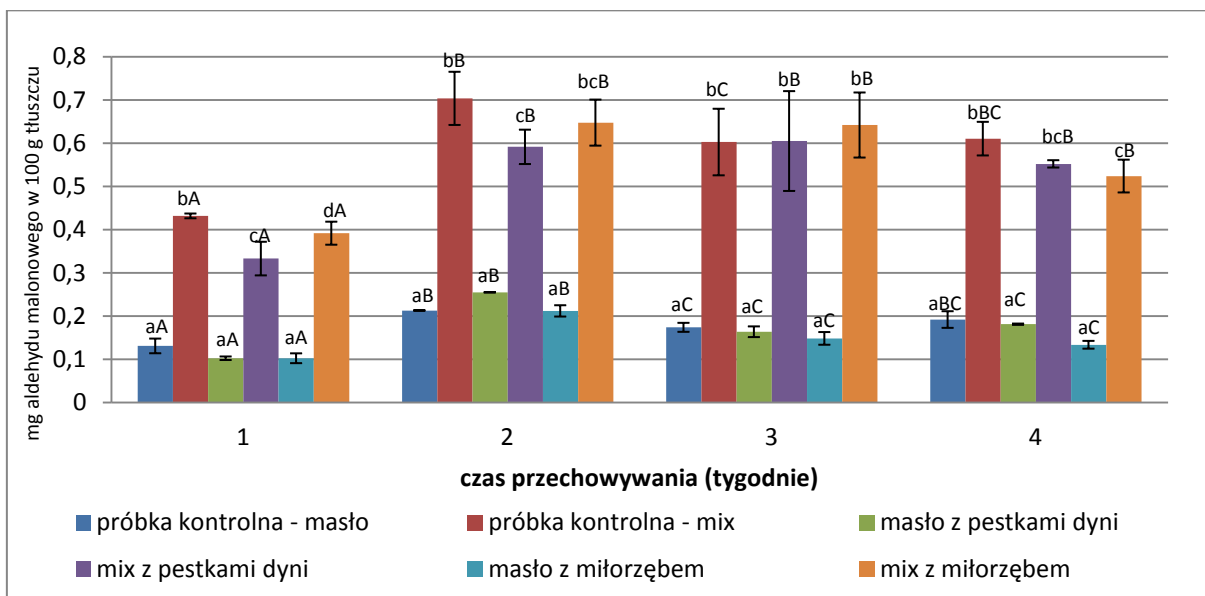
a – c - wartości średnie próbek ze wszystkimi dodatkami w tym samym tygodniu badań, oznaczone taką samą literą, nie różnią się statystycznie istotnie ( $p < 0,05$ ).

A – B - wartości średnie próbek z poszczególnymi dodatkami dla wszystkich tygodni przechowywania, oznaczone taką samą literą, nie różnią się statystycznie istotnie ( $p < 0,05$ ).

### Zawartość aldehydu malonowego w lipidach masła i mixu tłuszczowego

Zawartość aldehydu malonowego w próbkach masła i mixu tłuszczowego była zróżnicowana (ryc. 30). Mix odznaczał się istotnie wyższą jego zawartością (ponad trzykrotnie). W czasie trwania badań, zawartość aldehydu malonowego w próbce kontrolnej masła była większa niż w maśle z dodatkami z wyjątkiem drugiego tygodnia, gdzie próbka z dodatkiem pestek dyni nieznacznie ją przewyższała, jednakże nie były to różnice istotne statystycznie. Podobnie próbka kontrolna mixu tłuszczowego generalnie przyjmowała większe wartości od mixów z dodatkami, z wyjątkiem trzeciego tygodnia badań, gdzie zawartość aldehydu malonowego w mixie z dodatkiem miłorzębu była nieistotnie większa (ryc. 30). We wszystkich ocenianych próbkach zarówno masła jak i mixu zawartość aldehydu malonowego, po czwartym tygodniu przechowywania, była istotnie większa niż po pierwszym tygodniu (ryc.30).

Należy przypuszczać, że główną przyczyną wysokiej podatności na utlenianie mixu tłuszczowego był skład kwasów tłuszczowych oleju rzepakowego użytego podczas produkcji mixu. Jak wynika z literatury [Ratusz i Wirkowska 2006, Daniewski i in. 2003] w oleju rzepakowym, podobnie jak i w innych olejach roślinnych dominują nienasycone kwasy tłuszczowe, które charakteryzują się mniejszą stabilnością oksydacyjną niż nasycone kwasy tłuszczowe, których przewaga występuje w tłuszczu mlecznym.



Ryc. 30. Wpływ czasu przechowywania na zawartość aldehydu malonowego w maśle oraz mixie tłuszczowym z dodatkiem mielonych surowców roślinnych

a – c - wartości średnie próbek ze wszystkimi dodatkami w tym samym tygodniu badań, oznaczone taką samą literą, nie różnią się statystycznie istotnie ( $p < 0,05$ ).

A – C - wartości średnie próbek z poszczególnymi dodatkami dla wszystkich tygodni przechowywania, oznaczone taką samą literą, nie różnią się statystycznie istotnie ( $p < 0,05$ ).

We wszystkich wariantach ocenianych próbek masła i mixu, po drugim tygodniu doszło do powierzchniowego pociemnienia barwy, która początkowo była jasnokremowa. Najbardziej zauważalną różnicą pomiędzy próbkami na bazie masła i mixu była ich konsystencja. Mix odznaczał się konsystencją bardzo mazistą, mało zwartą. (tab. 11).

Próbki na bazie masła charakteryzowały się tłuszczowym, śmietankowym smakiem i zapachem, a te z dodatkami lekkim aromatem użytego dodatku. Próbki na bazie mixu tłuszczowego w smaku były słodkawe, śmietankowe, zapach był mniej intensywny od masła. W przypadku dodatku miłorzębu wyczuwalne były obce zapachy.

Tabela 11. Wyniki punktowej oceny sensorycznej masła i mixu tłuszczowego z dodatkiem mielonych surowców roślinnych (pestki dyni i miłorzęb)

| Masło i mix tłuszczowy z dodatkiem mielonych surowców roślinnych |              |                |               |                    |               |             |                  |
|------------------------------------------------------------------|--------------|----------------|---------------|--------------------|---------------|-------------|------------------|
|                                                                  |              | Kontrola masło | Masło z dynią | Masło z miłorzębem | Kontrolna mix | Mix z dynią | Mix z miłorzębem |
| Czas (tygodnie)                                                  | Wyróżnik     | Liczba punktów |               |                    |               |             |                  |
| 1                                                                | Wygląd       | 5,0            | 4,0           | 4,0                | 5,0           | 4,0         | 4,0              |
|                                                                  | Barwa        | 5,0            | 5,0           | 5,0                | 5,0           | 5,0         | 5,0              |
|                                                                  | Konsystencja | 5,0            | 5,0           | 5,0                | 4,0           | 4,0         | 4,0              |
|                                                                  | Smak         | 5,0            | 4,0           | 4,0                | 5,0           | 5,0         | 4,0              |
|                                                                  | Zapach       | 5,0            | 4,5           | 4,0                | 4,5           | 4,5         | 4,0              |
|                                                                  | <b>WSJC</b>  | <b>5,0</b>     | <b>4,35</b>   | <b>4,2</b>         | <b>4,65</b>   | <b>4,55</b> | <b>4,2</b>       |
| 2                                                                | Wygląd       | 5,0            | 4,0           | 4,0                | 4,0           | 4,0         | 3,0              |
|                                                                  | Barwa        | 5,0            | 5,0           | 5,0                | 4,0           | 5,0         | 4,0              |
|                                                                  | Konsystencja | 5,0            | 5,0           | 5,0                | 4,0           | 4,0         | 4,0              |
|                                                                  | Smak         | 5,0            | 4,0           | 4,0                | 5,0           | 5,0         | 4,0              |
|                                                                  | Zapach       | 5,0            | 4,5           | 4,0                | 4,5           | 4,5         | 4,0              |
|                                                                  | <b>WSJC</b>  | <b>5,0</b>     | <b>4,35</b>   | <b>4,2</b>         | <b>4,55</b>   | <b>4,55</b> | <b>3,9</b>       |
| 3                                                                | Wygląd       | 5,0            | 3,0           | 4,0                | 4,0           | 3,0         | 3,0              |
|                                                                  | Barwa        | 5,0            | 5,0           | 5,0                | 4,0           | 4,0         | 4,0              |
|                                                                  | Konsystencja | 5,0            | 5,0           | 5,0                | 4,0           | 4,0         | 4,0              |
|                                                                  | Smak         | 5,0            | 4,0           | 4,0                | 5,0           | 5,0         | 4,0              |
|                                                                  | Zapach       | 5,0            | 4,5           | 4,0                | 4,5           | 4,5         | 4,0              |
|                                                                  | <b>WSJC</b>  | <b>5,0</b>     | <b>4,25</b>   | <b>4,2</b>         | <b>4,55</b>   | <b>4,45</b> | <b>3,9</b>       |
| 4                                                                | Wygląd       | 4,0            | 3,0           | 3,0                | 4,0           | 3,0         | 3,0              |
|                                                                  | Barwa        | 5,0            | 5,0           | 5,0                | 4,0           | 4,0         | 4,0              |
|                                                                  | Konsystencja | 5,0            | 5,0           | 5,0                | 4,0           | 4,0         | 4,0              |
|                                                                  | Smak         | 5,0            | 4,0           | 4,0                | 5,0           | 5,0         | 4,0              |
|                                                                  | Zapach       | 5,0            | 4,5           | 4,0                | 4,5           | 4,5         | 4,0              |
|                                                                  | <b>WSJC</b>  | <b>4,9</b>     | <b>4,25</b>   | <b>4,1</b>         | <b>4,55</b>   | <b>4,45</b> | <b>3,9</b>       |

WSJC – wskaźnik sensorycznej jakości całkowitej.

### 5.7. Profil kwasów tłuszczowych

Oznaczenie profilu kwasów tłuszczowych wykonano dla masła bez dodatków jako próby kontrolnej, masła z 1% dodatkiem mielonych pestek dyni oraz masła z 1% dodatkiem mielonymi liści miłorzębu. Powyższe dodatki wybrano ze względu na ich największy wpływ

na ograniczanie utlenienia frakcji lipidowej masła, obserwowane we wcześniejszych doświadczeniach. Badania prowadzono przez okres czterech tygodni w tygodniowych odstępach. Wyniki wyrażono w procentach ogólnej zawartości kwasów tłuszczowych.

#### 5.7.1. Masło z dodatkiem mielonych pestek dyni i liści miłorzębu

W wyniku przeprowadzonych badań stwierdzono jedynie minimalne różnice lub ich brak w składzie oznaczanych kwasów tłuszczowych na przestrzeni czterech tygodni trwania eksperymentu we wszystkich badanych próbkach masła bez dodatków i z dodatkami. Z tego wynika, że dodatek mielonych pestek dyni jak i liści miłorzębu nie wpłynął na profil kwasów tłuszczowych masła (tab. 12).

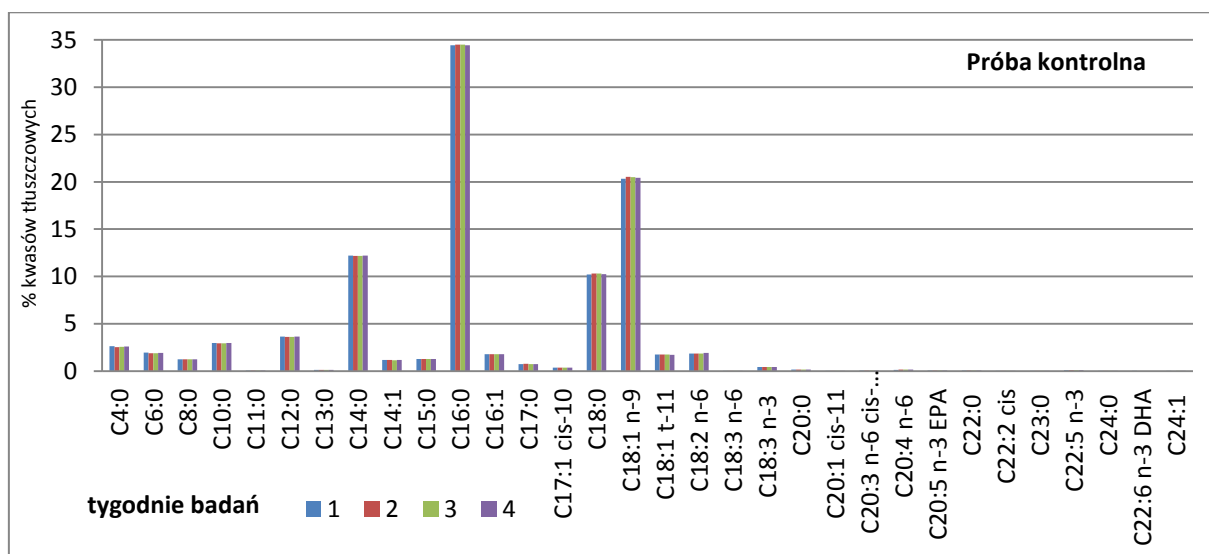
W badanych próbkach dominował kwas palmitynowy (C16:0) w ilości ok. 34,5%, a następnie kwasy oleinowy (C18:1 n-9) – ok. 20,5%, mirystynowy (C14:0) – ok. 12,2% oraz stearynowy (C18:0) – ok. 10,3%. Kwasy tłuszczowe powyżej 18 atomów węgla występowały w ilościach śladowych.

Tabela 12. Profil kwasów tłuszczowych masła z dodatkiem mielonych pestki dyni i liści miłorzęb

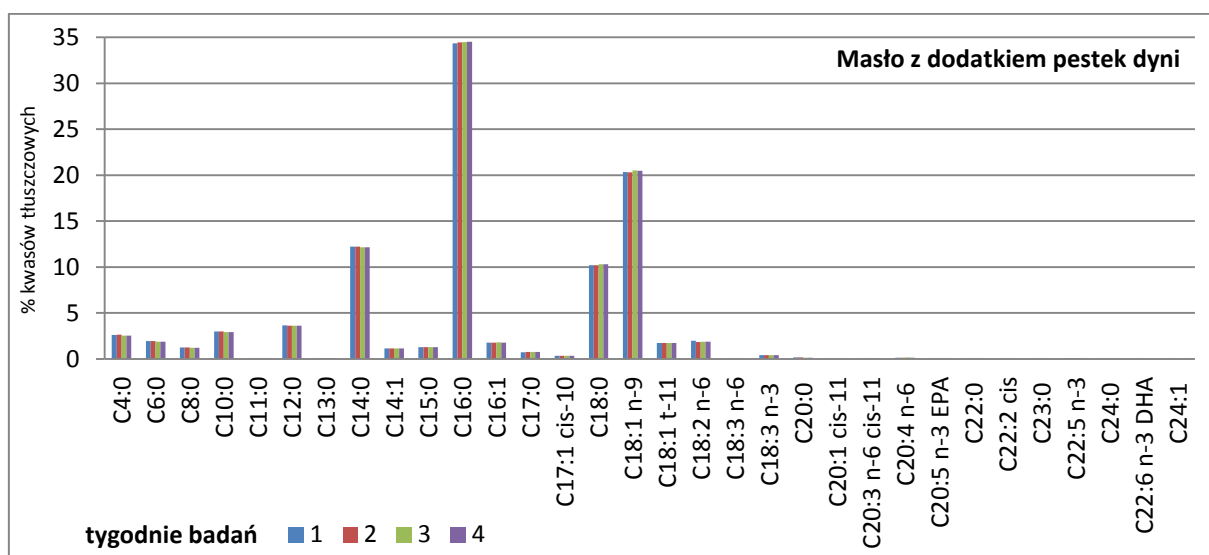
| Kwasy tłuszczowe | Kontrolna      |       |       |       | Pestki dyni    |       |       |       | Miłorzęb       |       |       |       |
|------------------|----------------|-------|-------|-------|----------------|-------|-------|-------|----------------|-------|-------|-------|
|                  |                |       |       |       |                |       |       |       |                |       |       |       |
|                  | Tygodnie badań |       |       |       | Tygodnie badań |       |       |       | Tygodnie badań |       |       |       |
|                  | 1              | 2     | 3     | 4     | 1              | 2     | 3     | 4     | 1              | 2     | 3     | 4     |
| C4:0             | 2,65           | 2,54  | 2,55  | 2,58  | 2,61           | 2,65  | 2,54  | 2,55  | 2,55           | 2,58  | 2,61  | 2,58  |
| C6:0             | 1,95           | 1,89  | 1,89  | 1,91  | 1,94           | 1,95  | 1,89  | 1,89  | 1,89           | 1,91  | 1,93  | 1,91  |
| C8:0             | 1,26           | 1,23  | 1,23  | 1,25  | 1,27           | 1,26  | 1,23  | 1,23  | 1,23           | 1,25  | 1,26  | 1,25  |
| C10:0            | 2,98           | 2,93  | 2,93  | 2,96  | 3,00           | 2,98  | 2,93  | 2,93  | 2,93           | 2,96  | 2,97  | 2,95  |
| C11:0            | 0,06           | 0,06  | 0,06  | 0,06  | 0,06           | 0,06  | 0,06  | 0,06  | 0,06           | 0,06  | 0,06  | 0,06  |
| C12:0            | 3,64           | 3,61  | 3,61  | 3,63  | 3,66           | 3,64  | 3,61  | 3,61  | 3,61           | 3,63  | 3,64  | 3,62  |
| C13:0            | 0,12           | 0,12  | 0,12  | 0,12  | 0,12           | 0,12  | 0,12  | 0,12  | 0,12           | 0,12  | 0,12  | 0,12  |
| C14:0            | 12,21          | 12,17 | 12,17 | 12,19 | 12,21          | 12,21 | 12,17 | 12,17 | 12,17          | 12,19 | 12,20 | 12,18 |
| C14:1            | 1,16           | 1,16  | 1,16  | 1,16  | 1,17           | 1,16  | 1,16  | 1,16  | 1,16           | 1,16  | 1,16  | 1,16  |
| C15:0            | 1,28           | 1,28  | 1,28  | 1,28  | 1,28           | 1,28  | 1,28  | 1,28  | 1,28           | 1,28  | 1,28  | 1,28  |
| C16:0            | 34,42          | 34,49 | 34,51 | 34,42 | 34,34          | 34,42 | 34,49 | 34,51 | 34,51          | 34,42 | 34,42 | 34,46 |
| C16:1            | 1,79           | 1,80  | 1,79  | 1,79  | 1,79           | 1,79  | 1,80  | 1,79  | 1,79           | 1,79  | 1,79  | 1,80  |
| C17:0            | 0,75           | 0,76  | 0,75  | 0,75  | 0,75           | 0,75  | 0,76  | 0,75  | 0,75           | 0,75  | 0,75  | 0,75  |
| C17:1 cis-10     | 0,35           | 0,36  | 0,35  | 0,35  | 0,35           | 0,35  | 0,36  | 0,35  | 0,35           | 0,35  | 0,35  | 0,35  |
| C18:0            | 10,22          | 10,31 | 10,31 | 10,26 | 10,20          | 10,22 | 10,31 | 10,31 | 10,31          | 10,26 | 10,24 | 10,27 |
| C18:1 n-9        | 20,31          | 20,52 | 20,49 | 20,42 | 20,34          | 20,31 | 20,52 | 20,49 | 20,49          | 20,42 | 20,37 | 20,44 |
| C18:1 t-11       | 1,74           | 1,74  | 1,74  | 1,73  | 1,73           | 1,74  | 1,74  | 1,74  | 1,74           | 1,73  | 1,74  | 1,74  |
| C18:2 n-6        | 1,84           | 1,86  | 1,87  | 1,93  | 1,99           | 1,84  | 1,86  | 1,87  | 1,87           | 1,93  | 1,89  | 1,88  |
| C18:3 n-6        | 0,03           | 0,03  | 0,03  | 0,03  | 0,03           | 0,03  | 0,03  | 0,03  | 0,03           | 0,03  | 0,03  | 0,03  |
| C18:3 n-3        | 0,43           | 0,43  | 0,43  | 0,43  | 0,42           | 0,43  | 0,43  | 0,43  | 0,43           | 0,43  | 0,43  | 0,43  |
| C20:0            | 0,16           | 0,15  | 0,15  | 0,16  | 0,16           | 0,16  | 0,15  | 0,15  | 0,15           | 0,16  | 0,16  | 0,15  |
| C20:1 cis-11     | 0,04           | 0,04  | 0,04  | 0,04  | 0,03           | 0,04  | 0,04  | 0,04  | 0,04           | 0,04  | 0,04  | 0,04  |
| C20:3 n-6 cis-11 | 0,07           | 0,07  | 0,07  | 0,07  | 0,07           | 0,07  | 0,07  | 0,07  | 0,07           | 0,07  | 0,07  | 0,07  |
| C20:4 n-6        | 0,14           | 0,16  | 0,15  | 0,15  | 0,15           | 0,14  | 0,16  | 0,15  | 0,15           | 0,15  | 0,15  | 0,15  |
| C20:5 n-3 EPA    | 0,06           | 0,06  | 0,06  | 0,06  | 0,06           | 0,06  | 0,06  | 0,06  | 0,06           | 0,06  | 0,06  | 0,06  |
| C22:0            | 0,07           | 0,07  | 0,07  | 0,07  | 0,06           | 0,07  | 0,07  | 0,07  | 0,07           | 0,07  | 0,07  | 0,07  |
| C22:2 cis        | 0,04           | 0,03  | 0,03  | 0,03  | 0,03           | 0,04  | 0,03  | 0,03  | 0,03           | 0,03  | 0,04  | 0,03  |
| C23:0            | 0,03           | 0,02  | 0,02  | 0,02  | 0,02           | 0,03  | 0,02  | 0,02  | 0,02           | 0,02  | 0,02  | 0,02  |
| C22:5 n-3        | 0,09           | 0,08  | 0,08  | 0,09  | 0,09           | 0,09  | 0,08  | 0,08  | 0,08           | 0,09  | 0,09  | 0,08  |

|               |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |
|---------------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| C24:0         | 0,04 | 0,04 | 0,04 | 0,04 | 0,04 | 0,04 | 0,04 | 0,04 | 0,04 | 0,04 | 0,04 | 0,04 | 0,04 |
| C22:6 n-3 DHA | 0,02 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,02 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,01 | 0,00 |
| C24:1         | 0,02 | 0,00 | 0,01 | 0,01 | 0,02 | 0,02 | 0,00 | 0,01 | 0,01 | 0,01 | 0,01 | 0,01 | 0,01 |

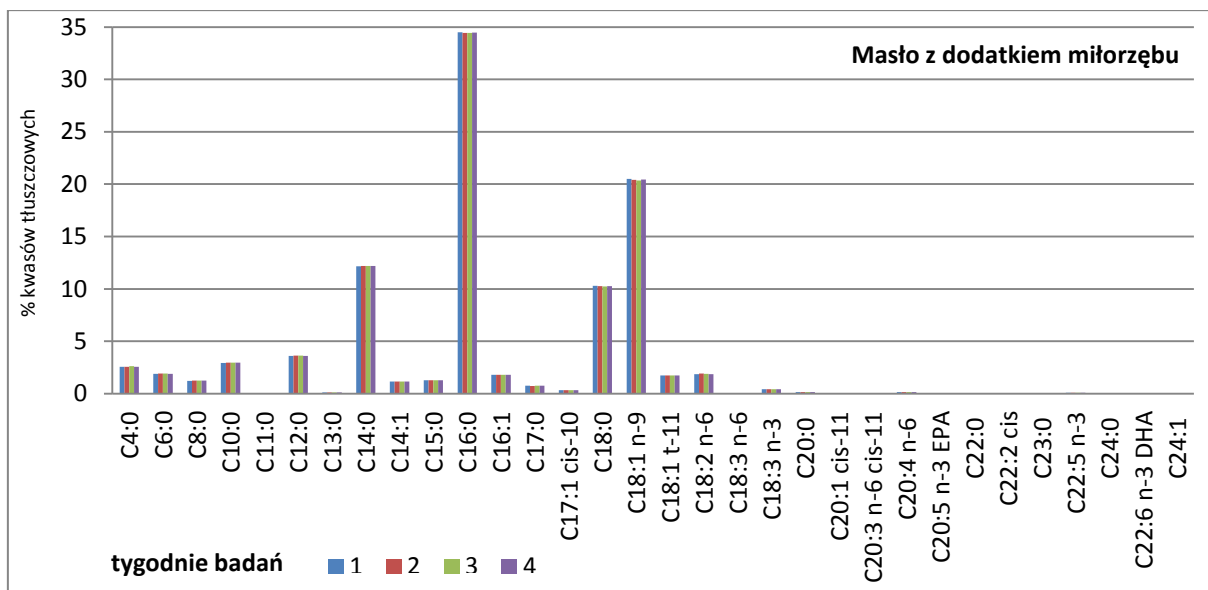
Dla lepszego zobrazowania uzyskanych wyników przygotowano graficzne zestawienie profilu kwasów tłuszczowych dla poszczególnych badanych próbek masła. Na wykresach przedstawiono wyniki procentowego udziału kwasów tłuszczowych w próbce kontrolnej (bez dodatków) (ryc. 31), maśle z dodatkiem mielonych pestek dyni (ryc. 32) oraz w maśle z dodatkiem mielonych liści miłorzębu (ryc. 33). Natomiast na rycinie 34. zaprezentowano uśrednione wyniki z czterech tygodni badań dla wszystkich ocenianych próbek.



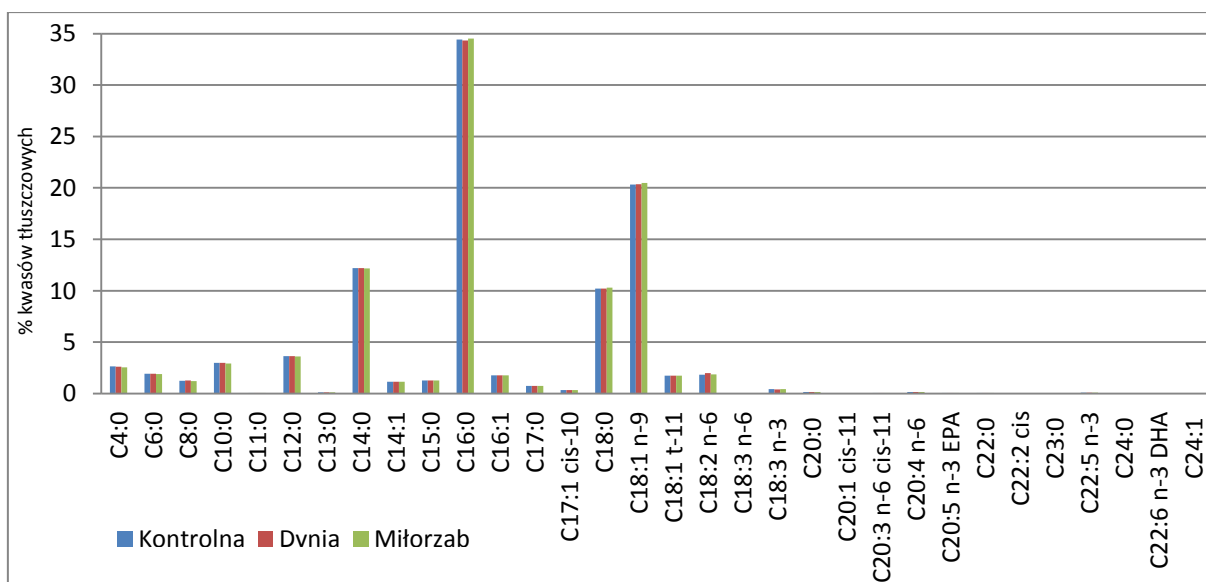
Ryc. 31. Profil kwasów tłuszczowych próby kontrolnej masła bez dodatków w czasie przechowywania



Ryc. 32. Profil kwasów tłuszczowych masła z dodatkiem mielonych pestek dyni w czasie przechowywania



Ryc. 33. Profil kwasów tłuszczowych masła z dodatkiem mielonych liści miłorzębu w czasie przechowywania



Ryc. 34. Profil kwasów tłuszczowych masła bez dodatków, z dodatkiem mielonych pestek dyni i z dodatkiem mielonych liści miłorzębu uśredniony z czterech tygodni badań

### 5.7.2. Masło i mix tłuszczowy z dodatkiem mielonych pestek dyni i liści miłorzębu

Przebadano równolegle masło oraz mix tłuszczowy w trzech wariantach: próba kontrolna (bez dodatków), próba z 1% dodatkiem zmielonych pestek dyni oraz z 1% dodatkiem mielonych liści miłorzębu (tab. 13). Oznaczanie kwasów tłuszczowych wykonano jednorazowo, po czterech tygodniach przechowywania chłodniczego, celem porównania wpływu zastosowanych dodatków na ich zawartość zarówno w maśle jak i w mixie tłuszczowym. Wyniki wyrażono w procentach w stosunku do ogólnej zawartości kwasów tłuszczowych.

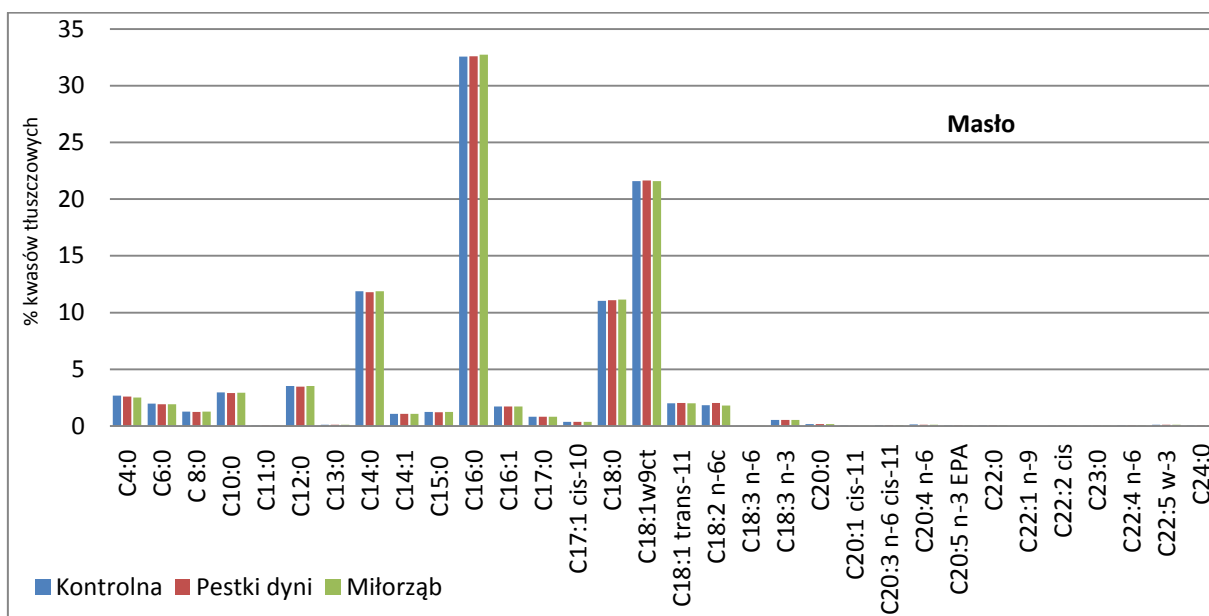
W wyniku przeprowadzonych badań zaobserwowano minimalne różnice, a niejednokrotnie ich brak, w profilu kwasów tłuszczowych pomiędzy próbką bez dodatków, jak i w próbkach z dodatkiem pestek dyni i miłorzębu w obrębie tego samego produktu tłuszczowego. Natomiast różnice stwierdzono pomiędzy próbkami na bazie masła i mixu tłuszczowego. W przypadku próbek na bazie masła, tak jak poprzednio, dominował kwas palmitynowy (C16:0) w ilości ok. 32,6%, a następnie kwasy oleinowy (C18:1 n-9) – ok. 21,6%, mirystynowy (C14:0) – ok. 12% oraz stearynowy (C18:0) – ok. 11%. W przypadku próbek na bazie mixu tłuszczowego przeważał kwas oleinowy (C18:1 n-9) – ok. 31%, następnie kwas palmitynowy (C16:0) – ok. 26%, stearynowy (C18:0) – ok. 9% i mirystynowy (C14:0) – również ok. 9%. Różnice pomiędzy ocenianymi produktami tłuszczowymi są dość znaczne: kwasu palmitynowego w maśle jest o ok. 9,5% więcej niż w mixie, z kolei kwasu oleinowego jest więcej w mixie o ok. 5,5%. W przypadku kwasów mirystynowego i stearynowego różnica na korzyść masła wynosi ok. 2-3%. Również większy udział w maśle mają kwasy masłowy (C4:0) – o ok. 0,75%, kaprynowy (C10:0) – o ok. 0,8% oraz laurynowy (C12:0) – o ok. 2,9%. Z kolei w mixie tłuszczowym zauważalnie większy udział mają kwasy linolowy cis (C18:2n6c) – o ok. 4,2% oraz linolenowy (C18:3n2) – o ok. 1,9% (tab. 13.).

Tabela 13. Profil kwasów tłuszczowych masła i mixu tłuszczowego z dodatkiem mielonych pestki dyni i liści miłorzębu po czterech tygodniach przechowywania

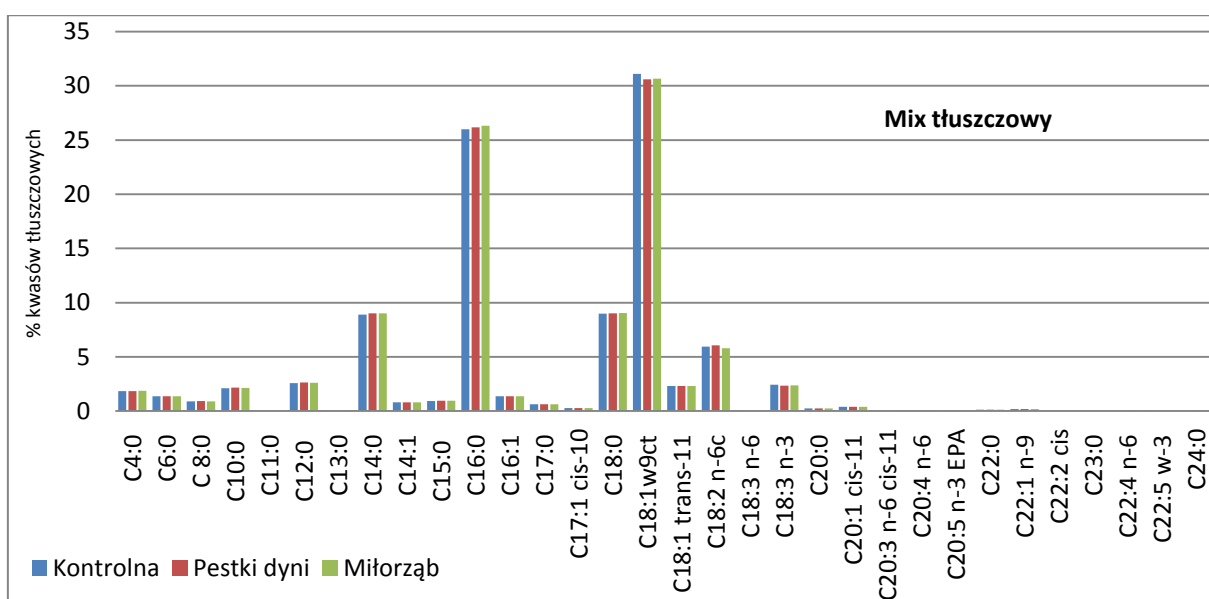
| Kwasy tłuszczowe | Masło     |       |          | Mix       |       |          |
|------------------|-----------|-------|----------|-----------|-------|----------|
|                  | Kontrolna | Dynia | Milorząg | Kontrolna | Dynia | Milorząg |
| C4:0             | 2,68      | 2,61  | 2,51     | 1,86      | 1,84  | 1,87     |
| C6:0             | 1,96      | 1,90  | 1,91     | 1,37      | 1,37  | 1,37     |
| C 8:0            | 1,27      | 1,24  | 1,26     | 0,90      | 0,91  | 0,90     |
| C10:0            | 2,95      | 2,90  | 2,93     | 2,11      | 2,15  | 2,13     |
| C11:0            | 0,06      | 0,05  | 0,05     | 0,04      | 0,04  | 0,04     |
| C12:0            | 3,52      | 3,48  | 3,52     | 2,58      | 2,63  | 2,60     |
| C13:0            | 0,11      | 0,11  | 0,11     | 0,08      | 0,08  | 0,08     |
| C14:0            | 11,87     | 11,79 | 11,88    | 8,89      | 9,02  | 9,01     |
| C14:1            | 1,08      | 1,06  | 1,07     | 0,80      | 0,81  | 0,81     |
| C15:0            | 1,23      | 1,22  | 1,23     | 0,92      | 0,94  | 0,94     |
| C16:0            | 32,56     | 32,60 | 32,72    | 25,99     | 26,17 | 26,31    |
| C16:1            | 1,73      | 1,72  | 1,73     | 1,36      | 1,37  | 1,38     |
| C17:0            | 0,81      | 0,81  | 0,81     | 0,63      | 0,64  | 0,64     |
| C17:1 cis-10     | 0,37      | 0,37  | 0,37     | 0,28      | 0,28  | 0,27     |
| C18:0            | 11,04     | 11,10 | 11,14    | 9,00      | 9,03  | 9,06     |
| C18:1w9ct        | 21,58     | 21,65 | 21,60    | 31,08     | 30,61 | 30,66    |
| C18:1 trans-11   | 2,00      | 2,02  | 2,01     | 2,31      | 2,30  | 2,30     |
| C18:2 n-6c       | 1,83      | 2,03  | 1,81     | 5,95      | 6,07  | 5,81     |
| C18:3 n-6        | 0,04      | 0,04  | 0,04     | 0,04      | 0,03  | 0,04     |
| C18:3 n-3        | 0,53      | 0,53  | 0,53     | 2,43      | 2,35  | 2,38     |
| C20:0            | 0,16      | 0,17  | 0,16     | 0,25      | 0,25  | 0,25     |
| C20:1 cis-11     | 0,04      | 0,04  | 0,04     | 0,40      | 0,38  | 0,39     |
| C20:3 n-6 cis-11 | 0,07      | 0,07  | 0,07     | 0,06      | 0,06  | 0,06     |
| C20:4 n-6        | 0,13      | 0,12  | 0,12     | 0,09      | 0,09  | 0,10     |
| C20:5 n-3 EPA    | 0,06      | 0,05  | 0,06     | 0,04      | 0,05  | 0,05     |
| C22:0            | 0,07      | 0,06  | 0,06     | 0,12      | 0,13  | 0,14     |
| C22:1 n-9        | 0         | 0     | 0        | 0,19      | 0,18  | 0,18     |

|           |      |      |      |      |      |      |
|-----------|------|------|------|------|------|------|
| C22:2 cis | 0,03 | 0,02 | 0,03 | 0    | 0    | 0    |
| C23:0     | 0,03 | 0,03 | 0,03 | 0    | 0,01 | 0    |
| C22:4 n-6 | 0,06 | 0,06 | 0,05 | 0,06 | 0,05 | 0,05 |
| C22:5 w-3 | 0,10 | 0,10 | 0,10 | 0,07 | 0,08 | 0,08 |
| C24:0     | 0,05 | 0,05 | 0,05 | 0,07 | 0,06 | 0,07 |

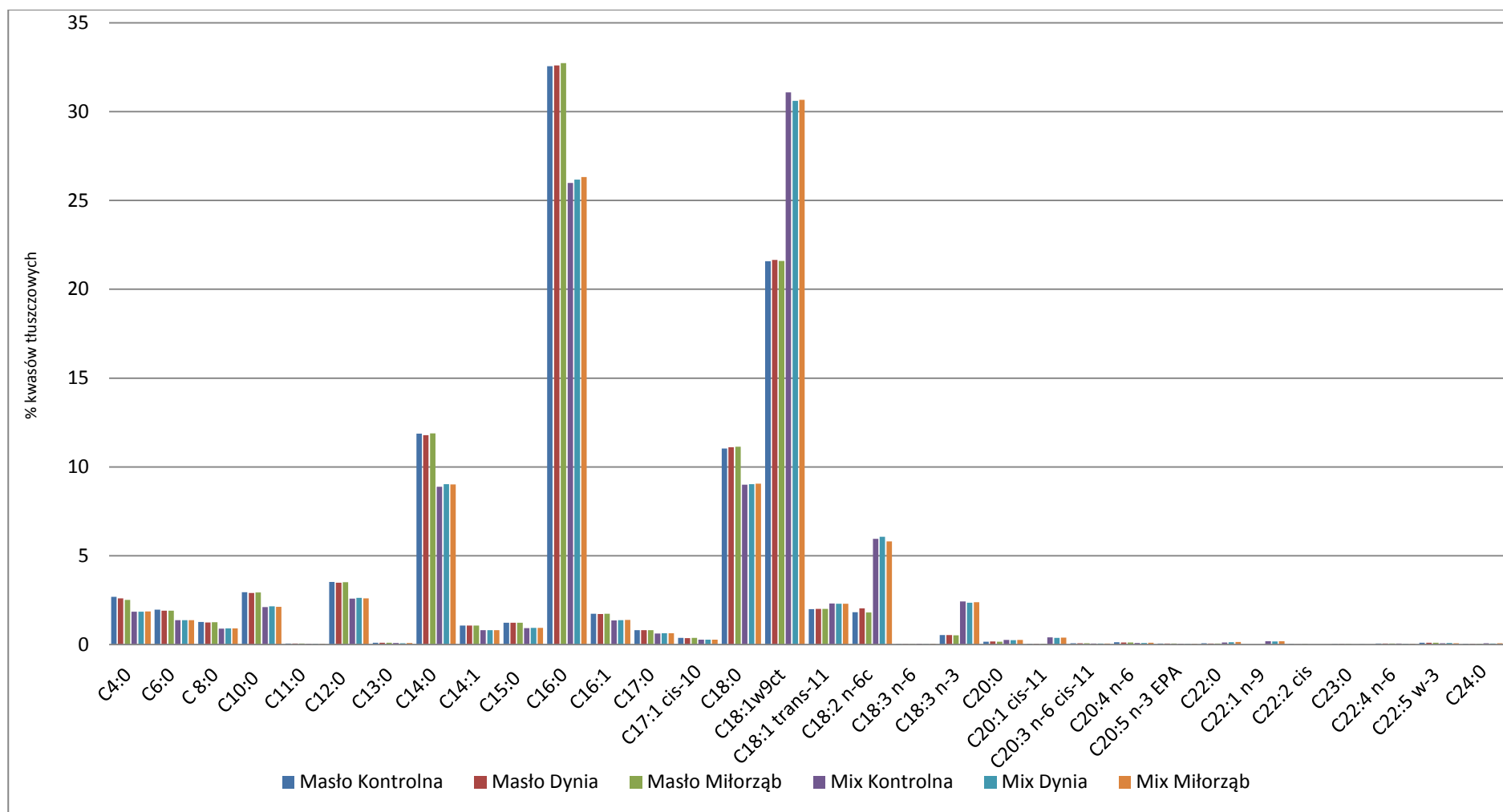
Podobnie jak poprzednio, dla lepszego zobrazowania uzyskanych wyników, poniżej przedstawiono graficzne zestawienie profilu kwasów tłuszczowych masła (ryc. 35) oraz mixu tłuszczowego (ryc. 36) bez dodatków i z dodatkami. Z kolei na rycinie 37 zamieszczono uzyskane wyniki procentowego udziału kwasów tłuszczowych dla wszystkich ocenianych próbek.



Ryc. 35. Profil kwasów tłuszczowych masła bez dodatków, z dodatkiem mielonych pestek dyni i z dodatkiem mielonych liści miłorzębu po czterech tygodniach przechowywania



Ryc. 36. Profil kwasów tłuszczowych mixu tłuszczowego bez dodatków, z dodatkiem mielonych pestek dyni i z dodatkiem mielonych liści miłorzębu po czterech tygodniach przechowywania



Ryc. 37. Porównanie profilu kwasów tłuszczowych masła i mixu tłuszczowego bez dodatków, z dodatkiem mielonych pestek dyni i z dodatkiem mielonych liści miłorzębu po czterech tygodniach przechowywania

## 6. Dyskusja

Przydatność objętych badaniami dodatków roślinnych w postaci ekstraktów, olejów i suszu, do ograniczania lub hamowania niepożądanych zmian frakcji lipidowej masła, oceniono na podstawie ich właściwości antyoksydacyjnych i kwasowości lipidów. Określono również wpływ zastosowanych dodatków na cechy organoleptyczne masła, z tego względu, że dla konsumenta są one czynnikiem decydującym przy zakupie produktów spożywczych.

### *Aktywność antyoksydacyjna*

---

Z dokonanego przeglądu piśmiennictwa wynika, że aktywność antyoksydacyjna produktów pochodzenia roślinnego jest bardzo zróżnicowana, uzależniona głównie od zawartości w nich substancji o działaniu przeciwutleniającym, a co za tym idzie ich możliwości obronnych względem reaktywnych form tlenu. Ogólna zasada działania antyoksydantów polega na ich reakcji z czynnikami utleniającymi – wolnymi rodnikami.

W celu określenia aktywności antyoksydacyjnej ekstraktów oraz olejów roślinnych wybrano jedną z najczęściej stosowanych metod oznaczania aktywności antyoksydacyjnej surowców i produktów spożywczych - metodę z wykorzystaniem odczynnika DPPH [Makarska i Michalak 2005; Samotyja i Urbanowicz 2005, Woźniak i in. 2009]. Jest to stabilny, syntetyczny, komercyjnie dostępny rodnik azowy, stosowany do testowania surowców i produktów roślinnych, których aktywność przeciwutleniająca wynika z zawartości polifenoli [Ali i in. 2008; Jimenez-Escig i in. 2000]. A właśnie ta grupa związków dominowała w większości ocenianych substancji roślinnych.

Metodą tą, jak już wspomniano, przebadano dwa rodzaje dodatków wprowadzanych do masła: ekstrakty roślinne oraz oleje roślinne. Pozostałe dodatki, stosowane w postaci zmielonego suszu, nie ulegały całkowitemu rozpuszczeniu i z tego powodu nie mogły być poddane tej analizie. Wprawdzie możliwe było sporządzenie ekstraktów z tych surowców przy pomocy innych niż woda rozpuszczalników i w tej postaci ocenienie ich aktywności antyoksydacyjnej, jednak obawiano się, że porównanie wyników aktywności antyoksydacyjnej tak przetworzonego surowca mogło być nie w pełni miarodajne w stosunku do jego właściwości w postaci suszu, a w takiej postaci wprowadzano go do masła.

Pod względem aktywności antyoksydacyjnej przebadano łącznie dwanaście różnych sproszkowanych ekstraktów roślinnych. Uzyskane wyniki były bardzo zróżnicowane. Niską

aktywnością charakteryzowały się ekstrakty z pietruszki, papryki, pieprzu, czosnku, pora, pomarańczy i banana – żaden z nich nie przekroczył 50% aktywności, a większość oscylowała w granicach 20%. Większą aktywnością antyoksydacyjną odznaczały się ekstrakty z wiśni i z malin. Podczas oceny ich aktywności, bezpośrednio po otwarciu opakowania, przekroczyły poziom 50%, zbliżając się nawet do 60% w większym stężeniu. Natomiast aktywność antyoksydacyjna tych ekstraktów mierzona w okresie późniejszym była mniejsza. Podobną zależność zaobserwowano w przypadku aktywności ekstraktów z pestek winogron, czerwonej herbaty i miłorzębu. Najprawdopodobniej wiązało się to z dłuższym okresem przechowywania oraz rozszczelnieniem hermetycznego opakowania, co spowodowało dostęp powietrza, a szczególnie tlenu. Mogło to skutkować obniżeniem właściwości przeciwutleniających zawartych w nich związków. Można też przypuszczać, że nastąpiło pogorszenie jakości mikrobiologicznej ocenianych ekstraktów. Stwierdzono zatem, że w przypadku stosowania sproszkowanych ekstraktów należy zwrócić szczególną uwagę na sposób i czas ich przechowywania. Największą aktywność antyoksydacyjną wśród przebadanych substancji wykazały ekstrakty z pestek winogron oraz miłorzębu (ok. 70% w pierwszym badaniu), natomiast ekstrakt z czerwonej herbaty w każdym przypadku posiadał niższą aktywność przeciwutleniającą. Również Gozdur i wsp. [2010] w badaniach nad tabletkami ze sproszkowanym wyciągiem z nasion winogron również udowodnili jego wysoką aktywność antyoksydacyjną, zależnie od jego zawartości mieszczącą się w przedziale od 60 do prawie 100%. W przypadku miłorzębu Mensor i wsp. [2001] również wykazali jego wysokie właściwości przeciwutleniające. Natomiast, określona w badaniach własnych aktywność antyoksydacyjna ekstraktu z czerwonej herbaty, była prawie taka sama jak stwierdzona przez Fika i Zawislaka [2004]. Autorzy ci badając ekstrakty z różnego rodzaju herbat dostępnych na rynku stwierdzili, że właśnie czerwona herbata, jako półfermentowana wykazywała większą zdolność do redukcji wolnych rodników (rzędu 67%) niż herbaty czarne czy nawet zielone. Jednakże wyniki prac innych badaczy [Von Gadow i in. 1997; Lin i in. 1998; Benzie i Szeto 1999] nie potwierdzają tych rezultatów, wskazując na najwyższą aktywność przeciwutleniającą ekstraktów z niefermentowanych herbat zielonych.

W dalszych badaniach określono aktywność antyoksydacyjną wybranej grupy olejów roślinnych tłoczonych na zimno. Stwierdzono, że aktywność antyoksydacyjna przebadanych olejów była bardzo wysoka, znacznie wyższa niż poprzednio badanych sproszkowanych ekstraktów. W przypadku olejów z ostropestu i rzepaku była zbliżona do 90%, a w przypadku najwyższego (10%) przebadanego stężenia olejów z pestek dyni i orzecha włoskiego nawet

do 100%. Siger i wsp. [2005], a także Papadimitriou i wsp. [2006] stwierdzili istnienie korelacji pomiędzy zawartością polifenoli w olejach, a ich zdolnością do wygaszania wolnych rodników. Przedmiotem badań Sigera i wsp. [2005] były oleje rzepakowy, sojowy i słonecznikowy - wykazali oni, że olej rzepakowy charakteryzował się największą ilością kwasów fenolowych, szczególnie kwasu sinapowego oraz posiadał najlepsze właściwości przeciwutleniające. Natomiast Papadimitriou i wsp. [2006] badali, różnymi metodami, stabilność oksydacyjną oliwy z oliwek i stwierdzili, że jest ona ściśle skorelowana z zawartością w niej polifenoli i tokoferoli. Espin i wsp. [2000] po przebadaniu szeregu jadalnych olejów roślinnych metodą z wykorzystaniem wolnego rodnika DPPH wykazali, że tylko część z nich ma te właściwości. Badaniami objęto oliwę z oliwek oraz oleje: słonecznikowy, szafranowy, rzepakowy, sojowy, z siemienia lnianego, kukurydziany, z orzecha laskowego, z orzecha włoskiego, sezamowy, migdałowy i arachidowy, niestety nie podano informacji czy były to oleje tłoczone na zimno. Jedynie w przypadku oliwy z oliwek, oleju lnianego, rzepakowego, szafranowego, sezamowego i z orzecha włoskiego stwierdzono istotne statystycznie różnice w zdolności zmiatania wolnych rodników w obecności związków fenolowych. Spośród wymienionych powyżej olejów, w badaniach własnych stosowano dwa, a mianowicie olej rzepakowy i z orzecha włoskiego, które odznaczały się bardzo wysoką aktywnością przeciwutleniającą.

Spośród czynników wpływających na aktywność antyoksydacyjną związków fenolowych wymienia się pozycję i liczbę grup hydroksylowych w strukturze cząsteczek, polarność, rozpuszczalność a także ich stabilność w czasie przerobu [Decker 1998]. Związki te, powszechnie występujące w żywności pochodzenia roślinnego, są także obecne w surowcach oleistych, w których obok prostych rozpuszczalnych form występują formy spolimeryzowane – taniny oraz nierozpuszczalne – ligniny. Naturalne polifenole obecne w surowcach oleistych wykazują znaczącą aktywność antyoksydacyjną. Przedmiotem badań Mińkowskiego i wsp. [2013] były oleje z nasion lnu, lnianki, konopi i zmijowca. Badaniom poddano oleje wytłoczone na zimno, oleje pozbawione natywnych związków fenolowych oraz oleje wzbogacone w hydrofobową frakcję związków fenolowych wyizolowanych z odolejonych nasion. Usunięcie związków fenolowych z olejów skutkowało wyraźnym obniżeniem ich stabilności oksydacyjnej w teście Rancimat oraz aktywności antyrodnikowej względem rodnika DPPH. Dodatek hydrofobowych związków fenolowych wyizolowanych z nasion poprawiał stabilność oksydacyjną i potencjał antyrodnikowy wytłoczonych z nich olejów. Właściwości antyrodnikowe polifenoli nie były jednak duże. Skuteczność działania tych

związków była zróżnicowana w zależności od rodzaju oleju i stosowanej dawki. Najwyższy współczynnik ochronny (0,52) uzyskano w przypadku oleju zmięciowego, przy zastosowaniu maksymalnej dawki 1500 ppm. Największy wzrost aktywności antyrodnikowej względem rodnika DPPH stwierdzono w oleju lnianym [Mińkowski i in. 2013].

### ***Zawartość aldehydu malonowego***

---

W następnej kolejności skupiono się na odpowiedzi na pytanie czy wprowadzane do masła dodatki wykazywały zdolność do hamowania oksydacji tłuszczu. Metod oznaczania stabilności oksydacyjnej tłuszczów jest wiele. W niniejszej pracy zdecydowano się na zastosowanie metody z użyciem kwasu tiobarbiturowego (TBA), ze względu na to, że jest dokładna i powtarzalna. Wielu badaczy przy określaniu wpływu substancji przeciwutleniających na stabilność oksydacyjną masła również ją stosowało [Ozturk i Cakmakci 2006; Dagdemir i in. 2009; Jasińska i Wąsik 2010]. Wprawdzie pewnym jej mankamentem jest to, że kwas tiobarbiturowy reaguje nie tylko z aldehydem malonowym, ale również z innymi związkami. Stąd obecnie często w literaturze, do oznaczenia oksydacji lipidów z użyciem TBA, celem doprecyzowania, używa się określenia, metodą TBARS, czyli substancji tworzących barwne kompleksy z TBA. Jednym z ograniczeń testu TBARS jest mała stabilność aldehydu malonowego i innych krótkołańcuchowych produktów utleniania tłuszczów, wynikająca z ich dalszej oksydacji do alkoholi i kwasów organicznych [Fernandez i in. 1997]. Jednak w tym przypadku, ze względu na skład chemiczny masła i sposób pozyskania tłuszczu (łagodne ogrzewanie i wirowanie), można przyjąć, że w przypadku próby kontrolnej (masło bez dodatków) kwas tiobarbiturowy reagował prawie wyłącznie z produktami oksydacji lipidów masła, natomiast pewnym błędem mogły być obarczone wyniki dotyczące próbek masła z dodatkami.

W wyniku przeprowadzonych badań nad zawartością aldehydu malonowego w próbkach masła z dodatkiem ocenianych wodnych roztworów sproszkowanych ekstraktów roślinnych nie uzyskano jednoznacznej odpowiedzi na pytanie czy w maśle wzbogaconym tymi dodatkami wolniej zachodziło utlenianie tłuszczu w porównaniu do masła bez dodatków (próba kontrolna). Kilkakrotnie uzyskano istotnie niższą zawartość aldehydu malonowego względem próbki kontrolnej, jednak nie zaobserwowano wyraźnej tendencji wskazującej na ich skuteczne działanie hamujące utlenianie tłuszczu. Ekstrakty z pestek winogron, czerwonej herbaty, miłorzębu i ostropestu w największym stopniu hamowały ten proces. Zastosowanie w pracy tych konkretnych ekstraktów w odniesieniu do masła było zabiegiem nowatorskim

i brak jest opublikowanych badań nad ich wpływem na utlenianie lipidów masła, co uniemożliwia porównanie wyników badań własnych z dostępną wiedzą w tym zakresie. Jednakże w literaturze dostępnych jest wiele doniesień co do ich skutecznego działania antyoksydacyjnego względem innych surowców i produktów spożywczych o dużej zawartości tłuszczu, jak mięso i jego przetwory.

W technologii żywności najlepiej przebadanymi ekstraktami pod kątem ich wpływu na hamowanie utleniania tłuszczu są ekstrakty z szałwii, rozmarynu, oregano, tymianku czy zielonej herbaty [Ayar i in. 2001; Gramza-Michałowska i in. 2007; Dagdemir i in. 2009]. Badania przeprowadzone przez Karre i wsp. [2013] na mięsie i drobiu wykazały że ekstrakt z pestek winogron posiadał 20 razy silniejsze właściwości przeciwutleniające niż witamina E, zaś w porównaniu do kwasu askorbinowego były one 50 razy wyższe. Colindres i Brewer [2011] badali skuteczność zapobiegania zmianom oksydacyjnym w mielonej wołowinie przez wybrane ekstrakty roślinne oraz syntetyczne przeciwutleniacze. Najefektywniejszy był galusan propylu i ekstrakt z pestek winogron, następnie oleożywica rozmarynu, BHA oraz wodny ekstrakt oregano. Wysoki potencjał antyoksydacyjny ekstraktu z pestek winogron w produktach mięsnych stwierdził także Kulkarni ze współpracownikami [2011]. Skuteczność działania tego dodatku w porównaniu do galusanu propylu była badana na modelu kielbasy wołowej po 4 miesięcznym zamrażalniczym przechowywaniu. Użycie ekstraktu z pestek winogron w stężeniu 100 oraz 300 ppm skutkowało podobnym, a nawet wyższym efektem oksydacyjnym w porównaniu z galusanem propylu (100 ppm). Ekstrakt z miłorzębu był przedmiotem badań Kobus-Cisowskiej i wsp. [2014], stwierdzono, że zdolność hamowania utleniania tłuszczu w klopsikach wieprzowych (500 ppm), po 21 dniach przechowywania była wyższa niż w przypadku zastosowania BHT, użytego w maksymalnej, dopuszczalnej dawce (200 ppm).

Przeprowadzone badania własne wykazały, że dodatek, olejów roślinnych tłoczonych na zimno, nie spowodował w żadnym przypadku zahamowania zmian oksydacyjnych, pomimo ich wysokiej aktywności antyoksydacyjnej. Niejednokrotnie wręcz działał prooksydacyjnie na frakcję lipidową badanych próbek masła. W największym stopniu można to było zaobserwować przy dodatku oleju z rzepaku oraz orzecha włoskiego.

Należy zaznaczyć, że w olejach tłoczonych na zimno znajdują się zarówno pro jak i antyoksydanty. Do naturalnych przeciwutleniaczy zaliczamy w tym wypadku m.in. karotenoidy, tokoferole, sterole, fosfolipidy i związki fenolowe, a substancje niepożądane działające proutleniająco to m.in. chlorofile i metale, szczególnie żelazo i miedź, enzymy

uczestniczące w procesie hydrolizy i utleniania lipidów [Sionek 1997; Koski i in. 2002]. Pewną rolę może odgrywać również ich jakość mikrobiologiczna, a zwłaszcza mikroflora o zdolnościach lipolitycznych.

Stwierdzono [Krygier i in. 1998], że w oleju rzepakowym tłoczonym na zimno było 10-krotnie więcej żelaza niż w oleju rzepakowym rafinowanym. W innych badaniach [Wroniak i in. 2006] ocenie poddano 11 olejów tłoczonych na zimno, w tym rzepakowy i z pestek dyni. Zaobserwowano, że w oleju z pestek dyni przekroczona była zawartość miedzi. Zawierał on również najwyższą zawartość barwników chlorofilowych, co w połączeniu z wysoką zawartością miedzi przyczyniło się do wysokiego stopnia utlenienia tego oleju. Natomiast Wroniak i Cenker [2015] porównywali jakość i stabilność oksydacyjną wybranych olejów tłoczonych na zimno, wśród których znajdował się olej rzepakowy, z awokado, pestek dyni oraz orzecha włoskiego. Stwierdzono, że najwyższą kwasowością odznaczał się olej z orzecha włoskiego i z orzechów brazylijskich, a najwyższą liczbą nadtlenną olej z awokado. Z kolei najwięcej barwników chlorofilowych zawierał olej z awokado, a karotenoidów olej z pestek dyni. Zaobserwowano również, że w czasie chłodniczego przechowywania pierwotny i wtórny stopień utlenienia wszystkich ocenianych olejów intensywnie wzrastał.

Z badań Sielickiej [2014] wynika, że olej z czarnuszki i wiesiołka posiadał wysokie właściwości przeciwutleniające, natomiast olej z pestek dyni, orzecha włoskiego, rzepakowy i lniany charakteryzowały się umiarkowanymi właściwościami antyoksydacyjnymi. Autorka wykazała również, że jednoczesny dodatek oleju z wiesiołka oraz oleju z czarnuszki do oleju lnianego spowodował podwyższenie jego stabilności oksydacyjnej. W pewnym stopniu potwierdzają to wyniki badań własnych, ponieważ zawartość aldehydu malonowego, w czasie przechowywania, w maśle z dodatkiem oleju z czarnuszki była mniejsza niż w maśle z dodatkiem oleju rzepakowego. Z kolei prowadzone przez Wroniak i wsp. [2012] badania dotyczące jakości mikrobiologicznej 17 olejów tłoczonych na zimno zakupionych w handlu detalicznym, w tym oleju z pestek dyni i rzepakowego, nie wykazały w nich obecności pleśni oraz bakterii lipolitycznych i beztlenowych. W siedmiu olejach, w tym z pestek dyni i rzepakowym nie stwierdzono wzrostu żadnych drobnoustrojów.

Skład chemiczny zastosowanych w badaniach własnych olejów nie był określany. W związku z powyższym można jedynie przypuszczać, na podstawie dostępnej literatury, że brak wyraźnego ograniczania lub hamowania oksydacji lipidów masła przez dodawane oleje, mógł wynikać ze zwiększonej zawartości prooksydantów lub obniżonej zawartości antyoksydantów.

Badania przeprowadzone przez Szczucińską i wsp. [2003] wykazały korzystny wpływ wprowadzenia oleju z ostropestu do masła i innych wyrobów tłuszczowych. Porównując stabilność oksydacyjną tłuszczów bez oleju i z jego dodatkiem stwierdzono, że we wszystkich przypadkach dodatek oleju z ostropestu pozwalał na wyraźne zwiększenie stabilności oksydacyjnej badanych tłuszczów. Uzyskane wyniki zostały opatentowane [patent 198127 z dnia 30.05.2008]. Ocenę opatentowanego preparatu olejowego z ostropestu plamistego, przeprowadzono z wykorzystaniem aparatu Rancimat. Stwierdzono, że czas inkubacji masła z 5% dodatkiem preparatu olejowego z ostropestu plamistego, był dłuższy niż 44 godziny, a dla masła bez jego dodatku wyniósł 19,5 godziny. Natomiast w przypadku 3% dodatku tego preparatu do masła czas inkubacji wyniósł 39,7 godziny, dla masła bez jego dodatku 25,9, a z dodatkiem oleju sojowego 24,5 godziny.

Jednakże w przytoczonych badaniach użyto oleju ekstrahowanego etanolem, co spowodowało że uzyskany olej zawierał 0,8% domieszkę sylimaryny, która jest naturalnym przeciwutleniaczem. W badaniach przeprowadzonych na potrzeby niniejszej pracy zastosowano oleje tłoczone na zimno. Możliwe iż to było powodem, dla którego substancje o działaniu przeciwutleniającym nie znalazły się w odpowiedniej ilości w ocenianych olejach i w konsekwencji wprowadzenie ich do masła nie dało efektu zahamowania jego utleniania. Można przypuszczać, na podstawie literatury, że pewną rolę mogły odgrywać również prooksydanty.

Niekorzystne zmiany w olejach mogą być inicjowane w nasionach roślin oleistych, natomiast podczas produkcji olejów są one nieuniknione [Cichosz i Czeczot 2011]. Zakres przemian oksydacyjnych w olejach zależy od warunków przechowywania: temperatury, dostępu tlenu i światła oraz rodzaju opakowania [Prescha i in. 2008]. Przy kontakcie tłuszczu z tlenem możliwe jest zapoczątkowanie wolnorodnikowych reakcji łańcuchowych. Światło może zainicjować utlenianie tlenem singletowym o wyjątkowo wysokiej reaktywności: 1450 razy większej niż tlen tripletowy [Tańska i Rotkiewicz 2003; Bartosz 2013].

Z kolei dodatek mielonych nasion ostropestu wpłynął na zmniejszenie zawartości aldehydu malonowego w maśle. Nasiona ostropestu plamistego obok oleju (około 20%) zawierają również kompleks bioflawonoidów zwanych sylimaryną (1,5–3%) o silnych właściwościach antyutleniających [Szczucińska i in. 2003]. Badania przeprowadzone przez Katiyar [2003] również dowodzą silnych właściwości antyutleniających nasion tej rośliny.

W przypadku pozostałych, objętych badaniami, dodatków roślinnych generalnie zawartości aldehydu malonowego były zbliżone do próby kontrolnej. Odnotowano nieliczne przypadki, kiedy zawartość ich osiągnęła istotnie niższy poziom w odniesieniu do próby kontrolnej (najczęściej dotyczyło to nasion czarnuszki, pestek dyni i miłorzębu), jednak tendencja ta nie była stała dla całego okresu trwania doświadczenia.

Uzyskane wyniki badań nie pozwalają jednoznacznie stwierdzić, że użyte dodatki roślinne zapewnią spowolnienie jęlczenia masła w czasie przechowywania dla każdej partii produktu. Przyczyną takiego stanu rzeczy może być zróżnicowana zawartość substancji aktywnych w zastosowanych dodatkach roślinnych. Odpowiednie wyekstrahowanie tychże substancji mogłoby wpłynąć na bardziej powtarzalne wyniki tego doświadczenia. Na podstawie przeprowadzonych badań jedynie można stwierdzić, że w przeważającej części zastosowane dodatki nie działały prooksydacyjnie. Wskazuje na to fakt, że w większości przypadków stwierdzone różnice w zawartości aldehydu malonowego pomiędzy masłem z dodatkami a masłem bez dodatków nie były statystycznie istotne.

### ***Kwasowość tłuszczu***

---

Przeprowadzone badania obejmowały, oprócz określenia utleniania lipidów masła również stopień ich hydrolizy w czasie czterech tygodni chłodniczego przechowywania. Kwasowość tłuszczu wyrażono w stopniach kwasowości.

Dodatek wodnych roztworów sproszkowanych ekstraktów roślinnych nie wpłynął w żadnym przypadku na kwasowość próbek masła. Nie odnotowano istotnych statystycznie różnic pomiędzy poszczególnymi wariantami z dodatkami, a próbką kontrolną.

Zastosowanie dodatku olejów roślinnych do masła powodowało zwiększenie kwasowości tych próbek względem próbki kontrolnej. W przypadku olejów z ostropestu, rzepaku, pestek dyni i orzecha włoskiego wzrost ten był niewielki, statystycznie nieistotny, natomiast dodatek olejów z czarnuszki oraz awokado istotnie zwiększył kwasowość lipidów badanych próbek masła. Przedstawione powyżej wyniki badań własnych różnią się od zaprezentowanych przez Wroniak i Ceniera [2015], którzy stwierdzili, że spośród 11 ocenianych olejów tłoczonych na zimno, największą kwasowością odznaczał się olej z orzecha włoskiego i orzechów brazylijskich oraz pestek dyni. Wysoka kwasowość tych olejów może wskazywać na występowanie w nich, oprócz kwasów tłuszczowych związanych w triacyloglicerolach, znacznej ilości wolnych kwasów tłuszczowych. Szczucińska i wsp. [2003] również zwracają

uwagę na związek dużej zawartości wolnych kwasów tłuszczowych w olejach roślinnych na ich wyższą niż w innych przypadkach kwasowość tłuszczu. Ich badania wykazały również, że wysoka kwasowość oleju jest właściwością świeżych olejów. W niniejszej pracy użyto olejów zakupionych w handlu detalicznym w trakcie okresu przydatności do spożycia, trudno zatem stwierdzić jak długo były przechowywane przed ich dodaniem do masła.

Wzrost kwasowości lipidów masła zaobserwowano również w przypadku zastosowania suszonych dodatków roślinnych. Dodatek mielonych nasion ostropestu do masła we wszystkich przypadkach zwiększał jego kwasowość. Im dodatek ten był większy, tym kwasowość wyższa. Natomiast ten sam dodatek wprowadzony w postaci ekstraktu nie powodował zwiększenia kwasowości w czasie przechowywania, pomimo że kwasowość próby kontrolnej wzrastała. Należy przypuszczać, że powodem tego mogło być większe zanieczyszczenie drobnoustrojami o właściwościach lipolitycznych suszu niż ekstraktu z ostropestu. Również Hać-Szymańczuk i Cegiełka [2015] sugerują, że słabsze działanie przeciwdrobnoustrojowe suszu z szalwii, niż jej wodnych i alkoholowych ekstraktów w produkcie mięsnym, mogło wynikać z ich mniejszego zanieczyszczenia początkowego oznaczanymi drobnoustrojami niż suszonej szalwii.

Pozostałe dodatki również wpływały w większym lub mniejszym stopniu na zwiększenie kwasowości badanych próbek, jednak w żadnym przypadku nie była ona mniejsza niż w próbce kontrolnej czyli maśle bez dodatków. Największy wzrost kwasowości lipidów stwierdzono przy zastosowaniu nasion czarnuszki. Może to być związane z obecnością w użytych dodatkach mikroorganizmów o właściwościach lipolitycznych. Adahchour i wsp. [2005] stwierdzili wpływ działalności mikroorganizmów na powstawanie kwasów organicznych, w tym wypadku zwiększających kwasowość masła. Oceniono [Sagdic i in. 2010] wpływ dodatku majeranku cząbru i czarnuszki na zawartość drożdży w pakowanym i niepakowanym maśle. W największej ilości w maśle występowały: *Candida kefyr*, *Candida zeylanoides* i *Candida lambica*. Czarnuszka dodawana do masła była najbardziej skuteczna w stosunku do *C. zeylanoides* i *lambica*, gdzie nawet obserwowano całkowite zahamowanie rozwoju tych drożdży. Z kolei cząber był skuteczniejszy w przypadku hamowania rozwoju *C. kefyr*. Prowadzono również badania [Brużewicz i Malicki 2007] mające na celu określenie stanu mikrobiologicznego dostępnych na rynku przypraw oraz ocenę przeżywalności obecnych w nich drobnoustrojów w trakcie półrocznego przechowywania. Wyróżniono przyprawy, których poziom zanieczyszczenia mikrobiologicznego, w czasie przechowywania pozostawał niezmienny, ulegał obniżeniu lub wzrastał, co uzależnione było od obecności

składników antybakteryjnych. Wiadomo bowiem, że skuteczność naturalnych substancji antybakteryjnych może ulegać istotnemu obniżeniu przy zbyt dużej liczbie drobnoustrojów [Cushnie i in. 2003].

Jak wynika z cytowanego piśmiennictwa jakość mikrobiologiczna surowca jak i dodatków ma istotny wpływ na jakość żywności. W realizowanej pracy, na tym etapie nie planowano badań mikrobiologicznych. Wszystkie zastosowane do masła i mixu dodatki były dostępne w handlu i użyte w okresie przydatności do spożycia, co gwarantowało ich bezpieczeństwo dla konsumenta. W następnym etapie, spośród ocenianych dodatków, badania mikrobiologiczne planowano jedynie stosunku do tych, które znacznie ograniczałyby lub hamowały niepożądane zmiany frakcji lipidowej masła. Natomiast oceniane w tej pracy dodatki tego warunku nie spełniały. Z kolei uzyskane na tym etapie wyniki mogłyby mieć zastosowanie praktyczne, ponieważ w zakładach mleczarskich jako dodatki stosuje się przyprawy o jakości mikrobiologicznej dostępnej na rynku. Stopień skażenia mikrobiologicznego zależy od wielu czynników i może mieć charakter pierwotny, spowodowany drobnoustrojami naturalnie bytującymi na roślinach (mikroflora epifityczna) lub wtórny, zanieczyszczenia drobnoustrojami gleby, wody czy powietrza podczas zbioru, suszenia, transportu i przechowywania [Kunicka–Styczyńska i Śmigielski 2011; Cheng i in. 2013].

Istnieją różne sposoby uniknięcia niekorzystnego oddziaływania takich dodatków. Dekontaminacja, jako neutralizacja mikroorganizmów, w tym bakterii, pasożytów i grzybów w surowcach, półproduktach i produktach żywnościowych może przebiegać z zastosowaniem metod fizycznych lub chemicznych, jednak każda z nich ma swoje wady i zalety. Stosowane obecnie metody dekontaminacji surowców roślinnych (ditlenek węgla pod ciśnieniem, fale elektromagnetyczne, mikrofale, ekstruzja, para wodna, promieniowanie jonizujące, wysokie ciśnienie hydrostatyczne, formaldehyd, alkohol etylowy, tlenek etylenu) wykazują wprawdzie skuteczność w redukcji mikroflory zakażającej, ale przyczyniają się też do utraty związków biologicznie aktywnych [Brodowska i in. 2014, Przetaczek-Rożnowska i Kuźniak 2016]. Nowszą procedurą jest dekontaminacja surowców roślinnych ozonem. Związek ten jest silną substancją przeciwbakteryjną; ma wysoki potencjał oksydacyjno–redukcyjny (2,07 V), na którą podatne są bakterie gramdodatnie, np. *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*; bakterie gramujemne, np. *Escherichia coli*, *Salmonella Typhimurium*; wirusy, drożdże, np. *Candida parapsilosis* oraz spory bakteryjne, np. *Bacillus cereus*. Drobnoustroje wykazują zróżnicowaną wrażliwość na ozon. Bakterie są bardziej wrażliwe niż grzyby, a bakterie

gramdodatnie bardziej niż gramujemne. Z kolei spory bakteryjne są odporne w większym stopniu niż komórki wegetatywne [Dyas i in. 1983; Young i Setlow 2004; Półjanowska i in. 2007; Pascual i in. 2007]. W literaturze patentowej przedstawiono procedury dla ziół z zastosowaniem ozonu rozpuszczonego w wodzie [Gong i Yuan 2012]. Z kolei Grabowski w swojej rozprawie doktorskiej [2016] wskazał na możliwość zastosowania plazmy nietermicznej w celu sterylizacji przypraw, uzyskując bardzo zadowalające rezultaty w przypadku pieprzu.

Należy również zaznaczyć, że określona w normie PN-A-86155:1995 wartość graniczna kwasowości dla lipidów masła wynosząca 2° kwasowości została przekroczona w nielicznych przypadkach, głównie w maśle z dodatkiem nasion ostropestu i czarnuszki. W pozostałych próbkach badawczych wartość ta nie została przekroczona przez cały okres trwania badań.

### *Ocena organoleptyczna*

---

Obok wskaźników chemicznych równie ważną rolę w ocenie jakości objętego badaniami masła odgrywała ocena organoleptyczna. Pozwalała ustalić, czy wprowadzane do masła dodatki nie powodowały niepożądanych zmian smakowo-zapachowych oraz konsystencji, a także wyglądu i barwy masła. Nawet jeśli zastosowany dodatek będzie wpływał na ograniczenie lub zahamowanie procesu jęlczenia masła, to negatywna ocena sensoryczna dyskwalifikuje jego stosowanie, gdyż taki produkt po prostu nie znajdzie nabywców na rynku.

Podczas przeprowadzenia oceny organoleptycznej stwierdzono, że dodatek wodnych roztworów sproszkowanych ekstraktów roślinnych nie wpływał na smak i zapach masła, pozostawiając jego naturalny smak i aromat. Stwierdzone różnice w wyznacznikach organoleptycznych wynikały z zachodzących zmian hydrolitycznych i oksydacyjnych frakcji lipidowej masła.

W przypadku dodatku olejów do masła zauważalny był ich wpływ na jego wyróżniki organoleptyczne. Zdecydowanie poprawiła się jego smarowność wraz ze wzrostem ich udziału w mieszaninie, co potwierdzają badania Glibowskiego [2007] nad wpływem olejów roślinnych na teksturę bezwodnego tłuszczu mlecznego. Również Żywica z zespołem [2012] oraz Smoczyński i wsp. [2006] wskazują na wystąpienie takiego zjawiska. Zastosowane oleje powodowały wyraźne zmiany zapachu, smakowości oraz barwy masła na charakterystyczne dla zastosowanego oleju. W przypadku olejów o atrakcyjnym smaku i aromacie była to

zmiana akceptowalna, jak w przypadku olejów z awokado, pestek dyni czy orzecha włoskiego. W badaniach własnych masła z dodatkiem oleju z awokado, pestek dyni i orzecha włoskiego zostały wysoko ocenione i uzyskały taką samą ilość punktów – 4,55 przez cały okres składowania. Natomiast wyniki akceptacji konsumenckiej samych olejów, uzyskane przez Wroniak i Cenkiera [2015] były nieco inne, a mianowicie: najwyżej oceniony został olej z orzechów arachidowych, a następnie z pestek dyni i orzechów włoskich, natomiast najniżej oceniono olej z awokado. Dodatek olejów z czarnuszki czy ostropestu znacznie pogarszał smakowość masła. Również autorzy patentu nr 198127 stwierdzili, że dodanie zbyt dużej ilości preparatu z nasion ostropestu może wpływać na smak tłuszczu spożywczego w tym masła. Stwierdzono [Sielicka 2014], że olej z czarnuszki, charakteryzujący się ostrym, drażniącym zapachem i silnie ziołowym smakiem dodany w niewielkich ilościach (1-5%) zdominował aromat charakterystyczny dla oleju lnianego.

Dodatek ostropestu do masła miał negatywny wpływ na jego ocenę organoleptyczną, zwłaszcza pod kątem smaku i zapachu. Były również wyczuwalne cząstki rozdrobnionych nasion, co dawało uczucie piaszczystości. W przypadku mielonych nasion wyróżniki te otrzymały bardzo niskie oceny, trochę wyższe zanotowano w przypadku zastosowania ekstraktów, choć im większy ich dodatek tym noty były niższe.

Wśród pozostałych mielonych surowców roślinnych najbardziej zbliżone oceny do masła bez dodatków miały próbki z dodatkiem pestek dyni. Zastosowanie tego dodatku pozwoliło na uzyskanie stabilnie wysokiej jakości produktu w czasie trwania badań. Dodatek miłorzębu, poza delikatną zmianą barwy na zielonkawą, również nie wpłynął znacząco na pogorszenie smaku i zapachu badanego masła. Pozostałe dodatki w niekorzystny sposób wpłynęły na ocenę organoleptyczną masła powodując wyeliminowanie możliwości ich stosowania jako dodatku do masła.

#### ***Porównanie masła i mixu tłuszczowego z dodatkami i bez dodatków***

---

Na zakończenie prowadzonych badań porównano wpływ najwyżej ocenionych wcześniej dodatków - mielonych pestki dyni i suszonych liści miłorzębu, na frakcję lipidową masła i mixu tłuszczowego o obniżonej zawartości tłuszczu mlekowego. Zbadano ich wpływ na kwasowość tłuszczu oraz zawartość aldehydu malonowego. Stwierdzono, że mix tłuszczowy odznaczał się nieistotnie niższą kwasowością w stosunku do masła. Próby kontrolne zachowały tę tendencję przez cały okres trwania doświadczenia. Mogło to być spowodowane tym, że masło do produkcji mixu mogło pochodzić, z innego surowca niż masło objęte

badaniami, stąd zróżnicowana podatność na zmiany hydrolityczne. Natomiast po czwartym tygodniu trwania badań nieistotnie większą kwasowością, charakteryzował się mix tłuszczowy z dodatkami niż masło z dodatkami. Zauważono również, że próbki z dodatkami odznaczają się wyższą kwasowością, niż kontrolne, co jest potwierdzeniem tego, co zaobserwowano podczas badania kwasowości masła z dodatkami roślinnymi we wcześniejszych doświadczeniach.

Stwierdzono, że mix tłuszczowy zawierał kilkakrotnie więcej aldehydu malonowego niż masło. Najprawdopodobniej wynika to z różnicy w składzie kwasów tłuszczowych. Mix w swoim składzie zawiera tłuszcze roślinne, bogate w wielonienasycone kwasy tłuszczowe, w związku z powyższym jest bardziej podatny na utlenianie niż masło o przewadze nasyconych i jednonienasyconych kwasów tłuszczowych [Cichosz i Czeczot 2011]. Dodatki roślinne w kilku przypadkach wpłynęły na znaczące obniżenie zawartości aldehydu malonowego w próbkach mixu tłuszczowego względem próby kontrolnej, jednak nie udało się zaobserwować wyraźniej tendencji.

Porównując masło i mix tłuszczowy pod względem cech organoleptycznych najwyraźniejsze różnice stwierdzono w ich konsystencji. Mix tłuszczowy odznaczał się o wiele lepszą smarownością, zwłaszcza w temperaturze przechowywania chłodniczego, co spowodowane było dodatkiem olejów roślinnych do frakcji tłuszczu mlekowego. Zmniejszenie twardości i poprawa smarowności po dodaniu olejów wynikała ze zwiększenia udziału w składzie tłuszczu frakcji o niskich temperaturach topnienia [Glibowski 2007].

### ***Profil kwasów tłuszczowych***

---

Przeprowadzone badania wykazały, że procentowy udział kwasów tłuszczowych w maśle z dodatkiem mielonych pestek dyni i mielonych liści miłorzębu był bardzo zbliżony, a niejednokrotnie taki sam jak w maśle bez dodatków. Otrzymane wyniki porównano ze składem kwasów tłuszczowych masła podanym przez Jensena [2002]. Autor w latach 1995-2001 roku prowadził badania nad składem kwasów tłuszczowych masła, co umożliwiło mu przedstawienie minimalnych i maksymalnych zawartości poszczególnych kwasów tłuszczowych w tym produkcie. Niektóre otrzymane wyniki badań wykonanych w ramach niniejszej pracy odbiegają od wzorca ustalonego przez Jensena. Największe odstępstwa zaobserwowano w przypadku kwasu masłowego (C4:0), kapronowego (C6:0) i kaprylowego (C8:0), których zawartości są nieznacznie niższe od przedstawionych w publikacji - odpowiednio przyjmując wartości średnie 2,6% wzorzec 3,7 – 4,8%, 1,9% wzorzec 2,3 –

2,8% oraz 1,25% wzorzec 1,4 – 1,6%), oraz w przypadku kwasu palmitynowego (C16:0) i margarynowego (C17:0) nieco ją przekraczając - odpowiednio przyjmując wartości średnie 34,5%, wzorzec 25,6 - 34,1% oraz 0,75% wzorzec 0,5 – 0,7%. Rozbieżności te mogą być konsekwencją sezonowej zmiany ilościowego składu kwasów tłuszczowych lipidów mleka. Najważniejszym czynnikiem pozagenetycznym wpływającym między innymi na skład chemiczny mleka, a co za tym idzie tłuszczu mlekowego, jest żywienie ściśle związane z porą roku. W sezonie wiosenno-letnim w paszy krów dominują zielonki, a w jesienno-zimowym pasze konserwowane [Lock i Garnsworthy 2003; Elgersma i in. 2004]. Masła użyte w badaniach własnych pochodziły z sezonu jesienno-zimowego, co mogłoby tłumaczyć obniżone zawartości kwasów masłowego, kapronowego i kaprylowego, a podwyższone palmitynowego i margarynowego. Jest to zgodne z wynikami otrzymanymi przez Lipińskiego i wsp. [2012], którzy badali wpływ sezonu produkcji mleka na profil kwasów tłuszczowych tłuszczu mlekowego.

Analizując różnice w profilu kwasów tłuszczowych masła i mixu tłuszczowego stwierdzono znacznie większą zawartość nasyconych kwasów tłuszczowych w maśle niż w mixie (ok. 70% w maśle i ok. 55% w mixie), z kolei w mixie przeważały jedno- i wielonienasycone kwasy tłuszczowe (masło – odpowiednio ok. 26 i 3%, mix – odpowiednio ok. 36 i 9%). Podobne wyniki przedstawił Balas [2005] w pracy dotyczącej analizy kwasów tłuszczowych w rynkowych produktach spożywczych porównując masło i tłuszcze mieszane.

Przeprowadzone badania nad składem kwasów tłuszczowych pozwalają stwierdzić, że zastosowane dodatki (pestki dyni i suszone liście miłorzębu), oraz czas trwania doświadczenia (4 tygodnie) praktycznie nie miały wpływu na ich profil.

Rezultaty przeprowadzonych badań pozwalają stwierdzić, że zastosowane dodatki miały wpływ na frakcję lipidową masła, lecz nie zawsze był on taki jak oczekiwano. Niektóre z nich powodowały wzrost stopnia utlenienia oraz kwasowości tłuszczu, inne w pewnym stopniu przyczyniały się do ich obniżenia, jednak efekt ten nie był w pełni powtarzalny, by można było rekomendować oceniane dodatki do zastosowania w praktyce. W związku z powyższym wskazane są dalsze badania, dotyczące poszukiwania nowych substancji roślinnych, które dałyby pożądaný efekt antyoksydacyjny w stosunku do frakcji lipidowej masła czy mixu.

## 7. Wnioski

1. Wysoka aktywność antyoksydacyjna zastosowanych wodnych roztworów sproszkowanych ekstraktów roślinnych oraz bardzo wysoka olejów roślinnych, określona metodą DPPH, nie gwarantowała ich wysokiej aktywności przeciwutleniającej w odniesieniu do lipidów masła.
2. Przeciwutleniające działanie zastosowanych naturalnych antyoksydantów zależało od rodzaju surowca roślinnego, jego postaci (ekstrakt, olej, susz), użytej dawki oraz czasu chłodniczego przechowywania masła.
3. Nie uzyskano jednoznacznego potwierdzenia tezy o ograniczającym lub hamującym wpływie badanych ekstraktów roślinnych na utlenianie lipidów masła. Okresowo, w największym stopniu, hamowały ten proces ekstrakty z pestek winogron, czerwonej herbaty miłorzębu i ostropestu.
4. Nieuzasadnione jest stosowanie ocenianych olejów roślinnych jako antyoksydantów, ponieważ nie ograniczały ani nie hamowały utleniania lipidów masła. Zaobserwowano nawet ich oddziaływanie prooksydacyjne, w największym stopniu dotyczyło to oleju z rzepaku i orzecha włoskiego.
5. Spośród zastosowanych do masła jako antyoksydanty, suszonych części roślin, okresowo najlepszymi właściwościami antyoksydacyjnymi charakteryzowały się pestki dyni, liście miłorzębu oraz nasiona ostropestu i czarnuszki.
6. Kwasowość lipidów masła była uzależniona głównie od użytego rodzaju surowca roślinnego oraz jego postaci. Wodne roztwory sproszkowanych ekstraktów roślinnych nie wpływały na kwasowość tłuszczu, natomiast oleje roślinne ją zwiększały, w największym stopniu olej z czarnuszki i awokado. Również dodatek suszonych części roślin wpływał na zwiększenie kwasowości, najbardziej nasiona czarnuszki.
7. Zastosowane wodne roztwory sproszkowanych ekstraktów roślinnych nie oddziaływały na cechy organoleptyczne masła. Dodatek olejów poprawiał jego smarowność oraz nadawał barwę i smak na charakterystyczny dla zastosowanego oleju.
8. Na cechy organoleptyczne masła, spośród ocenianych dodatków, największy wpływ, niejednokrotnie niepożądany, miały suszone części roślin. W największym stopniu pogarszały cechy organoleptyczne nasiona czarnuszki i ostropestu plamistego. Najmniejsze, ale pożądane zmiany cech organoleptycznych powodowały pestki dyni.
9. Dodatek pestek dyni i liści miłorzębu powodował zwiększenie kwasowości masła i mixu. Powyższe dodatki nie miały istotnego wpływu na utlenianie lipidów masła natomiast

okresowo istotnie ograniczały utlenianie frakcji lipidowej mixu tłuszczowego, nie miały też wpływu na profil kwasów tłuszczowych zarówno masła jak i mixu tłuszczowego.

10. Na obecnym etapie rezultaty przeprowadzonych badań, nie pozwalają rekomendować ocenianych dodatków do zastosowania w praktyce.

## 8. Literatura

1. Adahchour M., Wiewel J., Verdel R., Vreuls R.J.J., Brinkman U.A.T. 2005. Improved determination of flavour compounds in butter by solid-phase (micro)extraction and comprehensive twodimensional gas chromatography. *J. Chromatogr. A.* 1086 (1–2), 99–106.
2. Agboola S.O., Radovanovic-Tesic M. 2002. Influence of Australian native herbs on the maturation of vacuum-packed cheese. *Lebensm.-Wiss. u.-Technol.* 35, 575-583.
3. Aherne S.A., O'Brien N.M. 2002. Dietary flavonols: chemistry, food content, and metabolism. *Nutrition.* 18, 1, 75-81.
4. Ali A.R., Dimick P.S. 1994. Melting and solidification characteristics of confectionery fats: Anhydrous milk fat, cocoa butter and palm kernel stearin blends. *J Am. Oil Chem. Soc.* 71(8), 803-806.
5. Ali S.S., Kasoju N., Luthra A., Singh A., Sharanabasava H., Sahu A., Bora U. 2008. Indian medicinal herbs as sources of antioxidants. *Food Research Int.* 41, 1-15.
6. Allen J.C., Wrieten W.L. 1982a. Influence of milk protein on lipid oxidation in aqueous emulsion. I. Casein, whey protein, and  $\alpha$ -lactalbumin. *J. Dairy Res.* 49, 239-248.
7. Allen J.C., Wrieten W.L. 1982b. Influence of milk protein on lipid oxidation in aqueous emulsion. 2. Lactoperoxidase, lactoferrin, superoxide dismutase and xanthine oxidase. *J. Dairy Res.* 49, 249-263.
8. Attaguile G., Russo A., Campisi A., Savoca F., Acquaviva R., Ragusa N., Vanella A. 2000. Antioxidant activity and protective effect on DNA cleavage of extracts from *Cistus incanus L.* and *Cistus monspeliensis L.* *Cell Biol. Toxicol.* 16(2), 83-90.
9. Ayar A., Ozcan M., Akgul A., Akin N. 2001. Butter stability as affected by extracts of sage, rosemary and oregano. *J. Food Lipids.* 8, 15-25.
10. Balas J. 2005. Kwasy tłuszczowe w rynkowych produktach spożywczych – oleje, margaryny, masło, tłuszcze mieszane, majonezy. *Post. Fitoter.* 3-4, 109-114.
11. Bandoniene D., Murkovic M., Pfannhauser W., Venskutonis P.R., Gruzdiene D. 2002. Detection and activity evaluation of radical scavenging compounds by using DPPH free radical and on-line HPLC– DPPH methods. *Euro. Food Res. Technol.* 214(2),143–147.

12. Bandyopadhyay M., Chakraborty R., Raychaudhuri U. 2007. A process for preparing a natural antioxidant enriched dairy product (*Sandesh*). *Lebensm.-Wiss. u.-Technol.* 40, 842-851.
13. Barbut S., Josephson D.B., Maurer A.J. 1993. Antioxidant properties of rosemary oleoresin in Turkey sausage. *Food Sci.* 50, 1356-1359, 1363.
14. Bartnikowska E. 2000. Can CLA be regarded as a nutraceutical? *Pol. J. Food. Nutr. Sci.* 9/50, 3S, 55-61.
15. Bartosz G. 2013. *Druga twarz tlenu. Wolne rodniki w przyrodzie*. Wydawnictwo Naukowe PWN.
16. Benzie I.F.F., Szeto Y.T. 1999. Total antioxidant capacity of teas by the ferric reducing antioxidant power assay. *J. Agric. Food Chem.* 47, 633-636.
17. Bera D., Lahiri D., Nag A. 2006. Studies on a natural antioxidant for stabilization of edible oil and comparison with synthetic antioxidants. *J. Food Engin.* 74(4), 542-545.
18. Berg G. Van den. 1995. Technical guide for the packing of milk and milk products. Packing of butter. *Ann. Bull.* 300, 101–109.
19. Bergh. B. 1992. Nutritious Value of Avocado. *California Avocado Society Yearbook* 76, 123-135.
20. Bogacz-Radowska L., Harasym J. 2016. Karotenoidy roślinne – aktywność, rodzaje i metody pozyskiwania. W *Rośliny w medycynie farmacji i przemyśle*. red M. Maciąg, M. Szklarczyk, Wydawnictwo Naukowe Tygiel Sp. z o.o., Lublin.
21. Boligon A.A., Machado M.M., Athayde M.L. 2014. Technical Evaluation of Antioxidant Activity. *Med. Chem.* 4, 517-522.
22. Bondet V., Brand-Williams W., Berset C. 1997. Kinetics and mechanisms of antioxidant activity using the DPPH free radical method. *Lebensmitt. Wissenschaft Technologie Food Sci. Technol.* 30, 609–615.
23. Borecka W., Walczak Z., Starzycki M. 2013. Orzech włoski (*Juglans Regia L.*) - naturalne źródło prozdrowotnych składników żywności. *Nauka Przyroda Technologie* 7, 2, nr 23.
24. Borowy T., Kubiak M.S. 2012. Szlachetne masło. *Przegl. Mlecz.* 9, 20-23.
25. Bors W. 2004. Radikalfangende Wirkung von Pflanzeninhaltsstoffen. *GSF – Wir über uns. Jahresbericht* 55–60.
26. Bragagnolo N., Danielsen B., Skibsted L.H. 2007. Rosemary as antioxidant in pressure processed chicken during subsequent cooking as evaluated by electron spin resonance spectroscopy. *Inn. Food Sci. Emerging Techno.* 8, 24-29.

27. Brand-Williams W., Cuvelier M.E., Berset C. 1995. Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity. *Lebensm.-Wiss. u.-Technol.* 28, 25-30.
28. Bravo L. 1998. Polyphenols: Chemistry, dietary, sources, metabolism, and nutritional significance. *Nutr. Rev.* 56, 11, 317-333.
29. Brodowska A., Śmigielski K., Nowak A. 2014. Porównanie metod dekontaminacji przypraw i ziół. *Chemik* 68, 2, 97-102.
30. Brużewicz Sz., Malicki A. 2007. Stan mikrobiologiczny wybranych przypraw i przeżywalność w nich drobnoustrojów. *Żywn. Nauka Technol. Jakość.* 4(53), 99-108.
31. Burits M., Bucar F. 2000. Antioxidant activity of *Nigella sativa* essential oil. *Phytother. Res.* 14(5), 323-8.
32. Bylund G. 1995. *Dairy Processing Handbook*, Tetra Pak Processing Systems AB, Lund,. 385–393.
33. Chen C., Pearson A.M., Gray J.I. 1992. Effects of synthetic antioxidants (BHA, BHT and PG) on the mutagenicity of IQ-like compounds. *Food Chem.* 43(3), 177-183.
34. Chen L., Daniel R.M., Coolbear T. 2003. Detection and impact of protease and lipase activities in milk and milk powders. *Inter. Dairy J.* 13 (4), 255-275.
35. Cheng W.C., Ng C.S., Poon N.L. 2013. Herbal Medicines and Phytopharmaceuticals–Contaminations. *Encyclopedia of Forensic Sciences*, 280–288.
36. Chu Y.-F., Sun J., Wu X., Liu R.H. 2002. Antioxidant and Antiproliferative Activities of Common Vegetables. *J. Agric. Food Chem.* 50(23), 6910-6916.
37. Cichosz G., Czeczot H. 2011. Stabilność oksydacyjna tłuszczów jadalnych – konsekwencje zdrowotne. *Bromat. Chem. Toksykol.* XLIV, 1, 50-60.
38. Colindres P., Brewer M.S. 2011. Oxidative stability of cooked, frozen, reheated beef patties: effect of antioxidants. *J. Sci. Food Agricult.* 91 (5), 963-968.
39. Cushnie T.P., Hamilton V.E., Lamb A.J. 2003. Assessment of the antibacterial activity of selected flavonoids and consideration of discrepancies between previous reports. *Microbiol. Res.*, 158, 281-289
40. Cuvelier M.E., Richard H., Berset C. 1996. Antioxidative activity and phenolic composition of pilot-plant and commercial extracts of sage and rosemary. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 73(5), 645-52.
41. Cuvellier M.E., Berset C., Richard H. 1990. Use of new test for determining comparative antioxidative activity of BHA, BHT, and b-tocopherols and extracts from rosemary and sage. *Sci. Ali.*, 10, 797-810.

42. Cuvellier M.E., Richard H., Berset C. 1995. Antioxidative activity and phenolic composition of pilot-plant and commercial extracts of sage and rosemary. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 73, 645-652.
43. Czechowska-Liszka M. 2005. Badanie i ocena jakości różnych rodzajów masła dostępnego na rynku. *Zesz. Nauk. A. Ekonom. Krak.* 678, 177-187.
44. Czeczot H. 2000. Biological activities of flavonoids – a review. *Pol. J. Food Nutr. Sci.* 50, 4, 3-13.
45. Czerwiecki L. 2009. Współczesne poglądy na rolę przeciwutleniaczy roślinnych w profilaktyce chorób cywilizacyjnych. *Rocz. PZH* 60, 3, 201-206.
46. Dagdemir E., Cakmakci S., Gundogdu E. 2009. Effect of *Thymus haussknechtii* and *Origanum acutidens* essential oils on the stability of cow milk butter. *European J. Lipid Sci. Technol.* 111, 1118-1123.
47. Daniewski M., Jacórzyński B., Filipek A., Balas S., Pawlicka M., Mielniczuk E. 2003. Skład kwasów tłuszczowych wybranych olejów jadalnych. *Roczn. PZH* 3, 263-267.
48. Decker E.A. 1998. Antioxidant mechanism. In: *Food Lipids*. Marcel Decker, NY, 397-421.
49. Downey W.K. 1980. Risk from pre-and post-manufacture lipolysis. *Ann. Bull. FIL-IDF. Doc.* 118, 4-18.
50. Dudonné S., Vitrac X., Coutiere P., Woillez M., Merillon J.M. 2009. Comparative study of antioxidant properties and total phenolic content of 30 plant extracts of industrial interest using DPPH, ABTS, FRAP, SOD, and ORAC assays. *J. Agric. Food Chem.* 11, 57(5), 1768-1774.
51. Dyas A., Boughton B.J., Das B.C. 1983. Ozone killing action against bacterial and fungal species; microbiological testing of a domestic ozone generator. *J. Clin. Pathol.* 36, 1102–1104.
52. Elgersma A., Ellen G., van Der Horst H., Boer H., Dekker P.R., Tamminga S. 2004. Quick changes in milk fat composition from cows after transition from fresh grass to a silage diet. *Animal Feed Sci. Technol.* 117, 13-27.
53. Espin J.C., Soler-Rivas C., Wichers H.J. 2000. Characterization of the total free radical scavenger capacity of vegetable oils and oil fractions using 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical. *J. Agric. Food Chem.* 48, 648-656.
54. Farzaei M.H., Abbasabadi Z., Ardekani M.R., Rahimi R., Farzaei F. 2013. Parsley: a review of ethnopharmacology, phytochemistry and biological activities. *J. Tradit. Chin. Med.* 33(6), 815-826.

55. Fernández J., Pérez-Álvarez J.A., Fernández-López J.A.: Thiobarbituric acid test for monitoring lipid oxidation in meat. *Food Chem.*, 1997, 59 (3), 345-353.
56. Fik M., Zawislak A. 2004. Porównanie właściwości przeciwutleniających wybranych herbat. *Żywn. Nauka. Technol. Jakość* 3 (40), 98–105.
57. Folch, J., Lees, M., Sloane Stanley, G.H. 1957. A simple method for isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J. Biol. Chem.* 226(1), 497-509.
58. Frankel E.N. 1980. Lipid oxidation. *Pray. Lipid Res.* 19, 1-22.
59. Frankel E.N. 1991. Recent advances in lipid oxidation. *J. Sci. Food Agric.* 1991, 54, 495–511.
60. Gabetta B., Fuzzati N., Griffini A., Lolla E., Pace R., Ruffilli T., Paterlongo F. 2000. Characterization of proanthocyanidins from grape seeds. *Fitoter.* 71:162-175.
61. Gasik A. 1983. Rola związków polifenolowych w tworzeniu cech sensorycznych żywności. *Przem. Spoż.* 27, 7, 352-356.
62. Georgantelis D., Bleaks G., Katikou P., Ambrosiadis I., Fletouris D.J. 2007. Effect of rosemary extract, chitosan and L-tocopherol on lipid oxidation and colour stability during frozen storage of beef burgers. *Meat Sci.* 75, 256-264.
63. Glibowski P. 2007. Wpływ olejów roślinnych na teksturę bezwodnego tłuszczu mlecznego. *Acta Agrophys.* 9(3), 603-612.
64. Gołębiowski T., Kędzior W., Wróbel A. 1991. Jakość masła przechowywanego w chłodniach. *Przem. Spoż.* 7, 182-184.
65. Gozdur M., Szajna I., Barszczewska-Zagrodzka I., Kwiatkowska B., Celińska J., Sieradzki E. 2010. Porównanie parametrów fizykochemicznych oraz aktywności antyoksydacyjnej metodą EPR tabletek z suchym wyciągiem z nasion winogron (*Vitis vinifera* L.) oraz tabletek z suchym wyciągiem z kory sosny nadmorskiej (*Pinus pinaster* Sol.). *Farm. Pol.* 66(1), 3-8.
66. Grabowski M. 2016. Zastosowanie technologii plazmy nietermicznej do sterylizacji przypraw. Praca doktorska]. ZUT. Szczecin 1-154.
67. Grajek W. 2004. Rola przeciwutleniaczy w zmniejszaniu ryzyka wystąpienia nowotworów i chorób układu krążenia. *Żywn. Nauka Technol. Jakość* 1(38), 3-11.
68. Gramza-Michałowska A., Korczak J., Regula J. 2007. Use of plant extracts in summer and winter season butter oxidative stability improvement. *Asia Pacific J. Clinic. Nutrition* 16(1), 85-88.
69. Grice H. C. 1986. Safety evaluation of butylated hydroxytoluene (BHT) in the liver, lung and gastrointestinal tract. *Food Chem. Toxicol.* 24, 1127-1130.

70. Grysczyńska A., Grysczyńska B., Opala B. 2011. Karotenoidy. Naturalne źródła, biosynteza, wpływ na organizm ludzki. Post. Fitoter. 2, 127-143.
71. Gülçin İ. 2009. The antioxidant and radical scavenging activities of black pepper (*Piper nigrum*) seeds. I. J. Food Sci. Nutr. 56(7), 491-499.
72. Hać-Szymańczuk E., Cegielka A. 2015. Ocena aktywności przeciwdrobnoustrojowej i przeciwutleniającej szalwii lekarskiej w produkcie mięsnym. Żywn. Nauka Technol. Jakość. 3(100), 84-94.
73. Halliwell, B., Gutteridge J.M.C. 1999. Free radicals in medicine and biology. Clarendon: Oxford.
74. Hamzawi L.F. 1990. Role of phospholipids and a-tocopherol as natural antioxidants in buffalo butterfat. Milchwissenschaft, 45, 95-97.
75. Haumann B.F. 1990. Antioxidants. Inform. I, 1003-1013.
76. Hendrich A.B., Malon R., Pola A., Shirataki Y., Motohashi N., Michalak N. 2002. Differential interaction of *Sophora* isoflavonoids with lipid bilayers. Europ. J. Pharma. Sci. 16(3), 201-208.
77. Heś M., Górecka D., Dziedzic K., Kobus-Cisowska J., Korczak J. 2015. Właściwości przeciwutleniające ekstraktów z ziarniaków gryki i produktów otrzymanych w procesie ich przerobu. Żywn. Nauka. Technol. Jakość 1(98), 102-115.
78. Heś M., Korczak J. 2004. Wpływ produktów utlenienia lipidów na wartość odżywczą białka. Nauka Przyr. Technol. 1, 1,4.
79. IARC Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans. 1986a. Some Naturally Occurring and Synthetic Food Components. Furocoumarins and Ultraviolet Radiation. Butylatedhydroxytoluene (BHT). 40, 161-06.
80. IARC Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risks of Chemicals to Humans. 1986b. Some Naturally Occurring and Synthetic Food Components. Furocoumarins and Ultraviolet Radiation. Butylatedhydroxyanisole (BHA).. 40. 123-159.
81. Ito N., Fukushima S., Hagiwara A., Shibata M., Ogiso T. 1983. Carcinogenicity of butylated hydroxyanisole in F344 rats. J. Nat. Cancer Inst. 70(2), 343-352.
82. Janda K., Kasprzak M., Wolska J. 2015. Witamina C – budowa, właściwości, funkcje i występowanie. Pom. J. Life Sci. 61,4, 419-425.

83. Jasińska M., Wąsik K. 2010. Wpływ chłodniczego przechowywania na frakcję lipidową wybranych tłuszczów do smarowania dostępnych na rynku krajowym. *Chłodnictwo*, XLV, 3, 50-54.
84. Jaworski J., Żegarska Z., Paszczyk B., Charkiewich J. 1997. Skład kwasów tłuszczowych tłuszczu mleka krów rasy nizinnej czarno-białej i czerwonej polskiej w okresie żywienia pastwiskowego. V Sesja Naukowa „Postęp w technologii, technice i organizacji mleczarstwa”, ART. Olsztyn, 20-21.
85. Jensen R.G. 2002. The composition of bovine milk lipids. January 1995 to December 2000. *J. Dairy Sci.* 85, 295-350.
86. Jeszka M., Flaczyk E., Kobus-Cisowska J., Dziedzic K., 2010. Związki fenolowe – charakterystyka i znaczenie w technologii żywności. *Nauka Przym. Technol.* 4, 2, 19.
87. Jimenez-Escig A., Jimenez-Jimenez I., Sanchez-Moreno C., Saura-Calixto F. 2000. Evaluation of free radical scavenging of dietary carotenoids by the stable radical 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl. *J. Sci. Food Agric.* 80, 1686-1690.
88. Kahl R., Kappus H. 1993. Toxikologie der synthetischen Antioxidantien BHA und BHT im Vergleich mit dem natürlichen Antioxidans Vitamin E. *Z. Lebensm. Unters. Forch.* 196(4), 329- 338.
89. Kalisz O., Wolski T., Gerkowicz M. 2006. Miłorząb japoński (*Ginkgo biloba*) i jego preparaty w terapii zaburzeń krążenia mózgowego i obwodowego. *Ann UMCS Lublin.* LXI, 2, 11-24.
90. Kamal-Eldin A., Pokorny J. 2005. *Analysis of Lipid Oxidation*. AOCS Press.
91. Karłowicz-Bodalska K., Bodalski T. 2007. Znaczenie surowców roślinnych w leczeniu schorzeń wątroby. *Postępy Fitoterapii* 3, s. 155-167.
92. Karre L., Lopez K., Getty K.J.K. 2013. Natural antioxidants in meat and poultry products. *Meat Sci.* 94, 220-227.
93. Katiyar S.K. 2002. Treatment of silimarin, a plant flavonoid, prevents ultraviolet light-induced immune suppression and oxidative stress in mouse skin. *Int. J. Oncol.* 21(6), 1213-1222.
94. Kiszka J. 1983. Technologia produkcji masła, jej ukierunkowanie oraz wpływ na jakość i trwałość produktu gotowego. *Przem. Mlecz.* 12, 16-20.
95. Kobus-Cisowska J., Flaczyk E., Rudzińska M., Kmiecik D. 2014. Antioxidant properties of extracts from *Ginkgo biloba* leaves in meatballs. *Meat Sci.* 97, 174-180.

96. Kołakowska A., Siwiec M., Antkowiak A., Bienkiewicz G., Zienkiewicz L. 2004. Wpływ temperatury przechowywania masła na lipolizę i oksydację tłuszczu mlekowego. *Folia Univ. Agric. Stetin., Scientia Alimentaria* 238(3), 47-56.
97. Korczak J., Hęś M., Gramza A., Jędrusek-Golińska A. 2004. Influence of fat oxidation on the stability of lysine and protein digestibility in frozen meat products. *Electron. J. Pol. Agric. Univ. Food Sci. Technol.* 7, 1-13.
98. Korczak J., Janitz W., Hes M. 1998. Hydrolizat śruty rzepakowej jako źródło naturalnych przeciwutleniaczy. *Rośliny Oleiste-Oilseed Crops*, 19(1).
99. Koski A., Psomiadou E., Tsimidou M., Hopia A., Kefalas P., Wähälä K., Heinonen M. 2002. Oxidative stability and minor constituents of virgin olive oil and cold-pressed rapeseed oil. *Eur. Food Res. Technol.*, 214, 294-298.
100. Krauze-Baranowska M., Majdan M., Kula M. 2014. Owoce maliny właściwej i maliny zachodniej źródłem substancji biologicznie aktywnych. *Post. Fitoter.* 1, 32-39.
101. Krygier K., Wroniak M., Dobczyński K., Kielt I., Grześkiewicz S., Obiedziński M. 1998. Charakterystyka wybranych rynkowych olejów roślinnych tłoczonych na zimno. *Rośliny Oleiste* 19, 573-582.
102. Kulkarni S., Desantos F.A., Kattamuri S., Rossi S.J., Brewer M. S. 2011. Effect of grape seed extract on oxidative, color and sensory stability of a pre-cooked, frozen, reheated beef sausage model system. *Meat Sci.* 88, 139–144.
103. Kunicka-Styczyńska A., Śmigielski K. 2011. Bezpieczeństwo mikrobiologiczne surowców ziołowych. *Przem. Spoż.*, 6, 50–54.
104. Kurczak M.E. 1983. Wpływ wstrząsów i wibracji na lipolizę mleka surowego. *Rocz. Nauk. Rol. Ser. B* 101(4), 75-83.
105. Lagha-Benamrouche S., Madani K. 2013. Phenolic contents and antioxidant activity of orange varieties (*Citrus sinensis* L. and *Citrus aurantium* L.) cultivated in Algeria: peels and leaves. *Industrial Crops and Products*, 50, 723-730.
106. Leelarungrayub N., Rattanapanone V., Chanarat N., Gebicki J.M. 2006. Quantitative evaluation of the antioxidant properties of garlic and shallot preparations. *Nutrition* 22(3), 266-274.
107. Lehmann H.R., Zettier K.H. 1994. Separators for the dairy industry. Technical scientific documentation, Westfalia Separator AG.
108. Lim Y.Y., Lim T.T., Tee J.J. 2007. Antioxidant properties of several tropical fruits: A comparative study. *Food chemistry* 103(3), 1003-1008.

109. Lin J.K., Lin Ch.L., Liang Y.Ch., Lin-Shiau S.Y., Juan I.M. 1998. Survey of catechins, gallic acid, and methylxanthines in green, oolong, pu-erh, and black teas. *J. Agric. Food Chem.* 46, 3635- 3642.
110. Lipiński K., Stasiewicz M., Rafałowski R., Kaliniewicz J., Purwin C. 2012. Wpływ sezonu produkcji mleka na profil kwasów tłuszczowych tłuszczu mlekowego. *Żywn. Nauka Technol. Jakość* 1(80), 72-80.
111. Lock A.L., Garnsworthy P.C. 2003. Season variation in milk conjugated linoleic acid and  $\Delta 9$  desaturase activity in dairy cows. *Livestock Prod. Sci.* 79, 47-59.
112. Łożna K., Kita A., Styczyńska M., Biernat J. 2012. Skład kwasów tłuszczowych olejów zalecanych w profilaktyce chorób cywilizacyjnych. *Prob. Hig. Epidemiol.* 93(4), 871-875.
113. Maćkowiak K., Torliński L. 2007. Współczesne poglądy na rolę witaminy C w fizjologii i patofizjologii człowieka. *Now. Lek.* 76, 4, 349-356.
114. Majewska M., Czeczot H. 2009. Flawonoidy w profilaktyce i terapii. *Farm Pol* 65(5), 369-377.
115. Majewski G., Lubecka-Pietruszewska K., Kaufman-Szymczyk A., Fabianowska-Majewska K. 2012. Przeciwnowotworowe właściwości wybranych roślinnych polifenoli z grupy flawonoidów i stilbenów. *Zdr. Publ.* 122(4), 434-439.
116. Makoła H. 2010. Przyprawy i ich ekstrakty w przetwórstwie mięsa. *Przem. Spoż.* 64, 26-28.
117. Makarska E., Michalak M. 2005. Aktywność przeciwutleniająca kwasów fenolowych jęczmienia jarego. *Ann UMCS Lublin . LX, sectio E*, 263-269.
118. Manach C., Scalbert A., Morand C. Rémésy C. Jimenez L. 2004. Polyphenols: food sources and bioavailability. *Am. J. Clin. Nutr.* 79, 5, 727-747.
119. Mańkoska D., Bylka W. 2009. *Nigella sativa L.* – związki czynne, aktywność biologiczna. *Herba Polon.* 55, 1, 109-125.
120. Marín A., Ferreres F., Tomás-Barberán F.A., Gil M.I. 2004. Characterization and quantitation of antioxidant constituents of sweet pepper (*Capsicum annuum L.*). *J. Agric. Food Chem.* 52(12), 3861-3869.
121. Materska M., Perucka I. 2005. Antioxidant activity of the main phenolic compounds isolated from hot pepper fruit (*Capsicum annuum L.*). *J. Agric. Food Chem.* 53(5), 1750-1756.
122. Matsumoto R.L., Bastos D.H., Mendonça S., Nunes V.S., Bartchewsky W., Ribeiro M.L., de Oliveira Carvalho P. 2009. Effects of mate tea (*Ilex paraguariensis*)

- ingestion on mRNA expression of antioxidant enzymes, lipid peroxidation, and total antioxidant status in healthy young women. *J. Agric. Food Chem.* 57, 1775-80.
123. Mensor L., Menezes F., Leitao G., Reis A., dos Santos T., Coube C., Leitao S. 2001. Screening of Brazilian Plant Extracts for Antioxidant Activity by the Use of DPPH Free Radical Method. *Phytother. Res.* 15, 127–130.
  124. Mińkowski K., Zawada K., Ptasznik S., Kalinowski A. 2013. Wpływ związków fenolowych nasion na stabilność oksydacyjną i aktywność antyrodnikową wytłoczonych z nich olejów bogatych w Pufa n-3. *Żywn. Nauka Technol. Jakość* 4(89), 118-132.
  125. Mitsumoto M., O’Grady M.N., Kerry J.P., Buchley D.J. 2005. Addition of tea catechins and vitamin C on sensory evaluation, colour and lipid stability during chilled storage in cooked or raw beef and chicken patties. *Meat Sci.* 69, 4, 773-779.
  126. Nakatani N., Inatani R. 1984. Two antioxidative diterpenes from rosemary (*Rosmarinus officinalis L.*) and a revised structure for rosmanol. *Agric. Biol. Chem.* 48, 2081-2085.
  127. National Center for Biotechnology Information. PubChem Compound Database; CID=14985, <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/14985> (accessed Mar. 9, 2018).
  128. National Center for Biotechnology Information. PubChem Compound Database; CID=5280489, <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/5280489> (accessed Mar. 9, 2018).
  129. National Center for Biotechnology Information. PubChem Compound Database; CID=4369188, <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/4369188> (accessed Mar. 9, 2018).
  130. Norma PN ISO 5492:1997. Analiza sensoryczna - terminologia.
  131. Norma PN ISO 11036:1999. Analiza sensoryczna - Metodologia - Profilowanie tekstury.
  132. Norma PN-80/A-86207. Mleko i przetwory mleczarskie. Masło. Metody badań.
  133. Norma PN–A–86155:1995. Mleko i przetwory mleczarskie. Masło.
  134. Obiedzińska A., Waszkiewicz-Robak B. 2012. Oleje tłoczone na zimno jako żywność funkcjonalna. *Żywn. Nauka. Technol. Jakość* 1(80), 27-44.
  135. Okawa M., Kinjo J., Nohara T., Ono M. 2001. DPPH (1,1-Diphenyl-2-Picrylhydrazyl) radical scavenging activity of flavonoids obtained from some medicinal plants. *Biol. Pharmac. Bull.* 24(10), 1202-1205.

136. Omaye S.T., Krinsky N.I., Kagan V.E., Mayne S.T., Liebler D.C., Bidlack W.R. 1997.  $\beta$ -Carotene: friend or foe?. *Toxicol. Sci.* 40(2), 163-174.
137. Osawa C.C., Felício P.E., Gonçalves L., Ap G. 2005. Teste de TBA aplicado a carnes e derivados: métodos tradicionais, modificados e alternativos. *Química Nova*, 28(4), 655-663.
138. Ostrowska J. 2008. Herbaty – naturalne źródło antyoksydantów. *G. Farmac.* 1, 46–50.
139. Oszmiański J. 1995. Polifenole jako naturalne przeciwutleniacze w żywności. *Przem. Spoż.* 3, 94-96.
140. Ozcan M., Ayar A. 2003. Effect of propolis extracts on butter stability. *J. Food Qual.* 26, 65-73.
141. Ozturk S., Cakmakci S. 2006. The effect of antioxidants on butter in relation to storage temperature and duration. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 108 (2006) 951–959.
142. Palich P. 1992. Zależności czasowo-temperaturowe zmian jakości masła w czasie przechowywania. *Przegl. Mlecz.* 4, 117.
143. Panczenko-Kresowska B. 1997. Wolne rodniki a żywienie. *Wiad. Ziel.* 10, 17-18.
144. Papadimitriou V., Sotiroudis T.G., Xenakis A., Sofikiti N., Stavyiannoudaki V., Chaniotakis N.A. 2006. Oxidative stability and free radical scavenging activity of extra virgin olive oils: An electron paramagnetic resonance spectroscopy study. *Anal. Chim. Act.* 573, 453-458.
145. Pariza M. W., Ha Y. L. 1990. Antimutagenesis and anticarcinogenesis mechanisms II. Plenum Press, NY, 167-170.
146. Parus A. 2013. Przeciwutleniające i farmakologiczne właściwości kwasów fenolowych. *Post. Fitoter* 1, 48-53.
147. Pascual A., Llorca I., Canut A. 2007. Use of ozone in food industries for reducing the environmental impact of cleaning and disinfection activities. *Trends Food Sci. Technol.* 18, 29–35.
148. Pieszka M., Tombarkiewicz B., Roman A., Migdał W., Niedziółka J. 2013. Effect of bioactive substances found in rapeseed, raspberry and strawberry seed oils on blood lipid profile and selected parameters of oxidative status in rats. *Environ. Toxicol. Pharmacol.* 36, 1055-1062.
149. Pluta A., Ziarno M. 1998. Znaczenie żywieniowe i gastronomiczne tłuszczu mlecznego. *Przegl. Gastronom.* 8, 3-5.

150. Pokorny J., Nguyen H.T.T., Korczak J. 1997. Antioxidant activities of rosemary and sage extracts in sunflower oil. *Nahrung*, 3, 176-182.
151. Półjanowska M., Kędzia A., Kochańska B. 2007. Wrażliwość bakterii mikroaerofilnych izolowanych z jamy ustnej na działanie ozonu. *Badania in vitro*. *Ann. Acad. Med. Stetin.* 3, 114-118.
152. Prescha A., Siger A., Lorenc-Kukuła K., Biernat J., Nogala-Kałucka M., Szopa J. 2008. Badania nad składem i podatnością na utlenianie oleju z nasion lnu modyfikowanego genetycznie. *Bromat. Chem. Toksykol.*, 3, 286-292.
153. Proteggente A.R., Pannala A.S., Paganga G., Buren L.V., Wagner E., Wiseman S., Rice-Evans C.A. 2002. The antioxidant activity of regularly consumed fruit and vegetables reflects their phenolic and vitamin C composition. *Free radical research* 36(2), 217-233.
154. Przetaczek-Rożnowska I., Kuźniak M. 2016. Źródła zanieczyszczenia mikrobiologicznego ziół leczniczych i przypraw oraz metody ich dekontaminacji. *Postępy Fitoterapii* 1, 69-62.
155. Puzanowska-Tarasiewicz H., Starczewska B., Kuźmicka L. 2008. Reaktywne formy tlenu. *Bromat. Chem. Toksykol.* XLI, 4, 1007-1015.
156. Rabrenović B.B., Dimić E.B., Novaković M.M., Tešević V.V., Basić Z.N. 2014. The most important bioactive components of cold pressed oil from different pumpkin (*Cucurbita pepo* L.) seeds. *LWT. Food Sci. Technol.* 55, 521-527.
157. Rafałowski R. 2003. Zależność między stabilnością oksydacyjną tłuszczu mlekowego a jego składem chemicznym. Praca doktorska. Uniwersytet Warmińsko-Mazurski, Olsztyn (maszynopis).
158. Ratusz K., Wirkowska M. 2006. Skuteczność działania preparatu przeciwutleniającego na rafinowane oleje roślinne i ich matryce triacyloglicerolowe. *Żywn. Nauka. Technol. Jakość* 2(47) Supl., 262-270.
159. Rice-Evans C.A., Miller N.J., Paganga G. 1997. Antioxidant properties of phenolic compounds. *Trends in Plant Science.* 2(4), 152-159.
160. Rogiński H. 2002. *Encyclopedia of dairy sciences*. Academic Press.
161. Romay Ch., González R., Ledón N., Ramirez D., Rimbau V. 2003. C-Phycocyanin: A Biliprotein with Antioxidant, Anti-Inflammatory and Neuroprotective Effects. *Current Protein and Peptide Science.* 4, 207-216.
162. Rosicka-Kaczmarek J. 2004. Polifenole jako naturalne antyoksydanty w żywności. *Przegl. Piek. Cuk.* 6, 12-16.

163. Roszkowska B., Dąbrowska A., Batyk I.M. 2014. Prozdrowotne właściwości wybranych olejów roślinnych. *J. Health Sci.* 4(10), 183-188.
164. Sagdic O., Ozturk I., Baryam O., Kesmen Z., Ylmaz M.T. 2010. Characterization of butter spoiling yeasts and their inhibition by some spices. *J. Food Sci.* 75, 9, 597-603.
165. Salem M.L. 2005. Immunomodulatory and therapeutic properties of the *Nigella sativa* L. seed. *Intern. Immunopharmacol.* 5(13-14), 1749-70.
166. Samotyja U., Urbanowicz A. 2005. Przeciwtleniające właściwości handlowych ekstraktów z rozmarynu. *Żywn. Nauka Technol. Jakość* 2(43), 184-192.
167. Sanchez-Moreno C., Larrauri J.A., Saura-Calixto F. 1998. A procedure to measure the antiradical efficiency of polyphenols. *J. Sci. Food Agric.* 76, 270-276.
168. Schmedes A., Holmer G. 1989. A new thiobarbituric acid (TBA) method for determining free malondialdehyde (MDA) and hydroperoxides selectively as a measure of lipid peroxidation. *J. American Oil Chem. Soc.* 66(6), 813-817.
169. Shahidi F., Wanasundara J.P.D. 1992. Phenolic antioxidant. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 32, 67-103.
170. Sielicka M. 2014. Ocena skuteczności dodatku substancji o właściwościach przeciwtleniających w przedłużeniu trwałości oleju lnianego tłoczonego na zimno. Praca doktorska. UE, Poznań.
171. Siger A., Nogala-Kałucka M., Lampart-Szczapa E., Hoffman A. 2005. Aktywność antyoksydacyjna związków fenolowych wybranych olejów roślinnych tłoczonych na zimno i rafinowanych. *Rośliny Oleiste–Oilseed Crops* 2, 549-560.
172. Sionek B. 1997. Oleje tłoczone na zimno. *Roczniki PZH*, 48, 3, 283- 294.
173. Smoczyński S., Borejszo Z., Żegarska Z., Paszczyk B. 2006. Tłuszcze roślinne i zwierzęce. W: *Innowacyjność w kształtowaniu jakości wyrobów i usług*. Red. J. Żuchowski. Inst. Technol. Eksploatacji PIB, Radom, 762-763.
174. Sroka Z., Gamian A., Cisowski W. 2005. Niskocząsteczkowe związki przeciwtleniające pochodzenia naturalnego. *Post. Hig. Med. Dośw.*, 59: 34-41.
175. Staniewski B. 1997. Wyrób masła. Oficyna Wydawnicza HOŻA, Warszawa.
176. Staniewski B. 2000. Lipoliza w produkcji masła. *Przem. Spoż.* 7, 34-40.
177. Staniewski B. 2005. Technologiczne i techniczne aspekty kształtowania jakości masła.
178. Staniewski B. 2009a. Wybrane aspekty standaryzacji jakości masła. *Przegl. Mlecz.* 10, 14-19.

179. Staniewski B. 2009b. Wybrane aspekty standaryzacji jakości masła, część 2. *Przegl. Mlecz.* 11, 14-19.
180. Staniewski B., Kiszka J., Juśkiewicz M. 1993. Stopień dyspersji fazy wodnej w maśle a intensywność przemian lipolitycznych. *Acta Acad. Agric. Tech. Olst., Ser. Technol. Aliment.* 25, 4-12.
181. Staniewski B., Kroll J. 1997. Masło i produkty masłopodobne. W: Ziajka S. (red.) *Mleczarstwo. Zagadnienia wybrane*, t. 2. Wydawnictwa ART., Olsztyn.
182. Stivala L.A., Savio M., Carafoli F., Perucca P., Bianchi L., Maga G., Forti L., Pagnoni U.M., Albini A., Prosperi E., Vannini V. 2001. Specific structural determinants are responsible for the antioxidant activity and the cell cycle effects of resveratrol. *J. Biol. Chem.* 276, 2586-2594.
183. Stojanovic S., Sprinz H., Brede O. 2001. Efficiency and mechanism of the antioxidant action of trans-resveratrol and its analogues in the radical liposome oxidation. *Arch. Biochem. Biophys.* 391, 79-89.
184. Stołyhwo A., Rutkowska J. 2007. Tłuszcz mleczny: struktura, skład i właściwości prozdrowotne. Red. Sikorski Z.E. *Chemia żywności*, tom 3. WNT, Warszawa.
185. Szczepanik G. 2007. Wpływ ekstraktów kopru, podbiału, rozmarynu, skrzypu, szałwii i tymianku na hamowanie utleniania lipidów wyekstrahowanych z tkanki mięśniowej kurcząt i indyków. *Żywn. Nauka Technol. Jakość* 4(53), 89-98.
186. Szczucińska A., Kurzepa K., Kleczkowska P., Lipkowski A.W. 2006. Założenia technologiczne preparatów z bielma ostropestu plamistego do stosowania jako dodatki przeciwutleniające. *Rośliny Oleiste*, tom XXVII, 357-366.
187. Szczucińska A., Lipkowski A.W., Baranowska B., Walisiewicz-Niedbalska W., Różycki K., Maciuszczak-Kotlarek H. 2003. Utylizacja odpadu nasion ostropestu plamistego I. Olej z ostropestu plamistego jako antyutleniacz. *Rośliny Oleiste*, tom XXIV, 717-724.
188. Świtka J., Palich P. 1992. Badania nad wpływem fluktuacji temperatury przechowywania na jakość masła. *Przegl. Mlecz.* 10, 15-17.
189. Tańska M., Rotkiewicz D. 2003. Stopień przemiany lipidów wybranych olejów roślinnych i konsumpcyjnych nasion oleistych. *Tłuszcze Jadalne*, 38, 3-4, 147-155.
190. Tyburcy A., Gielec A., Florowski T. 2008. Wpływ ekstraktu rozmarynu na zmiany oksydacyjne w farszu i modelowych pieczeniach wieprzowych. *Rocz. IPMiTŁ*, t. XLVI/2, 83-90.

191. Üstun G., Kent L., Cekin N., Civelekoglu H. 1990. Investigation of the technological properties of *Nigella sativa* (black cumin) seed oil. J. Amer. Oil Chem. Soc., 67(12), 958-960.
192. Varnam A.H., Sutherland J.P. 1994. Milk and Milk Products. Technology, chemistry and microbiology. Chapman & Hall, London.
193. Visioli F., Bellomo G., Galli C. 1998. Free radical-scavenging properties of olive oil polyphenols. Biochem. biophysic. res. com., 247(1), 60-64.
194. Von Gadow A., Joubert E., Hansmann C.F. 1997. Comparison of the antioxidant activity of rooibos tea (*Aspalathus linearis*) with green, oolong and black tea. Food Chem. 60(1), 73-77.
195. Wang H., Nair M.G., Strasburg G.M., Chang Y.C., Booren A.M., Gray J.I., DeWitt D.L. 1999. Antioxidant and anti-inflammatory activities of anthocyanins and their aglycon, cyanidin, from tart cherries. J. Nat. Prod. 62, 294–296.
196. Whysner J., Wang C., Zang E., Latropoulos M.J., Williams G.M. 1994. Dose-response promotion by butylatedhydroxyanisole in chemically initiated tumors of the rodent forestomach. Food Chem. Toxicol. 32, 215-222.
197. Whysner J., Williams G.M. 1996. Butylatedhydroxyanisole mechanistic data and risk assessment: Conditional species-specific cytotoxicity, enhanced cell proliferation, and tumor promotion. Pharmacol. Therapeutic. 71, 137-151.
198. Williams G.M., Whysner J. 1995. Mechanistic considerations in risk assessment for epigenetic tumor-promoting carcinogens. In Growth Factors and Tumor Promotion: Implications for Risk Assessment. Ed. R. M. McClain, T. J. Slaga, R. LeBoeuf and H. Pitot. s. 369-383. John Wiley & Sons. NY.
199. Wong P.Y., Kitts D.D. 2006. Studies on the dual antioxidant and antibacterial properties of parsley (*Petroselinum crispum*) and cilantro (*Coriandrum sativum*) extracts. Food chem., 97(3), 505-515.
200. Woźniak M., Ostrowska K., Szymański Ł., Wybieralska K. 2009. Aktywność przeciwrodnikowa ekstraktów szalwii i rozmarynu. Żywn. Nauka. Technol. Jakość 4(65), 133 – 141.
201. Wroniak M., Cenker J. 2015. Porównanie cech sensorycznych, fizyko-chemicznych i stabilności oksydatywnej wybranych olejów tłoczonych na zimno. Zeszyty Problemowe Postępów Nauk Rolniczych. 581, 123-133.
202. Wroniak M., Kwiatkowska M., Krygier K. 2006. Charakterystyka wybranych olejów tłoczonych na zimno. Żywn. Nauka Technol. Jakość. 2(47), 29-45.

203. Wroniak M., Lipińska E., Błażej S. 2012. Próby oceny jakości mikrobiologicznej rynkowych olejów tłoczonych na zimno. *Bromat. Chem. Toksykol.* XLV, 3, 874-880.
204. Young S.B., Setlow P. 2004. Mechanisms of *Bacillus subtilis* spore resistance to and killing by aqueous ozone. *J. Appl. Microbiol.* 96, 1133–1142.
205. Zhang P., Omaye S.T. 2001. Antioxidant and prooxidant roles for  $\beta$ -carotene,  $\alpha$ -tocopherol and ascorbic acid in human lung cells. *Toxicology in vitro*, 15(1), 13-24.
206. Ziajka S., Dzwolak W., Szejn J., Zbyszyński Z. 2000. Praktyczne wdrażanie systemu HACCP w przemyśle mleczarskim. FAPA, Warszawa.
207. Ziemiański Ś., Budzyńska-Topolowska J. 1991. Tłuszcze pożywienia i lipidy ustrojowe. PWN, Warszawa.
208. Żegarska Z. 2002. Milk lipids [in: Chemical and functional properties of food lipids]. Eds. Z. E. Sikorski, A. Kołakowska. CRC Press, Boca Raton, 266-277.
209. Żywica R., Banach J. K., Charzyńska D. G., Staniewski B. 2012. Wpływ dodatku oleju słonecznikowego na właściwości przewodnościowe mieszków tłuszczowych. *Żywn. Nauka Technol. Jakość* 2 (81), 161-172.
210. Friedli G.L. Flavonoids.  
<http://www.friedli.com/herbs/phytochem/flavonoids.html>.
211. Różański H. 2014. Rozmyślenia nad czystkiem – *Cistus*. *Medycyna dawna i współczesna*.  
<http://rozanski.li/?p=3389>

## Spis tabel

1. Dodatki zastosowane do masła w badaniach własnych (str. 33-34)
2. Wyznaczanie wskaźnika sensorycznej jakości całkowitej (WSJC) (str.42)
3. Wyniki punktowej oceny sensorycznej masła z dodatkiem ekstraktów z pestek winogron, czerwonej herbaty i miłorzębu (str.47)
4. Wyniki punktowej oceny sensorycznej masła z dodatkiem ekstraktów z pestek winogron, czerwonej herbaty, miłorzębu, wiśni i maliny (str. 53)
5. Wyniki punktowej oceny sensorycznej masła z dodatkiem olejów z ostropestu, czarnuszki i rzepaku (str. 58)
6. Wyniki punktowej oceny sensorycznej masła z dodatkiem olejów z awokado, pestek dyni i orzecha włoskiego (str. 62)
7. Wyniki punktowej oceny sensorycznej masła z dodatkiem mielonych nasion ostropestu plamistego (str. 66)
8. Wyniki punktowej oceny sensorycznej masła z dodatkiem ekstraktu z ostropestu zakupionych mielonych nasion ostropestu (str. 69)
9. Wyniki punktowej oceny sensorycznej masła z dodatkiem mielonych surowców roślinnych (czarnuszka, pestki dyni, miłorząd i ostropest) (str. 74)
10. Wyniki punktowej oceny sensorycznej masła z dodatkiem mielonych surowców roślinnych (spirulina, czystek, ostrokrzew, pestki dyni i miłorząd) (str. 77)
11. Wyniki punktowej oceny sensorycznej masła i mixu tłuszczowego z dodatkiem mielonych surowców roślinnych (pestki dyni i miłorząd) (str. 80)
12. Profil kwasów tłuszczowych masła z dodatkiem mielonych pestki dyni i liści miłorzębu (str. 81-82)
13. Profil kwasów tłuszczowych masła i mixu tłuszczowego z dodatkiem mielonych pestki dyni i liści miłorzębu (str. 84-85)
14. Aktywność antyoksydacyjna wodnych roztworów sproszkowanych ekstraktów z pestek winogron, czerwonej herbaty i miłorzębu w czasie inkubacji (str. 129)
15. Aktywność antyoksydacyjna wybranych stężeń wodnych roztworów sproszkowanych ekstraktów z pestek winogron, czerwonej herbaty i miłorzębu (str. 129)
16. Kwasowość lipidów masła z dodatkiem wodnych roztworów sproszkowanych ekstraktów w czasie przechowywania (str. 129)
17. Zawartość aldehydu malonowego w maśle z dodatkiem wodnych roztworów sproszkowanych ekstraktów w czasie przechowywania (mg/100 g tłuszczu) (str. 130)

18. Aktywność antyoksydacyjna wybranych stężeń wodnych roztworów sproszkowanych ekstraktów z pietruszki, papryki, pieprzu, czosnku, pora, wiśni, pomarańczy, banana i maliny (str. 130)
19. Aktywność antyoksydacyjna wybranych stężeń wodnych roztworów sproszkowanych ekstraktów z pestek winogron, czerwonej herbaty, miłorzębu, wiśni i maliny (str. 130)
20. Kwasowość lipidów masła z dodatkiem wodnych roztworów sproszkowanych ekstraktów w czasie przechowywania (str. 131)
21. Zawartość aldehydu malonowego w maśle z dodatkiem wodnych roztworów sproszkowanych ekstraktów w czasie przechowywania (mg/100 g tłuszczu) (str. 131)
22. Aktywność antyoksydacyjna wybranych stężeń olejów z ostropestu, czarnuszki i rzepaku(str. 131)
23. Kwasowość lipidów masła z dodatkiem wybranych stężeń olejów w czasie przechowywania (str. 132)
24. Zawartość aldehydu malonowego w maśle z dodatkiem wybranych stężeń olejów w czasie przechowywania (mg/100 g tłuszczu) (str. 132)
25. Aktywność antyoksydacyjna wybranych stężeń olejów z awokado, pestek dyni i orzecha włoskiego (str. 132)
26. Kwasowość lipidów masła z dodatkiem olejów w czasie przechowywania (str. 133)
27. Zawartość aldehydu malonowego w maśle z dodatkiem olejów w czasie przechowywania (mg/100 g tłuszczu) (str. 133)
28. Kwasowość lipidów masła z dodatkiem świeżo mielonych nasion ostropestu w czasie przechowywania(str. 133)
29. Zawartość aldehydu malonowego w maśle z dodatkiem mielonych nasion ostropestu w czasie przechowywania (mg/100 g tłuszczu) (str. 134)
30. Kwasowość lipidów masła z dodatkiem ekstraktu i zakupionych mielonych nasion ostropestu w czasie przechowywania (str. 134)
31. Zawartość aldehydu malonowego w maśle z dodatkiem ekstraktu i zakupionych mielonych nasion ostropestu w czasie przechowywania (mg/100 g tłuszczu) (str. 134)
32. Kwasowość lipidów masła z dodatkiem mielonych nasion czarnuszki, pestek dyni, liści miłorzębu i nasion ostropestu w czasie przechowywania (str.135)
33. Zawartość aldehydu malonowego w maśle z dodatkiem mielonych nasion czarnuszki, pestek dyni, liści miłorzębu i nasion ostropestu w czasie przechowywania (mg/100 g tłuszczu) (str.135)

34. Kwasowość lipidów masła z dodatkiem sproszkowanej spiruliny, mielonego ziela czystka, ostrokrzewu, mielonych pestek dyni i liści miłorzębu w czasie przechowywania (str.135)
35. Zawartość aldehydu malonowego w maśle z dodatkiem sproszkowanej spiruliny, mielonego ziela czystka, ostrokrzewu, mielonych pestek dyni i liści miłorzębu w czasie przechowywania (mg/100 g tłuszczu) (str. 136)
36. Kwasowość lipidów masła oraz mixu tłuszczowego z dodatkiem zmielonych pestek dyni i liści miłorzębu w czasie przechowywania (str. 136)
37. Zawartość aldehydu malonowego w maśle oraz mixie tłuszczowym z dodatkiem zmielonych pestek dyni i liści miłorzębu w czasie przechowywania (mg/100 g tłuszczu) (str. 136)

## Spis rycin

1. Podział przeciwutleniaczy roślinnych (str. 21)
2. Wzór  $\alpha$ - i  $\beta$ -karotenu (str. 25)
3. Wzór najbardziej aktywnej biologicznie postaci witaminy E, czyli RRR- $\alpha$ -tokoferolu (d- $\alpha$ -tokoferolu) (str. 26)
4. Utlenianie askorbinianu (AH<sup>-</sup>) do rodnika askorbylowego (A<sup>•-</sup>) i dehydroaskorbinianu (DHA) (str. 27)
5. Struktura chemiczna rodnika DPPH oraz jego reakcja z substancją przeciwutleniającą (str. 38)
6. Reakcja kwasu tiobarbiturowego (TBA) z aldehydem malonowym (MDA) prowadząca do powstania barwnego kompleksu TBA-MDA (str. 39)
7. Wpływ czasu inkubacji na aktywność antyoksydacyjną wodnych roztworów sproszkowanych ekstraktów z pestek winogron, czerwonej herbaty i miłorzębu (str. 44)
8. Wpływ na aktywność antyoksydacyjną wybranych stężeń roztworów wodnych sproszkowanych ekstraktów z pestek winogron, czerwonej herbaty i miłorzębu (str. 44)
9. Wpływ czasu przechowywania na kwasowość lipidów masła z dodatkiem wodnych roztworów sproszkowanych ekstraktów roślinnych (str. 45)
10. Wpływ czasu przechowywania na zawartość aldehydu malonowego w maśle z dodatkiem wodnych roztworów sproszkowanych ekstraktów roślinnych (str. 46)
11. Wpływ na aktywność antyoksydacyjną wybranych stężeń wodnych roztworów ocenianych sproszkowanych ekstraktów roślinnych (str. 48)
12. Wpływ na aktywność antyoksydacyjną wybranych stężeń wodnych roztworów ocenianych sproszkowanych ekstraktów roślinnych (str. 49)
13. Wpływ czasu przechowywania na kwasowość lipidów masła z dodatkiem wodnych roztworów sproszkowanych ekstraktów roślinnych (str. 50)
14. Wpływ czasu przechowywania na zawartość aldehydu malonowego w maśle z dodatkiem wodnych roztworów sproszkowanych ekstraktów roślinnych (str. 52)
15. Wpływ stężenia na aktywność antyoksydacyjną oleju z ostropestu, czarnuszki i rzepaku (str. 55)
16. Wpływ czasu przechowywania na kwasowość lipidów masła z dodatkiem wybranych olejów roślinnych (str. 56)

17. Wpływ czasu przechowywania na zawartość aldehydu malonowego w maśle z dodatkiem wybranych olejów roślinnych (str. 57)
18. Wpływ stężenia na aktywność antyoksydacyjną oleju z awokado, pestek dyni i orzecha włoskiego (str. 59)
19. Wpływ czasu przechowywania na kwasowość lipidów masła z dodatkiem olejów z awokado, pestek dyni i orzecha włoskiego (str. 60)
20. Wpływ czasu przechowywania na zawartość aldehydu malonowego w maśle z dodatkiem oleju z awokado, pestek dyni i orzecha włoskiego (str. 61)
21. Wpływ czasu przechowywania na kwasowość lipidów masła z dodatkiem świeżo mielonych nasion ostropestu (str. 64)
22. Wpływ czasu przechowywania na zawartość aldehydu malonowego w maśle z dodatkiem świeżo mielonych nasion ostropestu (str. 65)
23. Wpływ czasu przechowywania na kwasowość lipidów masła z dodatkiem ekstraktu i zakupionych mielonych nasion ostropestu (str. 67)
24. Wpływ czasu przechowywania na zawartość aldehydu malonowego w maśle z dodatkiem ekstraktu i zakupionych mielonych nasion ostropestu (str. 68)
25. Wpływ czasu przechowywania na kwasowość lipidów masła z dodatkiem mielonych surowców roślinnych (str. 71)
26. Wpływ czasu przechowywania na zawartość aldehydu malonowego w maśle z dodatkiem mielonych surowców roślinnych (str. 73)
27. Wpływ czasu przechowywania na kwasowość lipidów masła z dodatkiem mielonych surowców roślinnych (str. 75)
28. Wpływ czasu przechowywania na zawartość aldehydu malonowego w maśle z dodatkiem mielonych surowców roślinnych (str. 76)
29. Wpływ czasu przechowywania na kwasowość lipidów masła oraz mixu tłuszczowego z dodatkiem mielonych surowców roślinnych (str. 78)
30. Wpływ czasu przechowywania na zawartość aldehydu malonowego w maśle oraz mixie tłuszczowym z dodatkiem mielonych surowców roślinnych (str. 79)
31. Profil kwasów tłuszczowych próby kontrolnej masła bez dodatków w czasie przechowywania (str. 82)
32. Profil kwasów tłuszczowych masła z dodatkiem mielonych pestek dyni w czasie przechowywania (str. 82)
33. Profil kwasów tłuszczowych masła z dodatkiem mielonych liści miłorzębu w czasie przechowywania (str. 83)

34. Profil kwasów tłuszczowych masła bez dodatków, z dodatkiem mielonych pestek dyni i z dodatkiem mielonych liści miłorzębu uśredniony z czterech tygodni badań (str. 83)
35. Profil kwasów tłuszczowych masła bez dodatków, z dodatkiem mielonych pestek dyni i z dodatkiem mielonych liści miłorzębu po czterech tygodniach przechowywania (str. 85)
36. Profil kwasów tłuszczowych mixu tłuszczowego bez dodatków, z dodatkiem mielonych pestek dyni i z dodatkiem mielonych liści miłorzębu po czterech tygodniach przechowywania (str. 85)
37. Porównanie profilu kwasów tłuszczowych masła i mixu tłuszczowego bez dodatków, z dodatkiem mielonych pestek dyni i z dodatkiem mielonych liści miłorzębu (str. 86)

## Streszczenie

Celem prowadzonych badań było określenie przydatności wybranych naturalnych antyoksydantów pochodzenia roślinnego do ograniczenia niepożądanych zmian lipidów masła w czasie chłodniczego przechowywania, a tym samym zapewnienie jego dłuższej trwałości.

W końcowym etapie prowadzonych badań porównano również wpływ najwyżej ocenionych wcześniej dodatków (mielonych pestek dyni i suszonych liści miłorzębu) na frakcję lipidową masła i mixu tłuszczowego o obniżonej zawartości tłuszczu mlekowego.

Jako źródło naturalnych antyoksydantów w przeprowadzonych badaniach zastosowano: sproszkowane ekstrakty roślinne (m.in. z pestek winogron, czerwonej herbaty, miłorzębu i ostropestu), oleje roślinne (z ostropestu, czarnuszki, rzepaku, awokado, pestek dyni i orzecha włoskiego), mielone nasiona (ostropestu i czarnuszki) i pestki (dyni), mielony susz roślinny (liście miłorzębu i ostrokrzew) i spirulinę.

Przed dodaniem do masła sproszkowanych ekstraktów roślinnych oraz olejów roślinnych określono ich aktywność antyoksydacyjną metodą DPPH. Nie było to możliwe, ze względów metodycznych, w przypadku pozostałych dodatków. Zmiany we frakcji lipidowej masła i mixu tłuszczowego podczas chłodniczego przechowywania przez okres czterech tygodni, określono na podstawie kwasowości tłuszczu w stopniach kwasowości oraz zawartość aldehydu malonowego poprzez określenie zawartości aldehydu malonowego testem TBA. Dla wybranych próbek masła i mixu określono profil kwasów tłuszczowych metodą chromatografii gazowej. Wszystkie próbki zostały także poddane ocenie organoleptycznej metodą pięciopunktową.

Wykazano, że ekstrakty roślinne takie jak ekstrakt z pestek winogron oraz miłorzębu odznaczają się wysoką aktywnością antyoksydacyjną (ok 70%), a oleje roślinne nawet wyższą (ok. 90%), co jednak nie przekładało się na wyraźne ograniczanie stopnia utleniania frakcji lipidowej badanych próbek. Okresowo w największym stopniu hamowały ten proces ekstrakty z pestek winogron, czerwonej herbaty, miłorzębu i ostropestu. Z kolei dodatek olejów roślinnych nie tylko nie wpłynął na zahamowanie utleniania lipidów masła, a nawet oddziaływał prooksydacyjnie - szczególnie w przypadku oleju z czarnuszki oraz orzecha włoskiego. Zadowalające efekty w ograniczaniu zmian oksydacyjnych tłuszczu osiągnięto w przypadku dodatku mielonych nasion ostropestu plamistego oraz nasion czarnuszki, jednak ich zastosowanie spowodowało niekorzystne zmiany organoleptyczne produktu. Dodatek mielonych pestek dyni i mielonych liści miłorzębu nie wpłynął negatywnie na ocenę

organoleptyczną, jednakże działanie przeciwutleniające nie było stałe dla całego okresu trwania doświadczenia.

Porównanie masła i mixu tłuszczowego wykazało, że ten ostatni charakteryzował się znacznie większą zawartością aldehydu malonowego, natomiast użyte dodatki powodowały nieznaczne ich zmniejszenie. Oznaczanie profilu kwasów tłuszczowych wykazało znaczne różnice pomiędzy masłem a mixem, a zastosowane do nich dodatki nie wpłynęły na zmianę zawartości kwasów tłuszczowych.

## Summary

The aim of this study was to determine the usefulness of selected natural antioxidants of plant origin to limit the adverse lipid changes in butter during refrigeration storage, and thus ensure its longer life.

The final stage of the study compared the impact of top rated additives - ground pumpkin seeds and dried leaves of ginkgo on the lipid fraction of butter and mix fat-reduced milk fat.

Sources of natural antioxidants used in studies were as follows: powdered extracts (including grape seed, red tea, ginkgo and milk thistle), vegetable oils (from milk thistle, black cumin, canola, avocado, pumpkin seeds and walnuts), ground seeds (milk thistle, black cumin and pumpkin), the ground dried plant (ginkgo leaves, yerba mate and celandine) and spirulina.

Prior to adding these components to the butter powdered extracts of plant and plant oils antioxidant activity was determined using the DPPH. This method was not possible to use due to methodological reasons, in the case of the other additives. Changes in the lipid fraction of a butter and mix during cool storage for a period of four weeks was determined from the acidity of fat in degrees of acidity and peroxide content by the content of malonic aldehyde with TBA test, and the selected samples of butter and mix defined fatty acid profile by gas chromatography. All samples were also subjected to organoleptic evaluation using method of five points.

It has been shown that plant extracts such as grape seed extract and ginkgo have a high antioxidant activity (about 70%), and vegetable oils even higher (approx. 90%), which does not translate into significant reduction in degree of oxidation of the lipid fraction in tested samples. Periodically the greatest extent inhibited the process of grape seed extract, red tea, ginkgo and milk thistle. On the other hand, the addition of vegetable oils not only did not affect the inhibition of lipid peroxidation of butter, but also affected prooxidative. Especially in the case of oil from cumin and walnut. Satisfactory results in reducing oxidative changes of fat were achieved through addition of ground seeds of milk thistle and black cumin seeds, but their use resulted in adverse organoleptic changes. on the other hand, ground pumpkin seeds and ground leaves of ginkgo did not adversely affect the organoleptic assessment, but the antioxidant was not fixed for the entire duration of the experiment.

A comparison of butter fat and mix showed that the latter was characterized by a much higher content of peroxides, and the additives used caused a slight its reduction in their. Determination of fatty acid profile showed significant differences between butter and mix, and applied supplements did not change the fatty acid content.

## Aneks

Tabela 14. Aktywność antyoksydacyjna wodnych roztworów sproszkowanych ekstraktów z pestek winogron, czerwonej herbaty i miłorzębu w czasie inkubacji

| Czas pomiaru (minuty) | Rodzaj ekstraktu |                  |                 |
|-----------------------|------------------|------------------|-----------------|
|                       | Pestki winogron  | Czerwona herbata | Miłorząb        |
| 15                    | 70,68 ± 6,03 aA  | 66,83 ± 0,14 aA  | 70,44 ± 1,33 aA |
| 30                    | 70,84 ± 6,04 aA  | 66,10 ± 1,00 aA  | 70,68 ± 4,35 aA |
| 45                    | 70,76 ± 5,92 aA  | 65,38 ± 1,19 aA  | 69,64 ± 5,32 aA |
| 60                    | 70,60 ± 6,04 aA  | 65,14 ± 1,39 aA  | 70,04 ± 4,39 aA |

W tabeli przedstawiono wartości średnie ± odchylenie standardowe

a - wartości średnie oznaczone w wierszu, tą samą literą nie różnią się statystycznie istotnie ( $p < 0,05$ )

A - wartości średnie oznaczone w kolumnie, tą samą literą nie różnią się statystycznie istotnie ( $p < 0,05$ )

Tabela 15. Aktywność antyoksydacyjna wybranych stężeń wodnych roztworów sproszkowanych ekstraktów z pestek winogron, czerwonej herbaty i miłorzębu

| Stężenie ekstraktu | Rodzaj ekstraktu |                  |                  |
|--------------------|------------------|------------------|------------------|
|                    | Pestki winogron  | Czerwona herbata | Miłorząb         |
| 0,2 mg/ml          | 71,85 ± 3,75 aA  | 62,32 ± 2,29 bA  | 69,26 ± 2,55 abA |
| 0,5 mg/ml          | 70,48 ± 1,05 aA  | 60,26 ± 1,61 bA  | 69,12 ± 3,24 aA  |

W tabeli przedstawiono wartości średnie ± odchylenie standardowe

a - b - wartości średnie oznaczone w wierszu, różnymi literami różnią się statystycznie istotnie ( $p < 0,05$ )

A - wartości średnie oznaczone w kolumnie, tą samą literą nie różnią się statystycznie istotnie ( $p < 0,05$ )

Tabela 16. Kwasowość lipidów masła z dodatkiem wodnych roztworów sproszkowanych ekstraktów w czasie przechowywania

| Czas (tygodnie) | Rodzaj ekstraktu |                 |                |                |
|-----------------|------------------|-----------------|----------------|----------------|
|                 | Kontrolna        | Pestki winogron | Herbata        | Miłorząb       |
| 1               | 1,09 ± 0,04 aA   | 1,16 ± 0,04 aA  | 1,18 ± 0,04 aA | 1,16 ± 0,04 aA |
| 2               | 1,20 ± 0 aA      | 1,16 ± 0,04 aA  | 1,18 ± 0,04 aA | 1,16 ± 0,04 aA |
| 3               | 1,20 ± 0 aA      | 1,20 ± 0 aA     | 1,20 ± 0 aA    | 1,13 ± 0 aA    |
| 4               | 1,20 ± 0 aA      | 1,20 ± 0 aA     | 1,20 ± 0 aA    | 1,20 ± 0 aA    |

W tabeli przedstawiono wartości średnie ± odchylenie standardowe

a - wartości średnie oznaczone w wierszu, tą samą literą nie różnią się statystycznie istotnie ( $p < 0,05$ )

A - wartości średnie oznaczone w kolumnie, tą samą literą nie różnią się statystycznie istotnie ( $p < 0,05$ )

Tabela 17. Zawartość aldehydu malonowego w maśle z dodatkiem wodnych roztworów sproszkowanych ekstraktów w czasie przechowywania (mg/100 g tłuszczu)

| Czas (tygodnie) | Rodzaj ekstraktu |                 |                  |                |
|-----------------|------------------|-----------------|------------------|----------------|
|                 | Kontrolna        | Pestki winogron | Czerwona herbata | Miłorząb       |
| 1               | 0,19 ± 0,04 aA   | 0,22 ± 0,03 aA  | 0,23 ± 0,02 aA   | 0,20 ± 0,02 aA |
| 2               | 0,30 ± 0,01 aA   | 0,28 ± 0,04 aA  | 0,31 ± 0,02 aAB  | 0,34 ± 0,02 aB |
| 3               | 0,42 ± 0,06 aB   | 0,41 ± 0,07 aB  | 0,43 ± 0,08 aB   | 0,50 ± 0,03 aC |
| 4               | 0,27 ± 0,02 aA   | 0,24 ± 0,02 aA  | 0,25 ± 0,01 aA   | 0,25 ± 0,01 aA |

W tabeli przedstawiono wartości średnie ± odchylenie standardowe

a - wartości średnie oznaczone w wierszu, tą samą literą nie różnią się statystycznie istotnie (p<0,05)

A - C - wartości średnie oznaczone w kolumnie, tą samą literą nie różnią się statystycznie istotnie (p<0,05)

Tabela 18. Aktywność antyoksydacyjna wybranych stężeń wodnych roztworów sproszkowanych ekstraktów z pietruszki, papryki, pieprzu, czosnku, pora, wiśni, pomarańczy, banana i maliny

| Stężenie  | Rodzaj ekstraktu |                |                |                |                |                |                |                |                |
|-----------|------------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|
|           | Pietruszka       | Papryka        | Pieprz         | Czosnek        | Por            | Wiśnia         | Pomarańcza     | Banan          | Malina         |
| 0,2 mg/ml | 1,81 ± 0,4 aA    | 8,87 ± 0,6 aA  | 6,40 ± 0,7 aA  | 5,75 ± 0,7 aA  | 7,31 ± 0,9 aA  | 26,68 ± 1,0 bA | 8,62 ± 0,4 aA  | 21,18 ± 2,2 aA | 42,20 ± 1,6 bA |
| 0,5 mg/ml | 12,78 ± 3 aB     | 20,89 ± 1,9 aB | 20,38 ± 0,6 aB | 18,04 ± 1,1 aB | 18,13 ± 0,3 aB | 51,96 ± 3,5 bB | 18,80 ± 1,5 aB | 38,43 ± 0,5 aB | 52,46 ± 2,7 bB |
| 2,5 mg/ml | 15,37 ± 0,3 aB   | 26,40 ± 1 aC   | 21,30 ± 0,7 aB | 21,05 ± 1,5 aB | 23,22 ± 1,6 aC | 59,57 ± 1,6 bC | 22,05 ± 2,4 aB | 32,58 ± 1,9 aC | 54,97 ± 2,2 bB |

W tabeli przedstawiono wartości średnie ± odchylenie standardowe

a – b - wartości średnie oznaczone w wierszu, tą samą literą nie różnią się statystycznie istotnie (p<0,05)

A – B - wartości średnie oznaczone w kolumnie, tą samą literą nie różnią się statystycznie istotnie (p<0,05)

Tabela 19. Aktywność antyoksydacyjna wybranych stężeń wodnych roztworów sproszkowanych ekstraktów z pestek winogron, czerwonej herbaty, miłorzębu, wiśni i maliny

| Stężenia   | Ekstrakty       |                  |                 |                 |                  |
|------------|-----------------|------------------|-----------------|-----------------|------------------|
|            | Pestki winogron | Czerwona herbata | Miłorząb        | Wiśnia          | Malina           |
| 0,5 mg/ml  | 54,37 ± 2,34 aA | 53,03 ± 3,38 aA  | 60,93 ± 2,19 bA | 43,91 ± 0,60 cA | 48,08 ± 0,29 acA |
| 1,25 mg/ml | 64,33 ± 5,12 aB | 50,42 ± 0,77 bA  | 59,93 ± 2,91 aA | 45,80 ± 1,71 bA | 45,68 ± 1,51 bA  |

W tabeli przedstawiono wartości średnie ± odchylenie standardowe

a – c - wartości średnie oznaczone w wierszu, tą samą literą nie różnią się statystycznie istotnie (p<0,05)

A – B - wartości średnie oznaczone w kolumnie, tą samą literą nie różnią się statystycznie istotnie (p<0,05)

Tabela 20. Kwasowość lipidów masła z dodatkiem wodnych roztworów sproszkowanych ekstraktów w czasie przechowywania

| Tydzień | Masło z dodatkiem ekstraktów |                   |                   |                   |                   |                   |
|---------|------------------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
|         | Kontrolna                    | Pestki winogron   | Czerwona herbata  | Miłorząb          | Wiśnia            | Malina            |
| 1       | 1,33 ± 0,12<br>aA            | 1,33 ± 0,12<br>aA | 1,27 ± 0,12<br>aA | 1,33 ± 0 aA       | 1,27 ± 0,12<br>aA | 1,27 ± 0,12<br>aA |
| 2       | 1,30 ± 0,12<br>aA            | 1,33 ± 0,12<br>aA | 1,27 ± 0,12<br>aA | 1,27 ± 0,12<br>aA | 1,29 ± 0,11<br>aA | 1,29 ± 0,11<br>aA |
| 3       | 1,33 ± 0,12<br>aA            | 1,31 ± 0,10<br>aA | 1,27 ± 0,12<br>aA | 1,24 ± 0,04<br>aA | 1,23 ± 0,12<br>aA | 1,23 ± 0,12<br>aA |
| 4       | 1,31 ± 0,10<br>aA            | 1,30 ± 0,12<br>aA | 1,23 ± 0,12<br>aA | 1,24 ± 0,04<br>aA | 1,24 ± 0,04<br>aA | 1,24 ± 0,04<br>aA |

W tabeli przedstawiono wartości średnie ± odchylenie standardowe

a - wartości średnie oznaczone w wierszu, tą samą literą nie różnią się statystycznie istotnie ( $p < 0,05$ )

A - wartości średnie oznaczone w kolumnie, tą samą literą nie różnią się statystycznie istotnie ( $p < 0,05$ )

Tabela 21. Zawartość aldehydu malonowego w maśle z dodatkiem wodnych roztworów sproszkowanych ekstraktów w czasie przechowywania (mg/100 g tłuszczu)

| Tydzień | Masło z dodatkiem ekstraktów |                      |                  |                     |                     |                     |
|---------|------------------------------|----------------------|------------------|---------------------|---------------------|---------------------|
|         | Kontrolna                    | Pestki Winogron      | Czerwona herbata | Miłorząb            | Wiśnia              | Malina              |
| 1       | 0,20 ± 0 aA                  | 0,22 ± 0,01<br>aAC   | 0,22 ± 0 aA      | 0,19 ± 0 aA         | 0,15 ± 0,06<br>aA   | 0,15 ± 0,01<br>aA   |
| 2       | 0,31 ± 0 abB                 | 0,29 ± 0 bcB         | 0,37 ± 0 dA      | 0,34 ± 0,03<br>bdB  | 0,28 ± 0,01<br>acAB | 0,29 ± 0,02<br>acB  |
| 3       | 0,25 ± 0,01<br>aAB           | 0,23 ± 0,02<br>abABC | 0,20 ± 0,03 bAB  | 0,24 ± 0<br>abA     | 0,23 ± 0,01<br>abA  | 0,23 ± 0,01<br>abCD |
| 4       | 0,32 ± 0,07<br>acB           | 0,48 ± 0 bD          | 0,38 ± 0 abcAC   | 0,39 ± 0,05<br>abcB | 0,41 ± 0,08<br>abB  | 0,25 ± 0 cCD        |

W tabeli przedstawiono wartości średnie ± odchylenie standardowe

a – d - wartości średnie oznaczone w wierszu, tą samą literą nie różnią się statystycznie istotnie ( $p < 0,05$ )

A – D - wartości średnie oznaczone w kolumnie, tą samą literą nie różnią się statystycznie istotnie ( $p < 0,05$ )

Tabela 22. Aktywność antyoksydacyjna wybranych stężeń olejów z ostropestu, czarnuszki i rzepaku

| Stężenie | Oleje           |                 |                 |
|----------|-----------------|-----------------|-----------------|
|          | Ostropest       | Czarnuszka      | Rzepak          |
| 3%       | 85,67 ± 1,85 aA | 83,49 ± 2,66 aA | 88,82 ± 1,91 aA |
| 5%       | 87,96 ± 1,22 aA | 81,81 ± 0,62 bA | 89,28 ± 0,35 aA |

W tabeli przedstawiono wartości średnie ± odchylenie standardowe

a – b - wartości średnie oznaczone w wierszu, tą samą literą nie różnią się statystycznie istotnie ( $p < 0,05$ )

A - wartości średnie oznaczone w kolumnie, tą samą literą nie różnią się statystycznie istotnie ( $p < 0,05$ )

Tabela 23. Kwasowość lipidów masła z dodatkiem wybranych stężeń olejów w czasie przechowywania

| Tydzień | Masła z dodatkiem olejów |                    |                 |                    |                   |                 |                 |
|---------|--------------------------|--------------------|-----------------|--------------------|-------------------|-----------------|-----------------|
|         | Kontrolna                | Ostropest          |                 | Czarnuszka         |                   | Rzepak          |                 |
|         |                          | 3%                 | 5%              | 3%                 | 5%                | 3%              | 5%              |
| 1       | 1,02 ± 0,04<br>aA        | 1,07 ± 0 abA       | 1,13 ± 0<br>abA | 1,39 ± 0,02<br>abA | 1,66 ± 0,02<br>bA | 1,07 ± 0<br>abA | 1,13 ± 0<br>abA |
| 2       | 1,02 ± 0,04<br>aA        | 1,07 ± 0 abA       | 1,13 ± 0<br>abA | 1,47 ± 0 abA       | 1,69 ± 0,04<br>bA | 1,07 ± 0<br>abA | 1,13 ± 0<br>abA |
| 3       | 1,00 ± 0 aA              | 1,09 ± 0,04<br>abA | 1,13 ± 0<br>abA | 1,40 ± 0 abA       | 1,69 ± 0,04<br>bA | 1,07 ± 0<br>abA | 1,13 ± 0<br>abA |
| 4       | 1,00 ± 0 aA              | 1,07 ± 0 abA       | 1,13 ± 0<br>abA | 1,40 ± 0 abA       | 1,73 ± 0 bA       | 1,07 ± 0<br>abA | 1,13 ± 0<br>abA |

W tabeli przedstawiono wartości średnie ± odchylenie standardowe

a – b - wartości średnie oznaczone w wierszu, tą samą literą nie różnią się statystycznie istotnie (p<0,05)

A - wartości średnie oznaczone w kolumnie, tą samą literą nie różnią się statystycznie istotnie (p<0,05)

Tabela 24. Zawartość aldehydu malonowego w maśle z dodatkiem wybranych stężeń olejów w czasie przechowywania (mg/100 g tłuszczu)

| Czas<br>(tygodnie) | Masła z dodatkiem olejów |                    |                     |                    |                     |                    |                   |
|--------------------|--------------------------|--------------------|---------------------|--------------------|---------------------|--------------------|-------------------|
|                    | Kontrolna                | Ostropest          |                     | Czarnuszka         |                     | Rzepak             |                   |
|                    |                          | 3%                 | 5%                  | 3%                 | 5%                  | 3%                 | 5%                |
| 1                  | 0,44 ± 0,02<br>aA        | 0,42 ±<br>0,04 aA  | 0,45 ± 0,01<br>aA   | 0,40 ±<br>0,08 aA  | 0,43 ± 0,02<br>aA   | 0,53 ±<br>0,07 bA  | 0,62 ±<br>0,04 bA |
| 2                  | 0,30 ± 0,02<br>aB        | 0,36 ±<br>0,03 abA | 0,40 ± 0,03<br>bcAB | 0,44 ±<br>0,03 cA  | 0,45 ± 0,07<br>cA   | 0,44 ±<br>0,03 cA  | 0,53 ±<br>0,03 dA |
| 3                  | 0,21 ± 0,05<br>aC        | 0,32 ±<br>0,08 abA | 0,33 ± 0,06<br>abC  | 0,26 ±<br>0,11 abA | 0,35 ± 0,04<br>bA   | 0,38 ±<br>0,11 bcA | 0,49 ±<br>0,03 cA |
| 4                  | 0,29 ± 0,02<br>aB        | 0,36 ±<br>0,11 abA | 0,38 ± 0,02<br>abBC | 0,39 ±<br>0,03 abA | 0,43 ± 0,05<br>abcA | 0,45 ±<br>0,12 bcA | 0,58 ±<br>0,15 cA |

W tabeli przedstawiono wartości średnie ± odchylenie standardowe

a – d - wartości średnie oznaczone w wierszu, tą samą literą nie różnią się statystycznie istotnie (p<0,05)

A – C - wartości średnie oznaczone w kolumnie, tą samą literą nie różnią się statystycznie istotnie (p<0,05)

Tabela 25. Aktywność antyoksydacyjna wybranych stężeń olejów z awokado, pestek dyni i orzecha włoskiego

| Stężenie | Oleje           |                 |                  |
|----------|-----------------|-----------------|------------------|
|          | Awokado         | Dynia           | Orzech           |
| 3%       | 64,29 ± 4,44 aA | 71,43 ± 2,91 aA | 69,26 ± 0,75 aA  |
| 5%       | 65,08 ± 2,38 aA | 70,13 ± 2,20 bA | 67,53 ± 0,78 abA |
| 10%      | 81,60 ± 3,03 aB | 94,73 ± 4,25 bB | 94,23 ± 1,96 bB  |

W tabeli przedstawiono wartości średnie ± odchylenie standardowe

a – b - wartości średnie oznaczone w wierszu, tą samą literą nie różnią się statystycznie istotnie (p<0,05)

A – B - wartości średnie oznaczone w kolumnie, tą samą literą nie różnią się statystycznie istotnie (p<0,05)

Tabela 26. Kwasowość lipidów masła z dodatkiem olejów w czasie przechowywania

| Czas<br>(tygodnie) | Masła z dodatkiem olejów |                |                 |                 |
|--------------------|--------------------------|----------------|-----------------|-----------------|
|                    | Kontrolna                | Awokado        | Dynia           | Orzech włoski   |
| 1                  | 1,27 ± 0 aA              | 1,84 ± 0,08 bA | 1,33 ± 0,07 abA | 1,47 ± 0 abA    |
| 2                  | 1,24 ± 0,04 aA           | 1,80 ± 0 bAB   | 1,31 ± 0,04 abA | 1,47 ± 0 abA    |
| 3                  | 1,29 ± 0,04 aA           | 1,67 ± 0 bB    | 1,31 ± 0,04 abA | 1,42 ± 0,04 abA |
| 4                  | 1,27 ± 0 aA              | 1,73 ± 0 bAB   | 1,33 ± 0 abA    | 1,40 ± 0 abA    |

W tabeli przedstawiono wartości średnie ± odchylenie standardowe

a – b - wartości średnie oznaczone w wierszu, tą samą literą nie różnią się statystycznie istotnie ( $p < 0,05$ )

A – B - wartości średnie oznaczone w kolumnie, tą samą literą nie różnią się statystycznie istotnie ( $p < 0,05$ )

Tabela 27. Zawartość aldehydu malonowego w maśle z dodatkiem olejów w czasie przechowywania (mg/100 g tłuszczu)

| Czas (tygodnie) | Masła z dodatkiem olejów |                |                |                |
|-----------------|--------------------------|----------------|----------------|----------------|
|                 | Kontrolna                | Awokado        | Dynia          | Orzech         |
| 1               | 0,16 ± 0,03 aA           | 0,23 ± 0,03 aA | 0,39 ± 0,01 bA | 0,39 ± 0,06 bA |
| 2               | 0,21 ± 0,01 aAB          | 0,26 ± 0,02 bA | 0,25 ± 0,01 bB | 0,46 ± 0 cA    |
| 3               | 0,25 ± 0,02 aB           | 0,33 ± 0,03 aB | 0,42 ± 0,01 bA | 0,49 ± 0,05 cA |
| 4               | 0,21 ± 0,01 aAB          | 0,25 ± 0 bA    | 0,30 ± 0 cC    | 0,54 ± 0,01 dB |

W tabeli przedstawiono wartości średnie ± odchylenie standardowe

a – d - wartości średnie oznaczone w wierszu, tą samą literą nie różnią się statystycznie istotnie ( $p < 0,05$ )

A – C - wartości średnie oznaczone w kolumnie, tą samą literą nie różnią się statystycznie istotnie ( $p < 0,05$ )

Tabela 28. Kwasowość lipidów masła z dodatkiem świeżo mielonych nasion ostropestu w czasie przechowywania

| Czas<br>(tygodnie) | Masła z dodatkiem mielonych nasion |               |                  |                 |
|--------------------|------------------------------------|---------------|------------------|-----------------|
|                    | Kontrolna                          | Ostropest 1%  | Ostropest 2%     | Ostropest 3%    |
| 1                  | 1,27 ± 0 aA                        | 1,33 ± 0 abA  | 1,44 ± 0,04 abA  | 1,67 ± 0,07 bA  |
| 2                  | 1,24 ± 0,04 aA                     | 1,47 ± 0 abAB | 1,69 ± 0,04 abAB | 1,98 ± 0,04 bAB |
| 3                  | 1,29 ± 0,04 aA                     | 1,53 ± 0 abAB | 2,07 ± 0 abAB    | 2,33 ± 0 bAB    |
| 4                  | 1,27 ± 0 aA                        | 1,87 ± 0 abB  | 2,13 ± 0 abB     | 2,47 ± 0 bB     |

W tabeli przedstawiono wartości średnie ± odchylenie standardowe

a – b - wartości średnie oznaczone w wierszu, tą samą literą nie różnią się statystycznie istotnie ( $p < 0,05$ )

A – B - wartości średnie oznaczone w kolumnie, tą samą literą nie różnią się statystycznie istotnie ( $p < 0,05$ )

Tabela 29. Zawartość aldehydu malonowego w maśle z dodatkiem mielonych nasion ostropestu w czasie przechowywania (mg/100 g tłuszczu)

| Tydzień | Masła z dodatkiem mielonych nasion |                 |                |                |
|---------|------------------------------------|-----------------|----------------|----------------|
|         | Kontrolna                          | Ostropest 1%    | Ostropest 2%   | Ostropest 3%   |
| 1       | 0,16 ± 0,03 aA                     | 0,22 ± 0,01 bA  | 0,24 ± 0,04 bA | 0,25 ± 0,01 bA |
| 2       | 0,21 ± 0,01 aB                     | 0,13 ± 0,02 bBC | 0,14 ± 0,01 bB | 0,15 ± 0 bB    |
| 3       | 0,25 ± 0,02 aC                     | 0,11 ± 0 bC     | 0,16 ± 0 cB    | 0,25 ± 0,01 aA |
| 4       | 0,21 ± 0,01 aB                     | 0,16 ± 0,03 bBD | 0,15 ± 0 bB    | 0,15 ± 0,01 bB |

W tabeli przedstawiono wartości średnie ± odchylenie standardowe

a – c - wartości średnie oznaczone w wierszu, tą samą literą nie różnią się statystycznie istotnie ( $p < 0,05$ )

A – D - wartości średnie oznaczone w kolumnie, tą samą literą nie różnią się statystycznie istotnie ( $p < 0,05$ )

Tabela 30. Kwasowość lipidów masła z dodatkiem ekstraktu i zakupionych mielonych nasion ostropestu w czasie przechowywania

| Czas (tygodnie) | Masła z dodatkiem ostropestu |             |             |                 |                |
|-----------------|------------------------------|-------------|-------------|-----------------|----------------|
|                 | Kontrolna                    | Ekstrakt    |             | Mielone nasiona |                |
|                 |                              | 1 mg/100g   | 2,5 mg/100g | 1%              | 3%             |
| 1               | 1,00 ± 0 aA                  | 1,00 ± 0 aA | 1,00 ± 0 aA | 1,33 ± 0 bA     | 2,13 ± 0 cA    |
| 2               | 1,11 ± 0,04 aA               | 1,00 ± 0 aA | 1,00 ± 0 aA | 1,56 ± 0,04 bA  | 2,33 ± 0 cA    |
| 3               | 1,16 ± 0,04 aA               | 1,00 ± 0 aA | 1,00 ± 0 aA | 1,80 ± 0 bA     | 2,33 ± 0 cA    |
| 4               | 1,16 ± 0,04 aA               | 1,00 ± 0 aA | 1,00 ± 0 aA | 2,02 ± 0,04 bA  | 2,31 ± 0,08 cA |

W tabeli przedstawiono wartości średnie ± odchylenie standardowe

a – c - wartości średnie oznaczone w wierszu, tą samą literą nie różnią się statystycznie istotnie ( $p < 0,05$ )

A - wartości średnie oznaczone w kolumnie, tą samą literą nie różnią się statystycznie istotnie ( $p < 0,05$ )

Tabela 31. Zawartość aldehydu malonowego w maśle z dodatkiem ekstraktu i zakupionych mielonych nasion ostropestu w czasie przechowywania (mg/100 g tłuszczu)

| Czas (tygodnie) | Masła z dodatkiem ostropestu |                |                |                 |                 |
|-----------------|------------------------------|----------------|----------------|-----------------|-----------------|
|                 | Kontrolna                    | Ekstrakt       |                | Mielone nasiona |                 |
|                 |                              | 1 mg/100g      | 2,5 mg/100g    | 1%              | 3%              |
| 1               | 0,15 ± 0,01 aA               | 0,13 ± 0 bA    | 0,14 ± 0 bA    | 0,17 ± 0,01 cA  | 0,16 ± 0 acA    |
| 2               | 0,15 ± 0 aA                  | 0,16 ± 0,02 aB | 0,18 ± 0,01 bB | 0,17 ± 0 abA    | 0,15 ± 0,01 aA  |
| 3               | 0,11 ± 0 aB                  | 0,11 ± 0 aA    | 0,14 ± 0,01 bA | 0,12 ± 0,01 aB  | 0,11 ± 0 aB     |
| 4               | 0,17 ± 0,03 aA               | 0,16 ± 0,02 aB | 0,17 ± 0,01 aB | 0,12 ± 0 bB     | 0,15 ± 0,01 abA |

W tabeli przedstawiono wartości średnie ± odchylenie standardowe

a – c - wartości średnie oznaczone w wierszu, tą samą literą nie różnią się statystycznie istotnie ( $p < 0,05$ )

A – B - wartości średnie oznaczone w kolumnie, tą samą literą nie różnią się statystycznie istotnie ( $p < 0,05$ )

Tabela 32. Kwasowość lipidów masła z dodatkiem mielonych nasion czarnuszki, pestek dyni, liści miłorzębu i nasion ostropestu w czasie przechowywania

| Czas<br>(tyg.) | Masła z dodatkiem mielonych surowców roślinnych |                   |                       |                |                 |                   |                   |                   |                       |
|----------------|-------------------------------------------------|-------------------|-----------------------|----------------|-----------------|-------------------|-------------------|-------------------|-----------------------|
|                | Kontrolna                                       | Czarnuszka        |                       | Dynia          |                 | Miłorząb          |                   | Ostropest         |                       |
|                |                                                 | 0,5%              | 1%                    | 0,5%           | 1%              | 0,5%              | 1%                | 0,5%              | 1%                    |
| 1              | 1,07 ± 0<br>aA                                  | 2,33 ± 0<br>bA    | 2,40 ± 0<br>bA        | 1,13 ±<br>0 aA | 1,20 ±<br>0 aA  | 1,18 ±<br>0,04 aA | 1,24 ±<br>0,04 aA | 1,24 ±<br>0,04 aA | 1,42 ±<br>0,04 aA     |
| 2              | 1,20 ± 0<br>aA                                  | 2,40 ±<br>0,07 bA | 2,58 ±<br>0,04<br>bAB | 1,20 ±<br>0 aA | 1,27 ±<br>0 aAB | 1,20 ± 0<br>aA    | 1,33 ±<br>0 aA    | 1,40 ± 0<br>aAB   | 1,76 ±<br>0,04<br>cAB |
| 3              | 1,20 ± 0<br>aA                                  | 2,47 ± 0<br>bA    | 2,67 ± 0<br>bB        | 1,20 ±<br>0 aA | 1,33 ±<br>0 aB  | 1,20 ± 0<br>aA    | 1,33 ±<br>0 aA    | 1,47 ± 0<br>aB    | 1,90 ±<br>0,05 cB     |

W tabeli przedstawiono wartości średnie ± odchylenie standardowe

a – c - wartości średnie oznaczone w wierszu, tą samą literą nie różnią się statystycznie istotnie (p<0,05)

A – B - wartości średnie oznaczone w kolumnie, tą samą literą nie różnią się statystycznie istotnie (p<0,05)

Tabela 33. Zawartość aldehydu malonowego w maśle z dodatkiem mielonych nasion czarnuszki, pestek dyni, liści miłorzębu i nasion ostropestu w czasie przechowywania (mg/100 g tłuszczu)

| Czas<br>(tyg.) | Masła z dodatkiem mielonych surowców roślinnych |                   |                   |                  |                 |                  |                        |                    |                       |
|----------------|-------------------------------------------------|-------------------|-------------------|------------------|-----------------|------------------|------------------------|--------------------|-----------------------|
|                | Kontrolna                                       | Czarnuszka        |                   | Dynia            |                 | Miłorząb         |                        | Ostropest          |                       |
|                |                                                 | 0,5%              | 1%                | 0,5%             | 1%              | 0,5%             | 1%                     | 0,5%               | 1%                    |
| 1              | 0,18 ± 0 aA                                     | 0,18 ±<br>0,01 aA | 0,17 ±<br>0 bcA   | 0,19 ± 0<br>aA   | 0,17 ±<br>0 abA | 0,18 ± 0<br>abA  | 0,15 ± 0<br>cA         | 0,19 ±<br>0,02 aA  | 0,26 ± 0<br>dA        |
| 2              | 0,17 ± 0,01<br>aA                               | 0,14 ± 0<br>bcdB  | 0,12 ±<br>0,01 dB | 0,13 ± 0<br>bcdB | 0,16 ±<br>0 acB | 0,14 ± 0<br>bcdB | 0,15 ±<br>0,01<br>abdA | 0,15 ±<br>0,03 bdA | 0,14 ±<br>0,01<br>bdB |
| 3              | 0,17 ± 0,01<br>aA                               | 0,14 ± 0<br>bB    | 0,22 ±<br>0,01 cC | 0,17 ± 0<br>aC   | 0,16 ±<br>0 aB  | 0,19 ±<br>0,1 dA | 0,17 ± 0<br>aB         | 0,17 ±<br>0,02 aA  | 0,17 ±<br>0,01 aC     |

W tabeli przedstawiono wartości średnie ± odchylenie standardowe

a – d - wartości średnie oznaczone w wierszu, tą samą literą nie różnią się statystycznie istotnie (p<0,05)

A – C - wartości średnie oznaczone w kolumnie, tą samą literą nie różnią się statystycznie istotnie (p<0,05)

Tabela 34. Kwasowość lipidów masła z dodatkiem sproszkowanej spiruliny, mielonego ziela czystka, ostrokrzewu, mielonych pestek dyni i liści miłorzębu w czasie przechowywania

| Czas<br>(tyg.) | Masła z dodatkiem mielonych surowców roślinnych |                 |                    |                   |                   |                   |
|----------------|-------------------------------------------------|-----------------|--------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
|                | Kontrolna                                       | Spirulina       | Czystek            | Ostrokrzew        | Dynia             | Miłorząb          |
| 1              | 1,40 ± 0 aA                                     | 1,40 ± 0 aA     | 1,40 ± 0 aA        | 1,44 ± 0,04<br>aA | 1,44 ± 0,10<br>aA | 1,38 ± 0,04<br>aA |
| 2              | 1,31 ± 0,04<br>aAB                              | 1,47 ± 0 aAB    | 1,49 ± 0,04<br>aAB | 1,42 ± 0,04<br>aA | 1,53 ± 0 aA       | 1,47 ± 0 aA       |
| 3              | 1,27 ± 0 aB                                     | 1,67 ± 0<br>aAB | 1,58 ± 0,08<br>aAB | 1,47 ± 0 aA       | 1,49 ± 0,04<br>aA | 1,47 ± 0 aA       |
| 4              | 1,33 ± 0 aAB                                    | 1,80 ± 0 aB     | 1,80 ± 0 aB        | 1,62 ± 0,04<br>aA | 1,47 ± 0 aA       | 1,47 ± 0 aA       |

W tabeli przedstawiono wartości średnie ± odchylenie standardowe

a - wartości średnie oznaczone w wierszu, tą samą literą nie różnią się statystycznie istotnie (p<0,05)

A – B - wartości średnie oznaczone w kolumnie, tą samą literą nie różnią się statystycznie istotnie (p<0,05)

Tabela 35. Zawartość aldehydu malonowego w maśle z dodatkiem sproszkowanej spiruliny, mielonego ziela czystka, ostrokrzewu, mielonych pestek dyni i liści miłorzębu w czasie przechowywania (mg/100 g tłuszczu)

| Czas<br>(tyg.) | Masła z dodatkiem mielonych surowców roślinnych |                    |                   |                     |                   |                   |
|----------------|-------------------------------------------------|--------------------|-------------------|---------------------|-------------------|-------------------|
|                | Kontrolna                                       | Spirulina          | Czystek           | Ostrokrzew          | Dynia             | Miłorząb          |
| 1              | 0,15 ± 0 aA                                     | 0,15 ± 0 aA        | 0,16 ± 0,01<br>aA | 0,17 ± 0 aA         | 0,20 ± 0,01<br>bA | 0,26 ± 0 cA       |
| 2              | 0,16 ± 0,01<br>aA                               | 0,15 ± 0,01 aA     | 0,15 ± 0 aBC      | 0,16 ± 0,03 aA      | 0,15 ± 0,01<br>aB | 0,13 ± 0,02<br>aB |
| 3              | 0,15 ± 0 aA                                     | 0,14 ± 0,01 aA     | 0,15 ± 0 aB       | 0,15 ± 0,03 aA      | 0,13 ± 0 aC       | 0,13 ± 0 aB       |
| 4              | 0,15 ± 0 aA                                     | 0,14 ± 0,02<br>acA | 0,14 ± 0 acC      | 0,13 ± 0,01<br>bcdA | 0,12 ± 0 dC       | 0,14 ± 0 bcB      |

W tabeli przedstawiono wartości średnie ± odchylenie standardowe

a – d - wartości średnie oznaczone w wierszu, tą samą literą nie różnią się statystycznie istotnie ( $p < 0,05$ )

A – C - wartości średnie oznaczone w kolumnie, tą samą literą nie różnią się statystycznie istotnie ( $p < 0,05$ )

Tabela 36. Kwasowość lipidów masła oraz mixu tłuszczowego z dodatkiem zmielonych pestek dyni i liści miłorzębu w czasie przechowywania

| Czas<br>(tygodnie) | Masło i mix tłuszczowy |                   |                    |                   |                    |                     |
|--------------------|------------------------|-------------------|--------------------|-------------------|--------------------|---------------------|
|                    | Kontrolna<br>masło     | Kontrolna<br>mix  | Dynia<br>masło     | Dynia<br>mix      | Miłorząb<br>masło  | Miłorząb<br>mix     |
| 1                  | 1,31 ± 0,04<br>abA     | 1,22 ± 0,04<br>aA | 1,71 ± 0,04<br>bA  | 1,69 ± 0,04<br>bA | 1,53 ± 0 abA       | 1,38 ± 0,04<br>abA  |
| 2                  | 1,33 ± 0 acA           | 1,20 ± 0 aA       | 1,87 ± 0<br>bAB    | 1,73 ± 0<br>bcAB  | 1,53 ± 0 abA       | 1,47 ± 0<br>abAB    |
| 3                  | 1,33 ± 0 aA            | 1,20 ± 0 aA       | 1,91 ± 0,04<br>bAB | 1,93 ± 0<br>bAB   | 1,58 ± 0,04<br>abA | 1,51 ± 0,04<br>abAB |
| 4                  | 1,40 ± 0 aA            | 1,27 ± 0 aA       | 1,93 ± 0 bB        | 2,09 ± 0,04<br>bB | 1,76 ± 0,04<br>abA | 1,78 ± 0,04<br>abB  |

W tabeli przedstawiono wartości średnie ± odchylenie standardowe

a – b - wartości średnie oznaczone w wierszu, tą samą literą nie różnią się statystycznie istotnie ( $p < 0,05$ )

A – B - wartości średnie oznaczone w kolumnie, tą samą literą nie różnią się statystycznie istotnie ( $p < 0,05$ )

Tabela 37. Zawartość aldehydu malonowego w maśle oraz mikxie tłuszczowym z dodatkiem zmielonych pestek dyni i liści miłorzębu w czasie przechowywania (mg/100 g tłuszczu)

| Czas<br>(tygodnie) | Masła i mix tłuszczowy |                    |                   |                    |                   |                    |
|--------------------|------------------------|--------------------|-------------------|--------------------|-------------------|--------------------|
|                    | Kontrolna<br>masło     | Kontrolna<br>mix   | Dynia<br>masło    | Dynia mix          | Miłorząb<br>masło | Miłorząb<br>mix    |
| 1                  | 0,13 ± 0,02 aA         | 0,43 ± 0,01<br>bA  | 0,10 ± 0<br>aA    | 0,33 ± 0,04<br>cA  | 0,10 ± 0,01<br>aA | 0,39 ± 0,03<br>dA  |
| 2                  | 0,21 ± 0 aB            | 0,70 ± 0,06<br>bB  | 0,25 ± 0<br>aB    | 0,59 ± 0,04<br>cB  | 0,21 ± 0,01<br>aB | 0,65 ± 0,05<br>bcB |
| 3                  | 0,17 ± 0,01 aC         | 0,60 ± 0,08<br>bC  | 0,16 ± 0,01<br>aC | 0,60 ± 0,12<br>bB  | 0,15 ± 0,01<br>aC | 0,64 ± 0,08<br>bB  |
| 4                  | 0,19 ± 0,02<br>aBC     | 0,61 ± 0,04<br>bBC | 0,18 ± 0<br>aC    | 0,55 ± 0,01<br>bcB | 0,13 ± 0,01<br>aC | 0,52 ± 0,04<br>cB  |

W tabeli przedstawiono wartości średnie ± odchylenie standardowe

a – c - wartości średnie oznaczone w wierszu, tą samą literą nie różnią się statystycznie istotnie ( $p < 0,05$ )

A – C - wartości średnie oznaczone w kolumnie, tą samą literą nie różnią się statystycznie istotnie ( $p < 0,05$ )