







WPŁYW NIEKONWENCJONALNYCH METOD OBRÓBK WSTĘPNEJ ORAZ WYBRANYCH KRIOPROTEKTANTÓW NA JAKOŚCI ZAMRAŻANEJ MARCHWI

Jakub Adam Czyżewski  , Artur Wiktor ,
Joanna Żubernik , Joanna Cichowska ,
Dorota Witrowa-Rajchert 






SGGW w Warszawie, Wydział Nauk o Żywności

Streszczenie: Celem pracy było zbadanie możliwości zastosowania nasycania próżniowego roztworem krioprotektantów (glicerolu, trehalozy lub chlorku wapnia) oraz obróbki wstępnej, z użyciem ultradźwięków i pulsacyjnego pola elektrycznego, do poprawy jakości marchwi mrożonej. Materiał do badań stanowiła marchew odmiany Baltimore. Obróbka wstępna marchwi obejmowała moczenie (15 minut), nasycanie roztworem krioprotektanta przy ciśnieniu około 60 kPa (5 minut), sonikację (10 minut, $f = 21$ kHz; $P = 180$ W) oraz krótkotrwałe działanie pulsacyjnego pola elektrycznego (10 impulsów o $E = 5$ kV·cm⁻¹, $f = 0,5$ Hz). Wykazano, że efekt kriochronny tkanki marchwi zależy od rodzaju zastosowanego krioprotektanta oraz metody obróbki wstępnej surowca. Zastosowanie glicerolu jako krioprotektanta w próbce moczonej przyczyniło się do największej redukcji całkowitego czasu zamrażania (o 35,2%), w przypadku wykorzystania obróbki kombinowanej natomiast pozwoliło na skrócenie czasu właściwego zamrażania o 57,9%. Zastosowanie niekonwencjonalnych procesów (sonikacja i pulsacyjne pole elektryczne) przed nasycaniem próżniowym oraz roztworu CaCl₂ doprowadziło do zwiększenia siły potrzebnej do zgniecenia próbki, oraz zmniejszenia ubytku masy po rozmrożeniu.

Słowa kluczowe: zamrażanie, krioprotektanty, PEF, ultradźwięki, nasycanie

WSTĘP

Zamrażanie jest jedną z najczęściej stosowanych metod utrwalania żywności. Długotrwałe przechowywanie surowców i produktów żywnościowych w stanie zamrożonym, zwłaszcza w stabilnej temperaturze, zapobiega wielu niekorzystnym zmianom i pozwala

Jakub Adam Czyżewski  <https://orcid.org/000-0003-3789-8902>; Artur Wiktor  <https://orcid.org/0000-0003-4058-6010>; Joanna Żubernik  <https://orcid.org/0000-0001-9545-5726>; Joanna Cichowska  <https://orcid.org/0000-0002-9084-5730>; Dorota Witrowa-Rajchert  <https://orcid.org/0000-0002-0937-3204>

 jakub_czyzewski@sggw.pl;

© Copyright by Wydawnictwo SGGW

na znaczne wydłużenie okresu zachowania dobrej jakości [Postolski i Gruda 1985, Mostowski i in. 2015, Wiktor i in. 2015b]. Poza wieloma niekwestowanymi zaletami, zamrażanie i zamrażalnicze przechowywanie obarczone jest kilkoma istotnymi wadami, które na ogół związane są z uszkodzeniem struktur tkankowych, a nawet uszkodzeniem struktur komórkowych, co skutkuje pogorszeniem właściwości teksturalnych oraz niektórych cech sensorycznych [Malinowska-Pańczyk i Kołodziejska 2010, Góral i in. 2013, Mostowski i in. 2015]. Jest to również proces odznaczający się znaczną energochłonnością, związaną z koniecznością stałego i długotrwałego utrzymywania ujemnej temperatury, najlepiej poniżej -18°C , w stosunku do przechowywania chłodniczego, a co za tym idzie wysokimi kosztami [Wiktor i in. 2015a].

W celu zachowania produktu po rozmrożeniu o charakterystyce jak najbardziej zbliżonej do cechującej ten produkt przed zamrożeniem oraz redukcji zużycia energii zasadne jest wprowadzenie do surowca substancji kriochronnych zwanych krioprotektantami, których zastosowanie przyczynia się do poprawy efektywności ochrony naturalnych właściwości mrozonek przed niekorzystnymi zmianami.

Do najczęściej wykorzystywanych krioprotektantów należą m.in. chlorek wapnia, glicerol oraz trehaloza. W pierwszym z wymienionych wyżej związków jony wapnia dodane do materiałów biologicznych tworzą chelaty (związki kompleksowe) poprzez konstrukcję połączeń pomostowych pomiędzy grupami karboksylowymi kwasu D-galakturonowego sąsiednich łańcuchów poliuronidowych [Lentas i Witrowa-Rajchert 2008, Kirtil i in. 2014]. Powstająca dzięki temu ujednoczona i zwarta struktura cechuje się zwiększoną odpornością na niszczące czynniki. Glicerol należy do grupy polihydroksyalcoholi. Ma zdolność przenikania przez błonę komórkową do wnętrza komórki [Kryszczuk 2002]. Stereochemiczna orientacja grup hydrofilowych tego związku sprzyja interakcji z grupami wodorowymi, tworząc silne wiązania wodorowe z większą liczbą cząsteczek wody i sprzyja zagęszczeniu tworzących się kompleksów na granicy plazmolemy [Mikuła i Rybczyński 2006]. Działania te ograniczają możliwości formowania się kryształów w czasie zamrażania i zwiększa postęp frontu lodowego w całej objętości materiału. Niszczące zmiany w wyniku przemiany fazowej są mniejsze, a właściwości teksturalne – zachowane w większym stopniu. Trehaloza naturalnie występuje w wielu roślinach, chroniąc je przed niekorzystnym wpływem niskich temperatur. Mechanizm jej działania polega na utrzymaniu i stabilizacji struktury membran i białek, dzięki utrzymaniu hydrofilowego oddziaływania za pomocą grup hydroksylowych. Dodatkowo trehaloza bierze czynny udział w procesie wiotryfikacji, zapobiegając formowaniu się lodu w cytoplazmie [Mikuła i Rybczyński 2006].

Obecnie obserwuje się zainteresowanie badaczy niekonwencjonalnymi, nietermicznymi technikami, np. ultradźwiękami i pulsacyjnym polem elektrycznym, wykorzystywanymi jako zabiegi wstępne przed główną operacją technologiczną. Obie techniki przyczyniają się do przyspieszenia procesów wymiany masy i/lub ciepła [Raso i in. 2016, Tao i in. 2016]. Aplikacja pulsacyjnego pola elektrycznego umożliwia m.in. intensyfikację procesu odwadniania osmotycznego [Tylewicz i in. 2017], zwiększenie wydajności ekstrakcji oliwy oraz soku z owoców cytrusowych, (podnosząc jego wartość) [Andreou i in. 2017, El Kantar i in. 2017], przyspieszenie procesu zamrażania [Wiktor i in. 2015a, b]. Dzięki poprawie warunków wymiany masy, obróbka ultradźwiękowa zastosowana przed suszeniem pozwala na redukcję jego czasu oraz poprawę jakości suszu [Wang i in.

2018]. Ultradźwięki pozwalają na otrzymanie obiecujących wyników również w kombinacji z innymi metodami [Dias da Silva i in. 2016], w niektórych przypadkach wykazując efekt synergistyczny [Huang i in. 2017]. Ultradźwięki mogą być również wykorzystane przy zagospodarowywaniu odpadów przemysłu spożywczego [Tao i in. 2016].

Celem pracy było zbadanie możliwości zastosowania nasycania próżniowego roztworem krioprotektantów (glicerolu, trehalozy lub chlorku wapnia) oraz obróbki wstępnej, z użyciem ultradźwięków i pulsacyjnego pola elektrycznego, do poprawy jakości marchwi mrożonej.

MATERIAŁ I METODY

Materiał do badań stanowiła marchew odmiany Baltimore. Korzeń marchwi starannie umyto, a następnie rozdrobniono na próbki w postaci plastrów ($d = 10$ mm, $h = 10$ mm), starając się, aby próbka była pobierana z podobnego miejsca korzenia. Do przygotowania roztworów wodnych krioprotektantów wykorzystano bezwodny glicerol (Gliceryna bezwodna CZ, Avantor Performace Poland), bezwodną trehalozę (Trehala 16400, Cargill Deutschland GmbH) oraz sześciowodny chlorek wapnia ($\text{CaCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$), (Wapnia chlorek 6. hydrat CZ, Avantor Performace Poland). Stężenie każdego z nich wyniosło 20%.

W ramach operacji wstępnych stosowano moczenie próbek (MOC) w roztworze krioprotektanta, nasycanie w obniżonym ciśnieniu roztworem krioprotektanta (VI) oraz metodę kombinowaną, polegającą na kolejnym oddziaływaniu na poszczególne próbki marchwi: ultradźwięków, pulsacyjnego pola elektrycznego, nasycania próżniowego (US + PEF + VI). Wszystkie procesy obróbki wstępnej wykonano w temperaturze pokojowej ($20 \pm 1^\circ\text{C}$).

Moczenie (MOC) wcześniej zważonych próbek (8 plastrów o łącznej masie 15,66 g i średniej masie jednego plastra równej $1,96 \pm 0,09$ g, $16,13$ g i $2,02 \pm 0,17$ g oraz $16,71$ g i $2,09 \pm 0,1$ g w doświadczeniach z użyciem roztworów odpowiednio CaCl_2 , glicerolu oraz trehalozy) prowadzono przez zanurzenie ich w 45 ml roztworu poszczególnych krioprotektantów, na okres 15 minut.

Nasycanie próżniowe (VI) prowadzono w hermetycznej komorze połączonej z membranową pompą próżniową (Mini Laboratory Pump – VP 86, Francja). Ciśnienie w komorze obniżano do około 60 kPa. Badane próbki marchwi zważono (8 plastrów o łącznej masie 15,18 g i średniej masie jednego plastra równej $1,9 \pm 0,14$ g, $16,53$ g i $2,07 \pm 0,1$ g oraz $14,95$ g i $1,87 \pm 0,09$ g w doświadczeniach z użyciem roztworów odpowiednio CaCl_2 , glicerolu i trehalozy), umieszczono w zlewce, zalano 45 ml roztworu krioprotektanta (gliceryny, trehalozy lub CaCl_2), a następnie niezwłocznie umieszczono w komorze próżniowej, zredukowano w niej ciśnienie i w ten sposób inicjowano proces nasycania. Całkowity czas trwania procesu wynosił 5 minut. Na tę wartość złożyły się dwa identyczne cykle. Każdy z nich składał się z czasu obniżania ciśnienia do wartości zadanej (1 minuta i 20 sekund), okresu stałego, obniżonego ciśnienia (1 minuta) oraz wyrównania ciśnienia w komorze do ciśnienia atmosferycznego (napowietrzania) (10 sekund).

Sonikację (US) próbek marchwi o znanej masie (8 plastrów o łącznej masie 15,51 g i średniej masie jednego plastra równej $1,94 \pm 0,12$ g, $15,34$ g i $1,92 \pm 0,09$ g oraz $15,91$ g i $1,99 \pm 0,13$ g w doświadczeniach z użyciem roztworów odpowiednio CaCl_2 , glicero-

lu i trehalozy) wykonano metodą immersyjną przez zanurzenie ich w 45 ml roztworu krioprotektanta, na okres 10 minut, w którym aplikowano ultradźwięki. Fale dźwiękowe o częstotliwości 21 kHz i mocy 180 W generowane były przez urządzenie MKD-3 (MKD Ultrasonic, Stary Konik, Polska).

Obróbkę próbek marchwi pulsacyjnym polem elektrycznym (PEF) przeprowadzono przy użyciu prototypowego reaktora impulsowego (ERTEC, Wrocław) o maksymalnym napięciu roboczym 30 kV i pojemności elektrycznej kondensatorów 0,25 μF . Zważone próbki umieszczano we wnętrzu celki obróbki elektrycznej, zalewano ok. 45 ml roztworu krioprotektanta. Urządzenie aplikowało 10 impulsów o wykładniczej charakterystyce sygnału przy natężeniu pola elektrycznego $E = 5 \text{ kV}\cdot\text{cm}^{-1}$ i częstotliwości 0,5 Hz.

W ostatnim etapie metody kombinowanej (US + PEF + VI) prowadzono opisany powyżej proces nasycania próżniowego.

Po zakończeniu każdej z powyższych operacji poszczególne próbki marchwi umieszczano na sicie w celu oddzielenia roztworu krioprotektanta, a następnie przenoszono na bibułę filtracyjną, osuszano i zważono na wadze technicznej (WLC 0,6/B1, RADWAG, Radom, Polska) z dokładnością do 0,01 g.

Proces zamrażania prowadzono w zamrażarce owiewowej Irinox Shock Freezer HCM 51.20 (Irinox, Treviso, Włochy) w temperaturze około -32°C . W urządzeniu umieszczano 4 rodzaje próbek, po 8 plastrów z każdego wariantu obróbki wstępnej. Temperaturę w centrach termicznych zamrażanych próbek monitorowano co 10 sekund, wykorzystując termopary typu K, charakteryzujące się zakresem pomiarowym od -200 do 1200°C . Termopary sprzężone były z rejestratorem danych, który połączony był z komputerem wyposażonym w oprogramowanie Rejestrator. Czas schładzania określono jako czas od inicjacji procesu do uzyskania przez próbkę w jej centrum termicznym temperatury 0°C , czas zamrażania właściwego – od momentu osiągnięcia przez próbkę 0°C do chwili uzyskania przez nią -4°C i czas domrażania – od -4°C do -18°C . Zakres temperatur zmrażania właściwego przyjęto na podstawie literatury [Pijanowski i in. 2004, Kamińska i Lewicki 2006] oraz założeń Postolskiego i Grudy [1985] (za propozycją Rjutowa), według których do temperatury -4°C następuje wymrożenie 73% ogólnej ilości wody w większości produktów spożywczych.

Rozmrażanie próbek bezpośrednio po zamrożeniu prowadzono w temperaturze pokojowej ($20 \pm 1^\circ\text{C}$) w powietrzu, monitorując temperaturę w środkach termicznych próbek przy użyciu tego samego zestawu pomiarowego jak w przypadku zamrażania. Proces rozmrażania i ocieplania rozmrożonych próbek prowadzono do chwili osiągnięcia przez nie temperatury 10°C .

Ubytek masy określano poprzez pomiary masy, którą rejestrowano przed zamrażaniem i po rozmrożeniu na wadze (WLC 0,6/B1 RADWAG, Radom, Polska). Rozmrożone próbki umieszczano na 30 sekund na bibule filtracyjnej w celu osuszenia, a następnie ważono z dokładnością do 0,01 g. Zmiany masy wyrażono w postaci względnego ubytku masy (U/U_0), który określano jako iloraz różnicy masy próbki przed zamrożeniem i po rozmrożeniu otrzymanej w pojedynczym doświadczeniu do wartości średniej arytmetycznej ze wszystkich powtórzeń analiz próby kontrolnej (niepoddanej żadnej obróbce). Następnie obliczono średnią z otrzymanych wyników każdego rodzaju obróbki i rodzaju użytego krioprotektanta. Badanie wykonano w 4 powtórzeniach.

Ubytek masy (U_m) obliczono według poniższego równania:

$$U_m = \frac{m_o - m_t}{m_o} \cdot 100\%$$

gdzie:

m_o – masa próbki przed zamrożeniem [g],

m_t – masa próbki po rozmrożeniu [g].

Właściwości mechaniczne materiału rozmrożonego oznaczano na podstawie testu ściskania. Pomiaru prowadzono, wykorzystując analizator tekstury TA-TX2 (Stable Micro Systems Ltd., Godalming, Wielka Brytania), przy prędkości testowej głowicy $0,5 \text{ mm}\cdot\text{s}^{-1}$ oraz 30-procentowego odkształcenia początkowej wysokości próbki. Siłę i pracę ściskania określano na podstawie krzywej ściskania. Właściwości mechaniczne interpretowano na podstawie względnych wartości maksymalnej siły, którą wyznaczono w taki sam sposób jak wartość względnego ubytku masy. Pomiaru dokonano w 8 powtórzeniach.

Wyniki opracowano, wykorzystując oprogramowanie Microsoft Office Excel 2007 (Microsoft Corporation, Redmond, USA).

METODY STATYSTYCZNE

Wyniki opracowano statystycznie, wykorzystując program Statistica 12 (Dell, Round Rock, USA) przy zastosowaniu jednoczynnikowej analizy wariancji ANOVA oraz testu Tukeya ($\alpha = 0,05$). Przeprowadzono także analizę współzależności, na podstawie współczynnika korelacji liniowej Pearsona. Różną kombinacją literową alfabetu w tabelach lub na rysunkach oznaczono grupy homogeniczne.

WYNIKI I DISKUSJA

Zarówno metoda obróbki wstępnej, jak i rodzaj wykorzystanego krioprotektanta wpłynęły na kinetykę zamrażania. Całkowity czas zamrażania marchwi kontrolnej, nie-poddanej żadnym dodatkowym zabiegom wstępnym wynosił 670 s, w tym etap schładzania trwał 180 s, zamrażania właściwego 200 s, a etap domrażania 290 s. Zmianę czasu całkowitego zamrażania i jego poszczególnych etapów w porównaniu z materiałem nie-poddanym obróbce wstępnej (próba kontrolna) zestawiono w tabeli 1.

Uzyskano zróżnicowane rezultaty w zależności od zastosowanej metody obróbki wstępnej, w kombinacji z wybraną substancją kriochronną. Redukcję czasu schładzania stwierdzono w przypadku każdego z testowanych krioprotektantów podczas moczenia (MOC). W większości analizowanych przypadków odnotowano skrócenie czasu zamrażania właściwego, dochodzące nawet do 57,9%. Wydłużenie czasu zamrażania właściwego zaobserwowano w próbkach poddanych obróbce wstępnej metodą kombinowaną w połączeniu z roztworem CaCl_2 . Czas domrażania nie uległ skróceniu w przypadku prób poddanych obróbce wstępnej z użyciem roztworu trehalozy. Niemal wszystkie próbki charakteryzowały się krótszym całkowitym czasem zamrażania w porównaniu z próbą kontrolną. Czas ten uległ największemu skróceniu (o 35,2%) w przypadku marchwi mo-

czoney (MOC) w roztworze glicerolu. Znaczące skrócenie całkowitego czasu zamrażania, o 22,5 oraz 20,9%, zaobserwowano również, gdy próbki wstępnie nasycano próżniowo w roztworze glicerolu oraz CaCl_2 , a także podczas obróbki metodą kombinowaną w roztworze trehalozy (o 16,4%).

Przedstawione wyniki świadczą o zróżnicowanym wpływie obróbki wstępnej na proces zamrażania. Obróbka technologiczna przez długi czas w roztworach może wpłynąć na odwodnienie surowca. Mniejsza ilość wody w tak przygotowanym materiale skraca czas przemiany fazowej wody w lód, albowiem mniejsza jest ilość wody o potencjale krystalizacji [Kamińska i Lewicki 2006]. Obecność substancji o charakterze krioprotektanta, wiążąc wodę chemicznie, dodatkowo obniża jej ilość i dostępność. Takimi właściwościami charakteryzuje się glicerol i trehaloza [Parniakov i in. 2015a]. Wapń z kolei przyczynia się do ustabilizowania struktury, co zmniejsza negatywny wpływ krystalizacji, poprzez utrzymanie naturalnej budowy, a przez to utrzymanie istniejących dróg wymiany masy i ciepła [Martin-Diana i in. 2007].

Czas przemiany fazowej wody w lód (zamrażania właściwego) jest najistotniejszą składową czasu trwania całego procesu, w aspekcie jego wpływu na właściwości zamrażanego materiału. Im jest on krótszy, tym efekt jest korzystniejszy [Wiktor i in. 2015a].

Tabela 1. Procentowa zmiana czasu trwania kolejnych etapów zamrażania i całkowitego czasu zamrażania względem próby kontrolnej w zależności od użytego krioprotektanta (CaCl_2 , Glicerol, Trehaloza) oraz od sposobu obróbki wstępnej: moczenia (MOC), nasycania próżniowego (VI) i metody kombinowanej (US + PEF + VI)

Table 1. Percentage change of freezing stages and total freezing time in reference to control sample without pretreatment depending on the utilized cryoprotectant (CaCl_2 , Glycerol, Trehalose) and method of pretreatment: soaking (MOC), vacuum impregnation (VI) and combined technique (US + PEF + VI)

	CaCl_2			
	Schładzanie Precooling	Zamrażanie właściwe Phase transition	Domrażanie Subcooling	Całkowity czas zamrażania Total freezing time
MOC	-11,1	-50,0	20,7	-9,0
VI	-22,2	-20,0	-20,7	-20,9
US+PEF+VI	22,2	30,0	-44,8	-4,5
	Glicerol			
	Schładzanie Precooling	Zamrażanie właściwe Phase transition	Domrażanie Subcooling	Całkowity czas zamrażania Total freezing time
MOC	-44,4	-36,8	-20,0	-35,2
VI	22,2	-42,1	-26,7	-22,5
US+PEF+VI	-11,1	-57,9	153,3	-1,4
	Trehaloza			
	Schładzanie Precooling	Zamrażanie właściwe Phase transition	Domrażanie Subcooling	Całkowity czas zamrażania Total freezing time
MOC	-20,0	-27,3	123,1	6,6
VI	-6,7	0,0	0,0	-1,6
US+PEF+VI	26,7	-45,5	7,7	-16,4

Jednak występowanie kolejnych, dodatkowych związków lub zwiększenie ich stężenia w materiale zamrażanym, może sprzyjać wydłużaniu niektórych składowych czasów całego procesu, co wykazano już we wcześniejszych badaniach [Kamińska i Lewicki 2006, Parniakov i in. 2015c] i potwierdzono w wynikach uzyskanych przez autorów.

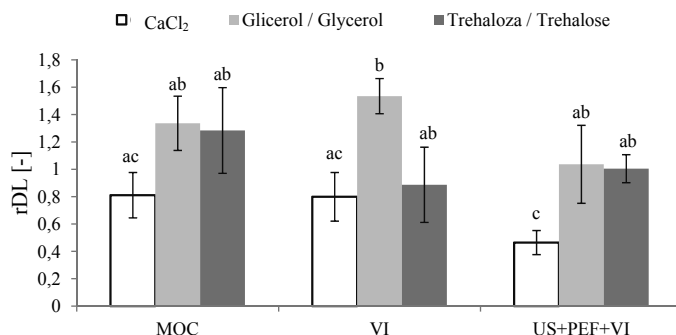
Metoda obróbki wstępnej w wyraźny sposób wpływa na przebieg zamrażania. Ultradźwięki i pulsacyjne pole elektryczne wspomagają proces wymiany masy, co przekłada się na większą infuzję substancji z roztworu, w którym znajduje się materiał, do jego wnętrza oraz sprzyja dyfuzji w całej objętości [Parniakov i in. 2015b]. Może to tłumaczyć różnice w wydłużonym czasie domrażania pomiędzy próbkami poddawanymi obróbce metodą kombinowaną (US + PEF + VI) a moczonymi (MOC), w związku z większą ilością substancji, które wniknęły do wnętrza tkanki.

Wiktor i inni [2015a] badali wpływ zastosowania pulsacyjnego pola elektrycznego jako obróbki wstępnej na kinetykę zamrażania immersyjnego marchwi. Wykazali, iż taka obróbka skracala czas zamrażania, głównie poprzez skrócenie czasu przemiany fazowej wody w lód, co jest generalnie zbieżne z uzyskanymi wynikami w niniejszej pracy. Według autorów było to wynikiem lepszej wymiany masy i ciepła oraz zniszczeniem struktury i matrycy komórki oraz defragmentacją jej elementów, co sprzyjało nukleacji kryształów lodu.

Na rysunku 1 przedstawiono wartości względnego ubytku masy (rDL) próbek marchwi w wyniku zamrażania i rozmrażania. Wykazano statystycznie istotne ($p < 0,05$) różnice zarówno między rodzajem wybranej metody obróbki wstępnej, jak i wybranym roztworem krioprotektanta. Skrajne różnice otrzymano w przypadku próbek poddanych działaniu metody kombinowanej (US + PEF + VI) w połączeniu z 20% CaCl₂ oraz nasycanych próżniowo (VI) roztworem glicerolu. W pierwszym przypadku odnotowano największą redukcję ubytku masy po rozmrożeniu w porównaniu do próby kontrolnej, a w drugim – jej przyrost.

Otrzymane wyniki ($rDL < 1$) wskazują na możliwość działania prewencyjnego w stosunku do niszczącego wpływu przemiany fazowej wody w lód na strukturę tkanki, wykorzystując określoną metodę i roztwór krioprotektanta. Jest to szczególnie widoczne w przypadku zastosowania chlorku wapnia w połączeniu z metodą kombinowaną (US + PEF + VI), gdzie udało się ograniczyć ubytek masy o ponad 50% w porównaniu z próbą kontrolną niepoddaną obróbce wstępnej. Trudno jednoznacznie stwierdzić, co wpłynęło na zwiększenie ubytku masy próbek poddanych obróbce w roztworze glicerolu, szczególnie moczonych (MOC) i nasycanych próżniowo (VI), oraz nasycanych w obniżonym ciśnieniu (VI) w roztworze trehalozy. Na uzyskane wyniki mogła mieć wpływ zróżnicowana budowa morfologiczna marchwi. Generalnie, można stwierdzić, że zastosowanie innowacyjnych technik jako obróbki wstępnej przed nasycaniem w największym stopniu doprowadziło do zmniejszenia ubytków masy podczas rozmrażania.

Specyfika działania jonów wapnia powoduje utrwalenie istniejących struktur komórkowych poprzez tworzenie połączeń z pektynami zawartymi w korzeniu marchwi. Uzyskane wyniki potwierdzają wzmocnienie i biofortyfikację próbki marchwi na skutek infuzji jonów wapnia do jej wnętrza, które powodują zwiększenie zdolności utrzymywania wody w rozmrożonej tkance. Wyniki te są zgodne z wynikami badań innych autorów. Przykładowo, Galetto i inni [2010] analizowali możliwości wykorzystania chlorku wapnia do ochrony wrażliwej struktury truskawki poprzez zamrażanie immersyjne w roztwo-

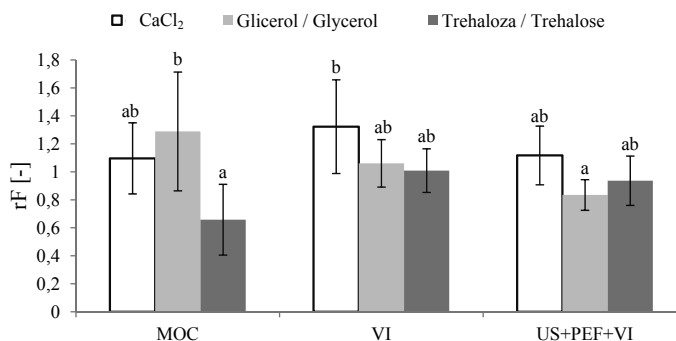


Rys. 1. Względny ubytek masy (rDL) marchwi moczonej (MOC), nasycanej roztworem krioprotektanta (VI) oraz próbek poddanych obróbce metodą kombinowaną (US + PEF + VI)

Fig. 1. Relative drip loss (rDL) of soaked (MOC), vacuum impregnated (VI) and samples subjected to combined pretreatment (US + PEF + VI)

rze tej soli. Autorom udało się uzyskać istotną redukcję ubytku masy wskutek wycieku w porównaniu z materiałem zamrażanym bez udziału CaCl₂. Velickova i inni [2013] badali możliwości ograniczenia wycieku rozmrażalniczego truskawek, wykorzystując trehalozę jako substancję o właściwościach krioprotekcyjnych. Infuzję trehalozy prowadzono metodą nasycania próżniowego. Uzyskano wyniki świadczące o dobrych właściwościach ochronnych. Nad możliwością ograniczenia wycieku po rozmrożeniu marchwi pracowali również Shayanfar i inni [2014]. Tym razem, uzyskane wyniki nie potwierdziły protekcyjnych właściwości CaCl₂, trehalozy i glicerolu. Autorzy tłumaczyli to zbyt niskimi stężeniami roztworów (1%).

Na rysunku 2 przedstawiono względną siłę potrzebną do 30% odkształcenia próbek przy wykorzystaniu testu ściskania, w zależności od zastosowanej metody obróbki wstępnej jak i użytego krioprotektanta.



Rys. 2. Względna siła ściskania (rF) marchwi moczonej (MOC), nasycanej roztworem krioprotektanta (VI) oraz próbek poddanych obróbce metodą kombinowaną (US + PEF + VI)

Fig. 2. Relative force of deformation (rF) of soaked (MOC), vacuum impregnated (VI) and samples subjected to combined pretreatment (US + PEF + VI)

Wyższą, w porównaniu z próbą kontrolną, siłę potrzebną do odkształcenia uzyskano, badając próbki poddane obróbce wstępnej z wykorzystaniem roztworu CaCl_2 . Najlepszy rezultat – zwiększenie siły potrzebnej do odkształcenia o 32% – osiągnięto w połączeniu z nasycaniem próżniowym (VI). Dobre wyniki (zwiększenie siły potrzebnej do odkształcenia o 29%) otrzymano także, mocząc (MOC) korzeń marchwi w roztworze glicerolu. Nie stwierdzono pozytywnego wpływu roztworu trehalozy przy takim stężeniu na badaną cechę. Analiza statystyczna wykazała istotną ($p < 0,05$) różnicę pomiędzy próbkami moczonymi (MOC) i impregnowanymi próżniowo (VI) odpowiednio w roztworach glicerolu i CaCl_2 , a tymi, wobec których zastosowano moczenie (MOC) i technikę kombinowaną (US + PEF + VI) w roztworach odpowiednio trehalozy i glicerolu. Stwierdzono, że większy wpływ na wartość siły ściskania miał rodzaj roztworu aniżeli metoda obróbki wstępnej. Wyniki są generalnie zbieżne z oczekiwaniami. Nieco mniejsze wartości otrzymane w połączeniu różnych krioprotektantów z metodą kombinowaną mogą być związane z destrukcyjnym wpływem obróbki, szczególnie pulsacyjnego pola elektrycznego, na strukturę tkanki, który nie został zrównoważony w wystarczającym stopniu przez wzmacniające działanie krioprotektantów.

Shayanfar i in. [2014] uzyskali podobne rezultaty, tj. wzrost twardości próbek marchwi potraktowanych przed zamrażaniem obróbce z udziałem chlorku wapnia i glicerolu w porównaniu z próbkami bez obróbki. Nie stwierdzono pozytywnego wpływu trehalozy w badanym stężeniu. Phoon i inni [2008] wykazali, że dodatek trehalozy w połączeniu z nasycaniem próżniowym i pulsacyjnym polem elektrycznym znacznie zwiększał odporność liści szpinaku na obróbkę zamrażalniczą. Velickova i inni [2013], wykorzystując między innymi trehalozę jako krioprotektant, uzyskali większą wartość maksymalnej siły w trakcie badań tekstury rozmrożonej truskawki poddanej nasycaniu próżniowemu przed zamrażaniem w porównaniu z materiałem bez obróbki. Różnice mogą wynikać z charakterystyki konkretnego materiału biologicznego oraz badania różnych części anatomicznych rośliny.

Przedstawione wyniki pokazują silną zależność między rodzajem metody obróbki wstępnej oraz konkretnym krioprotektantem, a ich wpływem na właściwości tkanki marchwi po rozmrożeniu oraz możliwością modyfikacji procesu zamarzania. Wskazują również potrzebę kontynuacji badań w tym obszarze.

WNIOSKI

1. Zarówno metoda obróbki wstępnej, jak i rodzaj wykorzystanego krioprotektanta wpływają na kinetykę zamrażania. Próbki moczone (MOC) w roztworze glicerolu charakteryzowały się największą redukcją całkowitego czasu zamrażania (o 35,2%), z kolei zastosowanie obróbki kombinowanej (US + PEF + VI) pozwoliło na skrócenie czasu właściwego zamrażania o 57,9%.
2. Zastosowanie niekonwencjonalnych procesów (sonikacja i pulsacyjne pole elektryczne), poprzedzających obróbkę wstępną przed nasyceniem próżniowym, oraz roztworu CaCl_2 doprowadziło do zwiększenia siły potrzebnej do odkształcenia próbki oraz redukcji ubytku masy po rozmrożeniu.

3. W zależności od założonego celu (skrócenie czasu zamrażania lub poprawa właściwości rozmrożonej tkanki marchwi) należy zastosować określone zabiegi wstępne oraz rodzaje krioprotektanta.
4. Uwzględniając ceny badanych krioprotektantów oraz otrzymane wyniki można stwierdzić, że największe szanse aplikacji w przemyśle może mieć chlorek wapnia.

LITERATURA

- Andreou V., Dimopoulos G., Alexandrakis Z., Katsaros G., Oikonomou D., Toepfl S., Heinz V., Taoukis P., 2017. Shelf-life evaluation of virgin olive oil extracted from olives subjected to nonthermal pretreatments for yield increase. *Innov Food Sci Emerg*, 40, 52–57.
- Dias da Silva G., Barros Z.M.P., Batista de Medeiros R.A., Oliviera de Carvalho C.B., Brandão S.C.R., Azoubel P.M., 2016. Pretreatments for melon drying implementing ultrasound and vacuum. *LWT-Food Sci and Technol*, 74, 114–119.
- El Kantar S., Boussetta N., Lebovka N., Foucart F., Rajha H. N., Maroun R. G., Louka N., Vorobiev E., 2018. Pulsed electric field treatment of citrus fruits: Improvement of juice and polyphenols extraction. *Innov Food Sci Emerg*, 46, 153–161.
- Galetto C. D., Verdini R. S., Zorilla A. E., Rubiolo C. 2010: Freezing of strawberries by immersion in CaCl₂ solutions. *Food Chem* 123(2), 243–248.
- Góral D., Kluza F., Kozłowicz K., 2013. Wybrane właściwości warzyw po obróbce chłodniczej różnicowanymi metodami. *Acta Scientiarum Polonorum. Technica Agraria* 12(3–4), 17–26.
- Huang L., Ding X., Dai Ch., Ma H., 2017. Changes in the structure and dissociation of soybean protein isolate induced by ultrasound-assisted acid pretreatment. *Food Chem* 232, 727–732.
- Kamińska A., Lewicki P.P., 2006. Wpływ wstępnej obróbki osmotycznej na przebieg procesów zamrażania i rozmrażania jabłek. *Zywn-Nauk Technol Ja*. 2(47), 101–107.
- Kirtıl E., Oztop M.H., Sirijariyawat A., Ngamchuachit P., Barrett D.M., McCarthy M.J., 2014. Effect of pectin methyl esterase (PME) and CaCl₂ infusion on the cell integrity of fresh-cut and frozen-thawed mangoes: An NMR relaxometry study. *Food Res Int*. 66, 409–416.
- Kryszczuk A., 2002. Krioprezerwacja-nowoczesna metoda długotrwałego przechowywania materiału roślinnego. *Biuletyn Instytutu Hodowli i Aklimatyzacji Roślin* 223/224, 57–65.
- Lentas K., Witrowa-Rajchert D., 2008. Wpływ wstępnego nasycania jonami wapnia na wybrane właściwości suszu jabłkowego. *Zywn-Nauk Technol Ja*, 5(60), 178–188.
- Malinowska-Pańczyk E., Kołodziejska I., 2010. Możliwości zastosowania wysokiego ciśnienia w przemyśle owocowo-warzywnym. *Zywn-Nauk Technol Ja*. 2(69), 5–15.
- Martin-Diana A.B., Rico D., Frias J.M., Barat J.M., Henehan G.T.M., Barry-Ryan C., 2007. Calcium for extending the shelf life of fresh whole and minimally processed fruits and vegetables: a review. *Trends Food Sci Tech* 18, 210–218.
- Mikuła A., Rybczyński J.J., 2006. Krioprezerwacja narzędziem długoterminowego przechowywania komórek, tkanek i organów pochodzących z kultur in vitro. *Biotechnologia* 4(75), 145–163.
- Mostowski R., Krala L., Gałązka-Czarnecka I., Brzozowska E., 2015. Stabilność przechowalnicza barwy i tekstury parówek z mięsa mrożonego z dodatkiem krioprotektantów. *Chłodnictwo* 50(7–8), 16–23.
- Parniakov O., Bals O., Mykhailik V., Lebovka N., Vorobiev E., 2015a. Unfreezable water in apple treated by pulsed electric fields: impact of osmotic impregnation in glycerol solutions. *Food Bioprocess Tech*. 9(2), 243–251.

- Parniakov O., Lebovka N.I., Bals O., Vorobiev E., 2015b. Effect of electric field and osmotic pre-treatments on quality of apples after freezing-thawing. *Innov Food Sci Emerg* 29, 23–30.
- Parniakov O., Roselló-Soto E., Barba F.J., Grimi N., Lebovka N., Vorobiev E., 2015c. New approaches for the effective valorization of papaya seeds: Extraction of proteins, phenolic compounds, carbohydrates, and isothiocyanates assisted by pulsed electric energy. *Food Res Int* 77, 711–717.
- Phoon P.Y., Galindo F.G., Vicente A., Dejmek P., 2008. Pulsed electric field in combination with vacuum impregnation with trehalose improves the freezing tolerance of spinach leaves. *J Food Eng* 88, 144–148.
- Pijanowski E., Dłużewski M., Dłużewska A., Jarczyk A., 2004. *Ogólna technologia żywności*. Wydawnictwa Naukowo-Techniczne, Warszawa.
- Postolski J., Gruda Z., 1985. *Zamrażanie żywności*. Wydawnictwa Naukowo-Techniczne, Warszawa.
- Raso J., Frey W., Ferrari G., Pataro G., Knorr D., Teissie J., Miklavčič D., 2016. Recommendations guidelines on the key information to be reported in studies of application of PEF technology in food and biotechnological processes. *Innov Food Sci Emerg* 37, 312–321.
- Shayanfar S., Chauchan O., Toepfel S., Volker H., 2014. Pulsed electric field treatment prior to freezing carrot discs significantly maintains their initial quality parameters after thawing. *Int J Food Sci Tech* 49(4), 1224–1230.
- Tao Y., Wang P., Wang Y., Kadam S.U., Han Y., Wang J., Zhou J., 2016. Power ultrasound as a pretreatment to convective drying of mulberry (*Morus alba* L.) leaves: Impact on drying kinetics and selected quality properties. *Ultrason Sonochem* 31, 310–318.
- Tylewicz U., Tappi S., Mannozi C., Romani S., Dellarosa N., Laghi L., Ragni L., Rocculi P., Dalla Rosa M., 2017. Effect of pulsed electric field (PEF) pre-treatment coupled with osmotic dehydration on physic-chemical characteristics of organic strawberries. *J Food Eng* 213, 2–9.
- Velickova E., Tylewicz U., Rosa M.D., Winkelhausen E., Kuzmanova S., Galindo F.G., 2013. Effect of vacuum infused cryoprotectants on the freezing tolerance of strawberry tissues. *Food Sci Tech-Brazil* 52, 146–150.
- Wang L., Xu B., Wei B., Zeng R., 2018. Low frequency ultrasound pretreatment of carrot slices: Effect on the moisture migration and quality attributes by intermediate-wave infrared radiation drying. *Ultrason Sonochem* 40, 619–628.
- Wiktor A., Schulz M., Voigt E., Knorr D., Witrowa-Rajchert D., 2015a. Wpływ pulsacyjnego pola elektrycznego na kinetykę zamrażania immersyjnego, rozmrażania oraz właściwości mechaniczne marchwi. *Zywn-Nauk Technol* Ja 2(99), 124–137.
- Wiktor A., Schulz M., Voigt E., Witrowa-Rajchert D., Knorr D., 2015b. The effect of pulsed electric field treatment on immersion freezing, thawing and selected properties of apple tissue. *J Food Eng* 146, 8–16.

INFLUENCE OF UTILIZATION OF NONCONVENTIONAL PRETREATMENT METHODS AND SELECTED CRYOPROTECTANTS ON QUALITY OF FROZEN CARROT

Summary: The aim of the study was to analyze the possibility of using vacuum impregnation by 20% solutions of selected cryoprotectants (glycerol, trehalose and calcium chloride) preceded by ultrasonic and pulsed electric field treatment to improve the quality

of carrot tissue after thawing. Studies were done using carrot tissue (var. Baltimore) cut into cylinders. The following methods were used: soaking for 15 minutes; vacuum impregnation (~60 kPa) for 5 minutes; combined treatment: 10 minutes of sonication ($f = 21$ kHz, $P = 170$ W) followed by pulsed electric field treatment (10 pulses by electric intensity $E = 5$ kV·cm⁻¹ and frequency $f = 0,5$ Hz) and then by vacuum impregnation at about 60 kPa, 5 min). Both factors (pretreatment and type of used cryoprotectant) influenced the kinetics of freezing. Utilization of glycerol as a cryoprotectant during soaking contributed to the greatest reduction of the total freezing time (by 35.2% in comparison to untreated material). When samples were subjected to combined treatment in glycerol solution the reduction of phase transition time by 57.9% was observed. The protective effect was dependent on the type of cryoprotectant and the method of pretreatment. Utilization of nonconventional methods of pretreatment (ultrasonic and pulsed electric field) before vacuum impregnation and CaCl₂ solution resulted in increment of compression force and reduction of weight loss after thawing. This combination allowed to obtain significantly different results in terms of weight loss after thawing compared to samples processed with other cryoprotectants. In this case, weight loss was reduced by more than 50%. Vacuum impregnation using glycerol solution resulted in greater (about 50%) weight loss compared to untreated samples. The best effect on improvement of firmness of investigated samples, by 32%, was observed when vacuum impregnation was applied in the combination with CaCl₂. Relatively high improvement of mechanical properties (increment of maximal strength by 29%) was also obtained when samples were soaked in glycerol. No impact of trehalose on improving firmness of samples was observed. Depending on the intended purpose (reduction of energy consumption or improvement of the properties of thawed material), specific pretreatment methods and types of cryoprotectant should be selected before the further processing.

Key words: freezing, cryoprotectants, PEF, ultrasonication, vacuum impregnation