ISSN 0209-2069

ZESZYTY NAUKOWE NR 72
WYŻSZEJ SZKOŁY MORSKIEJ
SZCZECIN 2003

WYDZIAŁ INŻYNIERYJNO-EKONOMICZNY TRANSPORTU

Tadeusz Witas
Grzegorz Mołodowicz

Badanie jakości towarów z krajów zamorskich
Cz. II. Warunki fizykochemiczne uwalniania i oznaczania dialdehydu malonowego (MDA) w ziarnach kakaowych i ich produktach

W procesach przetwórczych, podczas przewozów i składowania, złożone przemiany fermentacyjne w ziarnach kakaowych, w czasie suszenia i prażenia mogą powodować oksydację lipidów, których ocena jest nieodzowna ze względów żywieniowych i zdrowotnych. Skłoniła ona do doświadczalnego ustalenia optymalnych warunków fizykochemicznych uwalniania MDA metodą hydrolizy alkalicznej z zastosowaniem reagenta tiobarbiturowego (TBA) do oceny jakości surowców i produktów kakaowych, jako obiektywnego wskaźnika – markera towarowego.

Ustalone parametry oznaczania objęły: masę próbki od 0,1 do 0,3 g, hydrolizę wodnym roztworem w 20 cm^3 0,35 N NaOH, w czasie 5 minut we wrzącej łaźni wodnej, kolejno obniżenie pH do 0,5 za pomocą 30 cm^3 0,35 N HCl, destylację do objętości 100 cm^3, z wywołaniem reakcji barwnej z TBA i oznaczeniem absorbancji przy długości fali 532 nm oraz podanie wartości w mg MDA na kg surowca/produktu, tj. w liczbach TBA.

Potwierdza się, że niskie zawartości dialdehydu malonowego w kakao i wyrobach z ziarna kakaowego czynią je bezpiecznymi w żywieniu człowieka.

Testing the Quality of Overseas Goods
P. II. Physical and Chemical Conditions of Releasing and Determination of Malonic Dialdehyde (MDA) in Cocoa Beans and Its Products

During processing, transport and storage the complex fermentation transformations in cocoa beans are likely to cause lipid oxidation during drying and roasting, which must be unconditionally estimated due to nutrition and health considerations. This has prompted us to determine in an experimental way the optimal physical and chemical conditions for MDA release by the method of alkaline hydrolysis applying a thiobarbiturate agent (TBA) for the assessment of the quality of raw materials and cocoa products as an objective index and a goods marker.

The established determination parameters covered: a sample mass from 0.1 to 0.3 g. hydrolysis with a water solution in 20 cm^3 0.35 N NaOH, 5 minutes' time in a boiling water bath, successively decreasing the pH to 0.5 by means of 30 cm^3 0.35 N HCl, distillation to 100 cm^3, producing a colour reaction with TBA and determining absorbance at a wavelength of 532nm and giving the value in mg MDA per kg of raw material/product, i.e. in TBA numbers.

It has been confirmed that low contents of malonic dialdehyde in cocoa and cocoa bean products make them safe in the nutrition of man.

Wprowadzenie

Największe nasilenie zainteresowań nad autooksydacją, polimeryzacją, oksydacją i kopolimeryzacją tłuszczów i olejów oraz biooksykopolimerów pochodzenia miażdżycowego wynika z problemów związanych z najważniejszymi, najbardziej powszechnymi typami zjełczenia oksydatywnego, które występują w surowcach, towarach naturalnych i w tkankach żywych organizmów.

Tlen atmosferyczny odgrywa decydującą rolę w wielu dziedzinach nowoczesnego przemysłu spożywczego, paszowego i transportu. Oksydacja tłuszczów spowodowana agresywnością tlenu jest przyczyną zmiany jakości tłuszczów, towarów białkowo-tłuszczowych. Zachodzą zmiany barwy, smakowitości produktów, obniżenie przyswajalności składników odżywczych oraz znacznej liczby powikłań patologicznych w żywych organizmach, a nawet przy długoletnim ich oddziaływaniu w konsekwencji powodują zgony ludzi. Jednym z ważnych i rozpowszechnionych towarów o względnie wysokiej zawartości tłuszczów jest kakao. Ziarna kakaowców są surowcem wykorzystywanym w przemyśle głównie spożywczym, podlegającym złożonym procesom przetwórczym i przewożonym w zmiennych warunkach transportu międzykontynentalnego.

Ziarno pozyskuje się z owoców o masie średnio 0,4 kg. Pod łupiną w słodkim miąższu, w pięciu rzędach znajduje się od 30 do 50 ziaren. Smak surowych ziaren jest gorzki i cierpki, spowodowany dużą zawartością substancji garbnikowych [30]. Świeże ziarno jest miękkie i nie nadaje się do spożycia ani przetwórstwa. Odpowiedni surowiec z ziarna kakaowego otrzymuje się po fermentacji, suszeniu i prażeniu. Celem fermentacji jest nadanie ziarnom odpowiedniego zapachu, smaku i barwy, usunięcie miąższu i zatrzymanie zdolności kiełkowania [37]. Wytworzone związki aromatyczne podczas fermentacji nadają charakterystyczny zapach czekolady w procesie suszenia i prażenia. Nieprawidłowo przeprowadzona fermentacja osłabia właściwy aromat i zmienia zapach. Fermentacja ziarna typu Criollo trwa 1–3 dni a typu Forastero 3–7 dni. Metody procesu fermentacji wymagają zachowania określonych zasad [37]:

- kiełkowanie ziarna musi dokonać się w pierwszym stadium fermentacji beztlenowej (martwe ziarno nie daje zapachu czekoladowego);
- ziarno po skiełkowaniu musi pozostać przez dłuższy czas w dużym kopcu lub zbiorniku pod przykryciem; w temperaturze 45°C do 46°C nie uzyskuje się właściwego zapachu czekolady i barwy brązowej, lecz purpurową;
- przez mieszanie masy usuwa się CO_2 i doprowadza tlen, w której zaczynają dominować procesy utleniania i kondensacji;
- z pulpy ziarna odprowadza się drenażowo wyciek cieczy;
- gdy faza beztlenowa jest zbyt krótka, w ziarnie może nie wytworzyć się odpowiednia ilość prekursorów zapachowych i aromatów oraz substancji smakowych. Wtedy, choć aromat jest wyczuwalny, ziarno jest gorzkie i zawiera zbyt dużo garbników.

Następną fazą podczas procesu naturalnego suszenia na słońcu w ciągu od 1 do 2 tygodni są zmiany chemiczne w ziarnie, które utrwalają się. Prażenie jest główną operacją technologiczną w procesie przerobu ziarna kakaowego [37, 59].

W praktyce stosuje się trzy metody prażenia: całych ziaren, śruty kakaowej i miazgi kakaowej. Przed magazynowaniem w silosach ziarno dosusza się do 5% zawartości wody. Podczas prażenia zawartość wody spada do 1%, a liczba drobnoustrojów z 10^8 ogólnej ich liczby obniża się do 1000 na g [35, 37, 56]. Prażenie dla szlachetniejszych odmian ziarna prowadzi się w temperaturze 120°C, dla pozostałych w temperaturze 125 do 140°C [27]. Najodpowiedniejszym do prażenia ziarna jest promieniowanie podczerwone lub promieniowanie gamma. Podczas prażenia lub innej obróbki cieplnej woda paruje, łuska wysycha i twardnieje. Ziarno powiększa objętość o 20 do 30%. Ciśnienie pary wodnej powoduje odłuszczenie ziarna. Jądro uwalnia się od łuski i staje się gumowato-miękkie. Z jądra i łuski uwalnia się około czterystu związków lotnych. Cenne substancje aromatyczne w ziarnie kakaowym należą do związków trudno lotnych: maltopochodne i kwasy aromatyczne. Istotna w wyborze metody prażenia

jest zawartość trudno lotnych związków aromatycznych w fazie tłuszczowej i nietłuszczowej.

Średnio lotne substancje aromatyczne zawierają pewne ilości pirazyn, które podczas obróbki cieplnej tworzą związki furylowe, np. linalol nadający kwiatowy zapach i smak, szczególnie w ziarnie kakaowym Arriba, pochodzącym z Trynidadu i Wenezueli [30]. Nie powinna zaś wytworzyć się furyloakroleina [44]. Łatwo lotne aldehydy powstają z aminokwasów, których ubytek polepsza smak produktu. Powstawanie polifenoli wpływa na intensywność aromatu, odbiera się również wrażenie smaku „ściągającego". Reakcje Maillarda przyczyniają się do powstawania substancji aromatycznych. Przekroczenie zalecanej temperatury prażenia powoduje nadmierną koncentrację, np. dimetylopirazyny nadającej zapach przypalenizny. Dobór właściwej temperatury procesu prażenia wpływa decydująco na smak i zapach kakao. Większą równomierność ogrzewania osiąga się podczas prażenia śruty ziarna kakaowego i dobór właściwego czasu prażenia [27, 30, 35, 37, 56]. Podczas prażenia tworzy się znaczna ilość cukrów redukujących i ma miejsce uwalnianie aminokwasów, co powoduje intensyfikację aromatu.

Niektórzy producenci wyrobów czekoladowych w tym celu natryskują śrutę lub miazgę kakaową roztworami cukrów redukujących podczas intensywnego mieszania. W procesie prażenia przyjęto oznaczać pirazynę jako substancję do oceny tego procesu. Stosunkiem pirazyn dimetylowych i trimetylowych do tetrametylowych określa się stopień uprażenia masy kakaowej [59].

Uprażoną śrutę kakaową poddaje się mieleniu, z której wytłacza się tłuszcz, a pozostały kuch (wytłoki) ochładza się i rozdrabnia. Następnie masę poddaje się mieleniu i przesiewaniu do postaci proszku kakaowego, stanowiącego popularne kakao. Półproduktami z ziarna kakaowego są: tłuszcz – jako masło kakaowe, kakao do produkcji czekolady i wyrobów cukierniczych oraz kakao do różnych mieszanek odżywczych [2, 13, 19, 30, 36].

Z handlowego punktu widzenia rozróżnia się dwa zasadnicze typy ziarna kakaowego: Criollo i Forastero. Criollo ma owoce brodawkowate o wydłużonych końcach, przed fermentacją barwy białej lub bladoszkarłatnej. Ziarno cechuje łagodny, przyjemny smak i mocny aromat. Uważane jest za ziarno najwyższej jakości i klasyfikowane jako kakao szlachetne. Do typu Criollo zalicza się Maracaibo, Puerto Cabello, Carracas, Cejlon, Jawa, Careneru i Samoa [34]. Forestero ma owoce o powierzchni gładszej, barwie żółtej lub czerwonej. Ziarno drobne i bardziej płaskie, o smaku gorzkawo-cierpkim, klasyfikowane jest jako „kakao konsumpcyjne". Forestero jest odporne na choroby i warunki klimatyczne, mają większą wydajność. Do typu Forastero zalicza się podtypy: Calabacillo, Angoletta, Amelodano i Cundeamor [18]. Do typu Forastero zalicza się gatunki handlowe Ghana, Accra, Nigeria, Lagos, Ivory Cost, San Thome, Bahia i Togo [18–20, 24–25, 31, 43, 46, 55–59].

W literaturze dotychczas nie natrafiono na sposób uwalniania dialdehydu malonowego metodą hydrolizy alkalicznej jako miernika jakości oksydacji lipi-

dów towarów zamorskich, które charakteryzują się specyfiką aktywności antyutleniaczy i/lub substancji redukujących. Do takich należą ziarna kakaowe i produkty pochodne przewożone, często w różnych warunkach drogą morską [2, 8, 14–16]. Złożone procesy fermentacji w ziarnach kakaowych oraz podczas suszenia i prażenia mogą powodować oksydacje lipidów, których ocena jest nieodzowna ze względów żywieniowych i zdrowotnych.

Część doświadczalna

Metoda, zakres badań, materiały, odczynniki i aparatura

Badanie polega na doświadczalnym ustaleniu optymalnych warunków uwalniania dialdehydu malonowego w wysoko tłuszczowych produktach kakaowych metodą hydrolizy alkalicznej z zastosowaniem reagenta tiobarbiturowego (TBA). Optymalizacja parametrów fizykochemicznych metodą TBA ma umożliwić obiektywną ocenę jakości surowców i produktów kakaowych w każdym etapie przerobu, przechowywania i transportu.

Wybór próbek ziaren kakaowych, sposób i warunki ich rozdrabniania oraz sposób wyrażania wyników oznaczeń z odczytów przedstawiono w pracy wstępnej [1].

W metodzie tej wyróżniono następujący zakres badań doświadczalnych, wymagających ustalenia optymalnych parametrów fizykochemicznych:

- stopnia i czasu hydrolizy alkalicznej: hydrolizę próbek o masie od 0,1 do 0,3 g z ziaren kakaowych i kakao przeprowadzono w kolbach stożkowych o pojemności 0,5 l z chłodnicą zwrotną we wrzącej łaźni wodnej w 20 cm^3 wodnego roztworu NaOH, w zakresie normalności od 0,1 do 2,0 N w ciągu 5 minut, zaś badanie czasu hydrolizy prowadzono w przedziale od 1 do 30 minut w roztworach wodnych NaOH o stężeniu 0,35 N;
- stopnia zakwaszenia zhydrolizowanych alkalicznie próbek. Po hydrolizie alkalicznej kolbę z zawartością próbki poddaje się w ciągu 2 minut ochłodzeniu w wodzie bieżącej, następnie dodaje się 5–8 g NaCl czda. i zakwasza nadmiarem wodnego roztworu 0,35 N HCl. Ochłodzenie zhydrolizowanych próbek ma na celu uniknięcie strat MDA z parą wodną, pozwala utrzymać wyznaczony czas hydrolizy. Dodatek chlorku sodu do hydrolizatu po zakwaszeniu zapobiega pienieniu się próbek podczas destylacji, co znacznie ułatwia przebieg tego procesu. Dodatkowo NaCl zwiększa efektywność rozdziału produktów oksydacji podczas destylacji oraz zmniejsza rozpuszczalność tlenu w hydrolizacie wraz ze wzrostem stężenia soli [48];
- stopnia destylacji hydrolizatów próbek. Po zakwaszeniu zhydrolizowanej alkalicznie próbki i dodaniu NaCl, kolbę stożkową o pojemności

0,5 l łączono ze szklanym aparatem do destylacji pośredniej z parą wodną, w której jest rozpuszczony MDA celem uzyskania czystego klarownego destylatu – roztworu wody z aldehydem;
- za optymalny czas wywoływania reakcji barwnej przyjęto 30 minut ustalone wcześniej [48].

Wyniki badań

Hydroliza alkaliczna próbek z ziaren kakaowych

Warunki hydrolizy alkalicznej surowców i produktów naturalnych w metodzie TBA mają bardzo istotne znaczenie. Zgodnie z zasadą największego rozwinięcia powierzchni, zetknięcia się faz w obszarze dyfuzyjnym, w celu przyspieszenia procesu, hydroliza alkaliczna ma za zadanie wywołać dyspersję próbki do postaci koloidalnej cząsteczek, zemulgowanie tłuszczu, zwiększenie powierzchni czynnej próbki, przeciwdziałanie osiadania tłuszczu na ścianach kolby.

Hydroliza alkaliczna powoduje rozpuszczenie komórek i tkanek, rozkład enzymów oraz kompleksów białkowych i niebiałkowych z uwolnieniem kwasów tłuszczowych, hydrolizę lipoprotein i fosfolipidów. Z utlenionych i uwolnionych nienasyconych kwasów tłuszczowych, tłuszczów wolnych i związanych następuje oddzielenie MDA. W surowcach spolimeryzowanych hydroliza alkaliczna ma za zadanie spowodowanie rozpadu produktów autooksydacji, oksydatywnej polimeryzacji i kopolimeryzacji, jako związków kwasoodpornych, a tylko w roztworach o odczynie alkalicznym możliwe jest ich rozpuszczenie i wyizolowanie MDA.

Hydroliza alkaliczna, ograniczona czasowo, przyczynia się do rozpuszczenia substratów węglowodanowych, jednocześnie nie powoduje rozkładu glikogenu i skrobi do cukrów prostych, które mogłyby zniekształcać otrzymane wyniki. Istotnym celem hydrolizy alkalicznej jest zmniejszenie poziomu zawartości tlenu w badanej próbce w wyniku znacznego obniżenia ciśnienia cząsteczkowego tlenu w alkaliach. Równie ważnym elementem hydrolizy alkalicznej jest wytrącanie związków Fe, Cu, Pb, Hg, Cd, Ni, Co, Zn i innych jonów, które mogłyby katalizować utlenianie tłuszczów podczas oznaczania [48].

Stopień hydrolizy alkalicznej próbek z ziaren kakaowych

Zależność poziomów wykrywanego MDA, wyrażoną w procentach absorpcji, od stopnia hydrolizy alkalicznej, mierzoną normalnością roztworów hydrolizujących, zilustrowano na rysunkach 1 i 2. Na podstawie wyników oznaczeń (rys. 1) kształt krzywych trzech frakcji z ziaren kakaowych jest podobny. W roztworach od 0,1 do 0,3 N obserwuje się uwalnianie się MDA. Wspólną cechą zarówno łusek, jąder jak i całych ziaren jest uzyskanie gwałtownego skoku uwalnianego MDA podczas hydrolizy roztworami 0,35 N. W zakresie od 0,4

do 0,7 N obserwuje się względną stałość poziomu MDA. Identyczną charakterystykę w przedziale od 0,1 do 0,5 N posiadają inne związki tłuszczowe [47, 48], co wskazuje na tłuszczowcowe pochodzenie MDA.

Przebieg zmian w przedziale od 0,5 do 2,0 N wywołanych roztworem hydrolizującym jest charakterystyczny dla produktów z przewagą związków węglowodanowych, co przejawia się stałym wzrostem ilości uwalnianego MDA. Jest to spowodowane oddzielaniem się aldehydu od związków węglowodanowych na skutek rozpadu cukrów. Różne frakcje ziarna kakaowego są związkami złożonymi, w których stosunek związków węglowodanowych i tłuszczowcowych jest względnie stały i wynosi 40/40%, pozostałe 20% to związki białkowe i inne. Tłumaczy to powolny wzrost poziomu uwalnianego MDA w zakresie stężeń roztworów od 0,5 do 2,0 N.

Na rysunku 2 przedstawiono stany zmienności uwalnianego MDA w zależności od stężenia roztworów hydrolizujących próbki z jąder kakaowych i kakao. Krzywe uzyskane z jąder ziaren kakaowych są bliźniaczo podobne i uzyskują maksima uwolnionego MDA w roztworze 0,35 N. Podobnie stwierdzono dla kakao, gdzie stężenie roztworu hydrolizującego 0,35 N pozwala uzyskać optymalny względnie trwały powtarzalny poziom uwolnionego dialdehydu malonowego. Na podstawie powyższej charakterystyki stwierdzono, że optymalny poziom uwolnionego MDA pochodzenia tłuszczowcowego, z wyeliminowaniem źródła wtórnego, np. z węglowodanów, osiąga się podczas hydrolizy w 0,35 N wodnym roztworze NaOH.

Czas hydrolizy próbek z ziaren kakaowych

Dostępność wolnego i związanego dialdehydu malonowego i maksymalne jego uwolnienie jest także uzależnione od czasu trwania hydrolizy alkalicznej. Hydrolizę prób prowadzono w kolbie stożkowej o pojemności 0,5 l z chłodnicą zwrotną we. Zależności poziomów wykrywanego MDA od czasu hydrolizy alkalicznej przedstawiono na rysunkach 3 i 4. Dla wszystkich frakcji ziarna kakaowego zaobserwowano stopniowy wzrost ilości uwalnianego MDA w czasie, a skok do poziomu wielokrotnego uzyskano po 5 minutowej hydrolizie. Przy dłuższym czasie hydrolizy wynoszącym 6 do 10 min zaobserwowano częściowy rozkład aldehydu. Przy dłuższym czasie hydrolizy i podgrzewaniu wynoszącym od 10 do 25 minut uwidocznił się stopniowy (wtórny) wzrost poziomu MDA wskutek uwalniania z cukrowców. Przedłużanie jeszcze hydrolizy o dalsze 5 minut powoduje spadek uzyskiwanego MDA. Charakter przebiegu zmian (rys. 3 i 4), określających ilość uwolnionego MDA z jąder ziaren kakaowych i kakao jest podobny do stężeń stwierdzonych w próbkach z całych ziaren i łusek. Zmiany przedstawione na rysunku 4 potwierdzają występowanie dwóch szczytowych poziomów uwalnianego MDA. Pierwszy jest „tłuszczowcowy" z utlenionych lipidów po 5 minutowej hydrolizie i drugi „węglowodanowy" po 25 minutach

hydrolizy. Obraz zmian na krzywych potwierdzają wcześniejsze obserwacje i dowodzą występowania jednego, wspólnego punktu czasowego, w którym zachodzi maksimum uwalnianego MDA ze związków tłuszczowych, uważa się go za najbardziej korzystny – optymalny po 5 minutowej hydrolizie. Szczyt ten występuje także po 5 minutowej hydrolizie w kakao (rys. 4). W kakao występuje znaczna zawartość tłuszczu kakaowego do 18%, pozostałe 82% to związki pochodzenia węglowodanowego i białkowego. W czasie hydrolizy 10–25 minutowej obserwuje się znaczny wzrost uwalnianego MDA. Taki przebieg krzywych w końcowym etapie sugeruje, że MDA pochodzi z rozkładu policukrowców początkowo do cukrów prostych a po ich rozkładzie, uwalnia się dialdehyd malonowy. Na podstawie niniejszych obserwacji można stwierdzić, że w celu maksymalnego uwolnienia związanego MDA ze związków tłuszczowych utlenionych, z ziarna kakaowego i kakao wystarcza 5 minutowa hydroliza w roztworze 0,35 N NaOH.

Warunki zakwaszenia zhydrolizowanych alkalicznie próbek ziaren kakaowych

W wyniku zakwaszenia hydrolizatu alkalicznego, w którym powszechnie występują węglany, ma miejsce uwolnienie CO_2. Dwutlenek węgla wypiera z próbki tlen i tworzy atmosferę gazu obojętnego, wyklucza to potrzebę stosowania antyoksydantów, jak i atmosfery azotu, które hamują proces oksydacji podczas oznaczania. Maksymalne uwolnienie i oddzielenie MDA metodą destylacji z parą wodną zależało także od stopnia zakwaszenia próbek zhydrolizowanych alkaliami. Dialdehyd malonowy nie jest lotny w środowisku zasadowym i obojętnym, istotne jest określenie optymalnego zakwaszenia przez dodanie kwasu solnego do zhydrolizowanej próbki w celu maksymalnego uwolnienia MDA. Wyniki oznaczeń określających wielkości uwolnionego i oddestylowanego MDA wyrażone w %E w zależności od stopnia zakwaszenia, przedstawiają rysunki 5 i 6. W środowisku silnie zasadowym (rys. 5) MDA nie uwalnia się, ale roztwór staje się mętny. W pH poniżej 6,5 w klarownym przezroczystym roztworze następuje nagły skok ilości uwalnianego dialdehydu malonowego. Obserwacja ta potwierdza, że MDA uwalnia się w środowisku kwaśnym. Dalsze zakwaszanie zhydrolizowanych próbek powoduje sukcesywne powolne zwiększanie wydzielanych ilości MDA. Maksymalna ilość dialdehydu malonowego wydziela się przy zakwaszeniu próbek do pH równym 0,5.

Identyczny przebieg uwalniania MDA w zależności od stopnia zakwaszenia wykazują próbki z ziarna Forastero, z jąder kakaowych i kakao (rys. 6). Potwierdza to, że optymalne zakwaszenie próbek i uwalnianie MDA osiąga się przy pH 0,5. Na rysunku 7 przedstawiono przebieg uwalniania dialdehydu malonowego z dwóch frakcji ziaren kakaowych Forastero (jąder i całych ziaren). Zaobserwowano, że zakwaszenie 40 cm^3 0,35 N HCl spowodował spadek lub rozkład ilości oznaczonego MDA, czego nie zauważono w innych badaniach

[47–49]. W związku z tym do powtórzonych badań użyto 30 cm^3 0,35 N roztworów HCl, zamiast jak poprzednio 40 cm^3 tego roztworu. Przebieg zależności uwalniania MDA od stopnia zakwaszenia próbek przez 30 cm^3 0,35 N HCl przedstawia rysunek 8. Potwierdza to wcześniejsze ustalenia, że optymalna ilość 0,35 N HCl do zakwaszenia i uwolnienia MDA powinna wynosić 30 cm^3, co gwarantuje uzyskanie w pH 0,5 maksymalnie trwałej ilości uwolnionego MDA.

Warunki destylacji dialdehydu malonowego

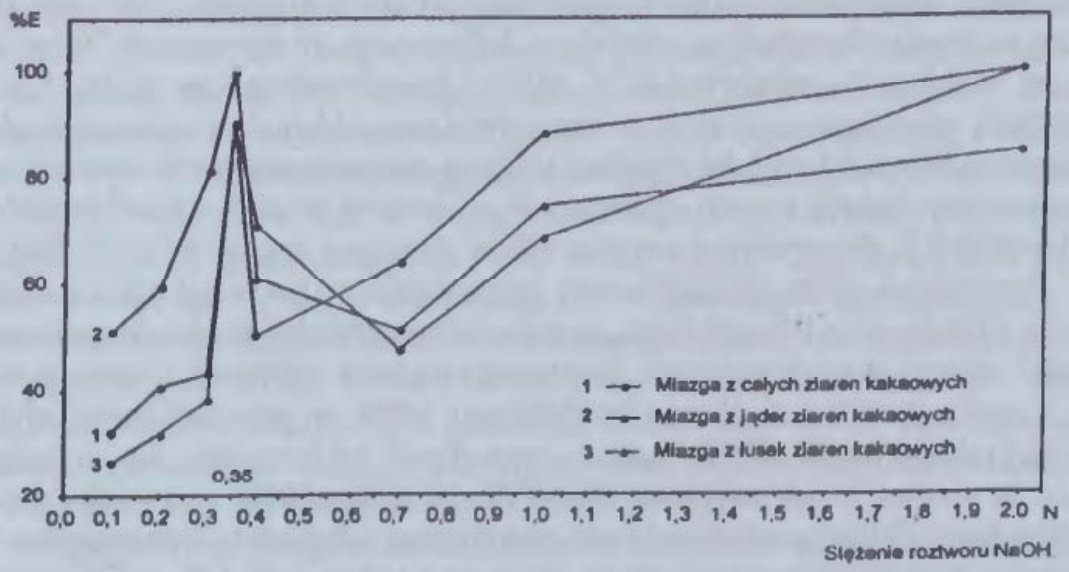
Destylacja z parą wodną jest prosta, jest najmniej drastycznym sposobem wydzielenia dialdehydu malonowego. Do otrzymania MDA nie ma potrzeby stosowania rozpuszczalników organicznych w celu ekstrahowania tłuszczów, bez artefaktów. Zadaniem pary wodnej w aparacie do destylacji jest dyspersja zhydrolizowanego tłuszczu lub substratu mieszanego tłuszczowo-białkowego lub tłuszczowo-węglowodanowego. Na tym etapie oznaczania istotnym czynnikiem jest określenie najmniejszej objętości destylatu, która obejmowałaby całkowitą ilość oddzielonego MDA. Wyniki wydajności i kontrolowanie frakcjonowanej destylacji zestawiono i porównano na rysunkach 9 i 10. Przebieg krzywych wydajności na rysunku 9 wykazuje, że najłatwiej oddestylowuje się MDA z próbki z całych ziaren kakaowych. Całkowite 100% uwolnienie MDA uzyskuje się już po uzyskaniu 70 cm^3 destylatu. Nieco trudniej aldehyd oddestylowuje się z próbki z łusek ziaren kakaowych. W 70 cm^3 destylatu otrzymuje się 92% całego uwolnionego MDA. Oddestylowanie kolejnych 20 cm^3 destylatu gwarantuje otrzymanie 100% uwolnionego MDA. Najtrudniej jest otrzymać MDA na drodze destylacji z jąder ziaren kakaowych. W pierwszych 70 cm^3 destylatu znajduje się zaledwie 58,3% ogólnej ilości uwolnionego MDA. Dalsza destylacja powoduje gwałtowny wzrost uwalniania aldehydu i wystarczy oddestylować kolejne 20 cm^3, by uzyskać 100% wydajność destylacji. Jak zaobserwowano trzy frakcje z ziaren kakaowych w równym stopniu uwalniają dialdehyd malonowy, ale wystarczy uzyskać 90 cm^3 destylatu, by uwolnić cały MDA.

Zestawienie zależności poziomów uwolnionego MDA z jąder ziaren kakaowych i kakao (rys. 10) wykazuje, że najłatwiej wydzielić dialdehyd malonowy z jąder ziaren kakaowych Arriba. Praktycznie liniowa zależność występuje między czasem destylacji a ilością uwalnianego MDA w jądrach ziaren Criollo, trudniej oddestylować MDA z jąder ziaren kakaowych Forastero. Nie zmienia to faktu, że wystarczy oddestylować 90 cm^3, by otrzymać 100% sprawności procesu destylacji. Zbliżoną zależność ilości uwolnionego dialdehydu malonowego od objętości destylatu obserwuje się w przypadku kakao (rys. 10). Osiemdziesiąt cm^3 destylatu obejmuje 96,6 % całkowitej ilości uwolnionego MDA. Przy oddestylowaniu kolejnych 10 cm^3, uzyskuje się 100% efektywności destylacji. Przyjmuje się zatem, że ilość 90 cm^3 destylatu jest wystarczająca, by uzyskać 100% sprawność procesu destylacji. Przy zastosowaniu odbieralnika – kolby o pojemności 100 cm^3 uzyskuje się pewność, że cała ilość dialdehydu malono-

wego znajduje się w destylacie, co ułatwia obliczanie zawartości MDA. Wyznaczanie maksimów absorbancji roztworów barwnych metodą TBA dla próbek z ziaren kakaowych i kakao oraz porównanie stopnia oksydacji lipidów z innymi towarami wykonano wcześniej [1].

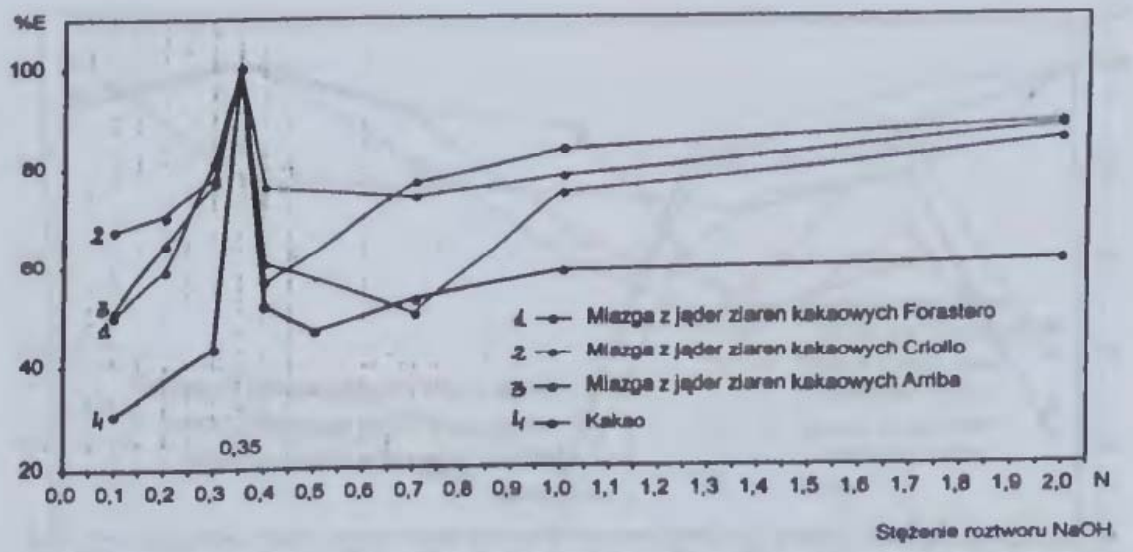
Wnioski

1. Ustalono optymalne warunki stosowania metody TBA z hydrolizą alkaliczną do oznaczania zawartości dialdehydu malonowego w ziarnie kakaowym i kakao o masie próbki od 0,1 do 0,3 g, którymi są:
   a) warunki hydrolizy:
      - stężenie wodnego roztworu hydrolizującego równe 0,36 N NaOH,
      - czas hydrolizy 5 minut;
   b) dodatek 30 cm^3, 0,35 N HCl, obniża pH do 0,5;
   c) objętość odbieranego destylatu 100 cm^3;
   d) zalecane maksimum absorbancji przy długości fali 532 nm.
2. Proces utleniania tłuszczowców w kakao w funkcji czasu składowania ma zależność progresywnie liniową.
3. Niska zawartość dialdehydu malonowego w kakao i wyrobach z ziarna kakaowego czyni je bezpiecznymi w żywieniu człowieka.



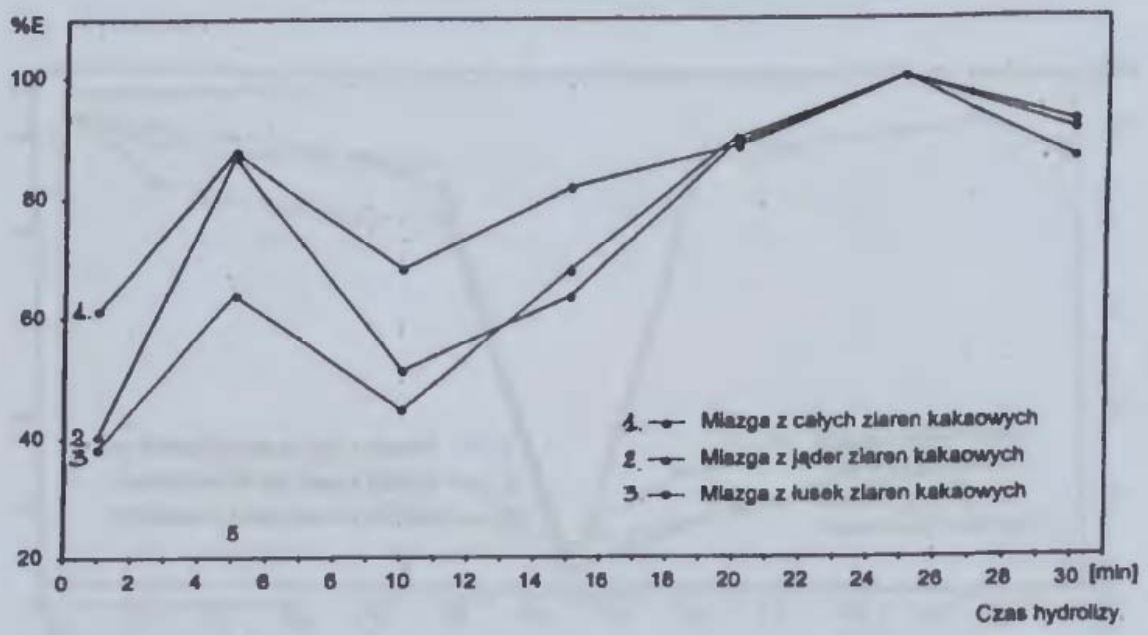
Rys. 1. Zależność poziomu uwalnianego MDA wyrażona w %E od stopnia hydrolizy alkalicznej próbek z ziaren kakaowych Forastero

Fig.1. Dependence of released MDA level expressed in %E on the state of alcaline hydrolisis in samples of Foastero cocoa beans



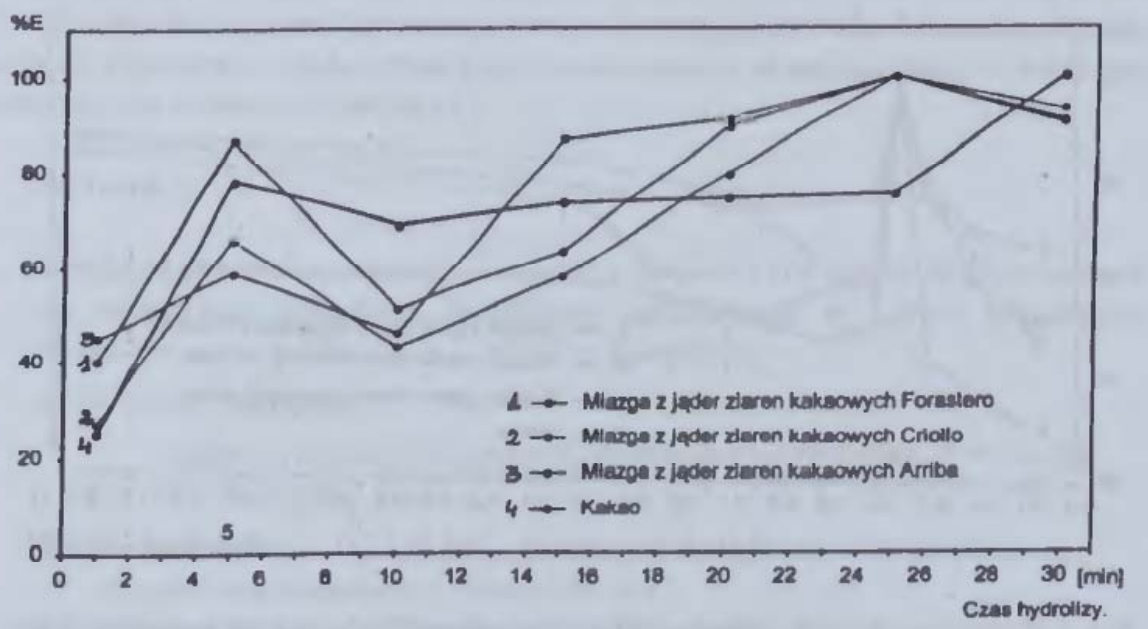
Rys. 2. Zależność poziomu uwalnianego MDA wyrażona w %E od stopnia hydrolizy alkalicznej próbek z jąder ziaren kakaowych i kakao

Fig.2. Dependence of released MDA level expressed in %E on the state of alcaline hydrolisis in samples of cocoa bean kernels and cocoa



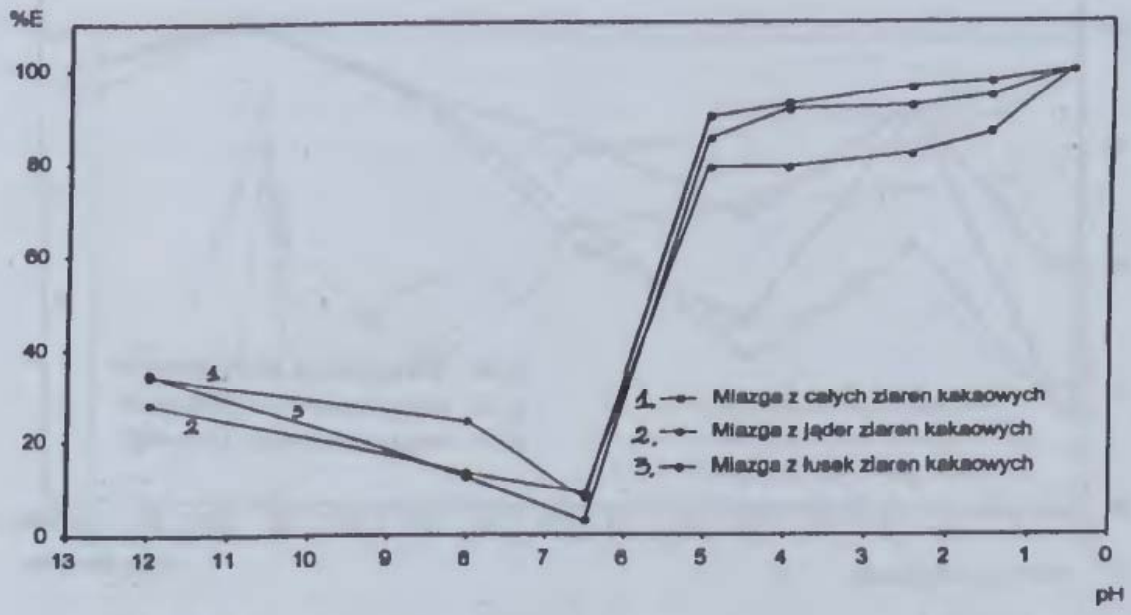
Rys. 3. Zależność poziomu uwalnianego MDA wyrażona w %E od czasu hydrolizy alkalicznej próbek z ziaren kakaowych Forastero

Fig.3. Dependence of released MDA level expressed in %E on the time of alcaline hydrolisis in samples of Forastero cocoa beans



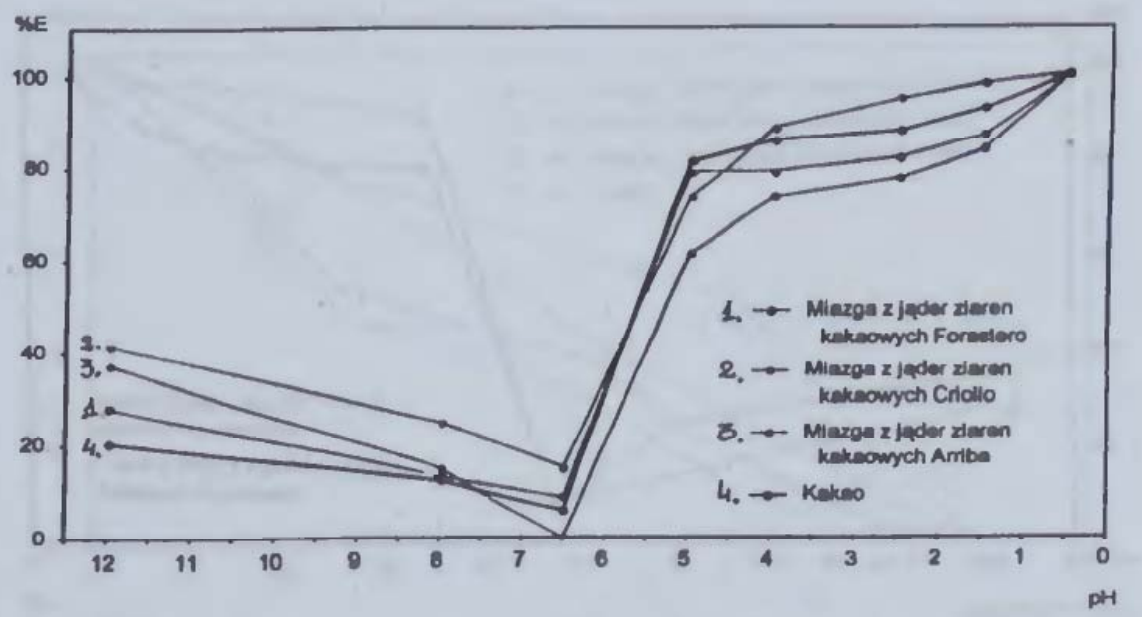
Rys. 4. Zależność poziomu uwalnianego MDA wyrażona w %E od czasu hydrolizy alkalicznej próbek z jąder ziaren kakaowych i kakao

Fig.4. Dependence of released MDA level expressed in %E on the time of alcaline hydrolisis in samples of cocoa bean kernels and cocoa



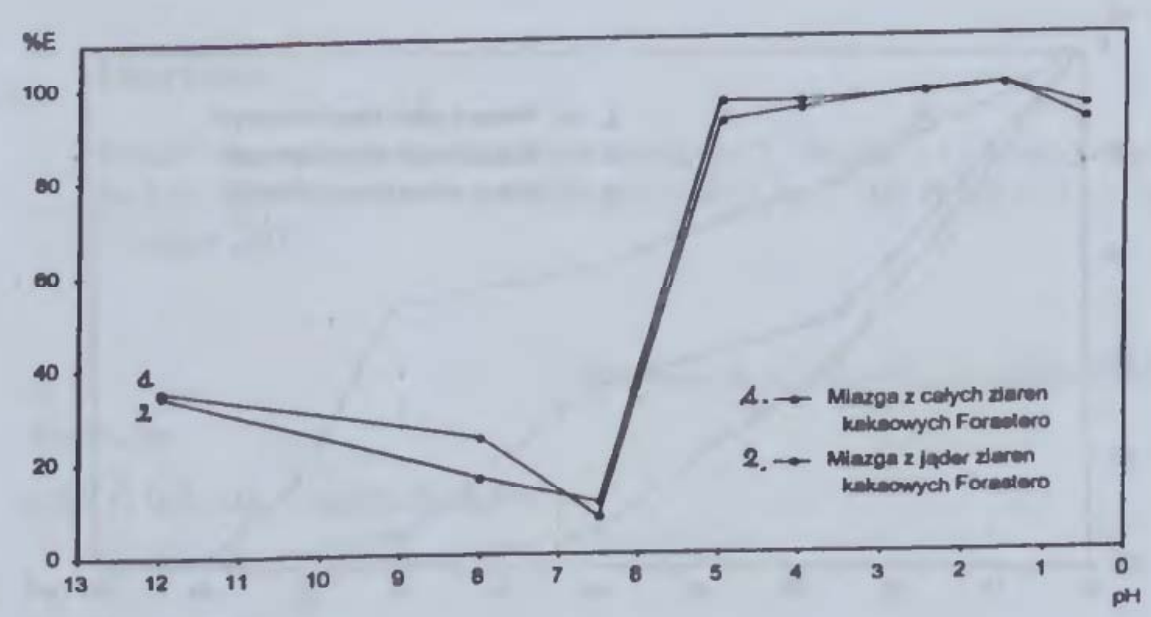
Rys. 5. Zależność poziomu uwalnianego MDA wyrażona w %E od stopnia zakwaszenia zhydrolizowanych próbek z ziaren kakaowych Forastero

Fig.5. Dependence of released MDA level expressed in %E on the acidification of hydrolized samples of Forastero cocoa beans



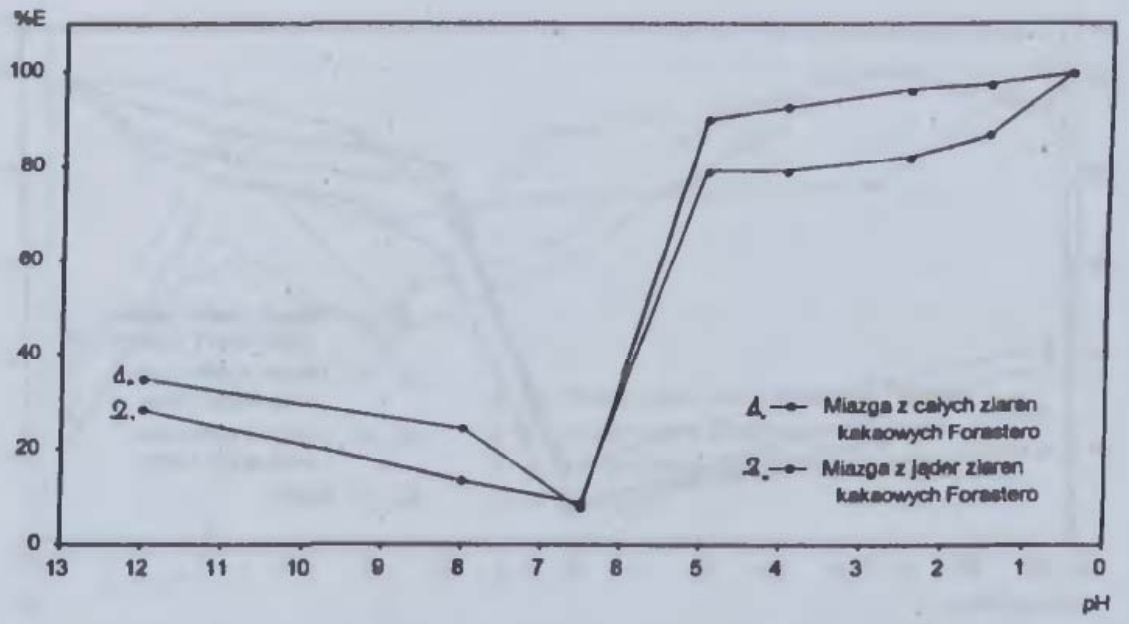
Rys. 6. Zależność poziomu uwalnianego MDA wyrażona w %E od stopnia zakwaszenia zhydrolizowanych próbek z jąder ziaren kakaowych i kakao

Fig. 6. Dependence of released MDA level expressed in %E on the acidification of hydrolized samples of cocoa bean kernels



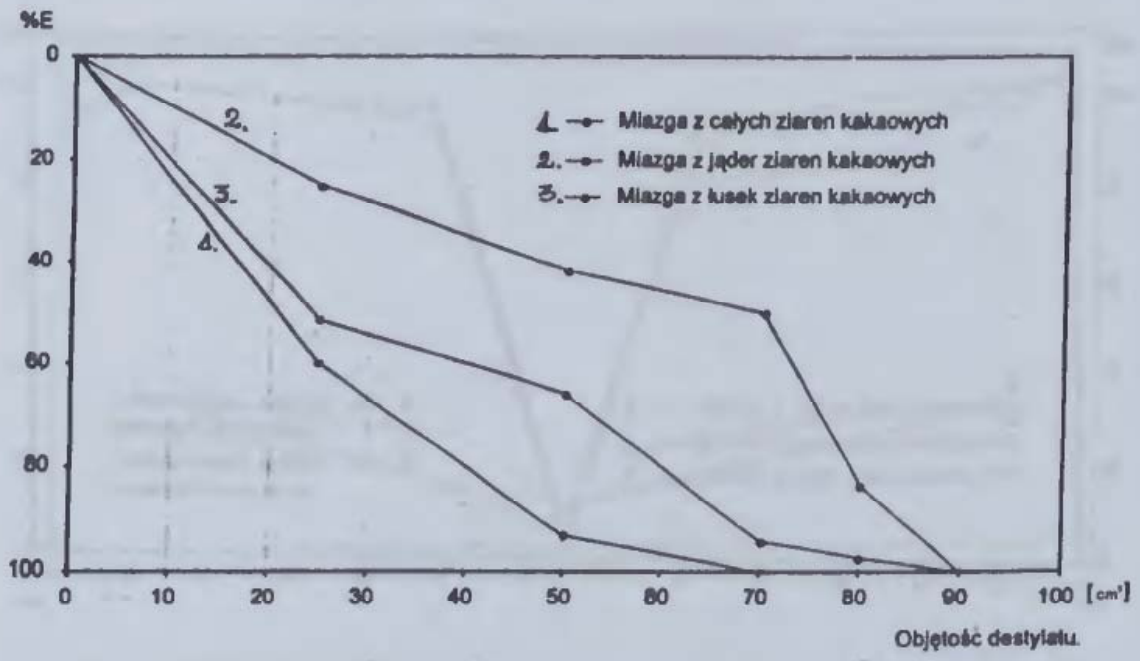
Rys. 7. Zależność poziomu uwalnianego MDA wyrażona w %E od stopnia zakwaszenia zhydrolizowanych próbek. Do uzyskania pH = 0,5 użyto 40 cm^3 0,35N HCL

Fig. 7. Dependence of released MDA level expressed in %E on the acidification level of hydrolized samples. 40 cm^3 of 0.35N HCL were used to obtain pH = 0.5



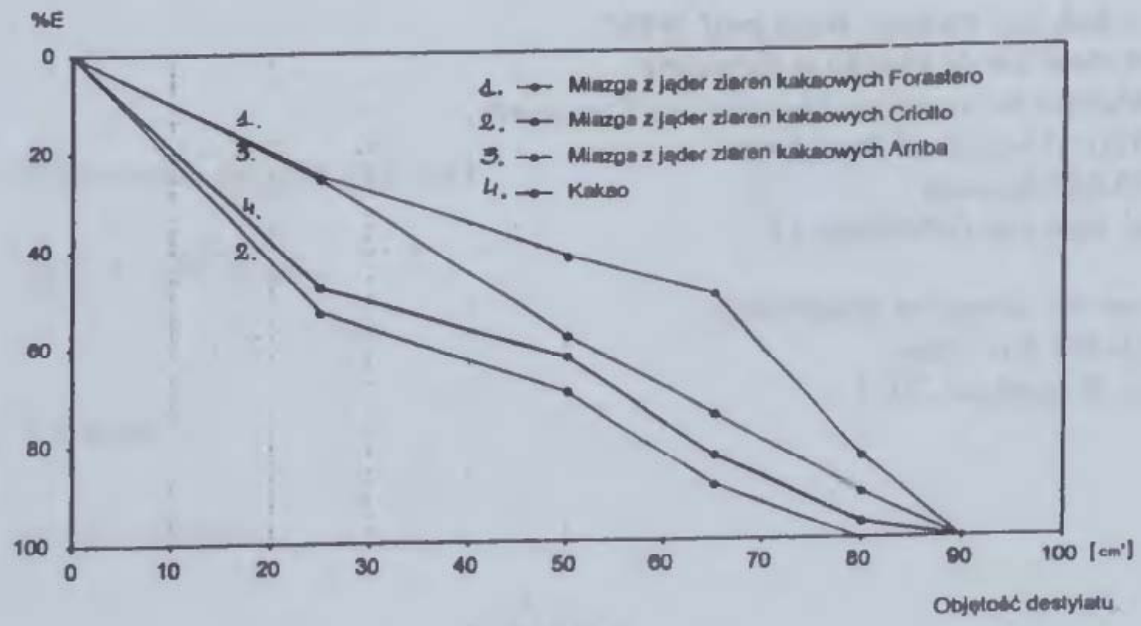
Rys. 8. Zależność poziomu uwalnianego MDA wyrażona w %E od stopnia zakwaszenia zhydrolizowanych próbek. Do uzyskania pH = 0,5 użyto 30 cm^3 0,35N HCL

Fig. 8. Dependence of released MDA level expressed in %E on the acidification level of hydrolized samples. 30 cm^3 of 0.35N HCL were used to obtain pH = 0.5



Rys. 9. Zależność poziomu uwalnianego MDA wyrażona w %E od stopnia destylacji próbek z ziaren kakaowych Forastero

Fig. 9. Dependence of released MDA level expressed in %E on the distillation level of Forastero cocoa bean samples



Rys. 10. Zależność poziomu uwalnianego MDA wyrażona w %E od stopnia destylacji próbek z jąder ziaren kakaowych i kakao

Fig. 10. Dependence of released MDA level expressed in %E on the distillation level of samples of cocoa bean kernels and cocoa

Literatura

Wykaz literatury zamieszczono w artykule T. Witasa i G. Mołodowicza: *Badania jakości towarów z krajów zamorskich*, cz. I, ZN WSM nr 72, s. 169 Szczecin 2003.

Wpłynęło do redakcji w listopadzie 2002 r.

Recenzent

prof. dr hab. inż. Ludmiła Stodolnik

Adresy Autorów

dr hab. inż. Tadeusz Witas prof. WSM
Wyższa Szkoła Morska w Szczecinie
Wydział Inżynieryjno-Ekonomiczny Transportu
Instytut Inżynierii Transportu
70-507 Szczecin
ul. Henryka Pobożnego 11

mgr inż. Grzegorz Mołodowicz
78-100 Kołobrzeg
ul. Budowlana 23/21

WYŻSZA SZKOŁA MORSKA W SZCZECINIE BIBLIOTEKA
A 5000/2