

Dr inż. Grzegorz FIUTAK  
Dr hab. inż. Ryszard MACURA  
Dr inż. Magdalena MICHALCZYK  
Prof. dr hab. inż. Krzysztof SURÓWKA  
Katedra Chłodnictwa i Koncentratów Spożywczych  
Wydział Technologii Żywności  
Uniwersytet Rolniczy w Krakowie

## WPŁYW METODY ZAMRAŻANIA NA BARWĘ, ZAWARTOŚĆ CHLOROFILI I TEKSTURĘ PRODUKTÓW LIOFILIZOWANYCH®

Effect of freezing method on the colour, chlorophylls content and texture  
of freeze-dried products®

*Badania współfinansowano z dotacji celowej na prowadzenie badań naukowych lub prac  
rozwojowych oraz zadań z nimi związanych służących rozwojowi młodych naukowców  
w ramach projektu nr rej. BM-4764/KChKS/2014*

**Słowa kluczowe:** ogniwa Peltiera, chlorofile, karotenoidy, barwa  $L^*a^*b^*$ , mrożenie szokowe.

Praca przedstawiona w artykule miała na celu określenie wpływu metody zamrażania na barwę, zawartość chlorofili i teksturę produktów liofilizowanych. Jako modelowy surowiec wykorzystano owoce kiwi, które zamrożono z zastosowaniem 3 metod: w zamrażarce bez wymuszonego obiegu powietrza (temp.  $-22^{\circ}\text{C}$ ), w zamrażarce szokowej z wymuszonym obiegiem powietrza (temp.  $-70^{\circ}\text{C}$ ) oraz pomiędzy dwoma ogniwami Peltiera 5A do osiągnięcia w środku termicznym temperatury  $-18^{\circ}\text{C}$ . Zamrażanie szokowe, pozwoliło uzyskać liofilizat charakteryzujący się największą zawartością barwników, jaśniejszą barwą, a także mniejszą porowatością, co wpłynęło na teksturę analizowanego surowca.

**Key words:** Peltier cells, chlorophylls, carotenoids, color  $L^*a^*b^*$ , shock freezing.

The aim of this study was to determine the effect of freezing methods on color, texture and chlorophylls content of freeze-dried products. As a model material there was used kiwi fruit which was frozen by three methods: in the refrigerator without forced air circulation (temp.  $-22^{\circ}\text{C}$ ), shock freezer with forced air circulation (temp.  $-70^{\circ}\text{C}$ ) and between the two Peltier cells 5A to the temperature of  $-18^{\circ}\text{C}$  in the thermic center. Shock freezing allowed to obtain the freeze-dried products characterized by the highest content of pigments, lighter color, and lower porosity, which contributed to the texture of the analyzed material.

### WSTĘP

Liofilizacja jest jedną z fizycznych metod utrwalania żywności. Polega ona na usuwaniu wody z zamrożonego produktu poprzez sublimację lodu z pominięciem stanu ciekłego. Uzyskany taką metodą produkt jest bezpieczny mikrobiologicznie i dzięki zastosowaniu podczas procesu niskiej temperatury, charakteryzuje się wysoką jakością. Ważny jest fakt, że do żywności utrwalonej metodą liofilizacji nie dodaje się żadnych chemicznych środków konserwujących. Istotnym wskaźnikiem jakości żywności suszonej tym sposobem, jest zachowanie barwy. Obecność lodu w tkankach w pierwszej fazie procesu, zapewnia zachowanie kształtu produktu po wysuszeniu. Szybkość zamrażania wstępnego znacząco wpływa na rozmiary i kształt powstających kryształów lodu, a przez to na porowatość wysuszonego materiału. Jeśli zamrażanie będzie trwało długo, kryształy lodu będą większe niż w przypadku szybkiego mrożenia, a więc otrzymany produkt będzie charakteryzował się większymi porami, w porównaniu do produktów zamrożonych szybkimi metodami.

Na szybkość procesu zamrażania, wpływa m.in. rodzaj metody mrożenia. Do najbardziej efektywnych należą metody kontaktowe, których współczynnik wnikania ciepła ( $\alpha$ ) wynosi 500-600 W/( $\text{m}^2\text{K}$ ) [2]. Umożliwiają one znaczną redukcję czasu zamrażania, a czynna różnica temperatur nie jest tu aż tak istotna, jak ma to miejsce w metodach owiewowych charakteryzujących się dużo mniejszymi współczynnikami wnikania ciepła (10-40 W/( $\text{m}^2\text{K}$ )) [2].

Do metod kontaktowego mrożenia można także zaliczyć zamrażanie przy użyciu ogniw Peltiera. Moduły Peltiera to urządzenia termoelektryczne służące jako pompy transportujące ciepło w kierunku zależnym od kierunku przepływu prądu elektrycznego [5]. Temperatura robocza (zimnej strony) ogniw Peltiera uzależniona jest przede wszystkim od odpowiedniego schłodzenia strony gorącej. Aby moduły mogły prawidłowo funkcjonować, po stronie gorącej należy odprowadzać znaczne ilości energii. Ilość ciepła pochłanianego nie jest równa ilości ciepła wydzielanego, gdyż należy doliczyć ciepło Joule'a, a także ciepło wynikające ze znacznej różnicy temperatur strony cieplej i zimnej płytki (ok.  $67^{\circ}\text{C}$ ), które

również należy ująć w bilansie cieplnym [1]. Zaletą ogniw Peltiera jest to, że do uzyskania ujemnych temperatur nie są potrzebne tzw. czynniki chłodnicze, nie potrzebują więc one układu sprężarkowego oraz często stosowanych w nich smarów i olejów.

Celem artykułu jest przedstawienie wyników badań dotyczących porównania szybkości zamrażania surowca modelowego (kiwi) przy pomocy metody kontaktowej z użyciem ogniw Peltiera (TEC1-12705) i owiewowej: w zamrażarce szokowej z wymuszonym obiegiem powietrza (temp.  $-70^{\circ}\text{C}$ ) oraz bez wymuszonego obiegu powietrza (w temp.  $-22^{\circ}\text{C}$ ). W pracy określano także wpływ sposobu mrożenia na barwę, zawartość chlorofilu, karotenoidów i teksturę produktów liofilizowanych. Ponadto zbadano trwałość liofilizatów w czasie ich jedno i dwumiesięcznego przechowywania.

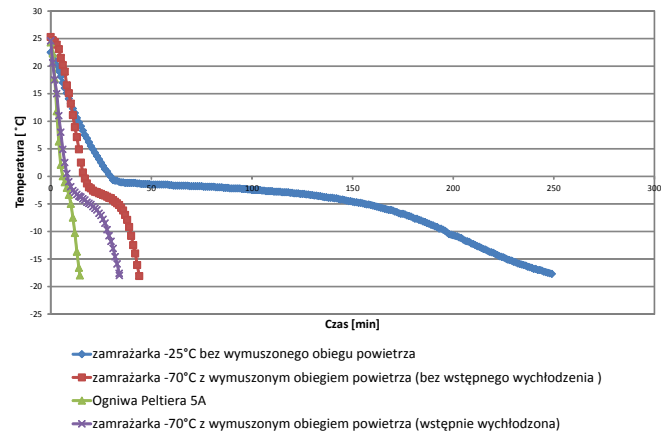
## MATERIAŁ I METODY BADAŃ

Owoce kiwi pokrojono na plastry o grubości 2 cm, które zamrożono do temperatury  $-18^{\circ}\text{C}$  w środku termicznym z zastosowaniem zamrażarki bez wymuszonego obiegu powietrza (temp.  $-22^{\circ}\text{C}$ ), zamrażarki szokowej (temp.  $-70^{\circ}\text{C}$ ) z wymuszonym obiegiem powietrza oraz z wykorzystaniem dwóch ogniw Peltiera (TEC-12705) o prądzie pracy 5A (w celu pomiaru temperatury zimnych stron ogniw użyto pirometru (Votcraft IR 900-30S)). Dodatkowo zastosowano wariant zamrażania szokowego (temp.  $-70^{\circ}\text{C}$ ) bez wstępnego wychłodzenia komory. Zamrożony produkt wysuszono w liofilizatorze LaborMim OE-950 (Węgry) w czasie 22-24 godziny, przy temperaturze płyt grzejnych  $35^{\circ}\text{C}$ . Analizowano go natychmiast po wysuszeniu oraz po 1 i 2 miesiącach przechowywania suszów szczelnie zamkniętych w słoikach bez dostępu powietrza. Wykonano instrumentalne oznaczenie barwy z użyciem spektrofotometru Konica-Minolta CM5 (6 powtórzeń) oraz spektrofotometrycznie zmierzono zawartość chlorofilu i karotenoidów (4 powtórzenia) [3]. Ekstrakcję przeprowadzono acetonem w obecności tlenu magnezu, a następnie wykonano pomiar absorpcji przy długościach fal: 662 nm (chlorofil *a*), 645 nm (chlorofil *b*) i 470 nm (karoteny i ksantofile). Dokonano pomiaru tekstury z wykorzystaniem teksturometru TA-XT2 (Stable Micro Systems Haslemere, UK) wykonując test penetracji trzpieniem igłowym (SMS P/2N) o średnicy 2 mm. Próbnik zagłębiano w materiale z prędkością 0,1 mm/s na głębokość 15 mm. Analizę wykonano w 8 powtórzeniach. Ponadto wykonano zdjęcia mikroskopowe liofilizowanych suszów w powiększeniu 40x (mikroskop Meiji Techno (Japonia) z dołączoną kamerą MotiCam 2500 5,0M Pixel) na podstawie których porównano strukturę produktu. Analizę statystyczną wykonano stosując program Statistica 10.0.

## WYNIKI BADAŃ I DYSKUSJA

Liofilizacja jest metodą suszenia opierającą się na usuwaniu wody z zamrożonego produktu z pominięciem fazy ciekłej. Pierwszym, istotnym etapem tego procesu jest zamrożenie surowca. Związane są z tym zmiany wewnątrz jego struktury. Dobór odpowiedniej metody mrożenia wpływa na późniejszą porowatość i teksturę suszonych produktów. W pracy porównano trzy metody mrożenia owoców kiwi oraz określono wpływ tych metod na jakość uzyskanych liofilizatów.

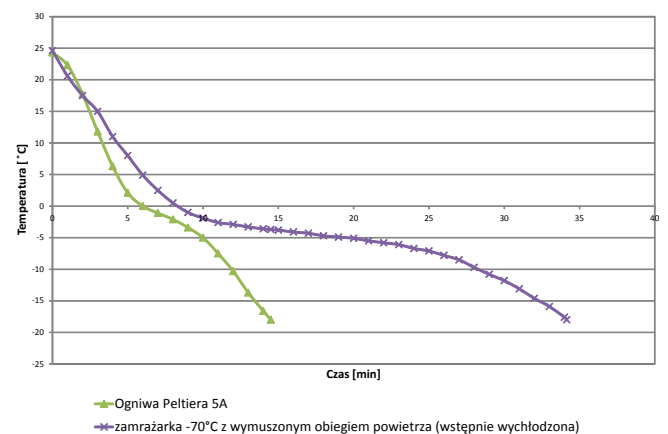
Zdecydowanie najmniejszą szybkością mrożenia charakteryzowała się metoda owiewowa (temp.  $-22^{\circ}\text{C}$ ) bez wymuszonego obiegu powietrza (rys. 1), przy której do uzyskania temp.  $-18^{\circ}\text{C}$  w środku termicznym produktu potrzeba było aż 257 min.



Rys. 1. Krzywe zamrażania produktu modelowego z użyciem czterech metod mrożenia.

Fig. 1. Time – temperature relationship of model product frozen with various methods.

Źródło: Badania własne / Source: The own study



Rys. 2. Krzywe zamrażania produktu z użyciem dwóch najszybszych metod mrożenia.

Fig. 2. Time – temperature relationship of model product frozen with two the fastest methods.

Źródło: Badania własne / Source: The own study

W przypadku zamrażarki szokowej z wymuszonym obiegiem powietrza, w której temperatura robocza wynosiła  $-70^{\circ}\text{C}$ , czas zamrażania zredukowano ponad sześciokrotnie, ostatecznie uzyskując w środku termicznym  $-18^{\circ}\text{C}$  po 39 minutach. Jako ostatnią eksperymentalną metodę zastosowano mrożenie przy pomocy modułów termoelektrycznych tzw. ogniw Peltiera. W doświadczeniu zastosowano 5A płytki, chłodzone za pomocą wydajnego układu chłodzenia wodnego z chłodnicą na której zamontowano dwa wentylatory. Pozwoliło to uzyskać temperaturę  $-29^{\circ}\text{C}$  na zimnych stronach płytek. Ognia Peltiera są układami, które nie wymagają wstępnego schładzania gdyż temperaturę pracy uzyskują one po kilku sekundach. Temperatura mrożenia jaką uzyskują ognia jest przede wszystkim uzależniona od temperatury strony gorącej. Wg producenta różnica między tzw. stroną

zimną i gorącą wynosi ok. 67°C. Jeśli po stronie zimnej temperatura mierzona pirometrem wynosiła -29°C, to znaczy że strona gorąca została schłodzona do ok. 38°C. Użycie ogniw Peltiera pozwoliło zamrozić badany surowiec w ponad 2,5 razy krótszym czasie w porównaniu do mrożenia szokowego (rys. 2).

Ogniwa nie były wstępnie schłodzone. W pracy podjęto również próbę zamrożenia produktu w zamrażarce szokowej bez wstępnego wychłodzenia komory. Do uzyskania -18°C w środku termicznym potrzeba było 49 minut, co daje czas o ponad pół godziny dłuższy w porównaniu z chłodzeniem przy użyciu płytek Peltiera. Z porównania metody najwolniejszej i najszybszej wynika, że między ogniwami owoce zamrożono w ponad 14 razy krótszym czasie niż metodą zamrażania tradycyjnego bez owiewu. Również Pałacha i Krystian [4] przedstawiają relatywnie długi czas zamrażania żywności metodami tradycyjnymi w temp. -36°C. Użytkali oni -18°C w środku termicznym śliwek po czasie ok. 65 min, natomiast metodą z użyciem dwutlenku węgla (LIC) po 31 min, a fluidyzacyjną (temp -37°C) po 13 min. Fiutak i in. [1], którzy analizowali zamrażanie prostopadłościennych kostek (4x4x2 cm) wyciętych z buraka pastewnego, również odnotowali długi czas ich zamrażania metodą tradycyjną wynoszący aż 81 minut, mimo niskiej temperatury medium -43°C. Przy użyciu ogniw Peltiera do uzyskania -15°C w środku termicznym potrzeba było tylko 12 min.

Oceniono wpływ, stosowanego przed liofilizacją mrożenia różnymi metodami, na jakość uzyskanych suszów. Oznaczoną zawartość chlorofilu, sumę karotenów i ksantofili, a także barwę, przedstawiono w tabeli 1.

**Tabela 1. Zawartość barwników oraz parametry barwy liofilizatów uzyskanych z zastosowaniem różnych metod wstępnego mrożenia**

**Table 1. The content of pigments and the color of the freeze-dried products using various methods of preliminary freezing**

		Zawartość barwników			Barwa		
		Chlorofil a [mg/100 g]	Chlorofil b [mg/100 g]	X+C <sup>a)</sup> [mg/100 g]	L*	a*	b*
Bezpośrednio po wysuszeniu	Kiwi mrożone w temp -22°C	7,87 (±1,62)	5,35 <sup>A</sup> (±1,36)	3,12 <sup>A</sup> (±0,8)	69,95 (±2,07)	-11,58 (±0,65)	-31,84 (±3,09)
	Kiwi mrożone w temp -70°C	12,30 <sup>A</sup> (±2,13)	7,15 (±1,03)	3,82 <sup>A</sup> (±0,57)	78,04 <sup>A</sup> (±1,66)	-9,67 <sup>A</sup> (±0,69)	-24,23 <sup>A</sup> (±1,71)
	Kiwi mrożone pomiędzy ogniwami	10,11 <sup>A</sup> (±1,56)	4,12 <sup>A</sup> (±0,99)	3,22 <sup>A</sup> (±0,44)	75,67 <sup>A</sup> (±2,89)	-9,35 <sup>A</sup> (±0,89)	-21,53 <sup>A</sup> (±1,89)
Po miesiącu prze- chowania	Kiwi mrożone w temp -22°C	6,08 (±0,92)	2,74 (±0,53)	2,51 <sup>B</sup> (±0,29)	72,14 <sup>B</sup> (±3,60)	-10,63 <sup>B</sup> (±0,87)	-31,45 (±3,12)
	Kiwi mrożone w temp -70°C	7,55 <sup>B</sup> (±0,64)	2,39 <sup>B</sup> (±0,41)	2,86 <sup>B</sup> (±0,17)	76,50 <sup>B</sup> (±2,81)	-10,16 <sup>B</sup> (±0,56)	-27,71 <sup>B</sup> (±1,12)
	Kiwi mrożone pomiędzy ogniwami	7,13 <sup>B</sup> (±0,35)	2,30 <sup>B</sup> (±0,28)	2,76 <sup>B</sup> (±0,05)	74,44 <sup>B</sup> (±2,11)	-10,35 <sup>B</sup> (±0,55)	-25,13 <sup>B</sup> (±1,71)
Po 2 miesiącach przechowywania	Kiwi mrożone w temp -22°C	5,48 <sup>C</sup> (±1,33)	1,44 <sup>C</sup> (±0,63)	2,21 <sup>C</sup> (±0,49)	73,44 <sup>C</sup> (±1,85)	-10,51 <sup>C</sup> (±0,33)	-31,31 (±2,77)
	Kiwi mrożone w temp -70°C	7,11 <sup>C</sup> (±0,65)	2,17 <sup>C</sup> (±0,71)	2,54 <sup>C</sup> (±0,35)	77,01 (±0,88)	-10,54 <sup>C</sup> (±0,96)	-26,43 <sup>C</sup> (±2,53)
	Kiwi mrożone pomiędzy ogniwami	7,12 <sup>C</sup> (±0,49)	2,16 <sup>C</sup> (±0,71)	2,61 <sup>C</sup> (±0,25)	73,99 <sup>C</sup> (±1,84)	-10,22 <sup>C</sup> (±1,19)	-24,43 <sup>C</sup> (±1,55)

<sup>a)</sup>X+C = suma karotenów i ksantofili

Źródło: Badania własne / Source: The own study

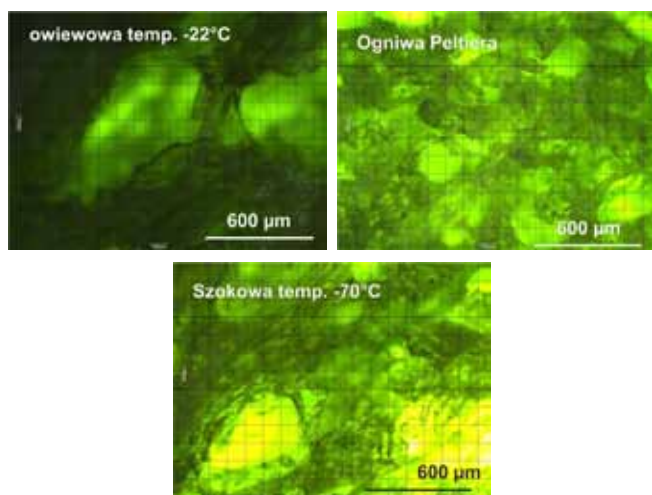
Takie same litery (ABC...) w kolumnach w obrębie poszczególnych grup oznaczają brak różnic statystycznie istotnych ( $p \leq 0,05$ ).

Susze uzyskane z produktów zamrożonych szokowo charakteryzowały się największą zawartością wszystkich analizowanych barwników. Zawierały one o 56% więcej chlorofilu *a* w porównaniu z suszem uzyskanym z surowca zamrożonego sposobem tradycyjnym i o 21% więcej niż produkt mrożony z użyciem ogniw Peltiera. Liofilizaty różniły się również barwą. Najjaśniejsza była próbka uzyskana z surowca mrożonego szokowo ( $L^* = 78,04$ ) natomiast największym udziałem barwy zielonej odznaczały się owoce wstępnie mrożone metodą tradycyjną. Pomimo najintensywniejszej zielonej barwy ( $b^* = -11,58$ ), susz ten charakteryzował się jednak najmniejszym stężeniem chlorofilu. Barwa liofilizatów zależy bowiem nie tylko od koncentracji barwników, a w dużej mierze uzależniona jest od porowatości produktu, a ta z kolei od wielkości kryształów lodu powstałych w pierwszym etapie procesu mrożenia. W produkcie o drobnych porach światło ulega większemu rozproszeniu, przez co produkt wydaje się znacznie jaśniejszy. Na rysunku 3 przedstawiono zdjęcia mikroskopowe liofilizowanego surowca modelowego uzyskanego z próbek zamrażanych różnymi metodami.

W suszu uzyskanym po zamrożeniu owoców z wykorzystaniem ogniw Peltiera widoczne są niewielkie pory będące najprawdopodobniej skutkiem tworzenia się drobnych kryształów lodu w czasie zamrażania. W przypadku suszu uzyskanego z tradycyjnie mrożonego produktu zaobserwowano duże pory będące następstwem wolno narastających dużych kryształów. Jeśli szybkość zamrażania maleje, wielkość

kryształów lodu wzrasta, czego rezultatem są mechaniczne uszkodzenia komórek prowadzące do pogorszenia jakości produktu. Efekt ten, widoczny w przeprowadzonych badaniach własnych, opisują również Rząca i Witrowa-Rajchert [6].

Wielkość powstałych w czasie zamrażania kryształów lodu ma także wpływ na późniejszą teksturę liofilizatów (tab. 2). W pracy wykonano test penetracji trzpieniem igłowym (SMS P/2N). Zmiany struktury wynikające z miejscowego zagęszczenia struktury materiału spowodowanego obecnością dużych kryształów podczas powolnego zamrażania wpłynęły na wzrost pracy zagłębienia próbniaka, a także wzrost siły maksymalnej odnotowanej podczas testu penetracji. Zarówno próbkę mrożoną szokowo jak i między ogniwami Peltiera charakteryzowała o ok. 20% mniejsza praca potrzebna do zagłębienia próbniaka, a także o ok. 20% mniejsza siła maksymalna w stosunku do użytej przy próbce mrożonej owowowo w temp. -22°C.



Rys. 3. Zdjęcia mikroskopowe liofilizowanych owoców kiwi uzyskanych z surowców mrożonych różnymi metodami.

Fig. 3. Microscopic images of freeze-dried kiwi fruit obtained from raw materials frozen with different methods.

Źródło: Badania własne / Source: The own study

Tabela 2. Wyniki badań dotyczące tekstury liofilizatów uzyskanych z zastosowaniem różnych metod wstępnego mrożenia

Table 2. Texture parameters of lyophilized products obtained from kiwi fruit frozen with various methods

		Tekstura	
		Praca [mJ]	Siła max [N]
Bezpośrednio po wysuszeniu	Kiwi mrożone w temp -22°C	83,4 (±13,4)	3,06 <sup>A</sup> (±0,59)
	Kiwi mrożone w temp -70°C	63,1 <sup>A</sup> (±5,5)	2,34 <sup>A</sup> (±0,44)
	Kiwi mrożone pomiędzy ogniwami	66,1 <sup>A</sup> (±6,9)	2,45 <sup>A</sup> (±0,41)
Po miesiącu przechowywania	Kiwi mrożone w temp -22°C	79,9 (±5,5)	2,36 <sup>B</sup> (±0,35)
	Kiwi mrożone w temp -70°C	68,0 <sup>B</sup> (±6,2)	2,14 <sup>B</sup> (±0,33)
	Kiwi mrożone pomiędzy ogniwami	69,0 <sup>B</sup> (±5,4)	2,21 <sup>B</sup> (±0,45)
Po 2 miesiącach przechowywania	Kiwi mrożone w temp -22°C	77,4 <sup>C</sup> (±11,0)	2,45 <sup>C</sup> (±0,57)
	Kiwi mrożone w temp -70°C	67,1 <sup>C</sup> (±4,2)	2,15 <sup>C</sup> (±0,44)
	Kiwi mrożone pomiędzy ogniwami	68,3 <sup>C</sup> (±8,6)	2,15 <sup>C</sup> (±0,39)

Źródło: Badania własne / Source: The own study

Takie same litery (ABC...) w kolumnach w obrębie poszczególnych grup oznaczają brak różnic statystycznie istotnych ( $p \leq 0,05$ ).

W pracy podjęto również próbę określenia wpływu zamrażania na trwałość uzyskanych liofilizatów pod względem zawartości barwników, a także zmiany barwy. Owoce wstępnie mrożone metodą owiewową po miesięcznym przechowywaniu charakteryzowały się zmniejszeniem wartości składowej L\* określającej jasność, dwumiesięczne przechowywanie pogłębiło te zmiany. Zależności takiej nie zaobserwowano w przypadku suszów uzyskanych z produktów mrożonych szokowo. Liofilizowane owoce mrożone sposobem tradycyjnym po dwumiesięcznym przechowywaniu utraciły 30% chlorofilu a, a mrożone szokowo 42% wymienionego składnika. Pomimo to zamrożone szokowo zawierały o ok. 30% więcej tego barwnika w porównaniu do mrożonych owiewowo w temp. -22°C po dwóch miesiącach przechowywania.

### PODSUMOWANIE I WNIOSKI

Najszybszą metodą mrożenia okazało się mrożenie przy pomocy 5A ogniwa Peltiera, niewiele wolniejsze było zamrażanie szokowe. Produkty mrożone tymi metodami charakteryzują się drobniejszymi kryształami lodu wewnątrz i po zliofilizowaniu licznymi porami o mniejszych rozmiarach. Liofilizaty uzyskane z surowca mrożonego powoli, mają większe pory będące pozostałością po większych kryształach lodu. Badania wykazały, że metoda mrożenia poprzedzająca suszenie sublimacyjne determinuje cechy morfologiczne tworzących się kryształów lodu, przez co wpływa na końcowe właściwości suszu takie jak barwa oraz tekstura. Dobierając sposób zamrażania można zatem regulować charakterystykę produktów liofilizowanych. Mrożenie przy użyciu ogniwa Peltiera stanowi interesującą alternatywę w stosunku do metod dotychczas stosowanych.

### LITERATURA

- [1] FIUTAK G., MACURA R., FILIPCZAK-FIUTAK M. 2014. Porównanie możliwości zamrażalniczych ogniwa Peltiera (5A) z zamrażaniem immersyjnym, owiewowym i z użyciem suchego lodu. Chłodnictwo, tom II nr 1, 16-18.
- [2] GRUDA Z., POSTOLSKI J. 1999. Zamrażanie żywności. Wyd. 3. WNT, Warszawa, 216-230.
- [3] LICHTENTHALER H.K., BUSCHMANN C. 2001. Extraction of photosynthetic tissues: Chlorophylls and Carotenoids. Mesurment and characterization by UV-VIS spectroscopy. Current Protocols in Food Anal. Chem., F4.2.1-F4.2.6, F4.3.1-F4.3.8, John Wiley & Sons Inc.
- [4] PAŁACHA Z., KRYSZTIAN J. 2014. Analiza czasu zamrażania wybranych owoców przy zmiennych parametrach procesu zamrażania. Postępy Techniki Przetwórstwa Spożywczego 2, 62-67.
- [5] RUCIŃSKI A. 2013. Materiały termoelektryczne w urządzeniach chłodniczych i generatorach prądu elektrycznego. Chłodnictwo, tom XLVIII nr 10, 14-16.
- [6] RZĄCA M., WITROWA-RAJCHERT D. 2007. Suszenie żywności w niskiej temperaturze. Przemysł Spożywczy 4, 30-35.