

Grzegorz TOKARCZYK, Edward KOŁAKOWSKI, Bożena BEDNARCZYK,  
Mariusz SZYMCZAK, Sylwia PRZYBYLSKA, Anna WALIŁKO, Katarzyna LAMENT,  
Tomasz KRZYWIŃSKI, Grzegorz BIENKIEWICZ<sup>1</sup>

## WPLYW MROŻENIA NA PROCES DOJRZEWANIA ODGŁOWIONEGO I PATROSZONEGO ŚLEDZIA BAŁTYCKIEGO SOLONEGO METODĄ ZALEWOWĄ

### EFFECT OF FREEZING ON RIPENING PROCESS OF HEADED AND GUTTED BALTIC HERRING (*CLUPEA HARENGUS*, L.) SALTED IN BRINE

Katedra Technologii Żywności, Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie  
ul. Papieża Pawła VI nr 3, 71-459 Szczecin

<sup>1</sup>Katedra Towaroznawstwa i Oceny Jakości, Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie  
ul. Papieża Pawła VI nr 3, 71-459 Szczecin

**Abstract.** Ripening of fresh and frozen/thawed headed and gutted Baltic herring salted in 12% NaCl solution (brine) with or without the addition of 0.7% acetic acid was compared. Samples for assays were taken after 2, 3, 4, 5, 7, 10, 14, 18, 21 and 27 days of ripening. Control samples for assays were taken after 1, 3, 5, 7, 9, 11, 15 and 18 days of ripening. Herring meat and brine were assayed separately. Freezing of raw material reduced the growth of protein hydrolysis products (peptides and tyrosine), however the contents of peptides and tyrosine were high than in fresh fish, especially in brine and brine meat extract with acetic acid. Freezing of raw material had a significant impact on the ripening of Baltic herring salted in brine. Fundamental differences depended on initial processing and chemical composition of brine. Acetic acid inhibited ripening of salted frozen/thawed herring. Baltic herring salted in the presence of CH<sub>3</sub>COOH had better quality than salted in brine without CH<sub>3</sub>COOH regardless of initial processing. On the other hand the best quality had salted products made from fresh/unfrozen Baltic herring.

**Słowa kluczowe:** dojrzewanie ryb solonych, mrożenie, rozmrażanie, solenie zalewowe, stężenie soli kuchennej i kwasu octowego, śledź bałtycki.

**Key words:** Baltic herring, brine, freezing, salt and acetic acid concentrations, salting, ripening of salted fish, thawing.

## WPROWADZENIE

Zamrażanie ryb morskich stwarza możliwości ograniczenia wpływu niekorzystnej lokalizacji zasobów rybnych i sezonowości ich połowów oraz zwiększa skalę dysponowania produktami w przestrzeni i czasie. Wzrost ilości śledzia zamrażanego na statkach lub na lądzie bezpośrednio po połowie zmusza przetwórców do wykorzystania takiego surowca w produkcji. Z drugiej strony, mrożenie śledzi jest zalecane również w przypadku porażenia ich larwami *Anisakis sp.*, gdyż skutecznie unieszkodliwia te pasożyty (Grabda 1991). Proces zamrażania wpływa jednak na zmiany właściwości składników mięsa ryb. Zmianie ulega aktywność enzymów proteolitycznych (Dixon i Webb 1971), wodochłonność białka (Paredi i in. 1996; Herrero i in. 2005), rozpuszczalność poszczególnych jego frakcji (Jiang i Lee 1985), a przez

to również tekstura mięsa (Sikorski i in. 1976; Mackie 1993). Mrożenie przyczynia się także do hydrolizy i oksydacji lipidów (Kołakowska 1981) oraz do spadku ogólnej pożądalności sensorycznej (Sikorski i Kołakowska 1990).

W piśmiennictwie nie ma jednoznacznych danych na temat wpływu mrożenia ryb śledziowatych na przebieg ich dojrzewania w czasie solenia. Obok prac mówiących o ujemnym wpływie mrożenia, głównie z powodu obniżenia aktywności katepsyn mięśniowych (Podeszewski i Jasińska 1974; Baldrati i in. 1975; Nunes i in. 1997), znane są prace stwierdzające korzystny wpływ mrożenia na proces dojrzewania śledzia solonego (Jasińska 1998; Stefánsson i in. 2000), bądź nie stwierdzające istotnego wpływu mrożenia surowca na otrzymany półprodukt (Karaçam i Boran 1996). Nie spotkano natomiast prac badających wpływ mrożenia patroszonych śledzi na przebieg ich dojrzewania podczas solenia metodą zalewową.

Wiadomo, że proces dojrzewania solonego, odgłowionego i patroszonego śledzia dokonuje się przede wszystkim pod wpływem aktywności proteinaz cysteinowych (Kołakowski i in. 1998), tj. kalpain, występujących głównie w okolicy linii M i Z białek miofibrylarnych (Koochmarai 1994; Sorimachi i in. 1995; Kinbara i in. 1998; Jiang 2000) oraz katepsyn, działających w słabo kwaśnym zakresie pH (B i L), a znajdujących się w lizosomach komórkowych (Kołodziejska i Sikorski 1995; Sikorski 1996; Jiang 2000; Kołakowski 2005). Kalpains rozkładają głównie białka znajdujące się przy linii Z (desminę, filaminę, nebulinę i w mniejszym stopniu konektynę) (Jiang 1998, 2000; Ho i in. 2000; Illian i in. 2003, 2004a, 2004b),  $\alpha$ -aktyninę (Delbarre-Ladrat i in. 2006) oraz ciężkie łańcuchy miozyny (Delbarre-Ladrat i in. 2004), natomiast katepsyny miozynę (Aoki i Ueno 1997; Ladrat i in. 2003) i aktynę (Jiang i in. 1992a, 1992b, 1996; Jiang 1998, 2000; Ladrat i in. 2003) oraz  $\alpha$ -aktyninę, desminę, troponinę T i tropomiozynę (Ladrat i in. 2003). Kalpains i katepsyny uwalniają tropomiozynę z miofibryli ale tylko katepsyny są zdolne do jej hydrolizy (Delbarre-Ladrat i in. 2004). Katepsyna B łatwo degraduje ciężkie łańcuchy miozyny (Jiang i in. 1994, 1996) do fragmentów o masie 150 kDa i 170 kDa, a także delikatnie hydrolizuje aktynę i troponinę T w pH 6,0 oraz  $\alpha$ -aktyninę (Godiksen i in. 2009). Udowodniono również, że katepsyna B o masie 28 kDa, wyizolowana z tkanki kety, w pH 4,9 oraz optymalnym pH 5,7 hydrolizuje konektynę i nebulinę (Yamashita i Kongaya 1991; Jiang 1998, 2000). Z drugiej strony Aoki i Ueno (1997), stwierdzili, że katepsyna B wyizolowana z mięsa makreli nie hydrolizowała białek miofibrylarnych tej ryby. Katepsyna L najszybciej atakuje troponinę T oraz I a także białko C, natomiast znacznie wolniej miozynę, aktynę, tropomiozynę, nebulinę, titinę i  $\alpha$ -aktyninę (Etherington 1984; Koochmarai i in. 1989; Lee i in. 1993; Jiang i in. 1994; Aoki i Ueno 1997; Jiang 1998, 2000). W procesie dojrzewania ryb solonych w zakwaszonej solance nie można wykluczyć również udziału lizosomalnej proteinazy aspartylowej, katepsyny D, która hydrolizuje ciężkie łańcuchy miozyny,  $\alpha$ -aktyninę, aktynę, tropomiozynę, troponinę T oraz I w optymalnym pH 3 (Matsumota i in. 1983; Hughes i in. 2000).

Podczas dojrzewania solonego całego śledzia proces proteolizy mięsa rozpoczyna się natomiast od działania katepsyn D i E, a następnie rozwija się głównie na podstawie aktywności katepsyn A, B i C oraz innych peptydaz hydrolizujących peptydy do aminokwasów (Levanidov i in. 1987). Peptydy powstałe wskutek działania katepsyny D są w dalszym etapie hydrolizowane przez katepsynę A (Makinodan i in. 1983). Wg Kołodziejskiej i Sikorskiego (1995) katepsyna A i C wspomaga proces dojrzewania ryb poprzez dalszy rozkład produktów hydrolizy białka powstałych wskutek działania innych katepsyn.

Ponieważ mrożenie/rozmrażanie surowca powoduje znaczną dezintegrację tkanki mięśniowej a także lizosomów (Karvinen i in. 1982; Sikorski i Kołakowski 2000), może zatem mieć istotny wpływ na ich aktywność proteolityczną.

Celem niniejszej pracy było porównanie dynamiki dojrzewania świeżego (niemrożonego) oraz mrożonego/rozmrożonego śledzia bałtyckiego, podczas solenia w 12-procentowym roztworze NaCl bez, oraz z 0,7-procentowym dodatkiem kwasu octowego, w temperaturze  $7 \pm 1^\circ\text{C}$ .

## MATERIAŁ I METODY

### 2.1. Surowiec

Badania przeprowadzono na śledziu bałtyckim (*Clupea harengus*, L.) odłowionym podczas tarła jesiennego w okolicach Kołobrzegu. Śledzia dostarczono do laboratorium w ciągu 12 godz., licząc od momentu połowu, schłodzonego lodem łuskowym, w skrzyniach ze spienionego polistyrenu o pojemności 25 kg (PN-74/A-86761). Ryby znajdowały się w stanie ustępującego stężenia pośmiertnego.

Przy zakładaniu prób do badań stosowano dodatkowo:

- sól kamienną spożywczą (niejodowaną), kl II (PN-C-84081-2:1998), pochodzącą z Kopalni Soli „Kłodawa” P.P.,
- ocet spirytusowy 10% (PN-72/A-79733) produkcji PPHU „FRUKTUS” s.c.

### 2.2. Proces solenia

Po oddzieleniu ryb od lodu i osobników uszkodzonych mechanicznie, surowiec odgławiano cięciem prostym i patroszono. Uzyskane tusze myto pod bieżącą wodą, pozostawiano do odcieknięcia na sitach jamą brzuszną do dołu, a następnie dzielono je na dwie partie.

**I partia (surowiec świeży):** Tusze wkładano do szklanych słoików o pojemności  $2 \text{ dm}^3$  (po 1125 g do każdego) i zalewano 12-procentowym roztworem NaCl z dodatkiem 0,7%  $\text{CH}_3\text{COOH}$ , w stosunku wagowym ryby do solanki jak 1:1. Próbę kontrolną stanowiły tusze zalane 12-procentowym roztworem NaCl bez dodatku kwasu octowego. Stosunek wagowy ryby do zalewy wynosił 1:1.

**II partia (surowiec mrożony):** Tusze umieszczano w workach z folii polietylenowej (PE) po 1125 g do każdego i zamrażano w szafie płytowej o temperaturze  $-30 \pm 1^\circ\text{C}$ , a następnie składowano przez 47 dni w temperaturze  $-19 \pm 1^\circ\text{C}$ . Rozmrażanie prowadzono w komorze chłodniczej w temperaturze  $7 \pm 1^\circ\text{C}$ , do uzyskania wewnątrz tuszy temperatury ok.  $-2^\circ\text{C}$  (niepełne rozmrożenie). Tak przygotowane tusze przenoszono ilościowo (bez strat wycieku zamrażalniczego) do szklanych słoików jak wyżej, rozmrażano do końca, i zalewano 12-procentowym roztworem NaCl bez i z dodatkiem 0,7%  $\text{CH}_3\text{COOH}$ , w stosunku wagowym ryby do zalewy jak 1:1.

Dla każdej wersji przygotowywano po 20 prób (słoików) i składowano je w chłodni w temperaturze  $7 \pm 1^\circ\text{C}$ . Próby z dodatkiem kwasu octowego, z surowca świeżego oraz mrożonego/rozmrożonego, analizowano po 2, 3, 4, 5, 7, 10, 14, 18, 21 i 27 dobach. Próby bez dodatku kwasu octowego, z surowca świeżego (próby kontrolne) pobierano do analiz po 1, 3, 5, 7, 9, 11, 15 dobach składowania, natomiast z surowca mrożonego/rozmrożonego po 1, 3, 5, 7, 9, 11, 15 i 18 dobach.

### 2.3. Metody

Tusze wraz z solanką przenoszono na sączi z dederonu (materiał zawierający poliamid) umieszczano w dużych lejkach nad cylindrami miarowymi o pojemności 1000 cm<sup>3</sup> i pozostawiano do całkowitego oddzielenia części ciekłych od stałych (ok. 15 min w temp. 20°C).

#### 2.3.1. Analiza sensoryczna

Tusze pochodzące z dwóch słoików mieszano i pobierano losowo po pięć sztuk do oceny sensorycznej. Ocenę sensoryczną solonych tusz, jak i otrzymanych z nich odskórzonych filetów, prowadził 5-osobowy zespół wyspecjalizowanych i przeszkolonych (PN – ISO 85862) pracowników Katedry Technologii Żywności, wg skali 5-punktowej (Baryłko-Pikielna 1975). Ocenie poddawano wygląd, barwę, smak, zapach i teksturę solonego śledzia. Filety wycinano z tusz za pomocą krajalnicy Alexixs 493.6SL (Zelmer, Polska).

#### 2.3.2. Przygotowanie i analiza farszu

Tusze filetowano i odskórzano, a następnie rozdrabniano w maszynie do mielenia mięsa typu EM-1 („Mesko”, Skarżysko Kamienna), o średnicy oczek sita 3 mm i po wymieszaniu pobierano bezzwłocznie do analiz.

W rozdrobnionym mięsie oznaczano pH metodą potencjometryczną, używając pehametru (N15170E, Teleko, Polska) oraz zawartość wody wg AOAC (1996).

#### 2.3.3. Przygotowanie i analiza solanki

Solankę otrzymaną po soleniu śledzia odwirowywano w wirówce typu WE-6 (Mechanika Precyzyjna, Warszawa) przez 10 minut przy 4000 obr · min<sup>-1</sup>, a następnie sączono przez sączi jakościowe z bibuły o średniej szybkości sączenia.

W solance oznaczano produkty hydrolizy białka (PHB) metodą Lowry'ego i in. (1951), w modyfikacji Kołakowskiego i in. (2000) z podziałem na peptydy i tyrozynę oraz metodą biuretową (Gornall i in. 1949).

#### 2.3.4. Przygotowanie i analiza ekstraktu solankowego mięsa

20 g rozdrobnionego wg pkt. 2.3.2 mięsa śledzia bałtyckiego, solonego z dodatkiem kwasu octowego, homogenizowano z 200 cm<sup>3</sup> 6-procentowego roztworu NaCl i 0,35% CH<sub>3</sub>COOH lub w przypadku prób solonych bez kwasu octowego, z 200 cm<sup>3</sup> 6-procentowego roztworu NaCl. Homogenizację prowadzono za pomocą robota laboratoryjnego typu MPW-302 (Mechanika Precyzyjna, Warszawa), w szklanym słoiku o pojemności 450 cm<sup>3</sup>, dwa razy po 15 s, z przerwą 5-minutową, nastawionym na 75% wartości maksymalnych obrotów (ok. 9700 obr · min<sup>-1</sup>). Następnie homogenat wirowano w wirówce jak w pkt. 2.3.3 przez 10 min przy 4000 obr · min<sup>-1</sup>. Po odwirowaniu pobierano środkową część słupa cieczy z gilz i sączono przez sączi jakościowe z bibuły o średniej szybkości sączenia.

W ekstrakcie solankowym mięsa oznaczano PHB, jak w pkt. 2.3.3.

#### 2.3.5. Przygotowanie i analiza ekstraktu TCA solanki

100 cm<sup>3</sup> solanki pozostałej po soleniu śledzia bałtyckiego mieszano ze 100 cm<sup>3</sup> 10-procentowego TCA, odstawiano na 30 min i następnie sączono przez sączi jakościowe o średniej szybkości sączenia do suchej butelki z ciemnego szkła.

W ekstrakcie TCA solanki oznaczano PHB, jak w pkt. 2.3.3.

### 2.3.6. Przygotowanie i analiza ekstraktu TCA mięsa

50 g rozdrobnionego wg pkt. 2.3.2 solonego mięsa homogenizowano z 200 cm<sup>3</sup> 5% TCA w warunkach jak w pkt. 2.3.4, z tym, że czas przerwy pomiędzy homogenizacjami wynosił 30 minut. Tak otrzymany homogenat odstawiano na 30 min i następnie sączono przez sączone ilościowy o średniej szybkości sączenia do suchej butelki z ciemnego szkła.

W ekstrakcie TCA mięsa oznaczano PHB jak w pkt. 2.3.3.

### 2.3.7. Analiza statystyczna

Wszystkie wyniki opracowano za pomocą programów MS Office Excell<sup>®</sup> (średnia i odchylenie standardowe) oraz Statistica<sup>®</sup> 8 PL, testem Tukeya, przy poziomie istotności  $\alpha = 0,05$  i granicy ufności 0,95.

## WYNIKI

### Wpływ mrożenia surowca na pH i zawartość wody

Mrożenie surowca przyczyniło się do spadku wartości pH mięsa solonego śledzia bałtyckiego, solonego zarówno bez, jak i z dodatkiem kwasu octowego. Większy spadek pH stwierdzono w próbach zawierających dodatek kwasu (0,20 jednostki), niż solonych w samym roztworze NaCl (0,12 jednostki) – rysunek 1.

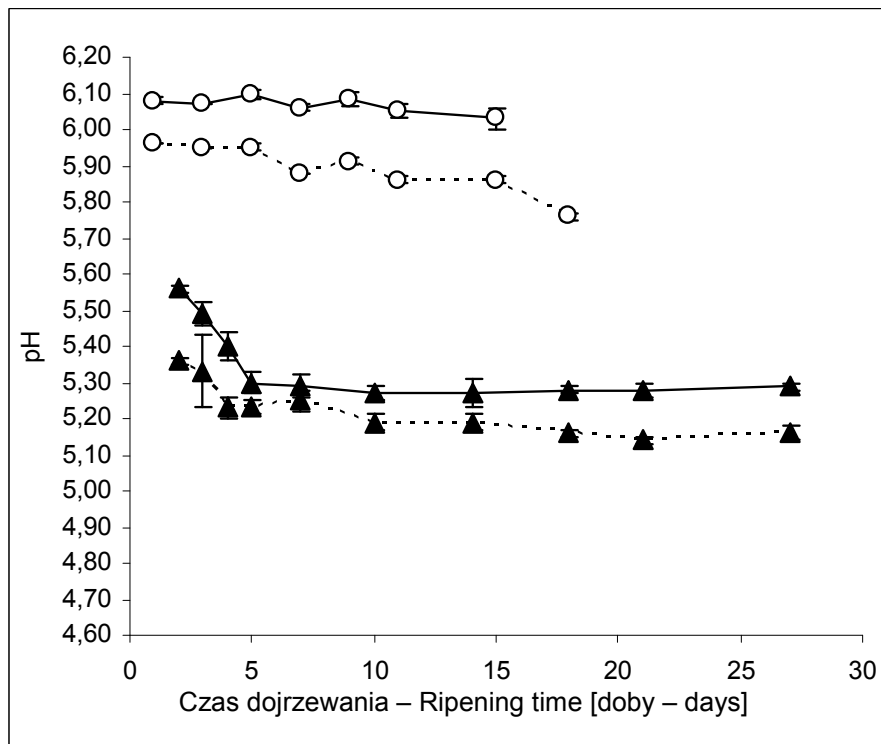
Półprodukt z surowca mrożonego, solony bez i z dodatkiem kwasu octowego charakteryzował się ok. 1-procentowym ubytkiem wody w pierwszych 3–4 dniach solenia, czego nie stwierdzono w przypadku użycia do solenia surowca świeżego. Ponadto w czasie solenia surowca świeżego w solance bez kwasu stwierdzono stały wzrost zawartości wody w mięsie półproduktu o ok. 3%. Dodatek kwasu do solanki przyczynił się natomiast do rosnącego spadku zawartości wody podczas solenia surowca świeżego, wynoszącego po 2 tygodniach solenia ok. 3% (rys. 2).

### Wpływ mrożenia surowca na proces proteolizy

Mrożenie surowca nie zwiększało szybkości przyrostu wszystkich badanych frakcji azotowych a wręcz hamowało ich dynamikę (rys. 3-10, tab. 1 i 2).

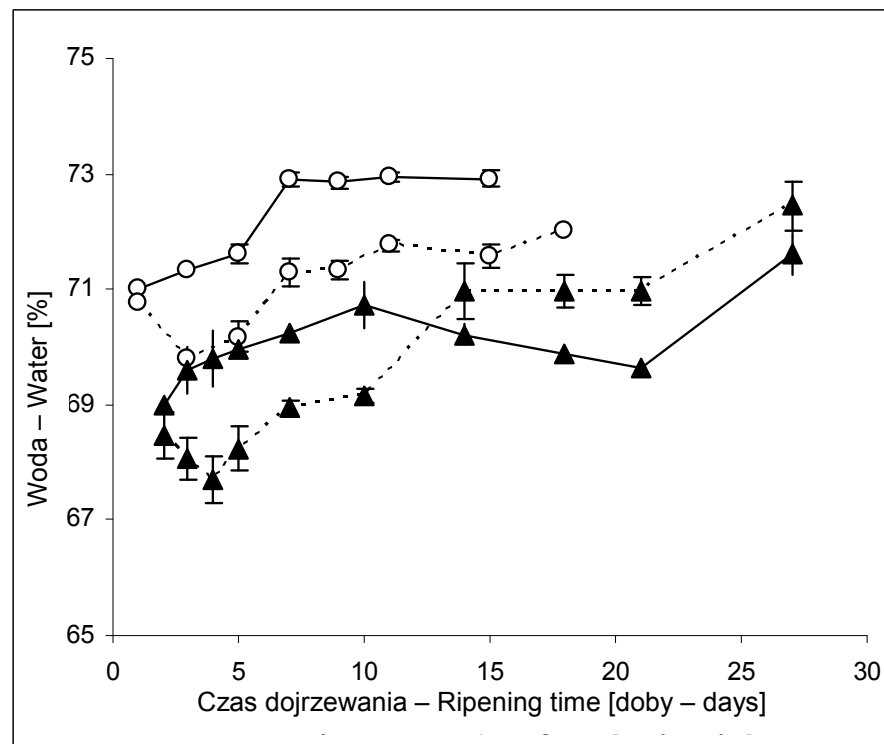
W mięsie mrożonego/rozmrózonego śledzia, solonego w solance bez dodatku kwasu octowego, we frakcji rozpuszczalnej w TCA stwierdzono mniejszą dynamikę zmian tyrozyny (o ok. 9,6%) i mniejszą jej zawartość oraz wzrost dynamiki przyrostu peptydów (o ok. 92%) i większą ich ilość niż w solonym świeżym śledziu bałtyckim (rys. 5 i 6, tab. 2). We frakcji rozpuszczalnej w NaCl odnotowano wzrost dynamiki przyrostu tyrozyny (o ok. 32%), a spadek szybkości przyrostu peptydów (o ok. 60%) (rys. 3 i 4, tab. 1), przy czym wyższą zawartość tyrozyny i peptydów stwierdzono w surowcu świeżym niż mrożonym.

W przypadku śledzia solonego w solance z dodatkiem kwasu octowego, wpływ mrożenia był bardziej wyraźny i objawiał się zmniejszeniem dynamiki przyrostu ilości PHB, za wyjątkiem frakcji peptydów rozpuszczalnej w TCA (tab. 1 i 2). Wartość współczynnika b była niższa o ok. 31% w przypadku tyrozyny rozpuszczalnej w NaCl i o ok. 25% dla tyrozyny rozpuszczalnej w TCA w stosunku do prób z surowca świeżego (niemrożonego).



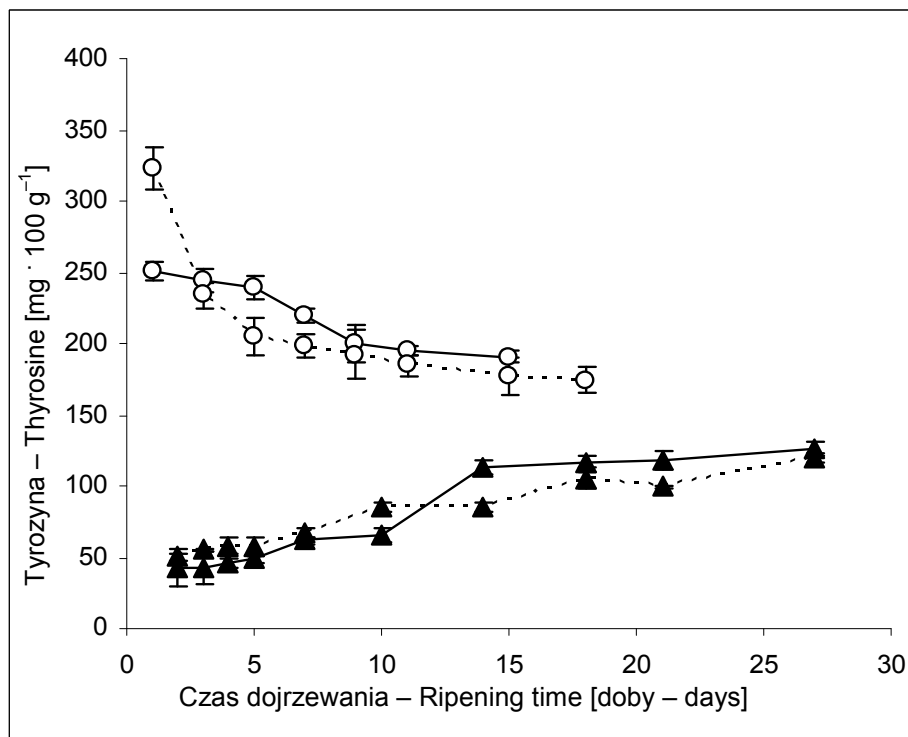
Rys. 1. Wpływ mrożenia surowca oraz składu solanki na wartość pH mięsa odgłowionego i patroszonego śledzia bałtyckiego  
 Fig. 1. Effect of raw material freezing and brine composition on pH values of headed and gutted Baltic herring meat

(—○—) świeży – unfrozen (12% NaCl),  
 (---○---) mrożony – frozen/thawed (12% NaCl),  
 (—▲—) świeży – unfrozen (12% NaCl + 0,7% CH<sub>3</sub>COOH),  
 (---▲---) mrożony – frozen/thawed (12% NaCl + 0,7% CH<sub>3</sub>COOH).



Rys. 2. Wpływ mrożenia surowca oraz składu solanki na zawartość wody w mięsie odgłowionego i patroszonego śledzia bałtyckiego  
 Fig. 2. Effect of raw material freezing and brine composition on water content of headed and gutted Baltic herring meat

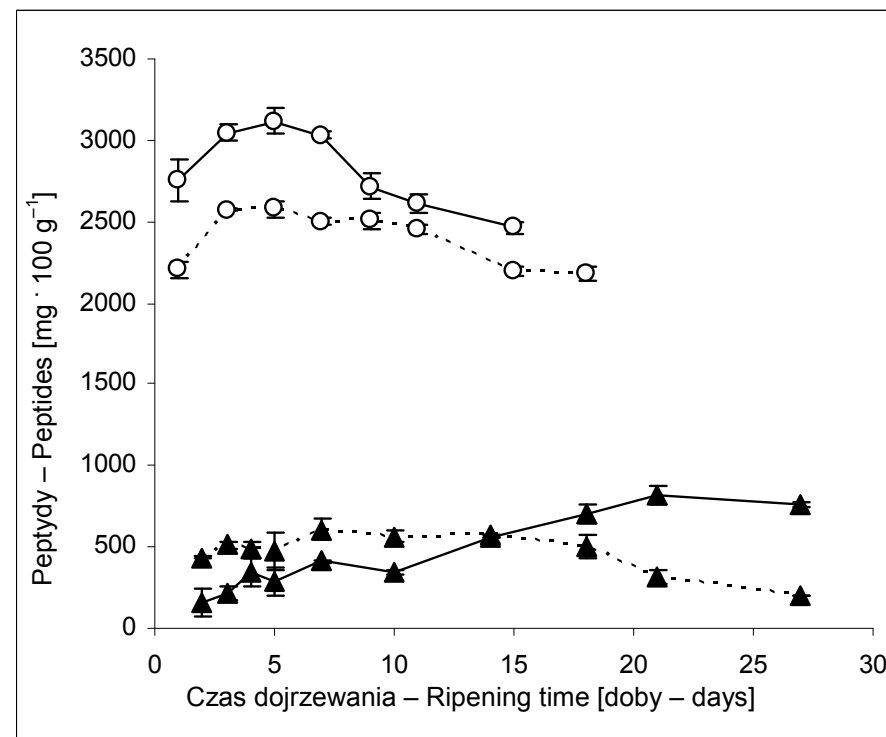
(—○—) świeży – unfrozen (12% NaCl),  
 (---○---) mrożony – frozen/thawed (12% NaCl),  
 (—▲—) świeży – unfrozen (12% NaCl + 0,7% CH<sub>3</sub>COOH),  
 (---▲---) mrożony – frozen/thawed (12% NaCl + 0,7% CH<sub>3</sub>COOH).



Rys. 3. Wpływ mrożenia surowca oraz składu solanki na ilość tyrozyny rozpuszczalnej w ekstrakcie solankowym tkanki śledzia bałtyckiego oznaczanej zmodyfikowaną metodą Lowry'ego

Fig. 3. Effect of raw material freezing and brine composition on in modified Lowry method-assayed tyrosine content in brine extract of gutted Baltic herring meat

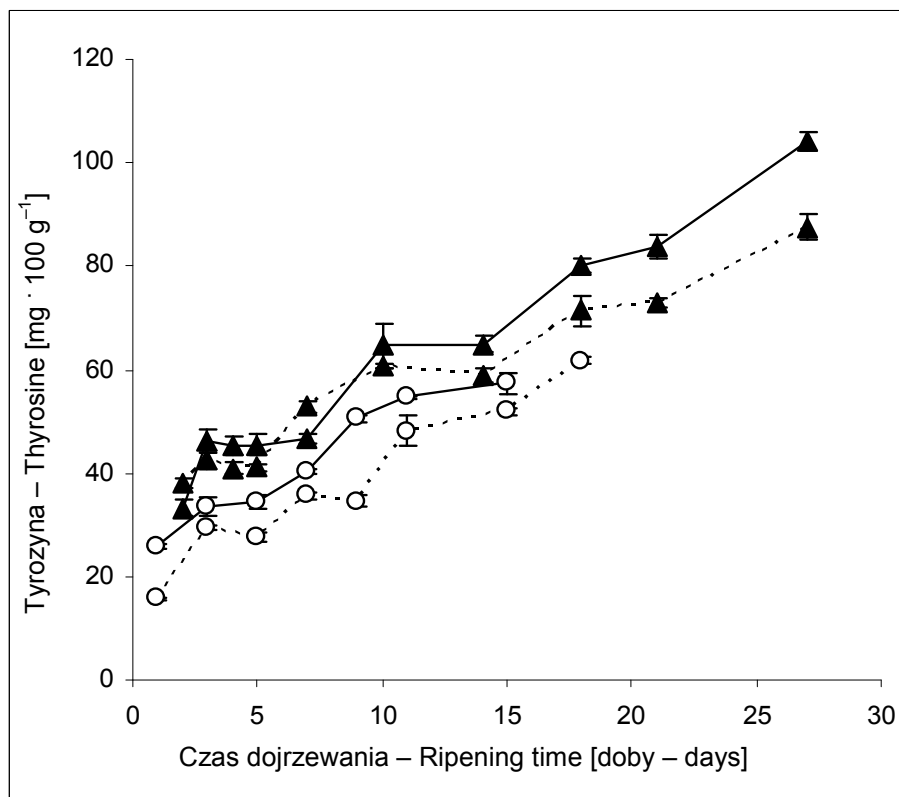
(—○—) świeży – unfrozen (12% NaCl),  
 (---○---) mrożony – frozen/thawed (12% NaCl),  
 (—▲—) świeży – unfrozen (12% NaCl + 0,7% CH<sub>3</sub>COOH),  
 (---▲---) mrożony – frozen/thawed (12% NaCl + 0,7% CH<sub>3</sub>COOH).



Rys. 4. Wpływ mrożenia surowca oraz składu solanki na ilość peptydów rozpuszczalnych w ekstrakcie solankowym tkanki śledzia bałtyckiego oznaczanych zmodyfikowaną metodą Lowry'ego

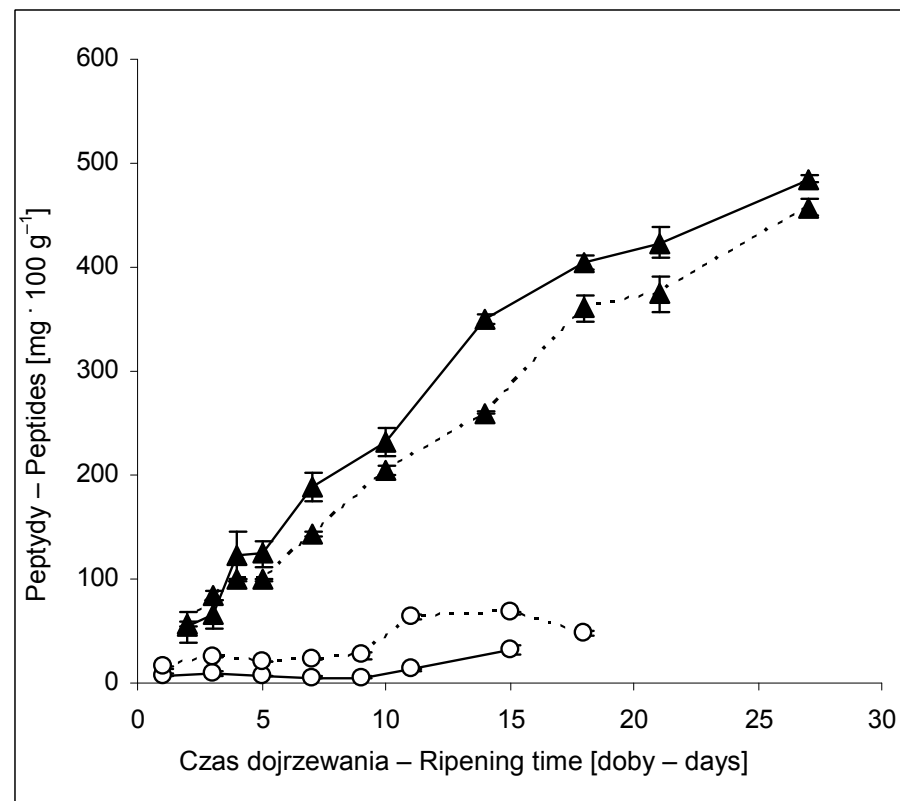
Fig. 4. Effect of raw material freezing and brine composition on in modified Lowry method-assayed peptide content in brine extract of gutted Baltic herring meat

(—○—) świeży – unfrozen (12% NaCl),  
 (---○---) mrożony – frozen/thawed (12% NaCl),  
 (—▲—) świeży – unfrozen (12% NaCl + 0,7% CH<sub>3</sub>COOH),  
 (---▲---) mrożony – frozen/thawed (12% NaCl + 0,7% CH<sub>3</sub>COOH).



Rys. 5. Wpływ mrożenia surowca oraz składu solanki na ilość tyrozyny rozpuszczalnej w ekstrakcie TCA mięsa odgłowiego i patroszonego śledzia bałtyckiego oznaczanej zmodyfikowaną metodą Lowry'ego  
 Fig. 5. Effect of raw material freezing and brine composition on in modified Lowry method-assayed tyrosine content in deproteinated extract of headed and gutted Baltic herring meat

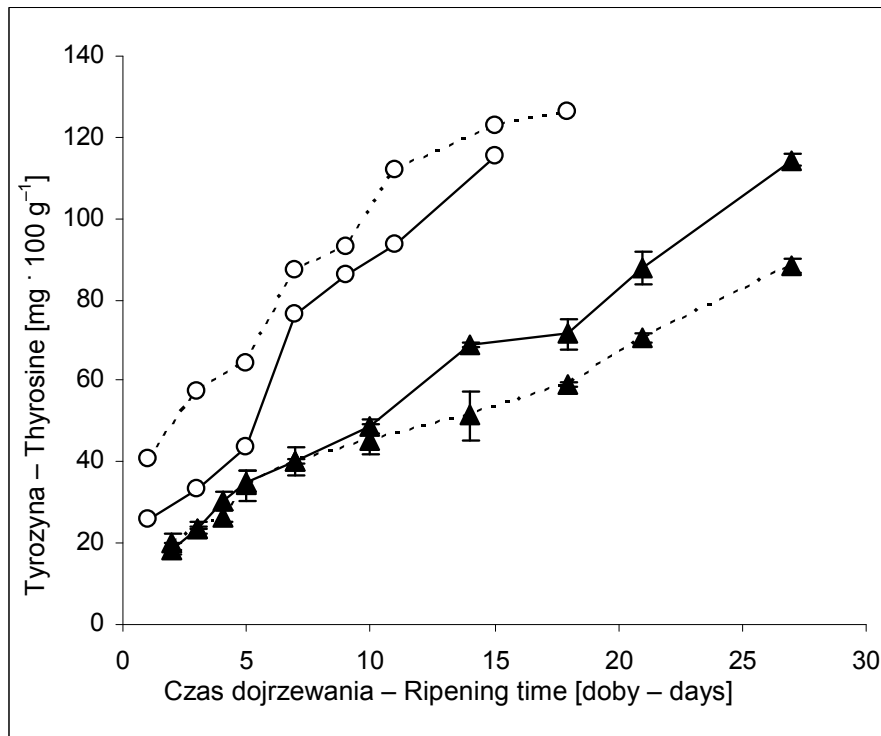
(—○—) świeży – unfrozen (12% NaCl),  
 (---○---) mrożony – frozen/thawed (12% NaCl),  
 (—▲—) świeży – unfrozen (12% NaCl + 0,7% CH<sub>3</sub>COOH),  
 (---▲---) mrożony – frozen/thawed (12% NaCl + 0,7% CH<sub>3</sub>COOH).



Rys. 6. Wpływ mrożenia surowca oraz składu solanki na ilość peptydów rozpuszczalnych w ekstrakcie TCA mięsa odgłowiego i patroszonego śledzia bałtyckiego oznaczanych zmodyfikowaną metodą Lowry'ego  
 Fig. 6. Effect of raw material freezing and brine composition on in modified Lowry method-assayed peptide content in deproteinated extract of headed and gutted Baltic herring meat

(—○—) świeży – unfrozen (12% NaCl),  
 (---○---) mrożony – frozen/thawed (12% NaCl),  
 (—▲—) świeży – unfrozen (12% NaCl + 0,7% CH<sub>3</sub>COOH),  
 (---▲---) mrożony – frozen/thawed (12% NaCl + 0,7% CH<sub>3</sub>COOH).

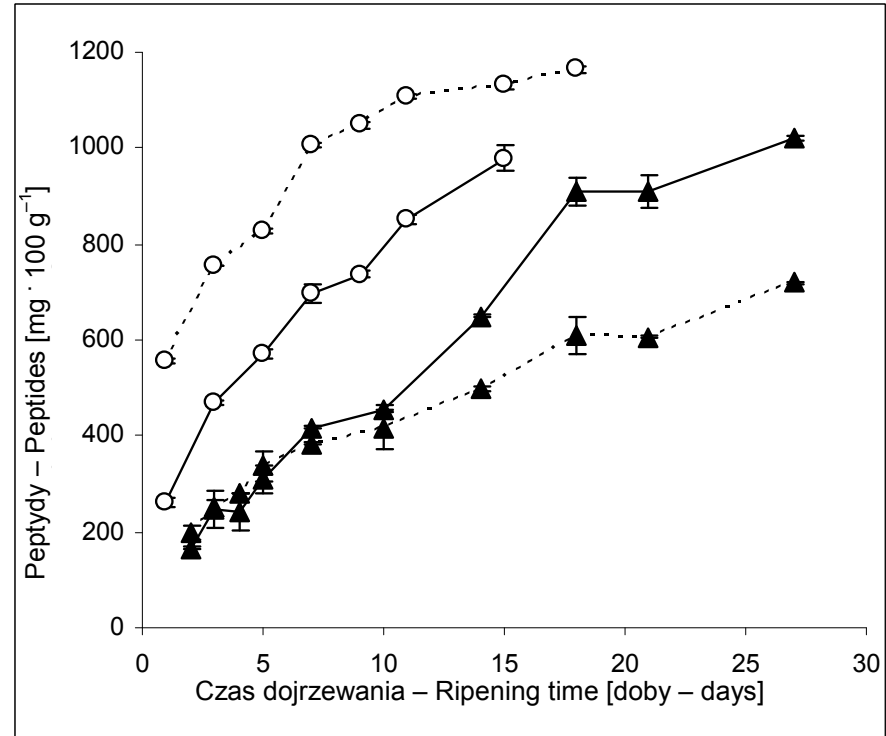




Rys. 7. Wpływ mrożenia surowca oraz składu solanki na ilości tyrozyny rozpuszczalnej w solance pozostałej po soleniu odgłowionego i patroszonego śledzia bałtyckiego, oznaczanej zmodyfikowaną metodą Lowry'ego

Fig. 7. Effect of raw material freezing and brine composition on in modified Lowry method-assayed tyrosine content in brine

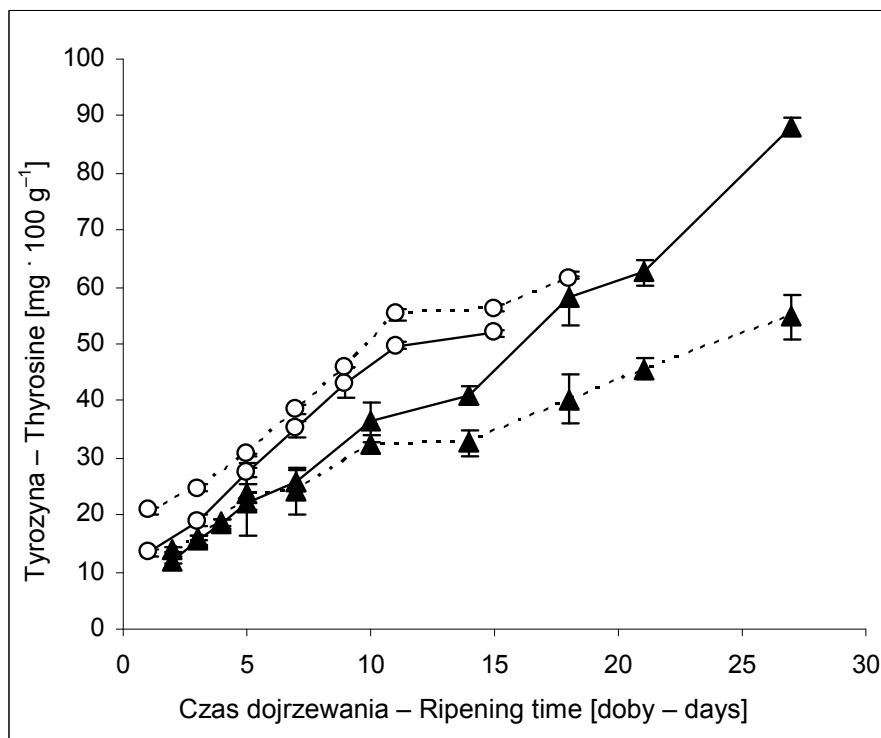
(—○—) świeży – unfrozen (12% NaCl),  
 (---○---) mrożony – frozen/thawed (12% NaCl),  
 (—▲—) świeży – unfrozen (12% NaCl + 0,7% CH<sub>3</sub>COOH),  
 (---▲---) mrożony – frozen/thawed (12% NaCl + 0,7% CH<sub>3</sub>COOH).



Rys. 8. Wpływ mrożenia surowca oraz składu solanki na ilości peptydów rozpuszczalnych w solance pozostałej po soleniu śledzia bałtyckiego, oznaczanych zmodyfikowaną metodą Lowry'ego

Fig. 8. Effect of raw material freezing and brine composition on in modified Lowry method-assayed peptide content in brine

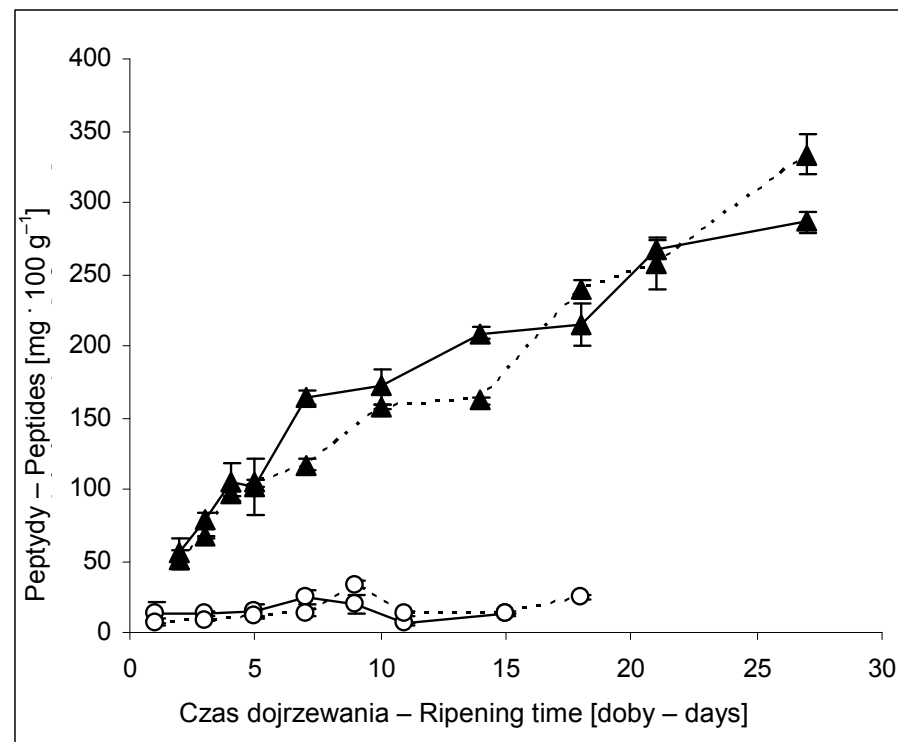
(—○—) świeży – unfrozen (12% NaCl),  
 (---○---) mrożony – frozen/thawed (12% NaCl),  
 (—▲—) świeży – unfrozen (12% NaCl + 0,7% CH<sub>3</sub>COOH),  
 (---▲---) mrożony – frozen/thawed (12% NaCl + 0,7% CH<sub>3</sub>COOH).



Rys. 9. Wpływ mrożenia surowca oraz składu solanki na ilość tyrozyny rozpuszczalnej w ekstrakcie TCA solanki pozostałej po soleniu odgłównionego i patroszonego śledzia bałtyckiego, oznaczonej zmodyfikowaną metodą Lowry'ego

Fig. 9. Effect of raw material freezing and brine composition on in modified Lowry method-assayed tyrosine content in deproteinated brine

(—○—) świeży – unfrozen (12% NaCl),  
 (---○---) mrożony – frozen/thawed (12% NaCl),  
 (—▲—) świeży – unfrozen (12% NaCl + 0,7% CH<sub>3</sub>COOH),  
 (---▲---) mrożony – frozen/thawed (12% NaCl + 0,7% CH<sub>3</sub>COOH).



Rys. 10. Wpływ mrożenia surowca oraz składu solanki na ilości peptydów rozpuszczalnych w ekstrakcie TCA solanki pozostałej po soleniu odgłównionego i patroszonego śledzia bałtyckiego, oznaczanych zmodyfikowaną metodą Lowry'ego

Fig. 10. Effect of raw material freezing and brine composition on in modified Lowry method-assayed peptide content in deproteinated brine

(—○—) świeży – unfrozen (12% NaCl),  
 (---○---) mrożony – frozen/thawed (12% NaCl),  
 (—▲—) świeży – unfrozen (12% NaCl + 0,7% CH<sub>3</sub>COOH),  
 (---▲---) mrożony – frozen/thawed (12% NaCl + 0,7% CH<sub>3</sub>COOH).

Tabela 1. Wpływ mrożenia surowca oraz składu solanki na wartości współczynników równania regresji liniowej, opisującego dynamikę zmian PHB rozpuszczalnych w ekstrakcie solankowym mięsa i solance solonego odgłowionego i patroszonego śledzia bałtyckiego, oznaczanych zmodyfikowaną metodą Lowry'ego

Table 1. Effect of raw material freezing and brine composition on dynamic changes linear equation coefficients values in modified Lowry method-assayed peptide content in brine and brine extract of headed and gutted Baltic herring meat

Frakcje PHB PHB fraction	Sposób zabezpieczenia surowca Method of raw material preservation N – niemrożony/ unfrozen M – mrożony/rozrożony frozen/thawed	Stężenie CH <sub>3</sub> COOH w 12% NaCl CH <sub>3</sub> COOH – concentration in 12% NaCl solution	Badany okres dojrzewania Tested ripening time (doby/ days)	Współczynniki równania Linear equation coefficients y = a + bx		Współczynnik determinacji Determination coefficient R <sup>2</sup>	
				a	b		
Mięso – Meat	Tyrozyna rozpuszczalna w NaCl NaCl soluble tyrosine	N	0	1 – 15	256,0	-4,96	0,910
		M	0	1 – 18	267,7	-6,56	0,612
		N	0,7	2 – 27	33,8	4,00	0,913
		M	0,7	2 – 27	47,6	2,75	0,957
	Peptydy rozpuszczalne w NaCl NaCl soluble peptides	N	0	1 – 15	3080,6	-36,01	0,484
		M	0	1 – 18	2523,7	-14,44	0,235
		N	0,7	2 – 27	172,8	26,00	0,900
		M	0,7	2 – 27	568,1	-9,17	0,405
Solanka – Brine	Tyrozyna rozpuszczalna w NaCl NaCl soluble tyrosine	N	0	1 – 15	17,7	6,86	0,958
		M	0	1 – 18	42,6	5,26	0,945
		N	0,7	2 – 27	14,1	3,59	0,987
		M	0,7	2 – 27	18,0	2,53	0,982
	Peptydy rozpuszczalne w NaCl NaCl soluble peptides	N	0	1 – 15	294,4	49,03	0,958
		M	0	1 – 18	660,9	33,50	0,827
		N	0,7	2 – 27	128,8	36,43	0,967
		M	0,7	2 – 27	208,4	19,95	0,970

Tabela 2. Wpływ mrożenia surowca oraz składu solanki na wartości współczynników równania regresji liniowej, opisującego dynamikę zmian PHB rozpuszczalnych w ekstrakcie TCA mięsa i solanki solonego odgłowionego i patroszonego śledzia bałtyckiego, oznaczanych zmodyfikowaną metodą Lowry'ego

Table 2. Effect of raw material freezing and brine composition on dynamic changes linear equation coefficients values in modified Lowry method-assayed PHB content in deproteinated brine and meat extract of headed and gutted salted Baltic herring

Frakcje PHB PHB fraction	Sposób zabezpieczenia surowca Method of raw material preservation N – niemrożony/ unfrozen M – mrożony/rozmrózony frozen/thawed	Stężenie CH <sub>3</sub> COOH w 12% NaCl CH <sub>3</sub> COOH – concentration in 12% NaCl solution	Badany okres dojrzewania Tested ripening time (doby/ days)	Współczynniki równania Linear equation coefficients y = a + bx		Współczynnik determinacji Determination coefficient R <sup>2</sup>	
				a	b		
Mięso – Meat	Tyrozyna rozpuszczalna w TCA TCA soluble thyrosine	N	0	1 – 15	24,9	2,40	0,940
		M	0	1 – 18	19,9	2,17	0,948
		N	0,7	2 – 27	33,0	2,56	0,968
		M	0,7	2 – 27	35,5	1,91	0,961
	Peptydy rozpuszczalne w TCA TCA soluble peptides	N	0	1 – 15	0,8	1,45	0,531
		M	0	1 – 18	12,2	2,79	0,624
		N	0,7	2 – 27	75,9	13,12	0,752
		M	0,7	2 – 27	30,6	16,5	0,990
Solanka – Brine	Tyrozyna rozpuszczalna w TCA TCA soluble thyrosine	N	0	1 – 15	12,2	3,03	0,944
		M	0	1 – 18	19,7	2,55	0,940
		N	0,7	2 – 27	6,3	2,86	0,987
		M	0,7	2 – 27	13,0	1,55	0,978
	Peptydy rozpuszczalne w TCA TCA soluble peptides	N	0	1 – 15	16,0	-0,15	0,014
		M	0	1 – 18	8,3	0,83	0,291
		N	0,7	2 – 27	65,8	8,95	0,934
		M	0,7	2 – 27	40,9	10,58	0,981

### **Wpływ mrożenia na przechodzenie PHB do solanki**

Zmiany PHB w macierzystej solance, jak i w jej ekstrakcie TCA potwierdzały hamujący wpływ mrożenia na dynamikę przyrostu badanych frakcji azotowych (rys. 7 i 8, tab. 1). Współczynnik b dla peptydów solanki zmalał o ponad 65% (bez dodatku kwasu) oraz ok. 45% (dodatek kwasu), a dla tyrozyny o ok. 23% (bez dodatku kwasu) oraz o ok. 29% (dodatek kwasu).

Zmiany PHB rozpuszczalnych w ekstrakcie TCA solanki były odzwierciedleniem zmian zachodzących w mięsie. Mrożenie surowca wpłynęło na spadek szybkości przechodzenia do solanki drobnocząsteczkowych substancji a wzrost szybkości przyrostu peptydów. Wartość współczynnika b dla tyrozyny zmalała o ok. 16% (solanka bez dodatku kwasu) i ok. 45% dla solanki zakwaszonej, natomiast dla frakcji peptydów wzrosła odpowiednio ok. 4,5-krotnie oraz o ok. 18% (tab. 2).

Solanka bez dodatku kwasu octowego (12% NaCl) zawierała więcej rozpuszczalnego białka, oznaczonego metodą biuretową niż solanka zakwaszona (12% NaCl + 0,7% CH<sub>3</sub>COOH), szczególnie w przypadku użycia mrożonego/rozmrożonego śledzia (rys. 11). Natomiast podczas solenia w zakwaszonym roztworze NaCl, mrożenie surowca od piątego dnia dojrzewania nie tylko nie powoduje przyrostu strat, ale nawet obniża je o ok. 20% w stosunku do surowca świeżego (do 14. dnia dojrzewania). Zmniejszenie szybkości strat białka jest szczególnie widoczne w drugiej połowie okresu solenia śledzia mrożonego/rozmrożonego w zakwaszonym roztworze soli (rys. 11).

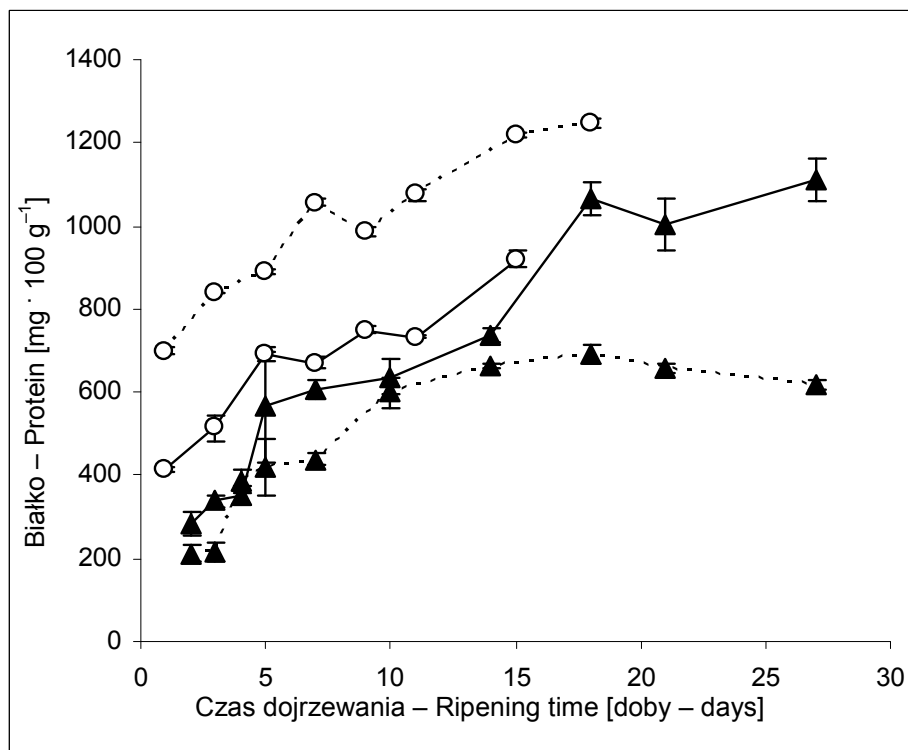
Białko przechodzące do solanki bez dodatku kwasu składa się głównie z frakcji strąconych TCA, podczas gdy białko solanki zakwaszonej zawiera głównie frakcje rozpuszczalne w TCA, czyli polipeptydy. Obecność kwasu w solance powoduje prawdopodobnie strącanie białek w mięsie solonego śledzia i w ten sposób zapobiega ich przechodzeniu do roztworu soli (rys. 12). Potwierdzają to dane dotyczące zmian zawartości PHB w ekstrakcie solankowym mięsa. Mięso śledzia solonego w samym roztworze soli zawiera znacznie więcej tych frakcji niż śledzia solonego w zakwaszonym roztworze soli (rys. 3 i 4).

Solanka śledzi solonych w 12-procentowym NaCl zawierała stosunkowo dużą ilość tyrozyny rozpuszczalnej w TCA a bardzo mało peptydów rozpuszczalnych w TCA, natomiast solanka śledzi solonych w 12-procentowym NaCl z dodatkiem 0,7% CH<sub>3</sub>COOH zawierała bardzo dużą ilość peptydów rozpuszczalnych w TCA i tylko nieco mniej tyrozyny w porównaniu z solanką śledzi solonych w samym roztworze NaCl (rys. 9 i 10). Oznacza to, że dodatek kwasu octowego do solanki intensyfikuje głównie proteolizę białek do peptydów rozpuszczalnych w TCA.

### **Wpływ mrożenia surowca na jakość sensoryczną oraz trwałość produktu**

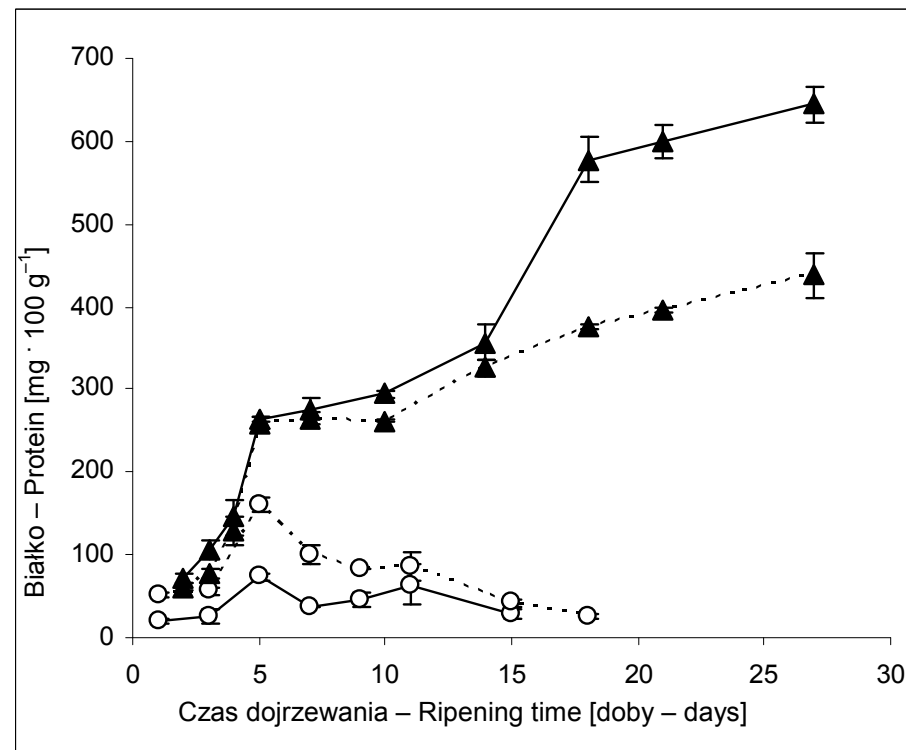
#### **Solenie w 12-procentowym roztworze NaCl bez dodatku CH<sub>3</sub>COOH**

Mrożenie surowca powodowało wyraźne przedłużenie trwałości śledzi solonych w roztworze NaCl bez dodatku kwasu octowego. Podczas gdy trwałość świeżych śledzi solonych, dojrzewających w 12-procentowym roztworze NaCl nie przekraczała 11 dni, to trwałość mrożonych i solonych śledzi wynosiła co najmniej 18 dni (tab. 3). Głównym ogranicznikiem trwałości świeżego solonego śledzia był pogarszający się zapach, który już po 11 dniach dojrzewania spadł do 2,5 punktu z powodu wyczuwalności zjełczenia, a po 15 dobach do 1 punktu z powodu wyczuwalności zapachu gnilnego. Także wygląd mięsa tych ryb przybierał w drugim tygodniu składowania nietypową sinoszarą barwę.



Rys. 11. Wpływ mrożenia surowca oraz składu solanki na ilość białka rozpuszczalnego w solance pozostałej po soleniu odgłowionego i patroszonego śledzia bałtyckiego, oznaczanego metodą biuretową  
 Fig. 11. Effect of raw material freezing and brine composition on in biuret method-assayed protein content in brine

(—○—) świeży – unfrozen (12% NaCl),  
 (---○---) mrożony – frozen/thawed (12% NaCl),  
 (—▲—) świeży – unfrozen (12% NaCl + 0,7% CH<sub>3</sub>COOH),  
 (---▲---) mrożony – frozen/thawed (12% NaCl + 0,7% CH<sub>3</sub>COOH).



Rys. 12. Wpływ mrożenia surowca oraz składu solanki na ilość białka rozpuszczalnego w ekstrakcie TCA solanki pozostałej po soleniu odgłowionego i patroszonego śledzia bałtyckiego, oznaczanego metodą biuretową  
 Fig. 12. Effect of raw material freezing and brine composition on in biuret method-assayed protein content in deproteinated brine

(—○—) świeży - unfrozen (12% NaCl),  
 (---○---) mrożony - frozen/thawed (12% NaCl),  
 (—▲—) świeży - unfrozen (12% NaCl + 0,7% CH<sub>3</sub>COOH),  
 (---▲---) mrożony - frozen/thawed (12% NaCl + 0,7% CH<sub>3</sub>COOH).

Tabela 3. Wpływ mrożenia surowca na wyniki analizy sensorycznej mięsa odgłowionego i patroszonego śledzia bałtyckiego, solonego metodą zalewową w 12-procentowym roztworze NaCl

Table 3. Effect of raw material freezing on sensory evaluation of headed and gutted Baltic herring meat, salting in 12% NaCl solution

Czas dojrzewania Ripening time [doby – days]	Świeży/niemrożony Fresh/unfrozen				Mrożony/rozmróźony Frozen/thawed			
	Wygląd (barwa) Apperance (color) [ $\bar{X} \pm SD$ ]	Tekstura Texture [ $\bar{X} \pm SD$ ]	Smak Taste [ $\bar{X} \pm SD$ ]	Zapach Flavour [ $\bar{X} \pm SD$ ]	Wygląd (barwa) Apperance (color) [ $\bar{X} \pm SD$ ]	Tekstura Texture [ $\bar{X} \pm SD$ ]	Smak Taste [ $\bar{X} \pm SD$ ]	Zapach Flavour [ $\bar{X} \pm SD$ ]
	1	4,0±0,32 <sup>a</sup>	1,0±0,55 <sup>a</sup>	1,0±0,32 <sup>a</sup>	2,0±0,45 <sup>a</sup> <sub>1</sub>	3,0±0,45 <sup>a</sup>	2,5±0,55	2,0±0,71
3	4,5±0,45 <sup>a</sup>	1,5±0,32 <sup>a</sup>	1,5±0,32 <sup>a</sup>	2,5±0,55 <sup>abc</sup> <sub>1</sub>	3,5±0,32 <sup>ab</sup>	3,5±0,55 <sup>a</sup>	3,0±0,63 <sup>a</sup>	2,5±0,45 <sup>a</sup> <sub>1</sub>
5	3,5±0,32 <sup>b</sup> <sub>1</sub>	4,0±0,32 <sup>b</sup> <sub>1</sub>	4,0±0,71 <sup>b</sup> <sub>1</sub>	3,0±0,32 <sup>bc</sup> <sub>1</sub>	4,0±0,71 <sup>b</sup> <sub>1</sub>	4,0±0,45 <sup>ab</sup> <sub>1</sub>	3,5±0,55 <sup>a</sup> <sub>1</sub>	3,5±0,63 <sup>b</sup> <sub>1</sub>
7	3,5±0,45 <sup>b</sup> <sub>1</sub>	4,5±0,32 <sup>b</sup> <sub>1</sub>	4,0±0,32 <sup>b</sup> <sub>1</sub>	3,5±0,55 <sup>c</sup> <sub>1</sub>	4,2±0,60 <sup>b</sup> <sub>1</sub>	4,0±0,55 <sup>ab</sup> <sub>1</sub>	3,5±0,55 <sup>a</sup> <sub>1</sub>	4,0±0,45 <sup>bc</sup> <sub>1</sub>
9	3,0±0,45 <sup>b</sup>	4,5 ±0,32 <sup>b</sup> <sub>1</sub>	3,5±0,45 <sup>bc</sup>	3,0±0,71 <sup>c</sup>	4,0±0,32 <sup>b</sup>	4,5±0,45 <sup>b</sup> <sub>1</sub>	4,5±0,32 <sup>b</sup>	4,0±0,32 <sup>bc</sup>
11	3,0±0,55 <sup>b</sup>	4,2±0,24 <sup>b</sup> <sub>1</sub>	3,0±0,32 <sup>cd</sup>	2,5±0,32 <sup>abc</sup>	3,9±0,37 <sup>b</sup>	4,5±0,45 <sup>b</sup> <sub>1</sub>	4,5±0,63 <sup>b</sup>	4,5±0,63 <sup>c</sup>
15	2,0±0,45 <sub>1</sub>	3,5±0,55	2,5±0,55 <sup>d</sup>	1,0±0,45	3,5±0,63 <sup>ab</sup> <sub>1</sub>	4,5±0,55 <sup>b</sup>	4,5±0,45 <sup>b</sup>	4,5±0,63 <sup>c</sup>
18	–	–	–	–	4,0±0,45 <sup>b</sup>	4,5±0,32 <sup>b</sup>	4,0±0,32 <sup>ab</sup>	4,0±0,00 <sup>bc</sup>

a, b, c, d Wartości w kolumnie oznaczone tymi samymi małymi literami nie różnią się istotnie przy  $p \leq 0,05$  – Means denoted with the same superscripts in a column do not significantly differ at  $p \leq 0.05$ .

<sup>1</sup> Wartości w wierszach oznaczone tą samą liczbą nie różnią się istotnie w obrębie tych samych wyróżników sensorycznych przy  $p \leq 0,05$  – Means denoted with the same number in a row do not significantly differ at  $p \leq 0.05$  within the same features of sensory evaluation.

SD – odchylenie standardowe – standard deviation.

Średnie noty oceny sensorycznej świeżego solonego śledzia były o 0,5–1,5 punktu niższe niż mrożonego/rozmrożonego solonego śledzia (tab. 3). Najlepszą jakość solonego półproduktu z surowca świeżego uzyskiwano w okresie 7–9 dni, pomimo pogarszającej się barwy mięsa, a z surowca mrożonego w okresie 5–11 dni dojrzewania. W pierwszym tygodniu składowania mrożony/rozmrożony solony śledź wykazywał o co najmniej dwa dni wcześniej dostateczne oznaki dojrzewania (średnia nota 3,5 punktu) niż świeży solony śledź, co wynikało głównie ze zmian tekstury i smaku półproduktu (tab. 3). Generalnie, mrożenie patroszonego śledzia bałtyckiego przyspieszało proces jego dojrzewania w 12-procentowym roztworze NaCl, co uwidaczniało się zarówno w szybkości proteolizy (w pierwszych 3–5 dniach dojrzewania), jak i zmianach tekstury mięsa. Jednak średnie noty oceny sensorycznej filetów śledzia solonego w samym roztworze chlorku sodowego były niższe niż w roztworze zakwaszonym (tab. 3 i 4).

### **Solenie w 12-procentowym roztworze NaCl z dodatkiem 0,7% CH<sub>3</sub>COOH**

Okres trwałości śledzi inkubowanych w solance z dodatkiem kwasu octowego wynosił 21 dni w przypadku surowca mrożonego/rozmrożonego i 27 dni w przypadku świeżego surowca, jednak najlepszą jakość produktu uzyskiwano w okresie odpowiednio: 3–10 i 3–14 dni składowania. Średnia punktacja za cechy sensoryczne mrożonego solonego śledzia była co najmniej o jeden punkt niższa w okresie najwyższej jakości niż dla śledzia świeżego solonego (tab. 4).

Niska ocena wyglądu solonych śledzi z surowca mrożonego w początkowym okresie składowania (po dwóch dobach) została spowodowana występowaniem białych „złogów-burzyn” białka na wewnętrznej powierzchni tusz. Pochodziły one prawdopodobnie z wycieku zamrażalniczego. W przypadku świeżych solonych śledzi oznak takich nie stwierdzono.

Najlepszą teksturę wykazywał solony śledź z surowca świeżego po pięciu dobach dojrzewania, chociaż noty najwyższe przyznano śledziom już po czterech dobach, a utrzymywały się one aż do 10. dnia dojrzewania (tab. 4). Odkórzone filety, w ocenie doustnej charakteryzowały się miękką, jednorodną i soczystą teksturą wskazującą na bardzo prawidłowy proces dojrzewania podczas solenia w zakwaszonej solance. Tekstura ta nie była jednak w pełni jednolita na całej długości fileta. Przy podziale poprzecznym fileta na pięć równych części, najlepszą konsystencję wykazywały trzy części środkowe, a najgorszą część ogonowa i przygłowowa.

Produkt ze śledzia mrożonego/rozmrożonego nie osiągał tak wysokich ocen, jak produkt ze śledzia świeżego. Najwyższą notę (4,0) za teksturę osiągnął po dziesięciu dobach dojrzewania. Okres dość dobrej tekstury (3,5 punktu lub wyżej) występował pomiędzy piątym i osiemnastym dniem składowania. Jednak już po 14 dobach pojawiły się pierwsze oznaki oślizgłości na wewnętrznej powierzchni filetów mrożonych/rozmrożonych solonych śledzi, które w dalszym okresie przechowywania nasilały się tak, że po 21 dobach były już bardzo wyraźne. Ponadto filety z mrożonych/rozmrożonych solonych śledzi były bardziej podatne na rozwarstwienie mięśni wzdłuż kręgosłupa niż solone filety z ryb świeżych. Także zapach jełki mrożonych/rozmrożonych solonych śledzi pojawiał się dość wcześnie po czternastym dniu składowania był lekko wyczuwalny, a w dalszym okresie dojrzewania nasilał się, powodując w konsekwencji obniżenie not za zapach i smak (tab. 4). Aromat mięsa mrożonych/rozmrożonych solonych śledzi był uboższy niż świeżych solonych śledzi, przez co wyraźniej wyczuwało się zapach octu. Wad takich nie stwierdzono w tym okresie w świeżym solonym śledziu. Pierwsze oznaki zjełczenia świeżego solonego śledzia pojawiały się dopiero po 27 dobach składowania.



Tabela 4. Wpływ mrożenia surowca na wyniki analizy sensorycznej mięsa odgłowionego i patroszonego śledzia bałtyckiego, solonego metodą zalewową w 12-procentowym roztworze NaCl z dodatkiem 0,7% CH<sub>3</sub>COOH

Table 4. Effect of raw material freezing on sensory evaluation of headed and gutted Baltic herring meat, salting in 12% NaCl solution with 0.7% CH<sub>3</sub>COOH addition

Czas dojrzewania Ripening time [doby – days]	Świeży/niemrożony Fresh/unfrozen				Mrożony/rozrożony Frozen/thawed			
	Wygląd (barwa) Apperance (color)	Tekstura Texture	Smak Taste	Zapach Flavour	Wygląd (barwa) Apperance (color)	Tekstura Texture	Smak Taste	Zapach Flavour
	[ $\bar{X} \pm SD$ ]	[ $\bar{X} \pm SD$ ]	[ $\bar{X} \pm SD$ ]	[ $\bar{X} \pm SD$ ]	[ $\bar{X} \pm SD$ ]	[ $\bar{X} \pm SD$ ]	[ $\bar{X} \pm SD$ ]	[ $\bar{X} \pm SD$ ]
2	3,5±0,32 <sup>ad</sup>	3,0±0,45 <sup>b</sup>	3,5±0,45 <sup>cd</sup>	3,0±0,63 <sup>a</sup> <sub>1</sub>	2,5±0,32 <sup>c</sup>	2,0±0,45 <sup>a</sup>	2,5±0,55 <sup>a</sup>	3,0±0,63 <sup>ad</sup> <sub>1</sub>
3	4,0±0,32 <sup>ab</sup> <sub>1</sub>	4,5±0,55 <sup>a</sup>	5,0±0,00 <sup>a</sup>	3,5±0,45 <sup>ab</sup> <sub>1</sub>	3,5±0,63 <sup>ab</sup> <sub>1</sub>	2,5±0,55 <sup>ab</sup>	3,0±0,45 <sup>ab</sup>	3,0±0,45 <sup>ad</sup> <sub>1</sub>
4	4,0±0,45 <sup>ab</sup> <sub>1</sub>	5,0±0,00 <sup>a</sup>	5,0±0,00 <sup>a</sup>	4,0±0,45 <sup>bc</sup> <sub>1</sub>	4,0±0,55 <sup>a</sup> <sub>1</sub>	3,0±0,45 <sup>bc</sup>	3,0±0,32 <sup>ab</sup>	4,0±0,45 <sup>b</sup> <sub>1</sub>
5	4,5±0,55 <sup>bc</sup>	5,0±0,00 <sup>a</sup>	5,0±0,00 <sup>a</sup>	4,5±0,55 <sup>cd</sup> <sub>1</sub>	3,5±0,32 <sup>ab</sup>	3,5±0,55 <sup>cd</sup>	3,5±0,32 <sup>bc</sup>	4,0±0,55 <sup>b</sup> <sub>1</sub>
7	5,0±0,00 <sup>c</sup>	5,0±0,00 <sup>a</sup>	5,0±0,00 <sup>a</sup>	5,0±0,00 <sup>d</sup>	4,0±0,32 <sup>a</sup>	3,7±0,24 <sup>cd</sup>	4,0±0,63 <sup>c</sup>	4,0±0,45 <sup>b</sup>
10	5,0±0,00 <sup>c</sup>	5,0±0,00 <sup>a</sup>	4,5±0,32 <sup>ab</sup> <sub>1</sub>	4,5±0,45 <sup>cd</sup>	4,0±0,71 <sup>a</sup>	4,0±0,32 <sup>d</sup>	4,0±0,32 <sup>c</sup> <sub>1</sub>	3,7±0,24 <sup>bc</sup>
14	4,5±0,55 <sup>bc</sup>	4,5±0,32 <sup>a</sup>	4,0±0,32 <sup>bc</sup> <sub>1</sub>	4,0±0,32 <sup>bc</sup> <sub>1</sub>	3,7±0,68 <sup>a</sup>	3,8±0,24 <sup>d</sup>	4,0±0,32 <sup>c</sup> <sub>1</sub>	3,5±0,45 <sup>ab</sup> <sub>1</sub>
18	4,0±0,63 <sup>ab</sup> <sub>1</sub>	4,5±0,32 <sup>a</sup>	4,0±0,32 <sup>bc</sup> <sub>1</sub>	4,0±0,32 <sup>bc</sup>	3,5±0,45 <sup>ab</sup> <sub>1</sub>	3,5±0,32 <sup>cd</sup>	3,5±0,55 <sup>bc</sup> <sub>1</sub>	3,2±0,24 <sup>ac</sup>
21	3,5±0,45 <sup>ad</sup> <sub>1</sub>	3,5±0,71 <sup>b</sup> <sub>1</sub>	3,5±0,32 <sup>cd</sup> <sub>1</sub>	3,5±0,45 <sup>ab</sup> <sub>1</sub>	3,0±0,32 <sup>bc</sup> <sub>1</sub>	3,5±0,45 <sup>cd</sup> <sub>1</sub>	3,0±0,45 <sup>ab</sup> <sub>1</sub>	3,0±0,32 <sup>ad</sup> <sub>1</sub>
27	3,0±0,32 <sup>d</sup> <sub>1</sub>	3,0±0,32 <sup>b</sup> <sub>1</sub>	3,0±0,32 <sup>d</sup> <sub>1</sub>	3,0±0,45 <sup>a</sup> <sub>1</sub>	2,7±0,51 <sup>c</sup> <sub>1</sub>	3,0±0,32 <sup>bc</sup> <sub>1</sub>	2,7±0,60 <sup>ab</sup> <sub>1</sub>	2,5±0,89 <sup>d</sup> <sub>1</sub>

a, b, c, d Wartości w kolumnie oznaczone tymi samymi małymi literami nie różnią się istotnie przy  $p \leq 0,05$  – Means denoted with the same superscripts in a column do not significantly different at  $p \leq 0,05$ .

<sup>1</sup> Wartości w wierszach oznaczone tą samą liczbą nie różnią się istotnie w obrębie tych samych wyróżników sensorycznych przy  $p \leq 0,05$  – Means denoted with the same number in a row do not significantly different at  $p \leq 0,05$  within the same features of sensory evaluation.

SD – odchylenie standardowe – standard deviation.

## DYSKUSJA

Otrzymane wyniki badań świadczą o znacznym wpływie mrożenia na proces dojrzewania śledzia bałtyckiego podczas zalewowego solenia. Występujące różnice zależały jednak nie tylko od sposobu zabezpieczenia surowca lecz również od składu solanki.

Mrożenie powodowało spadek zawartości wody w badanym surowcu (rys. 2). Spadek wodochłonności surowca mrożonego spowodowany był denaturacją zamrażalniczą białek, będącą wynikiem powstających wiązań disulfidowych, wodorowych i hydrofobowych w aktomiozynie (Chen i in. 1989) lub dodatkowo agregacją peptydów (Herrero i in. 2005). Ponadto surowiec mrożony charakteryzował się niższą wartością pH mięsa niż świeży (rys. 1). Mrożenie i rozmrażanie powoduje skurcz miofibrilii i zwiększenie dodatkowego miejsca komórkowego (Sigurgisladottir i in. 2000) oraz inne uszkodzenia komórki (Ma i Yamanaka 1991), co może prowadzić do zmiany równowagi osmotycznej i siły jonowej wpływającej w konsekwencji na zmianę pH mięsa (Einen i in. 2002). Obniżenie wartości pH mogło dodatkowo zwiększyć utratę wody podczas solenia. Dojrzewanie surowca w zakwaszonej solance potwierdza tę zależność. Zarówno w surowcu świeżym, jak i mrożonym odnotowano spadek ilości wody w mięsie badanego półproduktu w porównaniu z surowcem dojrzewającym w solance bez kwasu (rys. 2). Dodatek kwasu, a dodatkowo jego szybkie wniknięcie do tkanki mięsnej ryby, zmniejsza wydajność półproduktu poprzez zmniejszenie wodochłonności mięsa (Kołakowski i Bednarczyk 2002).

Mrożenie surowca przed soleniem w solance bez dodatku kwasu octowego przyspieszało proces dojrzewania w czasie pierwszych dni i przedłużało trwałość solonych śledzi. Nie można więc wykluczyć, że podczas solenia w solance bez dodatku kwasu octowego mrożenie spełnia rolę aktywatora proteaz mięśniowych, szczególnie tych, które odpowiadają za degradację białka do drobnocząsteczkowych pochodnych, rozpuszczalnych w NaCl oraz peptydów rozpuszczalnych w TCA. Potwierdza to znany w piśmiennictwie fakt aktywującego wpływu mrożenia na proteolizę wskutek przenikania enzymów do tkanki mięśniowej z uszkodzonych organelli komórkowych, takich jak lizosomy, mitochondria (Karvinen i in. 1982; French i in. 1988; Nambudiri i Gopakumar 1990). Yamashita (1993) wykazał, że aktywność katepsyny L, uwolnionej z lizosomów w niemrożonym mięsie rośnie stopniowo w czasie składowania łososia, podczas gdy w zamrożonym mięsie największa aktywność katepsyny L uwolnionej do wycieku zamrażalniczego jest zaraz po rozmrożeniu.

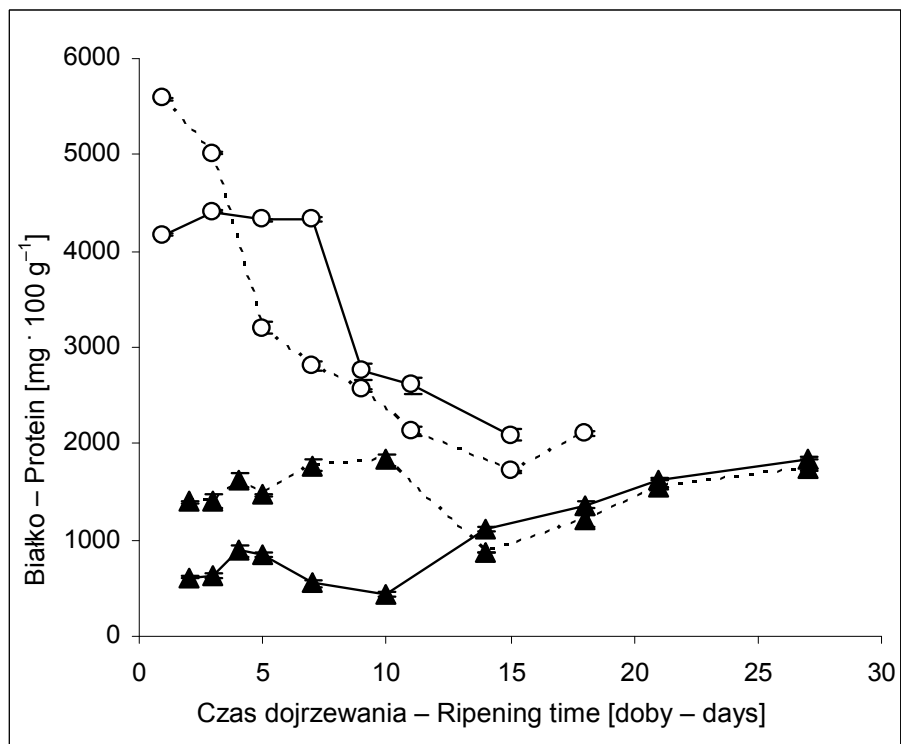
Dojrzewanie śledzi w solance z dodatkiem kwasu octowego było bardziej hamowane w wyniku mrożenia surowca. Odbijało się ono ujemnie zarówno na jakości sensorycznej mięsa, jak również na szybkości proteolizy. Ponadto mrożenie opóźniało o ok. dwie doby moment osiągnięcia pełnej dojrzałości mrożonego/rozmrożonego śledzia solonego w solance z dodatkiem kwasu octowego. Oznacza to, że podczas solenia mrożonego/rozmrożonego śledzia w zakwaszonym środowisku, mrożenie surowca sprzyja denaturacji enzymów wraz z innymi białkami mięśniowymi podczas procesu dojrzewania. Prawdopodobnie białka wstępnie zdenaturowane pod wpływem mrożenia łatwiej denaturują się również pod wpływem działania soli w pH zbliżonym do punktu izoelektrycznego. W badaniach prowadzonych z użyciem inhibitorów potwierdzono, że aktywność katepsyn mięśniowych takich jak pepstatyno- i leupeptynoczułe katepsyny mięśniowe okazuje się najważniejsza w procesie dojrzewania patroszonego śledzia bałtyckiego solonego w zakwaszanej solance (Kołakowski i in. 1998; Kołakowski 2005). Proteazy te wyprowadzone z lizosomów do soku tkankowego

w wyniku mrożenia mogą być bardziej podatne na denaturację podczas dojrzewania w warunkach obniżonego pH, niż pozostające w pierwotnych organellach. Deng (1977) wykazał, że zamrażanie i rozmrażanie przyspiesza wnikanie soli w rybę podczas solenia zalewowego, co może być dodatkowym czynnikiem odpowiedzialnym za denaturację enzymów podczas procesu solenia w słono-kwaśnym medium.

Pośrednim potwierdzeniem tych założeń jest stwierdzenie wyjątkowo dużej ilości białek mięsa rozpuszczalnych w NaCl oraz 5-procentowym TCA w mrożonym/rozrożonym śledziu, solonym metodą zalewową w początkowym okresie dojrzewania i szybki spadek ilości tych frakcji w dalszym okresie dojrzewania ryb w 12-procentowym roztworze NaCl (rys. 13 i 14). W śledziu solonym w zakwaszonej solance ilość białek rozpuszczalnych w ekstrakcie NaCl mięsa była bardzo mała w porównaniu ze śledziem solonym w solance bez dodatku kwasu octowego (rys. 13), natomiast znacznie wzrósł udział drobnocząsteczkowej frakcji PHB, rozpuszczalnej w ekstrakcie TCA mięsa, po pięciu dobach dojrzewania, w wyniku wzrostu aktywności enzymów tkankowych typu egzoptydaz (rys. 14).

Wpływ mrożenia surowca na szybkość zmian PHB najbardziej jednak udało się potwierdzić na sumarycznej ilości produktów powstających podczas dojrzewania solonego śledzia (mięso + solanka), przeliczonej na 100 g surowca (tab. 5). Z porównań wartości współczynnika b wynika, że mrożenie surowca zmniejsza szybkość powstawania PHB, szczególnie peptydów (ok. 5-krotnie) podczas solenia bez dodatku kwasu octowego i tyrozyny (ok. 6-krotnie) podczas solenia z dodatkiem kwasu octowego, dla frakcji rozpuszczalnych w solance i ekstrakcie solankowym mięsa, natomiast w przypadku frakcji rozpuszczalnej w 5-procentowym TCA zmiany te były łagodniejsze i wyniosły odpowiednio o ok. 4% i ok. 7,5% (tab. 5). Kwas octowy również wpływał na zmiany szybkości przyrostu tych substancji, szczególnie we frakcji rozpuszczalnej w NaCl. W przypadku tyrozyny stwierdzono wzrost szybkości jej zmian, natomiast we frakcji peptydów odnotowano zahamowanie szybkości ich przyrostu (tab. 5). Ponadto wyższe wartości współczynnika „a” w próbach przygotowanych z surowca mrożonego niż świeżego świadczą o tym, że mrożenie przyczynia się do zwiększenia ilości PHB. Szczególnie dotyczy to białek solanki oraz białek mięsa ekstrahowanych za pomocą solanki z dodatkiem kwasu octowego (tab. 1 i 2).

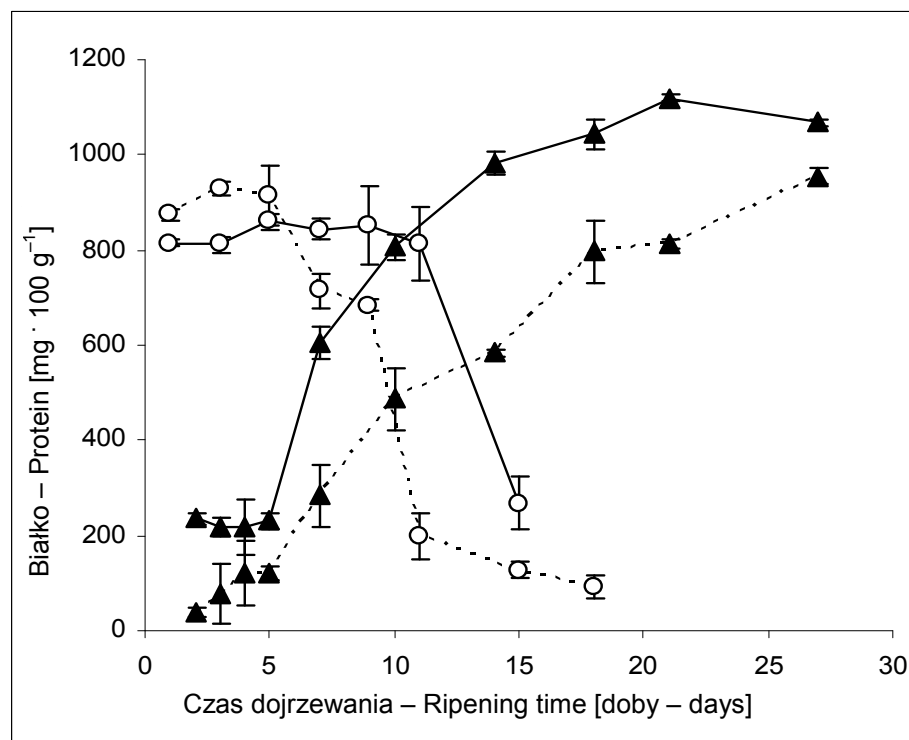
Generalnie śledź solony w zakwaszonej solance wykazywał dużo lepszą jakość niż śledź solony w obojętnej solance, niezależnie od sposobu zabezpieczenia surowca. Najlepszą jakość wykazywały jednak śledzie solone w stanie świeżym (niemrożonym). Potwierdza to wykazaną wcześniej (Kołakowski i Bednarczyk 2003) wysoką skuteczność zakwaszenia solanki kwasem octowym dla intensyfikacji procesu dojrzewania odgłowionego i patroszonego śledzia bałtyckiego podczas solenia zalewowego (Kołakowski i in. 2008). W dojrzewaniu mięsa tusz śledzia solonego w zakwaszonej solance biorą udział zatem w pierwszym etapie głównie endopeptydazy (katepsyny D, B1, H, L i E), a dopiero później zaczynają dominować egzoptydazy (katepsyny A, B2 i C). Wzrost wysycenia mięsa śledzia solą w czasie jego dojrzewania może hamować działanie katepsyny D (Siebert i in. 1965), jednakże wyniki uzyskane w niniejszej pracy (ciągły przyrost peptydów) wskazują na to, że podczas solenia surowca w 12-procentowym roztworze NaCl taki proces nie zachodzi. Znany jest także wpływ NaCl na aktywność katepsyn cysteinowych. Jiang i in. (1996) stwierdzili ok. 32-procentową utratę aktywności katepsyn B, L i L-podobnych podczas mieszania rozdrobnionego mięsa makreli z dodatkiem 2,5% NaCl, ale również zdolność do hydrolizy białka surimi w obecności 0,6 M NaCl. Hara i in. (1988) wykazali natomiast, że aktywność katepsyny B rośnie w obecności 0,1–0,5 M NaCl.



Rys. 13. Wpływ mrożenia surowca oraz składu solanki na ilość białka rozpuszczalnego w ekstrakcie solankowym mięsa odgłowiego i patroszonego śledzia bałtyckiego oznaczanego metodą biuretową

Fig. 13. Effect of raw material freezing and brine composition on in biuret method-assayed protein content in brine extract of headed and gutted Baltic herring meat

(—○—) świeży – unfrozen (12% NaCl),  
 (---○---) mrożony – frozen/thawed (12% NaCl),  
 (—▲—) świeży – unfrozen (12% NaCl + 0,7% CH<sub>3</sub>COOH),  
 (---▲---) mrożony – frozen/thawed (12% NaCl + 0,7% CH<sub>3</sub>COOH).



Rys. 14. Wpływ mrożenia surowca oraz składu solanki na ilość białka rozpuszczalnego w ekstrakcie TCA mięsa odgłowiego i patroszonego śledzia bałtyckiego oznaczanego metodą biuretową

Fig. 14. Effect of raw material freezing and brine composition on in biuret method-assayed protein content in deproteinated extract of headed and gutted Baltic herring meat

(—○—) świeży – unfrozen (12% NaCl),  
 (---○---) mrożony – frozen/thawed (12% NaCl),  
 (—▲—) świeży – unfrozen (12% NaCl + 0,7% CH<sub>3</sub>COOH),  
 (---▲---) mrożony – frozen/thawed (12% NaCl + 0,7% CH<sub>3</sub>COOH).

Tabela 5. Wpływ mrożenia surowca oraz składu solanki na wartości współczynników równania regresji liniowej, opisującego sumaryczną dynamikę zmian PHB rozpuszczalnych w solance i ekstrakcie solankowym mięsa oraz ekstrakcie TCA solanki i mięsa solonego śledzia bałtyckiego, w przeliczeniu na 100 g surowca, oznaczanych zmodyfikowaną metodą Lowry'ego  
 Table 5. Effect of raw material freezing and brine composition on dynamic changes linear equation coefficients values in modified Lowry method-assayed PHB content in brine and brine extract of Baltic herring meat as well as in deproteinated brine and deproteinated extract of Baltic herring meat per 100g of raw material

Frakcje PHB (mięso + solanka)/ 100g surowca PHB fraction (meat + brine)/ 100 g of raw material	Sposób zabezpieczenia surowca Method of raw material preservation N – niemrożony/unfrozen M – mrożony/rozmrózony frozen/thawed	Stężenie CH <sub>3</sub> COOH w 12% NaCl CH <sub>3</sub> COOH – concentration in 12% NaCl solution	Badany okres dojrzewania Tested ripening time (doby/days)	Współczynniki równania Linear equation coefficients y = a + bx		Współczynnik determinacji Determination coefficient
				a	b	R <sup>2</sup>
Tyrozyna rozpuszczalna w NaCl NaCl soluble tyrosine	N	0	1 – 15	273,8	1,90	0,757
	M	0	1 – 18	292,8	0,27	0,009
	N	0,7	2 – 27	47,9	7,59	0,974
	M	0,7	2 – 27	65,6	5,28	0,985
Peptydy rozpuszczalne w NaCl NaCl soluble peptides	N	0	1 – 15	3340,5	22,05	0,206
	M	0	1 – 18	3184,6	19,05	0,188
	N	0,7	2 – 27	301,6	62,44	0,952
	M	0,7	2 – 27	776,6	10,78	0,375
Tyrozyna rozpuszczalna w TCA TCA soluble tyrosine	N	0	1 – 15	37,1	5,43	0,949
	M	0	1 – 18	36,5	5,02	0,966
	N	0,7	2 – 27	39,4	5,42	0,983
	M	0,7	2 – 27	48,5	3,46	0,978
Peptydy rozpuszczalne w TCA TCA soluble peptides	N	0	1 – 15	9,4	2,81	0,901
	M	0	1 – 18	28,9	2,25	0,719
	N	0,7	2 – 27	104,7	27,73	0,968
	M	0,7	2 – 27	74,4	26,68	0,991

Kolejność działania katepsyn może wynikać z samej specyficzności katepsyn, jak również z faktu, że katepsyna D sprzyja uwalnianiu innych wewnątrzkomórkowych proteaz (An i in. 1994). W przypadku solenia tuszek śledziowych w samym roztworze NaCl większą rolę przypisuje się jednak kalpainom i katepsynie B i L. Biorąc pod uwagę optymalne pH hydrolizy białek miofibrylarnych i cytoszkieletowych, katepsyna B, L i kalpainsy są odpowiedzialne za ich rozkład

bardziej niż katepsyna D, ponieważ pH optymalne dla działania katepsyny B i L (pH 5,5–6,5) – (Lee i in. 1993; Jiang i in. 1994) oraz kapalin (pH 7,0–7,5) jest bliższe pH mięsa postmortem niż katepsyny D (pH 3,5–4,5) – (Jiang 2000). W przypadku stosowania zakwaszonej solanki pH środowiska ulega obniżeniu do poziomu aktywującego katepsynę D (rys. 1), dzięki czemu profil dojrzewania jest pełniejszy, a uzyskany produkt cechuje się lepszymi parametrami tekstury i smaku. Zakwaszenie solanki spełnia w tym wypadku rolę podobnego czynnika aktywującego enzymy odpowiedzialne za proces dojrzewania odgłowionego i patroszonego śledzia bałtyckiego jak mrożenie/rozmrzanie, jednak bez ujemnego wpływu na proteolizę i jakość sensoryczną produktu.

## WNIOSKI

1. Mrożenie odgłowionego i patroszonego śledzia bałtyckiego hamuje dynamikę wzrostu PHB podczas jego solenia, szczególnie tyrozyny, a w mniejszym stopniu peptydów.
2. Dodatek kwasu octowego do solanki potęguje hamujący wpływ mrożenia na szybkość przyrostu PHB.
3. Mrożony, odgłowiony i patroszony śledź bałtycki, solony w 12-procentowym roztworze soli w temp.  $7 \pm 1^\circ\text{C}$  uzyskuje o ok. dwóch dni wcześniej dobrą dojrzałość sensoryczną i zachowuje ją prawie dwukrotnie dłużej niż śledź świeży (niemrożony).
4. Podczas solenia odgłowionego i patroszonego śledzia bałtyckiego w 12-procentowym roztworze soli z dodatkiem 0,7% kwasu octowego, mrożenie/rozmrzanie surowca opóźnia proces dojrzewania o ok. dwie doby, pogarsza walory sensoryczne produktu, z wyjątkiem barwy i wyglądu, a także skraca okres przydatności śledzia o jeden tydzień.
5. Śledź solony w solance z dodatkiem kwasu octowego charakteryzował się lepszymi cechami organoleptycznymi niż śledź solony w samym roztworze chlorku sodu.

## PIŚMIENNICTWO

- An H., Weerasinghe V., Seymour A.T., Morrissey M.T.** 1994. Cathepsin degradation of Pacific whiting surimi proteins. *J. Food Sci.* 59 (5), 1013–1017, 1033.
- AOAC.** 1996. Official methods of analysis 952.08. Water content in seafood. Assoc. Offi. Analytic. Chemists.
- Aoki T., Ueno R.** 1997. Involvement of cathepsins B and L in the post-mortem autolysis of mackerel muscle. *Food Res. Int.* 30 (8), 585–591.
- Baldrati G., Cassarà A., Guidi G., Pirazzoli P., Porretta A.** 1975. Processing technology of anchovies. I - Maturation of fresh and frozen anchovies in salt. *Ind. Conserve.* 50, 261–266.
- Baryłko-Pikielna N.** 1975. Zarys analizy sensorycznej żywności. T. IX. WNT, Warszawa, 270–273.
- Chen C.S., Hwang D.C., Jiang S.T.** 1989. Effect of storage temperatures on the formation of disulfides and denaturation of milkfish myosin (*Chanos chanos*). *J. Agric. Food Chem.* 37, 1228–1231.
- Delbarre-Ladrat C., Verrez-Bagnis V., Noël J., Fleurence J.** 2004. Relative contribution of calpain and cathepsins to protein degradation in muscle of sea bass (*Dicentrarchus labrax*, L.) *Food Chem.* 88, 389–395.
- Delbarre-Ladrat C., Chéret R., Taylor R., Verrez-Bagnis V.** 2006. Trends in postmortem aging in fish: Understanding of proteolysis and disorganization of the myofibrillar structure. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 46, 409–421.

- Deng J.C.** 1977. Effect of freezing and frozen storage on salt penetration into fish muscle immersed in brine. *J. Food Sci.* 42, 348–351.
- Dixon M., Webb E.C.** 1971. *Enzymes*. Longman. Londyn.
- Einen O., Guerin T., Fjæra S.O., Skjervold P.O.** 2002. Freezing of pre-rigor fillets of Atlantic salmon. *Aquaculture* 212, 129–140.
- Etherington D.J.** 1984. The contribution of proteolytic enzymes to postmortem changes in muscle. *J. Anim. Sci.* 59 (6), 1644–1650.
- French J.S., Kramer D.E., Kennish J.M.** 1988. Protein hydrolysis in coho and sockeye salmon during partially frozen storage. *J. Food Sci.* 53, 1014–1019.
- Godiksen H., Morzel M., Hyldig G., Jessen F.** 2009. Contribution of cathepsins B, L and D to muscle protein profiles correlated with texture in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Food Chem.* 113, 889–896.
- Gornall A.G., Bardawill G.S., David M.M.** 1949. Determination of serum proteins by the means of biuret reactions. *J. Biol. Chem.* 177, 751–766.
- Grabda J.** 1991. *Outline of Marine Fish Parasitology*. Polish Sci. Publ., PWN, Warszawa.
- Hara K., Suzumatsu A., Ishihara T.** 1988. Purification and characterization of cathepsin B from carp ordinary muscle. *Nippon Suisan. Gakk.* 54, 1243–1252.
- Ho M.L., Chen H.G., Jiang S.T.** 2000. Effects of mackerel cathepsins L and L-like, and calpain on the degradation of mackerel surimi. *Fish. Sci.* 66, 558–568.
- Herrero A.M., Carmona P., Garca M.L., Solas M.T., Careche M.** 2005. Ultrastructural changes and structure and mobility of myowater in frozen-stores hake (*Merluccius merluccius*, L.) muscle: relationship with functionality and texture. *J. Agric. Food Chem.* 53 (7), 2558–2566.
- Hughes M.C., Healy Â., McSweeney P.L.H., O'Neill E.E.** 2000. Proteolytic specificity of cathepsin D on bovine F-actin. *Meat. Sci.* 56, 165–172.
- Ilian M.A., Bickerstaffe R., Greaser M.L.** 2003. Postmortem changes in myofibrillar-bound calpain 3 revealed by immunofluorescence microscopy. *Meat. Sci.* 66, 231–240.
- Ilian M.A., Bekhit A., Bickerstaffe R.** 2004a. The relationship between meat tenderisation, myofibril fragmentation and autolysis of calpain 3 during post-mortem aging. *Meat. Sci.*, 66, 317–327.
- Ilian M.A., Bickerstaffe R., Greaser M.L.** 2004b. Postmortem changes in myofibrillar-bound calpain 3 revealed by immunofluorescence microscopy. *Meat. Sci.*, 66, 231–240.
- Jasińska M.** 1998. Solenie śledzi – nowe możliwości. *Mag. Przem. Ryb.* 3 (7), 28–29.
- Jiang S.T., Lee T.C.** 1985. Changes in free amino acids and protein denaturation of fish muscle during frozen storage. *J. Agric. Food Chem.* 33, 839–844.
- Jiang S.T.** 1998. Contribution of muscle proteinases to meat tenderization (Review). *Proceedings of the National Science Council, ROC. Part B: L. Sci.* 22 (3), 97–107.
- Jiang S.T.** 2000. Enzymes and their effects on seafood texture [in: *Seafood Enzymes*]. Eds. N.F. Haard and B.K. Simpson. New York Basel: Marcel Dekker, 411–450.
- Jiang S.T., Wang Y.T., Chen C.S.** 1992a. Lysosomal enzyme effect on the postmortem changes in tilapia (*Tilapia nilotica* X *T. aurea*). *J. Food. Sci.* 57(2), 277–279.
- Jiang S.T., Nei F.P., Chen H.C., Wang J.H.** 1992b. Comparative study on the cathepsin D from banded shrimp (*Panaeus japonicus*) and grass shrimp (*Panaeus mondon*). *J. Agric. Food Chem.* 40, 961–966.
- Jiang S.T., Lee J.J., Chen H.C.** 1994. Purification and characterization of cathepsin B from ordinary muscle of mackerel (*Scomber australasicus*) *J. Agric. Food Chem.* 42 (5), 1073–1079.
- Jiang S.T., Lee J.J., Chen H.C., Wang J.H.** 1996. Ptoteolysis of actomyosin by cathepsins B, L, L-like and X from mackerel (*Scomber australasicus*). *J. Agric. Food Chem.* 44, 769–773.
- Karaçam H., Boran M.** 1996. Quality changes in frozen whole and gutted anchovies during storage at –18°C. *Int. J. Food Sci. Technol.* 31, 527–531.
- Karvinen V.P., Bamford D.H., Granroth B.** 1982. Changes in muscle subcellular fractions of Baltic herring (*Clupea harengus membras*) during cold and frozen storage. *J. Sci. Food Agric.* 33, 763–770.

- Kinbara K., Ishiura S., Tomioka S., Sorimachi H., Jeong S. Y., Amano S., Kawasaki H., Kilmerer B., Kimura S., Labeit S., Suzuki K.** 1998. Purification of native p94, a muscle-specific calpain, and characterization of its autolysis. *Biochem. J.* 335, 589–596.
- Kołodziejska A.** 1981. The rancidity of frozen Baltic herring prepared from raw material with different initial freshness. *Refrig. Sci. Technol.* 4, 341–348.
- Kołodziejska A.** 2005. Enzymy i ich wykorzystanie w modyfikacji białek żywnościowych [w: Enzymatyczna modyfikacja składników żywności]. Red. E. Kołodziejska, W. Bednarski, S. Bielecki. Wydaw. AR Szczec., Szczecin, 31–99.
- Kołodziejska A., Bednarski W.** 2002. Physical and sensory changes in headed and gutted Baltic herring during immersed salting in brine with the addition of acetic acid. Part 1. Weight losses, color of flesh and its sensory properties, *EJPAU* 5 (2), <http://www.ejpau.media.pl/volume5/issue2/food/art-09.html>.
- Kołodziejska A., Bednarski W.** 2003. Changes in headed and gutted Baltic herring during immersed salting in brine with the addition of acetic acid part 2. Intensity of proteolysis. *EJPAU* 6 (1), <http://www.ejpau.media.pl/volume6/issue1/food/art-10.html>.
- Kołodziejska A., Bednarski W., Tokarczyk G.** 1998. Wpływ inhibitorów i katalizatorów enzymatycznych na dynamikę proteolizy w mięsie solonego śledzia bałtyckiego. XXIX Sesja Naukowa KTiChŻ PAN, Olsztyn 21–23 września 1998 r., 212.
- Kołodziejska A., Bednarski W., Nowak B.** 2000. Oznaczanie produktów hydrolizy białka zmodyfikowaną metodą Lowry'ego. XXXI Sesja Naukowa KTiChŻ PAN, Poznań 14–15 września 2000 r., 125.
- Kołodziejska A., Bednarski W., Tokarczyk G., Lisiecki S.** 2008. Sposób zalewowego solenia tuszek i filetów śledziowych. Patent RP nr PL 199061.
- Kołodziejska A., Sikorski Z.E.** 1995. Muscle cathepsins of marine fish and invertebrates. *Pol. J. Food Nutr. Sci.* 4 (45), 3–10.
- Koohmaraie M.** 1994. Muscle proteinases and meat aging. *Meat Sci.* 36 (1/2) 93–104.
- Koohmaraie M., Crouse J.D., Mersmann H.J.** 1989. Acceleration of postmortem tenderization in ovine carcasses through infusion of calcium chloride: effect of concentration and ionic strength. *J. Anim. Sci.* 67, 934–942.
- Ladrat C., Verrez-Bagnis V., Noël J., Fleurence J.** 2003. In vitro proteolysis of myofibrillar and sarcoplasmic proteins of white muscle of sea bass (*Dicentrarchus labrax*, L.): effects of cathepsins B, D and L. *Food Chem.* 81, 517–525.
- Lee J.J., Chen H.C., Jiang S.T.** 1993. Purification and characterization of proteinases identified as cathepsin L and L-like (58 kDa) from mackerel (*Scomber australasicus*). *Biosci. Biotech. Biochem.* 57, 1470–1476.
- Levanidov I.P., Ionas G.P., Slučkaja T.N.** 1987. Technologija solenych, kopčenyh i vialenych rybnyh produktov. *Agropromizdat, Moskwa*, 15–20.
- Lowry O.H., Rosebrough N.J., Farr A.L., Randall R.J.** 1951. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 193 (1), 265–75.
- Ma L.B., Yamanaka H.** 1991. Studies of thaw-rigor in red-sea bream and carp muscles. *Nippon Suisan Gakk.* 57, 1365–1368.
- Mackie I.M.** 1993. The effects of freezing on flesh proteins. *Food Rev. Int.* 9, 575–610.
- Makinodan Y., Toyohara H., Ikeda S.** 1983. Combined action of carp muscle cathepsins A and D on proteins. Short Paper. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.* 49 (7), 1153.
- Matsumoto T., Okitani A., Kitamura Y., Kato H.** 1983. Mode of degradation of myofibrillar proteins by rabbit muscle cathepsin D. *Biochim. Biophys. Acta* 755, 76–80.
- Nambudiri D.D., Gopakumar K.** 1990. Effect of freezing and thawing on press juice enzyme activity in the muscle of farmed fish and shellfish. I.I.F – I.I.R, Aberdeen, UK Commission, 183–187.
- Nunes M.L., Campos R.M., Batista I.** 1997. Sardine ripening: evolution of enzymatic, sensorial and biochemical aspects [in: *Seafood from Producer to Consumer, Integrated Approach to Quality*]. Eds. J.B. Luten, T. Børresen and J. Oehlenschläger. Elsevier Science B.V., 319–330.



- Paredi M.E., De Vido de Mattio N., Crupkin M.** 1996. Biochemical properties of actomyosin and expressible moisture of frozen stores striated adductor muscle of *Aulacomya ater ater* (Molina): effects of polyphosphates. *J. Agric. Food Chem.* 44 (10), 3108–3112.
- PN74-A-86761 Ryby świeże.** Chłodzenie lodem wodnym.
- PN-ISO 8586-2:1996 Analiza sensoryczna.** Ogólne wytyczne wyboru, szkolenia i monitorowania oceniających. Eksperti.
- PN-C-84081-2:1998 Sól. (Chlorek sodu). Sól spożywcza.**
- PN-72/A-79733 Ocet spirytusowy.**
- Podeszewski Z., Jasińska M.** 1974. Wpływ wielokrotnego zamrażania na aktywność katepsyn mięśniowych śledzia bałtyckiego. *Przem. Spoż.* XXVIII, 403–406.
- Podeszewski Z., Jasińska M.** 1975. Wpływ wybranych czynników fizykochemicznych na aktywność katepsyn mięśniowych śledzia bałtyckiego (*Clupea harengus*, L.). *Przem. Spoż.* nr VII, 311–313.
- Siebert G., Schmitt A., Malovie R.** 1965. Reinigung und Eigenschaften von Dorschmuskel-Kathepsin. *Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem.* 342, 20–39.
- Sigurgisladottir S., Ingvarsdottir H., Torrissen O.J., Cardinal M., Hafsteinsson H.** 2000. Effects of freezing/thawing on the microstructure and the texture of smoked Atlantic salmon (*Salmo salar*) filets. *Food Res. Int.* 33, 857–865.
- Sikorski Z.E.** 1996. Charakterystyka białek – głównych surowców żywnościowych [w: *Chemiczne i funkcjonalne właściwości składników żywności*. Red. Z.E. Sikorski. Wyd. II. WNT, Warszawa, 286–352.
- Sikorski Z.E., Kołakowska A.** 1990. Freezing of marine food [in: *Seafood: resources, nutritional composition, and preservation*]. Ed. Z.E. Sikorski CRC Press, London, 111–124.
- Sikorski Z.E., Kołakowski E.** 2000. Endogenous enzyme activity and seafood quality. Influence of chilling, freezing and other environmental factors [in: *Seafood Enzymes*]. Eds. N.F. Haard and B.K. Simpson. New York Basel: Marcel Dekker, 451–487.
- Sikorski Z., Olley J., Kostuch S.** 1976. Protein changes in frozen fish. *CRC Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 8, 97–129.
- Sorimachi H., Kinbara K., Kimura S., Takahashi M., Ishiura S., Sasagawa N., Sorimachi N., Shimada H., Tagawa K., Maruyama K., Suzuki K.** 1995. Muscle-specific calpain, p94, responsible for limb-girdle muscular dystrophy type 2 A, associates with connectin through IS2, a p94-specific sequence. *J. Biol. Chem.* 270, 31158–31162.
- Stefánsson G., Nielsen H.H., Skåra T., Schubring R., Oehienschläger J., Luten J., Derrick S., Gudmundsdóttir G.** 2000. Frozen herring as raw material for spice-salting. *J. Sci. Food Agric.* 80, 1319–1324.
- Yamashita M.** 1993. Studies on cathepsins in the muscle of chum salmon. *Bull. Natl. Res. Inst. Fish. Sci.* 5, 9–116.
- Yamashita M., Kongaya S.** 1991. Immunochemical localization of cathepsin B and L in the white muscle of chum salmon (*Oncorhynchus keta*) in spawning migration probable participation of phagocytes rich in cathepsins in extensive muscle softening of the mature salmon. *J. Agric. Food Chem.* 39, 1402–1405.