

HALINA MAKALA, MICHAŁ OLKIEWICZ

WPLYW BIAŁEK ZAMIENNIKOWYCH NA KSZTAŁTOWANIE MİKROSTRUKTURY FARSZÓW I PRODUKTÓW MIĘSNYCH

Streszczenie

Badano wpływ kazeinianu sodu i białka izolatu sojowego SUPRO 500E na kształtowanie mikrostruktury modelowych farszów i produktów mięsnych, bez i z 3% dodatkiem chlorku sodu. Ocenę mikrostruktury przeprowadzono przy zastosowaniu systemu analizy obrazu mikroskopowego MultiScan 5.01. Stwierdzono, iż 3% dodatek soli wysoko istotnie wpłynął na poprawę dystrybucji tłuszczu w strukturze farszów i produktów w badanych wariantach. Białka mięśniowe wykazywały wysokie zdolności rozpraszania tłuszczu. Kazeinian sodu w obecności soli, miał wysoko istotny wpływ na poprawę dystrybucji tłuszczu w mikrostrukturze farszu i produktu. Białka izolatu sojowego miały podobny wpływ na mikrostrukturę farszu i produktu jak białka mięśniowe.

Wstęp

Analiza mikrostruktury jest źródłem informacji o składzie farszu, zastosowanych zamiennikach lub funkcjonalnych dodatkach. Pozwala ona na ocenę technologii i jakości emulsji, określenie stopnia rozdrobnienia składowych części farszu. W połączeniu z metodami fizykochemicznymi, sensorycznymi i reologicznymi, analiza mikrostruktury daje kompletny i wiarygodny obraz tak kurowanego farszu, jak też gotowego produktu. Analiza mikrostruktury pomimo niejednokrotnie żmudnego przygotowywania próbek do analizy, szczególnie przy obserwacjach w mikroskopie elektronowym, [6] pozwala na uzyskanie szeregu informacji niedostępnych przy zastosowaniu innych metod, a mających znaczenie kluczowe w sterowaniu jakością rozdrobnionych produktów mięsnych [3, 13].

W przemyśle mięsnym stosowane są białka niemięśniowe. Celem stosowania tych białek jest wykorzystanie ich zdolności współdziałania z białkami mięśniowymi

w tworzeniu stabilnego farszu, a następnie gotowego produktu o wysokich walorach jakościowych. Efekt wprowadzenia białka niemięsnego do produktu zależy jest między innymi od rodzaju preparatu, zawartości w nim białka, właściwości funkcjonalnych oraz poziomu dawki i asortymentu produktu, do którego jest wprowadzany. Spośród białek niemięsnych wykorzystywanych w przetwórstwie mięsa na skalę przemysłową praktyczne znaczenie mają izolaty i koncentraty białkowe z soi, kazeinian sodu i plazma krwi. Białka te różnią się swoimi właściwościami i dlatego można oczekiwać, że dodane do farszu mięsnego będą w różny sposób wpływać na jego charakterystykę.

Kazeinian sodu, spośród różnorodnych preparatów pochodnych mleka, pod względem użytkowym jest najbardziej wszechstronny. Kazeinian sodu wykazuje słabe właściwości wiązania wody, natomiast doskonałe właściwości emulgowania tłuszczu. Pod tym względem dorównuje on właściwościom białek mięsa chudego [2, 5, 10]. Białka izolatu sojowego emulgują tłuszcz, wchodzi w interakcje z białkami mięsa, poprawiają ogólną jakość i wydajność gotowego produktu. Niektóre izolaty białek sojowych są jednak wrażliwe na sól, która powoduje ich częściową denaturację i ogranicza pęcznienie. Żel białek sojowych ma zupełnie inne właściwości niż żel białek mięsnych. W farszu mięsnym żele te częściowo na siebie oddziałują. Stwierdzono, iż w farszach zawierających dużo białek mięsnych efekt zastosowania białek sojowych jest niewielki [1, 7, 9, 16].

Celem podjętych badań było określenie wpływu i roli wybranych białek funkcjonalnych: kazeinianu sodu i izolatu sojowego SUPRO 500E w kształtowaniu mikrostruktury modelowych farszów i produktów mięsnych, bez lub z 3% dodatkiem chloru sodu.

Material i metody

Badania przeprowadzono na modelowych kutrowanych farszach i produktach mięsnych, składających się z tkanki mięśniowej, tłuszczowej i wody.

Badane warianty, jako składnik białkowy zawierały albo tylko białka mięsne (kontrolna) albo białka mięsne z dodatkiem wybranych białek funkcjonalnych: kazeinianu sodu (EMHV, duńskiej firmy DMV) lub izolatu sojowego (SUPRO 500E, firmy PTI). W wariantach z dodatkiem białek niemięsnych, 10 % chudego mięsa wymieniano na uwodnione białka niemięsne, w uwodnieniu 1:4 (1 część wagowa preparatu białka niemięsnego i 4 części wagowe wody), przy dwóch poziomach dodatku chloru sodu (0 i 3%). Celem takiego dodatku soli było wyraziste określenie jej wpływu w warunkach „nie ma” (0%) lub „jest dużo” (3%), na kształtowanie mikrostruktury farszów i produktów zawierających różne białka. Zestaw wariantów doświadczalnych i ich oznakowanie przedstawiono w Tabeli 1.

Tabela 1

Oznakowanie wariantów doświadczalnych.
Marking of experimental variants.

Wariant Variant	Skład białkowy farszów Protein composition of stuffings	Poziom dodatku soli Level of salt additive
0-KTR	wariant kontrolny zawierający w składzie białkowym białka mięsniowe,	bez dodatku soli
3-KTR	wariant kontrolny zawierający w składzie białkowym białka mięsniowe,	z 3% dodatkiem soli
0-KAZ	wariant zawierający w składzie białkowym białka mięsniowe z dodatkiem kazeinianu sodu,	bez dodatku soli
3-KAZ	wariant zawierający w składzie białkowym białka mięsniowe z dodatkiem kazeinianu sodu,	z 3% dodatkiem soli
0-IS	wariant zawierający w składzie białkowym białka mięsniowe z dodatkiem białek izolatu sojowego,	bez dodatku soli
3-IS	wariant zawierający w składzie białkowym białka mięsniowe z dodatkiem białek izolatu sojowego,	z 3% dodatkiem soli

Dla oceny struktur modelowych farszów i produktów mięsnych wykonano preparaty histologiczne. Do badań histochemicznych pobierano próbki farszów i produktów z każdego wariantu doświadczalnego, które zamrażano w ciekłym azocie, przenoszono do kriostatu, gdzie po wyrównaniu temperatury do -25°C , ścinano je na $10\ \mu\text{m}$ skrawki. Skrawki nakładano na nabiałczone szkiełka podstawowe i przeprowadzano barwienie histochemiczne. Dla wykazania obecności i dystrybucji tłuszczu w matrycy białkowej przeprowadzano barwienie czerwiecią oleistą [4, 11, 12].

Ocenę mikrostruktury przeprowadzano na preparatach przy zastosowaniu systemu analizy obrazu MultiScan 5.01. Przed przystąpieniem do oceny analizowanych struktur ustalono warunki pomiarów, jednakowe dla wszystkich analizowanych preparatów. Dla każdego badanego preparatu kontrastowano obraz, przeprowadzano filtrację, zadawano warunki analizy (wyszukiwania obiektów) i zbierano dane liczbowe, charakteryzujące analizowany obraz [13, 14, 15].

W każdym preparacie analizowano 10 pól o stałej, określonej powierzchni, przy powiększeniu mikroskopu (10×10). Określano następujące parametry: liczbę pól tłuszczowych, gęstość, jako ilość obiektów tłuszczowych przypadających na $1\ \mu\text{m}^2$, powierzchnię minimalnych i maksymalnych pól tłuszczowych, powierzchnię najczęściej występującego pola tłuszczowego, medianę powierzchni pól tłuszczowych. Następnie obliczano procentowy udział w ogólnej liczbie pól tłuszczowych frakcji o wielkości

powierzchni w zakresach: 0–10 μm^2 , 11–50 μm^2 , 51–150 μm^2 oraz > 150 μm^2 , celem zróżnicowania występujących układów rozproszenia tłuszczu w matrycy białkowej farszu i produktu drobnorozdrobnionego.

Uzyskane wyniki poddano jednoczynnikowej analizie wariancji przy wykorzystaniu programu statystycznego STATGRAPHICS 6.1.

Wyniki i dyskusja

Mikrostrukturę farszów i produktów mięsnych charakteryzowano ilościowo za pomocą komputerowej analizy obrazów mikroskopowych ze wszystkich wariantów kompozycyjnych a uzyskane dane zestawiono w tabeli 2 oraz na rysunkach 1, 2 i 3.

Charakterystyka farszów

Wpływ badanych preparatów białkowych jak i chlorku sodu wprowadzonych do układu mięsnego na badane wyróżniki mikrostruktury jak m.in. liczba pól tłuszczowych i rozkład wielkości powierzchni pól tłuszczowych, przedstawiono w tabeli 2 i na rysunku 1.

Najsilniejsze właściwości rozpraszania tłuszczu w matrycy białkowej farszów mięsnych bez dodatku soli cechowały farsz kontrolny, zawierający wyłącznie białka mięśniowe. Podobną charakterystykę miał farsz zawierający dodatek białek izolatu sojowego. Najślabszą zaś zdolność rozpraszania tłuszczu w matrycy białkowej bez obecności soli cechował farsz zawierający dodatek kazeinianu sodu. Dodatek kazeinianu sodu wpłynął istotnie negatywnie na strukturę farszu bez soli. Commer i Allan-Wojtas [3] doszli również do podobnych wniosków.

3% dodatek soli wysoko istotnie poprawił rozproszenie tłuszczu w badanych układach doświadczalnych, potwierdzony bardzo wysoko istotnym wzrostem liczby pól tłuszczowych w stosunku do wariantów nie zawierających chlorku sodu. Wzrost ten był zróżnicowany i zależał od wariantu białkowego. Najsilniejsze działanie soli zaobserwowano w farszach zawierających kazeinian sodu, w których dodatek 3% chlorku sodu spowodował ponad 20-krotny wzrost liczby pól tłuszczowych w stosunku do farszu bez soli. W farszu kontrolnym oraz farszu z dodatkiem białek izolatu sojowego 3% dodatek soli spowodował ponad 7-krotny wzrost liczby pól tłuszczowych w stosunku do wariantów nie zawierających soli. Uwidocznili się w ten sposób oczekiwany wysokoistotny wpływ soli oraz kazeinianu sodu, charakteryzującego się doskonałymi właściwościami emulgowania tłuszczu w obecności chlorku sodu, potwierdzony badaniami prowadzonymi przez Hendrickxa [8].

Tabela 2

Analiza wariacji wyróżników mikrostruktury farszów i produktów.
Variance analysis of discriminants of microstructure of stuffings and products.

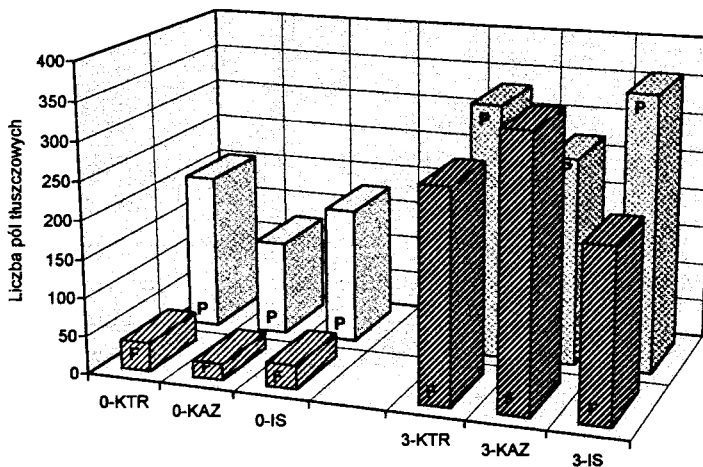
Wyróżnik / Discriminant	Farsze / Stuffings						Produkty / Products					
	Bez dodatku soli			3% dodatku soli			bez dodatku soli			3% dodatku soli		
	0-KTR	0-KAZ	0-IS	3-KTR	3-KAZ	3-IS	KTR	KAZ	IS	KTR	KAZ	IS
Warianty doświadczalne												
Liczba pól tłuszczowych	38 a	21 a	31 a	275 c	349 d	222 b	203 b	123 a	197 b	330 cd	269 c	371 e
Gęstość pól tłuszczowych (x 10 ⁻⁴)	6.04 a	3.29 a	4.84 a	43.61 c	57.27 d	35.25 b	32.12 ab	19.54 a	31.19 ab	52.19 c	42.63 bc	58.82 d
Powierzchnia pola tłuszczowego	13.24 a	16.99 b	12.80 a	12.16 a	14.21 a	16.25 b	15.73 abc	15.95 abc	11.20 a	13.43 ab	16.80 bc	17.18 bc
Najmniejsze pole tłuszczowe	6.01 d	2.88 ab	2.73 ab	5.12 cd	2.00 a	2.31 a	5.49 bc	5.64 bc	4.23 a	4.53 ab	5.05 ab	5.72 c
Największe pole tłuszczowe	5457 ab	4796 ab	6206 b	2631 a	12359 d	9762 c	27957 c	6383 a	12743 ab	11483 ab	1688 b	1626 b
Najczęściej występujące pole tuszczowe	6.53 ab	9.18 bc	7.27 ab	6.66 ab	4.45 a	7.64 ab	7.12 abc	6.16 ab	5.56 a	5.93 a	6.83 ab	7.49 abc
% udział pól o powierzchni 0-10 μm^2	44 d	29 abc	35 bcd	40 cd	37 bcd	29 abc	30 ab	30 ab	43 c	44 c	29 ab	22 a
% udział pól o powierzchni 11-50 μm^2	37 ab	46 bc	46 bc	46 bc	47.5 bc	50 c	52 cd	51 cd	37 a	40 ab	47 bc	54 d
% udział pól o powierzchni 50-150 μm^2	5 ab	10 cde	4 a	9 bcd	10 cde	12 de	10 ab	9 a	9 a	9 a	13 c	12 bc
% udział pól o powierzchni >150 μm^2	14 bc	15 c	15 c	5 ab	4.5 a	9 bc	8 ab	10 abc	11 abc	7 ab	11 abc	12 bc

Wartości w wierszach oznaczone różnymi literami różnią się istotnie przy $P \leq 0.05$ pomiędzy wszystkimi wariantami doświadczalnymi farszów lub produktów.

Rozkład wielkości powierzchni pól tłuszczowych w farszach przedstawiono na rysunku 2. W strukturze farszów tak bez i z 3% dodatkiem dodatku soli dominował udział pierwszej i drugiej frakcji, o wielkości pól tłuszczowych od 0 do $50 \mu\text{m}^2$. 3% dodatek soli do farszów spowodował niewielki wzrost udziału frakcji najdrobniejszych w ogólnej liczbie pól tłuszczowych, średnio od 2 do 8 %. Udział frakcji pól tłuszczowych o wielkości $> 51 \mu\text{m}^2$ stanowił do 20% w ogólnej liczbie pól tłuszczowych i nie zależał od obecności soli. Na podstawie uzyskanych wyników można stwierdzić, iż 3% dodatek soli wpłynął na istotne, przeciętne około 2–4 krotne obniżenie frakcji zawierającej pola tłuszczowe o powierzchni $> 150 \mu\text{m}^2$ natomiast zróżnicowany skład białkowy badanych farszów nie miał większego wpływu na kształtowanie wielkości powierzchni pól tłuszczowych.

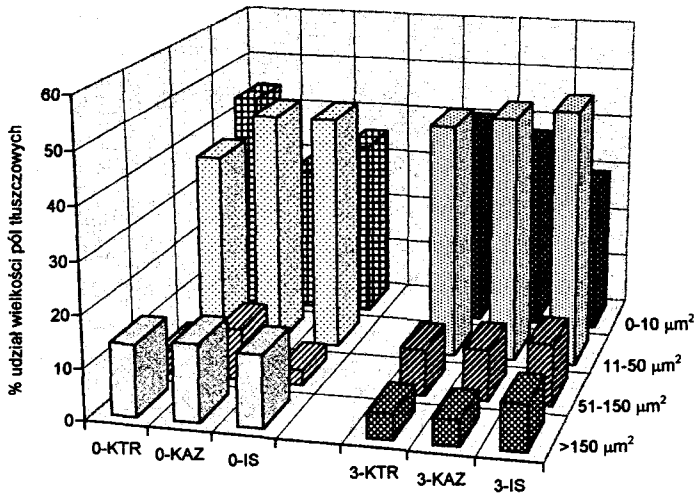
Charakterystyka produktów

Ilość pól tłuszczowych w badanych modelowych produktach mięsnych, podobnie jak w farszach, uległa pod wpływem 3% dodatku chlorku sodu istotnemu wzrostowi (tabela 2 oraz rysunek 1). Obróbka termiczna farszów nie spowodowała zmiany kierunku zależności kształtowania liczby pól tłuszczowych wywołanych obecnością różnych białek w składzie surowcowym. Podobnie jak w farszach bez dodatku chlorku sodu również produkt kontrolny oraz produkt zawierający izolat sojowy nie różniły się istotnie liczbą pól tłuszczowych, natomiast produkt zawierający dodatek kazeinianu sodu charakteryzował się najmniejszą liczbą pól tłuszczowych.



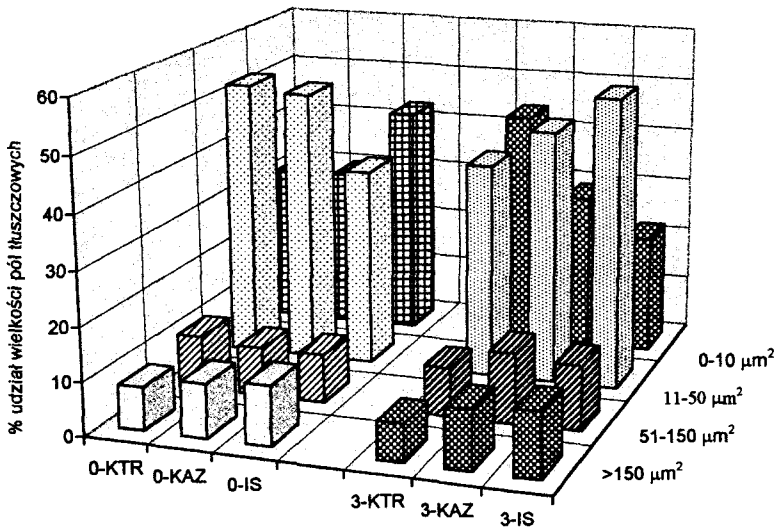
Rys. 1. Mikrostruktura farszów (F) i produktów (P).

Fig. 1. Microstructure of stuffings (F) and products (P).



Rys. 2. Rozkład wielkości pól tłuszczowych w farszach.

Fig. 2. Distribution of the size of fat fields in stuffings.



Rys. 3. Rozkład wielkości pól tłuszczowych w produktach.

Fig. 3. Distribution of the size of fat fields in products.

W strukturze produktu z izolatem sojowym z dodatkiem soli stwierdzono najwyższą ilość pól tłuszczowych, która istotnie różniła się od pozostałych wariantów. Ponieważ białka izolatu sojowego mają zdolność emulgowania tłuszczu niezależnie od stę-

żenia soli, na poziomie około 150–180 g oleju/g białka dla pH = 6,5 [8], uzyskanych wyników analizy mikrostruktury tak farszu jak i produktu silnie rozdrobnionego nie należy zatem tłumaczyć jedynie wpływem soli, lecz raczej wzmocnieniem układu białek mięśniowych w tworzeniu struktury. Białka sojowe charakteryzują się zbliżonym do aktywności mięsa ciężarem cząsteczkowym [7] i stąd też napotyka się na pewne trudności podczas identyfikacji białek sojowych typowymi metodami histologicznymi i nie do końca poznana jest ich rola i miejsce w matrycy białkowej farszu.

Liczba pól tłuszczowych w produktach uległa istotnemu zwiększeniu w porównaniu do liczby pól tłuszczowych w farszach, tak bez jak i z dodatkiem soli. Szczególnie wysoko istotne różnice uwidoczniły się we wzroście liczebności pól tłuszczowych po obróbce termicznej w wariantach bez dodatku soli, gdzie stwierdzono około 5–6-krotny wzrost liczby pól tłuszczowych. Wzrost stopnia rozproszenia tłuszczu w strukturze w wariantach zawierających dodatek soli pod wpływem obróbki termicznej był znacznie słabszy.

Rozkład wielkości powierzchni pól tłuszczowych w modelowych produktach przedstawiono w tabeli 2 oraz na rysunku 3.

Podobnie jak dla w farszach w strukturze produktów tak bez jak i z 3% dodatkiem soli dominował udział pierwszej i drugiej frakcji, o wielkości pól tłuszczowych do $50 \mu\text{m}^2$. 3% dodatek soli do produktów generalnie nie wywoływał istotnych różnic w porównaniu z wariantami bez dodatku soli. W różnych wariantach wystąpiły jednak pewne zróżnicowania pod wpływem dodatku soli. Przykładowo w wariantcie kontrolnym nastąpiło przesunięcie w kierunku większego udziału frakcji zawierającej najmniejsze pola tłuszczowe i wariant ten był jedyny, w którym udział pól tłuszczowych o najmniejszej powierzchni był największy. Udział frakcji o powierzchni pól tłuszczowych $> 51 \mu\text{m}^2$ był stosunkowo niewielki i nie przekraczał 25%.

Obróbka termiczna nie spowodowała w wariantach bez dodatku soli istotnych zmian w udziale najdrobniejszej frakcji pól tłuszczowych, za wyjątkiem wariantu kontrolnego. Udział pól tłuszczowych o powierzchni $0\text{--}10 \mu\text{m}^2$ w farszu kontrolnym bez soli był istotnie wyższy niż dla produktu kontrolnego. W grupie wariantów zawierających 3% soli nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic w rozkładzie pól tłuszczowych między farszem a produktem.

Wyniki komputerowej analizy obrazu mikroskopowego badanego materiału stanowiły szczególne odzwierciedlenie roli wybranych białek funkcjonalnych i soli w tworzeniu struktury silnie rozdrobnionego farszu. Po dodaniu soli, na skutek zwiększenia uwodnienia układu białkowego, wzrostu rozpuszczalności białek i tworzenia trwałego żelu białkowego, stopień rozproszenia cząstek tłuszczu w matrycy białkowej wzrastał bardzo silnie. Obserwowano, od ponad 5-krotnego do blisko 20-krotnego, wzrost liczby pól tłuszczowych i zarazem ich gęstości. Dalszy wzrost następował w trakcie obróbki cieplnej. Wtórne rozpraszanie tłuszczu było mniej widoczne przy po-

równywaniu liczby pól tłuszczowych tylko w produkcie bez soli i z solą, ponieważ dodatek soli działał tak silnie rozpraszająco na cząstki tłuszczu już w farszu, że w trakcie obróbki termicznej solonych farszów, wzrost liczby pól tłuszczowych nie był już tak zdecydowany.

Wnioski

- Dodatek soli do farszów wysoko istotnie wpłynął na dystrybucję tłuszczu w strukturze modelowych farszów i produktów.
- Białka mięśniowe pełniły najistotniejszą rolę w tworzeniu i kształtowaniu struktury farszu i produktu silnie rozdrobnionego. Zarówno przy braku jak i przy dodatku soli do środowiska, białka mięśniowe wykazywały wysokie zdolności rozpraszania tłuszczu.
- Kazeinian sodu potwierdził rolę dobrego emulgatora, wywierając szczególnie w obecności soli, wysoko istotny wpływ na poprawę dystrybucji tłuszczu w mikrostrukturze farszu i produktu.
- Białka izolatu sojowego były pod względem wpływu na mikrostrukturę farszu jak i produktu bardzo podobne do białek mięśniowych.

LITERATURA

- [1] Ambrosias I.: Brühwurst. Die Wirkung von texturiertem Sojaiweiß auf technologische und sensorische Eigenschaften. *Fleischwirtschaft*, **73**, 10, 1993, 1128.
- [2] Commer F.W.: Functionality of fillers in comminuted meat products. *Can. Inst. Food Sci. J.* 1979, **12**, 157
- [3] Commer F.W., Allan-Wojtas P.: Functional and microstructural effects of fillers in comminuted meat products. *Food Microstructure*, **7**, 1988, 25.
- [4] Dubowitz V., Brooke M.V., Narville H.V.: *Muscle biopsy: Modern Approach* E.B. Saunders Company Ltd. London, Philadelphia, Toronto. 1973.
- [5] Duda Z.: Dodatki do żywności pochodzenia zwierzęcego. *Przem. Spoż.*, **47**, 5, 1993, 135.
- [6] Fornal J.: Aktualny stan metod badawczych w dziedzinie mikroskopii elektronowej. [w]: *Postęp w analizie żywności - pod red. S. Tyszkiewicza*, **t. 2**, 1990, 147.
- [7] Heckmann T., Neumann B., Tschirdewahn B., Bentler W.: Sojaprotein. *Nachweis in Rohwurst und Brühwurst. Fleischwirtsch*, **72**, 10, 1992, 1426.
- [8] Hendrickx A.: Funktioneller Zusatzstoff aus Weizenprotein. *Fleischerei*, **11**, 1992, 1036.
- [9] Hoogenkamp H.W.: Variable in Fleischemulsionen. Einfluß bestimmter Zutaten auf Technologie und Produktqualität. *Fleischwirtschaft*, **74**, 11, 1994, 1146.
- [10] Jahn G.: Aufgeschlossenes Milcheiweiß in Vergleich mit pflanzischen Protein. *Fleischerei*, **10**, 1992, 961.
- [11] Kłosowska D.: Histologiczne metody badania żywności. [w]: *Postęp w analizie żywności – pod red. S. Tyszkiewicza*, **t. 2**, 1990, 112.
- [12] Knoche H.: *Leitfaden der histologischen Technik*. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart-New York. 1979, 80.

- [13] Makąła H., Kłosowska D.: Zastosowanie systemu mikroskopowej analizy obrazu do oceny farszów mięsnych. *Mat. Semin ART Olsztyn*, 1994, 61.
- [14] Makąła H.: Komputerowa analiza obrazu w technologii żywności ze szczególnym uwzględnieniem technologii mięsa. *Gosp. Mięsna*, **47**, 9, 1995, 24.
- [15] Makąła H.: Komputerowa analiza obrazu w ocenie surowców i gotowej żywności. *Przemysł Spożywczy*, **49**, 5, 1995, 158.
- [16] Pedersen H.E.: Anwendung von Sojakonzentraten in der Fleischindustrie. Erfahrungen aus verschiedenen Ländern. *Fleischwirtschaft*, **75**, 6, 1995, 783.

MICROSTRUCTURE OF MEAT STUFFINGS AND PRODUCTS AS AFFECTED BY THE SELECTED FUNCTIONAL PROTEINS

S u m m a r y

Effect of the sodium caseinate and soya protein isolate SUPRO 500E on microstructure of model stuffings and meat products was studied, without the salt additive and with 3% salt additive. The evaluation of microstructure was conducted on stained preparations, with the application of image analysis - MultiScan v 5.05. The addition of salt affected very significantly the distribution of fat in the structure of the examined stuffings and products. Muscular proteins played the most significant role in formation of the microstructure of stuffing and highly comminuted product. Addition of sodium caseinate in presence of salt had a highly significant effect on the improvement of fat distribution. Influence of soya proteins isolate was similar to muscular proteins in respect of their effect on microstructure of stuffing and of the product. ❖