

Dr inż. Elżbieta BILLER

Wydział Nauk o Żywieniu Człowieka i Konsumpcji, SGGW w Warszawie

WŁAŚCIWOŚCI PRZECIWUTLENIAJĄCE ZWIĄZKÓW NIEENZYMATYCZNEGO BRĄZOWIENIA®

Celem zaprezentowanej w artykule pracy było zbadanie właściwości przeciwutleniających związków nieenzymatycznego brązowienia tworzących się podczas opiekania mięsa. Przedmiotem badań była opiekana karkówka wieprzowa niemarynowana i marynowana w roztworze kwasu octowego. Badania wykazały, że marynowanie zmienia rodzaj powstających związków nieenzymatycznego brązowienia, czego konsekwencją jest różna zawartość związków wykazujących zdolność do neutralizacji wolnego rodnika DPPH.

Słowa kluczowe: reakcje Maillarda, nieenzymatyczne brązowienie, mięso, karkówka wieprzowa, właściwości przeciwutleniające, DPPH.

przeciwutleniający, dlatego założono, że zdolności przeciwutleniające będą głównie wynikiem obecności związków Maillarda.

WPROWADZENIE

Związki nieenzymatycznego brązowienia są obecne we wszystkich produktach żywnościowych, które były poddane obróbce termicznej. Część z nich jest widoczna w postaci barwnej jako: skórka na pieczywie lub mięsie [2], barwa palonej kawy naturalnej i zbożowej, charakterystyczna barwa piwa. Związki te posiadają barwę od bardzo jasno żółtej do brunatnej, nawet czarnej. Związki w postaci barwnej są końcowymi produktami reakcji zwanych ogólnie reakcjami i związkami Maillarda. Obecność związków barwnych jest wynikiem wielu następujących łańcuchowo reakcji aminokwasów i białek z cukrami (glukozą w produktach zbożowych, laktozą w surowcach mlecznych i rybozą w produktach mięsnych) [9]. Związki barwne są ostatecznym wynikiem łańcucha przemian, a związki stanowiące pośrednie reagenty są niewidoczne (absorbują światło UV). Są one reaktywne i mogą ulegać przemianom w temperaturze pokojowej i w warunkach chłodniczych podczas przechowywania gotowych produktów [14].

Wśród wszystkich związków reakcji Maillarda znajduje się szereg substancji o bardzo różnych właściwościach. Część z nich oprócz charakterystycznej barwy, kształtuje cechy smakowo-zapachowe wszystkich produktów spożywczych. Większość związków lotnych powstających na skutek obróbki termicznej żywności jest konsekwencją reakcji białek z cukrami i pochodnymi tłuszczów [10, 11, 13]. Wśród tych związków znajdują się substancje o właściwościach kancerogennych, takich jak akryloamid w produktach pochodzenia węglowodanowego [4] i aminy aromatyczne [1, 12] lub dioksyny tworzące się w produktach mięsnych. Reakcje Maillarda są przyczyną obniżenia strawności wytwarzanych produktów, a także zmniejszenia ilości aminokwasów ograniczających, zwłaszcza lizyny, na skutek jej reakcji z cukrami. W ostatnich latach, oprócz skutków negatywnych obecności omawianych związków bada się także ich właściwości biologicznie czynne. Część bowiem powstających kompleksów białkowo-cukrowych wykazuje zdolności przeciwutleniające [5, 7, 8].

Celem artykułu jest prezentacja wyników badań dotyczących właściwości przeciwutleniających związków nieenzymatycznego brązowienia tworzących się podczas opiekania mięsa. W mięsie znajduje się niewiele naturalnych

MATERIAŁ I METODY BADAŃ

Materiałem do badań była karkówka wieprzowa o pH 5,77 pochodząca z tuszy trzy dni po uboju. Karkówkę podzielono na trzy porcje. Każdą porcję podzielono na plastry o grubości 1,5 cm. Jedną z porcji (oznaczoną jako 0) poddano opiekaniu bez dodatkowej obróbki w opiekaczu *Philips typ HD4454/A* wewnątrz komory roboczej. Temperatura operacji była kontrolowana czujnikiem elektronicznym i wynosiła $185 \pm 5^\circ\text{C}$. Czas opiekania wynosił 30 minut łącznie po obu stronach. Drugą porcję mięsa zamarynowano w roztworze wody dejonizowanej i kwasu octowego doprowadzając pH do 4 (próba A, pH końcowe 5,52), natomiast trzecią porcję marynowano w roztworze kwasu octowego (pH 4) z dodatkiem 1% (w stosunku do masy marynaty) glukozy (próba B, pH końcowe 5,20). Po 24 godzinach marynowania mięsa w temperaturze chłodniczej (4°C), próby poddano opiekaniu w warunkach podanych powyżej.

1. Przygotowanie próbek do analizy

Otrzymane produkty przygotowano do badań analitycznych w następujący sposób:

1. skalpelem oddzielono opieczoną powierzchnię od pozostałej części obrobionego termicznie plastra; uzyskano sześć prób powierzchni opieczonej i sześć prób plastra;
2. wszystkie dwanaście prób (oddzielnie powierzchnie opieczone i plastry) dokładnie rozdrobnilo;
3. z każdej próby wykonano naważki o masie około 0,7 g w probówkach wirówkowych o pojemności 8 cm^3 ;
4. do naważki dodano 7 ml rozpuszczalnika (wody dejonizowanej lub metanolu);
5. próbki wytrząsano przez 1 godzinę w celu ekstrakcji związków rozpuszczalnych w wodzie i/lub metanolu;
6. próbki odstawiono na 24 godziny do chłodziarki (4°C).
7. Następnego dnia każdą z prób ponownie wstrząsnęto, odwirowano przy liczbie obrotów 5000 obr./min (Centrifuge typ MPW-310 Mechanika Precyzyjna, Poland), a następnie przesączono. Poszczególne próby oznaczono następująco:
 - ekstrakt wodny pochodzący z powierzchni opieczonej/plastra karkówki nie poddanej obróbce 0_W/0'_W,

- ekstrakt metanolowy pochodzący z powierzchni opieczonej/plastra karkówki nie poddanej obróbce 0_M/0'_M,
- ekstrakt wodny pochodzący z powierzchni opieczonej/plastra karkówki marynowanej w roztworze o pH 4 A_W/A'_W,
- ekstrakt metanolowy pochodzący z powierzchni opieczonej/plastra karkówki marynowanej w roztworze o pH 4 A_M/A'_M,
- ekstrakt wodny pochodzący z powierzchni opieczonej/plastra karkówki marynowanej w roztworze o pH 4 z dodatkiem 1% glukozy B_W/B'_W,
- ekstrakt metanolowy pochodzący z powierzchni opieczonej/plastra karkówki marynowanej w roztworze o pH 4 z dodatkiem 1% glukozy B_M/B'_M.

Tak przygotowane roztwory zawierające związki pochodzące z mięsa, poddano ocenie zdolności redukcji wolnego rodnika DPPH.

2. Oznaczenie właściwości przeciwutleniających ekstraktów mięsnych

Oznaczenie właściwości przeciwutleniających wykonano przy użyciu wolnego rodnika DPPH[•] (*2,2-diphenyl-1-picrylhydrazil - Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Germany*) korzystając z metodyki podanej przez Cämmerer i Kroh [3], Zhang i Hamauzu [15] i Molyneux [6] z modyfikacjami.

Z otrzymanych roztworów sporządzono: próby kontrolne (1 cm³ roztworu mięsa i 3 cm³ rozpuszczalnika), próby badane (1 cm³ roztworu mięsa, 2 cm³ rozpuszczalnika, 1 cm³ metanolowego 0,1 mM roztworu DPPH[•]). Absorbancję mierzono przy długości fali 517 nm (*LaboMed, inc. Spectro UV-VIS RS*). Wyniki wyliczono ze wzoru wg Zang i Hamauzu [15]:

$$\text{ilość zredukowanego DPPH [\%]} = \frac{\text{Abs ślepa} - (\text{Abs badania} - \text{Abs kontrola})}{\text{Abs ślepa}} \cdot 100$$

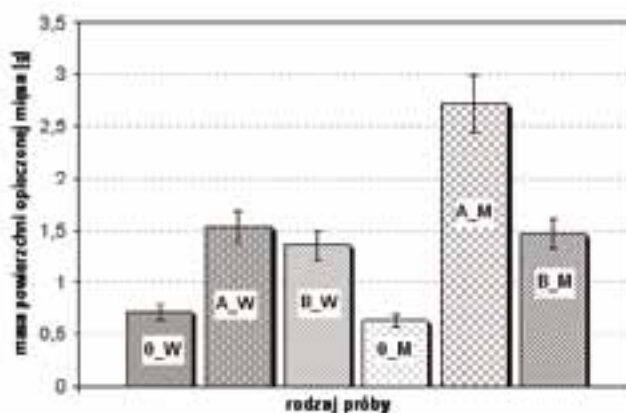
Abs – wartość absorbancji próby ślepej, badanej i kontrolnej

Otrzymany wynik przeliczono na masę powierzchni opieczonej i plastra mięsa, potrzebnych do sporządzenia roztworu (wodnego lub metanolowego) neutralizującego 1 mg wolnego rodnika DPPH[•].

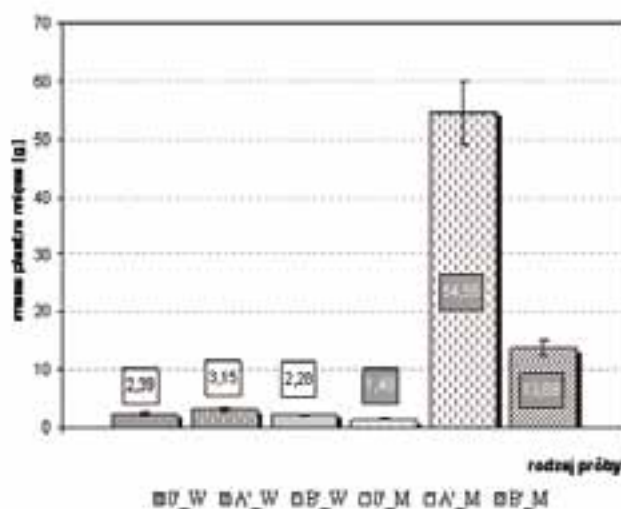
OMÓWIENIE I DYSKUSJA WYNIKÓW

Na rys. 1 przedstawiono masę [g] skórki mięsa, którą należało odważyć w celu uzyskania takiej ilości związków wodo- i metanolorozpuszczalnych, które neutralizowałyby 1 mg wolnego rodnika DPPH[•]. Czym mniejsza masa skórki jest potrzebna do sporządzenia roztworów, tym więcej znajduje się w niej związków o zdolnościach przeciwutleniających. Największe zdolności redukcji wolnego rodnika DPPH[•] wykazywał roztwór sporządzony ze skórki mięsa obrobionego termicznie bez przygotowania wstępnego (próbka 0_W i 0_M). Najmniejsze zdolności przeciwutleniające zanotowano w przypadku ekstraktu skórki wyizolowanej z karkówki, którą marynowano w wodnym roztworze kwasu octowego o pH 4 (próbka A_W i A_M). Dodatek do marynaty o pH 4 1% wagowego glukozy, zwiększał właściwości przeciwutleniające ekstraktu skórki mięsa (próbka B_W i B_M). Na podstawie wyników badań stwierdzono dodatkowo, że

związki rozpuszczalne w metanolu miały mniejsze zdolności przeciwutleniające niż rozpuszczalne w wodzie. Oznacza to, że albo były one mniej „aktywne”, albo było ich mniej niż związków wodorozpuszczalnych. Test t dla próbek niezależnych wykazał, że istotne różnice istniały pomiędzy ilością zneutralizowanego wolnego rodnika DPPH[•] przez ekstrakt skórki mięsa pochodzący z karkówki nie poddanej zabiegom wstępnym i ekstraktami pochodzącymi z pozostałych dwóch próbek. Dotyczyło to zarówno roztworów metanolowych, jak i wodnych.



Rys. 1. Masa [g] wyizolowanej z mięsa skórki, z której sporządzony ekstrakt neutralizuje 1 mg wolnego rodnika DPPH[•]; 0_W - karkówka bez obróbki wstępnej; ekstrakt wodny; A_W - karkówka marynowana w pH 4; ekstrakt wodny; B_W- karkówka marynowana w pH 4 z glukozą; ekstrakt wodny; 0_M - karkówka bez obróbki wstępnej; ekstrakt metanolowy; A_M - karkówka marynowana w pH 4; ekstrakt metanolowy; B_M- karkówka marynowana w pH 4 z glukozą; ekstrakt metanolowy.



Rys. 2. Masa [g] środka mięsa, z którego sporządzony ekstrakt neutralizuje 1 mg wolnego rodnika DPPH[•]; 0'_W - karkówka bez obróbki wstępnej; ekstrakt wodny; A'_W - karkówka marynowana w pH 4; ekstrakt wodny; B'_W- karkówka marynowana w pH 4 z glukozą; ekstrakt wodny; 0'_M - karkówka bez obróbki wstępnej; ekstrakt metanolowy; A'_M - karkówka marynowana w pH 4; ekstrakt metanolowy; B'_M- karkówka marynowana w pH 4 z glukozą; ekstrakt metanolowy.

Zdecydowanie mniejsze zdolności do redukcji wolnego rodnika DPPH \cdot wykazywały ekstrakty pochodzące ze śródkowych warstw mięsa niż z powierzchni (rys. 2). Ponadto stwierdzono, że związki rozpuszczalne w wodzie były zdecydowanie bardziej reaktywne w stosunku do użytego rodnika niż roztwory metanolowe. Zanotowano znaczną różnicę w zdolnościach przeciwutleniających ekstraktów metanolowych pochodzących ze środka mięsa marynowanego w roztworze kwasu octowego bez i z dodatkiem glukozy (próbki A_M i B_M), a próbką opiekana bez wcześniejszej obróbki wstępnej.

Analizując właściwości przeciwutleniające badanych próbek należy porównać aktywność wyciągów pochodzących z mięsa z reaktywnością znanych przeciwutleniaczy, którymi są np. kwas L-askorbinowy i α -tokoferol. W literaturze podaje się, że DPPH \cdot reaguje z obydwojma przeciwutleniaczami w stosunku molowym 2:1 [6]. Przeliczając więc masy molowe wszystkich trzech związków wynika, że 1mg DPPH \cdot jest neutralizowany przez 0,22 mg kwasu L-askorbinowego lub przez 0,55 mg α -tokoferolu. Z przeprowadzonych badań wynika, że ekstrakt pochodzący ze skórki karkówki nie poddanej marynowaniu wykazywał właściwości przeciwutleniające około tysiąc razy mniejsze niż α -tokoferol (rys. 1). Mięso wcześniej marynowane wykazywało zdolności przeciwutleniające przeszło dwa i pół tysiąca razy mniejsze niż α -tokoferol w przypadku roztworów wodnych i przeszło cztery tysiące razy mniejsze (próbka A_M) w przypadku roztworów metanolowych. Natomiast właściwości przeciwutleniające wyciągów pochodzących ze środka mięsa wykazywały właściwości przeciwutleniające około pięć tysięcy razy mniejsze niż α -tokoferol i około 25 oraz 100 tysięcy razy mniejsze (rys. 2) niż α -tokoferol dla roztworów metanolowych pochodzących z próbek marynowanych (odpowiednio dla próby B'_M i A'_M).

WNIOSKI

Na podstawie przeprowadzonych badań można stwierdzić, że marynowanie mięsa wieprzowego przed opiekaniem ma istotny wpływ na rodzaj i właściwości powstających związków. Na skutek marynowania zmienia się pH tkanki, które jest głównym czynnikiem ukierunkowującym reakcje nieenzymatycznego brązowienia. Badania wykazały, że już niewielka zmiana pH tkanki (z 5,77 w karkówce nie poddanej obróbce wstępnej do 5,52 i 5,20 dla mięsa marynowanego w roztworze kwasu octowego odpowiednio bez i z dodatkiem glukozy) powoduje istotne zmiany w rodzaju powstających związków nieenzymatycznego brązowienia. Konsekwencją tego jest różna zawartość związków wykazujących zdolność do neutralizacji wolnego rodnika DPPH \cdot .

LITERATURA

- [1] BORGES E., SOLYAKOV A., SKOG K. 2001. *Effects of precursors composition and water on the formation of heterocyclic amines in meat model systems*. Food Chemistry 74, 11-19.
- [2] BURZŃSKA O., SKIBNIEWSKA K.A., DOWGIALLO A., KUBIAK M.S. 2009. *Urządzenia i techniki grillowania*. Postępy Techniki Przetwórstwa Spożywczego, WSM, Warszawa, 1 107-110.
- [3] CÄMMERER B., KROH L.W. 1995. *Investigation of the contribution of radicals to the mechanism of the early*

stage of the Maillard reaction. Food Chemistry 57, (2), 217-221.

- [4] GÖKMEN V., ŞENYUVA H. Z. 2006. *Study of colour and acrylamide formation in coffee, wheat flour and potato chips during heating*. Food Chemistry 99, 238-243.
- [5] MANZOCCO L., CALLIGARIS S., MASTROCOLA D., NICOLI M. C., LERICI C. R. 2001. *Review of nonenzymatic browning and antioxidant capacity in processed foods*. Food Science and Technology 11, 340-346.
- [6] MOLYNEUX, P.H. 2004. *The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity*. Songklanakarın J. Sci. Technol. 26, (2), 211-219.
- [7] MORALES F. J. 2005. *Assessing the non-specific hydroxyl radical scavenging properties of melanoidins in Fenton-type reaction system*. Analytica Chimica Acta 534, 171-176.
- [8] MORALES F. J., JIMENEZ-PÉREZ S. 1998. *Free radical scavenging capacity of Maillard reaction products as related to colour and fluorescence*. Food Chemistry 72, 119-125.
- [9] MORALES F. J., VAN BOEKEL M. A. J. S. 1998. *A study on advanced Maillard reaction on heated casein/sugar solutions: colour formation*. Int. Dairy Journal 8, 907-915.
- [10] MOTTRAM D.S. 1998. *Flavour formation in meat and meat products: a review*. Food Chemistry 62, (4), 415-424.
- [11] RIUS M. A., HORTOS M., GARCIA-REGUEIRO J. A. 2005. *Influence of volatile compounds on the development of off-flavours in pig back fat samples classified with boar taint by a test panel*. Meat Science 71, 595-602.
- [12] SKOG K. I., JOHANSSON M. A. E., JÄGERSTAD M. I. 1998. *Carcinogenic heterocyclic amines in model systems and cooked foods: a review on formation, occurrence and intake*. Food and Chemical Toxicology 36, 879-896.
- [13] VAN BOEKEL M. A. J. S. 2006. *Formation of flavour compounds in the Maillard reaction*. Biotechnology Advances 24, 230-233.
- [14] WEENEN H. 1998. *Reactive intermediates and carbohydrate fragmentation in Maillard chemistry*. Food Chemistry 62, (4), 393-401.
- [15] ZHANG D., HAMAUZU Y. 2004. *Phenolics, ascorbic acid, carotenoids and antioxidant activity of broccoli and their changes during conventional and microwave cooking*. Food Chemistry 88, 503-509.

PROPERTIES OF ANTIOXIDANT NON-ENZYMATIC BROWNING COMPOUNDS

SUMMARY

The aim of this work was to investigate the properties of antioxidant non-enzymatic browning compounds formed during meat roasting. The purpose of this study was barbecued pork neck did not marinated and marinated in a solution of acetic acid. Studies have shown that marinating, alters the nature formed non-enzymatic browning compounds, which is a consequence of the different compounds that show the ability to neutralize free radical DPPH \cdot .

Key words: Maillard reactions, non-enzymatic browning, meat, pork neck shoulder, antioxidant activity, DPPH \cdot .