

# APARATURA

## BADAWCZA I DYDAKTYCZNA

### **Barierowość polisacharydowych filmów ochronnych eksponowanych na działanie zimnej plazmy wobec związków aromatycznych dymu wędzarniczego**

*NATALIA ULBIN-FIGLEWICZ, ANDRZEJ JARMOLUK*

**UNIwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wydział Nauk o Żywności,  
Katedra Technologii Surowców Zwierzęcych i Zarządzania Jakością**

**Słowa kluczowe:** zimna plazma, filmy jadalne, osłonki, chitozan

#### **STRESZCZENIE**

Skuteczna ochrona produktów żywnościowych ma zasadnicze znaczenie dla zapewnienia jakości i bezpieczeństwa zdrowotnego żywności. Właściwości barierowe osłonek i powłok jadalnych wobec składników dymu wędzarniczego stanowią ważny aspekt oceny ich przydatności w przemyśle mięsnym. Materiał badawczy stanowiły jadalne filmy ochronne wytwarzane na bazie mieszanki – chitozan/hydroksymetylopropyloceluloza z dodatkiem lizozymu – i eksponowane na działanie niskociśnieniowej plazmy helowej (20 kPa). Ekstrakcję lotnych składników dymu wędzarniczego wykonano metodą mikroekstrakcji do fazy stałej SPME. Analizę lotnych związków zapachowych przeprowadzono metodą chromatografii gazowej. W preparacie dymu wędzarniczego zidentyfikowano 25 związków chemicznych, z czego ponad 60% stanowił kwas octowy wraz z pochodnymi. Grupa tych substancji przenikała przez wszystkie analizowane filmy. Wykazano także, że dodatek lizozymu i oddziaływanie zimnej plazmy istotnie wpływają na zmniejszenie barierowości ocenianych filmów. Przy uwzględnieniu wszystkich założonych w doświadczeniu czynników zmienności zaobserwowano, że w temperaturze pokojowej, tj. ok. 21°C, przenika przez eksperymentalnie wytwarzane jadalne filmy ochronne 12 związków chemicznych dymu wędzarniczego, w tym kwas octowy z pochodnymi, estry kwasów organicznych i ketony.

# Aroma barrier properties of polysaccharides protective films exposed to cold plasma

**Keywords:** cold plasma, edible films, casings, chitosan

## ABSTRACT

Effective protection of food products is of essential importance for maintaining food quality and safety. Barrier properties of casings and edible coatings are an important aspect of the assessment of their usefulness in the meat industry. The edible films have been prepared basing on low molecular weight chitosan and hydroxypropylmethylcellulose by casting from lactic acid solution with water solution of lysozyme in three various concentrations (0.0, 0.5, 1.0%). Dried films were then modified by exposition on cold helium plasma treatment for 0, 5, 10 minutes at low pressure (20 kPa). Solid phase microextraction (SPME) method was used to extraction of volatile components of smoke. Volatile components of smoke were analyzed using gas chromatography and mass spectrometry (GC-MS). Twenty five compounds were identified, from which acetic acid and its derivatives were over 60%. Those substances were transferred through all tested films. The addition of lysozyme and cold plasma treatment resulted in decrease of permeability of films. The efficiency of edible films incorporated 1% of lysozyme and treated helium plasma for 10 min to retain or limit transfers of aroma compounds was the lowest. Twelve compounds were identified as follows: acetic acid and its derivatives, carboxylic acid esters and ketones.

## 1. WSTĘP

Opakowania są nieodłącznym elementem wielu przetworów żywnościowych, a zarazem jednym z istotnych czynników wpływających na atrakcyjność produktów. Wartość światowego rynku opakowań wyniosła w 2012 roku 799 mld dolarów, wzrastając o 1% w odniesieniu do 2011 roku. S. Pira prognozuje dalszy wzrost o 4% w skali roku do 2018 [1]. Najczęściej stosowanymi materiałami opakowaniowymi są: papier i tektura. Na drugim miejscu znajdują się tworzywa sztuczne otrzymane z takich polimerów jak polietylen, polichlorek winylu, polipropylen. Ich popularność wynika głównie z kwestii ekonomicznych, czyli niskiego kosztu produkcji oraz dobrych właściwości użytkowych. Materiały te jednak nie zawsze są biodegradowalne, a ich recykling związany jest z kosztami i problemami technicznymi [2]. Wychodząc naprzeciw wymaganiom konsumentów, a jednocześnie w trosce o środowisko naturalne, technologie produkcji materiałów opakowaniowych są intensywnie rozwijane, dzięki czemu możliwe jest wprowadzenie innowacyjnych opakowań takich jak opakowania aktywne i inteligentne, wytwarzane na bazie biopolimerów. Według rozporządzenia (WE) nr 450/2009: „Aktywne materiały i wyroby to takie, których zadaniem jest przedłużenie okresu przydatności do sprzedaży lub zachowanie i poprawa stanu opakowanej żywności; za-

projektowane zostały celowo w taki sposób, aby zawarte w nich składniki uwalniały substancje do opakowanej żywności albo jej otoczenia lub też je absorbowały. Inteligentne materiały i wyroby oznaczają takie materiały i wyroby, które monitorują stan opakowanej żywności lub jej otoczenia”. Do tego typu opakowań zalicza się powłoki i filmy jadalne, które stanowią istotny element nowoczesnych systemów ochrony żywności przed szkodliwym wpływem środowiska zewnętrznego [3]. Główną ich funkcją jest zabezpieczenie żywności przez wytworzenie bariery, która ogranicza przemiany fizykochemiczne oraz biologiczne. Jadalne filmy ochronne opóźniają psucie się owoców poprzez spowolnienie ich dojrzewania, a także przez hamowanie wzrostu drobnoustrojów. Można w ten sposób wydłużać okresy przydatności do spożycia przetworów żywnościowych; zapobiegać powierzchniowemu odwadnianiu świeżego i mrożonego mięsa, drobiu, ryb. Jadalne powłoki ochronne mogą być również nośnikami dodatków do żywności, takich jak związki przeciwdrobnoustrojowe, zapachowe, antyoksydanty, barwniki, substancje odżywcze [4, 5]. W przemyśle mięsnym alginianowe jadalne powłoki ochronne znajdują zastosowanie w postaci koekstruzyjnie formowanych filmów np. na powierzchni kabanosów i stanowią istotną alternatywę dla stosowania konwencjonalnych osłonek.

Wcześniej przeprowadzone badania własne wykazały aktywność przeciwdrobnoustrojową jadalnych filmów ochronnych [6-8]. Zastosowanie ich umożliwia zwiększenie trwałości przechowalniczej i poprawę bezpieczeństwa zdrowotnego żywności. Ponadto stanowią alternatywę dla powszechnie stosowanych chemicznych konserwantów. W związku z dużym potencjałem aplikacyjnym takich filmów konieczne jest określenie ich specyficznych właściwości fizykochemicznych. Celem pracy była ocena zmian przepuszczalności lotnych składników preparatu dymu wędzarniczego przez jadalne filmy ochronne, wytwarzane na bazie hydroksypropylometylocelulozy i chitozanu z dodatkiem lizozymu, i eksponowane na działanie niskociśnieniowej plazmy helowej.

## 2. MATERIAŁ I METODY

### 2.1 Przygotowanie jadalnych filmów ochronnych

Do sporządzania filmów wykorzystano następujące handlowe preparaty: chitozan (CH) o niskiej masie cząsteczkowej i stopniu deacetylacji 75-85% (Sigma Aldrich, Stany Zjednoczone), hydroksypropylometyloceluloza (HPMC) – preparat METHOCEL\*<sup>SX</sup> 0407 Food Grade Modified Cellulose (Dow Wolff Cellulosics GmbH, Niemcy), lizozym – izolowany z białka jaja kurzego, substancja o działaniu przeciwdrobnoustrojowym (Ovopol, Polska). Glicerol (PPH Stanlab, Polska) został zastosowany jako plastyfikator. Wodny roztwór HPMC sporządzano mieszając przez 12 h suchy preparat z wodą destylowaną przy użyciu mie-

szadła mechanicznego CAT R-250 o prędkości obrotowej 300 rpm. Analogicznie przygotowywano roztwór chitozanu, który sporządzono przez jego rozpuszczenie w wodnym roztworze kwasu mlekowego. Lizozym rozpuszczano w wodzie destylowanej. Tak przygotowane roztwory mieszano w proporcjach umożliwiającymi uzyskanie stężeń składników przedstawionych w Tabeli 1.

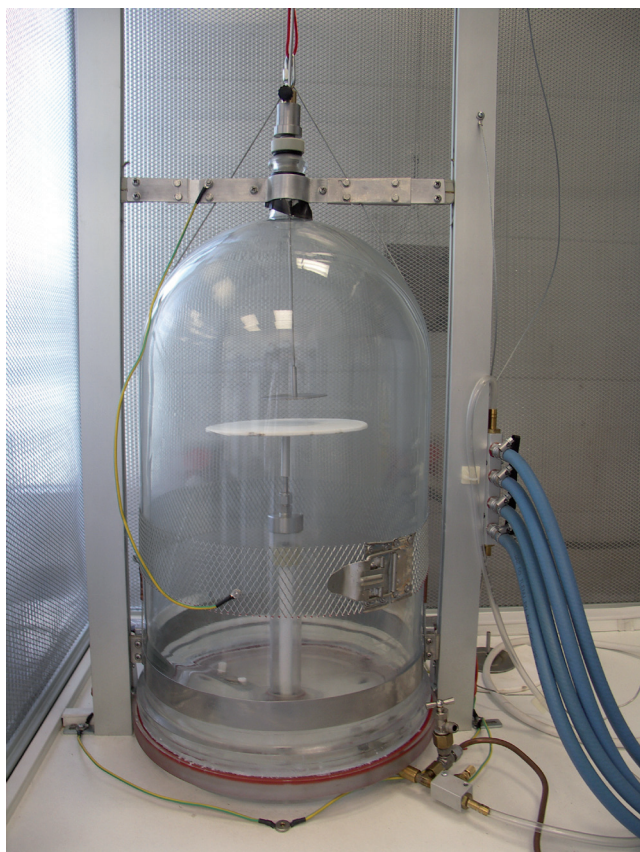
Eksperymentalne hydrozole rozlewano do wyklejonych teflonową folią szklanych form o wymiarach 80 x 200 mm, a następnie suszono przez odwadnianie w komorze klimatycznej firmy Binder typ KBF – LOC 240 w temp. 4°C i wilgotności 60% przez 96 h. Filmy wytworzone tym sposobem poddawano 5 i 10-minutowej ekspozycji zimną plazmą helową przy obniżonym ciśnieniu (końcowe ciśnienie 20 kPa). Plazmę generowano przy użyciu prototypowego reaktora plazmowego o zasilaniu impulsowym firmy Ertec Poland (Rys. 1).

### 2.2 Oznaczenie przepuszczalności lotnych składników preparatu dymu wędzarniczego [9]

Badanie przeprowadzono z użyciem rafinatu dymu wędzarniczego AFS SUPER 12 SOL (Amcan Ingredients INT'L, Francja) w następujący sposób: Do szklanej kolby Erlenmeyera o pojemności 500 ml wlewano 50 cm<sup>3</sup> rafinatu, tak aby nie zanieczyścić ścianek bocznych naczynia, następnie na wlot kolby nakładano eksperymentalnie wytworzony film ochronny. W celu uszczelnienia układu wlot leja zamykano parafilmem (Rys. 2). Tak przygotowane próbki termostatowano w temp. 21°C przez 20 min.

Tabela 1 Model doświadczenia  
Table 1 Experimental design

Wariant	Czynniki zmienności		Czynniki stałe			
	Ekspozycja plazmowa [min]	Lizozym [%]	HPMC [%]	Chitozan [%]	Glicerol [%]	Kwas mlekowy [%]
P0L0	0	0	1	1	25 (w stosunku do suchej masy użytych polimerów)	0,5
P5L0	5	0				
P10L0	10	0				
P0L0.5	0	5				
P5L0.5	5	5				
P10L0.5	10	5				
P0L1	0	10				
P5L1	5	10				
P10L1	10	10				



**Rysunek 1** Prototypowy generator zimnej plazmy  
**Figure 1** Prototype cold plasma generator



**Rysunek 2** Zestaw do oznaczenia barierowości powłok ochronnych  
**Figure 2** Kit for determination of barrier properties of protective coatings

Lotne składniki dymu wędzarniczego wyodrębniano metodą mikroekstrakcji do fazy stałej SPME (*solid phase microextraction*), gdzie fazę stacjonarną stanowiło włókno mikrostrzykawki: Polidimetylosiloksan/Divinylobenzen (PDMS/DVB), które eksponowano nad powierzchnią filmu przez 5 minut w temp. 21°C. Analizę lotnych związków zapachowych przeprowadzono metodą chromatografii gazowej przy użyciu aparatu firmy Agilent Technologies 6890 Network GC System, zaopatrzonego w detektor masowy (GC/MS). Włókno z zaadsorbowanymi substancjami lotnymi wprowadzono do dozownika chromatografu gazowego (250°C). Rozdział prowadzono w warunkach: kolumna 60 m × 250 μm × 0,25 μm, 40°C (5 min) do 240°C (4°C/min), gaz nośny – hel (4,5 ml/min), split 1:1. Identyfikację analizowanych związków lotnych wykonano na podstawie analizy porównawczej widm masowych z komercyjną biblioteką widm NIST (*National Institute of Standards and Technology*).

### 3. OMÓWIENIE I Dyskusja Wyników

W Tabeli 2 przedstawiono listę zidentyfikowanych substancji tworzących profil zapachowy preparatu dymu wędzarniczego AFS SUPER 12 SOL w temp. 21°C. Jest to grupa 25 związków chemicznych, wśród których dominuje kwas octowy wraz z pochodnymi (ok. 65%). Chromatogram związków lotnych zidentyfikowanych w preparacie dymu wędzarniczego AFS SUPER 12 SOL oraz przenikających przez film sporządzany z dodatkiem 1% lizozymu przedstawiono na Rysunkach 3 i 4. Wyniki analizy chromatograficznej składu mieszaniny związków przenikających przez poszczególne warianty eksperymentalnie wytwarzanych filmów ochronnych wskazują na to, że znaczna część tych substancji zostaje zaabsorbowana w biopolimerowej membranie (Tab. 3). Przez każdy z filmów w dużym stopniu przenika kwas octowy z pochodnymi, zaś przez większość aceton oraz propionian metylu. Najwyższą barierowością cechowały się filmy bez dodatku lizozymu (warianty: P0L0, P5L0, P10L0), przy czym zaobserwowano, że dla tych próbek ekspozycja plazmowa zwiększa przepuszczalność lotnych składników. Wzrost stężenia lizozymu w eksperymentalnych filmach skutkowało znacznym zmniejszeniem ich barierowości. Próbką z dodatkiem 1% lizozymu poddana 10-minutowej ekspozycji plazmą helową (P10L1) odznaczała się największą prze-

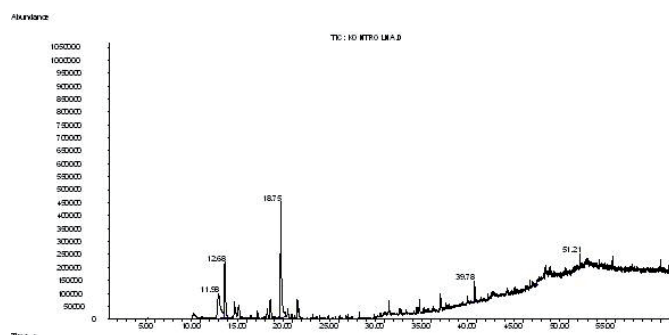
**Tabela 2** Profil związków aromatycznych zidentyfikowanych w preparacie dymu wędzarniczego AFS SUPER 12 SOL

**Table 2** The composition of volatile components identified in smoke AFS SUPER 12 SOL

Lp.	Składnik dymu wędzarniczego	Zawartość [%]
1.	kwasy octowy i jego pochodne	65,87
2.	nonanal	3,43
3.	heksanal	3,34
4.	benzaldehyd	3,1
5.	kwasy dodekanowy	2,45
6.	furfural	2,39
7.	propionian metylu	2,29
8.	propan	2,01
9.	2-pentanon	1,93
10.	d-limonen	1,71
11.	heneikozan	1,41
12.	1,4-dichlorobenzen	1,29
13.	maślan metylu	1,26
14.	2-cyklopenten-1-on	1,13
15.	oktanal	1,02
16.	2-metylo-2-cyklopenten-1-on	0,94
17.	walerian metylu	0,68
18.	styren	0,63
19.	tetradekan	0,61
20.	cyklopentanon	0,57
21.	3-heksanon	0,5
22.	kwasy 3-butenowy	0,46
23.	heptanal	0,41
24.	3-metylo-3-buten-2-ol	0,29
25.	aceton	0,28
Suma		100

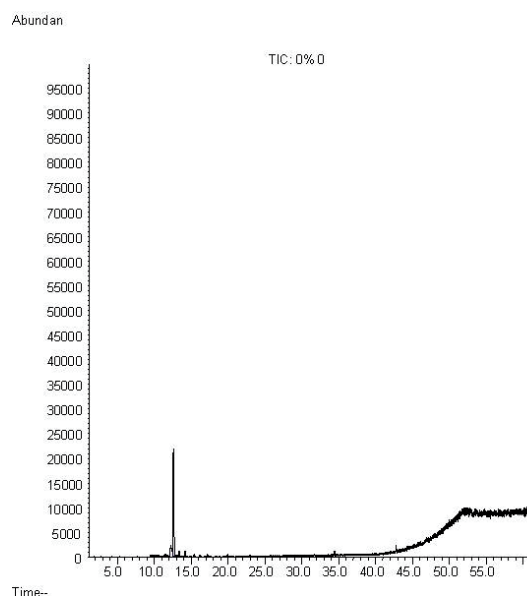
puszczalnością lotnych związków zapachowych preparatu dymu. W badaniach przeprowadzonych przez Fabra i wsp. stwierdzono niższą barierowość filmów sporządzanych na bazie kazeiny sodu w porównaniu do filmów zawierających iota karagen [10]. Można to tłumaczyć tym, że związki aromatyczne wykazują głównie właściwości hydrofobowe i mogą być łatwiej absorbowane przez powłoki białkowe, które są bardziej hydrofobowe w porównaniu do powłok wytwarzanych na bazie polisacharydów [10]. Zatem barierowość filmów jadalnych zależy od powinowactwa związków lotnych do składników filmów i fizykochemicznych interakcji między nimi. Zmniejsze-

nie barierowości filmów wytwarzanych z udziałem lizozymu może być powodowane zawartością w jego łańcuchu hydrofobowych reszt aminokwasowych, co w konsekwencji prowadzi do zmniejszenia hydrofilowości takich biokompozytów [11]. Ważną kwestią związaną z procesem wędzenia są wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne (WWA), które stanowią grupę około 10000 związków organicznych, w tym o właściwościach genotoksycznych, mutagennych i kancerogennych [12]. Źródłem zanieczyszczenia żywności przez WWA są m.in. zabiegi technologiczne typu wędzenie, grillowanie, smażenie, suszenie bezprzeponowe. Dowiedzono, że wyższa temperatura wędzenia i dłuższy czas obróbki termicznej powodują wzrost zawartości WWA w dymie i gotowym produkcie [13].



**Rysunek 3** Chromatogram związków lotnych zidentyfikowanych w preparacie dymu wędzarniczego AFS SUPER 12 SOL

**Figure 3** Chromatogram of volatile components identified in smoke AFS SUPER 12 SOL



**Rysunek 4** Chromatogram związków lotnych preparatu dymu wędzarniczego AFS SUPER 12 SOL przenikającego przez film P10L1

**Figure 4** Chromatogram of volatile components of smoke AFS SUPER 12 SOL transferring through the film P10L1

**Tabela 3** Przepuszczalności lotnych składników preparatu dymu wędzarniczego przez eksperymentalne filmy ochronne**Table 3** Permeability of volatile components of smoke by the experimental films

Lp.	Wariant Związek chemiczny	POLO	P5LO	P10LO	POLO.5	P5LO.5	P10LO.5	POL1	P5L1	P10L1
		Udział składników dymu przechodzących przez powłokę [%]								
1.	Kw. octowy i jego pochodne	100,00	94,48	94,57	92,13	92,89	88,82	85,19	86,89	75,75
2.	Aceton	-	5,52	5,43	3,61	3,77	1,85	1,68	2,06	1,65
3.	Propionian metylu	-	-	-	4,26	3,34	4,80	7,39	6,98	7,53
4.	Maślan metylu	-	-	-	-	-	2,44	1,90	3,23	3,92
5.	2-pentanon	-	-	-	-	-	2,09	3,29	0,84	5,59
6.	3-heksanon	-	-	-	-	-	-	0,55	-	1,38
7.	Walerian metylu	-	-	-	-	-	-	-	-	0,34
8.	Cyklo-pentanon	-	-	-	-	-	-	-	-	0,82
9.	2-cyklopenten-1-on	-	-	-	-	-	-	-	-	0,49
10.	2-metylo-2-cyklopenten-1-on	-	-	-	-	-	-	-	-	0,56
11.	Furfural	-	-	-	-	-	-	-	-	1,55
12.	Benzaldehyd	-	-	-	-	-	-	-	-	0,42
Suma		100	100	100	100	100	100	100	100	100

WWA wykazują silne właściwości hydrofobowe, dlatego można przypuszczać, że będą w mniejszym stopniu przenikały przez polisacharydowe powłoki jadalne.

W przemyśle mięsnym w produkcji wędlin stosuje się osłonki sztuczne, które są wytwarzane z surowców naturalnych (np. celulozy czy kolagenu) lub z tworzyw sztucznych (np. poliamidu, polichlorku winylidenu, poliestru, polipropylenu i polietylenu). Drugą grupę stanowią osłonki naturalne pozyskiwane z fragmentów układu pokarmowego zwierząt rzeźnych. Takie właściwości jelit, jak łatwe dostosowanie się do wypełnienia, wysoka przenikalność związków lotnych dymu w czasie wędzenia, przepuszczalność powietrza umożliwiająca zachowanie naturalnego aromatu wędlin, decydują o ich powszechnym użyciu. Wadą osłonek naturalnych jest stosunkowo niska wytrzymałość mechaniczna w przeciwieństwie do osłonek sztucznych, które w większości przypadków cechują się małą przepuszczalnością gazów, w tym pary wodnej i składników dymu wędzarniczego, co ogranicza ich zastosowanie w produkcji wędlin wędzonych [14]. Technologie stosujące jadalne filmy ochronne idealnie wpasowują się w innowacyjne trendy zarówno produkcji wędlin, jak i upodobań konsumentów. Komponenty stosowanych w badaniach własnych polisacharydowych filmów są biodegradowalne i nietoksyczne,

a koszt ich produkcji jest niewysoki [15]. Wykazują również korzystne właściwości funkcjonalne, takie jak: dużą elastyczność i kurczliwość, co zapewnia ich dobre przyleganie do powierzchni wyrobów oraz wysoką przepuszczalność związków aromatycznych dymu wędzarniczego. Poza tym umożliwiają wyeliminowanie trudności związanych z dostępnością i pozyskiwaniem jelit, ich niedojnością czy procesem oczyszczania i przechowywania.

#### 4. WNIOSKI

Przepuszczalność związków aromatycznych zawartych w dymie wędzarniczym przez eksperymentalnie wytwarzane filmy ochronne wzrasta przy jednoczesnym zastosowaniu w ich składzie dodatku lizozymu oraz ekspozycji zimną plazmą niskociśnieniową. Parametry te wskazują na potencjalne możliwości użycia tak modyfikowanych biokompozytów np. do wytwarzania koekstrudowanych osłonek stosowanych w przetwórstwie mięsnym.

Praca wykonana w ramach projektu rozwojowego Nr N R12 0079 06/2009 pt. „Opracowanie metody poprawy jakości i bezpieczeństwa żywnościowego chłodniczo przechowywanego mięsa”, finansowanego przez NCBiR.

## LITERATURA

- [1] <http://www.smitherspira.com/products/market-reports> (05.06.2014)
- [2] Gottfried K., Sztuka K., Statroszczyk H., Kołodziejska I., Biodegradowalne i jadalne opakowania do żywności z polimerów naturalnych. *Opakowanie*, 8, 2010, 28-34.
- [3] Ogonek A., Lenart A., Błony i powłoki jadalne w żywności – znaczenie i przyszłość. *Postępy techniki przetwórstwa spożywczego*, 1, 2008, 31-35.
- [4] Bourtoom T., Edible films and coatings: characteristics and properties. *International Food Research Journal*, 15, 2008, 237-248.
- [5] Skurtys O. i wsp. (2010) *Food Hydrocolloid Edible Films and Coatings*. Nova Science Publishers, Inc., United States.
- [6] Ulbin-Figlewicz N., Zimoch A., Jarmoluk A., Plant extracts as components of edible antimicrobial protective coatings. *Czech Journal of Food Science*, 31, 2013, 596-600.
- [7] Ulbin-Figlewicz N., Ambrozik-Haba J., Semeriak K., Zimoch A., Brychcy E., Marycz K., Jarmoluk A., Wpływ oddziaływania zimnej plazmy na zmienność struktury biokompozytów – poli D-glukozaminy i muramidazy. *Przemysł Chemiczny*, 92 (5), 2012, 1039-1042.
- [8] Ulbin-Figlewicz N., Zimoch-Korzycka A., Jarmoluk A., Antibacterial activity and physical properties of edible chitosan films exposed to low-pressure plasma. *Food and Bioprocess Technology*. doi: 10.1007/s11947-014-1379-6
- [9] Zimoch A., Jarmoluk A., Barielowość biokompozytowych filmów ochronnych wytwarzanych na bazie naturalnych biopolimerów. *Przemysł Chemiczny*, 5, 2011, 1099-1102.
- [10] <https://home.zhaw.ch/yere/pdf/Teil39%20-%20Expression%20of%20Multidisciplinary.pdf> (05.05.2014)
- [11] Park S. I., Daeschel M. A., Zhao Y., Functional properties of antimicrobial lysozyme-chitosan composite films. *Journal of Food Science*, 69 (8), 2004, 1215-1221.
- [12] Wenzl T., Simon R., Kleiner J., Anklam E., Analytical methods for polycyclic aromatic hydrocarbons, (PAHs) in food and the environment needed for new food legislation in the European Union. *Trend. Anal. Chem.*, 25 (7), 2006, 716-725.
- [13] Kubiak M. S., Wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne (WWA) – ich występowaniu w środowisku i żywności. *Probl. Hig. Epidemiol.*, 94 (1), 2013, 31-36.
- [14] Borzyszkowski M., Świat osłonek w przemyśle mięsnym. *Gospodarka mięsna*, 63 (10), 2011, 16-20.
- [15] Skurtys O., Acevedo C., Pedreshi F., Enrione J., Osorio F., Aguilera J. M., *Food hydrocolloid edible films and coatings*. New York, Nova Science Publishers, Inc., 2010.