

**Sprawozdanie z badań na rzecz rolnictwa
ekologicznego finansowanych przez MRiRW
w 2015 roku**

*Przetwórstwo produktów roślinnych i zwierzęcych metodami
ekologicznymi: badania w zakresie przetwórstwa (w tym wędzenia)
mięsa oraz produktów mięsnych z ograniczeniem dodatków
azotanów i azotynów z uwzględnieniem wydłużania trwałości
przechowalniczej tych produktów*

Część I

Sprawozdanie z badań podstawowych na rzecz rolnictwa ekologicznego w roku 2015

„Przetwórstwo produktów roślinnych i zwierzęcych metodami ekologicznymi: badania w zakresie przetwórstwa (w tym wędzenia) mięsa oraz produktów mięsnych z ograniczeniem dodatków azotanów i azotynów z uwzględnieniem wydłużania trwałości przechowalniczej tych produktów”

Realizacja projektu:

Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie

ul Akademicka 13

20-950 Lublin

Katedra Technologii Mięsa i Zarządzania Jakością

ul. Skromna 8

20-704 Lublin

Tel. (081) 462 33 44

Kierownik zadania: Prof. dr hab. Zbigniew J. Dolatowski, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Wydział Nauk o Żywności i Biotechnologii, Katedra Technologii Mięsa i Zarządzania Jakością

Sprawozdanie

Wykonawcy:

1. Katedra Technologii Mięsa i Zarządzania Jakością

Prof. dr hab. Zbigniew J. Dolatowski – kierownik Katedry

Dr hab. Małgorzata Karwowska

Dr hab. Joanna Stadnik

Dr Karolina Wójciak

Dr Anna Okoń

Mgr inż. Mirosław Budoran

Mgr. Paulina Kęska

Mgr Justyna Libera

Mgr Agata Nowaczyk

Mgr Elżbieta Solska

2. Katedra Chemii

Dr Monika Bojanowska

II. Zakład Higieny i Zarządzania Jakością Żywności

Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie

Prof. dr hab. Danuta Kołożyn – Krajewska – kierownik Zakładu

Dr Katarzyna Neffe-Skocińska

Dr Monika Trzaskowska

Dr Dorota Zielińska

III. Zakład Mięsny „Jasiółka” w Dukli

Mgr. inż. Paweł Krajmas – Dyrektor
Mgr inż. Agnieszka Paczkowska – Kierownik
Mgr inż. Bartosz Ruda

IV. Centrum Doradztwa Rolniczego Oddział w Radomiu

Dr inż. Henryk Skórnicki
Inż. Janusz Tomasz Lesisz
Inż. Andrzej Śliwa

Badania realizowano w Jednostkach będących wykonawcami projektu.

Część analiz wykonano w laboratoriach akredytowanych:

1. Agrolab Polska Sp z o.o.
ul. Balonna 1
08-530 Dęblin
2. Centralne Laboratorium Agroekologiczne Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie
ul. Bohdana Dobrzańskiego 3
20-262 Lublin
3. Państwowy Instytut Weterynaryjny - Państwowy Instytut Badawczy
Aleja Partyzantów 57
24-100 Puławy
4. Instytut Zootechniki. Państwowy Instytut Badawczy
ul. Józefa Sarego 2
31-047 Kraków
5. Grupa Azoty S.A.
Laboratorium Badań Środków Spożywczych
ul. Braci Saków 1
33-100 Tarnów

Spis treści

1. Wprowadzenie i cel badań	5
1.1 Ekologia w produkcji żywności	5
1.2 Bioaktywne składniki mięsa.....	6
1.3 Azotany III i V w wyrobach mięsnych i żywieniu.....	7
1.4 Ekologiczne wyroby a peklowanie mięsa	8
1.5 Wędzenie tradycyjne w produkcji ekologicznych wyrobów mięsnych	10
2. Badania w UP Lublin	12
2. 1. Cel badań.....	13
3. Schemat sprawozdania	14
4. Metody badawcze.....	16
5. Podsumowanie i wnioski.....	24
5.1. Wnioski	24
5.1.1. Wyroby ekologiczne surowo dojrzewające.....	24
5.1.2. Wyroby ekologiczne poddane obróbce cieplnej	26
5.1.3. Mięso surowe i serwatka	26
5.2. Podsumowanie	27
6. Efekty dotychczasowych badań nad technologią i jakością ekologicznej produkcji wyrobów mięsnych bez azotanów III i V:	28
7. Publikacje z badań ekologicznych 2014 - 2015	28
8. Proponowane sposoby promocji prozdrowotnych ekologicznych produktów mięsnych bez dodatku azotanów i azotynów:.....	29

Część I

1. Wprowadzenie i cel badań

Żywność jest najważniejszym czynnikiem zdrowia i funkcjonowania człowieka w przyrodzie. W ostatnich latach konsument zwiększa swoje wymagania od produktów żywnościowych, szczególnie w zakresie właściwości odżywczych i zdrowotnych wyrobów pochodzenia zwierzęcego. Bardzo ważnymi produktami o wysokiej wartości odżywczej, powstającymi w warunkach zbliżonych do naturalnych, wytwarzane z mięsa pochodzącego od zwierząt hodowanych bez stymulatorów wzrostu, chemicznych dodatków, żywionych paszą z upraw ekologicznych są ekologiczne wyroby mięsne. Do wyrobu wędlin ekologicznych stosowane jest mięso rodzimych ras trzody chlewnej i bydła o genetycznej odporności na choroby, wysokiej płodności, oraz zdolności adaptacyjnej do warunków środowiskowych. Ważnym czynnikiem w przechowywaniu i przetwórstwie mięsa jest stan mikrobiologiczny surowca i jego przetworów. Poziom i rodzaj mikroflory może być czynnikiem eliminującym produkty ze spożycia, lub może wspomagać prozdrowotne właściwości produktu. Liczne badania mikroflory przewodu pokarmowego dorosłego człowieka wskazują, że bakterie pochodzące z żywności fermentowanej mogą zasiedlać jelito, a co za tym idzie odgrywać istotną rolę w jego prawidłowym funkcjonowaniu. Bakterie kwasu mlekowego występują naturalnie w mięsie, mleku, produktach fermentowanych, częściach roślin, oraz jako swoista mikroflora błon śluzowych i przewodu pokarmowego człowieka i zwierząt. Doskonałym źródłem bakterii mlekowych jest tradycyjna żywność, produkowana na drodze spontanicznej fermentacji, która wśród konsumentów uważana jest za prozdrowotną.

1.1 Ekologia w produkcji żywności

Rolnictwo Ekologiczne - określane również jako: biologiczne lub organiczne, oznacza system gospodarowania o zrównoważonej produkcji roślinnej i zwierzęcej w obrębie gospodarstwa. Jest to system trwały, samowystarczalny i ekonomicznie bezpieczny. Produkcja prowadzona metodami ekologicznymi to sposób uzyskania produktu, w którym zastosowano w możliwie największym stopniu naturalne metody produkcji, nienaruszające równowagi przyrodniczej. Zasada ta dotyczy wszystkich rodzajów i etapów produkcji – zarówno produkcji roślinnej, chowu i hodowli zwierząt, produktów akwakultury jak i przetwórstwa. Produkcja w ekologicznym gospodarstwie rolnym jest prowadzona zgodnie z zasadami zrównoważonego rozwoju, uaktywnia biologiczne procesy poprzez stosowanie naturalnych środków produkcji oraz zapewnia trwałą żyzność gleby, zdrowotność roślin i zwierząt. W szczególności produkcja ta polega na stosowaniu prawidłowego płodozmianu i innych naturalnych metod utrzymywania lub podwyższania biologicznej aktywności i żyzności gleby oraz doboru gatunków i odmian roślin, gatunków i ras zwierząt, uwzględniającego ich naturalną odporność na choroby. W 2014 r. po raz pierwszy od wstąpienia Polski do UE, o ponad 6 proc. do 25,4 tys. zmniejszyła się liczba gospodarstw ekologicznych w naszym kraju. Natomiast coraz więcej jest przetwórci ekologicznych - wynika z raportu Inspekcji Jakości Handlowej Artykułów Rolno-Spożywczych. W latach 2013–2014 rolnicy stanowili ok. 98 proc. wszystkich producentów. W 2014 r. część rolników zrezygnowała z takiej produkcji. Największy spadek liczby producentów ekologicznych, w odniesieniu do 2013 r., odnotowano w województwach: małopolskim (-456), podkarpackim (-269) oraz świętokrzyskim (-212). Pomimo ogólnego spadku liczby producentów ekologicznych, wzrosła liczba przetwórci ekologicznych o 77 do 484. Więcej jest też importerów. Głównie urzędują oni na terenie województw: mazowieckiego (107),

wielkopolskiego (57) oraz lubelskiego (48). Polskie przetwórnice ekologiczne w poprzednich dwóch latach najczęściej przetwarzały owoce i warzywa – (29 proc.) oraz inne artykuły rolno-spożywcze (m.in. przyprawy, napoje, kakao, czekolady, wyroby cukiernicze, dania gotowe) – 28 proc. Udział przetwórstwa przemiału zbóż wynosił – ok. 24 proc. Zajmowały się też one produkcją ekologicznej kawy i herbaty (6,3 proc.), mięsa (4,9 proc.), mleka i wyrobu serów – (3,6 proc.), oraz produkcją cukru – 1,6 proc. Produkcja mleka krowiego w 2013 r. wyniosła 273 tys. hektolitrow. W 2014 r. spadła ona o 7,6 proc. do ok. 252 tys. hektolitrow. Produkcja ekologiczna przetworów z owoców i warzyw w 2013 r. wynosiła 709 tys. ton, a w następnym roku – 383,9 tys. ton. Zwiększył się w ub.r. natomiast wyrób serów o ponad 21 proc. w stosunku do 2013 r. i wyniósł 1093 ton. O tym, że na polskim rynku produktów ekologicznych nie jest dobrze, świadczy fakt, że nie wszystkie zarejestrowane przetwórnice ekologiczne zajmują się wytwarzaniem takiej żywności. W 2014 r. z 484 przetwórni, produkcję wykazało 356. Jest to związane z rynkiem zbytu. Warunki ekonomiczne gospodarstw domowych nie pozwalają konsumentom na wzrost zakupu droższych produktów ekologicznych

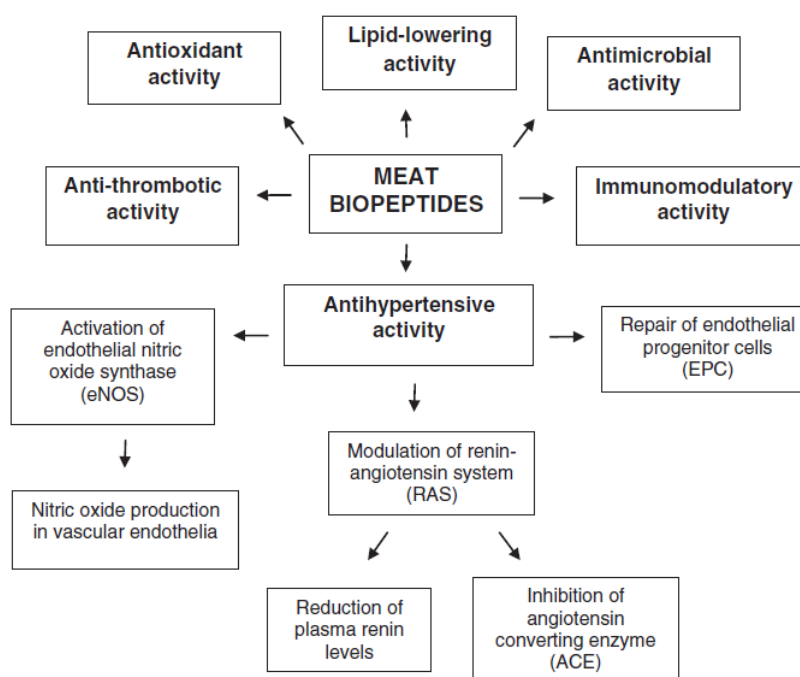
1.2 Bioaktywne składniki mięsa

Mięso i produkty mięsne są bogatym źródłem wielu niezbędnych składników odżywczych, szczególnie aminokwasów egzogennych (fenyloalanina, lizyna, leucyna, izoleucyna, metionina, treonina, tryptofan, walina), które są niezbędne dla prawidłowego procesu wzrostu i budowy nowych komórek oraz odgrywających kluczową rolę w procesach krzepnięcia krwi, odpornościowych i regulujących ciśnienie osmotyczne komórek. Aminokwasy, również te względnie egzogenne (arginina i histydyna), są prekursorami do syntezy związków azotowych o znaczeniu fizjologicznym np. tryptofan bierze udział w syntezie serotoniny i kwasu nikotynowego, lizyna - karnityny, tyrozyna – tyroksyny, glicyna – kreatyny, hemu i glutationu. Mięso i wyroby mięsne są podstawowym źródłem witamin z grupy B (B1, B12, B2) oraz witaminy A, E, C i PP. Mięso stanowi dobre źródło wielu składników mineralnych.

Stosunkowo mało poznana a jednocześnie istotną grupą aktywnych składników mięsa są peptydy. Białka mięsa i tkanki mięśniowej ryb stanowią ogromny potencjał bioaktywnych peptydów. Biologicznie aktywne peptydy mięsa uzyskiwane są głównie na drodze hydrolizy enzymatycznej białek, w wyniku dojrzewania, fermentacji oraz w czasie trawienia białka w przewodzie pokarmowym. Bioaktywne peptydy hydrolizatów białek tkanki mięśniowej zwierząt rzeźnych oraz ryb wykazały podobne działanie jak peptydy innych surowców między innymi obniżające ciśnienie krwi, przeciwutleniające, przeciwbakteryjne i antyproliferacyjne [Kim, 2009; Cinq-Mars, 2008; Jang, 2008]. Mięso zwierząt rzeźnych jest cennym źródłem biologicznie aktywnych peptydów przeciwutleniających takich jak anseryna, karnozyna i glutation. Pierwszymi zidentyfikowanymi peptydami tkanki mięśniowej były karnozyna (β - alanylo- L- histydyna) oraz anseryna (β - alanylo-1- metylo- L- histydyna) [Arihara, 2006a]. Peptydy w surowo dojrzewających produktach mięsnych uwalniane są w czasie fermentacji i dojrzewania. Lee i wsp. (1998) wykazali, że karnozyna utrzymuje swoje działanie przeciwutleniające po obróbce termicznej, której poddawana jest większość produktów mięsnych. Zaobserwowano jej wpływ na ograniczenie procesów oksydacyjnych lipidów i tworzenie metmioglobiny w gotowanej wołowinie. Do innych peptydów przeciwutleniających, zidentyfikowanych w hiszpańskich szynkach surowo dojrzewających należą SAGNPN, AAAAG, IHSGSVG, NVLVG, NAAKL, GLAGA (Escudero i wsp. 2012). Aktywne biologicznie peptydy o właściwościach antyoksydacyjnych zidentyfikowano również w fermentowanej kielbasie *chorizo* (Broncano i wsp. 2012) oraz w serbskiej Petrowskiej Kielbasie (*Petrovská Kolbasa*). Kolejną grupą peptydów identyfikowanych w produktach mięsnych są peptydy inhibitujące ACE (ang. *angiotensin converting enzyme*).

Mają one wpływ na układ sercowo-naczyniowy obniżając ciśnienie krwi. Należą do nich: AAATP, KAAAAP, AAPLAP, KPVAAP, IAGRP, KAAAATP. Peptydy w produktach mięsnych mogą występować również w roli inhibitorów dipeptydylo peptydazy IV (DPP-IV) istotnych w leczeniu cukrzycy typu II. Zidentyfikowano peptydy KA, AAATP.

W literaturze zawarte są także informacje o bioskładnikach biorących udział w odpowiedzi organizmu na czynniki stresowe. Peptydy, definiowane jako opioidowe wykazują powinowactwo do receptorów opioidowych, wpływając na układ nerwowy i pokarmowy. Produkty mięsne, jako źródło aktywnych biologicznie składników, wpływających na ustrój ludzki, mogą stanowić kluczowy składnik diety osób cierpiących na powszechnie występujące choroby cywilizacyjne. Niektóre z nich są odporne na procesy technologiczne, w tym operacje cieplne, co wskazuje na ich potencjał do wykorzystania jako żywność funkcjonalna.



Właściwości bioaktywnych peptydów pochodzących z białek mięsa

1.3 Azotany III i V w wyrobach mięsnych i żywieniu

Produkcja konwencjonalnych wyrobów mięsnych oparta jest na wykorzystaniu wielu dodatków, również otrzymywanych na drodze chemicznej. Duże emocje wśród konsumentów wzbudza dodatek do wyrobów mięsnych azotanów III i V. Wykorzystuje się je w procesie peklowania mięsa. Zagrożenie zdrowia przez azotyny zawarte w wyrobach peklowanych jest związane z tworzeniem toksycznych związków zwanych nitrozoaminami. Generalnie, nitrozoaminy odznaczają się rakotwórczością w stosunku do wielu gatunków zwierząt, są ponadto mutagenne, teratogenne i embriotoksyczne. Występowanie w żywności związków N-nitrozowych oraz synergizm działania z substancjami kokancerogennymi i kancerogennymi, jak również możliwość tworzenia się N-nitrozozwiązków z prekursorów obecnych w żywności, stanowią o potencjalnym zagrożeniu zdrowia człowieka przez te substancje. Do ich prekursorów, prócz naturalnych składników żywności, np. amin i aminokwasów, należą także pozostałości pestycydów, antybiotyków i niektóre leki. Związki N-nitrozowe powstają w produktach spożywczych w wyniku przechowywania (nawet w warunkach chłodniczych), podczas procesów technologicznych i kulinarnych, do których m.in. zaliczamy: wędzenie, peklowanie mięsa, smażenie wyrobów mięsnych peklowanych. Mogą też powstawać endogennie w organizmie, m.in. w żołądku w niższym zakresie pH.

Kluczową rolę w endogennym tworzeniu się tych substancji odgrywają mikroorganizmy obecne w przewodzie pokarmowym człowieka, które mogą redukować azotany do azotynów, bądź utleniać amoniak do azotynów. Ponadto mikroorganizmy mogą mieć udział w degradacji białek do II-rzędowych amin lub w wytwarzaniu enzymów katalizujących reakcję nitrozowania. W reakcjach tworzenia się w/w związków, oprócz prekursorów będących składnikami środków spożywczych, niezbędne są także czynniki nitrozujące; mogą być nimi np., tlenki azotu, związki nitrowe, azotyny, azotany. Dwa ostatnie czynniki posiadają szczególne znaczenie podczas tworzenia się związków N-nitrozowych w mięsie i w jego przetworach podczas procesu peklowania. Do najczęściej wykrywanych w żywności N-nitrozozwiązków należą: N-nitrozodimetyloamina, N-nitrozodietyleamina, N-nitrozopirolidyna i N-nitrozopiperidyna. Najistotniejszym ich źródłem w dziennym pobraniu z żywnością może być mięso peklowane. Dotychczas znalezione ilości N-nitrozoamin w produktach żywnościowych wynoszą 0—500 µg/g. Są to głównie nitrozodwumetyloamina (NDMA) i nitrozopirolidyna (NPy). Tworzenie się nitrozoamin zależy od szeregu czynników, jak rodzaj aminy, stężenie reagentów i jonów wodorowych, temperatura. Szczególnie istotną rolę odgrywa temperatura. W surowych wyrobach peklowanych nie stwierdza się występowania nitrozoamin. Natomiast poddanie ich obróbce termicznej przyczynia się do powstania nitrozoamin, w ilości zależnej od sposobu doprowadzenia ciepła. Najwięcej nitrozoamin wykryto w produktach smażonych, a najmniej w ogrzewanych mikrofalowo, przy czym w tkance tłuszczowej jest ich dziesięciokrotnie więcej niż w mięśniowej.

1.4 Ekologiczne wyroby a peklowanie mięsa

Przetwórstwo mięsa metodami ekologicznymi, szczególnie bez dodatku azotanów i azotynów, może stwarzać pewne zagrożenia bezpieczeństwa zdrowotnego, ze względu na brak stosowanych radykalnych metod utrwalania. Do zagrożeń związanych z bezpieczeństwem zdrowotnym wyrobów ekologicznych należy rozwój mikroflory patogennej (*Cl. botulinum*, *L. monocytogenes*, *Y. enterocolitica*, *Salmonella*), obecność amin biogennych oraz związana z procesem wędzenia tradycyjnego możliwość przekroczenia dopuszczalnych poziomów WWA, które powstają w procesie podczas niekontrolowanego procesu żarzenia drewna przy wytwarzaniu dymu. W produkcji ekologicznej wyrobów mięsnych, poszukuje się alternatywnych metod peklowania prowadzących do wytworzenia pożądanej przez konsumenta czerwonej barwy zbliżonej do nitrozylomioglobiny bez stosowania azotanu III i V i specyficznego smaku peklowania. Peklowanie z udziałem azotanów III i V kształtuje właściwości fizykochemiczne (pożądaną barwę, smak, zapach, itp), stabilność oksydacyjną a co najważniejsze hamuje rozwój patogennych drobnoustrojów, szczególnie *Clostridium botulinum* i *Listeria monocytogenes*. Jednakże ze względu na wysoką reaktywność azotanu III i V, jest możliwe tworzenie z aminami biogennymi kancerogennych nitrozoamin, szczególnie w środowisku kwaśnym i w podwyższonej temperaturze. Związki nitrozowe powstałe w żołądku mogą dyfundować na znaczne odległości, przenikając do innych organów. Również w jelicie grubym reakcji nitrozowania mogą ulegać aminokwasy, amidy, indole, fenole oraz kwas glikocholowy (Jakszyn i wsp. 2006). Badania prowadzone w krajach UE wykazały, że przeciętny mieszkaniec UE pobiera wraz z dietą dziennie od 0,3 do 1,0 µg tych związków, głównie N-nitrozodimetyloaminy, N-nitrozopirolidyny i N-nitrozopiperidyny. Badania przeprowadzone w Polsce w latach 90. XX w. wykazały obecność NDMA, w stężeniach od 0,1-0,5 µg/kg w 71% wędzonych i 61% pasteryzowanych szynek. Natomiast badania prowadzone w latach 1998-2000 wykazały, że stężenie NDMA może być wyższe i wynosić średnio do 1,6 µg/kg w 63% analizowanych przetworów drobiowych oraz do 1,4 µg/kg w 67% wędlin podrobowych. W 43% konserw mięsnych, stwierdzono NDMA średnio w stężeniu 0,3 µg/kg, w 67% surowych kiełbas - średnio

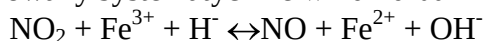
0,8 µg/kg oraz w 72% wyrobów garmazeryjnych zawartość NDMA wynosiła średnio 1,1 µg/kg. Nitrozoaminy są odpowiedzialne za indukcję nowotworów w różnych organach, najczęściej wątrobie, jelicie grubym, płucach, trzustce, żołądku, pęcherzu moczowym.

Nitrozoaminy wykazują właściwości genotoksyczne, mutagenne, teratogenne i karcynogenne, powodując m.in. alkilowanie DNA. Wpływa to na konieczność ciągłego badania ich obecności jak również eliminacji z procesu technologicznego, substancji, które w pośredni lub bezpośredni sposób wpływają na tworzenie się nitrozoamin. Ponadto azotan III może prowadzić do powstania methemoglobinemii nabytej, szczególnie niebezpiecznej u kobiet w ciąży, osób starszych oraz dzieci do 2 lat. W chorobie tej tlenek azotu powstały z azotanu III utlenia żelazo hemoglobiny do formy trójwartościowej, przez co cząsteczka traci zdolność aktywnego transportu tlenu do komórek (Cammack i wsp. 1999). Spożycie żywności wysoko przetworzonej, zawierającej azotan III wraz z dodatkami funkcjonalnymi może zaburzać prozdrowotną mikroflorę jelitową człowieka, zaś mięso jako źródło białka może stać się pożywką dla rozwoju bakterii gnilnych indukujących nowotwory wątroby, jelita grubego, żołądka i trzustki. Wielokierunkowe działanie azotanu III w produkcji wędlin polegające na wytworzeniu a następnie stabilizowaniu różowo-czerwonej barwy, działaniu przeciwbakteryjnym i przeciwutleniającym, powoduje, że nie udało się dotychczas całkowicie ich wyeliminować z produkcji wędlin (Honikel, 2008). Obecnie, zgodnie z wytycznymi Dyrektywy 52/2006, maksymalna ilość azotanu III dodawanego do produktów mięsnych wynosi 150 mg/kg (non-sterylyzed heated meat products). Jednocześnie dopuszcza się stosowanie azotanu V tylko do wyrobów nie poddanych obróbce cieplnej (non-heated proccessed meat produkt) w ilości do 150 mg/kg. W przypadku konserw sterylizowanych (sterylyzed heated meat produkt) maksymalny dodatek azotanu III wynosi 100 mg/kg.

Azotyny dodawane do farszu wędliniarskiego są źródłem tlenu azotu, który łącząc się z mioglobina prowadzi do powstawania różowo-czerwonej nitrozylomioglobiny. Prowadzone badania wykorzystania serwatki w przetwórstwie mięsa wskazują, że w tworzeniu charakterystycznej barwy wędlin surowo dojrzewających bez dodatku azotanu V i III, biorą udział odpowiednie kultury bakteryjne, lub inne czynniki aktywności biologicznej tkanki mięśniowej. Kultury tych szczepów bakterii mogą występować również w serwatce kwasowej. W literaturze przedmiotu można odnaleźć informacje na temat mikrobiologicznej konwersji metmioglobiny ($MbFe^{3+}$) do nitrozylomioglobiny ($MbFe^{2+}NO$), będącej barwnikiem mięsa peklowanego. Inni badacze dowodzą, iż tlenek azotu, w fermentowanych wyrobach mięsnych, może powstawać w wyniku prowadzonej przez bakterie proteolizy łańcuchów polipeptydowych z wytworzeniem jego z argininy. W hamowaniu rozwoju drobnoustrojów można wykorzystać inne możliwości technologiczne, jak: zakwaszenie, aktywność wody. Dużą rolę w ostatnich czasach przypisuje się askorbinianom i odpowiednio prowadzonym procesom przetwórczym, a w przypadku wyrobów surowo – dojrzewających stosowanie odpowiednich kultur bakteryjnych. Jak już zaznaczona ważnym aspektem jest mikrobiologiczna konwersja mioglobiny ($MbFe$ II), w inne pochodne formy. Badania wykazały, że kilka szczepów bakterii kwasu mlekowego wykazuje zdolność do zmiany formy barwnika z $MbFe$ (III) do $MbFe$ (II), co wpływa na zmianę barwy produktu z brązowej na jasnoczerwoną. Do szczepów wpływających na konwersję z formy $MbFe$ (III) na formę $MbFe$ (II) NO i jasnoczerwoną barwę należą między innymi *Kurthia* Sp. i *Lactobacillus fermentum* (JCM1173) Inni autorzy w swoich badaniach oceniali przydatność dwóch szczepów *Lactobacillus fermentum* (IFO3956 i JCM1173) i stwierdził, że mogą być alternatywą dla związków azotowych w tworzeniu barwy z aminokwasu - L-arginina która w komórce mięśniowej pełni ważną rolę. L-arginina jest kluczowym składnikiem w syntezie tlenu azotu (NO). Cząsteczka ta jest niezwykle istotna w procesie budowania masy mięśniowej. Na skutek skomplikowanych reakcji enzymatycznych L-arginina przekształcana jest do cytruliny

i tlenku azotu, cząsteczki sygnałowej, powodującej także rozszerzenie światła naczyń krwionośnych.

W produktach z dodatkiem serwatki, jest możliwe, że w wyniku działania bakterii i proteolizie białek, uwalnia się L-arginina, z której może powstawać tlenek azotu – NO, który, jak powszechnie wiadomo, jest podstawowym związkiem w tworzeniu barwy, przy dodatku nitrytu. Reakcja tworzenia tlenku azotu z argininy przebiega dwuetapowo, w pierwszym następuje hydrooksydacja azotu w grupie guanidynowej argininy pod wpływem O₂. Następnie, pod wpływem NADPH powstaje cytrulina i NO (enzymu NOS). Aktywność enzymu NOS jest stymulowana jonami wapnia (Ca²⁺), którego ilość zwiększa się w tkance mięśniowej pod wpływem dojrzewania, a również w wyniku dodatku do mięsa serwatki bogatej w jony wapniowe (Ca²⁺). NO wchodzi w reakcję z grupami tiolowymi, dając produkty takie, jak: NO₂, N₂O₄, które modyfikują strukturę białkową. NO może z substancjami redukującymi (glutation, laktoferyna), z NO tworzyć NO₂, nawet w wyniku przemian do jonu NO₂⁻. Zajmuje on wówczas trwale miejsce w komórce. Następnie, w wyniku obecności reduktora, rozkłada się do NO, łącząc się z mioglobina i kształtuje barwę wyrobu. Wytwarzanie NO z L-argininy, było ważnym odkryciem znaczenia i roli NO w fizjologii komórki i homeostazie układu biologicznego. Jest możliwe, że nitryt jest produkowany systematycznie w komórce i można to określić przy pomocy reakcji z żelazem.



Jeden elektron z żelaza przemieszcza się do NO₂ tworząc NO i nowe związki Fe²⁺ + OH⁻. Biologiczna aktywność NO produkowanego z L-argininy jest nie w pełni jeszcze poznana. Trwałość tego NO jest kilkusekundowa. Hamująca rola rozwoju mikroorganizmów z dodatkiem azotanów i azotynów polega na wytworzeniu HNO₂ i NO, które hamują rozwój drobnoustrojów. Dlatego tak ważna jest pozostałość nitrytu w produkcie. Nitryt może reagować z grupami sulfydrylowymi białek tworząc w reakcji oksydoredukcyjnej grupy dwusiarkowe, tym samym zmienia się konformację i właściwości białek. Istnieje możliwość, obserwowana w badaniach modelowych, konwersji metmioglobiny do nitrosomioglobiny (Mb Fe³⁺ - Mb Fe²⁺ NO) w procesie peklowania bez dodatku związków azotynów i azotanów. Mogą brać w tym udział wybrane szczepy bakterii kwasu mlekowego z udziałem stafylokoków. Stwarza to możliwość alternatywy, wobec stosowania azotanów i azotynów. W reakcji ma duży udział potencjał oksydoredukcyjny i jony żelaza. Obserwowany kolor produktu w prowadzonych badaniach wskazywał na powstanie NOMb –typowego barwnika mięsa peklowanego. Szczególnie duża koncentracja NDMA i innych nitrozoamin występuję w wędzonych kiełbasach, salami, bekonie, szynce, wołowinie czy hamburgerach. Najprostszym sposobem na zminimalizowanie skutków ubocznych „działania” nitrozoamin, jest odpowiednia dieta, a co za tym idzie tryb życia. Dieta bogata w błonnik, świeże warzywa i owoce oraz prowadzenie aktywnego trybu życia, skutecznie zmniejszają ryzyko indukcji nowotworów oraz innych chorób związanych z mutagennym działaniem opisanych związków.

1.5 Wędzenie tradycyjne w produkcji ekologicznych wyrobów mięsnych

Wędzenie obok solenia i suszenia uznaje się za jedną z najstarszych metod utrwalania żywności pochodzenia zwierzęcego. Obok konserwującego działania związków chemicznych, dym posiada również właściwości aromatyzowania mięsa i jego przetworów, nadaje im złocisto-brązową barwę oraz powoduje utwardzenie przylegających do osłonki wędlin łańcuchów polipeptydowych mięsa (proces powstawania tzw. „wtórnej skórki”). Do związków powstających podczas wędzenia a uznanych powszechnie za niepożądaną grupę substancji, uważa się wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne (WWA). Szczególnie niebezpieczne

dla zdrowia człowieka są: benzo(a)pirenu, chryzenu, benzo(a)antracenu i benzo(b)fluorantenu, których obecność stwierdza się w dymie jak i produktach wędzonych.

Badania wpływu wędzenia na właściwości produktów mięsnych wykazały, że mięso i jego przetwory poddane wędzeniu wykazują stosunkowo dużą oporność na procesy jęlczenia oksydacyjnego. Przeciwwutleniające właściwości dymu są związane przede wszystkim z działaniem składników fazy rozproszonej, a tylko w niewielkim stopniu fazy rozpraszającej. Silne właściwości przeciwwutleniające posiadają związki fenolowe, oraz nieliczne kwasy karboksylowe. Najsilniejszymi przeciwwutleniaczami z grupy fenoli są metylopirokatechina, pirogalol, hydrochinon i jego homologi, gwajakol oraz fenole jednowodorotlenowe. Właściwości przeciwwutleniające posiadają także kwas mrówkowy, benzoesowy, salicylowy, wanilina i aldehydy syringowy.

Dym posiada właściwości bakteriobójcze i bakteriostatyczne. Efekt wędzenia obniżający poziom drobnoustrojów, względnie hamujących ich rozwój, z jednej strony polega na mikrobiocydowym lub mikrobiostatycznym działaniu licznych składników dymu (np. formaldehydu, fenoli, gwajakolu, kwasu octowego i mrówkowego), z drugiej natomiast, na towarzyszącym wędzeniu efekcie obsuszania i zmniejszania tym samym aktywności wody na powierzchni produktu i na wpływie ogrzewania, które występuje podczas wędzenia ciepłego i gorącego. Najbardziej decydujące działanie antybakteryjne wykazuje formaldehyd, a przeciwplesenie - fenole. Spośród związków fenolowych najsilniejsze działanie wykazuje pochodne gwajakolu i dwumetylopirogallolu. Zawarte w dymie kwasy zmniejszają pH wędzonych wyrobów i dzięki temu wzmacniają konserwujące działanie innych składników dymu. Mikroorganizmy można uszeregować według ich wrażliwości na działanie dymu następująco: bakterie z rodziny Enterobacteriaceae (jako najbardziej wrażliwe), bakterie z rodzaju *Pseudomonas*, mikrokoki i streptokoki, drożdże, pleśnie i drobnoustroje przetrwalnikujące. Działanie bakteriobójcze składników dymu nie ustaje z chwilą zakończenia procesu wędzenia, ale utrzymuje się nadal w miarę wnikania jego składników w głąb wyrobu. Wędzenie działa mikrobiocydowo bądź mikrobiostatycznie tylko wtedy, gdy inne czynniki jak azotyn sodu, niska aktywność wody i ciepło wykazują współdziałanie synergistyczne (tzw. teoria płotków, przeszkód).

Literatura wykorzystana w przeglądzie piśmiennictwa

1. Arihara, K. (2006). Strategies for designing novel functional meat products. *Meat Sci.*, 74, 219-229.
2. Arihara, K.; Cassens, R.G.; Luchansky, J.B. 1994. Metmyoglobin reduktion durch Enterokokken. *Fleischwirtschaft* 74: 1249-1250.
3. Arihara, K.; Kushida, H.; Kondo, Y.; Itoh, M.; Luchansky, J.B.; Cassens, R.G. 1993. Conversion of metmyoglobin to bright red myoglobin derivatives by *Chromobacterium violaceum*, *Kurthia* sp., and *Lactobacillus fermentum* JCM1173. *Journal of Food Science* 58: 38-42.
4. Broncano, J.M., Otte, J., Petron, M.J., Parra, V., Timon, M.L. (2012). Isolation and identification of low molecular weight antioxidant compounds from fermented "chorizo" sausages. *Meat Sci.*, 90(2), 494-501.
5. Cammack, R., Joannou, C. L., Cui, X. Y., Martínez, C. T., Maraj, S. R. & Hughes, M. N. (1999). Nitrite and nitrosyl compounds in food preservation. *Biochem. Biophys. Acta - Bioenerget.*, 1411(2-3), 475-488.
6. Dziuba, J., Fornal, Ł. (2009). Biologicznie aktywne peptydy i białka żywności., Wyd. Naukowo-Techniczne.
7. Dziuba, J., Minkiewicz, P., Nałęcz, D. (1999). Biologically active peptides from plant and animal proteins. *Pol. J. Food Nutr. Sci.*

8. Escudero, E., Aristoy, M., Nishimura, H., Arihara, K., Toldra, F. (2012). Antihypertensive effect and antioxidant activity of peptide fractions extracted from Spanish dry-cured ham. *Meat Sci.*, 91(3), 3306-3311.
9. Faustman, C.; Sun, Q.; Mancini, R.; Suman, S.P. 2010. Myoglobin and lipid oxidation interactions: Mechanistic bases and control. *Meat Science* 86: 86–94.
10. Ferranti, P., Nitride Ch., Nicolai, M.A., Mamone G., Picariello, G., Bordoni, A., Valli, V., Di Nunzio, M., Babini, E., Marcolini E., Capozzi, F. (2014). In vitro digestion of Breasola proteins and relase of potential bioactive peptides. *Food Res. Int.*, 63, 157-169.
11. Honikel, K.O. (2008). The use and control of nitrate and nitrite for the processing of meat products. *Meat Sci.*, 78, 68-76.
12. Hornsey, H.C. (1956). Color of cooked cured pork. I. Estimation of the nitric oxide-haem pigments. *J. Sci. Food Agric.*, 23, 534-540.
13. Kanwar, J., Palmano, K., Sun, X., Kanwar, R., Gupta, R., Haggarty, N., Rowan, A., Ram, S. Krissansen, G. (2008). Iron-saturated lactoferrin is a potent natural adjuvant for augmenting cancer chemotherapy. *Immunol. Cell. Biol.*, 86, 277-288.
14. Lasik, A., Pikul, J., Danków, R., Cais-Sokolińska, D. (2011). The fermentation dynamics of sheep milk with increased proportion of whey proteins. *Acta Sci. Pol., Technol.Aliment.* 10(2), 155-163.
15. Liu, H.C., Chen, W.L., Mao, S.J.T. (2007). Antioxidant nature of bovine milk β lactoglobulin. *J. Dairy Sci.*, 90, 547-555.
16. Małaczewska, J., Rotkiewicz, Z., Siwicki, A.K. (2006). Laktoferyna-mechanizmy działania przeciwwirusowego. *Med. Weter.*, 62, 1104-1107.
17. Mikami, M., Nagao, M., Sekikawa, M., Miura, H., Hongo, Y. (1994). Effect of electrical stimulation in peptide and free amino acid content of beef homogenate and sarcoplasm during storage. *Anim. Sci. Technol. Jpn.*, 65, 1034-1043.
18. Ministerstwo Rolnictwa i Rozwoju Wsi. Ramowy Plan Działań dla Żywności i Rolnictwa Ekologicznego w Polsce na lata 2014 - 2020
19. Olivares, A., Navarro, J.L., Flores, M. (2011). Effect of fat content on aroma generation during processing of dry fermented sausages. *Meat Sci.*, 87, 264–273.
20. Projekt badawczy numer PKre-029-29-29/13(688) pt. Ekologiczne metody przetwórstwa mięsa i wyrobu produktów mięsnych bez stosowania dodatków azotanów i azotynów z uwzględnieniem wydłużania trwałości przechowalniczej tych produktów. Ministerstwo Rolnictwa i Rozwoju Wsi.
21. Sebranek, J.G.; Bacus, J.N. 2007. Cured meat products without direct addition of nitrate or nitrite: what are the issue? *Meat Science* 77: 136-147.
22. Tong, L.M., Sasaki, S., McClements, D.J., Decker, E.A. (2000). Antioxidant activity of whey in a salmon oil emulsion. *J. Food Sci.*, 65, 1325-1329.
23. Wójciak, K.M., Dolatowski, Z.J., Kołożyn-Krajewska, D. (2015). Use of acid whey and probiotic strains to improve microbiological quality and sensory acceptance of organic fermented sausage. *J Food Process. Preserv.*, 39, 539-547.
24. Wójciak, K.M., Karwowska, M., Dolatowski, Z.J. (2014). Use of acid whey and mustard seed to replace nitrites during cooked sausage making, *Meat Sci*, 96, 750-756.

2. Badania w UP Lublin

Prowadzone dotychczas badania w UP Lublin wykazały, że metodą przedłużania trwałości przechowalniczej mięsa i przetworów może być traktowanie go serwatką kwasową bogatą w kwasy organiczne, bakteriocyny oraz mikroflorę konkurencyjną do mikroflory środowiskowej mięsa. Wyniki badań wykazały, iż serwatka kwasowa może być źródłem potencjalnie probiotycznych bakterii kwasu mlekowego (szczególnie ze środowiska

Podkarpacia) i wielu innych cennych składników, które kształtują jakość sensoryczną i trwałość przechowalniczą wyrobów mięsnych. Obecny trend w mikrobiologii żywności wskazuje na możliwości izolacji mikroorganizmów potencjalnie probiotycznych (prozdrowotnych) z naturalnie fermentowanych produktów, zarówno roślinnych jak i zwierzęcych. Szczepy bakterii z żywności spontanicznie fermentowanej cechują się dobrą przeżywalnością w przechowywanym produkcie, jak również wysoką opornością na ekstremalne warunki panujące w przewodzie pokarmowym. Tym samym mogą stać się cenne z punktu widzenia żywieniowego i technologicznego. Prowadzone przez nas w ubiegłych latach badania wykazały, że w trakcie procesu przechowywania wyrobów surowo dojrzewających bez azotanów III i V z dodatkiem serwatki kwasowej powstaje charakterystyczna barwa dla nitrozylomioglobina. Szczegółowy schemat tworzenia pożądanej barwy w wyrobach ekologicznych został przez nas zgłoszony do opublikowania w czasopiśmie „LWT-Food science and technology”. Publikacje o możliwości zmniejszenia lub całkowitego wyeliminowania azotanów III i V w ekologicznych wyrobach mięsnych w znaczących czasopismach, spowodowały, że na dyskusję dotyczącą dotychczasowego poziomu azotanów III i V w konwencjonalnych wyrobach mięsnych został zaproszony przedstawiciel Katedry na posiedzenie komisji w Brukseli, dotyczącej obniżenia poziomu azotanów III i V w wyrobach mięsnych. W najbliższym czasie, w konwencjonalnych wyrobach, zostanie legislacyjnie zmniejszony poziom dodatku azotanów III i V.

Jednakże nie w każdym wyrobie ekologicznym bez azotanu III i V z dodatkiem serwatki kwasowej, pożądana barwa formowała się równie szybko. Pozwala to przypuszczać, że istnieją jeszcze inne, dotychczas nie brane pod uwagę, czynniki wpływające na ten złożony proces. Z uwagi na fakt, iż azotany i azotyny opóźniają oksydację i autooksydację lipidów farszu wędliniarskiego będziemy poszukiwać dodatków naturalnych, bogatych w bioaktywne substancje wykazujących właściwości przeciwutleniające. Zaobserwowano, że w trakcie przechowywania wędlin surowo dojrzewających bez dodatku azotanów i azotynów, do których zastosowano dodatek serwatki kwasowej oraz ekstrakty przypraw (w tym rozmarynu i gorczycy), następuje stopniowa zmiana barwy w kierunku trwałej barwy różowo-czerwonej charakterystycznej dla produktów peklowanych. Celowość zastosowanych wyciągów roślinnych ma uzasadnienie również w podnoszeniu wartości odżywczej ekologicznych wyrobów mięsnych i ich wpływie na organizm potencjalnego konsumenta.

2. 1. Cel badań

Przetwórstwo mięsa metodami ekologicznymi, szczególnie bez dodatku azotanów i azotynów, może stwarzać pewne zagrożenia ze względu na brak stosowanych radykalnych metod utrwalania. Zagrożenie zdrowotne spowodowane obecnością azotynów i WWA w wyrobach mięsnych, stało się przyczyną poszukiwania rozwiązań umożliwiających zmniejszenie dawki azotynu sodowego. Zbyt wysokie spożycie produktów bogatych w konserwanty i poddanych obróbce termicznej, może powodować indukcję nowotworów wątroby, jelita grubego, płuc, trzustki, czy też żołądka. Korzystnymi, z punktu widzenia jakości mikrobiologicznej, metodami utrwalania przetworów z mięsa ekologicznego może być wykorzystanie bakterii mlekowych serwatki lub ukwaszonego mleka, szczególnie rejonów podgórskich, gdzie w naturalny sposób wytworzyły się szczepy produkujące w znacznych ilościach antybakteryjne związki (bakteriocyny), na co wskazują już częściowo wyniki dotychczasowych badań.

Prowadzone badania nowych technologii w produkcji ekologicznej wskazują, że serwatka może wytworzyć charakterystyczną barwę produktu mięsnego, bez dodatku azotanów i azotynów. Bardzo często podkreśla się dwoistą naturę systemu produkcji ekologicznej. Jest to przede wszystkim system wpływający pozytywnie na środowisko naturalne, co z kolei przyczynia się do osiągania szeroko rozumianych korzyści rolno

środowiskowych. Z drugiej jednak strony rolnictwo ekologiczne jest odpowiedzią na zmieniającą się strukturę popytu na rynku. Po wielkiej fascynacji świata produkcją żywności w warunkach przemysłowych - konsument coraz częściej stwierdza, że tylko żywność powstała w warunkach zbliżonych do naturalnych spełni jego oczekiwania. Część konsumentów skłania się do takich produktów, chcą je kupować i zazwyczaj płacą za nie wyższą cenę niż za produkty, które nie zostały wytworzone takimi metodami. Badania, ze względu na ich nowatorską formę, a równocześnie wykorzystanie tradycyjnych technologii, wymagają dopracowania szczegółów technologii poszczególnych wyrobów z wyznaczeniem parametrów procesu, okresu trwałości przechowalniczej, szczególnie rozwoju i hamowania drobnoustrojów patogennych, a przede wszystkim dostosowaniem rodzaju produkcji do możliwości przetwórczych zakładu. Zastosowanie fermentacji mięsa przez dodatek serwatki, jako tradycyjnej metody przetwórstwa mięsnego, ale z udziałem mikroflory o prozdrowotnych właściwościach i wprowadzenie do produktu grupy bardzo wartościowych składników serwatki, stanowi ważną wartość dodaną wytwarzanych nowych produktów ekologicznych. W proponowanych badaniach, zespół przygotowujący alternatywne technologie w porównaniu do powszechnie stosowanych w konwencjonalnych wyrobach, pragnie uzupełnić badania wykonane dotychczas, szczególnie dotyczące właściwości serwatki i jej wpływu na prozdrowotne właściwości wyrobu mięsnego, oraz inaktywacji przez bakterie mlekowe wybranych patogenów w przetwórstwie mięsa.

Stąd celem proponowanych badań w 2015 roku będzie dopracowanie technologii produkcji ekologicznych wyrobów mięsnych o długim okresie przechowywania bez dodatku azotanów III i V. Kolejnym ważnym celem badań realizowanych w 2015 roku będzie ocena krytycznych parametrów w procesie wędzenia takich jak: czas wędzenia, temperatura paleniska, temperatura dymu wędzarniczego, gatunek użytego drewna, sposób generowania dymu (trociny, zrębki, drewno), wilgotność, konstrukcja i rodzaj wędzarni. Na tej podstawie opracowana zostanie technologia poprawnego wędzenia wyrobów ekologicznych, w postaci przewodnika dla producentów ekologicznej żywności wędzonej metodami tradycyjnymi. Objęte wnioskiem o dofinansowanie badania propozycji nowych technologicznie produktów o cechach funkcjonalnych, prozdrowotnych będą realizowane w Dukli w ścisłej współpracy z zakładem produkcyjnym „Jasiołka”, specjalizującym się w produkcji ekologicznych wyrobów mięsnych oraz przeprowadzimy badania poziomu WWA na przykładowej wędzarni tradycyjnej wykonanej w CDR W Radomiu. Szczegółowym celem niniejszych badań będzie przygotowanie technologii produkcji kolejnych wyrobów ekologicznych o zwiększonych walorach jakościowych, wynikających z zastosowanych technologii, oraz wyrobów o wydłużonym okresie przechowywania i zwiększonych właściwościach prozdrowotnych, których możliwość wytworzenia w produkcji przemysłowej, potwierdzają wyniki dotychczasowych badań.

3. Schemat sprawozdania

Badania zostały przeprowadzone w zakresie czterech czynnościowych zadań: A, B, C, D. W sprawozdaniu wyniki badań przedstawiono w postaci procesów technologicznych prób bez dodatku azotanów III i V w porównaniu do próby kontrolnej, która była przygotowana zgodnie z produkcją konwencjonalną, czyli z dodatkiem azotanu III (wyroby obrabiane cieplnie) i azotanu V (wyroby dojrzewające).

Sprawozdanie składa się z trzech części. W części I umieszczone wprowadzenie do problemu badawczego, ogólny schemat badań, metodykę badawczą, podsumowanie i wnioski, efekty badań nad technologią i jakością ekologiczną, proponowane sposoby promocji prozdrowotnych ekologicznych produktów mięsnych. Część II przedstawia wyniki badań, natomiast część III jest przygotowanym przewodnikiem do poprawnego wędzenia pt. „Poradnik tradycyjnego wędzenia produktów ekologicznych” – wydany w ilości 1000 egz.

Ogólny proces technologiczny

- Surowiec (ocena jakości),
- Wprowadzanie serwatki (moczenie lub dodatek)
- Solenie (sól morską),
- Formowanie (osłonki lub jednolity mięsień),
- Obróbka cieplna lub dojrzewanie,
- Przechowywanie,
- Badania,

Surowiec mięsny

Surowiec do produkcji wyrobów (połędwice, szynki, karczki, kielbasa, wołowina – udziec, mięso i surowiec tłuszczowy do produkcji kielbas), stanowiło mięso pozyskane w warunkach przemysłowych z uboju trzody, bydła z krajowych gospodarstw ekologicznych pozyskiwany przez zakład mięsny w Dukli „Jasiołka”. W przeważającej ilości były to świnię rasy Wielka Biała Polska z hodowli ekologicznych o masie przyżyciowej ok. 120 -130 kg. Surowiec wołowy stanowiło mięso z uboju bydła krajowego rasy NCB. Surowiec pozyskiwano z tusz wychłodzonych przez 48 godzin od uboju.

Układ prób badawczych

Układ doświadczenia był realizowany zgodnie z załączonymi do wyników badań schematami. Badano następujące wyroby: szynka wieprzowa i wołowa, połędwica, kielbasa wieprzowa i wołowa. Badania jakościowej oceny wszystkich wyrobów prowadzono w zakresie wskaźników: fizyko-chemicznych, parametrów procesu technologicznego, mikrobiologicznych, sensorycznych. Dokonano również oceny procesu wędzenia w zakładzie przemysłowym produktów ekologicznych przygotowanych w zakładzie mięsnym Jasiołka, lecz wędzonych w przykładowej komorze wędzarniczej w CDR Radom.

Dokonano następujących badań produktów:

Ocena fizyko – chemiczna:

- Pomiar wartości pH;
- Pomiar potencjału oksydacyjno-redukcyjnego (ORP);
- Pomiar parametrów barwy i trwałość barwy w systemie CIE L*a*b*;
- Pomiar parametrów tekstury (TPA, siła cięcia);
- Oznaczenie aktywności wody;
- Oznaczenie wskaźnika TBARS;
- Oznaczenie zawartości barwników hemowych;
- Oznaczenie zawartości barwników ogółem, nitrozylobarwników, żelaza hemowego;
- Oznaczenie zawartości wyższych kwasów tłuszczowych;
- Profil aminokwasów;
- Zawartość peptydów;
- Aktywność biologiczna peptydów;
- Zawartość nitrozoamin;
- Zawartość WWA
- Właściwości przeciwutleniające z kationorodnikiem ABTS*;

Ocena technologiczna:

Pomiar parametrów procesu technologicznego:

- temperatury,
- wilgotności,
- czasu,
- wydajności.

Ocena mikrobiologiczna:

- Bakterie kwasu mlekowego (LAB),

- Drobnoustroje patogenne (*Enterobacteriaceae*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*),
- Ogólna liczba drobnoustrojów tlenowych (OLD).

Oznaczenia przeprowadzono metodą hodowlaną (płytkową) oraz z zastosowaniem aparatu „Tempo” do automatycznego pomiaru bakterii.

Analiza sensoryczna (metoda profilowego skalowania).

4. Metody badawcze

Test TPA

Badanie tekstury wędlin przeprowadzono przy pomocy aparatu TA.XT plus firmy Stable Micro Systems. Próbkę o kształcie walca o średnicy 2 cm i długości 2,5 cm umieszczono między płaszczyznami stolika przedmiotowego głowicy teksturometru TA.XT Plus. Próbkę poddano 2-krotnemu ściskaniu do 50 % jej pierwotnej wysokości.

Siła cięcia

Pomiar siły cięcia przeprowadzono przy pomocy aparatu TA.XT Plus firmy Stable Micro Systems, wyposażonym w układ tnący jednonożowy typu Warnera – Bratzela. Próbkę o kształcie walca o średnicy 2 cm długości 6 cm umieszczono na stoliku i poddano działaniu noża aż do całkowitego przecięcia próby.

Aktywność wody

Próbkę o masie 2g rozdrobnionego uprzednio produktu, umieszczono w pojemniku i zamknięto pokrywką. Pojemnik włożono do aparatu do mierzenia aktywności wody firmy LabMaster-Novasina i po usłyszeniu sygnału odczytano wynik na elektronicznym czytniku.

Parametry barwy w systemie CIE L*a*b*

Metoda polega na pomiarze barwy metodą odbiciową za pomocą spektrofotometru sferycznego X-Rite 8200 z otworem pomiarowym o średnicy 25,4 mm, światłem D65 i obserwatorem kolorymetrycznym o polu widzenia 10⁰. Do wykonania oznaczenia użyto wyciętych plastrów wędlin o grubości 8 mm. Aparat przed użyciem kalibrowano. Kalibrację spektrofotometru przeprowadzono na wzorcu bieli, którego parametry stanowią punkt odniesienia wszystkich dokonywanych analiz. Pomiaru barwy dokonano w systemie CIE L*a*b*

Wartość pH

Wartość pH oznaczano za pomocą pH-metru cyfrowego CPC-501 firmy Elmetron, wyposażonego w elektrodę zespoloną typu ERH – 111 firmy Hydrometr. Próbkę 10g rozdrobnionego uprzednio produktu, zmieszano z 50 cm³ wody destylowanej i homogenizowano przez 1 minutę przy 13500 obrotów na minutę. Pomiaru dokonano poprzez zanurzenie elektrody zespolonej ERH – 111 w próbce i po ustaleniu wskazań elektrody odczytano wynik z dokładnością do 0,01.

Oznaczenie liczby nadtlenkowej (PV)

Oznaczenie wykonywano zgodnie z metodą Koniecko (1979). Próbki produktów o masie 5 g mieszano z 12 ml chloroformu oraz z 0,5 g bezwodnego siarczanu sodu, odstawiano do lodówki na 24 h. Supernatant przesączano przez sączek Whatman 1. Do przesączu dodawano 18 ml zimnego kwasu octowego oraz 0,5 ml nasyconego roztworu jodku potasu (jodyna - woda destylowana 1:3). Dodawano 30 ml wody destylowanej oraz 0,5 ml 0,5 % roztworu skrobi (0,5 g skrobi zmieszano z 50 ml wrzącej wody). Miareczkowano 0,01 M Na₂S₂O₃ do zaniku niebieskiej barwy.

Oznaczenie wolnych kwasów tłuszczowych FFA

Oznaczenie wykonywano według metody Koniecko (1979). Do kolby stożkowej odważano 5 g próby badanej z dokładnością do 0,01 g. Dodawano 30 ml chloroformu oraz 0,5 g bezwodnego siarczanu sodu. Wstawiano do lodówki na 24 h. Supernatant przesączano przez

sączeek Whatman 1. Do przesącza dodawano 1 ml 0,2 % fenoloftaleiny. Miareczkowano 0,1 M roztworem wodorotlenku potasu (2,806 g KOH/0,5 l alkoholu etylowego), aż do uzyskania utrzymującego się przez 1 minutę zabarwienia jasnorożowego.

Oznaczenie wskaźnika TBARS

Oznaczenie wykonywano według zmodyfikowanej metody Saliha wg. Pikula [1989]. Dokonywano pomiaru absorbancji przy długości fali 532 nm wobec próby ślepej zawierającej 5 cm³ 4 % kwasu nadchlorowego i 5 cm³ odczynnika TBA.

Oznaczenie wskaźnika tyrozyny (TV)

Oznaczenie wykonywano wg metody Stranga (1970). Pobierano próbki 10 g rozdrobnionego wcześniej produktu, dodawano 25 ml zimnego 20 % TCA. Homogenizowano przez 2 minuty. Dodawano 25 ml zimnej wody destylowanej, a następnie supernatant przesączało przez sączeek Whatman 2. Pobierano 1,25 ml przesącza i dodawano 1,25 wody destylowanej oraz 5 ml świeżo przygotowanego 0,5 M wodorotlenku sodu oraz 1,5 ml rozcieńczonego roztworu Folin-Ciocalteu's (1:2 z wodą destylowaną). Po 30 minutach mierzono absorbancję przy długości fali 730 nm.

Oznaczenie ogólnej zawartości barwników hemowych.

W celu oznaczenia barwników ogółem przeprowadzano ich ekstrakcję zakwaszonym roztworem acetonu wg metody Hornsey'a (1956). W tym celu odważano 5 g (z dokładnością 0,01g) rozdrobnionego produktu do zlewki z tworzywa i dodawano do niego 20 ml acetonu, 4,5 ml wody destylowanej oraz 0,5 ml stężonego kwasu solnego. Całość homogenizowano przez 60 sekund przy 12000 rpm. Następnie całość przenoszono w zaciemnione miejsce na 30 minut. Po tym czasie homogenat odwirowano przy 4000 obr/min przez 10 min. Supernatant filtrowano przez sączeek szklany (Whatman GF/A) i mierzono absorbancję przesącza przy długości fali 640 nm w spektrofotometrze Nicolet evolution 300, wobec próby odczynnikowej.

Oznaczenie ogólnej zawartości nitrozylobarwników.

W celu oznaczenia nitrozylobarwników (NOMb) przeprowadzono ich ekstrakcję wodnym roztworem acetonu wg metody podanej przez Hornsey'a (1956). W tym celu odważano 5 g rozdrobnionego produktu i dodawano do niego 20 ml acetonu oraz 1,5 ml wody destylowanej. Całość homogenizowano przez 30 sekund przy 12000 rpm. Po tym czasie homogenat odwirowano a supernatant filtrowano przez sączeek szklany (Whatman GF/A) i mierzono absorbancję przesącza na spektrofotometrze Nicolet evolution 300, przy długości fali 540 nm wobec próby odczynnikowej.

Oznaczenie potencjału oksydacyjno-redukcyjnego

Pobierano 10 g rozdrobnionej wcześniej próby, mieszano z 50 ml wody destylowanej. Homogenizowano przy prędkości 6500 obr/min w czasie 1 minuty. Następnie umieszczano w homogenacie elektrodę platynową (tem. 20°C) i mierzono potencjał oksydacyjno-redukcyjny oraz temperaturę. Uzyskany wynik pomiaru przeliczano na wartość potencjału Em dodając do uzyskanej wartości pomiarowej znaną wartość potencjału elektrody odniesienia (E_{odn}=211mV w tem. 20°C).

Oznaczenie zawartości azotanów i azotynów

Oznaczanie zawartości azotanów i azotynów w produktach mięsnych dokonano za pomocą aparatu Fiastar 5000. Zasada metody oparta jest na wyekstrahowaniu z próbki azotanów i azotynów, odbiałczeniu i przefiltrowaniu. Filtrat zawierający azotany i azotyny jest następnie mieszany z buforem (azotany przechodząc przez kolumnę kadmową są redukowane do azotynów). Po dodaniu kwaśnego roztworu sulfanilamidu, azotyny obecne pierwotnie oraz te powstałe po redukcji azotanów tworzą związek dwuazowy. Związek ten jest sprzęgany z dichlorowodorkiem N-(1-naftylo)-etyleno tiaminy, z którym tworzy purpurowy barwnik azowy. Powstały barwnik azowy mierzy się przy długości fali 540 nm. Metoda polega na oznaczeniu sumy azotynów i azotanów poprzez przechodzeniu filtratu przez kolumnę

kadmową, następnie oznaczeniu azotynów (bez kolumny). Poprzez odjęcie azotynów od sumy azotanów i azotynów otrzymujemy zawartość azotanów.

Oznaczanie zawartości amin biogennych metodą chromatografii jonowymiennej.

Badanie wykonano z użyciem analizatora aminokwasów AAA 400, INGOS.

Przygotowaną próbę dozowano na kolumnę analizatora aminokwasów, gdzie następował rozdział. Poszczególne anality były derywatyzowane w reaktorze w barwne kompleksy aminowo-ninhydrynowe. Identyfikacja prowadzona była przez detektor fotometryczny.

Oznaczanie profilu aminokwasów białkowych.

Przygotowaną próbę dozuje się na kolumnę analizatora aminokwasów AAA400 INGOS, w której następował rozdział. Poszczególne anality były derywatyzowane w reaktorze w barwne kompleksy aminowo-ninhydrynowe. Identyfikacja prowadzona jest przez detektor fotometryczny.

Analiza mikrobiologiczna

Oznaczono LAB wg PN ISO 15214:2002 oraz wybrane bakterie patogenne. Oznaczenie *S. aureus* wykonano w oparciu o normę PN ISO 6888-2:2001/A1:2004. *L. monocytogenes* w oparciu o metodę PN-EN ISO 11290-2:2000+A1:2005+Ap1:2006+Ap2:2007, *Clostridium* sp. wg PN-ISO 15213:2005, *Escherichia coli* wg PN-ISO 16649-2:2004. Wyniki badań podano w jednostkach tworzących kolonie w jednym gramie produktu [jtk/g].

Oznaczanie ogólnej zawartości peptydów

Pomiar zawartości peptydów wykonano w oparciu o metodę opisaną przez Mikami, Sekikawe, Shimada (1999) oraz Lowry, Rosenbrough, Farr, Randall (1951). 5g rozdrobnionej próbki homogenizowano z 25ml roztworu 0,9% NaCl. Następnie homogenat pozostawiono na 15 minut w temperaturze pokojowej i wirowano przy 4000g przez 20 minut. Po wirowaniu próbki inkubowano 15 minut w 75 °C i ponownie wirowano. Supernatant przesączono przez bibułę i przekazano do dalszych oznaczeń. W uzyskanym filtracie oznaczano peptydy metodą Lowry'ego. 1ml przesącza zmieszano z 5ml odczynnika A i pozostawiono na 10 minut. Następnie mieszając dodano 0,5ml odczynnika Folina i pozostawiono na 30 minut. Po tym czasie odczytano absorbancję próbki przy 750nm z użyciem spektrofotometru Nicole Evolution 300 (Thermo Elektron Corporation) wobec próby ślepej.

Dializa

Dializę wykonano w membranach rurowych firmy Spectra/Por®. Membrany wykonane były z regenerowanej celulozy, o wielkości przepuszczanych cząsteczek 3500 MWCO (Daltonów). 10 ml wyizolowanych z próbek peptydów wprowadzono do rury dializacyjnej i zanurzono w 200ml roztworu soli fizjologicznej (buforu PBS). Probki wytrząsano w temp. 37°C przez 1h. Po dializie uzyskane frakcje peptydów o masie <3,5kDa i >3,5kDa przekazano do dalszych oznaczeń.

Oznaczanie całkowitej zdolności antyoksydacyjnej na zasadzie redukcji kationorodnika ABTS⁺ (2,2'-azobis(3-etylobenzotiazolino-6-sulfonian))

Zdolność wygaszania kationorodnika ABTS⁺ wykonano w oparciu i metodę opisaną przez Re i in. (1999). Pomiaru absorbancji przy długości fali 734nm, dokonano wykorzystując spektrofotometr Nicole Evolution 300 (Thermo Electron Corporation). Zdolność wygaszania kationorodnika wyrażono w mg Troloxu/mg peptydów.

Aktywność wody

Zasada metody polega na pomiarze stosunku ciśnienia pary wodnej na powierzchni próby do ciśnienia pary wodnej nad powierzchnią czystej wody w tej samej temperaturze i przy tym samym ciśnieniu całkowitym.

Pomiar aktywności wody przeprowadzono na aparacie do pomiaru aktywności wody LabMaster – aw (Novasina). Próbę o masie 5 g umieszczano w naczyniu pomiarowym i zamykano wieczkiem. Wieczko zdejmowano z pojemnika z próbą bezpośrednio przed

umieszczeniem w komorze pomiarowej aparatu. Pomiary wykonywano w temperaturze 20⁰C. Po zakończeniu pomiaru z wyświetlacza urządzenia odczytywano wartość aktywności wody badanej próby z dokładnością do 0,001.

Analiza wyższych kwasów tłuszczowych [PN-EN ISO 5509:2001, PN-EN ISO 5508:1996]

Do ampulki o pojemności 5 ml wprowadzono za pomocą szklanej kapilary około 50 mg wyekstrahowanego wcześniej tłuszczu, w taki sposób, aby nie zwilżyć szyjki. Następnie pipetą wprowadzono 1 ml roztworu wodorotlenku potasu i zmydlano na wrzącej łaźni wodnej przez 5 minut. Po zmydleniu próbki dodano 2 ml roztworu trójfluorku borowego i ogrzewano na łaźni wodnej o temperaturze 80°C przez 3 minuty. Następnie dodano przesyconego roztworu chlorku sodowego w takiej ilości, aby warstwa estrów metylowych znalazła się w szyjce ampulki. Następnie dodano około 0,5 ml n-Heksanu. Do analizy składu kwasów tłuszczowych pobrano za pomocą mikrostrzykawki próbkę z warstwy organicznej. Po ustabilizowaniu termicznym i elektronicznym aparatu wstrzyknięto do komory nastrzykowej 1 µl roztworu heksanowego estrów metylowych kwasów tłuszczowych. Śledzono proces rozdziału przez 30 min. Do sterowania chromatografem, zbierania, integrowania i przeliczania wyników użyto oprogramowania GalaxieTM Chromatography Data System.

Do określenia składu (analizy ilościowej) zastosowano metodę wewnętrznej normalizacji, w której przyjmuje się, że wszystkie składniki próby są obecne na chromatogramie, tak, że suma powierzchni pod pikami stanowi 100% (elucja całkowita). Zawartość składnika „i” wyrażoną jako procent masowy estrów metylowych, obliczono oznaczając procentowy udział powierzchni odpowiedniego pików w sumie powierzchni wszystkich pików według wzoru:

$i = (A_i / \Sigma A) \times 100$, gdzie:

A_i – powierzchnia pod pikiem składnika i;

ΣA – suma powierzchni pod wszystkimi pikami;

Wyniki podano z dokładnością do jednego miejsca po przecinku.

Parametry barwy i trwałość barwy [CIE 1978]

Pomiaru dokonano na prostokątnych plastrach wyciętych ze środkowej części wyrobów mięsnych. Grubość próby wynosiła 2 cm, a jej powierzchnia była większa od szczeliny pomiarowej spektrofotometru (średnica 8 mm). Próby wycinano wzdłuż włókien mięśniowych. Natychmiast po wycięciu próby zostały owinięte w bezbarwną folię do żywności i w takiej formie dokonywano pomiaru. Pomiaru dokonano w różnych miejscach powierzchni materiału. Pomiarów parametrów barwy dokonano na próbach mięsnych bezpośrednio po produkcji oraz po okresie chłodniczego przechowywania.

Pomiary parametrów barwy wykonano metodą odbiciową przy użyciu spektrofotometru sferycznego firmy X-Rite Series 8200 z oprogramowaniem X – Rite Color Master, z wykorzystaniem przesłony ze szczeliną pomiarową o średnicy 25,4 mm. Pomiar prowadzono w zakresie 360-740 nm. Jako źródło światła wykorzystano standardowy iluminant D₆₅ ze standardowym obserwatorem kolorymetrycznym o polu widzenia (kąt obserwacji) 10⁰. Średnica pola widzenia wynosiła 8 mm. Jako źródło odniesienia stosowano wzorzec bieli wykazujący parametry: L* = 95,87, a* = -0,49, b* = 2,39. Przed każdą serią pomiarową przeprowadzono kalibrację aparatu stosując wzorzec bieli i czerni. Wyniki wyrażano w jednostkach systemu CIE (1978) LAB, dla którego wyróżniki odzwierciedlają odpowiednio:

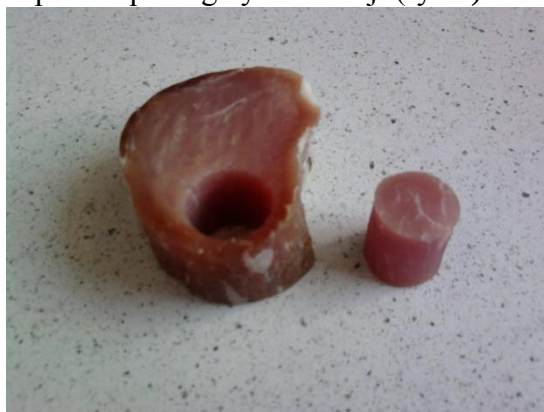
L* - jasność barwy, zasadniczo przyjmuje wartości dodatnie i może przybierać wartości od 0 dla ciała idealnie czarnego do 100 dla ciała idealnie białego;

a* - chromatyczność w zakresie czerwono – zielonym; oznacza barwę czerwoną, jeśli przyjmuje wartości dodatnie, zieloną jeżeli przyjmuje wartości ujemne, a szarą gdy wskazuje wartość równą 0;

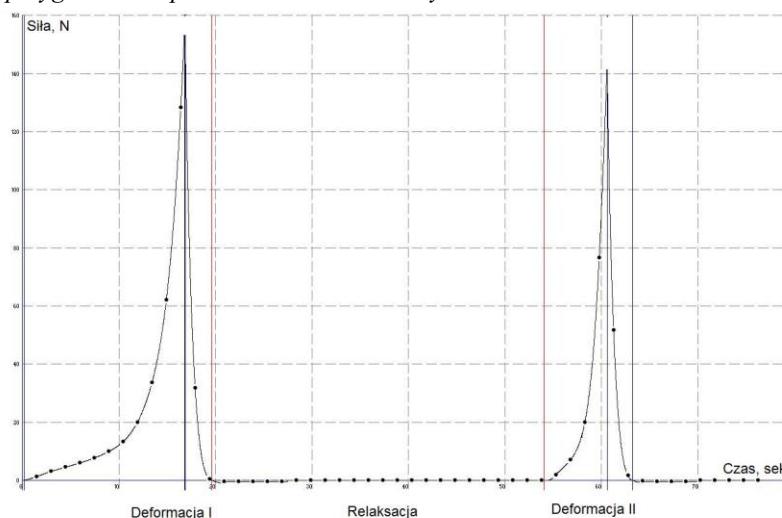
b^* - chromatyczność w zakresie żółto – niebieskim; oznacza barwę żółtą, jeżeli przyjmuje wartości dodatnie, niebieską, jeżeli przyjmuje wartości ujemne, a szarą, jeżeli wskazuje wartość równą 0.

Pomiar parametry tekstury

Wartości parametrów tekstury wyrobów mięsnych mierzono metodą [Bourne 1978] podwójnego ściskania próbek w kształcie walca o średnicy 20 mm i wysokości 20 mm. Próbki do testu wykrawano z plastrów tak, aby oś walca była równoległa do układu włókien mięśniowych. Próbki wykrawano z warstw podpowierzchniowych schabów i z części centralnej plastra. Test prowadzono przy pomocy teksturometru TA.XT.plus wyposażonego w przystawkę P/100 oraz stół przedmiotowy HDP/90. Próbki deformowano podwójnie za każdym razem do 75% wysokości początkowej walca z prędkością $1 \text{ mm} \cdot \text{s}^{-1}$. Pomiedzy deformacjami naprężenia w próbce podlegały relaksacji (ryc.2).



Ryc. 1. Sposób przygotowania próbek do badań tekstury

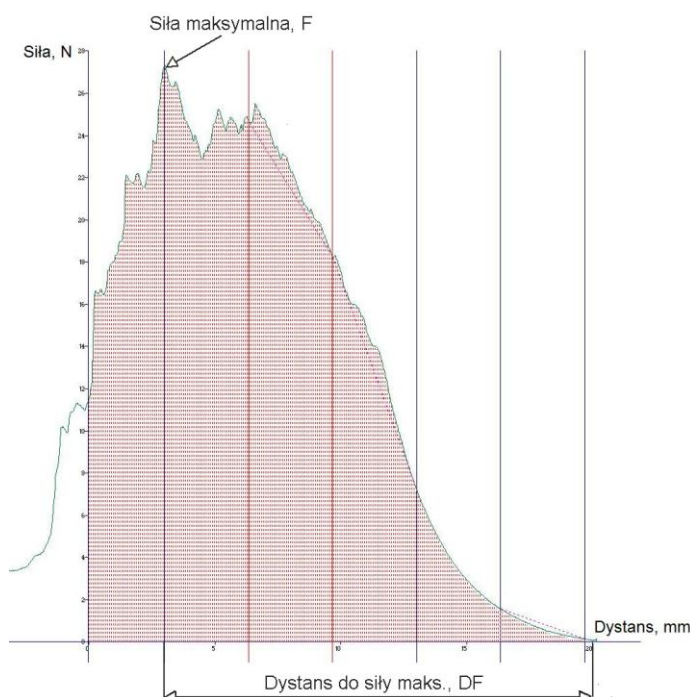


Ryc.2. Charakterystyka deformacji próbki wyrobu podczas podwójnej deformacji – zmiana wartości siły mechanicznej w zależności od czasu trwania testu

Z krzywych wytrzymałościowych (siła w funkcji przemieszczenia) wyznaczano wartości parametrów tekstury:

- twardość 1 (hardnes 1) – T1 – maksymalna zarejestrowana wartość siły podczas pierwszej deformacji, N;
- twardość 2 (hardnes 2) - T2 - maksymalna zarejestrowana wartość siły podczas drugiej deformacji, N;
- spoistość (cohesiveness) - S - stosunek pracy siły podczas drugiej deformacji do pracy siły podczas pierwszej deformacji;
- elastyczność (springiness) - E - miara zmiany wysokości próbki w czasie pomiędzy pierwszą a drugą deformacją;

- gumowatość (gumminess) - G - iloczyn maksymalnej siły podczas pierwszego ściskania próbki F1 i spoistości S, N·mm;
- żuwalność (chewiness) - P - iloczyn gumowatości G i elastyczności E.



Ryc. 3. Charakterystyka deformacji próbki wyrobu podczas testu cięcia – zmiana wartości siły mechanicznej w zależności od odległości od stolika przedmiotowego

Pomiar temperatury i wilgotności w komorze

Siła cięcia

Test cięcia prowadzono na próbkach o przekroju poprzecznym kwadratowym o boku 20 mm. Prędkość przemieszczania noża trójkątnego (Warnera-Bratzlera) wynosiła $4 \text{ mm} \cdot \text{s}^{-1}$. Poziomą siłą inicjującą zbieranie danych wynosił 0,05 N. Na podstawie zarejestrowanych danych, tj. siły cięcia w funkcji przemieszczenia noża (ryc.3) wyznaczano:

- maksymalną siłę cięcia – F – zarejestrowaną podczas testu cięcia próbki, N;
- drogę siły cięcia – DF – dystans pokonywany przez nóż od styku z próbką do momentu osiągnięcia F, mm;
- pracę cięcia – WF – praca wykonywana przez siłę cięcia na dystansie DF, mJ.

Każdy pomiar przeprowadzano w trzech powtórzeniach, przyjmując ich średnią za wynik oznaczenia.

Analiza mikrobiologiczna metodą tradycyjną

Badania mikrobiologiczne miały na celu oznaczenie liczby komórek bakterii kwaszących typu mlekowego, bakterii z rodziny Enterobacteriaceae, gronkowców koagulazododatnich oraz *Listerii monocytogenes*.

Bakterie kwaszące typu mlekowego oznaczono wg PN ISO 15214:2002.

Bakterie z rodziny Enterobacteriaceae oznaczano wg PN ISO 21528-2:2005.

Do oznaczania liczby gronkowców koagulazododatnich zastosowano metodę wg PN-EN ISO 6888-2:2001 + A1:2004.

Listerię monocytogenes oznaczano wg PN-EN ISO 11290-2:2000 + A1:2005 + Ap1:2006 + Ap 2:2007.

Analiza mikrobiologiczna metodą automatycznego pomiaru [Standard NF ISO 15214:1998]
Analizy mikrobiologiczne bakterii kwasu mlekowego w wyrobach surowo dojrzewających wykonano z zastosowaniem zautomatyzowanego systemu do pomiaru liczby drobnoustrojów

TEMPO[®] LAB (Biomerieux. System TEMPO[®], France). Do oznaczeń mikrobiologicznych użyto oryginalnych testów TEMPO[®] LAB, służących do określania liczby bakterii kwasu mlekowego w produktach żywnościowych. Wyniki badań podano w jednostkach tworzących kolonie w 1 gramie produktu (jtk/g). Wykorzystany system oznaczeń mikrobiologicznych pozwolił uzyskać poziomy wiarygodności podobne do standardów NF ISO 15214 (1998) oraz zaleceń metod kompendium dla Mikrobiologicznych Badań Żywności American Health Association (2004). Zastosowanie tego systemu znacznie usprawnia wykonanie seryjnych rozcieńczeń, przygotowanie pożywek i odczyt płytek. Wykorzystana w TEMPO[®] technologia opiera się na znanej metodzie badań mikrobiologicznych, zwanej NPL (Najbardziej Prawdopodobna Liczba), zminiaturyzowanej do formatu karty.

W skład systemu TEMPO wchodzi dwa stanowiska: stanowisko przygotowania próbek i stanowisko odczytu.

Stanowisko przygotowania próbek zbudowane jest z następujących elementów:

- komputera z wodoodporną klawiaturą;
- oprogramowania;
- statywu do napełniania kart;
- statywu do inkubacji i odczytu kart;
- statywu dla podłoży i kart;
- dyspenserów dla uwadniania podłoży;
- napełniacza TEMPO.



Rys. 4 Stanowisko do przygotowywania próbek.

Stanowisko odczytu składa się z następujących elementów:

- oprogramowania do odczytu i analizy wyników;
- komputera z czytnikiem kodów paskowych;
- oprogramowania administracyjnego do zarządzania układami;
- dwukierunkowego połączenia z komputerem laboratoryjnym;
- bezprzewodowego przekaźnika WIFI;
- drukarki.

System obejmuje ponadto dwa rodzaje materiałów eksploatacyjnych jednorazowego użytku: buteleczki z liofilizowanym podłożem hodowlanym, specyficznym dla badanej grupy drobnoustrojów oraz jednorazowe plastikowe karty zaopatrzone w probówkę transferową, zawierające po 48 całek o trzech różnych objętościach. Karty i buteleczki przeznaczone do jednego testu są oznaczone kodami.

Analizy mikrobiologiczne (liczba bakterii kwasu mlekowego (LAB), liczba bakterii z rodziny *Enterobacteriaceae*, ogólna liczba drobnoustrojów OLD) wykonywano z wykorzystaniem aparatu do pomiaru liczby drobnoustrojów – Tempo firmy bioMerieux. Wykorzystany system oznaczeń mikrobiologicznych Tempo pozwolił uzyskać poziomy wiarygodności podobne do

standardów NF ISO 15214 oraz zaleceń metod Kompendium dla Mikrobiologicznych Badań Żywności American Health Association.

Rodzaj przeprowadzonych testów oraz warunki inkubacji zestawiono w tabeli 1. Wyniki podano w jtk/g produktu.

Tab. 1. Warunki inkubacji dla poszczególnych testów Tempo

Rodzaj testu	Czas inkubacji [h]	Temperatura inkubacji [°C]
TEMPO LAB	40-48	37
TEMPO OLD	40-48	37
TEMPO EB	22-27	35

Analiza sensoryczna [ISO 13299.2 1998, PN-ISO 4121:1988]

Analiza sensoryczna wyrobów surowo dojrzewających odbywała się w laboratorium i w warunkach produkcji przemysłowej. Charakterystykę sensoryczną wyrobów mięsnych surowo dojrzewających przeprowadzono za pomocą metody profilowania (Ilościowej Analizy Opisowej – QDA – Quantitative Descriptive Analysis). Metoda profilowania to najbardziej znana metoda spośród metod sensorycznej analizy opisowej. Wykorzystuje się ją do jakościowego – ilościowego określenia kompleksowej i szczegółowej charakterystyki produktu. Metoda profilowa jest specyficzna, ponieważ nie traktuje smakowitości jako cechy jednostkowej, tak jak inne metody, natomiast opiera się na założeniu, że smakowitość jak również aromat i tekstura to zestaw pojedynczych not, które można oddzielnie zidentyfikować i zanalizować. Jako narzędzie badawcze użyto skalę liniową nieustrukturyowaną o długości 100 mm z odpowiednimi oznaczeniami brzegowymi. Cały zakres skali stanowił 10 umownych jednostek (j.u). Dla każdego oceniającego wyróżnika była przypisana oddzielna skala ze ściśle sprecyzowanymi określeniami brzegowymi. Oceniający nanosił na skalę pionową kreskę w miejscu odpowiadającym odniesionemu wrażeniu. Uzyskane wyniki sprowadzono do wartości liczbowych na podstawie zmierzenia odległości od lewego końca skali do punktu zaznaczonego przez oceniających.

Ocenę sensoryczną przeprowadzano w temperaturze pokojowej bezpośrednio po zakończonym procesie dojrzewania połów i po okresie chłodniczego ich przechowywania. Wykonywał ją 10 - osobowy odpowiednio wyszkolony w zakresie stosowania metody zespół oceniający o sprawdzonej wrażliwości sensorycznej. Dokonano oceny następujących cech jakościowych wyrobów: konsystencja, soczystość, barwa na przekroju, smak i zapach. Przygotowanie próbek polegało na pokrojeniu wędlin na plastry o grubości 2 mm bezpośrednio po procesie dojrzewania wędlin lub po bezpośrednim otworzeniu opakowań przed oceną po przechowywaniu. Pojedyncze plastry umieszczano w bezwonnych, jednorazowych pojemnikach zamykanych wieczkami. Pojemniki wcześniej poddano kodowaniu. Oceniający każdorazowo otrzymywali zestaw składający się z: zakodowanych próbek, kart i herbaty. Z każdej przeprowadzanej oceny zbierano 10 indywidualnych wyników.

Zawartość WWA

Badań zawartości WWA dokonano zgodnie z rozporządzeniem Komisji (UE) NR 836/2011 z dnia 19 sierpnia 2011 r. zmieniające rozporządzenie Komisji (WE) nr 333/2007 ustanawiające metody pobierania próbek i metody analiz do celów urzędowej kontroli poziomów ołowiu, kadmu, rtęci, cyny nieorganicznej, 3-MCPD i benzo[a]pirenu w środkach spożywczych.

Matematyczno – statystyczna analiza wyników

Pomiary wykonywano w kilkukrotnym powtórzeniu dla każdej z badanych właściwości wyprodukowanych partii (serii) wyrobu. Otrzymane wyniki badań poddano analizie matematyczno – statystycznej w obrębie każdej serii badań. Ze względu na specyfikę jakościową surowca, wielkość partii, nie dokonano obróbki statystycznej dla wyników

wszystkich badań łącznie (połączonych serii badawczych). Do wykonania obliczeń wykorzystano program Microsoft Excel 2003.

Literatura wykorzystana w przygotowaniu metod badawczych

1. American Meat Science Association (2012). Meat color measurements guidelines. Champaign, IL, USA.
2. Lowry O.H., Rosebrough N.J., Farr A.L., Randall R.J. (1951): Protein measurement with the Folin phenol reagent. *Journal of Biological Chemistry*, 193, 265-275.
3. Lowry O.H., Rosebrough N.J., Farr A.L., Randall R.J. (1951): Protein measurement with the Folin phenol reagent. *Journal of Biological Chemistry*, 193, 265-275.
4. Mikami M., Nagao M., Sekikawa M., Miura H., Hongo Y. (1994): Effect of electrical stimulation in peptide and free amino acid content of beef homogenate and sarcoplasm during storage. *Animal Science Technology Japanese*, 65, 1034-1043.
5. Mikami M., Nagao M., Sekikawa M., Miura H., Hongo Y. (1994): Effect of electrical stimulation in peptide and free amino acid content of beef homogenate and sarcoplasm during storage. *Animal Science Technology Japanese*, 65, 1034-1043.
6. Nam K.C., Ahn D.U. (2003). Effects of ascorbic acid and antioxidants on the color of irradiated ground beef. *Journal of Food Science* 68, 1686-1690.
7. Pikul J., Leszczyński D. E., Kummerow F. A. (1989). Evaluation of three modified TBA methods for measuring lipid oxidation in chicken meat. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 37, 1309-1313.
8. PN- normy ISO – wskazane przy wybranych metodach
9. PN-A-82109:2010 Mięso i przetwory mięsne - Oznaczanie zawartości tłuszczu, białka i wody - Metoda spektrometrii transmisyjnej w bliskiej podczerwieni (NIT) z wykorzystaniem kalibracji na sztucznych sieciach neuronowych (ANN).
10. PN-ISO 2917:2001 Mięso i przetwory mięsne - Pomiar pH - Metoda odwoławcza.
11. Re R., Pellegrini N., Proteggente A., Pannala A., Yang M., Rice-Evans C. (1999): Antioxidants activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology & Medicine*, 26, 1231-1237.

5. Podsumowanie i wnioski

Szczegółowe wnioski znajdują się w części II sprawozdania. W części I umieszczono najważniejsze, zdaniem autorów, wnioski z przeprowadzonych badań.

5.1. Wnioski

5.1.1. Wyroby ekologiczne surowo dojrzewające

1. Wartości pH ekologicznych kielbas wołowych po zakończeniu dojrzewania kształtowała się w zakresie od 4,96 do 5,26. Największe zakwaszenie farszu podczas dojrzewania zaobserwowano w przypadku próby solonej z dodatkiem serwatki kwasowej oraz gorczycy, najmniejsze dla próby peklowanej.
2. Najniższą aktywnością wody charakteryzowały się próby ekologicznej kielbasy wołowej surowo dojrzewającej zawierające sól morską, serwatkę oraz gorczycę. Najwyższą aktywność wody po zakończeniu dojrzewania zaobserwowano w przypadku kielbasy solonej z dodatkiem serwatki kwasowej.
3. Próby kielbas solonych charakteryzowały się znacznie wyższym stopniem utlenienia lipidów oznaczanym wskaźnikiem TBARS podczas dojrzewania oraz przechowywania w porównaniu do próby peklowanej. Takie wyniki wskazują, że do takich kielbas powinno dodać się określonych przypraw, które mają właściwości hamujące utlenianie.

4. Zaobserwowano, że największą zawartością kwasu CLA po zakończeniu dojrzewania charakteryzowała się próba solona z dodatkiem serwatki kwasowej oraz gorzycy. Zawartość kwasu CLA w kielbasach wołowych surowo dojrzewających ulegała obniżeniu w trakcie 21 dobowego dojrzewania oraz przechowywania.
5. Badania mikrobiologiczne wskazują, że liczba bakterii kwaszących typu mlekowego w próbach z dodatkiem serwatki jest bardzo zbliżona do oznaczonej w samej serwatce. Podobny wynik, uzyskany dla kielbasy solonej z dodatkiem gorzycy może sugerować, że zastosowana przyprawa sprzyja rozwojowi bakterii fermentacji mlekowej podczas dojrzewania. Stwierdzono wpływ dodatku gorzycy rozdrobnionej na obniżenie liczby bakterii z rodziny Enterobacteriaceae w próbie S+SK+G.
6. Dla prób solonych stwierdzono znacznie niższe wartości czerwoności w porównaniu do próby peklowanej. W analizowanych próbach kielbas wołowych surowo dojrzewających nie stwierdzono obecności histaminy. Łączna zawartość amin biogennych w analizowanych próbach solonych była wyższa w porównaniu do próby z dodatkiem azotanów.
7. Dodatek serwatki kwasowej wpłynął na stopień utlenienia tłuszczu w ekologicznych kielbasach surowo dojrzewających. Dodatek serwatki kwasowej okazała się skutecznym przeciwutleniaczem hamującym proces powstawania pierwotnych produktów utleniania lipidów, porównywalnym do peklosoli.
8. Dodatek serwatki kwasowej wpłynął na zwiększenie stabilności oksydacyjnej białek kielbasy podczas dojrzewania produkcyjnego. Dodatek serwatki kwasowej wpłynął na barwę kielbasy surowo dojrzewającej w trakcie jej dojrzewania produkcyjnego.
9. W kielbasach solonych zanotowano wyższe zawartości peptydów w tym peptydów o niskiej masie cząsteczkowej. Wyizolowane z kielbasy peptydy o masie cząsteczkowej poniżej 3,5 kDa charakteryzowały się najlepszymi właściwościami przeciwutleniającym wobec kationorodnika ABTS*. We wszystkich bez-azotanowych próbach obserwowano znaczne ilości tyraminy, putrescyny oraz kadaweryny. Najwięcej peptydów w tym peptydów o właściwościach przeciwutleniających stwierdzono w wołowinie dojrzewającej marynowanej w serwatce kwasowej.
10. Obserwowano wzrost zawartości aminokwasów we wszystkich badanych próbach po 36 miesięcznym okresie przechowywania. Próba z dodatkiem serwatki kwasowej charakteryzowała się czystością mikrobiologiczną porównywalną do próby z azotanami. Wszystkie wyprodukowane warianty badawcze wołowiny dojrzewającej były pozbawione nitrozoamin.
11. Przebieg krzywych reflektancji był podobny dla wszystkich prób we wszystkich okresach badawczych, z wyjątkiem obszaru o długości fali od 600 do 740 nm.
12. Technologia wytwarzania produktów surowo dojrzewających jest bardzo trudnym procesem produkcyjnym. Wymaga ona rozwoju specyficznych drobnoustrojów podczas procesu dojrzewania. Warunki zakładu nie zawsze wspomagają proces fermentacji, często stwarzają możliwość rozwoju innych drobnoustrojów. Rozwiązaniem może być zastosowanie dodatku kultur bakteryjnych np. probiotycznych. Należy także zwrócić uwagę na stan higieniczny surowców (w tym serwatki) i procesu technologicznego.

5.1.2. Wyroby ekologiczne poddane obróbce cieplnej

1. Przeprowadzona ocena sensoryczna wykazała, że panel sensoryczny ocenił badane kielbasy wysoko. Kielbasy charakteryzowały się wysoko ocenianym smakiem i zapachem, dobrą zwięzłością plastrów i stosunkowo wysoką, jak na tego rodzaju wyroby, soczystością. Dodatek serwatki nie spowodował zmian w odczuwaniu intensywności zapachu i smaku kwaśnego oraz smaku gorzkiego.
2. Doświadczalne próby wołowych produktów poddanych obróbce cieplnej charakteryzowały się zbliżoną zawartością barwników hemowych oraz żelaza hemowego w 0 i 20 dobie od produkcji. Brak obniżenia zawartości żelaza hemowego wraz z upływem czasu przechowywania związanego z uwalnianiem żelaza z cząsteczki mioglobiny, wskazuje na stabilność barwników hemowych podczas przechowywania ekologicznych kielbas wołowych.
3. Wyniki przeprowadzonego doświadczenia nie wykazały wpływu dodatku serwatki kwasowej na wartości pH ekologicznych wołowych produktów mięsnych poddanych obróbce termicznej podczas 20-dobowego przechowywania.
4. Badania mikrobiologiczne wskazują, że największą liczbą bakterii kwaszących typu mlekowego po 20 dobach przechowywania charakteryzowały się bez dodatku serwatki.
5. Ekologiczne solone produkty wołowe poddane obróbce cieplnej charakteryzowały się niższą wartością czerwoności w porównaniu do próby peklowanej.
6. Zdolność przeciwutleniająca peptydów (ABTS) była wyższa w próbach ekologicznych kielbas parzonych bezpośrednio po produkcji i ulegała obniżeniu podczas ich przechowywania.
7. Zawartość peptydów oraz ich zdolność przeciwutleniająca kształtowała się w zależności od wariantu kielbasy parzonej oraz przechowywania. Podczas przechowywania obserwowano wzrost zawartości peptydów o masie <3,5 kDa we wszystkich próbach ekologicznych kielbas wołowych parzonych. Najwięcej peptydów w tym peptydów o właściwościach przeciwutleniających stwierdzono w wołowinie dojrzewającej marynowanej w serwatce kwasowej.

5.1.3. Mięso surowe i serwatka

1. Wyniki przeprowadzonych badań wykazały, że możliwe jest stosowanie serwatki kwasowej, w celu polepszenia jakości surowego, rozdrobnionego mięsa wieprzowego przechowywanego w warunkach chłodniczych (4°C).
2. Dodatek serwatki kwasowej wpłynął na stopień utlenienia tłuszczów w mięsie wieprzowym, poprzez hamowanie powstawania pierwotnych i wtórnych produktów utleniania.
3. Serwatka kwasowa zabezpiecza białka mięsa przed oksydacyjnymi modyfikacjami w trakcie jego chłodniczego przechowywania.
4. Badana serwatka kwasowa, a także szczepy *Lactobacillus* wyizolowane z serwatki mają duży potencjał do zastosowania w produktach mięsnych, ze względu na stwierdzoną aktywność przeciwdrobnoustrojową serwatki oraz bezpieczeństwo badanych
5. Serwatka może pełnić rolę czynnika utrwalającego w produktach mięsnych i zastąpić stosowane konserwanty azotyny III i V. Jest to istotne w świetle najnowszego raportu międzynarodowej Agencji Badań nad Rakiem Światowej Organizacji Zdrowia, w którym wskazuje się na ryzyko powstania nowotworów jelita grubego i żołądka związanego ze spożywaniem przetworów mięsnych. szczepów bakterii.

5.2. Podsumowanie

Proponowana technologia produkcji może być, przy jej wykorzystaniu ważnym elementem promocji i marketingu nie tylko ekologicznych wyrobów mięsnych. Prowadzone badania pozwoliły na przygotowanie technologii przemysłowych produkcji wyrobów o bardzo długim okresie trwałości (6 i więcej miesięcy trwałości przechowalniczej). Szczegółowe parametry technologiczne znajdują się w zakładzie mięsnym produkującym w skali przemysłowej „Jasiołka” i są przekazywane na szkoleniach, spotkaniach itp. Otrzymane wyniki wskazują na celowość kontynuacji badań modelowych dla wykazania w tych badaniach modelowych hamującego wpływu serwatki na rozwoju patogenów. Byłoby to potwierdzenie proponowanych długich, a nawet bardzo wydłużonych okresów trwałości przechowalniczej nowych wyrobów bez związków azotowych jako wynik zastosowania serwatki i odpowiedniej technologii produkcji. W produktach tych nie jest możliwe wytwarzanie tych bardzo rakotwórczych związków jakimi są nitrozo aminy.

Proponowane rozwiązanie technologiczne produkcji byłoby interesujące dla większości producentów wyrobów mięsnych, dla których, jak wynika z dostępnych badań naukowych, szczególnie w USA, poszukuje się zastąpienia saletry i nitrytu dodatkiem różnych warzyw i owoców. Wyniki przeprowadzonych dotychczas badań wykazały, że jest możliwa produkcja prozdrowotnych wędlin z mięsa pochodzącego z hodowli ekologicznych, bez dodatków substancji chemicznych, szczególnie azotanów III i V i chemicznie produkowanych, jak, np. askorbiniany, których dodatek jest nielimitowany. Otrzymane właściwości wyrobów wskazują, że ich jakość sensoryczna i mikrobiologiczna w pełni spełnia wymagania rozporządzeń i aktów prawnych. Charakteryzuje je nowa prozdrowotna jakość. Na obecnym etapie badań nie możemy jednoznacznie określić mechanizmu inaktywacji drobnoustrojów patogennych, jak i mechanizmu tworzenia barwy wyrobów surowo dojrzewających. Należy również określić warunki technologiczne otrzymywania serwatki w celu ujednolicenia jej właściwości. Dużo do życzenia stwarza tradycyjne wędzenie. Z prowadzonych dyskusji na spotkaniach i szkoleniach obserwujemy bardzo niską wiedzę producentów na temat dymu wędzarniczego i jego wpływu na zdrowie człowieka. Mamy nadzieję, że przekazany poradnik wędzenia spełni dużą rolę w odpowiednim kształtowaniu tego procesu technologicznego w zakładzie przetwórczym.

Wyniki przeprowadzonych badań są bardzo obiecujące i widoczne są już korzyści jakościowe, ekonomiczne i społeczne dla rolnictwa, hodowli, przetwórstwa i dystrybucji. Jednakże dokonanie takiego przedsięwzięcia wymaga dalszego zwiększenia wiedzy osób kierujących zakładami mięsnymi i ich pracowników, z zakresu technologii i higieny produkcji (szkolenia, kursy, wprowadzanie technologii do zakładu). Wiedza ta powinna płynąć z wyników badań naukowych. W celu intensyfikacji rozwoju przetwórstwa mięsnych surowców ekologicznych, konieczne jest wsparcie środkami publicznymi, badań dotyczących przygotowania odpowiednich technologii, szkolenia, promocji produktów ekologicznych i budowy systemu zorganizowanej dystrybucji oraz reklamy. Produkcja wędlin z surowca ekologicznego bez dodatku azotanów III i V jest możliwa, ale wymaga przestrzegania bardzo ścisłego reżimu technologicznego i odpowiednich warunków higienicznych. Podstawowe znaczenie ma jakość mikrobiologiczna wszystkich surowców, rodzaj obróbki cieplnej (wędzenie, parzenie, pieczenie), czas obróbki, który decyduje o poziomie aktywności wody wyrobu. Istotną sprawą jest także jak najszybsze wychłodzenie produktów po obróbce cieplnej i przestrzeganie chłodniczych temperatur w czasie transportu i przechowywania.

6. Efekty dotychczasowych badań nad technologią i jakością ekologicznej produkcji wyrobów mięsnych bez azotanów III i V:

- Pracownikom Katedry Technologii Mięsa i Zarządzania Jakością zaproponowano udział w Komisji UE ds. obniżenia poziomu azotanów III i V w wyrobach mięsnych. Zaproponowany przez nas dodatek azotanów III i V na poziomie 40 – 60 mg na kg produktu będzie w najbliższym czasie wprowadzony do obowiązku powszechnego stosowania w produktach mięsnych;
- Przygotowanie technologii produkcji ekologicznych wyrobów mięsnych bez dodatku azotanów III i V; dodatek serwatki kwasowej w ilości 3-5% stabilizuje mikroflorę produktów i cechy organoleptyczne;
- Przygotowanie dla producentów mięsnych wyrobów ekologicznych przewodnika dobrej praktyki wędzarniczej pt. „Poradnik tradycyjnego wędzenia produktów ekologicznych” (szt. 1000). W poradniku przedstawiono technologię wędzenia bezpiecznych zdrowotnie wyrobów mięsnych, wędzonych w tradycyjnych wędzarniach;
- Prowadzone badania pozwoliły na postawienie hipotezy tworzenia barwy w wyrobach ekologicznych bez dodatku azotanów III i V, porównywalnej z obecnie stosowanym procesem peklowania;
- Przygotowanie technologii produkcji ekologicznych wyrobów mięsnych bez dodatku azotanów III i V o długim okresie przechowywania. Wykazano, że produkty ekologiczne odpowiednio produkowane są bezpieczne mikrobiologicznie w długim okresie przydatności do spożycia;
- Wykonano wstępne badania nad przygotowaniem ekologicznych kultur bakterii kwasu mlekowego do produkcji ekologicznych wyrobów mięsnych bezpiecznych zdrowotnie, bez dodatku azotanów III i V ;
- Badania ekologiczne wykazały wzrost zawartości biologicznie aktywnych związków (peptydy) w wyrobach bez azotanów III i V;
- Dokonano wstępnej oceny możliwości zahamowania tworzenia nitrozoamin w ekologicznych wyrobach mięsnych;
- Wykazano wzrost właściwości prozdrowotnych (probiotyczne właściwości) produktów ekologicznych.

7. Publikacje z badań ekologicznych 2014 - 2015

1. Karwowska M., Wójciak K.M., Dolatowski Z.J. 2014. Comparative studies on lipid oxidation of organic model sausage without nitrite produced with the addition of native or autoclaved mustard seed and acid whey. *International Journal of Food Science and Technology*, 49, 12, 2563–2570
2. Karwowska M., Wójciak K.M., Dolatowski Z.J. 2015. The influence of acid whey and mustard seed on lipid oxidation of organic fermented sausage without nitrite. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 95, 3, 628-634
3. Wójciak K.M., Karwowska M., Dolatowski Z.J. 2014. Use of acid whey and mustard seed to replace nitrites during cooked sausage production. *Meat Science*, 96, 2, 750–756
4. Wójciak K.M., Karwowska M., Dolatowski Z.J. 2015. Fatty acid profile, color and lipid oxidation of organic fermented sausage during chilling storage as influenced by acid whey and probiotic strains addition. *Scientia Agrícola (Impresso)*, 72, 2, 124-131

5. Wójciak Karolina, Neffe-Skocińska Katarzyna, Karwowska Małgorzata, Krajmas Paweł. – Bezpieczeństwo mikrobiologiczne mięsnych produktów ekologicznych. 2015. Bezpieczeństwo zdrowotne żywności. Aspekty mikrobiologiczne, chemiczne i ocena towaroznawcza / monografia pod redakcją naukową Joanny Stadnik i Izabelli Jackowskiej - Kraków: Wydawnictwo Naukowe PTTŻ, 2015. - S. 359-370 - il., bibliogr., streszcz. - ISBN 978-83-935421-7-8,
6. Wójciak, K. M., Krajmas, P., Solska, E., Dolatowski, Z. J. (2015). Application of acid whey and set milk to marinate beef with reference to quality parameters and product safety. Acta Sci. Pol. Technol. Aliment., 14(4), 293–302. DOI: 10.17306/J.AFS.2015.4.30
7. Wójciak, K.M., Dolatowski, Z.J. (2015). Effect of acid whey on nitrosylmyoglobin concentration in uncured fermented sausage. LWT-Food Science and Technology, 64, 713-719.
8. Wójciak, K.M., Dolatowski, Z.J. (2015). Evaluation of natural preservatives in combination with acid whey for use in the fermented sausage. Scientia Agricola (przyjęty do druku).
9. Wójciak, K.M., Dolatowski, Z.J. (2015). Shelf life of organic roast pork enriched with acid whey plant extracts combination. Journal of Food Quality (przyjęty do druku).
10. Wójciak, K.M., Karwowska M., Dolatowski, Z.J. (2015). Fatty acid profile, color and lipid oxidation of organic fermented sausage during chilling storage as influenced by acid whey and probiotic strains addition. Scientia Agricola, 72, 2,124-131.

8. Proponowane sposoby promocji prozdrowotnych ekologicznych produktów mięsnych bez dodatku azotanów i azotynów:

1. Publikacje w znanych międzynarodowych czasopismach,
2. Publikacje w krajowych czasopismach,
3. Informacja na spotkaniach z producentami ekologicznych i tradycyjnych produktów – MŚP (kilka spotkań odbyły się w 2015 roku),
4. Przedstawione zostaną w końcu listopada 2015 roku badane problemy produkcji bez-azotanowych wyrobów i o odpowiednim poziomie WWA, na studiach podyplomowych nadzoru weterynaryjnego żywności,
5. Systematyczna informacja na różnych szkoleniach, szczególnie z problemu wędzenia bezpiecznego zdrowotnie,
6. Produkcja wyrobów w Zakładzie „Jasiołka” – systematyczna promocja i informacja o walorach zdrowotnych wyrobów bez dodatków związków azotowych,
7. Systematyczna informacja na targach żywności (Zakład „Jasiołka”),
8. Informacja dla studentów na seminariach, ćwiczeniach i wykładach,
9. Prezentacja wyników na sympozjach i konferencjach krajowych i zagranicznych,
10. Degustacja i promocja wyrobów, szczególnie z mięsa wołowego, na różnych spotkaniach krajowych, zagranicznych (Zakład „Jasiołka”),
11. Przygotowanie przewodnika do wędzenia wyrobów ekologicznych w wędzarniach tradycyjnych. Przewodnik jest dostępny w CDR Radom.