

**Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu
Wydział Nauk o Żywności i Żywieniu
Katedra Technologii Żywności Pochodzenia Roślinnego**

mgr inż. Dominika Olszak

**Związki zapachowe kształtujące aromat pieczywa typu
pumpernikiel wytwarzanego technologią tradycyjną oraz
z surowców o obniżonej zawartości białek glutenowych**

Rozprawa doktorska wykonana pod kierunkiem
prof. dr hab. Małgorzaty Anny Majcher
w Pracowni Badania Związków Lotnych i Aktywnych Sensorycznie

Poznań 2024

*Pragnę serdecznie podziękować
Pani prof. dr hab. Małgorzacie Annie Majcher
za cenne wskazówki, nieocenioną pomoc, przyjazną
atmosferę oraz wsparcie podczas tworzenia niniejszej
rozprawy doktorskiej.*

*Dziękuję Wszystkim Pracownikom Pracowni Badania
Związków Lotnych i Aktywnych Sensorycznie
za każde dobro słowo oraz pomocną dłoń.*

*Chcę także wyrazić wdzięczność Rodzicom, Siostrom,
Bliskim Osobom oraz Przyjaciołom za niegasnącą wiarę
w moje możliwości, motywujące słowa, cierpliwość oraz
wsparcie.*

Streszczenie
Dominika Olszak

Związki zapachowe kształtujące aromat pieczywa typu pumpernikiel wytwarzanego technologią tradycyjną oraz z surowców o obniżonej zawartości białek glutenowych.

W pracy zidentyfikowano kluczowe związki zapachowe odpowiedzialne za aromat pieczywa typu pumpernikiel. W tym celu wykorzystano podejście sensomiczne opierające się na następujących etapach: izolacja związków zapachowych za pomocą ekstrakcji SAFE i SPME, wyznaczenie związków aktywnych zapachowo za pomocą chromatografii gazowej - olfaktometrii (GC-O), identyfikacja za pomocą chromatografii gazowej i spektrometrii mas (GC/MS), analiza ilościowa z wykorzystaniem znakowanych izotopomerów (SIDA) oraz obliczenie wartości aktywności aromatu (OAV). Na tej podstawie stwierdzono, że aromat pumpernika kształtuje mieszanina 23 związków zapachowych (OAV>1) z czego najwyższe wartości OAV posiadały: 2-metylobutanal (OAV=4560) i 3-metylobutanal (OAV=6660) o zapachu słodowym, 3-(metylotio)propanal (OAV=2047) o zapachu gotowanych ziemniaków, 3-hydroksy-4,5-dimetylo-2(5H)-furanon (OAV=1233) o zapachu lubczyku, trisiarczek dimetylu (OAV=475) o zapachu kapusty oraz 2-fenyletanol (OAV=414) o zapachu różanym. Szczegółowa analiza ilościowa związków zapachowych pumpernika przeprowadzona na poszczególnych etapach jego produkcji wykazała, że aromat pumpernika kształtuje się głównie podczas etapu pieczenia, jednakże proces fermentacji wpływa także na powstanie kluczowych związków zapachowych m.in.: octanu etylu, kwasu octowego, 2,3-butanodionu. Co więcej, dodatek słodu oraz błonnika wpływa na stężenie kilku kluczowych związków w produkcie końcowym: 2- oraz 3-metylobutanalu, 3-hydroksy-2-metylo-4H-piran-4-onu i 4-hydroksy-3-metoksybenzaldehydu. Następnie wykazano, że poprzez zastąpienie mąki żytniej mąką ryżową lub mąką owsianą, istnieje możliwość otrzymania chleba typu pumpernikiel bezglutenowego oraz o bardzo niskiej zawartości glutenu, o korzystnych cechach sensorycznych, wysoce akceptowalnych przez konsumentów. Próby nowo wytworzonego chleba zostały poddane szczegółowej analizie sensorycznej, badaniu tekstury, pomiarze barwy oraz analizie związków zapachowych. Na podstawie uzyskanych wyników stwierdzono, że najbardziej pożądaną pod względem sensorycznym była próba pumpernika z 30% dodatkiem mąki ryżowej, przy czym pozostałe próby z dodatkiem surowców o obniżonej zawartości białek glutenowych również zostały ocenione

pozytywnie. Przeprowadzona profilowa ocena zapachu, wykazała, że w aromacie pumpernika klasycznego silnie odczuwane są takie nuty zapachowe jak brązowa, karmelowa i słodowa, natomiast w pumperniku bezglutenowym dodatkowo wyczuwalna jest nuta owsiana i tłuszczowa a w pumperniku o bardzo niskiej zawartości glutenu nuta maślana. Porównanie zawartości poszczególnych związków zapachowych wykazało, że dodatek mąki ryżowej lub owsianej wpłynął na spadek zawartości 2- oraz 3-metylobutanalu, sotolonu, metionalu oraz waniliny przy czym spadek ten był bardziej wyraźny w przypadku dodatku mąki owsianej. Dla odmiany próby te charakteryzowały się wyższym stężeniem 3-metylo-1-butanolu oraz w próbie z 70% dodatkiem mąki ryżowej stwierdzono ponad 70-krotnie wyższą zawartość 2,3-butanodiolu, który prawdopodobnie odpowiada za maślaną nutę wyczuwalną w tym chlebie.

Słowa kluczowe – pieczywo, zakwas, związki zapachowe, pumpernikiel, bezglutenowy, o bardzo niskiej zawartości glutenu, chromatografia gazowa, tekstura, GC-O, OAV, analiza profilowa zapachu, ocena sensoryczna

Summary

Dominika Olszak

Identification of aroma compounds responsible for the flavour of pumpernickel bread produced using traditional technology and type of pumpernickel bread produced from raw materials with a reduced content of gluten proteins.

In this study, there were identified key aroma compounds responsible for the flavour of pumpernickel bread. For this purpose, a sensomic approach was used based on the following steps: isolation of odors compounds by SAFE and SPME extraction, determination of odor-active compounds by gas chromatography-olfactometry (GC-O), identification by gas-chromatography and mass spectrometry (GC/MS), quantitative analysis using labeled isotopomers (SIDA) and calculation of the aroma activity value (OAV). On this basis, it was found that the aroma of pumpernickel is shaped by a mixture of 23 aroma compounds (OAV>1), of which the highest OAV values had: 2-methylbutanal (OAV=4560) and 3-methylbutanal (OAV=6660) with malty odor, 3-

(methylthio)propanal (OAV=2047) with boiled potato odor, 3-hydroxy-4,5-dimethyl-2(5H)-furanone (OAV=1233) with lovage odor, dimethyl trisulfide (OAV=475) with cabbage odor and 2-phenylethanol (OAV=414) with rosy odor. A detailed quantitative analysis of pumpernickel aroma compounds carried out at various stages of its production showed that the pumpernickel aroma is formed mainly during baking, but the fermentation process also affects the formation of key aroma compounds, incl. ethyl acetate, acetic acid, 2,3-butanedione. Furthermore, the addition of malt and fiber affects the concentration of a few key aroma compounds in the final product: 2- and 3-methylbutanal, 3-hydroxy-2-methyl-4H-pyran-4-one and 4-hydroxy-3-methoxybenzaldehyde. Subsequently, conclusions were reached that replacing rye flour with rice flour or oat flour gives the opportunity to produce gluten-free pumpernickel and very low gluten pumpernickel with highly acceptable beneficial sensory features to consumers. Samples of new pumpernickel were detailed sensory, texture, color and odor compounds analyzed. The results showed that the pumpernickel sample with 30% addition of rice flour was the most desirable sample in terms of sensory aspect, while the other trials with the addition of raw materials with a reduced content of gluten proteins were also evaluated positively. The odor profile assessment showed that in the aroma of classic pumpernickel there are strong aroma notes such as brown, caramel and malt, while in gluten-free pumpernickel there is additionally a hint of oat and fat, and in pumpernickel with a very low gluten content, a buttery note. A comparison of the content of individual aromatic compounds showed that the addition of rice or oat flour resulted in a decrease in the content of 2- and 3-methylbutanal, sotolon, methional and vanillin, while this decrease was more pronounced in the case of the addition of oat flour. By contrast, these samples were characterized by a higher concentration of 3-methyl-1-butanol, and in the sample with 70% addition of rice flour, more than 70 times higher content of 2,3-butanedione, which is probably responsible for the buttery note noticeable in this bread.

Keywords – bread, leaven, aroma compounds, pumpernickel, gluten-free, very low gluten, gas chromatography, texture, GC-O, OAV, odor profile analysis, sensory evaluation

Spis treści

1. Wstęp	9
2. Przegląd literaturowy	11
2.1. Pumpnikiel – charakterystyka oraz technologia produkcji	11
2.1.1. Charakterystyka i pochodzenie pumpnikla	11
2.1.2. Surowce wykorzystywane do produkcji pumpnikla	13
2.1.3. Technologia produkcji pumpnikla	21
2.1.4. Wartość odżywcza pumpnikla	31
2.2. Związki zapachowe występujące w pieczywie	35
2.3. Metody identyfikacji związków aktywnych aromatycznie	39
2.4. Charakterystyka surowców o obniżonej zawartości białek glutenowych	44
2.5. Pieczywo bezglutenowe oraz o bardzo niskiej zawartości glutenu	49
3. Cel pracy i hipoteza badawcza	51
4. Część metodyczna	53
4.1. Materiał badawczy	53
4.2. Stosowane odczynniki	56
4.3. Aparatura i drobny sprzęt	57
4.4. Metody analityczne	57
4.4.1. Metoda izolacji związków lotnych za pomocą techniki SAFE	57
4.4.2. Metoda izolacji związków lotnych za pomocą techniki SPME	59
4.4.3. Metoda GC-O	59
4.4.4. Metoda GC/MS i GCxGC/TOFMS	60
4.4.5. Analiza ilościowa	61
4.4.6. Wyznaczenie związków aktywnych zapachowo	64
4.4.7. Pomiar tekstury	65
4.4.8. Oznaczenie zawartości glutenu metodą ELISA	65
4.4.9. Analiza sensoryczna	65
4.4.10. Pomiar barwy w systemie CIE L*a*b*	69
5. Obliczenia statystyczne	70
6. Omówienie wyników i dyskusja	70
6.1. Charakterystyka profilowej oceny zapachowej pumpnikla	70
6.2. Kluczowe związki zapachowe w pumpniku	71

6.3. Zmiany zawartości związków zapachowych podczas procesu wytwarzania pumpernika ...	75
6.4. Próby wytworzenia chleba typu pumpernikiel z użyciem surowców o obniżonej zawartości białek glutenowych	80
6.5. Oznaczenie zawartości glutenu	82
6.6. Opracowanie receptury chleba typu pumpernikiel bezglutenowego oraz o bardzo niskiej zawartości glutenu	83
6.7. Charakterystyka sensoryczna prób pumpernika klasycznego, pumpernika z dodatkiem mąki owsianej i pumpernika z dodatkiem mąki ryżowej.....	84
6.8. Analiza tekstury prób pumpernika.....	87
6.9. Pomiar barwy w systemie CIE L*a*b*	89
6.10. Określenie zależności pomiędzy: oceną sensoryczną, profilem związków zapachowych oraz teksturą prób pumpernika: klasycznego, z dodatkiem mąki ryżowej oraz z dodatkiem mąki owsianej	91
6.11. Profilowa ocena sensoryczna zapachu prób pumpernika klasycznego, pumpernika bezglutenowego oraz pumpernika o bardzo niskiej zawartości glutenu	93
6.12. Porównanie zawartości związków zapachowych występujących w próbach pumpernika klasycznego oraz w próbach wyprodukowanych z surowców o obniżonej zawartości białek glutenowych.....	95
7. Wnioski	102
8. Literatura.....	104
9. Załączniki.....	110

Wykaz skrótów stosowanych w pracy:

AEDA	Aroma Extract Dilution Analysis – metoda rozcieńczeń
RI	Retention Index – indeks retencji
SAFE	Solvent Assisted Flavour Evaporation – destylacja związków lotnych pod obniżonym ciśnieniem w obecności rozpuszczalnika
GC-O	Gas Chromatography – Olfactometry – chromatografia gazowa połączona z olfaktometrią
MS	Mass Spectrometry – spektrometria mas
GC/MS	Gas Chromatography/Mass Spectrometry – chromatografia gazowa sprzężona ze spektrometrią mas
SPME	Solid Phase Microextraction – mikroekstrakcja do fazy stacjonarnej
ELISA	Enzyme – Linked Immunosorbent Assay – test immunoenzymatyczny
SIDA	Stable Isotope Dilution Assay – analiza stabilnych rozcieńczeń izotopowych
OAV	Odor Activity Value – wartość aktywności aromatu
OT	Odor Detection Threshold – próg wyczuwalności sensorycznej
HDMF	2,5-dimethyl-4-hydroxy-3(2H)-furanone – 2,5-dimetylo-4-hydroksy-3(2H)-furanon
FD	Dilution Factor – współczynnik rozcieńczeń
TPA	Texture Profile Analysis – analiza profilu tekstury

1. Wstęp

Wybór żywności przez konsumentów opiera się na bardzo różnorodnych aspektach, takich jak: wygląd, wygoda przygotowania, wpływ na środowisko, cena, jednak najważniejszym celem jest to, aby żywność była smaczna. W przypadku wyrobów piekarniczych są one szczególnie cenione ze względu na aromat, który odpowiada za przyjemność doświadczaną podczas konsumpcji a jednocześnie odpowiedzialną za hedoniczną wartość produktów spożywczych. Chleb pumpernikiel, to specjalny rodzaj pieczywa przygotowywany na bazie ciasta na zakwasie fermentowanego wielofazowo, z dodatkiem słodu i ostatecznie wypiekany w piecach, w szczelnie zamkniętych formach, w warunkach przypominających proces parowania. Pumpernikiel pochodzi z Westfalli i ma bardzo zbity oraz ciemny mięksisz. Ten rodzaj pieczywa jest mniej powszechnie spożywany w porównaniu z pieczywem pszennym, pszenno-żytnim i tradycyjnym żytnim, jednak jest doceniany przez konsumentów ze względu na słodkawy smak oraz intensywny aromat określany jako brązowy, karmelowy i słodowy. Jest również ceniony przez dietetyków ze względu na niski indeks glikemiczny w porównaniu do innego rodzaju pieczywa [1, 2]. W ostatnich latach rośnie zainteresowanie spożyciem produktów bezglutenowych (Gluten Free) lub o bardzo niskiej zawartości glutenu (Very Low Gluten) nie tylko wśród pacjentów chorych na celiakię, ale także wśród konsumentów starających się unikać glutenu w swoim jadłospisie. Obecnie na rynku dostępna jest szeroka gama pieczywa bezglutenowego, jednakże słabo akceptowalna przez ludzi ze względu na brak oczekiwanego aromatu oraz konsystencji. Specyficzny proces produkcji pumpernika stwarza nowe możliwości technologiczne otrzymania produktu bezglutenowego jednocześnie przez zachowanie wysokich walorów sensorycznych.

Zapach jest jednym z głównych atrybutów ocenianych przez konsumentów w czasie akceptacji i wyboru produktu spożywczego, z tego względu jest przedmiotem badań prowadzonych przez technologów żywności, ale również przez psychologów i neuropsychologów. Badania nad związkami zapachowymi są interesujące zarówno dla hodowców, którzy przez dobór odpowiednich odmian, czy też warunków hodowlanych mogą wpływać na jakość surowców przeznaczonych do produkcji. Analizy takie mogą również być pomocne dla technologów, chcących zaspokoić wymagania odbiorców

poprzez tworzenie produktów o wysokiej jakości kontrolowanej podczas produkcji lub przechowywania. Co więcej, związki lotne nadające tzw. obce nuty zapachowe, powstające podczas przemian enzymatycznych, mikrobiologicznych, czy też chemicznych, mogą stanowić parametr będący wyznacznikiem okresu trwałości produktu spożywczego. Z tego względu otrzymanie, a następnie zachowanie optymalnego aromatu produktów spożywczych jest w interesie tworzących je technologów oraz kupujących je konsumentów. Na lotną frakcję produktów spożywczych składa się wiele związków, spośród których tylko niewielka liczba odgrywa rolę w tworzeniu charakterystycznego zapachu. W celu ich wyznaczenia przydatna jest analiza sensomiczna, która w dzisiejszych czasach jest najbardziej kompleksowym podejściem do określenia roli poszczególnych składników żywności w tworzeniu aromatu. Polega ona na wykorzystaniu techniki chromatografii gazowej i olfaktometrii, które łączą w sobie instrumentalny rozdział związków na kolumnie chromatograficznej z detekcją za pomocą nosa ludzkiego, co pozwala na rozróżnienie związków silnie aktywnych zapachowo od mniej aktywnych i bezzapachowych. W kolejnym etapie, związki te są identyfikowane za pomocą spektrometrii mas (GC/MS) oraz określane jest ich stężenie w produkcie. Do analizy jakościowej wykorzystuje się metodę SIDA (Stable Isotope Dilution Assay), która polega na zastosowaniu standardu wewnętrznego izotopowo znakowanego. Podejście sensomiczne zakłada, że spośród wielu związków zapachowych występujących w żywności, znaczące są tylko te (tzw. kluczowe), które występują w stężeniu wyższym niż ich próg wyczuwalności sensorycznej, czy też występują w mieszaninach, które dzięki efektowi synergistycznemu posiadają wpływ na aromat. Z tego powodu, następnym elementem w analizie kluczowych związków zapachowych jest obliczenie wskaźnika wartości aromatu (OAV, Odor Activity Value) jako stosunku stężenia do progu wyczuwalności sensorycznej. Związki aktywne zapachowo, to te, których wskaźnik aktywności aromatu $OAV > 1$.

Celem pracy doktorskiej było opracowanie receptury chleba typu pumpernikiel bezglutenowego oraz o bardzo niskiej zawartości glutenu o dobrej jakości sensorycznej, porównywalnej do pumpernika klasycznego oraz wyznaczenie kluczowych związków zapachowych kształtujących aromat pumpernika klasycznego oraz z wykorzystaniem surowców o obniżonej zawartości białek glutenowych.

2. Przegląd literaturowy

2.1. Pumpernikiel – charakterystyka oraz technologia produkcji

2.1.1. Charakterystyka i pochodzenie pumpernikla

Historia pieczywa typu pumpernikiel sięga szesnastego wieku. Początkowo, chleb ten był wypiekany w około piętnastokilogramowych bochenkach. Według danych literaturowych dopiero w 1856 roku, piekarz - Engelbert Söckeland, zapoczątkował sprzedaż bochenków w mniejszych opakowaniach, głównie na terenie Europy. Od tego czasu pumpernikiel stał się chlebem bardziej rozpowszechnionym i chętniej kupowanym.

Początkowo (w XIX wieku) pumpernikiel wytwarzany był w drewnianych dzieżach. Podstawą produkcji były surowce żytnie pełnoziarniste oraz woda. W późniejszym okresie wprowadzono dodatek drożdży, błonnika, cukru, słodu. Zakładom piekarskim zależało, aby straty były jak najmniejsze, dlatego też pozostałe resztki ciasta i wypieczone kawałki chleba zwracano do kolejnych produkcji. Mąkę żytnią pełnoziarnistą zalewano wrzącą wodą a po wystygnięciu dodawano pozostałości ciasta lub chleba z poprzednich produkcji, po czym następował proces fermentacji tzw. parzonego zakwasu, trwający około dwadzieścia cztery godziny. Ostatnim etapem był dodatek pozostałej ilości mąki oraz miesienie. Ze względu na zbitą konsystencję ciasta, wyrabiano je gołymi stopami lub za pomocą specjalnych dyszli. Dyszle, charakterystyczne drewniane zgniatacze, nadawały się idealnie, wykorzystywano je także do miesienia bardzo twardego ciasta piernikowego.

Dzielone ciasto na tzw. kęsy, odważane było do form, których najbardziej popularnym kształtem stał się prostokąt. Charakterystyczny, długi wypiek w niskich temperaturach wpływał na unikatowy smak oraz zapach tego rodzaju pieczywa. Kęsy ciasta wypiekane były w piecach ceramicznych oraz kamiennych przez około trzydzieści godzin, w przedziale 100°C-110°C lub też w wyższych temperaturach (ok. 160°C) przez krótszy czas trwający szesnaście godzin. Piece musiały być szczelnie zamykane oraz uszczelniane. Do zatykania nieszczelności służyła m.in. glina.

Wypiek prowadzono także w piecach skonstruowanych podobnie jak autoklawy, dzięki czemu pumpernikiel przebywał w przegrzanej atmosferze pary wodnej. Proces ten trwał stosunkowo krótko, od kilku do dwunastu godzin w bardzo wysokich temperaturach

(powyżej 200°C). Wadą ostatniej metody była utrata w dość dużym stopniu charakterystycznego aromatu pumpernikla.

Po wypieku, wybite z forem bochenki chleba poddawane były studzeniu. W zależności od wielkości bochenka oraz panujących warunków, proces ten trwał od kilku godzin do kilku dni. Obsuszony pumpernikiel krojono specjalnymi maszynami oraz pakowano. Ze względu na brak charakterystycznej skórki, dużą powierzchnię miększu oraz wysoką zawartość węglowodanów, pumpernikiel jest mocno podatny na porażenie mikrobiologiczne. W celu wydłużenia trwałości stosowano pasteryzację. W zależności od wyposażenia oraz warunków sanitarnych danej piekarni, proces pasteryzacji prowadzono przez 1-1,5 h w temperaturze 80-100°C lub przez 0,5 h w temperaturze 150°C [3].

Obecnie proces produkcji pumpernikla został ujednoczony i sprowadza się do kilku charakterystycznych etapów. Pierwszym z nich jest prowadzenie fermentacji dwóch zakwasów o różnej wydajności, następnie miesienie zakwasu właściwego z innymi surowcami, odważanie i formowanie kęsów, fermentacja ciasta oraz wypiek. Po wybicciu i wystudzeniu kilkukilogramowych bochenków następuje krojenie zautomatyzowaną krajalnicą, pakowanie oraz pasteryzacja. Dzisiejsze zakłady produkcyjne stosują często gotowe kultury starterowe kwasu mlekowego oraz drożdże, w celu szybszego namnażania mikroorganizmów niezbędnych do przeprowadzenia fermentacji zakwasu. Szczegółowy opis produkcji pumpernikla został przedstawiony w podrozdziale 2.1.3.

Chleb pumpernikiel charakteryzuje się większą wartością odżywczą w porównaniu z pełnoziarnistym pieczywem pszennym, głównie dzięki obecności surowców żytnich grubego przemiału. Zawiera on również związki przeciwutleniające, wytwarzane podczas zaawansowanych reakcji Maillarda. Chleb ten charakteryzuje się brakiem skórki oraz wilgotnym miększem. Na taką charakterystykę wpływa wypiek pumpernikla, prowadzony w szczelnie zamkniętych formach oraz w stosunkowo niskich temperaturach [4].

W cieście pumpernikla z uwagi na obecność znacznej ilości pentozanów, nie ma możliwości wytworzenia siatki glutenowej, charakterystycznej dla pieczywa pszennego lub pszenno-żytniego. Czynniki te wpływają na brak kształtowania się pulchnego, a w zamian za to, na występowanie zbitego wilgotnego miększu. Z punktu widzenia składu chemicznego surowców oraz długiego procesu wypieku, w pumperniklu, znaczna część skrobi rozkładana jest do mono-, di- i oligosacharydów.

Przebieg standardowych procesów produkcyjnych pieczywa żytniego na zakwasie ma wpływ na wytworzenie charakterystycznego, cierpko-słodkiego smaku, z kwaśną, ostrą nutą. Z kolei aromat pumpernika jest nieco delikatniejszy, przyjemny. Barwa chleba, z uwagi na zachodzące reakcje Maillarda, podczas wypieku, kształtuje się od odcienia ciemnobrązowego do czarnego [5]. Podobnie opisuje to pieczywo Gambuś H., 2015 [6], który uważa, że dzięki temu iż chleb produkowany jest na zakwasie żytnim oraz pieczony przez stosunkowo długi czas (ok. 20 godzin) w zamkniętych formach, jego miękisz jest zwarty a jednocześnie wilgotny, natomiast smak pieczywa kwaśny z lekkim odczuciem słodkości [6].

Najbardziej znanym pumpernikiem jest chleb pochodzący z Westfalii, tzw. tzw. *'Westfälischer Pumpernickel'*, który został wpisany na listę produktów o chronionym oznaczeniu geograficznym (ChOG) [5].

Cechą charakterystyczną tego chleba jest proces produkcji, który musi odbywać się na wyznaczonym obszarze geograficznym, który został szczegółowo przedstawiony w Rozporządzeniu Rady (WE) NR 510/2006 [5].

2.1.2. Surowce wykorzystywane do produkcji pumpernika

Chcąc uzyskać pieczywo bardzo dobrej jakości, należy dobrać odpowiednie parametry procesu fermentacji oraz wypieku, jednakże nie mniej istotną kwestią jest użycie odpowiednich surowców. Największy udział procentowy w klasycznym pumperniku stanowią surowce żytnie, w szczególności pełnoziarnista mąka żytnia (tab. 1). Mąka jest dodawana w różnych fazach produkcji. Przed miesieniem ciasta przeprowadzana jest dwuetapowa fermentacja zakwasów. Proces każdej z nich charakteryzuje się dodatkiem różnych typów mąki żytniej, inną proporcją wody oraz odmienną długością czasu trwania poszczególnych faz.

Tab. 1. Zawartość poszczególnych składników wchodzących w skład receptury ciasta standardowego pumpernika. Dane prezentują przykładową recepturę ciasta używaną w firmie Lantmännen Unibake Poland Sp. z o.o.

Składnik	Zawartość [%]
Pełnoziarnista mąka żytnia	50 ± 2
Woda	23 ± 2
Naturalny zakwas żytni	18 ± 2
Cukier	3 ± 1
Słód jęczmienny jasny	2,5 ± 1
Sól	1,3 ± 0,5
Słód jęczmienny, prażona mąka słodowa pszenna	1 ± 1
Błonnik pszenny	0,8 ± 0,2
Regulator kwasowości	0,1 ± 0,2
Drożdże	0,09 ± 0,02

Mąki żytnie najczęściej używane są do wypieku pieczywa dietetycznego, specjalnego, do którego zalicza się także pumpernikiel. Ocenę przydatności żyta konsumpcyjnego przeprowadza się głównie na podstawie gęstości w stanie usypowym oraz liczby opadania [7]. W Polsce uprawianych jest kilka odmian żyta. Ze względu na obcopylność, poszczególne odmiany charakteryzują się zmiennymi cechami. Ziarno żyta ma charakterystyczną bruzdkę oraz wydłużony kształt. W przekroju poprzecznym, ziarniaki mają kształt sercowaty lub trójkątny. Na wydajność mąki ma wpływ wykształcenie ziarna. Najlepszej jakości są ziarna żyta, które zawierają ok. 10-12% białka oraz wysoką liczbę opadania [8].

Ziarno, z którego wytwarzana jest mąka stanowi podstawę do określenia wartości odżywczej pumpernika. W skład chemiczny ziaren wchodzi: woda, tłuszcze, węglowodany, białka, składniki mineralne, witaminy i barwniki.

Wartość odżywcza mąki jest zależna od rodzaju ziarna, z którego powstaje. Mąka żytnia, pszenna i ryżowa zawierają bardzo małą ilość tłuszczu, poniżej 2 g/100 g [9, 10], natomiast mąka owsiana ma stosunkowo wysoką zawartość tłuszczu: 8 g/100 g [11]. W tab. 2 i 3 zestawiono wartość odżywczą mąki pszennej, żytniej, owsianej oraz ryżowej. Wśród kwasów tłuszczowych dominują kwasy nienasycone, których ilość stanowi nawet 85%, jednakże występujący ich rodzaj jest różny w zależności od mąki [7].

Tab. 2. Porównanie wartości odżywczej mąki pszennej oraz żytniej [9].

Wartość odżywcza w 100 g	Mąka pszenna	Mąka żytnia
Tłuszcz (g)	1,8	1,7
Węglowodany (g)	71,3	77,4
Błonnik pokarmowy (g)	2,9	6,4
Białko (g)	11,6	5,9
Sól (g)	0,01	0,01
Składniki mineralne (g)	0,8	0,5
Potas (mg)	165	190
Fosfor (mg)	122	113
Witamina E (mg)	0,74	0,50
Witamina B ₁ (mg)	0,32	0,18
Witamina B ₆ (mg)	0,17	0,14

Mąka żytnia oraz pszenna zawiera w największym udziale kwas linolenowy, natomiast w mące owsianej dominującym nienasyconym kwasem tłuszczowym jest oleinowy [9]. Tłuszcz, podobnie jak hemicelulozy, nie mają w ryżu praktycznie żadnego znaczenia, natomiast na jego wartość technologiczną największy wpływ ma zawartość białka, jak również stosunek amylozy do amylopektyny [12].

Węglowodany stanowią największy udział spośród składników odżywczych. Na 100 g jest ich w mące pszennej ok. 71 g, w mące żytniej ok. 77 g [9], w mące owsianej ok. 55 g, a w mące ryżowej ilość sięga niemalże 80 g [11, 10]. Dominującym węglowodanem jest skrobia, która pełni wiele ważnych funkcji w technologii piekarstwa. Posiada ona zdolność do kleikowania, wiązania wody oraz pęcznienia. Produkty rozkładu skrobi są substratem do fermentacji ciasta, co w konsekwencji prowadzi do zwiększenia objętości oraz porowatości pieczywa. W mące bardzo istotną rolę pełnią także inne polisacharydy: hemicelulozy, β -glukany, celuloza oraz pentozany, wśród których, te ostatnie, występujące w dużych ilościach w mące żytniej, stanowią przoduający składnik śluzów zbożowych. Cechując się wysokim stopniem wodochłonności, wpływają na dużą lepkość ciast żytnich, w tym pumpernika, co odróżnia je od ciast pszennych. Pozostałymi

sacharydami wchodzącymi w skład mąk są: mono-, di- oraz trisacharydy [7]. Rozpuszczalne w wodzie β -glukany, wykazujące działanie prozdrowotne, stanowią ok. 1% w pszenicy, 2% w życie oraz ok. 5% w owsie [9].

Tab. 3. Wartość odżywcza mąki owsianej i ryżowej [11*, 10**].

Wartość odżywcza w 100 g	Mąka owsiana*	Mąka ryżowa**
Wartość energetyczna (kJ/kcal)	1560/370	1513/343
Tłuszcz (g)	8,0	0,7
Węglowodany (g)	55	79,2
Błonnik pokarmowy (g)	11	2,3
Białko (g)	14	7,2

Zwartość błonnika pokarmowego jest najwyższa w mące owsianej, ok. 11 g/100 g [11], następnie w mące żytniej, ok. 6,4 g/100 g oraz w mące pszennej, ok. 2,9 g/100 g [9]. Mąka ryżowa zawiera najmniej błonnika pokarmowego, ok. 2,3 g/100 g [10].

Białka w półproduktach zbożowych nie mają wysokiego poziomu wartości biologicznej. Zawartość białka jest najwyższa w mące owsianej (14 g w 100 g) [11]. Zaraz po niej wysuwa się ilość białka w mące pszennej (ok. 11 g w 100 g) [9], następnie w mące ryżowej (7,2 g w 100 g) [10] oraz w mące żytniej (poniżej 6 g w 100 g) [9]. Występowanie oraz ilość poszczególnych aminokwasów jest różna w zależności od gatunku zboża. Ziarno żyta charakteryzuje wysoka wartość, natomiast ziarno pszenicy najniższą wartość Wskaźnika Aminokwasu Ograniczającego (WAO). Poniżej umieszczono uszeregowanie wartości WAO w poszczególnych zbożach (życie, ryżu, owsie, jęczmieniu, kukurydzy oraz pszenicy).

żyto > ryż > owies > jęczmień > kukurydza > pszenica

Zawartość białka wpływa na twardość oraz szklistość ziarna, co skutkuje ukierunkowaniem na daną jakość przemiału mąki. Białka zbożowe są gorzej wykorzystywane przez organizm niż białka zwierzęce ze względu na niższą strawność oraz w gorszym stopniu zbilansowany skład aminokwasowy [7, 9].

Zawartość soli mineralnych zależy od wyciągu i w mąkach tak zwanych jasnych kształtuje się na poziomie 0,8% w mące pszennej oraz 0,5% w żytniej. Głównymi substancjami mineralnymi ziaren są: magnez, potas, wapń i fosfor. Obecność składników mineralnych wpływa na określenie typu mąki [7]. Do produkcji pumpernikla używane są mąki o wysokiej zawartości popiołu. W przypadku pumpernikla wytwarzanego w firmie Lantmännen Unibake Poland Sp. z o.o. była to pełnoziarnista mąka żytnia typ 2000 oraz mąka żytnia typ 997.

Witaminy występujące w zbożach i produktach ich przemiału, to zarówno te, rozpuszczalne w wodzie – z grupy B (warstwa aleuronowa oraz zarodek) oraz rozpuszczalne w tłuszczach – A i D (zarodek). Zawartość witamin jest zależna od odmiany oraz warunków wzrostu danego zboża [7]. Witamina B₆ występuje na podobnym poziomie zarówno w mące żytniej, jak i pszennej. Witamina B₁ jest więcej o 14% a witamina E o 24% w mące pszennej, porównując z mąką żytnią [9].

Barwę ziarna kształtują karotenoidy (karoten oraz ksantofil) w okrywie nasiennej oraz chlorofilu i antocyjanów w obrębie komórek aleuronowych. Ziarno żyta charakteryzuje się barwą szarozieloną. Z reguły ziarna o barwie zielonej mają większe bielmo. Intensywność zależy od odmiany. W miarę postępującego utleniania surowca, barwa może zmieniać się w jaśniejszą [12].

Klasyfikacja docelowego surowca - mąki żytniej, odbywa się na podstawie wielu analiz fizykochemicznych. Ponieważ pumpernikiel składa się w ponad 50% z mąki żytniej, jej jakość ma bardzo duży wpływ na ocenę końcową wyrobu gotowego. Ogół cech mąki, nazywany wartością wypiekową mąki, określane jest jako jej zdolność do: chłonięcia wody, wytwarzania oraz zatrzymywania w wytworzonym z niej cieście gazów, kształtowania struktury ciasta oraz pieczywa podczas wypieku [13]. Określenie aktywności enzymów amylolitycznych oraz zdolność skrobi do kleikowania. mierzy się za pomocą amylografu.

Ziarna skrobi znajdujące się w mące żytniej, odznaczają się różną wielkością oraz zdolnością do kleikowania. W zimnej wodzie są praktycznie nierozpuszczalne. Początek kleikowania (wzrost lepkości) rozpoczyna się w temperaturze ok. 56°, natomiast koniec tego procesu (rozkład całej skrobi) następuje w temperaturze ok. 62°C (wartości temperatur są uśrednione, zależne od jakości badanej mąki). Dodatek kwasów do ciasta, to czynnik przyspieszający kleikowanie. Po skleikowaniu, skrobia staje się bardziej podatna

na działanie enzymów amylolitycznych – β -amylaz, natomiast na pełne ziarenka silnie oddziałują α -amylazy. Aktywność enzymów wpływa na scukrzanie [14, 15].

Wykres amylograficzny powstaje dzięki analizie jakości mąki, na które składają się: jakość skrobi oraz aktywność enzymów amylolitycznych. Są to dwa bardzo ważne parametry mąki żytniej. Od nich zależy jakość wyrobu gotowego. Wartość lepkości mąki żytniej o bardzo dobrych właściwościach wypiekowych, kształtuje się na poziomie 500 j.B. [14, 16].

Kolejną analizę mąki żytniej - liczbę opadania, wykonuje się za pomocą aparatu Hagberga. Jest to analiza, która pozwala na określenie podatności skrobi na działanie enzymów amylolitycznych. Aktywność enzymów amylolitycznych ma duży wpływ na jakość wypiekową mąki żytniej. Skrobia o wysokiej aktywności amylolitycznej (ziarno porośnięte) przyczynia się do wytworzenia chleba niepożądanego jakości – lepki miękisz, skórka zbyt mocno zbrązowiała. W takim przypadku, w celu polepszenia jakości finalnego produktu, stosuje się różne techniki, m.in. zwiększenie poziomu kwasowości lub podwyższenie temperatury procesów.

Odmierna sytuacja występuje w mące o niskiej aktywności amylolitycznej. W takim przypadku zachodzi zbyt małe scukrzanie się cukrów, w efekcie czego tworzy się kruchy miękisz, blada skórka. Dla mąki żytniej, średnia aktywność α -amylazy charakteryzuje liczba opadania 125-200 sekund [14, 15].

Przy produkcji pumpernikla stosuje się pełnoziarniste mąki żytnie T 2000 oraz T 997. Ważnym wyróżnikiem mąki, ułatwiającym klasyfikację funkcjonalności surowca w piekarstwie jest jej typ. Określenie to opisuje zawartość popiołu wyrażoną w gramach na 100 kg mąki. Biorąc pod uwagę rodzaje mąki żytniej użyte do produkcji pumpernikla, mąka żytnia T 2000 - zawiera 2% popiołu a mąka T 997 – zawiera w zaokrągleniu ok. 1%. Zawartość popiołu, to pozostałość po spaleniu mąki w temperaturze 900°C. Wyróżnik ten powiązany jest z wyciągiem mąki – im wyższy wyciąg, tym barwa mąki jest ciemniejsza z racji wyższej zawartości popiołu. Dzięki temu pieczywo wytworzone z mąki pełnoziarnistej zawiera więcej składników mineralnych, m.in. żelaza, cynku, wapnia, fosforu [17]. Podczas przemiału razowego do mąki przechodzi bardzo duży procent okrywy owocowo-nasiennej ziaren żyta. Tak przemieloną mąkę nazywa się razową (pełnoziarnistą). Skład chemiczny takiej mąki jest bardzo zbliżony do składu chemicznego ziarna [18]. Mąka żytnia razowa T 2000 charakteryzuje się lekko białą-szarą barwą,

z widocznymi cząstkami otrąb. Natomiast mąka T 997 ma lekko szary odcień, jednocześnie zawiera mniej widocznych otrąb. Liczba opadania mąki razowej kształtuje się na poziomie ok. 90 s, natomiast w mące T 997 jest ona niższa – ok. 85 s [17]. Rodzaje typów mąki żytniej oraz ich właściwości organoleptyczne i fizykochemiczne opisane są w Polskiej Normie PN-A-74032:2002, która zastąpiła dotychczas obowiązującą normę PN-A-74032:1986 [19].

Mąka przed produkcją poddawana jest przesiewaniu, w celu napowietrzenia oraz usunięcia zanieczyszczeń. Temperatura mąki powinna wynosić od 18°C do 25°C [20].

Do wytworzenia pieczywa o dobrej jakości, oprócz składnika głównego, którym jest mąka, niezbędne są pozostałe składniki, pełniące również istotne funkcje podczas fermentacji, wypieku oraz wpływające na końcową jakość wyrobu gotowego. Woda, drugi obok mąki składnik ilościowy używany w przemyśle piekarskim, spełnia istotną rolę w kształtowaniu przemian chemicznych oraz fizycznych podczas produkcji pieczywa. Woda, to znaczący surowiec, którym można regulować konsystencję ciasta. Jej dodatek zależy w dużej mierze od wodochłonności mąki [21]. Zdolność wchłaniania wody wpływa na wydajność ciasta. Jest ona powiązana z obecnością enzymów amylolitycznych. Skrobia pod wpływem α -amylazy wytwarza dekstryny, nadające właściwą wilgotność, świeżość oraz lepkość miększowi. Ponadto wodochłonność mąki zależy także od jakości skrobi, gdyż to ona wiąże wodę [18]. W mące żytniej wysoka zawartość pentozanów wpływa na wiązanie większej ilości wody niż w mące pszennej. Ilościowy dodatek wody wpływa na cechy sensoryczne oraz strukturę chleba. Jak wykazała autorka artykułu [21], dodatek wody wpływa na wiele cech strukturotwórczych chleba (m.in. gumistość i żuwalność).

Drożdże pełnią funkcję spulchniania ciasta za pomocą wytwarzanego CO₂ przez żywe organizmy. Drożdże są odpowiedzialne za zapoczątkowanie fermentacji alkoholowej, która doprowadza do odpowiedniej porowatości, elastyczności oraz objętości pieczywa. Z uwagi na wysoką zawartość białek oraz witamin, drożdże podwyższają wartość odżywczą chleba. Drożdże piekarskie należą do gatunku *Sacharomyces cerevisiae*, jednokomórkowych organizmów. Pożywką dla drożdży podczas fermentacji są produkty rozkładu polisacharydów i innych związków poprzez szereg enzymów: maltazę - rozkładającą maltozę na dwie cząsteczki glukozy, inwertazę - rozkładającą sacharozę na glukozę i fruktozę, ale także lipazę, enzymy proteolityczne oraz kompleksy enzymów

wywołujących fermentację alkoholową. Drożdże nadają ciastu strukturę. Symulacja ich wzrostu jest zależna m.in. od bakterii kwasu mlekowego [22]. Podczas fermentacji ciasta żytniego kształtują się następujące związki zapachowe: 2-fenyletanol oraz 3-metylobutanol [23].

Sól, kolejny składnik ciasta – wpływa na smak wyrobu gotowego, pełni funkcję strukturotwórczą oraz reguluje proces fermentacyjny. Dokładniej rzecz ujmując, zwiększa hydratację białek, decyduje o reologii ciasta, obniża aktywność amylaz, hamuje proteolizę, poprawia właściwości fizyczne ciasta. Pod względem składu chemicznego, jest chlorkiem sodu z domieszką siarczanów oraz chlorków potasu, wapnia oraz magnezu. Dobrej jakości sól powinna się składać z maksimum 1% wody a jej głównym składnikiem powinien być chlorek sodu (minimum 95%). Standardowo do produktów piekarskich dodatek soli stanowi od 1,5% do 3% masy ciasta [22].

Cukier dodawany do pumpernika, to cukier biały, składający się z prawie czystej sacharozy (ok. 97%), otrzymany z trzciny cukrowej lub buraka cukrowego. Ponadto podczas fermentacji ciasta staje się pożywką dla drożdży. W późniejszym etapie, podczas wypieku jest jednym z substratów w zaawansowanej reakcji Maillarda, przyczyniając się do powstania charakterystycznej barwy oraz smaku pieczywa [17, 22]. Skórka chleba żytniego, w porównaniu ze skórką pieczywa pszennego, zawiera znacznie więcej metionalu, 3-metylobutanalu oraz 4-hydroksy-2,5-dimetylo-3(2H)-furanonu [23].

Ekstrakty słodowe stosowane w piekarstwie, to surowce powstałe na skutek zagęszczenia do 75% s.m. wodnego wyciągu rozdrobnionego siodu. Charakteryzują się zawartością dekstryn poniżej 16% oraz minimum 50% maltozy. Przyczyniają się do zwiększenia zdolności fermentacyjnych, poprzez obecność cukrów oraz substancji azotowych pobieranych przez drożdże. Ponadto wprowadzają więcej składników białkowych oraz mineralnych do pieczywa. Ekstrakty słodowe wpływają na aromat chleba, hamują czerstwienie, kształtują barwę miękiszu w pumperniku [17, 22]. Ekstrakty słodowe zawierają garbniki, białka, enzymy, węglowodany, kwasy organiczne. Ekstrakty dzieli się na: niediastatyczne oraz diastatyczne. Te pierwsze są wykorzystywane w celu wzbogacania smaku i aromatu pieczywa, natomiast drugie dodaje się w przypadku, gdy mąka ma niską aktywność amylolityczną [24].

Błonnik, który do ciasta dodawany jest w ilości ok. 1%, należy do grupy polisacharydów i spełnia funkcję dodatkowo scalającą wszystkie składniki. Najczęściej

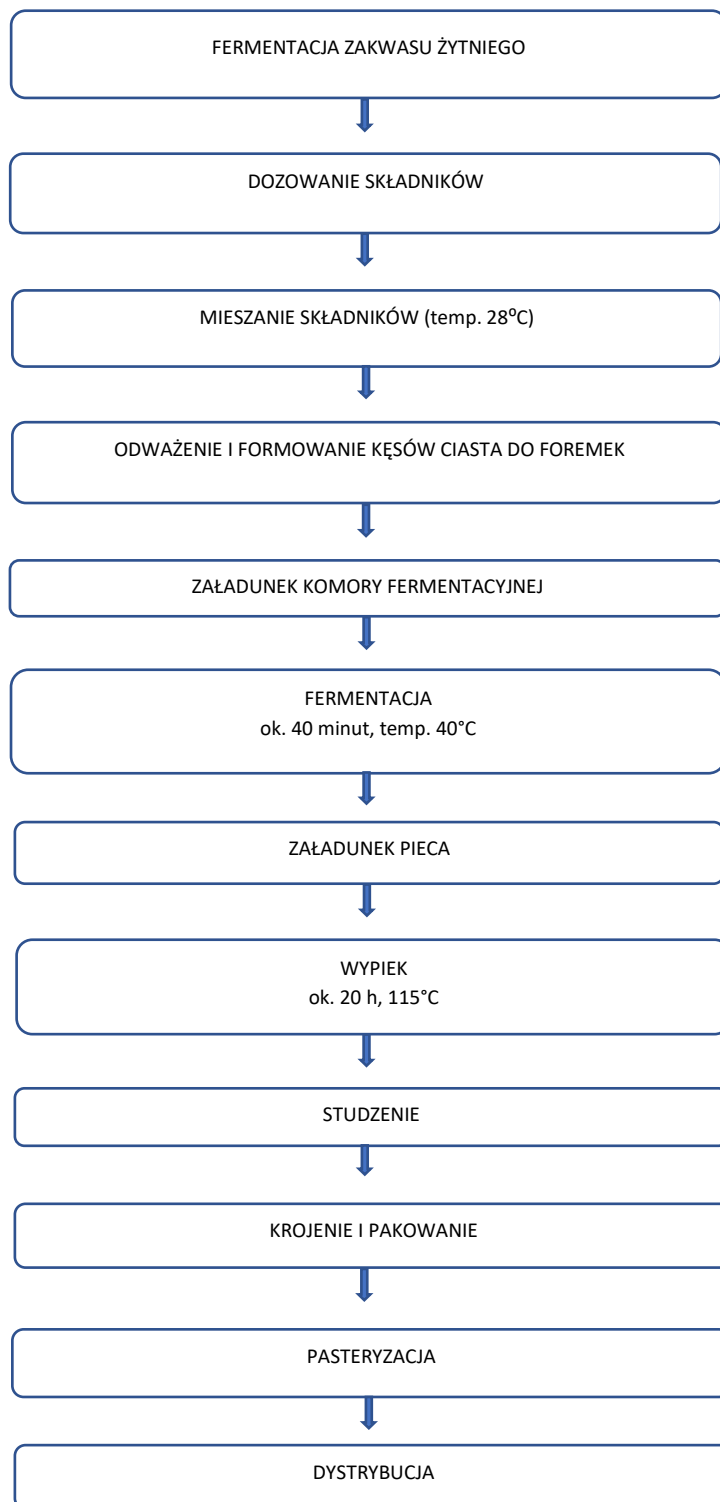
używany jest błonnik rozpuszczalny (gumy, β -glukany, pektyny, hemicelulozy). Błonnik posiada zdolność wiązania wody, dzięki czemu pieczywo lepiej utrzymuje wilgoć. Ze względów żywieniowych błonnik poprawia perystaltykę jelit, podwyższa jakość odżywczą pieczywa [18]. W skład błonnika pszennego, dodanego do pumpernika wchodzi głównie ligniny i hemicelulozy, posiadające duży potencjał wiązania wody, ograniczając przy tym jej dyfuzyjność [25].

2.1.3. Technologia produkcji pumpernika

Technologia produkcji pumpernika przedstawiona na rys. 1, różni się od pieczywa pszennego oraz tradycyjnego pieczywa żytniego, głównie ze względu na użyte składniki, procesy fermentacyjne oraz sposób przygotowania ciasta. Proces produkcji pumpernika obejmuje dwuetapową fermentację zakwasu, wytworzenie ciasta oraz jego fermentację i w końcowym etapie wypiek prowadzony w niskiej, 110-120°C temperaturze, przez długi, około 20 godzin okres czasu.

Fazami prowadzenia ciasta żytniego są: zaczątek, przedkwas, półkwas, kwas i ciasto właściwe. W podobny sposób produkowany jest pumpernikiel. Ważnym parametrem w określaniu rodzaju zakwasu jest jego wydajność. Przelicza się go biorąc pod uwagę stosunek mąki do wody. Przykładowo wydajność zakwasu 170, określa, że na 100 kg mąki dodana była woda w ilości 70 kg.

Podstawą do otrzymania pumpernika o wysokiej jakości jest prowadzenie wieloetapowe dwóch rodzajów zakwasów. Pieczywo tego rodzaju składa się głównie z pełnoziarnistych surowców żytnich, dlatego też technologia wytwarzania zakwasów opiera się na wykorzystaniu różnych typów mąki żytniej, a dokładniej mące żytniej T 997 oraz T 2000 (na podstawie technologii produkcji opracowanej w zakładzie Lantmännen Unibake Poland Sp. zo.o.).

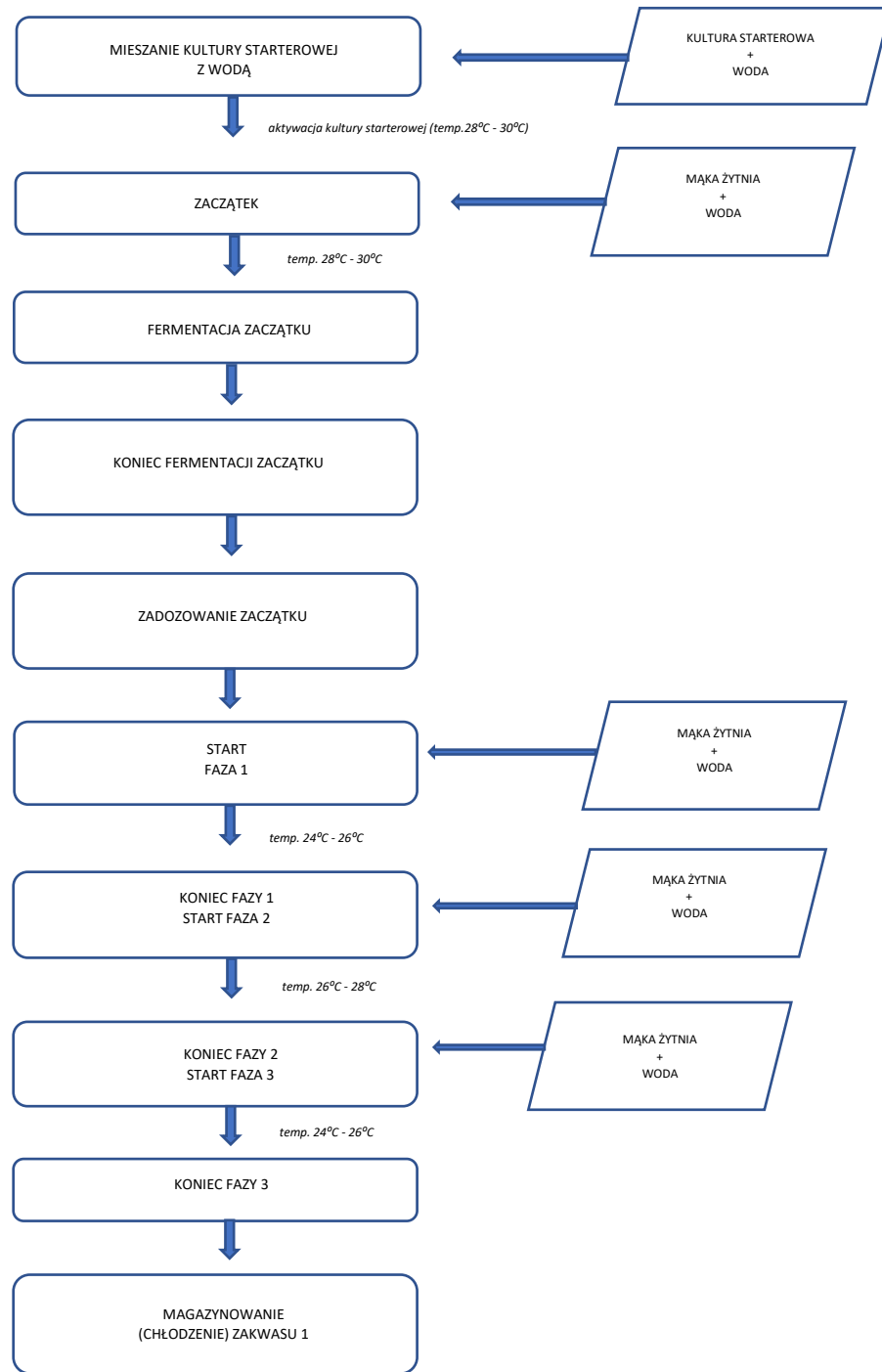


Rys. 1. Schemat technologiczny wytwarzania pumpernika standardowego w zakładzie produkcyjnym Lantmännen Unibake Poland Sp. z o.o.

Podstawą jest aktywacja oraz namnożenie mikroorganizmów odpowiadających za procesy fermentacyjne. W dzisiejszym przemyśle spożywczym, stosuje się gotowe kultury

starterowe, aby usprawnić poszczególne etapy produkcji. Do tego celu, firmy produkujące półprodukty piekarskie starają się wyselekcjonować odpowiednie szczepy bakterii. Zakłady produkcyjne wyposażone są w zautomatyzowane fermentatory. Oprócz automatycznego dozowania surowców, posiadają one automatyczne termometry oraz mieszadła. Za pomocą płaszcza wodnego możliwe jest podwyższanie lub obniżanie parametrów panujących w środku fermentatora do zadanych wartości.

Początkowym etapem jest wytworzenie zakwasu pierwszego, proces ten przedstawiono na rys. 2. Na samym początku następuje wymieszanie kultur starterowych z wodą. Kulturami starterowymi użytymi do produkcji zakwasu w Lantmännen Unibake są bakterie Levain oraz drożdże Levain z firmy Lesaffre. Odpowiednia temperatura wody przyczynia się do zainicjowania wzrostu mikroorganizmów. Etap ten zwany aktywacją trwa niecałe 10 minut. Następnie dodawana jest mąka żytnia T 2000 oraz woda w odpowiednich proporcjach. Po wymieszaniu, mieszanina odstawiana jest w dzieży na kilkadziesiąt godzin. Zaczątek jest początkowym etapem fermentacji. Mąka zmieszana z wodą ulega samoczynnej fermentacji drożdży oraz bakterii pochodzących z surowców. Zachodzą wówczas procesy fermentacyjne. Oba etapy (łącznie z aktywacją) zachodzą w przedziale temperatur między 28°C a 30°C. Tak przygotowany zaczątek trafia do fermentatora. Do zaczątku dodaje się wodę oraz mąkę i w ten sposób, w odpowiedniej temperaturze (24°C-26°C) oraz w określonym czasie (5-9 godzin) powstaje przedkwas. Na tym etapie również dochodzi do rozwoju mikroflory, głównie drożdży.



Rys. 2. Schemat technologiczny wytwarzania zakwasu pierwszego w zakładzie produkcyjnym Lantmännen Unibake Poland Sp. z o.o.

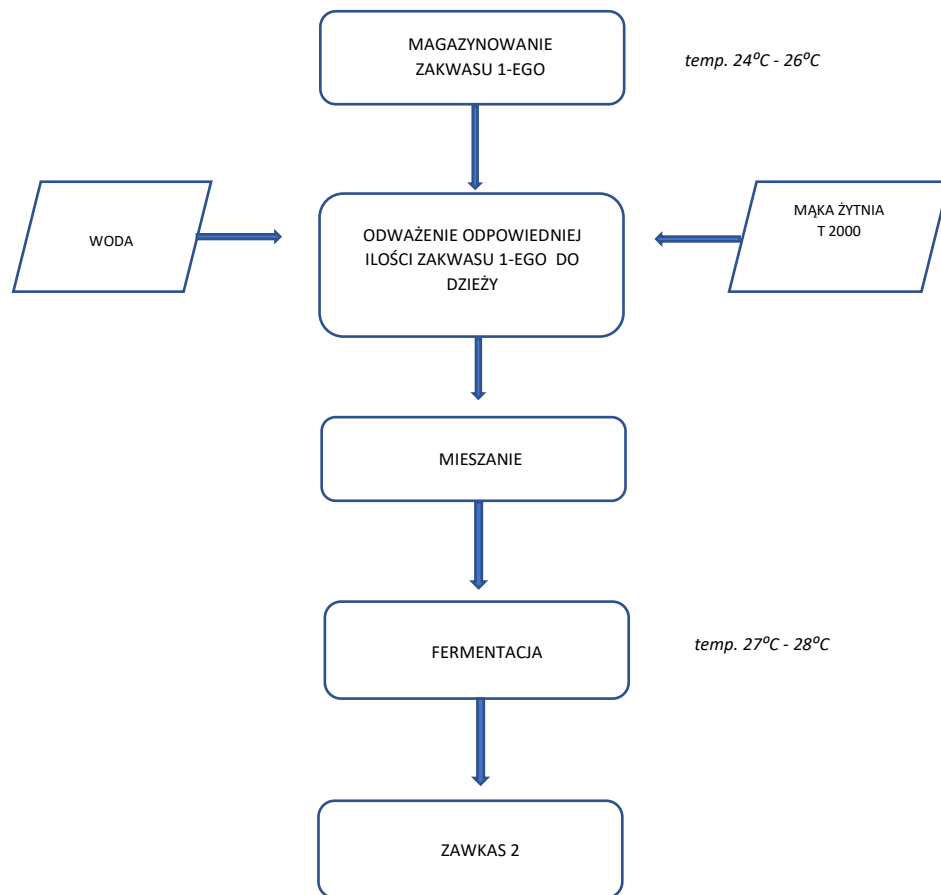
Dalsze etapy polegają na automatycznym dozowaniu odpowiednich proporcji mąki żytniej T 997 oraz wody. Cały proces trwa kilkanaście godzin i składa się z trzech

następujących po sobie faz. Różnią się one proporcją surowców, wartością temperatury oraz długością czasu. Temperatura dozowania mąki oraz wody, a także czas poszczególnych etapów fermentacji uzależniony jest od warunków panujących na hali produkcyjnej, jakości oraz temperatury dostarczonego surowca, a także od pory roku. Podczas fermentacji zakwasu, na kolejnych etapach wytwarzany jest kwas mlekowy w temperaturze 26°C-28°C poprzez dodatek mąki i wody [20, 13].



Rys. 3. Przykładowe zdjęcie gotowego zakwasu pierwszego. Fotografia własna.

Próbka gotowego zakwasu pierwszego przedstawionego na rys. 3, pobierana jest do pomiaru stopnia kwasowości. Poziomu pH ma wpływ na przebieg dalszych procesów: fermentację ciasta, wypiek, krojenie i końcową jakość produktu. Dopuszczony do produkcji przez Dział Kontroli Jakości oraz Technologa zakwas, wykorzystywany jest do dalszych etapów produkcyjnych. Z niego bowiem wytwarzany jest zakwas drugi, którego schemat widnieje na rys. 4 .



Rys. 4. Schemat technologiczny wytwarzania zakwasu drugiego w zakładzie produkcyjnym Lantmännen Unibake Poland Sp. z o.o.

Kolejny etap, to dozowanie zakwasu pierwszego do dzieży, dodanie mąki żytniej T 2000 oraz wody w odpowiednich proporcjach. Następuje po tym mieszanie składników. Tak wymieszane ciasto przesypywane jest mąką z wierzchu, co zapobiega wysychaniu oraz zapewnia większą barierę dla powietrza. Fermentacja trwa ok. pięciu godzin. Tak wytworzony drugi zakwas żytni, widniejący na rys. 5, jest wykorzystywany bezpośrednio do produkcji ciasta na pumpernikiel.

Zakwasy bardziej sżytywne są lepiej ukwaszone, ponieważ lepiej namnażają się w nich bakterie kwasu mlekowego – w przypadku pumpernika tego rodzaju zakwasem jest zakwas drugi. Temperatura również ma wpływ na przebieg procesów

fermentacyjnych. Niższa temperatura powoduje większą produkcję kwasu octowego a wyższa – kwasu mlekowego [20,13].



Rys. 5. Zakwas drugi w dzieży przesypany mąką żytnią. Fotografia własna.

Kolejnym etapem jest mieszanie składników w dzieży. Ciasto pumpernika charakteryzuje się sztywną konsystencją, dlatego miesiarka musi być odpowiednio do niego przystosowana. Najlepszymi są miesiarki z mieszadłem zetowym [22].

Czas mieszenia ciasta wynosi ok. 10 minut. Dłuższe mieszanie ciasta żytniego wpływa korzystnie na porowatość miękiszu. Temperatura ciasta podczas mieszenia powinna utrzymać się na poziomie ok. 29°C. W surowcach żytnich gluten występuje w bardzo małych ilościach, przez co wytwarzane ciasto pumpernika nie posiada tzw. siatki glutenowej. Ilość pentozanów, które bardzo silnie wiążą wodę, w cieście żytnim jest dwukrotnie większa w porównaniu z pszenicą, stąd ciasta żytnie mają większą wydajność. Peptyzacja białek jest uzależniona od pH ciasta żytniego. Ponadto bakterie kwasu mlekowego oraz drożdże kwasowe ściśle ze sobą współpracują. Bakterie tworzą warunki do rozwoju drożdży a drożdże w wyniku rozpadu wytwarzają substancje wspomagające przeżywalność bakterii kwasu mlekowego, które dzielą się na dwie grupy: heterofermentatywne, produkujące kwas octowy, aldehydy, alkohol etylowy, CO₂ oraz homofermentatywne wytwarzające tylko kwas mlekowy. Związki wytwarzane przez drobnoustroje heterofermentatywne nadają pieczywu wyrazisty smak, natomiast dwutlenek węgla je spulchnia. Drożdże piekarskie odpowiedzialne są za fermentację alkoholową.



Rys. 6. Dzielarka przeznaczona do ciasta pumpernikla. Fotografia własna.

Ciasta żytnie zawierają śluzy, otaczające ziarenka skrobi, w efekcie czego ciasto żytnie jest lepkie [13, 20]. Gotowe ciasto dzielone jest na kęsy za pomocą dzielarki przedstawionej na rys. 6. Naważka, która trafia do formy utrzymywana jest na poziomie 6-7 kg. Pumpernikiel wypiekany jest w długich prostokątnych formach (rys. 7). Uformowane ciasto w formach trafia na wózki, gdzie jest odpowiednio zamykane (rys. 8).



Rys. 7. Odważone ciasto pumpernikla w formie. Fotografia własna.



Rys. 8. Odważone kęsy ciasta w formach na wózku. Fotografia własna.

Fermentacja w zamkniętych szczelnie formach, pokazanych poniżej na rys. 9 trwa ok. 40 minut i jest prowadzona w temperaturze 35°C-40°C. Ma ona wpływ na porowatość i objętość miększu. Fermentujące ciasto rozkłada cukry do etanolu oraz dwutlenku węgla [20, 13].



Rys. 9. Szczelnie zamknięte formy z kęsami ciasta przygotowane do procesu fermentacji. Fotografia własna.

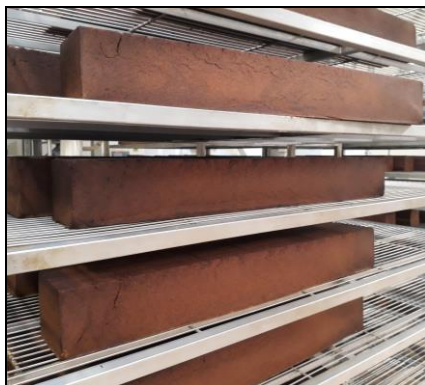
Charakterystyczny, bardzo długi (ok. 20 godzin) dla pumpernika oraz w stosunkowo niskich temperaturach (ok. 115°C) wypiek, odbywa się w zamkniętych formach, w piecach wsadowych (rys. 10), do których doprowadzana jest para wodna.



Rys. 10. Piec wsadowy służący do fermentacji ciasta oraz wypieku pumpernika. Fotografia własna.

Na początku procesu, w wyniku różnicy temperatur oraz obecności pary wodnej, dochodzi do wypełniania dwutlenkiem węgla porowatych struktur ciasta. Pod wpływem panującej temperatury w piecu, stopniowo zaczyna również tworzyć się skórka. W tym samym czasie, objętość pieczywa już nie wzrasta a wewnątrz miększu rośnie temperatura. Kiedy kęsy ciasta osiągną ok. 50°C, skrobia zaczyna pęcznieć. W wyższych temperaturach następuje denaturacja białek [13].

Pumpernikiel nie ma wykształconej charakterystycznej, chrupiącej skórki ze względu na stosunkowo niską temperaturę wypieku, tzn. ok. 115°C. Jednakże procesy karmelizacji i dekstrynizacji są zachowane i bardzo zintensyfikowane. Warto wspomnieć o nieenzymatycznych reakcjach Millarda, które wpływają na barwę skórki oraz kształtowanie się aromatu pumpernika. Występowanie aromatów w wyrobie gotowym, zależy od rodzaju aminokwasów oraz sacharydów, które są głównymi substratami reakcji Maillarda [26].



Rys. 11. Schładzanie na półkach chłodniczych upieczonych bochenków pumpernika. Fotografia własna.

Po wypieku trwającym kilkanaście godzin, pumpernikiel jest poddawany studzeniu (rys. 11), następnie krojeniu, pakowaniu oraz może być utrwalany poprzez proces pasteryzacji lub apertyzacji.

2.1.4. Wartość odżywcza pumpernika

Pieczywo żytnie zawiera wiele składników mineralnych, witamin, wysoką zawartość błonnika pokarmowego. Mniejsza strawność pieczywa żytniego spowodowana jest mniejszą strawnością białka ze względu na różnice w składzie chemicznym ziaren żyta w porównaniu z pszenicą. Zawartość białka w pieczywie pszennym jest około dwukrotnie wyższa niż w żytnim. W tab. 4 przedstawiono wybrane parametry wartości odżywczej w pieczywie pszennym oraz żytnim. Pieczywo żytnie zawiera ponad dwa razy więcej błonnika pokarmowego. Składniki mineralne zależne od rodzaju mąki, w tym wypadku wyższe są w pieczywie żytnim. Pieczywo żytnie ma wyższą zawartość potasu oraz witaminy B₆ [8, 9].

Tab. 4. Porównanie wartości odżywczej pieczywa pszennego oraz żytniego [9].

Wartość odżywcza w 100 g	Bułka pszenna	Chleb żytni
Tłuszcz (g)	1,5	1,3
Węglowodany (g)	57,7	57,4
Błonnik pokarmowy (g)	1,8	4,1
Białko (g)	8,1	3,8
Składniki mineralne (g)	1,3	1,5
Potas (mg)	112	115
Witamina B ₆ (mg)	0,04	0,06

Pumpernikiel w porównaniu do tradycyjnego pieczywa pszennego czy żytniego różni się wartością odżywczą. W tab. 5 przedstawiono wartość odżywczą pumpernika produkowanego w zakładzie produkcyjnym Lantmännen Unibake Polska Sp. z o.o.

Tab. 5. Wartość odżywcza pumpernika w 100 g wyrobu gotowego. Dane pochodzą z Lantmännen Unibake Poland Sp. z o.o.

Wartość odżywcza w 100 g	Pumpernikiel
Wartość energetyczna (kJ/kcal)	1017/241
Tłuszcz (g)	2,2
w tym kwasy tłuszczowe nasycone (g)	0,3
Węglowodany (g)	45
w tym cukry (g)	8,5
Błonnik (g)	10,7
Białko (g)	5,3
Sól (g)	1,5

Ogólna wartość energetyczna pumpernika, to ok.: 1017 kJ/241 kcal w 100 g pumpernika. Zawartość tłuszczu, to zaledwie ok. 2,2 g/100 g produktu, w tym kwasy tłuszczowe nasycone stanowią 0,3 g/100 g produktu. W pieczywie żytnim dominują: kwas palmitynowy oraz linolenowy.

Węglowodany kształtują się na poziomie ok. 45 g/100 g produktu, co jest związane z dużą zawartością surowców zbożowych. Stosunkowo niewielki procent cukrów (ok. 8,5 g/100 g

produktu), które pochodzą głównie z cukru dodanego, skrobi, dekstryn oraz słodów, powoduje, że pumpernikiel jest pieczywem pożądanym przez konsumentów dbających o zdrowy tryb życia. Węglowodany przyswajalne dostarczają organizmowi energię lub są magazynowane w postaci glikogenu. Podczas długiego wypieku pumpernika, skrobia może ulec zmianom, powodując jej oporność na trawienie. Skrobia taka zaliczana jest do błonnika pokarmowego. Co więcej, obecność kwasu mlekowego w chlebie produkowanym na zakwasie, ma wpływ na interakcje pomiędzy glutenem a skrobią, co w efekcie końcowym prowadzi do zmniejszenia strawności pieczywa po wypieku.

Poziom białka wynosi ok. 5,3 g, a soli ok. 1,5 g/ 100 g pieczywa. W produktach zbożowych występują głównie białka zapasowe – gluteliny i prolaminy. W porównaniu z białkiem odzwierzęcym, białko zbożowe ma niższą wartość odżywczą oraz jest w mniejszym stopniu wykorzystywane. Czynniki te są związane z mniejszą strawnością białek zbożowych oraz mniejszym zbilansowaniem aminokwasów. Obecność błonnika pokarmowego obniża dodatkowo strawność białek. W ziarnach zbóż, niedostatek metioniny, treoniny i lizyny wpływa na ograniczenie wartości odżywczej białka występującego docelowo w pieczywie. W trakcie pieczenia, białka stają się lepiej przyswajalne, głównie dotyczy to aminokwasów: treoniny, tryptofanu, metioniny i leucyny.

Wartość odżywcza pumpernika charakteryzuje się wysoką zawartością błonnika pokarmowego – ok. 10,7 g/ 100 g pieczywa [4]. Dzięki temu, przy znakowaniu tego rodzaju chleba, można stosować jedno z oświadczeń żywieniowych według Rozporządzenia (WE) Nr 1924/2006 w sprawie oświadczeń żywieniowych i zdrowotnych dotyczących żywności, które opisuje produkty jako zawierające wysoką zawartość błonnika (minimum 6 g na 100 g produktu) lub będące źródłem błonnika pokarmowego przy poziomie minimum 3 g błonnika na 100 g produktu [27]. Wysoką zawartość błonnika pumpernika zapewnia obecność surowców pełnoziarnistych. Błonnik regulując procesy trawienne, wpływa korzystnie na funkcjonowanie przewodu pokarmowego. Węglowodany nieprzyswajalne w pieczywie, to głównie: celuloza, lignina, pentozany. W pieczywie żytnim występują głównie pentozany.

Składniki mineralne występują w ilości od 1,5% do 2,5%. Należy podkreślić, że pieczywo żytnie jest bogatym źródłem fosforu. Inne pierwiastki: wapń, żelazo, cynk, miedź, magnez

występują w niewielkich ilościach. Warto podkreślić, że pieczywo zawiera mio-inozytol oraz kwasy fitynowe, ograniczające biodostępność składników mineralnych oraz modyfikujące strawność białka a także skrobi. Z tego względu rekomenduje się spożywanie pieczywa z przetworami mlecznymi (we względu na obecność wapnia) lub mięsnymi (posiadającymi cynk oraz żelazo). Podczas procesu fermentacji, enzymy rozkładają związki fitynowe, dzięki czemu hamują ich niekorzystny wpływ na przyswajalność mikro- oraz makroelementów.

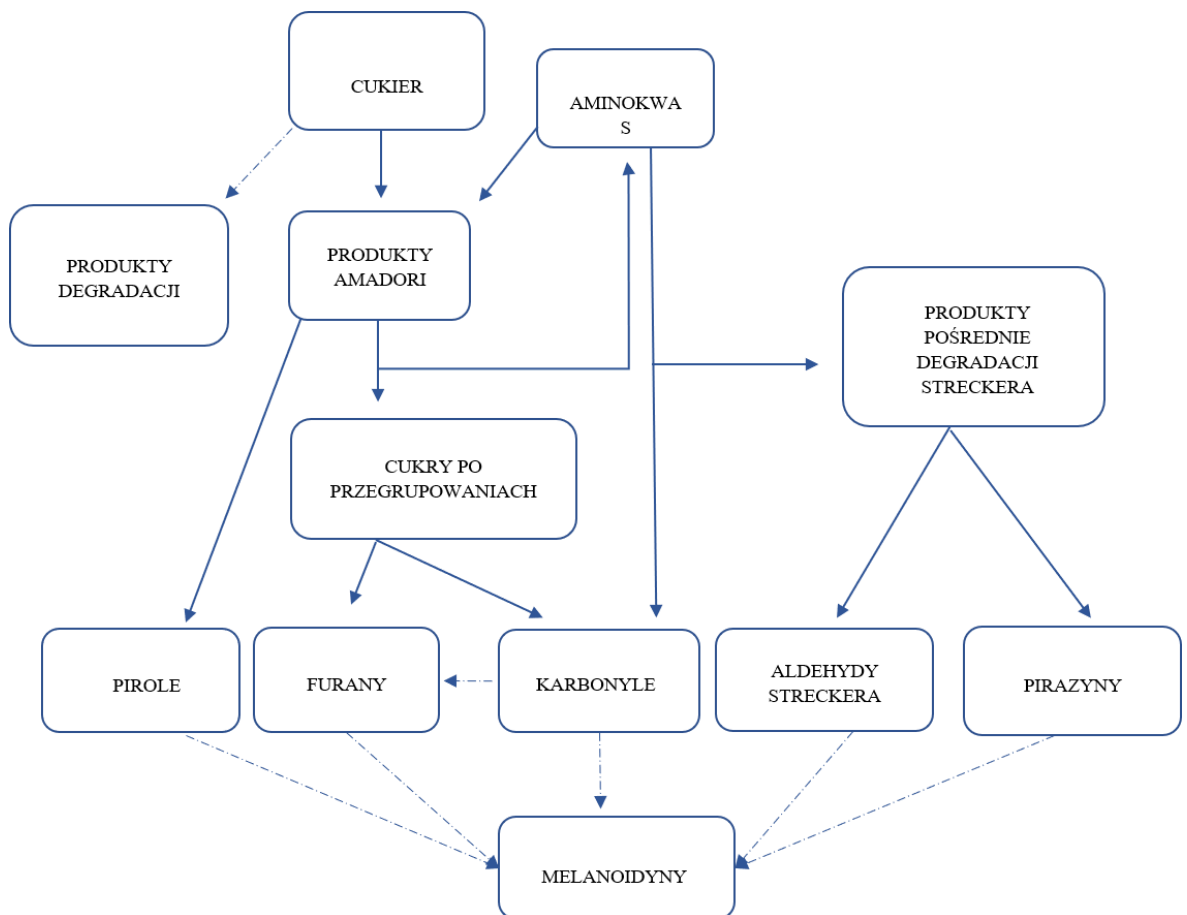
Witaminami występującymi w pieczywie są głównie przedstawiciele grupy B – niacyna, pirydoksyna, ryboflawina, tiamina. Mała ilość tłuszczu wpływa na niewielką obecność witamin w nim rozpuszczalnych. Obecna prowitamina A nie ma dużego znaczenia żywieniowego. Poziom folianów oraz witamin z grupy B podwyższony jest dzięki fermentacji ciasta żytniego. Reakcje Maillarda prowadzą do wytworzenia się antyoksydantów, które chronią przed stratami witaminy E. Poziom ubytku pozostałych witamin jest uzależniony od temperatury oraz czasu wypieku [9, 4].

Kwas mlekowy powstający w czasie fermentacji ma korzystny wpływ na procesy trawienne. Jego niskie pH reguluje wydalanie zapobiegając zaparciom oraz przyczynia się do rozwoju bakterii probiotycznych oraz hamuje rozwój patogennej mikroflory. Pieczywo produkowane na zakwasie, zachowuje termolabilne składniki podczas wypieku – β -glukany, biosterole oraz kwas foliowy. Obecność bakterii fermentacji mlekowej wpływa korzystnie na zwiększenie biodostępności składników mineralnych (głównie fosforu, magnezu, wapnia oraz cynku). Wynikiem fermentacji mlekowej jest uwalnianie aminokwasów egzogennych w pieczywie: tryptofanu, metioniny oraz lizyny [28].

Pumpernikiel wyróżnia się również na rynku piekarskim stosunkowo niskim indeksem glikemicznym. Autorzy artykułu Breen i wsp. [2] wykazali, że dwie godziny po spożyciu pumpernika, poziom glukozy we krwi był niższy o 20 mg/ dL, w porównaniu z poziomem po spożyciu chleba pszennego. Poziom insuliny dwie godziny po spożyciu pumpernika również kształtował się na niższym poziomie (ok. 75 μ IU/ml) w porównaniu z wynikami po spożyciu pieczywa pszennego (ok. 110 μ IU/ml) [2].

2.2. Związki zapachowe występujące w pieczywie

Związki zapachowe występujące w pieczywie żytnim dzielimy na związki powstające w czasie fermentacji i wypieku. W czasie wypieku dominuje reakcja Maillarda, podczas której powstaje najwięcej związków zapachowych, przedstawionych na rys. 12. Głównymi syntetyzowanymi grupami związków zapachowych są: pirole, furany, karbonyle, aldehydy i pirazyny. Początkowa faza reakcji polega na kondensacji aminokwasu oraz cukru, ale może jednocześnie także dojść do karmelizacji (degradacji cukru). Powstające podczas cyklizacji związków pośrednich, związki heterocykliczne zawierają atomy tlenu albo azotu. W czasie szeregu reakcji, tworzone są związki zapachowe oraz barwniki melanoidowe, odpowiedzialne za występowanie różnych odcieni koloru brązowego w produktach żywnościowych, m.in. w pieczywie.



Rys. 12. Uproszczony schemat tworzenia związków zapachowych w reakcji Maillarda [29].

Degradacja Streckera jest istotną fazą reakcji Maillarda, podczas której dochodzi do reakcji związków dikarbonylowych z aminokwasami. Wynikiem tych przemian są tzw. aldehydy Streckera, stanowiące główne związki zapachowe w żywności produkowanej w wysokich temperaturach - m.in. odpowiedzialne za zapach skórki pieczywa. Degradacja Streckera doprowadza do syntezy kluczowych związków: 3-metylobutanalu, aldehydu fenylooctowego oraz metionalu. W dalszych etapach, wydzielający się amoniak oraz siarkowodór mogą reagować z innymi związkami [29].

Aromat chleba odgrywa kluczową rolę w akceptacji tego rodzaju produktu żywnościowego. Badania nad aromatem chleba są w centrum zainteresowań naukowców od wielu lat. Jednak złożoność niniejszej kompozycji aromatycznej powoduje, że badania nad związkami zapachowymi chleba dzielone są na te pochodzące z miękiszu oraz ze skórki. W miękiszu związki lotne powstają przede wszystkim w wyniku miesienia oraz fermentacji ciasta. Miesienie, które polega na połączeniu podstawowych składników ciasta prowadzi do zainicjowania szeregu reakcji enzymatycznych, natomiast w procesie fermentacji do chodzą do rozkładu cukrów poprzez bakterie kwasu mlekowego oraz drożdże. Dodatkowo w procesie wytwarzania ciasta może dochodzić do utleniania lipidów, które są również prekursorami związków zapachowych. W skórce chleba związki lotne powstają na drodze nieenzymatycznej reakcji Maillarda, w tym również na drodze degradacji Streckera związków karbonylowych. Według danych literaturowych, w chlebie pszennym zidentyfikowano około 326 związków lotnych, jednakże tylko kilkadziesiąt z nich pełni istotną rolę w kształtowaniu aromatu [30]. Jednym z wyróżników świadczącym o istotności związku zapachowego jest wartość aktywności aromatu (OAV, ang. *odor activity value*), która określa stosunek stężenia związku zapachowego w produkcie do jego progu wyczuwalności sensorycznej. Im wyższa wartość OAV związku, tym większe znaczenie dla kształtowania aromatu produktu. W tab. 6 przedstawiono zestawienie wartości OAV poszczególnych związków zapachowych zidentyfikowanych w skórce oraz miękiszu pieczywa pszennego. Związkami posiadającymi najwyższą wartość OAV w skórce chleba są: 2-acetylo-1-pyrolina (z wartością 2900), 4-etenilo-2-metoksyfenol (z wartością 190), 3-(metylosulfanylo)propanal (z wartością 160) oraz HDMF (z wartością 160). W miękiszu najwyższe wartości OAV były wykryte w następujących związkach zapachowych: kwasie 3-metylobutanowym (z wartością 110), 2-acetylo-1-pyrolinie (z wartością 74),

3-(metylosulfanylo)propanalu (z wartością 51) oraz 3-metylobutan-1-olu (z wartością 35). Kluczowym związkiem zapachowym znajdującym się w skórce pieczywa jest 2-acetylo-1-pyrolina, odpowiedzialna za zapach przypominający prażoną kukurydzę.

Tab. 6. Przykładowe związki zapachowe oraz ich wartość OAV zidentyfikowane w miększu oraz w skórce pieczywa pszennego [31].

Związek zapachowy	Wartość OAV	
	w skórce	w miększu
2-acetylo-1-pyrolina	2900	74
4-etenilo-2-metoksyfenol	190	21
3-(metylosulfanylo)propanal	160	51
HDMF	160	<1
kw. 3-metylobutanowy	79	110
fenyloacetaldehyd	37	6,0
maltol	34	<1
3-metylobutan-1-ol	19	35
(2E, 4E)-deka-2,4-dienal	17	11
kw. 2-metylopropanowy	14	21
kw. fenylloctowy	12	9,1
kw. butanowy	12	18
(2E)-non-2-enal	8,2	4,2
kw. 2-metylobutanowy	7,0	11
kw. octowy	5,0	3,9
2-fenylloetan-1-ol	3,2	4,5
(E)- β -damascenon	1,5	<1
2-metylobutan-1-ol	<1	1,5

Drugi, co do poziomu wartości OAV związek aromatyczny, to 4-etenilo-2-metoksyfenol, reprezentujący zapach goździków. Za aromat słodowy odpowiada 3-metylobutanal, karmelowy – HDMF, natomiast 3-(metylosulfanylo)propanal posiada zapach gotowanych ziemniaków. Aromat miększu kształtuje się głównie dzięki powstawaniu kwasu

3-metylobutanowego o zapachu sera, 2-acetylo-1-pyroliny, 3-(metylosulfanylo)propanalu, 3-metylobutan-1-olu o zapachu słońca, kwasu 2-metylopropanowego oraz kwasu butanowego o zapachu sera i 4-etenilo-2-metoksyfenolu.

Związkami zawierającymi najniższą wartość OAV, poniżej 5,0, w skórce pieczywa pszennego są m.in.: 2-metylobutan-1-ol, (E)- β -damascenon oraz 2-fenyletan-1-ol, natomiast w miększu pieczywa pszennego, to: (E)- β -damascenon, 2-metylobutan-1-ol, maltol, HDMF, kwas octowy, 2-fenyletan-1-ol oraz (2E)-non-2-enal [31].

Warto dodać, że związkami zapachowymi występującymi w większej ilości w skórce chleba żytniego w porównaniu z chlebem pszennym są: 3-metylobutanal, HD3F oraz metional w przeciwieństwie do 2-acetylo-1-pyroliny, której jest znacznie mniej w pieczywie żytnim. Związkiem zapachowym tworzącym się tylko w skórce pieczywa żytniego jest 2-furfurylotiol [23].

Badania Pico J., Bernal J., Gómez M. (2015) wskazują, że mąka pełnoziarnista w porównaniu z mąką posiadającą mniej popiołu, zawiera mniej 2-nonenalu oraz 2,4-dekadienu, związków odpowiedzialnych za posmaki utlenienia lipidów [30].

W produktach owsianych zidentyfikowanymi związkami zapachowymi są głównie: alkohole, aldehydy, furfural, pochodne benzenu i furanu oraz terpeny. Autorzy podają, że ciężki jest do określenia konkretny związek aromatyczny, który charakteryzowałby specyficzny smak wyrobów owsianych, lekko tłuszczowy oraz orzechowy [32].

W chlebie ryżowym udało się zidentyfikować charakterystyczne dla tego rodzaju pieczywa związki zapachowe. Jak podają autorzy, z najwyższym OAV wykryto 9 związków zapachowych, zarówno w skórce jak i miększu, których poziomy przedstawiono w tab. 7. Najwyższe wartości w skórce oraz w miększu charakterystyczne są dla: kwasu 3-metylobutanowego, odpowiedzialnego za zapach słodki, kwasu octowego, przypominającego ostry, octowy zapach oraz 3-metylo-1-butanolu przypisanego do zapachu słodowego. Kolejnymi zidentyfikowanymi związkami zapachowymi są: 2-metoksy-4-winylofenol (odpowiednik zapachu goździków) oraz kwas feniloctowy (odpowiednik zapachu miodowego). Ciekawym jest związek 2-aminoacetofenon, występujący w pieczywie ryżowym, charakterystyczny dla zapachu winogronowego. Autorzy zwrócili również uwagę na fakt, że heksanal występuje w dużych ilościach w mące ryżowej (OAV=42), natomiast w pieczywie wyprodukowanym na bazie mąki ryżowej jego wartość maleje (OAV miększu=11, natomiast OAV skórki=12) [33, 34].

Tab. 7. Przykładowe związki zapachowe oraz ich wartość OAV zidentyfikowane w miększu oraz w skórce pieczywa ryżowego [33].

Związek zapachowy	Wartość OAV	
	w skórce	w miększu
3-metylo-1-butanol	22	69
kw. 3-metylobutanowy	64	60
kw. octowy	29	22
2-metoksy-4-winylofenol	15	16
kw. fenylooctowy	17	12
kw. 2-metylobutanowy	9	9
2-fenyloetanol	4	8
2-aminoacetofenon	6	6
1-okten-3-on	8	3

2.3. Metody identyfikacji związków aktywnych aromatycznie

Główny podział związków zapachowych dzieli je na pierwotne, wtórne oraz zapachy obce. Aromaty pierwotne kształtują się naturalnie w produktach żywnościowych na drodze reakcji enzymatycznych. Związki zapachowe wtórne są wynikiem różnych przemian, które zachodzą w obecności dodatkowego, zewnętrznego czynnika (np. podwyższonej temperatury) – do nich zalicza się, np. fermentację ciasta, czy reakcje Maillarda podczas wypieku. Zapachy obce, to te, które powstają na wskutek migracji zapachów z zewnątrz do produktu lub w wyniku zmian, np. oksydacji tłuszczów podczas przechowywania żywności.

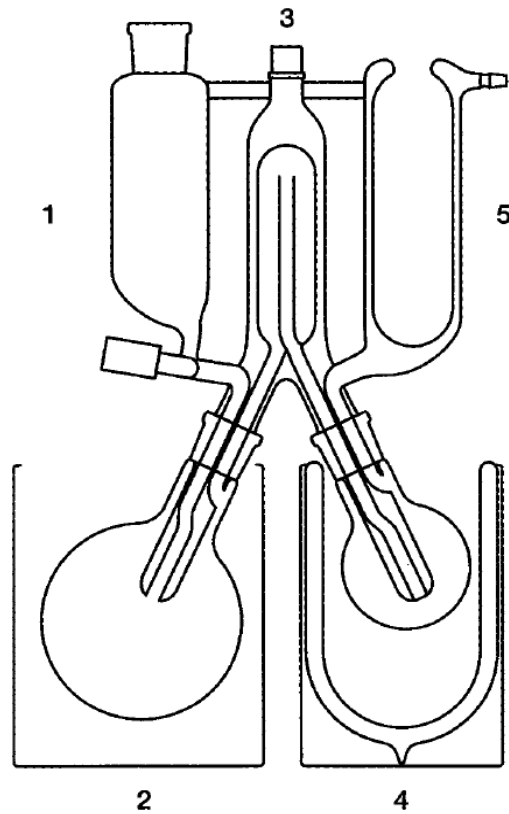
Spośród dziesiątek tysięcy związków lotnych zidentyfikowanych w żywności, tylko niewielka część z nich, ok. 15%, odgrywa istotną rolę w kształtowaniu jej aromatu. Związki te nazywane są jako aktywne aromatycznie (ang. *aroma active compounds*) lub kluczowe związki zapachowe (ang. *key odorants*). Związki zapachowe w żywności występują w stężeniach o bardzo niskim poziomie, np. µg/kg lub ng/kg wyrobu gotowego. Głównym zmysłem odbierającym wrażenia zapachowe jest nos a szczególnie, nabłonek węchowy, wchodzący w interakcje ze związkami zapachowymi podczas procesu wężania lub spożywania posiłku, od strony receptorów jamy ustnej.

Cechą charakterystyczną związków zapachowych stanowiącą o jego sile aromatyzowania jest próg wyczuwalności sensorycznej, OT (ang. *odor detection threshold*), który określa możliwie najniższe stężenie, w którym dany związek zapachowy jest wyczuwalny. Wartości progów wyczuwalności sensorycznej poszczególnych związków zapachowych są bardzo zróżnicowane czy to ze względu na budowę związku, czy też matrycę w jakiej się znajduje i mogą wynosić, np. 100 mg/kg wody dla etanolu i 0,00000002 mg/kg wody dla 1-p-mentent-8-tiolu. Wartość OT stosuje się do wyznaczenia wyróżnika, który określa aktywność aromatyczną związku w danym produkcie spożywczym, mianowicie, wartość aktywności aromatu OAV (ang. *odor activity value*). Wartość OAV jest uznawana za jeden z najlepszych wyróżników, który decyduje o tym, czy dany związek zapachowy wpływa na kształtowanie aromatu produktu, czy jest kluczowy dla aromatu. Wartość OAV wyznacza się poprzez obliczenie ilorazu stężenia związku w danej próbce do progu wyczuwalności zapachowej tego związku [29].

W celu identyfikacji związków zapachowych wykorzystuje się szereg technik i analiz wśród których można wydzielić następujące etapy: izolacja związków lotnych, separacja za pomocą technik chromatograficznych, identyfikacja jakościowa i ilościowa oraz obliczanie OAV.

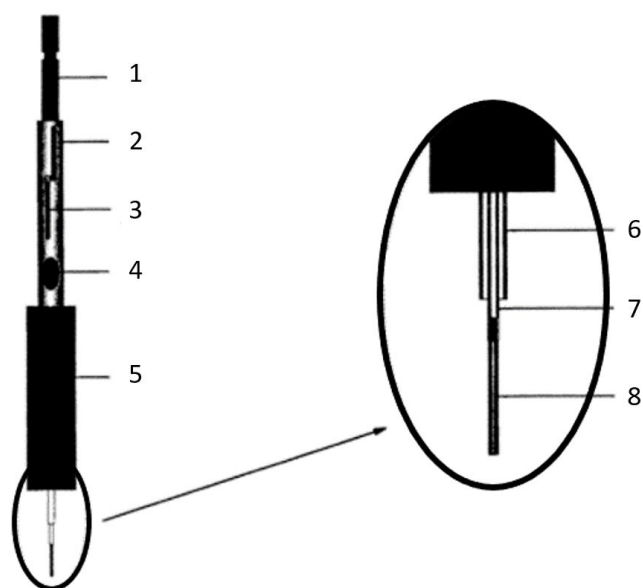
Jedną z metod izolacji związków aromatycznych jest aparat Likens'a-Nickerson'a. Zasada jego działania polega na jednoczesnej ekstrakcji oraz izolacji związków aromatycznych powstających w czasie 2 h gotowania produktu. Wadą tej metody jest ryzyko zmiany kompozycji aromatu w badanym produkcie pod wpływem wysokiej temperatury, przez co może dojść do rozpadu związków termolabilnych, czy też wytworzenia nowych tzw. artefaktów.

Do delikatnej izolacji związków zapachowych wykorzystuje się destylator, zwany aparatem SAFE, rys. 13. Dzięki zastosowaniu wysokiej próżni (ok. 5 mPa) aparat ten pozwala na szybką izolację związków aromatycznych z żywności w temp. 40°C.



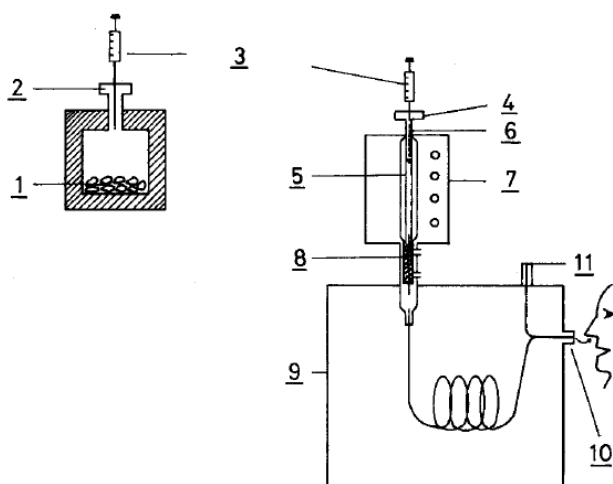
Rys. 13. Budowa aparatu destylacyjnego SAFE. 1-szklany lej, 2-łaźnia wodna kolby destylacyjnej, 3-głowica destylacyjna, 4-odbiornik, 5-lej, do którego dozowany jest ciekły azot [23].

Kolejną metodą wykorzystywaną do izolacji związków zapachowych jest mikroekstrakcja do fazy stacjonarnej SPME (ang. *solid phase microextraction*), rys. 14. Metoda SPME polega na wyizolowaniu substancji z próby, adsorbpcji do włókna, które jest pokryte polimerem (tzw. fazy stałej) do momentu osiągnięcia stanu równowagi. Po absorpcji, związki są desorbowane do bloku wtryskiwacza chromatografu gazowego w celu dalszej analizy. W ostatniej fazie dochodzi do desorpcji z włókna substancji w temp. ok. 200°C.



Rys. 14. Aparatura SPME. 1-tłok , 2-lufa, 3-szczelina Z, 4-okno widokowe Hub, 5-regulowany ogranicznik głębokości, 6-igła, 7-rurka mocująca włókna, 8-powlekane włókno z topionej krzemionki [35].

W kolejnym etapie związki są rozdzielane za pomocą chromatografii gazowej, a w szczególności chromatografii gazowej połączonej z olfaktometrią (GC-O), rys. 15. Za pomocą GC-O (ang. *gas chromatography-olfactometry*) można dokonać pierwszej selekcji związków aktywnych zapachowo.

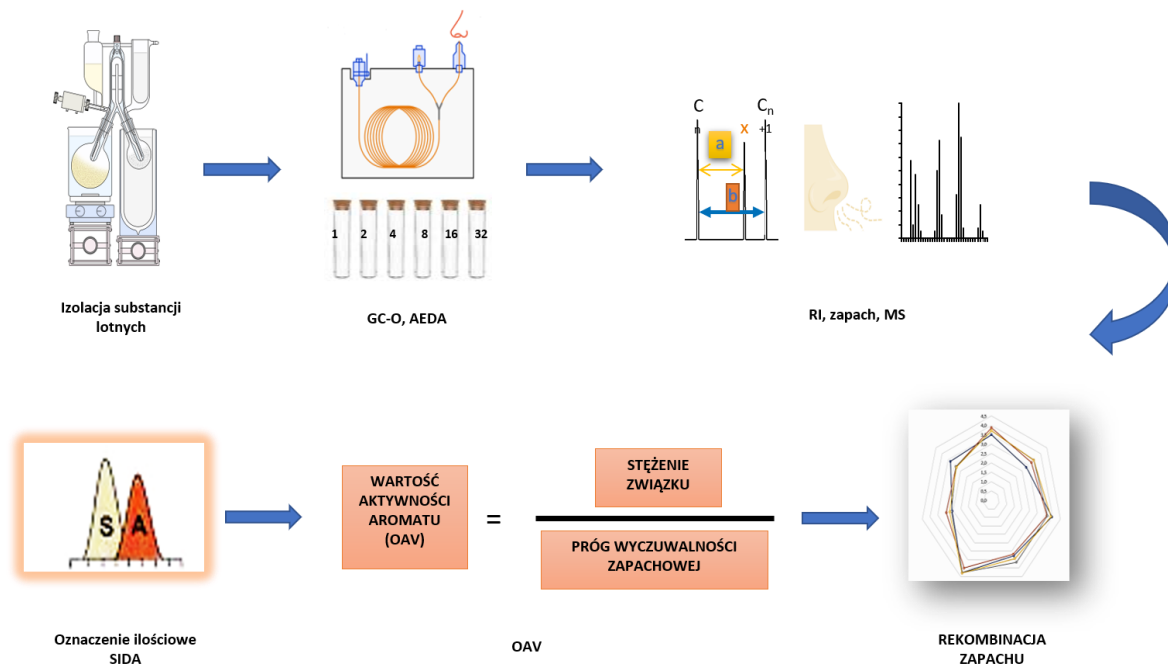


Rys. 15. Aparatura służąca do chromatografii gazowej-olfaktometrii. 1-próbka w termostacie, 2-przegrody, 3-gazoszczelna strzykawka, 4-port nastrykowy, 5-szklana rurka, 6-gaz nośny, 7-system oczyszczania i zatrzymywania, 8-miejsce chłodzenia, 9-chromatograf gazowy z kolumną kapilarną, 10-port olfaktometryczny (węchowy), 11-detektor płomieniowo-jonizacyjny [23].

Technika GC-O, łączy tradycyjną analizę chromatograficzną razem z detekcją sensoryczną, dzięki czemu możliwa staje się identyfikacja czynnych substancji zapachowych w złożonych mieszaninach. Przeszkolony zespół pod względem wykonywania analizy sensorycznej za pomocą zmysłu węchu bada eluat w celu wykrycia związków aktywnych sensorycznie, posługując się portem olfaktometrycznym połączonym z detektorem płomieniowo-jonizacyjnym [36]. Analiza próbki trwa ok. 40 minut. Podczas badania, powstałe piki porównuje się z pikami związków wzorcowych. Doznania zapachowe umożliwiają łatwiejszą identyfikację związków zapachowych [37].

Analizując bukiety zapachowe występujące w żywności popularne stało się podejście sensomiczne przedstawione według schematu na rys. 16. Sensomika skupia wysiłki analityczne na wyjaśnieniu sensorycznie aktywnych związków oraz na wszystkich możliwych bodźcach multimodalnej percepcji (zapach, smak, konsystencja), za pomocą kompleksowego oraz zintegrowanego traktowania składników oraz związanych z nimi następujących atrybutów próbki: właściwości sensorycznych i fizykochemicznych, stężenia w matrycy. Owe podejście ma na celu wyizolowanie, identyfikację oraz ilościowe oznaczenie kluczowych związków zapachowych poprzez połączenie ekstrakcji, izolację substancji lotnych za pomocą SAFE, zagęszczenie, wykrywanie zapachów metodą GC-O, identyfikacja oraz późniejsza dokładna ocena ilościowa. Percepcja aromatu żywności jest złożonym zjawiskiem biologicznym, wyzwalanym głównie przez lotne cząsteczki zdolne do interakcji ze złożoną gamą receptorów węchowych. Dzięki detekcji olfaktometrycznej osoby oceniające wykrywają związki zapachowe podczas ich eluacji z kolumny [38]. Badanie cząsteczek zapachowych za pomocą zmysłu węchu metodą GC-O, polega na badaniu ich progu w powietrzu, dlatego wprowadzono wartość aktywności zapachowej (OAV), definiowaną jako stosunek stężenia substancji zapachowej w produkcie do jej progu wyczuwalności zapachowej w odpowiedniej matrycy. Analiza rozcieńczenia ekstraktu aromatu (AEDA), umożliwia dodatkowo kompleksową detekcję zestawu cząstek aktywnych zapachowo. W doświadczeniach chromatografii gazowej oraz spektrometrii mas (MS) stosuje się stabilne izotopy, mające charakter standardów wewnętrznych. Kluczowe substancje zapachowe są analizowane za pomocą porównania chromatograficznego czasów retencji (RI). Analiza ilościowa kluczowych związków zapachowych żywności możliwa jest z udziałem analizy stabilnych rozcieńczeń izotopowych (SIDA). Profil

zapachowy danej żywności można odtworzyć również za pomocą rekombinacji zapachu przy użyciu wysoko oczyszczonych syntetycznych odorantów [39].



Rys. 16. Schemat podejścia sensomicznego, na podstawie [40].

2.4. Charakterystyka surowców o obniżonej zawartości białek glutenowych

Do produkcji pieczywa bezglutenowego oraz o bardzo niskiej zawartości glutenu wykorzystywane są surowce ze zbóż niechlebowych, pseudozbóż lub roślin strączkowych. Przez lata surowce roślinne były dodatkiem do pieczywa wytwarzanego ze standardowych mąk chlebowych, jednakże coraz częściej można je spotkać jako główny składnik produktów piekarskich. Podstawową zasadą kwalifikacji surowców jako przeznaczone do żywności bezglutenowej jest brak obecności glutenu, czyli mieszaniny białek: glutenin i prolamin. Głównymi białkami glutenowymi w zbożach są: gliadyna (w pszenicy), hordeina (w jęczmieniu) oraz sekalina (w życie). Po licznych badaniach uważa się, że białko występujące w owsie – awenina nie stanowi dużego zagrożenia dla osób

nietolerujących glutenu, jednak zboże musi być pod ścisłą kontrolą, ze względu na możliwość zanieczyszczenia go alergenami krzyżowymi pochodzącymi z innych zbóż. Dla pacjentów z celiakią lub nietolerancją glutenu, chcących spożywać produkty owsiane, zaleca się początkową obserwację reakcji na owies, ponieważ jest to kwestia indywidualna [17]. Surowcami wybieranymi do produkcji pieczywa bezglutenowego oprócz popularnych (kukurydzy, owsa, ryżu) są m.in.: maniok, sorgo, gryka, amarantus, proso, *psyllium*, len, miłka abisyńska, *quinoa*, soja, fasola, ziarna, suszone owoce. Półki w sklepach przepełnione były do tej pory pieczywem składającym się głównie ze skrobi pszennej bezglutenowej z dodatkiem gumy guar, agaru, błonnika *psyllium*, inuliny, pektyn. Pieczywo z wyżej wymienionych surowców charakteryzuje się niską zawartością składników mineralnych oraz białka. Dobrym rozwiązaniem jest wybór mąki bezglutenowej, np. owsianej (o specjalnym rygorze produkcyjnym), gryczanej, kukurydzianej oraz dodatek nasion. Dzięki wyborze surowców mniej przetworzonych, bogatych w witaminy z grupy B, pełnowartościowe białko, nienasycone kwasy tłuszczowe, związki mineralne, żywność ta nie zwiększa indeksu glikemicznego oraz stężeniu glukozy po posiłku [41].

Wartość odżywczą owsa kształtuje jakość białka, β -glukany oraz stosunek kwasów tłuszczowych nienasyconych do nasyconych. Owies, w porównaniu do innych zbóż ma bardzo wysoką zawartość tłuszczów (ok. 7%), w skład których w ponad 50% wchodzi wielonienasycone kwasy tłuszczowe, w tym również kwas linolowy należący do grupy NNKT. Natomiast w porównaniu z innymi zbożami zawiera niewiele skrobi (45-55%). Ziarno owsa przewyższa wartością odżywczą wszystkie pozostałe gatunki zbóż, gdyż zawiera oprócz dużej ilości tłuszczu około 15% białka. Spożywanie produktów owsianych dostarcza do organizmu 7 z 10 aminokwasów egzogennych, dlatego uważa się, że produkty wytwarzane z owsa zawierają białko o wysokiej wartości biologicznej. Błonnik owsa zawiera dużą ilość frakcji rozpuszczalnej w porównaniu z innymi zbożami, z tego względu jest szczególnie pożądany ze względów dietetycznych oraz w profilaktyce chorób cywilizacyjnych. Zawarte w błonniku β -glukany są szczególnie ważne dla ludzi mających kłopoty z przewodem pokarmowym, ponieważ pod wpływem gotowania zamieniają się one w gęsty śluz mający właściwości żelujące, ochraniający błonę śluzową. β -glukany, znajdujące się w warstwie aleuronowej stanowią 4-7%. β -glukany obok pentozanów należą do węglowodanów nieskrobiowych. Te pierwsze mają zdolności

silnego pęcznienia, natomiast te drugie tworzą lepkie roztwory. Większość zbóż zawiera gluteliny i prolaminy - białka zapasowe, natomiast ziarna owsa charakteryzują się większą zawartością globulin. Owies, tak samo jak kukurydza jest źródłem fosforu, jednak góruje nad innymi zbożami pod względem zawartości manganu, cynku, wapnia oraz żelaza. Owies jest zasobny w witaminy z grupy B, z czego głównie w tiaminę. Błonnik owsa zawiera dużą ilość frakcji rozpuszczalnej w porównaniu z innymi zbożami, z tego względu jest szczególnie pożądanym ze względów dietetycznych oraz w profilaktyce chorób cywilizacyjnych. Mąkę oraz płatki owsiane najczęściej wykorzystuje się do produkcji ciastek, bułek, mieszanek zbożowych typu Muesli [9, 32, 42].

Ziarna kukurydzy posiadają bardzo dużą ilość tłuszczu (ok. 4,5%), z tego względu z zarodków produkuje się oleje oraz margaryny. Mąka kukurydziana zawiera ok. 6 g białka, 78 g węglowodanów oraz poniżej 8 g błonnika w 100 g produktu. Zawartość składników mineralnych kukurydzy jest znacznie niższa w porównaniu z ich zawartością w pszenicy oraz życie. Ziarna kukurydzy zawierają wysoki poziom węglowodanów, wśród których skrobia stanowi aż 70%. Mąka kukurydziana oraz ziarna kukurydzy wykorzystywane są do produkcji pieczywa (w połączeniu z innymi rodzajami mąk), wafli ekstrudowanych, otrąb, makaronów, ciastek oraz płatków śniadaniowych [9, 10, 42, 43].

Ryż jest zbożem, które w budowie posiada okrywę owocowo-nasienną, zarodek, bielmo oraz plewkę. Na rynku spożywczym można spotkać ryż obłuszczone lub nieobłuszczone. W Polsce wykorzystywany jest głównie ryż całkowicie obłuskany, bez okrywy owocowo-nasiennej oraz zarodka. Właściwości technologiczne ryżu określa się w oparciu o proporcje amylozy do amylopektyny oraz zawartość białka. Pieczywo produkowane z surowców ryżowych charakteryzuje się zbitym miękiszem. Ryż, podobnie do gryki, charakteryzuje się dość dużym poziomem skrobi (od ok. 50% do ponad 78%). Skrobię ryżu charakteryzują małe ziarna, które są łatwostrawne. Zawartość błonnika dla ryżu białego, to ok. 2,4%. Ryż zawiera wysoki poziom lizyny, natomiast niski poziom tłuszczów, wśród których kwas linolowy wynosi 30%. Dodatkowo jest źródłem witaminy E oraz witamin z grupy B. Ziarna ryżu zawierają duże ilości fosforu, wapnia, potasu, żelaza oraz magnezu. Dużym atutem jest niewielka ilość sodu. Surowce ryżowe, ze względu na neutralny zapach oraz smak, wykorzystywane są coraz częściej do produkcji pieczywa, skrobi, wafli ryżowych ekstrudowanych, płatków ryżowych oraz napojów zstępujących mleko.

Kolejnym zbożem jest proso, wykorzystywane głównie do produkcji kaszy jaglanej. Zarodek stanowi aż 25% masy ziarna. Pokrewne dla prosa jest sorgo, zawierające więcej tłuszczu oraz białka, ale za to mniej błonnika w porównaniu z ziarnem pszenicy. Frakcje błonnikowe, to głównie: ligniny, celulozy oraz pentozany. Używane jest głównie do produkcji olejów, oraz skrobi. Charakteryzuje się bardzo dużą ilością łatwo przyswajalnych węglowodanów, ok. 98% w porównaniu z innymi zbożami, z czego 60% stanowi skrobia. Białko prosa, w 85% przyswajalne składa się z ważnych pod względem wartości odżywczej aminokwasów: izoleucyny, metioniny oraz leucyny. Wśród tłuszczu, dużą część stanowią wielonienasycone kwasy tłuszczowe, w tym kwas linolenowy. Magnez, potas oraz żelazo, to główne składniki mineralne prosa. Wśród witamin dominują m.in.: PP, B₁, B₂, B₆, biotyna oraz kwas pantotenowy [9, 42, 43].

Poza mąkami zbożowymi, popularnymi stały się także mąki z roślin motylkowatych. Ich nasiona zawierają wysoką zawartość białka oraz tłuszczu a mniejszą zawartość cukrów w porównaniu z mąkami zbożowymi. Wśród nich rozróżnić można: soję, fasolę, groch oraz łubin. Mąki z roślin strączkowych używane są często, aby podwyższyć wartość odżywczą białka w produktach zbożowych.. Najbardziej uniwersalną w piekarstwie jest mąka sojowa, która podwyższa zawartość białka w pieczywie oraz dzięki polepszeniu wodochłonności ciasta, wpływa na wydłużenie świeżości pieczywa. Ponadto zawiera duże ilości folianów, ryboflawiny oraz tiaminy. Pozostałe mąki służą jako dodatek do produktów cukierniczych oraz używane są podczas produkcji koncentratów. Ze względu na wysoką zawartość tłuszczów, trwałość tego rodzaju surowców jest ograniczona przez występujące reakcje oksydacji podczas dłuższego przechowywania. Coraz częściej w sklepach można spotkać makarony produkowane na bazie roślin strączkowych, m.in. z bobu, soi oraz grochu [17].

Gryka, surowiec najbardziej kojarzony z wykorzystaniem go w formie kaszy, używany jest do produkcji pieczywa, czy też makaronów. W ziarnie gryki duży procent stanowi skrobia. Białko obfituje w tryptofan oraz lizynę, stanowi od 8 do 19% suchej masy ziarna. Ten ostatni aminokwas znajduje się na poziomie wyższym niż w ziarnie pszenicy, prosa, ryżu oraz żyta. Dużą wartość żywieniową podbija obecność rutyny a także zestawienie aminokwasów egzogennych. Co więcej, gryka zawiera rutynę, 3-flawonole, kwasy fenolowe oraz katechiny, należące do związków fenolowych [9, 42, 43]. W gryce znajdują się duże ilości witaminy B₆ oraz niacyny [10].

Do roślin bezglutenowych zaliczany jest też amarantus należący do rzędu goździkowców, rodziny szarłatowatych. Białko amarantusa bogate jest w aminokwasy egzogenne (posiada je wszystkie), dzięki czemu ma wysoką wartość odżywczą. Zawartość tłuszczu dochodzi nawet do 13%. W skład nienasyconych kwasów tłuszczowych wchodzi: kwas palmitynowy, linolowy, oleinowy oraz dodatkowo ciekawe frakcje tłuszczowe: skwalen, tokoferole i tokotrienole. Węglowodany kształtują się na poziomie 75%, z czego większa część, to skrobia a resztę zajmuje błonnik. Głównymi składnikami mineralnymi są: wapń, żelazo i magnez. Z mikroelementów, głównymi są m.in.: cynk, nikiel, selen. Zawartość witamin jest porównywalna z ich zawartością w pszenicy, życie oraz jęczmieniu. Witaminami występującymi w tym pseudozbożu są: witaminy z grupy B, E, oraz C. Służy on do produkcji ciastek, herbatników, mąki, często jest również sprzedawany w formie ekspandowanych ziaren.

Quinoa (komosa ryżowa) jest pseudozbożem należącym do rodziny komosowatych. Zawiera białko ze zbalansowaną kompozycją aminokwasów. Cysteina, lizyna oraz metionina znajdują się na wysokim poziomie. Komosa ryżowa jest źródłem nienasyconych kwasów tłuszczowych – głównie kwasu oleinowego oraz linolowego, a także antyoksydantów – α -tokoferolu i γ -tokoferolu. Węglowodany są na podobnym poziomie, co w jęczmieniu, amarantusie i ryżu. Zawartość błonnika waha się pomiędzy 1% a 6%. Porównując zawartość karotenu, witaminy B₂ oraz witaminy E w pszenicy, ryżu oraz jęczmieniu, quinoa wyróżnia się wyższą ich zawartością. Komosa ryżowa jest dobrym źródłem cynku, magnezu, żelaza oraz antyoksydantów – kwasów fenolowych oraz flawonoidów (kwercytiny i kemferolu) a także glikozydów – saponin. Komosa ryżowa jest atrakcyjnym surowcem także dla diabetyków, ze względu na dużą zawartość maltozy i D-ksylozy a jednocześnie niewielką zawartość glukozy i fruktozy. Zawartość witaminy E jest dwukrotnie wyższa niż w pszenicy oraz życie. Komosę ryżową można stosować w formie mąki do wypieku naleśników, pieczywa, ciastek, jak również do produkcji makaronów.

Teff, kolejne pseudozboże należące do grupy traw, nazywane inaczej miłką abisyńską, zawiera kolejno: 73% węglowodanów, ok. 13% białka, do 8% błonnika, do 3% tłuszczu oraz składników mineralnych. Z aminokwasów występujących w tym surowcu na najwyższym poziomie, to: lizyna, cysteina oraz metionina. Dodatkowo jest źródłem składników mineralnych (m.in. cynk, wapń, żelazo). Ziarna teffu mielone są

w całości, dzięki czemu nie występują straty wartości odżywczych na tym etapie. Dodatkowym atutem jest zawartość tłuszczu, który nie jest wrażliwy na jełczenie. Teff można spotkać głównie w formie mąki, służącej do zagęszczania zup, sosów oraz ciastek [10, 43].

2.5. Pieczywo bezglutenowe oraz o bardzo niskiej zawartości glutenu

Pieczywo bezglutenowe dedykowane jest głównie dla ludzi z określonymi jednostkami chorobowymi, nietolerancjami lub alergiami pokarmowymi. Celiakia, alergia na pszenicę oraz nadwrażliwość na gluten, to główne przyczyny przejścia na dietę bezglutenową. Najbardziej restrykcyjnymi nawykami żywieniowymi pod względem braku glutenu, powinny wykazywać się osoby chore na celiakię. Niepokojący jest fakt, że dieta osób nietolerujących glutenu jest najczęściej uboga m.in. w: błonnik, białko, witaminy z grupy B, niektóre pierwiastki a bogata w kwasy tłuszczowe oraz cukry proste [44].

Według Rozporządzenia Parlamentu Europejskiego i Rady (UE) nr 1169/2011, w Załączniku II, każdy przedsiębiorca produkujący żywność ma obowiązek umieszczenia na etykiecie wyrobu gotowego alergenów występujących w składzie lub mogących się znaleźć w produkcie jako tzw. zanieczyszczenie krzyżowe. Zboża zawierające gluten znajdują się na pierwszym miejscu listy wszystkich alergenów [45].

Produkty bezglutenowe oraz o bardzo niskiej zawartości glutenu są obwarowane prawnie w Rozporządzeniu Wykonawczym Komisji (UE) nr 828/2014. Rozporządzenie to służy do przekazywania rzetelnych informacji dotyczących nieobecności lub zmniejszonej zawartości glutenu w żywności. Przepisy zawarte w rozporządzeniu pozwalają na znakowanie żywności jako *'bezglutenowa'* lub *'o bardzo niskiej zawartości glutenu'* przy spełnieniu określonych warunków. Produkt finalny, trafiający do konsumenta można nazwać *'bezglutenowy'*, jeżeli zawiera nie więcej niż 20 mg glutenu na 1 kg wyrobu gotowego. Ponadto *'o bardzo niskiej zawartości glutenu'*- to sformułowanie odpowiednie dla żywności, w której poziom zawartości glutenu nie przekracza 100 mg na 1 kg finalnego wyrobu. Rozporządzenie zawiera także dodatkowe wymogi dla żywności zawierającej owies i oznakowanej jako *'bezglutenowa'* lub *'o bardzo niskiej zawartości glutenu'*. Produkty tego rodzaju powinny zawierać surowce owsiane, w których poziom glutenu nie przekracza 20 mg/1 kg surowca. W tym celu, surowce owsiane powinny być

specjalnie przygotowane i/lub przetworzone w celu uniknięcia lub eliminacji zanieczyszczeń krzyżowych pszenicą, jęczmieniem i żytem lub ich odmianami krzyżowymi [46].

Żywność bezglutenowa dodatkowo może zostać oznakowana specjalnym znakiem przedstawiającym przekreślony kłosa zboża, który został pokazany na rys. 17. Znak ten nadawany jest przez Europejski System Licencyjny (ESL) stworzony przez organizacje zrzeszone w Europejskim Zrzeszeniu Stowarzyszeń Osób z Celiakią (AOECS). Produkty z poniższym symbolem są w pełni bezpieczne dla osób z celiakią ze względu na regularną kontrolę - niezapowiedziane audyty, badania na zawartość glutenu, ścisła współpraca z Polskim Stowarzyszeniem Osób z Celiakią i na Diecie Bezglutenowej [47, 48].



Rys. 17. Licencjonowany symbol Przekreślonego Kłosa przeznaczony do znakowania żywności bezglutenowej [48].

Pieczywo bezglutenowe oraz o bardzo niskiej zawartości glutenu zaliczane jest do pieczywa specjalnego ze względu na dodatek nietypowego zboża niechlebowego lub też pseudozboża a także surowców pochodzenia zbożowego, zmieniających produkt finalny w porównaniu ze standardowym. Pieczywo specjalne odznacza się unikatową wartością odżywczą oraz nietypowymi cechami sensorycznymi. Udział zbóż i pseudozbóż w pieczywie zaliczanym do powyższej kategorii powinno być nie mniejsze niż 5% w całkowitej ilości mąki chlebowej (chleb o bardzo niskiej zawartości glutenu). Chleb bezglutenowy może być określony jako specjalny dietetyczny [7].

Pieczywo bezglutenowe charakteryzuje się mniejszą zawartością białka oraz składników mineralnych. Z tego względu producenci i naukowcy poszukują rozwiązań, które podwyższyły by wartość odżywczą pieczywa zachowując przy tym reżim bezglutenowy [49].

3. Cel pracy i hipoteza badawcza

Celem pracy doktorskiej było opracowanie receptury chleba typu pumpernikiel bezglutenowego oraz o bardzo niskiej zawartości glutenu o dobrej jakości sensorycznej, porównywalnej do pumpernikla klasycznego oraz wyznaczenie kluczowych związków zapachowych kształtujących aromat pumpernikla klasycznego oraz z wykorzystaniem surowców o obniżonej zawartości białek glutenowych.

Sformułowano następujące hipotezy badawcze:

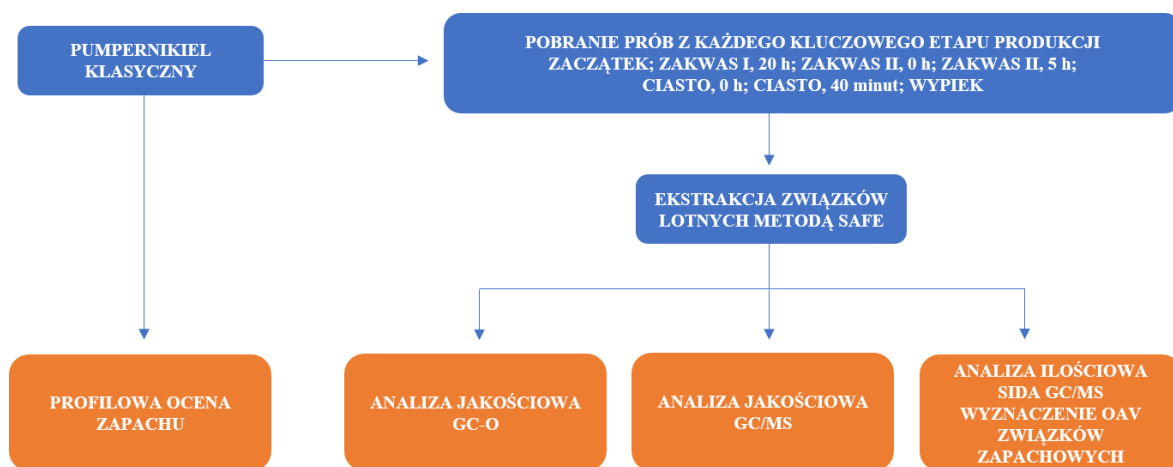
Hipoteza 1. Interakcje składników chleba pumpernikiel (pełnoziarnista mąka żytnia, mąka ryżowa oraz mąka owsiana), oryginalna technologia przygotowania pumpernikla, czyli fermentacja ciasta na zakwasie, długotrwały i niskotemperaturowy wypiek (ok. 20 h) mają wpływ na tworzenie związków zapachowych, właściwości sensoryczne i parametry reologiczne produktu końcowego.

Hipoteza 2. Istnieje możliwość wytworzenia chleba typu pumpernikiel bezglutenowego oraz o bardzo niskiej zawartości glutenu o dobrej jakości sensorycznej poprzez zastąpienie mąki żytniej mąką ryżową lub owsianą.

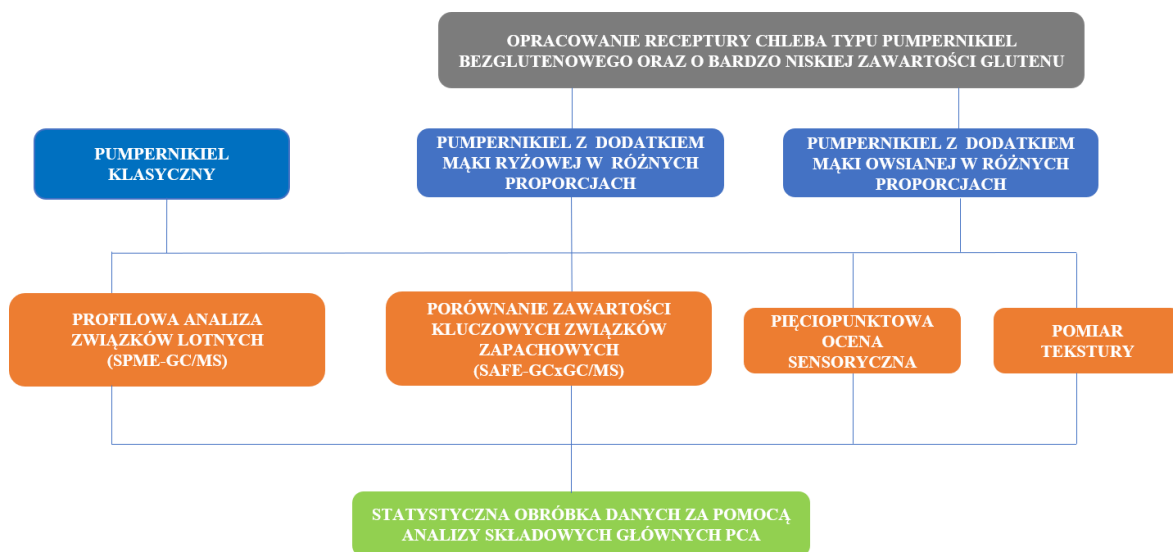
Zakres pracy obejmował następujące etapy:

1. Wyznaczenie kluczowych związków zapachowych odpowiedzialnych za aromat klasycznego pumpernikla.
2. Określenie wpływu poszczególnych etapów procesu technologicznego pumpernikla na powstawanie związków zapachowych.
3. Opracowanie chleba typu pumpernikiel bezglutenowego oraz o bardzo niskiej zawartości glutenu o dobrej jakości sensorycznej.
4. Porównanie zawartości glutenu, tekstury, barwy, zawartości kluczowych związków zapachowych oraz walorów sensorycznych pumpernikla oraz chlebów typu pumpernikiel bezglutenowego oraz o bardzo niskiej zawartości glutenu.

Na rys. 18 oraz 19 przedstawiono schemat prowadzonych doświadczeń.



Rys. 18. Schemat prowadzonych doświadczeń - etap 1 i 2 zakresu prac.



Rys. 19. Schemat prowadzonych doświadczeń – etap 3 i 4 zakresu prac.

4. Część metodyczna

4.1. Materiał badawczy

Surowce wykorzystane do produkcji pumpernika klasycznego oraz pumpernika produkowanego z surowców o obniżonej zawartości białek glutenowych przedstawiono w tab. 8.

Tab. 8. Zestawienie surowców wykorzystanych do prób pumpernika klasycznego oraz pumpernika produkowanego z udziałem surowców o obniżonej zawartości białek glutenowych.

Składnik	Zawartość [%]*	Nazwa producenta surowca
Pełnoziarnista mąka żytnia	50 ± 2	GoodMills Polska Sp. z o.o.
Woda	23 ± 2	-
Naturalny zakwas żytni	18 ± 2	Produkcja własna z użyciem kultur starterowych z firmy Lesaffre Polska S.A.
Cukier	3 ± 1	Pfeifer and Langen Sp. z o.o.
Słód jęczmienny jasny	2,5 ± 1	Ireks Prokopowicz Sp. z o.o.
Sól	1,3 ± 0,5	Ciech S.A.
Słód jęczmienny, prażona mąka słodowa pszenna	1 ± 1	Ireks Prokopowicz Sp. z o.o.
Błonnik pszenny	0,8 ± 0,2	Brenntag Polska Sp. z o.o.
Regulator kwasowości	0,1 ± 0,2	Ireks Prokopowicz Sp. z o.o.
Drożdże	0,09 ± 0,02	Lesaffre Polska S.A.
Mąka owsiana	Ilość opracowana w ramach pracy doktorskiej.	Melvit S.A.
Mąka ryżowa	Ilość opracowana w ramach pracy doktorskiej.	Melvit S.A.

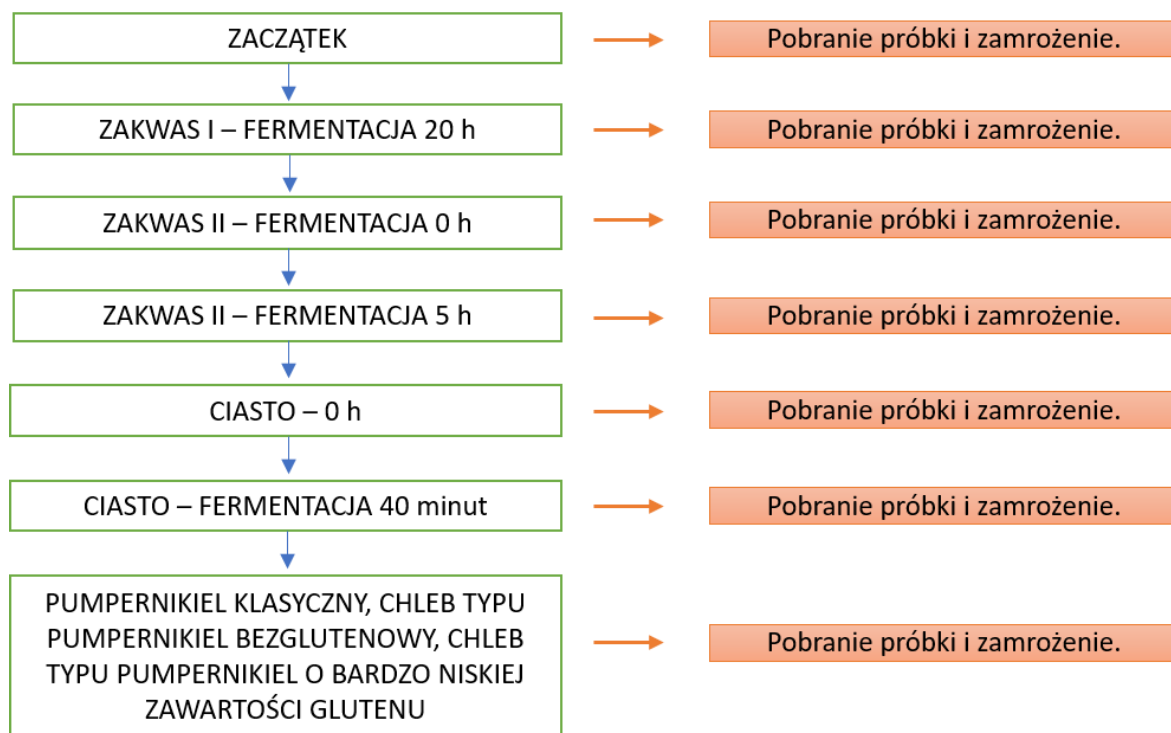
*Podane wartości procentowe poszczególnych składników zestawionych w tabeli dotyczą ciasta pumpernika klasycznego. Zawartość procentowa surowców w cieście w próbach pieczywa typu pumperniel z dodatkiem mąki owsianej oraz w próbach pieczywa typu pumperniel z dodatkiem mąki ryżowej zestawiono w dalszej części pracy w tab. 13 oraz 14.

Materiał badawczy stanowił pumperniel klasyczny oraz pieczywo typu pumperniel z dodatkiem mąki owsianej lub ryżowej, a także półprodukty pobierane ze wszystkich kluczowych etapów produkcji pumpernika, takie jak:

- a) zaczątek, otrzymany w wyniku zmieszania kultur starterowych (bakterie Levain oraz drożdże Levain) z wodą w odpowiednich proporcjach. Próbkę pobrano po 5 minutach aktywacji (temperatura 28-30°C).
- b) zakwas pierwszy, otrzymany w wyniku zmieszania zaczątku z odpowiednimi proporcjami wody oraz mąki żytniej T 997. Próbkę zakwasu pierwszego pobrano po 20 godzinach fermentacji (temperatura fermentacji była uzależniona od fazy: początkowo temp. zaczątku 28-30°C, następnie na starcie fazy pierwszej w temperaturze 24-26°C, na końcu fazy pierwszej i początku fazy drugiej temp. 26-28°C, na końcu fazy drugiej i początku fazy trzeciej w temperaturze 24-26°C, koniec finalnej fazy trzeciej w temperaturze 24-26°C).
- c) zakwas drugi - fermentacja 0 h, otrzymany w wyniku zmieszania zakwasu pierwszego, pełnoziarnistej mąki żytniej T 2000 oraz wody w odpowiednich proporcjach. Próbkę pobrano po zmieszaniu składników, przed rozpoczęciem procesu fermentacji.
- d) zakwas drugi - fermentacja 5 h, otrzymany w wyniku 5 godzinnej fermentacji zakwasu drugiego w temperaturze 27-28°C.
- e) ciasto - fermentacja 0 h, otrzymane w wyniku zmieszania zakwasu żytniego (zakwasu drugiego), wody, pełnoziarnistej mąki żytniej lub mąki ryżowej lub mąki owsianej (w proporcjach uzależnionych od rodzaju otrzymanego chleba), cukru, słodu jęczmiennego jasnego, soli, słodu jęczmiennego, prażonej mąki słodowej pszennej, błonnika pszennego, regulatora kwasowości oraz drożdży. Próbkę pobrano po wymieszaniu składników, przed rozpoczęciem procesu fermentacji. Temperatura ciasta po wymieszaniu składników wynosiła 28°C.
- f) ciasto - fermentacja 40 minut, otrzymane w wyniku 40 minutowej fermentacji ciasta w temperaturze 40°C.
- g) wypiek - wyrób gotowy, otrzymano w wyniku wypieku ciasta w temp. 115°C przez ok. 20 godzin, wystudzeniu, pokrojeniu, spakowaniu i pasteryzacji przez 2,5 godziny w komorze z zadaną wewnątrz temperaturą wynoszącą 95°C.

Proporcje poszczególnych składników wszystkich prób pumpernika znajdują się w tabeli 8, 13 oraz 14 niniejszej pracy.

Cała produkcja pumpernika odbywała się na terenie zakładu Lantmännen Unibake Poland Sp. z o.o. w fabryce w Poznaniu. Próbki zakwasów, ciasta oraz chleba były pakowane w szczelnie zamkniętych pojemnikach przeznaczonych do kontaktu z żywnością w celu zabezpieczenie przed niepożądanymi czynnikami zewnętrznymi, następnie mrożone w temp. od -18°C do -20°C i przechowywane do czasu dalszych analiz w Pracowni Badania Związków Lotnych i Aktywnych Sensorycznie, Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu. Schemat pobierania prób został przedstawiony na rys. 20.



Rys. 20. Schemat pobierania prób pumpernika klasycznego produkowanego metodą tradycyjną oraz pumpernika produkowanego z surowców o obniżonej zawartości białek glutenowych.

4.2. Stosowane odczynniki

Odczynniki stosowane do analiz: dichlorometan, bezwodny siarczan sodu, mieszanina n-alkanów C7-C24 zakupiono w Sigma-Aldrich, Poznań.

Standardy stosowane do analizy związków zapachowych podczas analizy GC/MS.

Standardy stosowane podczas analizy związków zapachowych, pochodzące z Aroma LAB (Freising, Germany): [²H₆]-siarczek dimetylu, [²H₉]-3-metylomaślan etylu, [¹³H₄]-2,3-butanodion, [²H₃]-kwas octowy, [²H₃]-2-metylobutanal, [²H₂]-3-metylo-1-butanol, [²H₂]-3-metylobutanol, [²H₅]-3-metylomaślan etylu, [²H₅]-metional, [²H₃]-4-hydrokso-3-metylobenzaldehyd, [²H₅]-fenyloacetoaldehyd, [¹³C₂]-furafenol, [²H₂]-5,6-nonal, [²H₃]-maltol, [²H₇]-kwas izomasłowy, [²H₉]-3-metylomaślan etylu, [²H₁₂]-heksanal, [²H₃]-3-hydrokso-2-metylo-4H-piran-4-on, [²H₅]-3-(metylotio)propanal, [¹³C₂]-2-acetylo-1-pirolina, [²H₆]-trisiarczek dimetylu, [¹³C₂]-4-hydrokso-5-metylo-3(2H)-furanon, [²H₅]-aldehyd fenylooctowy, [²H₃]-wanilina, [²H₃]-2-metoksyfenol, [²H₅]-2-fenyloetanol, [²H₃]-4-hydrokso-3-metoksybenzaldehyd. Następujące związki referencyjne zakupiono z firmy Sigma-Aldrich (Poznań, Polska): 2-metylobutanal, 3-metylobutanal, 3-(metylotio)propanal, 3-hydrokso-4,5-dimetylo-2(5H)-furanon, trisiarczek dimetylu, 2-fenyloetanol, β-damascenon, 4-hydrokso-3-metylobenzaldehyd, 2,5-dimetylo-4-hydrokso-3(2H)-furanon, fenyloacetoaldehyd, 2,3-butanodion, 2-acetylo-1-pirolina, 2-metoksyfenol, 3-metylomaślan etylu, kwas octowy, maślan etylu, octan etylu, heksanal, heksanian etylu, 3-hydrokso-2-metylo-4H-piran-4-on, 4-etylo-2-metoksyfenol, 2-metokso-4-winylofenol, siarczek dimetylu, 3-metylo-1-butanol, mleczan etylu, furfural, kwas 2(3)-metylobutanowy, 4-hydrokso-5-metylo-3(2H)-furanon, oktanian etylu, kwas fenylooctowy, 2,6-dimetoksyfenol, (Z)-4-heptenal.

4.3. Aparatura i drobny sprzęt

Wykaz sprzętu oraz aparatury wykorzystanej w analizach:

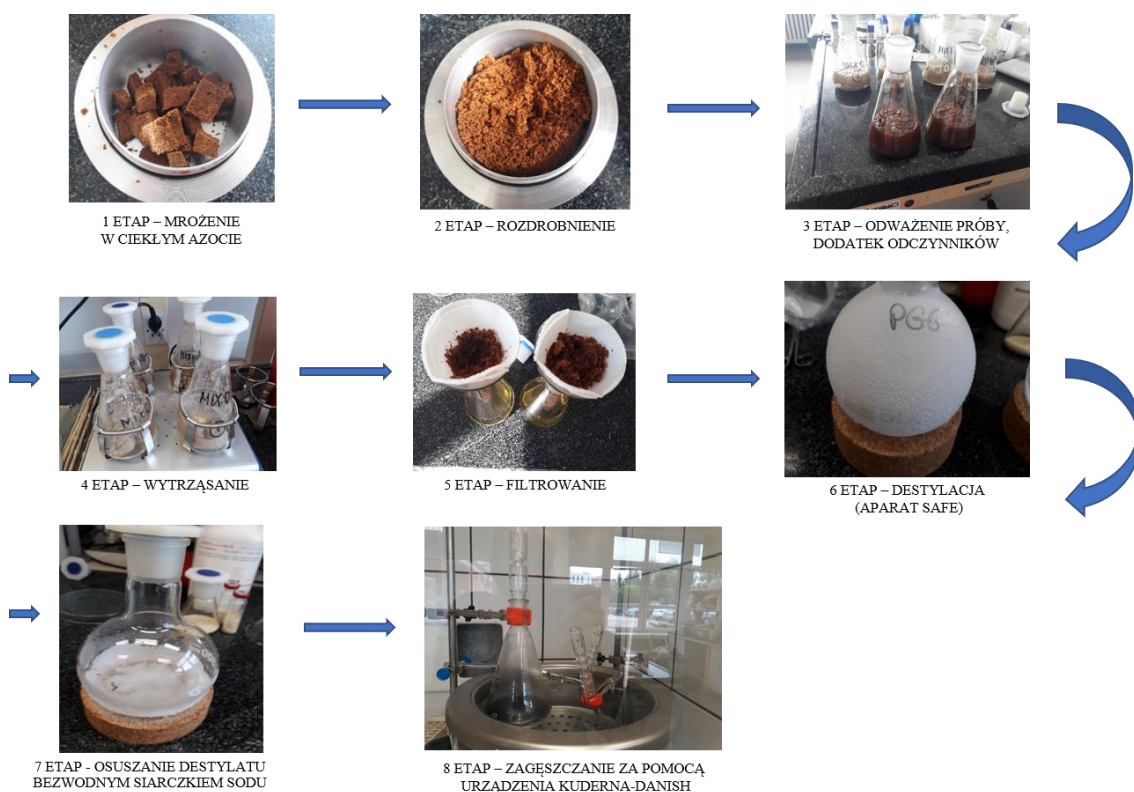
- Waga VWRI611-2283 , Model: LPCG-723i, Włochy
- Młynek WZ-1s, Instytut Sadkiewicza, Bydgoszcz, Polska
- Wyrząsarka KS 130 B, IKA, Niemcy
- Aparat do destylacji SAFE, Hewlett-Packard, Wilmington, DE, USA
- Aparat Kuderna-Danish służący do zagęszczania próbek, Sigma-Aldrich, Poznań
- Chromatograf gazowy z detektorem płomieniowo-jonizacyjnym oraz portem olfaktometrycznym GC-O HP 5890, Hewlett-Packard, Wilmington, DE, USA wyposażony w kolumnę SUPELCOWAX 10 (30 m x 0,53 mm x 1 µm), Supelco, Bellefonte, PA, USA lub kolumnę SPB-5 (30 m x 0,53 mm x 1,5 µm), Supelco, Bellefonte, PA, USA
- Dwuwymiarowy chromatograf gazowy z sprzężony ze spektrometrem mas typu czasu przelotu Pegasus-BT4D GC × GC TOFMS wyposażony w dwie kolumny: Rxi5ms 30 m x 0.25 mm x 0.25 µm (Restek) oraz Rxi17ms 0.9 m x 0.25 mm x 0.25 µm (Restek)
- Chromatograf gazowy sprzężony ze spektrometrem mas typu potrójny kwadrupol; GC-MS/MS 7890A/7000B, Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA wyposażony w kolumnę SUPELCOWAX 10 (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm), Supelco, Bellefonte, PA, USA lub kolumnę SLB-5MS (25 m x 0,2 mm x 0,33 µm), Supelco, Bellefonte, PA, USA
- Kolorymetr Chroma Meter-400, Konica Minolta
- Analizator tekstury TA XT Plus, Stable Micro Systems, Surrey, Wielka Brytania
- Włókno do SPME (DVB/CAR/PDMS), Supelco, Bellefonte, PA, USA
- Test ELISA Romer Laboratories AgraQuant Gluten Assay, Newark, USA

4.4. Metody analityczne

4.4.1. Metoda izolacji związków lotnych za pomocą techniki SAFE

Opisaną technikę izolacji wykorzystano do: identyfikacji kluczowych związków zapachowych pumpernikla za pomocą analizy GC-O oraz GC/MS, do porównania zmian zawartości kluczowych związków zapachowych pumpernikla na poszczególnych etapach produkcji pumpernikla za pomocą analizy GC/MS oraz porównania zawartości kluczowych związków zapachowych chlebów: pumpernikla, pumpernikla bezglutenowego oraz pumpernikla o bardzo niskiej zawartości glutenu za pomocą analizy GC/MS.

Przygotowanie próby do izolacji metodą SAFE, polegało na zamrożeniu ciasta lub pokrojonych kawałków upieczonego pumpernikla w ciekłym azocie a następnie zmielenie młynkiem WZ-1s. W przypadku zakwasu pierwszego oraz drugiego, ze względu na ich ciekły charakter, próbek nie poddano mrożeniu oraz dodatkowemu rozdrobnieniu. Próbki w ilości 200 g odważono do 500 ml kolb stożkowych, następnie dodano do każdej z nich 100 ml dichlorometanu oraz 500 μ l standardu wewnętrznego - naftalenu d_8 o stężeniu 4,4 mg/25 ml. Tak przygotowane próby wytrząsano w temperaturze pokojowej przez dwie godziny w wytrząsarce horyzontalnej. Następnie próby filtrowano przez sącdek. Przesącz poddany był destylacji w aparacie SAFE, którego zasada działania opisana była w punkcie 2.3. Destylację prowadzono przez ok. 30 minut. Uzyskany destylat poddano odwodnieniu za pomocą bezwodnego siarczanu sodu. W końcowym etapie próbkę zagęszczono w temp. ok. 45°C w aparacie Kuderna-Danish do objętości 400 μ l. Próbki umieszczono w szczelnie zamkniętych fiolkach i przechowywano w temperaturze -18°C do czasu dalszych analiz. Ogólny zarys metody izolacji związków lotnych metodą SAFE połączonej z metodą zagęszczania za pomocą urządzenia Kuderna-Danish przedstawiono na rys. 21.



Rys. 21. Schemat przygotowania prób do dalszych analiz związków zapachowych.

4.4.2. Metoda izolacji związków lotnych za pomocą techniki SPME

Opisaną technikę izolacji wykorzystano do porównania profilowej analizy związków lotnych pumpernikla oraz pumpernikla z dodatkiem mąki ryżowej lub owsianej w różnych proporcjach.

Włókno SPME (DVB/CAR/PDMS) kondycjonowano przez 1 h w 270°C, zgodnie z instrukcją producenta. W kolejnym etapie 5 g zmielonej próbki chleba umieszczono w 20 ml fiołce i zamknięto szczelnie kapslem z silikonową uszczelką. Następnie, próbka przed ekstrakcją, została poddana kondycjonowaniu w 50°C przez 5 minut w celu uzyskania równowagi międzyfazowej. W ostatnim etapie przeprowadzono ekstrakcję poprzez ekspozycję włókna SPME w fazie nadpowierzchniowej przez 40 minut. Po ekstrakcji przeprowadzano analizę związków lotnych za pomocą GC/MS.

4.4.3. Metoda GC-O

Ekstrakty uzyskane w wyniku destylacji aparatem SAFE były poddane analizie GC-O w celu identyfikacji związków aktywnych zapachowo. Analizę GC-O wykonano na chromatografie HP 5890 przy użyciu dwóch kolumn o różnej polarności: niepolarniej kolumny SPB-5 (30 m x 0,53 mm x 1,5 µm) i polarnej kolumny SUPELCOWAX 10 (30 m x 0,53 mm x 1 µm). Chromatograf gazowy był wyposażony w detektor płomieniowo-jonizacyjny (FID) oraz port olfaktometryczny. Związki lotne eluujące z kolumny były dzielone w stosunku 1:1 za pomocą dzielnika strumienia typu „Y”, między portem olfaktometrycznym a detektorem płomieniowo-jonizacyjnym. Gazem nośnym był hel, prędkość przepływu wynosiła 1 ml/min. Warunki analizy dla SPB-5 były następujące: początkowa temperatura pieca 40°C (1 min.), wzrost temperatury pieca o 6°C/1 minutę do 180°C, następnie o 20°C/1 minutę do 280°C.

Parametry analizy dla kolumny SUPELCOWAX 10: początkowa temperatura pieca 40°C (2 min.), wzrost temperatury pieca o 6°C/ 1 minutę do 240°C, po czym utrzymywano temperaturę 240°C izotermicznie przez 2 minuty.

Ekstrakty wstrzykiwano do GC za pomocą 10 µl strzykawki w ilości 2 µl. Związki aktywne zapachowo wykryto oraz poddano identyfikacji za pomocą zmysłu węchu przez

dwóch różnych panelistów. Dla każdego związku obliczono wskaźniki retencji oraz wyznaczono ich nutę zapachową. Indeksy retencji obliczono dla każdego związku, przy użyciu homologicznej serii n-alkanów C7-C24, według źródła [50].

Indeks retencji Kováts'a substancji analizowanych obliczono na podstawie następującego wzoru:

$$RI_x = 100 \frac{\lg t_R(x) - \lg t_R(z)}{\lg t_R(z+1) - \lg t_R(z)} + 100z$$

gdzie:

$t_R(x)$ – czas retencji substancji badanej

$t_R(z)$ – czas retencji n-alkanu o (z) atomach węgla w łańcuchu

$t_R(z+1)$ – czas retencji n-alkanu o (z+1) atomach węgla w łańcuchu

4.4.4. Metoda GC/MS i GCxGC/TOFMS

Analiza jakościowa oraz ilościowa odbywała się za pomocą chromatografii gazowej sprzężonej ze spektrometrią mas. Podczas realizacji pracy doktorskiej korzystano z następującej aparatury:

- GC/MS będący na wyposażeniu Pracowni: 7890A GC w połączeniu z 5975C MSD (Agilent Technologies) z kolumną SUPELLOWAX 10 (30 m x 0,25 mm x 0,25 μ m) lub kolumną SLB-5MS (25 m x 0,2 mm x 0,33 μ m). Nastrzyk wykonano w trybie bez podziału strumienia (splitless) w temp. 220°C (próby SAFE) oraz w temp. 250°C (próby SPME). Warunki operacyjne dla GC/MS były następujące: przepływ helu 32,2 cm/s, początkowa temperatura pieca 40°C (2 min.), wzrost temperatury pieca o 6°C/ 1 minutę do 240°C oraz utrzymywanie izotermiczne temperatury 240°C przez 2 minuty. Widma masowe rejestrowano w trybie elektronicznej jonizacji (70 eV) w zakresie skanowania 33-350 m/z. Dla wszystkich związków lotnych, wykluczając (Z)-4-heptenal, przeprowadzono pełną identyfikację polegającą na porównaniu ich nut zapachowych, indeksów retencji (RI) oraz widm masowych, uzyskanych na dwóch kolumnach o różnych polarnościach substancji wzorcowych. Dla (Z)-4-heptenalu, sygnał uzyskany na chromatogramie był zbyt słaby, aby możliwe było porównanie widma masowego. Z tego względu do identyfikacji wykorzystano pozostałe parametry takie jak: nuty zapachowe oraz RI. Niniejsza aparatura

była wykorzystana do identyfikacji oraz oznaczenia ilościowego związków zapachowych do wyznaczenia kluczowych związków zapachowych odpowiedzialnych za aromat klasycznego pumpernikla, określenia wpływu poszczególnych etapów procesu technologicznego pumpernikla na powstawanie związków zapachowych, porównanie profilu związków lotnych pumpernikla oraz chlebów typu pumpernikiel bezglutenowego oraz o bardzo niskiej zawartości glutenu (etap 1, 2 i 4)

- GC×GC-TOFMS (LECO Pegasus BT4D) będący na wyposażeniu laboratorium firmy LECO znajdującej się w Berlinie (Niemcy). Nastrzyk wykonano w trybie podziału strumienia (split) 1:100 w temp. 250°C. Gazem nośnym był hel, 1,4 ml/min. Temperatura pierwszego pieca: 40°C (1 min), 5°C/min to 280, 20°C/min to 300°C (1 min); temperatura drugiego pieca była odpowiednio o 11°C wyższa. Parametry modulatora typu LN2: 2.1s (start 431 s); 3.3 (432 s 778 s); 3.7 s (779 s końca). Parametry spektrometru mas: temperatura źródła jonów 250°C, jonizacja elektronowa, zakres mas 40-400 m/z, prędkość skanowania 200 spek/sek. Niniejsza aparatura była wykorzystana do oznaczenia ilościowego związków zapachowych i porównania ich zawartości w pumperniklu oraz chlebach typu pumpernikiel bezglutenowym oraz o bardzo niskiej zawartości glutenu (etap 4). Oznaczenie wykonano w laboratorium firmy LECO, Berlin, Niemcy.

4.4.5. Analiza ilościowa

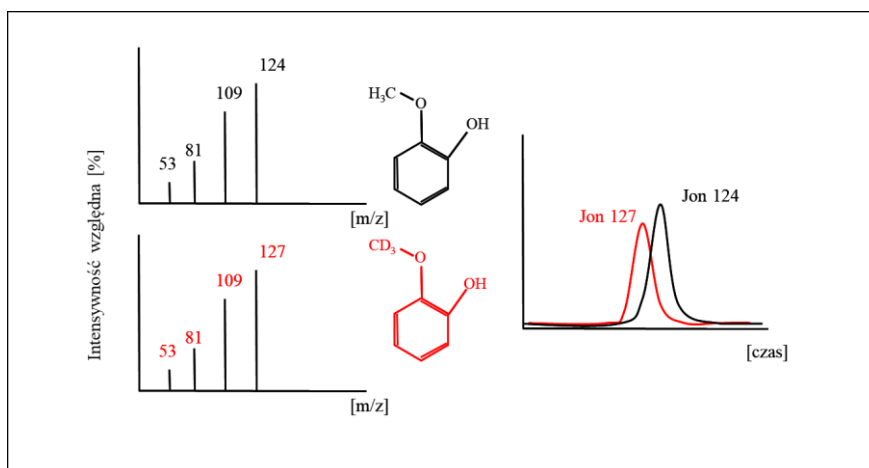
Analizę ilościową przeprowadzono w oparciu o izotopomery związków chemicznych według metody SIDA (Stable Isotop Dilution Assay). Do poszczególnych próbek dodano mieszaniny standardów wewnętrznych wyszczególnione w tab. 9. Tak przygotowane próby poddano ekstrakcji związków zapachowych za pomocą techniki SAFE, zgodnie z metodyką opisaną w punkcie 4.4.1.

Tab. 9. Zestawienie standardów wewnętrznych użytych do analizy poszczególnych prób pumpernika („+” oznacza obecność standardu w danej próbie, „-”, oznacza brak obecności standardu w danej próbie).

Rodzaj standardu wewnętrznego	Zaczątek	Zakwas I, faza 20 h	Zakwas II, faza 0 h	Zakwas II, faza 5 h	Ciasto, faza 0 h	Ciasto, faza 40 minut	Pumpernikiel
² H ₆ siarczek dimetylu	-	-	-	-	+	+	+
² H ₅ metional	-	-	-	-	+	+	+
¹³ C ₄ 2,3-butanodion	+	+	+	+	+	+	+
² H ₃ 3-hydroksy-2-metylo-4H-piran-4-on	-	-	-	-	+	+	+
² H ₅ 3-(metylotio)propanal	+	+	+	+	+	+	+
¹³ C ₂ 2-acetylo-1-pirolina	-	-	-	-	+	+	+
² H ₃ 2-metoksyfenol	-	-	-	-	+	+	+
² H ₃ 4-hydroksy-3-metylobenzaldehyd	+	+	+	+	+	+	+
² H ₅ fenyloacetoaldehyd	+	+	+	+	+	+	+
² H ₅ 2-fenyletanol	+	+	+	+	+	+	+
² H ₉ 3-metylomaślan etylu	+	+	+	+	+	+	+
¹³ C ₂ furafenol	-	-	-	-	+	+	+
¹³ C ₂ 4-hydroksy-5-metylo-3(2H) furanon	-	-	-	-	+	+	+
² H ₂ 3-metylo-1-butanol	-	-	-	-	+	+	+
² H ₂ 5,6-nonol	-	-	-	-	+	+	+
² H ₃ 2-metylobutanal	-	-	-	-	+	+	+
² H ₃ wanillina	-	-	-	-	+	+	+
² H ₃ maltol	-	-	-	-	+	+	+
² H ₁₂ heksanal	-	-	-	-	+	+	+
² H ₃ kwas octowy	+	+	+	+	+	+	+
² H ₇ kwas izomasłowy	-	-	-	-	+	+	+
² H ₂ 3-metylobutanol	+	+	+	+	+	+	+
² H ₅ 2-fenyletanol	+	+	+	+	+	+	+
² H ₅ 3-metylomaślan etylu	+	+	+	+	+	+	+

Metoda ze standardem wewnętrznym izotopowo znakowanym (Stable Isotope Dilution Assay – SIDA), polega na dodaniu do analizowanej próby znanej ilości związku izotopowo oznakowanego (²H, ¹³C, ¹⁵N, ¹⁸O). Izotopomery uważane są za idealne standardy wewnętrzne ze względu na identyczne właściwości chemiczne jak analizowany związek, co idealnie kompensuje straty związku w czasie przygotowania próby i analizy.

Ze względu na bezpośredni dodatek do próby, standard wewnętrzny kompensuje wpływ matrycy. Rozróżnienie związku i jego izotopomeru następuje poprzez wybranie protonowanych jonów molekularnych lub głównych fragmentów, rys. 22.



Rys. 22. Przykładowe widma masowe oraz chromatogram związku [51].

Obliczenia oparte są na proporcji pomiędzy zawartością związku a powierzchnią piku standardu wewnętrznego.

Procedura oznaczenia zgodnie z techniką SIDA:

1. Weryfikacja obecności jonu molekularnego związku znaczonego stabilnym izotopem w próbce.
2. Określenie współczynnika odpowiedzi detektora (response factor): 1:1, 10:1, 1:0, 1.

$$R_f = \frac{C_a \times A_s}{C_s \times A_a}$$

R_f – współczynnik odpowiedzi detektora

C_a – stężenie związku analizowanego w roztworze standardowym

C_s – stężenie związku izotopowanego w roztworze standardowym

A_a – powierzchnia piku wybranego jonu związku analizowanego

A_s – powierzchnia piku wybranego jonu związku izotopowanego

3. Dodatek związku znaczonego stabilnym izotopem izotopowanego do próby i analiza.

$$Q = R_f \times \frac{C_s \times A_a}{A_s}$$

Q – stężenie związku w próbce

R_f – współczynnik odpowiedzi detektora

C_s – stężenie związku izotopowanego dodanego do próby

A_a – powierzchnia piku wybranego jonu związku analizowanego

A_s – powierzchnia piku wybranego jonu związku izotopowanego

4.4.6. Wyznaczenie związków aktywnych zapachowo

Zgodnie z podejściem sensomicznym, substancje aktywne zapachowo, to takie związki, które występują w produktach w stężeniu wyższym niż ich próg wyczuwalności sensorycznej. W tym celu dla danego związku określa się tzw. wartość aktywności aromatu jako stosunek zawartości związku do jego progu wyczuwalności sensorycznej według następującego wzoru [51]:

$$OAV = \frac{C_z}{OT_z}$$

OAV – wartość aktywności aromatu (Odor Activity Value)

C_z – stężenie związku „z” w próbce

OT_z – próg wyczuwalności sensorycznej związku „z” w określonej matrycy (Odor Threshold) [51]

4.4.7. Pomiar tekstury

Pomiar tekstury miękkiszu chleba przeprowadzono za pomocą analizatora tekstury TA XT Plus z 36 mm promieniową sondą cylindryczną. Do analizy wykorzystano test TPA. Analizowanie poddano kromki chleba o grubości 8 mm. Prędkość tłoka wynosiła 5 mm/1 s, natomiast czas między skokami 5 s. Teksturometr rejestrował siłę wywieraną przez tłok w funkcji czasu, na podstawie której wyznaczono następujące parametry tekstury: twardość, gumowatość, sprężystość, spoistość, elastyczność oraz żujność. Pomiarów dokonano w pięciu powtórzeniach.

4.4.8. Oznaczenie zawartości glutenu metodą ELISA

Oznaczenie zawartości glutenu wykonano w próbkach chleba, zarówno klasycznego pumpernika, jak i pumpernika otrzymanego z użyciem składników o obniżonej zawartości białek glutenowych. Oznaczenia dokonano w Katedrze Biochemii i Analizy Żywności WNoŻiŻ. Pomiar poziomu glutenu wykonano za pomocą testu ELISA Romer Laboratories AgraQuant Gluten Assay. W tym celu próbkę zhomogenizowaną, odważono w ilości po 10 g oraz poddano ekstrakcji zgodnie z instrukcją dostarczoną przez producenta. Analizy wykonano w trzech powtórzeniach. Stężenie glutenu obliczono na podstawie krzywej standardowej za pomocą dostarczonego oprogramowania.

4.4.9. Analiza sensoryczna

Analiza profilowa zapachu

Analizę sensoryczną przeprowadzono przez 10 osobowy przeszkolony zespół panelistów składający się z pracowników i doktorantów Pracowni. W pierwszym etapie analizy wybrano siedem deskryptorów zapachu: chlebowy, karmelowy, zbożowy, brązowy, słodowy, maślany i waniliowy, tabela 10. Deskryptory te wybrano do oceny pumpernika klasycznego. Następnie dokonano analizy profilowej prób pumpernika

z mąką owsianą oraz ryżową oceniając według następujących deskryptorów: chlebowego, tłuszczowego, waniliowego, karmelowego, maślanego, owsianego oraz słodowego, tab. 10. Następnie próbki oceniano ortonosowo pod względem każdego wyróżnika za pomocą metody skalowania, wykorzystując 10 cm skalę, na której zaznaczono wartości brzegowe jako „słaby” oraz „mocny”. Próbki chleba do analizy sensorycznej przygotowano w ilości 10 g i umieszczono w szklanych pojemnikach o pojemności 100 ml. Każda próbka była kodowana oddzielnym trzycyfrowym numerem. Przykładowe formularze profilowej oceny zapachowej pumpernika przedstawiono poniżej na rys. 23 oraz 24.

Tab. 10. Wyróżniki zapachowe pieczywa oraz ich charakterystyka [52, 53] .

Wyróżnik zapachowy	Charakterystyka deskryptora
chlebowy	świeża skórka chleba, typowy dla chleba
karmelowy	karmelizowany cukier, aromaty karmelowe typu „dulche de leche”, maltol
zbożowy	charakterystyczny dla mieszanych płatków śniadaniowych typu Muesli: owsianych, kukurydzianych, jęczmiennych i innych
brązowy	zespół cech obejmujących: palone ziarno zbóż, przypalany cukier, karmelowy, kawowy, ziemisty, czekoladowy, prażony, słodowy, orzechowy, dymowy, waniliowy
słodowy	zespół cech „brązowych”, charakterystycznych dla ekstraktu słodowego
maślany	charakterystyczny dla świeżego masła lub dla dwuacetylu (0,1-1%)
waniliowy	charakterystyczny dla: waniliny, etylowaniliny, strąków wanilii
tłuszczowy	charakterystyczny dla oleju roślinnego: palmowego lub kwasu dekanowego (kaprynowego)
owsiany	typowy dla zbóż owsa, palony, słodki, orzechowy, trawiasty

Oceniający..... Data..... Kod próby.....

OCENA PROFILOWA ZAPACHU CHLEBA TYPU PUMPERNIKIEL

1. Chlebowy	←—————→	
	Slaby	mocny
2. Karmelowy	←—————→	
	Slaby	mocny
3. Zbożowy	←—————→	
	Slaby	mocny
4. Brązowy	←—————→	
	Slaby	mocny
5. Słodowy	←—————→	
	Slaby	mocny
6. Maślany	←—————→	
	Slaby	mocny
7. Waniliowy	←—————→	
	Slaby	mocny

Rys. 23. Formularz analizy profilowej zapachu prób pumpernika klasycznego.

Oceniający..... Data..... Kod próby.....

OCENA PROFILOWA ZAPACHU CHLEBA PUMPERNIKIEL WYPRODUKOWANEGO Z SUROWCÓW O BNIŻONEJ ZAWARTOŚCI BIAŁEK GLUTENOWYCH

1. Chlebowy	←—————→	
	Slaby	mocny
2. Karmelowy	←—————→	
	Slaby	mocny
3. Słodowy	←—————→	
	Slaby	mocny
4. Owsiany	←—————→	
	Slaby	mocny
5. Tłuszczowy	←—————→	
	Slaby	mocny
6. Maślany	←—————→	
	Slaby	mocny
7. Waniliowy	←—————→	
	Slaby	mocny

Rys. 24. Formularz analizy profilowej zapachu prób pumpernika wyprodukowanego z surowców o obniżonej zawartości białek glutenowych.

Metoda pięciopunktowa

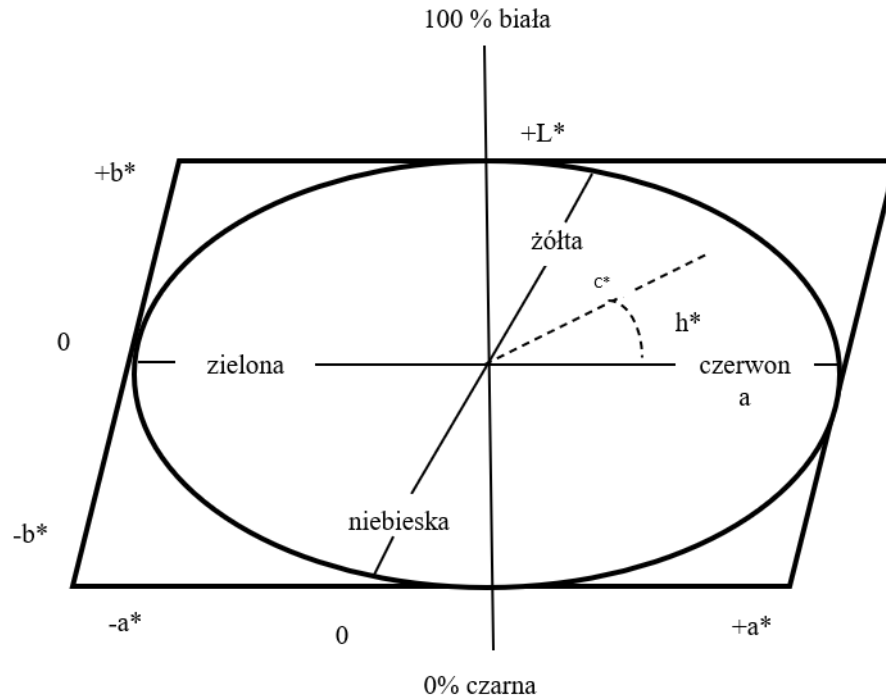
Próby pumpernika klasycznego oraz wyprodukowanego z surowców o obniżonej zawartości białek glutenowych poddano ocenie hedonicznej za pomocą pięciopunktowej skali. W próbkach oceniano następujące wyróżniki: strukturę miękiszu, zapach, smak i ogólną pożądalność. Analiza została przeprowadzona przez 12 osobowy przeszkolony zespół panelistów składający się z pracowników i doktorantów Pracowni. Przykładowy formularz oceny przedstawiono na rys. 25. Próbkę chleba do analizy sensorycznej przygotowano w postaci kromek o grubości około 0,5 cm, zakodowano i podawano na szklanych tackach. Kolejność oceniania prób była dowolna.

Oceniający.....		Data.....						
OCENA SENSORYCZNA PIECZYWA TYPU PUMPERNIKIEL								
Oceń produkty w skali: 1-5								
1- Ocena najniższa, próba najmniej pożądana								
2- Próba nieakceptowalna								
3- Próba akceptowalna								
4- Próba akceptowalna, dobra, podobna do wzorca								
5- Ocena najwyższa, bardzo dobra, próba bardzo akceptowalna, zbliżona lub lepsza od wzorca								
WYRÓŻNIK SENSORYCZNY	NUMER PÓBY							KOMENTARZ
	I	II	III	IV	V	VI	VII	
MIĘKISZ - STRUKTURA								
ZAPACH								
SMAK								
OCENA OGÓLNA								

Rys. 25. Formularz hedonicznej oceny sensorycznej prób pumpernika w skali pięciopunktowej.

4.4.10. Pomiar barwy w systemie CIE L*a*b*

W badaniach pomiaru barwy chleba wykorzystano System CIE L*a*b* przedstawiony na rys. 26.



Rys. 26. Schemat układu barw w systemie CIE L*a*b* [54].

Parametry w układzie CIE, to składowe barwy oznaczone symbolami X, Y oraz Z, które mają swój odnośnik w układzie R, G, B (*ang. red, green, blue*). Oznaczają one ilość podstawowych i wystandaryzowanych barw, tj. czerwonej, zielonej i niebieskiej [54].

Pomiar wykonywano za pomocą kolorymetru Konica Minolta Chroma Meter-400, przy źródle światła D65 z wykorzystaniem oprogramowania Color Data Software Spectra Magic, umożliwiającego obliczanie parametrów barwy. Próbkę badano przykładając kolorymetr do powierzchni każdej kromki danej partii. Z każdym pomiarem sprzęt przykładany był w innym miejscu kromki. Zliczono średnie arytmetyczne pomiarów wykonanych w 5-ciu powtórzeniach.

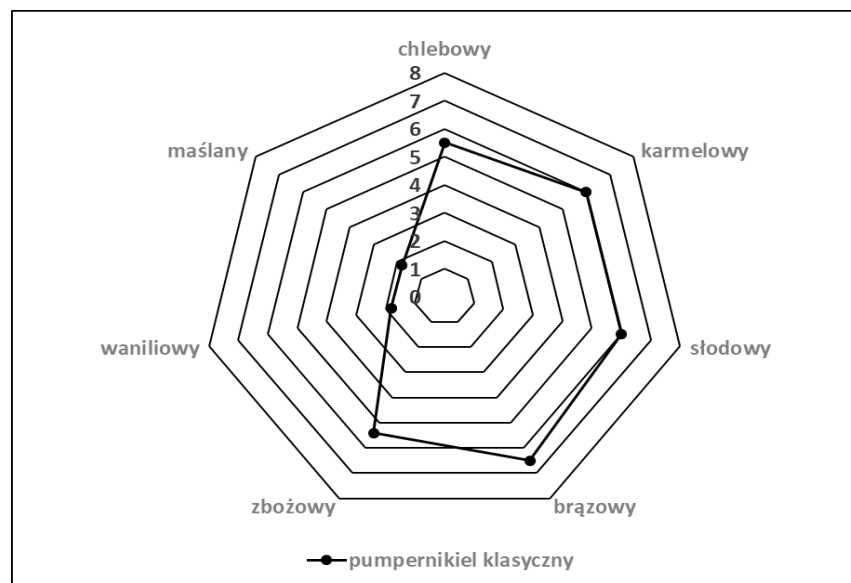
5. Obliczenia statystyczne

Wyniki badań niniejszej pracy doktorskiej opracowano za pomocą analizy statystycznej. Do obliczeń wartości średnich oraz odchyłeń standardowych uzyskanych wyników ilościowych wykorzystano program Microsoft Office Excel 2016. Analizę PCA wykonano za pomocą programu STATISTICA 13.1 (StatSoft Poland).

6. Omówienie wyników i dyskusja

6.1. Charakterystyka profilowej oceny zapachowej pumpernika

W pierwszym etapie badań pumpernikiel klasyczny poddano profilowej analizie zapachu. W tym celu wybrano siedem deskryptorów: brązowy, słodowy, karmelowy, chlebowy, zbożowy, waniliowy oraz maślany, które następnie oceniono pod względem intensywności na 10 cm skali. w celu identyfikacji poszczególnych deskryptorów zapachowych. Uzyskane wyniki przeliczono na wartości liczbowe, uśredniono a następnie podano w formie graficznej, rys. 27. Na podstawie uzyskanych wyników można stwierdzić, że pumpernikiel klasyczny charakteryzuje się aromatem o intensywnych nutach zapachowych takich jak: brązowa, słodowa, karmelowa, chlebowa i zbożowa i nieco mniej intensywnych: waniliowej i maślanej. Ze względu na specyfikę wypieku pumpernika, w wyniku którego nie występuje charakterystyczna, chociażby dla chleba pszenno-żytniego skórka, można uznać, że w pumperniku zapach umiejscowiony jest jednocześnie w całej powierzchni kromki. Za wielowymiarowy aromat pumpernika odpowiadają poszczególne składniki surowcowe takie jak: pełnoziarnista mąka żytnia, zakwas żytni, słód jak również reakcje biochemiczne zachodzące podczas fermentacji czy też reakcje termiczne będące rezultatem procesu wypieku.



Rys. 27. Wykres oceny profilowej zapachu pumpernika klasycznego. Wartości z odchyleniem standardowym znajdują się w załączniku 1.

6.2. Kluczowe związki zapachowe w pumperniku

W kolejnym etapie badań przeprowadzono identyfikację związków zapachowych kształtujących aromat pumpernika. W tym celu zastosowano podejście sensomiczne, którego etapy obejmują: izolację związków lotnych, analizę olfaktometryczną (GCO), identyfikację jakościową i ilościową (SIDA, GC/MS) oraz obliczenie wartości aktywności aromatu (OAV), rys. 16 w punkcie 2.3. niniejszej pracy. Zgodnie z niniejszym podejściem, za związki aktywne zapachowo, czyli takie, które w rzeczywisty sposób kształtują aromat produktu spożywczego, można uznać te, których wartość $OAV > 1$, co oznacza, że stężenie danego związku w próbie przekracza jego próg wyczuwalności sensorycznej. Uzyskane wyniki zostały zebrane i przedstawione w tab. 11.

Najwyższe wartości OAV uzyskano dla 3-metylobutanalu (6660) oraz 2-metylobutanalu (4560), związków reprezentujących słodową nutę zapachową. Na podstawie dotychczasowych danych literaturowych, można stwierdzić, że 3-metylobutanal jest związkiem kształtującym aromat skórki chleba oraz, że jego stężenie jest wyższe w pieczywie żytnim porównując z pieczywem pszennym [55]. Pumpernikiel, to pieczywo, którego smak i aromat kształtują głównie surowce żytnie. Schieberle oraz Grosch [55]

wykazali stężenie 3-metylobutanalu w skórce chleba żytniego na poziomie 3295 µg/kg, natomiast w badaniach własnych prób pumpernikla poddanych analizie wspólnie w postaci miękiszu oraz skórki, wykazano wartość powyższego związku w ilości 3330 µg/kg.

Tab. 11. Wartość OAV kluczowych związków zapachowych w pumperniklu klasycznym.

Związek	Zapach	Zawartość związku mg/kg	*OT (mg/kg wody)	**OAV
3-metylobutanal	słodowy	3,3±0,396	0,0005	6660
2-metylobutanal	słodowy	6,8±0,612	0,0015	4560
3-(metylotio)propanal	gotowanych ziemniaków	0,88±0,0616	0,00043	2047
3-hydroksy-4,5-dimetylo-2(5H)-furanon	lubczyku	0,37±0,0407	0,003	1233
trisiarczek dimetylu	kapusty	0,0047±0,000423	0,0000099	475
2-fenyltoetanol	różany	58,2±5,238	0,14	414
β-damascenon	gotowanych owoców	0,0004±0,000028	0,000002	200
4-hydroksy-3-metylobenzaldehyd	waniliowy	4,6±0,506	0,025	184
2,5-dimetylo-4-hydroksy-3(2H)-furanon	waty cukrowej	5,2±0,468	0,03	172
fenylacetaldehyd	miodowy	0,63±0,0567	0,0063	100
2,3-butanodion	maślan	0,87±0,0609	0,015	58
2-acetylo-1-pyrrolina	popcornu	0,006±0,00066	0,00012	50
2-metoksyfenol	mięsny	0,028±0,00252	0,00084	33
3-metylomaślan etylu	owocowy	0,00072±0,0000648	0,000023	31
kwasy octowe	octowy	1671,5±117,005	99	17
maślan etylu	owocowy	0,03±0,0033	0,0024	13
octan etylu	owocowy	0,044±0,00396	0,005	9
heksanal	trawiasty	0,35±0,0315	0,065	5
heksanian etylu	owocowy	0,025±0,00175	0,005	5
3-hydroksy-2-metylo-4H-piran-4-on	karmelowy, spalony	36,3±3,993	9	4
4-etylo-2-metoksyfenol	wędzony	0,018±0,00162	0,0044	4
2-metoksy-4-winylofenol	wędzony	0,016±0,00144	0,0051	3
siarczek dimetylu	kapusty	0,02±0,0014	0,001	2
3-metylo-1-butanol	owocowy	0,71±0,0781	0,98	<1
mleczan etylu	fermentacji	0,22±0,0198	50-200	<1
furfural	słodki	17,3±1,557	23	<1
kwasy 2(3)-metylobutanowe	serowy, starych skarpet	0,078±0,00546	0,49	<1
4-hydroksy-5-metylo-3(2H)-furanon	karmelowy	9,3±1,023	23	<1
oktanian etylu	owocowy	0,022±0,00198	0,07	<1
kwasy fenylacetylowe	miodowy	0,14±0,0126	6,1	<1
2,6-dimetoksyfenol	mydlany	0,82±0,0574	1,85	<1
***(<i>Z</i>)-4-heptenal	ryby	<0,0001	0,00006	<2

*OT – progi zapachu w wodzie.

**OAV – wartość obliczone poprzez iloraz stężenia związku zapachowego oraz jego próg wyczuwalności zapachowej.

***Dla (*Z*)-4-heptenalu sygnał MS analitu był zbyt słaby, aby ułatwić oznaczenie ilościowe. Na podstawie limitu laboratoryjnego wykrywalności (LOD) jego stężenie ustalono na <0,0001 mg/kg.

Ponadto Kirchhoff oraz Schieberle wykazali, że stężenie 3-metylobutanalu w miększu chleba żytniego jest o wiele niższe niż w skórce, ponieważ wyniosło ono 150 µg/kg [56]. Trzecim związkiem pod względem poziomu wartości OAV (2047) był 3-(metylotio)propanal o zapachu gotowanych ziemniaków. Wykorzystując podejście SIDA, jego stężenie w pumperniku wypieczonym ukształtowało się na poziomie 880 µg/kg, co dało niemalże dwukrotnie wyższy poziom aniżeli w skórce chleba żytniego (480 µg/kg) [55]. Autorzy artykułu Schieberle oraz Grosch [55] stwierdzili, że 3-(metylotio)propanal w głównej mierze przyczynia się do znaczącej różnicy aromatu skórki pieczywa pszennego w stosunku do aromatu skórki pieczywa żytniego. Związane jest to bowiem z 10-krotnie niższym poziomem tego związku w skórce pieczywa pszennego w stosunku do jego poziomu w skórce pieczywa żytniego. Związek ten powstaje na drodze reakcji Maillarda oraz szlaku Ehrlicha, podczas przemian aminokwasu – metioniny. Kirchhoff oraz Schieberle wykazali, że 3-(metylotio)propanal jest obecny w mące żytniej w stężeniu przekraczającym 900 razy jego próg zapachowy, dlatego można uznać, że jest kluczowym związkiem zapachowym mąki żytniej [57].

Kolejnym wykrytym związkiem był 3-hydroksy-4,5-dimetylo-2(5H)-furanon z wartością OAV na poziomie 1233. Związek ten charakteryzuje się zapachem lubczyku. Kirchhoff oraz Schieberle [56] oraz Boeswetter i in. [34], przy użyciu analizy rozcieńczeń ekstraktu aromatu (AEDA), wykazali, że współczynnik FD chleba pszennego oraz żytniego kształtował się na poziomie kolejno 1024 oraz 2048. Współczynnik FD wskazuje na największe rozcieńczenie, w którym dany związek jest wyczuwalny, co w tym wypadku pokryło się z poziomem OAV w pumperniku. Kirchhoff i Schieberle [56] w 2001 roku wykazali, że stężenie 3-hydroksy-4,5-dimetylo-2(5H)-furanonu w miększu chleba żytniego jest równe 6,3 µg/kg, czyli niemalże 60 razy mniejsze niż w chlebie pumpernikiel (370 µg/kg). Rok później ci sami autorzy wykazali [57], że stężenie tego związku w mące żytniej oraz zakwasie żytnim występuję w następujących ilościach: 6,7 µg/kg oraz 1,8 µg/kg. Piątym w kolejności związkiem zapachowym był trisiarczek dimetylu (OAV=475), wykazujący zapach kapusty. Kolejnymi zidentyfikowanymi związkami były: 2-fenyletanol, β-damascenon, 4-hydroksy-3-metylobenzaldehyd, 2,5-dimetylo-4-hydroksy-3(2H)-furanon oraz fenylacetalddehyd, które uzyskały następujące poziomy OAV: 414, 200, 184, 172 oraz 100, dające przyjemny zapach: różany, gotowanych owoców, wanilii, waty cukrowej oraz miodu. W literaturze wykazano obecność

2-fenylloetanolu oraz fenylloacetoaldehydu w skórce oraz miększu chleba pszenne­go i żytnie­go, jednakże ilościowo związki te oznaczono w miększu chleba żytnie­go na poziomie, kolejno: fenylloacetoaldehydu (244 µg/kg) oraz 2-fenylloetanolu (716 µg/kg) [34, 57, 58]. W badaniach własnych pumpernika stężenie powyższych związków kształtowało się na poziomie: 630 µg/kg dla fenylloacetoaldehydu oraz 58200 µg/kg dla 2-fenylloetanolu. Według wcześniejszych danych literaturowych, aldehyd fenyllooctowy ma większy wpływ na aromat pieczywa żytnie­go, natomiast 2-fenylloetanol na aromat pieczywa pszenne­go. Autorzy wnioski te sformułowali na podstawie wyższego poziomu współczynnika FD w miększu pieczywa żytnie­go dla fenylloacetoaldehydu oraz w miększu pieczywa pszenne­go dla 2-fenylloetanolu [58]. Wysoki współczynnik FD dla 2-fenylloetanolu wykryto także w skórce pieczywa pszenne­go. Dodatkowo wykazano, że 4-hydrok­sy-3-metylobenzaldehyd ma wpływ na ogólny aromat chleba żytnie­go [34]. W 2001 roku Kirchoff i Schieberle oszacowali poziom stężenia 4-hydrok­sy-3-metylobenzaldehydu w miększu chleba żytnie­go w ilości 1270 µg/kg. Choć poziom ten był niższy 3,6 razy w porównaniu z poziomem w pumperniku (4605 µg/kg), OAV było wystarczająco wysokie, by uważać go za silny zapach miększu pieczywa żytnie­go [56]. Dzięki zastosowaniu metody AEDA, Schieberle oraz Grosch podali współczynnik FD dla 4-hydrok­sy-3-metylobenzaldehydu na poziomie 64 w skórce chleba żytnie­go [59]. W 1994 Schieberle i Grosch opublikowali dane, w których przedstawili stężenie 2,5-dimetylo-4-hydrok­sy-3(2H)-furanonu w skórce chleba żytnie­go na poziomie na poziomie 4310 µg/kg [55]. Powtórzone badania w 2001 roku przez Kirchoffa oraz Schieberle nie wykazały obecności powyższego związku w miększu pieczywa żytnie­go [56]. W badaniach własnych pumpernika, wykazano, że poziom zawartości 2,5-dimetylo-4-hydrok­sy-3(2H)-furanonu jest zbliżony (5200 µg/kg) do tego, wykrytego przez autorów w skórce pieczywa żytnie­go. Z pozostałych zidentyfikowanych związków zapachowych, na uwagę zasługuje 2-acetylo-1-pyrolina o zapachu prażonej kukurydzy, która jest uważana za główny związek zapachowy skórki chleba pszenne­go, odpowiedzialna za przyjemny aromat tostów. Autorzy wykazali [55], że 2-acetylo-1-pyrolina nie przyczynia się znacząco do aromatu chleba żytnie­go, ponieważ jej stężenie w skórce chleba wyprodukowanego z surowców żytnich wynosi 0,8 µg/kg, natomiast w skórce pieczywa pszenne­go 19 µg/kg. Biorąc pod uwagę bardzo niski próg zapachu tego związku w powietrzu (0,02 µg/kg), w skórce pieczywa żytnie­go OAV było równe 40 a w skórce pieczywa pszenne­go OAV wyniosło

950 [55]. W pumperniku jej stężenie kształtowało się na poziomie 6 µg/kg, dając jednocześnie stosunkowo wysoką wartość OAV równą 50. Związek ten powstaje pod wpływem dodatku drożdży, które w podwyższonej temperaturze wytwarzają ornitynę, mającą charakter prekursora. Im większy dodatek drożdży do ciasta, tym większa obecność tego związku w pieczywie [60, 61]. Pozostałe związki zapachowe przedstawione w tabeli 11 uzyskały wartości OAV poniżej 50. Pomimo, że ich znaczenie w kształtowaniu aromatu pumpernika jest mniejsze, nie należy ich pomijać w całkowitej interpretacji związków nadających charakterystyczny aromat tego chleba.

Korelując wyniki analityczne uzyskane przy użyciu GC-O i wyliczając OAV z analizą sensoryczną przeprowadzoną przez przeszkolony panel, można założyć, że za nutę słodową pumpernika odpowiadają dwa związki: 3-metylobutanal i 2-metylobutanal natomiast za nutę karmelową 4-hydroksy-2,5dimetylo-3(2H)-furanon. W przypadku pozostałych nut zapachowych trudno jest powiązać je z jednym konkretnym związkiem, gdyż prawdopodobnie w przypadku takich deskryptorów jak brązowy, chlebowy i zbożowy jest to mieszanina kilku związków.

6.3. Zmiany zawartości związków zapachowych podczas procesu wytwarzania pumpernika

W celu określenia wpływu zabiegów technologicznych na formowanie związków zapachowych pumpernika, przeprowadzono porównanie zawartości tych związków na każdym kluczowym etapie produkcji. Etapy te obejmowały analizę: zaczątku; zakwasu I, 20 h; zakwasu II, 0 h; zakwasu II, 5 h; ciasta, 0 h; ciasta, 40 minut oraz wypieku. Wyniki zebrano i zestawiono w tabeli 12. Jednocześnie w celu określenia ich mocy zapachowej, w tabeli zaznaczono pogrubieniem stężenia związków przekraczających ich próg wyczuwalności sensorycznej.

Analizując uzyskane wyniki, można stwierdzić, że kluczowe dla aromatu pumpernika związki: 2-metylobutanal oraz 3-metylobutanal o słodowym aromacie, występowały w najwyższym stężeniu w wypieczonym pumperniku, kolejno: 6840 µg/kg oraz 3330 µg/kg. Aldehydy te, zarówno 2-metylobutanal, jak i 3-metylobutanal powstają podczas

reakcji Maillarda, degradacji Streckera lub w trakcie transaminacji enzymatycznej i dekarboksylacji szlaku Ehrlicha, z aminokwasów izoleucyny oraz leucyny. W próbach pumpernika, związki te pojawiły się po wymieszaniu ciasta, czyli po dodatku pozostałych składników do zakwasu. Podczas fermentacji ciasta, trwającej około 40 minut, zawartość związków 2-metylobutanal oraz 3-metylobutanalu, wzrosła kolejno z 350 $\mu\text{g}/\text{kg}$ do 700 $\mu\text{g}/\text{kg}$ oraz z 250 $\mu\text{g}/\text{kg}$ do 420 $\mu\text{g}/\text{kg}$. Dane literaturowe [23] wskazują głównie 3-metylobutanal, jako kluczowy związek kształtujący aromat skórki w pieczywie żytnim. Próby pumpernika, ze względu na brak możliwości rozdzielania skórki od miękkiszu, charakterystycznych warstw standardowego pieczywa żytniego oraz pszennego, przygotowywano jako zhomogenizowaną całą kromkę. Zawartość kolejnego związku 3-(metylotio)propanalu o zapachu gotowanych ziemniaków, wzrosła w czasie wytwarzania pumpernika w największym zakresie z 3,1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (w próbie zaczątku) do 880 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (w wypieczonym pumperniku). Podczas fermentacji zakwasu pierwszego, stężenie 3-(metylotio)propanalu utrzymywało się na podobnym poziomie, natomiast podczas fermentacji zakwasu drugiego odnotowano 7-krotny wzrost w stosunku do zaczątku. Jednak najwyższy przyrost stężenia tego związku stwierdzono w czasie wypieku z 31 do 880 $\mu\text{g}/\text{kg}$. Związek o nucie zapachowej przypominającej lubczyk, 3-hydroksy-4,5-dimetylo-2(5H)-furanon, pojawił się dopiero po fermentacji ciasta oraz osiągnął najwyższe stężenie (370 $\mu\text{g}/\text{kg}$) w wypieczonym chlebie. Kolejnymi związkami kształtującymi aromat pumpernika wypieczonego były związki reprezentujące słodkie nuty zapachowe: 2-feniloetanol o zapachu różanym (58256 $\mu\text{g}/\text{kg}$), β -damascenon o zapachu gotowanych owoców (0,4 $\mu\text{g}/\text{kg}$), 4-hydroksy-3-metoksybenzaldehyd o zapachu waniliowym (4605 $\mu\text{g}/\text{kg}$), 2,5-dimetylo-4-hydroksy-3(2H)-furanon o zapachu waty cukrowej (5162 $\mu\text{g}/\text{kg}$), feniloacetaldehyd o zapachu miodu (360 $\mu\text{g}/\text{kg}$). Związek 2-feniloetanol wzrósł ponad 5-krotnie w czasie fermentacji zakwasu pierwszego, po czym w kolejnych etapach produkcji jego stężenie malało do momentu wypieku chleba. β -damascenon oraz 2,5-dimetylo-4-hydroksy-3(2H)-furanon wykryto tylko w pumperniku wypieczonym. Poziomy związku 4-hydroksy-3-metoksybenzaldehydu w początkowych fazach produkcji były niewielkie (ok. 20 $\mu\text{g}/\text{kg}$), do momentu wymieszania ciasta, podczas którego odnotowano wzrost o 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$, natomiast ponad 200-krotny przyrost związku nastąpił po wypieku. Feniloacetaldehyd wykryto w zaczątku oraz zakwasie II „0 h” na takim samym poziomie (8 $\mu\text{g}/\text{kg}$), wzrost do 55 $\mu\text{g}/\text{kg}$ nastąpił po fermentacji zakwasu II, natomiast po

wypieku odnotowano poziom 630 $\mu\text{g}/\text{kg}$ tegoż związku. Poziom związku reprezentującego zapach maślany, 2,3-butanodionu, wzrósł 5-krotnie w zakwasie I po fermentacji, następnie wzrastał w kolejnych fazach produkcji o 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$, uzyskując poziom 870 $\mu\text{g}/\text{kg}$ w pumperniku wypieczonym. Wykryto także w cieście „0 h” kolejny związek - trisiarczek dimetylu na poziomie 1,9 $\mu\text{g}/\text{kg}$, po fermentacji ciasta nastąpił jego spadek do 0,4 $\mu\text{g}/\text{kg}$, po czym wzrost w pumperniku wypieczonym do 4,7 $\mu\text{g}/\text{kg}$. Kwas octowy, dający intensywny, ostry zapach octowy, wykryto na najwyższym poziomie spośród wszystkich związków zapachowych. Pojawił się on na wszystkich etapach produkcji. Wykazywał tendencję spadkową po dodaniu kolejnych składników na etapie zakwasu II „0 h” oraz ciasta „0 h”. Po fermentacji zakwasu I, zakwasu II oraz ciasta, jego poziom kształtował się następująco: 732000 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 1324000 $\mu\text{g}/\text{kg}$ oraz 1244000 $\mu\text{g}/\text{kg}$. Po wypieku uzyskał finalnie poziom 1671000 $\mu\text{g}/\text{kg}$. Octan etylu, tym razem związek o owocowej nucie zapachowej, wskazywał tendencję rosnącą po fermentacji zakwasów oraz ciasta, z drugiej strony malejącą po dodatku poszczególnych składników pomiędzy fazami zakwasów oraz w fazie mieszania ciasta. Finalnie, jego poziom obniżył się z 404 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (w cieście po fermentacji) do 44 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (w wypieczonym pumperniku). Kolejne związki o słodkiej, owocowej nucie zapachowej: 3-metylo-1-butanol, maślan etylu oraz 3-metylomaślan etylu, wykazały spadek w pumperniku wypieczonym, w porównaniu z ich ilością po fermentacji zakwasu I. W cieście „0 h” przed fermentacją, odnotowano największy spadek tych związków porównując wartość wzrostową podczas fermentacji zakwasu II. Poziom 3-metylo-1-butanolu oraz 3-metylomaślanu etylu w finalnym pumperniku był najniższy w porównaniu z poprzednimi fazami produkcji, natomiast poziom maślanu etylu w wypieczonym chlebie był na tym samym poziomie, co po fermentacji zakwasu II (30 $\mu\text{g}/\text{kg}$). Dla heksanianu etylu, kolejnego związku o nucie owocowej, odnotowano największy wzrost podczas fermentacji zakwasu I „20 h” (294 $\mu\text{g}/\text{kg}$), po czym w kolejnych dwóch fazach, zakwasu II „0h” oraz „5 h” nastąpił spadek do 275 $\mu\text{g}/\text{kg}$ oraz 262 $\mu\text{g}/\text{kg}$ oraz wzrost do 285 $\mu\text{g}/\text{kg}$ w cieście „0 h”, po czym kolejny spadek 25 $\mu\text{g}/\text{kg}$ podczas wypieku pumpernika. Związek reprezentujący zapach trawy, heksanal, pojawił się dopiero podczas mieszania ciasta „0 h” na poziomie 445 $\mu\text{g}/\text{kg}$, po czym nastąpił jego wzrost do 565 $\mu\text{g}/\text{kg}$ po fermentacji ciasta oraz spadek do poziomu 346 $\mu\text{g}/\text{kg}$ podczas wypieku. Poziom mleczanu etylu, związku reprezentującego zapach fermentacji, wzrósł z poziomu niewykrywalnego do 9400 $\mu\text{g}/\text{kg}$ w zakwasie I po fermentacji, po czym jego

poziom konsekwentnie obniżał się aż do 215 $\mu\text{g}/\text{kg}$ w wypieczonym chlebie. Nuta karmelowa, spalona, którą reprezentuje 3-hydroksy-2-metylo-4H-piran-4-on, pojawia się po dodaniu do zakwasu II, pozostałych składników, w tym słodów. Poziom związku wzrósł z 63 $\mu\text{g}/\text{kg}$ w cieście „0h” do 36313 $\mu\text{g}/\text{kg}$, w wypieczonym pumperniku. Należy również zwrócić uwagę na obecność 2-acetylo-1-pyroliny, która pojawiła się podczas wypieku w pumperniku (6 $\mu\text{g}/\text{kg}$). Jest ona odpowiedzialna głównie za kształtowanie się aromatu skórki pieczywa pszennego, przypominającego zapach popcornu.

Zasadniczą rolę w kształtowaniu związków zapachowych pumpernika pełni charakterystyczny proces wypieku w stosunkowo niskiej temperaturze, ok. 115°C, przez długi czas wynoszący 20 godzin. Szczelnie zamknięte formy z ciastem pumpernika oraz doprowadzana do pieca para wodna sprawiają, że powyższy proces można nazwać „gotowaniem”. Brak charakterystycznej skórki w pumperniku oraz użycie do produkcji pełnoziarnistych surowców żytnich, przyczyniają się do zbitej struktury jego miękiszu.

Podsumowując można stwierdzić, że w trakcie wypieku pumpernika powstają związki o najwyższych wartościach OAV, takie jak 3 i 2-metylobutanal o smaku słodowym, metional o smaku gotowanych ziemniaków, 3-hydroksy-4,5-dimetylo-2(5H)-furanon o zapachu lubczyku. Proces fermentacji wpłynął na powstanie następujących związków: 2,3-butandionu, kwasu octowego, octanu oraz maślanu etylu, 3-metylo-1-butanolu, kwasu 2(3)-metylobutanowego, aldehydu oraz kwasu fenylloctowego, oktanianu etylu, 2-fenylloetanolu, 4-hydroksy-3-metoksybenzaldehydu oraz heksanianu. Natomiast dodatek słodu i błonnika pszennego do ciasta wpłynął na wzrost stężenia kilku kluczowych substancji zapachowych w produkcie końcowym, takich jak 2- i 3-metylobutanal, maltol i wanilina.

Wyniki przedstawione w punktach 6.2 i 6.3 zostały przedstawione w publikacji: Majcher M., Olszak-Ossowska D., Szudera-Kończal K., Jeleń H.H. Formation of key aroma compounds during preparation of pumpernickel bread. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2020, 10352-10360 [62].

Tabela 12. Kluczowe związki zapachowe zidentyfikowane w zakwasach, cieście oraz pumperniku klasycznym.

Związek	Zapach	IR-DB 5	Zawartość związku w poszczególnych próbach (µg/kg) ^a						
			Zaczątek	Zakwas I, 20 h	Zakwas II, 0 h	Zakwas II, 5 h	Ciasto, 0 h	Ciasto, 40 minut	Pumpernikiel klasyczny
siarczek dimetylu	siarkowy	480	nd	nd	nd	nd	4	4	2
octan etylu	owocowy	614	nd	131	224	1399	289	404	44
2,3-butanodion	maślany	670	52	263	401	584	631	680	870
kwas octowy	octowy	691	343000	732000	425000	1324000	847000	1244000	1671000
2-metylobutanal	słodowy	690	Nd-mety	nd	nd	nd	350	700	6840
3-metylobutanal	słodowy	695	nd	nd	nd	nd	250	420	3330
3-metylo-1-butanol	owocowy	719	3530	5600	4940	4370	2890	1675	711
maślan etylu	owocowy	803	9	45	93	30	5	6	30
heksanal	trawiasty	809	nd	nd	nd	nd	445	565	346
mleczan etylu	fermentacji	815	nd	9400	7500	6100	1200	225	215
furfural	Słodki	835	nd	nd	nd	nd	nd	nd	17344
3-metylomaślan etylu	owocowy	854	nd	0,8	2,8	15,5	4,4	3,1	0,7
kwas 2(3)-metylobutanowy	sera, skarpet	877	120	110	120	138	48	44	78
(Z)-4-heptenal	Rybny	900	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nq
3-(metylotio)propanal	gotowanych ziemniaków	908	3,1	1,3	1,5	22,3	23	31	880
2-acetylo-1-pyrolina	popcornu	922	nd	nd	nd	nd	nq	nq	6
trisiarczek dimetylu	kapusty	985	nd	nd	nd	nd	1,9	0,4	4,7
heksanian etylu	owocowy	988	81	294	275	262	285	129	25
4-hydrokso-5-metylo-3(2H)-furanon	karmelowy	1042	nd	nd	nd	nd	nd	nd	9261
2,5-dimetylo-4-hydrokso-3(2H)-furanon	waty cukrowej	1060	nd	nd	nd	nd	nd	nd	5162
fenyloacetaldehyd	Miodu	1080	8	5	8	55	52	54	630
2-metoksyfenol	mięсны	1090	nd	nd	nd	nd	3	4	28
3-hydrokso-2-metylo-4H-piran-4-on	karmelowy, spalony	1109	nd	nd	nd	nd	63	21430	36313
3-hydrokso-4,5-dimetylo-2(5H)-furanon	lubiczyku	1110	nd	nd	nd	nd	nd	15	370
2-fenylactanol	różany	1124	2050	11210	8456	6250	1982	751	58256
oktanian etylu	owocowy	1180	nd	nd	nd	52	80	34	22
4-etylo-2-metoksyfenol	spalony	1280	nd	nd	nd	nd	6	5	18
kwas fenylooctowy	miodowy	1260	414	428	425	977	281	172	144
2-metoksy-4-winylofenol	spalony	1320	nd	nd	nd	nd	8	6	16
2,6-dimetoksy fenol	mydlany	1350	nd	nd	nd	nd	441	452	820
4-hydrokso-3-metoksybenzaldehyd	waniliowy	1406	21	14	18	25	127	142	4605
B-damascenon	kompotowy/gotowanych owoców	1405	nd	nd	nd	nd	nd	nd	0,4

^aSrednie wartości trzech powtórzeń z względnymi odchyleniami standardowymi (RSD) ≤ 12%. Zastosowane skróty: zaczątek – zakwas pierwszy przed fermentacją, zmieszane kultury starterowej z mąką i wodą; zakwas I, 20 h – zakwas pierwszy po 20 h fermentacji; zakwas II, 0 h – zakwas drugi przed fermentacją, zmieszany zakwas pierwszy z wodą oraz mąką żytnią T 2000; zakwas II, 5 h – zakwas drugi po 5 h fermentacji; ciasto, 0 h – zmieszane składniki ciasta, razem z zakwasem drugim; ciasto, 40 minut – ciasto po 40 minutach fermentacji; pumpernikiel klasyczny – wypieczony chleb. Wartości z odchyleniem standardowym znajdują się w załączniku 2, dla przejrzystości powyższej tabeli podane są tylko wartości.

6.4. Próby wytworzenia chleba typu pumpernikiel z użyciem surowców o obniżonej zawartości białek glutenowych

Nietypowy proces produkcji klasycznego pumpernika skłonił do zainicjowania prac prowadzących do opracowania receptury pumpernika z użyciem surowców obniżonej zawartości białek glutenowych. Sposób prowadzenia zakwasów żytnich oraz ich procentowy dodatek do ciasta nie różnił się od pumpernika klasycznego. Fermentacja zakwasu pierwszego oraz drugiego była zgodna ze schematami przedstawionymi na rys. 2 oraz 4 w punkcie 2.1.3. niniejszej pracy. Na bazie zakwasu pierwszego wytwarzano zakwas drugi, który był bezpośrednio dodawany ciasta. Przebieg procesów technologicznych, sposób przygotowania oraz fermentacja ciasta a na dalszym etapie parametry wypieku również nie były modyfikowane w stosunku do pumpernika klasycznego. Jediną zmienną, którą zastosowano było zastąpienie mąki żytniej mąką owsianą lub ryżową w różnych proporcjach na etapie wytworzenia ciasta, rys. 20. W celu opracowania receptury pumpernika bezglutenowego oraz o bardzo niskiej zawartości glutenu, w ramach niniejszej pracy doktorskiej przygotowano szereg wariantów ciasta z następującymi procentowymi zawartościami mąki ryżowej lub owsianej, przedstawionymi w tab. 13 oraz tab. 14.

Tab. 13. Udział procentowy poszczególnych składników w cieście z dodatkiem mąki owsianej.

Składnik	Wariant 50% mąki owsianej	Wariant 70% mąki owsianej	Wariant 100% mąki owsianej
	Zawartość [%]	Zawartość [%]	Zawartość [%]
Pelnoziarnista mąka żytnia	24 ± 2	15 ± 2	-
Mąka owsiana	24 ± 2	35 ± 2	46 ± 2
Woda	25 ± 2	23 ± 2	28 ± 2
Naturalny zakwas żytni	17 ± 2	18 ± 2	17 ± 2
Cukier	3 ± 1	3 ± 1	2,8 ± 1
Słód jęczmienny jasny	2,4 ± 1	2,5 ± 1	2,3 ± 1
Sól	1,3 ± 0,5	1,4 ± 0,5	1,3 ± 0,5
Słód jęczmienny, prażona mąka słodowa pszenna	1 ± 1	1 ± 1	1 ± 1
Błonnik pszenny	0,8 ± 0,2	0,9 ± 0,2	0,8 ± 0,2
Regulator kwasowości	0,1 ± 0,2	0,1 ± 0,2	0,1 ± 0,2
Drożdże	0,08 ± 0,02	0,09 ± 0,02	0,08 ± 0,02

Tabela 14. Udział procentowy poszczególnych składników w cieście z dodatkiem mąki ryżowej.

Składnik	Wariant 30% mąki ryżowej	Wariant 50% mąki ryżowej	Wariant 70% mąki ryżowej
	Zawartość [%]	Zawartość [%]	Zawartość [%]
Pelnoziarnista mąka żytnia	31 ± 2	24 ± 2	14 ± 2
Mąka ryżowa	13 ± 2	24 ± 2	33 ± 2
Woda	24 ± 2	27 ± 2	27 ± 2
Naturalny zakwas żytni	20 ± 2	17 ± 2	17 ± 2
Cukier	3 ± 1	3 ± 1	2,8 ± 1
Słód jęczmienny jasny	2,8 ± 1	2,4 ± 1	2,4 ± 1
Sól	1,5 ± 0,5	1,3 ± 0,5	1,3 ± 0,5
Słód jęczmienny, prażona mąka słodowa pszenna	1 ± 1	1 ± 1	1 ± 1
Błonnik pszenny	1 ± 0,2	0,8 ± 0,2	0,8 ± 0,2
Regulator kwasowości	0,1 ± 0,2	0,1 ± 0,2	0,1 ± 0,2
Drożdże	0,10 ± 0,02	0,08 ± 0,02	0,08 ± 0,02

Procentowy rozkład surowców w cieście odbiegał od jego rozkładu w pumperniklu standardowym ze względu na inny dodatek wody związany ze zmianą wodochłonności surowców bezglutenowych (mąki ryżowej oraz owsianej). Wykonana została także próba pumpernikla ze 100% dodatkiem mąki ryżowej, jednakże ze względu na problemy z utrzymaniem struktury miększa po wypieku próba została odrzucona.

W celu uproszczenia i przejrzystości przedstawianych wyników, w pracy doktorskiej stosowano następujące skróty opisu wariantów prób pumpernikla:

Wariant 50% mąki owsianej: otrzymano w wyniku zastąpienia w cieście mąki żytniej mąką owsianą w ilości 50%.

Wariant 70% mąki owsianej: otrzymano w wyniku zastąpienia w cieście mąki żytniej mąką owsianą w ilości 70%.

Wariant 100% mąki owsianej: otrzymano w wyniku zastąpienia w cieście mąki żytniej mąką owsianą w ilości 100%.

Wariant 30% mąki ryżowej: otrzymano w wyniku zastąpienia w cieście mąki żytniej mąką ryżową w ilości 30%.

Wariant 50% mąki ryżowej: otrzymano w wyniku zastąpienia w cieście mąki żytniej mąką ryżową w ilości 50%.

Wariant 70% mąki ryżowej: otrzymano w wyniku zastąpienia w cieście mąki żytniej mąką ryżową w ilości 70%.

6.5. Oznaczenie zawartości glutenu

W celu oszacowania możliwości utworzenia receptury pumpernika bezglutenowego i/lub o bardzo niskiej zawartości glutenu zbadano poziom zawartości glutenu w poszczególnych próbach pumpernika. Badania przeprowadzono w oparciu o standardowe Wyniki zebrano i przedstawiono w tab. 15.

Na podstawie uzyskanych wyników można stwierdzić, że najwyższą zawartością glutenu cechował się pumpernik klasyczny. Zastąpienie mąki żytniej mąką owsianą lub ryżową, zgodnie z oczekiwaniami, obniżyło zawartość glutenu w końcowym produkcie. Najniższą zawartość glutenu stwierdzono w wariancie ze 100% dodatkiem mąki owsianej, która wynosiła 9,6 ppm. Ponieważ jest to wartość poniżej 20 ppm, to zgodnie z Rozporządzeniem Wykonawczym Komisji (UE) nr 828/2014 produkt ten można uznać jako bezglutenowy. Dodatkowo stwierdzono, że wariant chleba zawierający 70% dodatek mąki ryżowej zawierał 91,2 ppm glutenu czyli poniżej 100 ppm, co pozwala na nazwanie takiego wyrobu chlebem o bardzo niskiej zawartości glutenu. Próby z mąką owsianą, w porównaniu z próbami z mąką ryżową zawierały więcej glutenu, co jest najprawdopodobniej związane z obecnością aweniny w owsie – białka należącego do prolamin.

Tab. 15. Zawartość glutenu w poszczególnych próbach chleba.

PRÓBA	POZIOM ZAWARTOŚCI GLUTENU [ppm]
Pumpernikiel klasyczny 100% mąki żytniej	514,3
Wariant 50% mąki owsianej	149,6
Wariant 70% mąki owsianej	136,8
Wariant 100% mąki owsianej	9,6
Wariant 30% mąki ryżowej	122,6
Wariant 50% mąki ryżowej	111,4
Wariant 70% mąki ryżowej	91,2

6.6. Opracowanie receptury chleba typu pumpernikiel bezglutenowego oraz o bardzo niskiej zawartości glutenu

Pumpernikiel bezglutenowy, to pomysł innowacyjny, którego obecnie brakuje na rynku w sektorze żywności bezglutenowej. Jest on produkowany z surowców nieprzetworzonych, na naturalnym zakwasie, dzięki czemu zachowuje walory smakowe standardowego pumpernika jednocześnie dostarczając do organizmu wiele cennych składników pokarmowych. Na podstawie uzyskanych wyników zawartości glutenu oraz Rozporządzenia Wykonawczego Komisji (UE) nr 828/2014, stwierdzono, że wariant 100% mąki owsianej można uznać za chleb bezglutenowy a wariant 70% mąki ryżowej można uznać za chleb o bardzo niskiej zawartości glutenu. Procentowy skład ciasta dwóch wariantów chleba znajduje się w tab. 16. Receptury dla niespotykanego dotąd chleba typu pumpernikiel okazały się być pomysłem nowatorskim oraz stały się podstawą do złożenia Wniosku Patentowego w urzędzie Patentowym [załącznik 5].

Tab. 16. Innowacyjne receptury chleba typu pumpernikiel bezglutenowego oraz o bardzo niskiej zawartości glutenu.

Składnik	Pumpernikiel bezglutenowy	Pumpernikiel o bardzo niskiej zawartości glutenu
	Zawartość [%]	Zawartość [%]
Pelnoziarnista mąka żytnia	-	14 ± 2
Mąka owsiana	46 ± 2	33 ± 2
Woda	28 ± 2	27 ± 2
Naturalny zakwas żytni	17 ± 2	17 ± 2
Cukier	2,8 ± 1	2,8 ± 1
Słód jęczmienny jasny	2,3 ± 1	2,4 ± 1
Sól	1,3 ± 0,5	1,3 ± 0,5
Słód jęczmienny, prażona mąka słodowa pszenna	1 ± 1	1 ± 1
Błonnik pszenny	0,8 ± 0,2	0,8 ± 0,2
Regulator kwasowości	0,1 ± 0,2	0,1 ± 0,2
Drożdże	0,08 ± 0,02	0,08 ± 0,02

6.7. Charakterystyka sensoryczna prób pumpernika klasycznego, pumpernika z dodatkiem mąki owsianej i pumpernika z dodatkiem mąki ryżowej

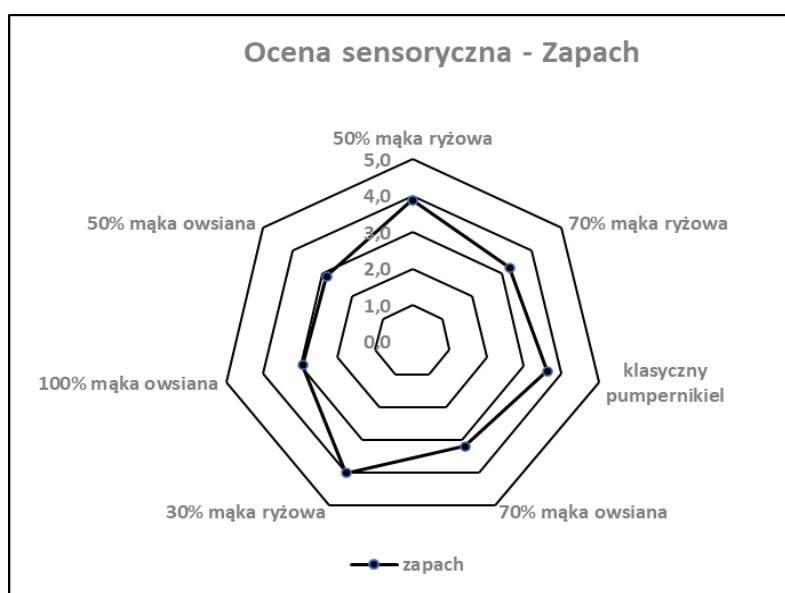
W celu określenia akceptowalności sensorycznej otrzymanych chlebów: pumpernika klasycznego, wariantu 30% mąki ryżowej, wariantu 50% mąki ryżowej, wariantu 70% mąki ryżowej, wariantu 50% mąki owsianej, wariantu 70% mąki owsianej, wariantu 100% mąki owsianej, przeprowadzono pięciopunktową ocenę sensoryczną oceniając: strukturę miękiszu, zapach, smak oraz ogólną akceptowalność. Na rysunkach 28, 29, 30, 31 przedstawiono wykresy ilustrujące uzyskane wyniki.

Najlepiej pod względem struktury miękiszu został oceniony wariant pumpernika z 30% zawartością mąki ryżowej (4,3 pkt.), punktacja była zbliżona do klasycznego pumpernika (3,9 pkt.), rys. 28. Nieco niższe noty uzyskano dla pumpernika z 70% i 50% zawartością mąki owsianej (po 3,3 pkt.), 50% zawartością mąki ryżowej (3,5 pkt.), 70% mąki ryżowej (2,8 pkt.). Najgorzej pod względem struktury miękiszu oceniono próbę zawierającą 100% mąki owsianej (2,6 pkt.).



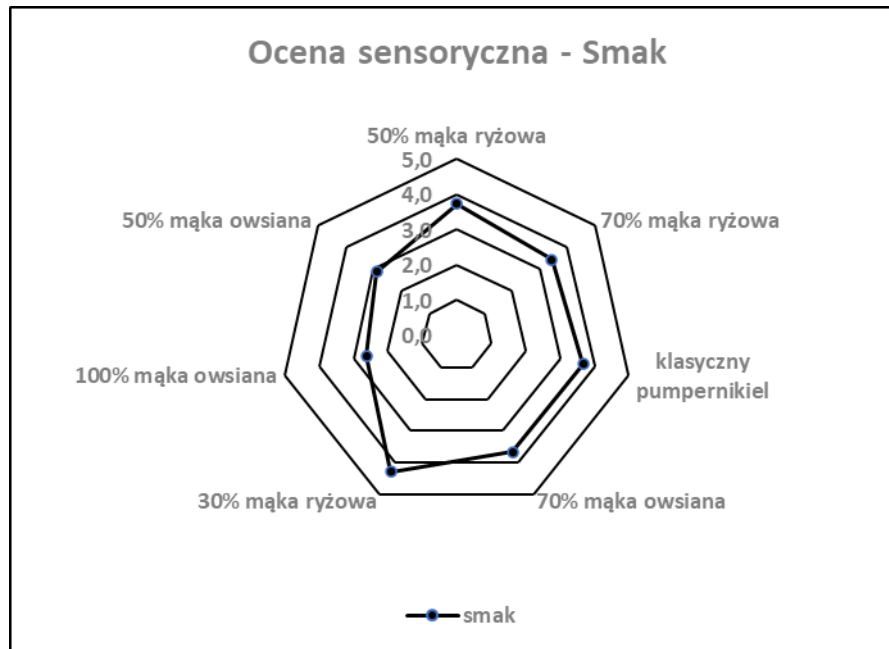
Rys. 28. Wykres oceny struktury miękiszu pumpernika klasycznego oraz pumpernika z dodatkiem mąki ryżowej i mąki owsianej w różnych proporcjach. Wartości rzeczywiste wraz z odchyleniem standardowym znajdują się w załączniku 3.

Podczas oceny sensorycznej zapachu, najwyżej oceniono pumpernikiel z mąką ryżową we wszystkich wariantach. Pumpernikiel z mąką ryżową w ilości: 30%, 50%, 70%, oceniono odpowiednio: 4,0, 3,9 oraz 3,3 pkt., rys. 29. Wartości te były wyższe niż dla klasycznego pumpernika, który uzyskał notę 3,6 pkt. Próby z mąką owsianą oceniono nieco niżej, mianowicie dla wariantów 70%, 100% oraz 50% uzyskano odpowiednio wartość: 3,2 pkt. oraz równo po 2,9 pkt.



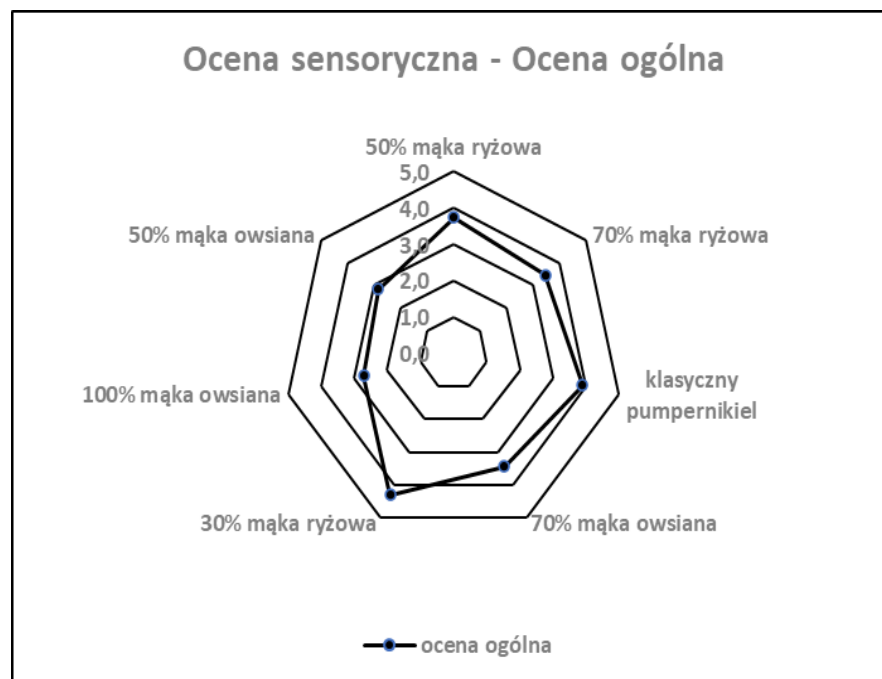
Rys. 29. Wykres oceny zapachu pumpernika klasycznego oraz pumpernika z dodatkiem mąki ryżowej i mąki owsianej w różnych proporcjach. Wartości rzeczywiste wraz z odchyleniem standardowym znajdują się w załączniku 3.

Smak oceniono najwyżej w próbie z 30% dodatkiem mąki ryżowej z punktacją na poziomie 4,3 pkt., rys. 30. Natomiast próby z 50% mąki ryżowej oraz 70% owsianej, uzyskały noty podobne do klasycznego pumpernika, wszystkie po 3,7 pkt. Nieco niższą punktację przypisano pumperniklowi z dodatkiem 70% mąki ryżowej, a mianowicie 3,4 pkt. W punktacji pumpernika z dodatkiem mąki owsianej w ilości 50% oraz 100% wykazano najniższy poziom, poniżej 3,0 pkt.



Rys. 30. Wykres oceny smaku pumpernika klasycznego oraz pumpernika z dodatkiem mąki ryżowej i mąki owsianej w różnych proporcjach. Wartości rzeczywiste wraz z odchyleniem standardowym znajdują się w załączniku 3.

W ocenie ogólnej prób pumpernika, wykazano, że wszystkie próby pumpernika uzyskały punktację powyżej 2,0, rys. 31. Najbardziej pożądanymi próbami okazały się próby z mąką ryżową a szczególnie z 30% dodatkiem mąki ryżowej, 4,3 pkt., uzyskującą punktację zbliżoną do punktacji klasycznego pumpernika, 3,9 pkt., a także z 50% dodatkiem mąki ryżowej, uzyskując 3,7 pkt. Próba z mąką owsianą dodaną w 70% była najbardziej pożądaną spośród wszystkich wariantów pumpernika z mąką owsianą punktacją 3,4 pkt. Pozostałe dwie próby z 50% oraz 100% dodatkiem mąki owsianej otrzymały notę na poziomie 3,0 pkt.



Rys. 31. Wykres ogólnej oceny pumpernika klasycznego oraz pumpernika z dodatkiem mąki ryżowej i mąki owsianej w różnych proporcjach. Wartości rzeczywiste wraz z odchyleniem standardowym znajdują się w załączniku 3.

6.8. Analiza tekstury prób pumpernika

Na podstawie analizy TPA prób pumpernika oceniono sześć parametrów tekstury miękiszu chleba: twardość (siła początkowa użyta do odkształcenia miękiszu), sprężystość (parametr tekstury związany z elastycznością kromki chleba), spoistość (stosunek pierwszego do drugiego obszaru siły dodatniej ściskania), gumowatość (określa się jako iloczyn sprężystości oraz gumowatości; innymi słowy symbolizuje energię potrzebną do rozbicia powstałego pokarmu), żuwalność (określa się jako iloczyn gumowatości oraz sprężystości; energia potrzebna do przeżucia pokarmu) oraz wytrzymałość (wskaźnik ilustrujący sposób powracania próbki do stanu początkowego od momentu odkształcenia, obejmujący wytrzymałość oraz prędkość; iloraz powierzchni przed odkształceniem oraz obszaru po odkształceniu w momencie stosowania pierwszego obniżenia). Wyniki analizy tekstury pumpernika przedstawiono w tab. 17.

Tab. 17. Wyniki pomiaru wyróżników tekstury prób pumpernika.

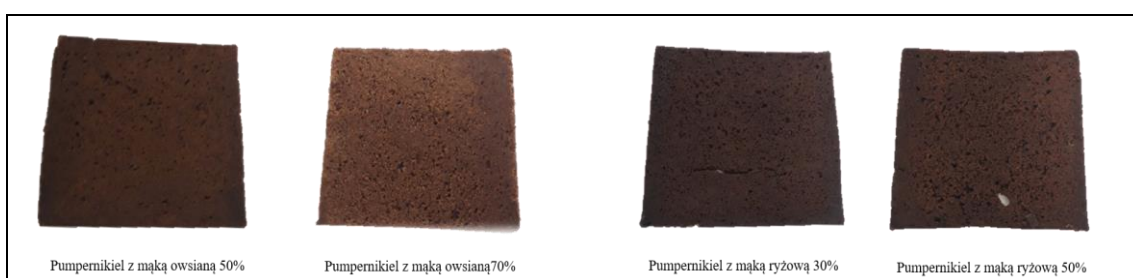
PRÓBA	Twardość [N]	Sprężystość	Spoistość	Gumowatość	Żuwalność [N mm]	Wytrzymałość [N]
Pumpernikiel klasyczny 100% mąki żytniej	26945 ^a ±1985	0,862 ^a ±0,023	0,558 ^a ±0,047	15043 ^a ±1790	12974 ^a ±1667	0,294 ^a ±0,029
Wariant 50% mąki owsianej	40583 ^{bc} ±2592	0,877 ^a ±0,028	0,535 ^a ±0,018	21722 ^b ±1883	19026 ^b ±1475	0,274 ^a ±0,009
Wariant 70% mąki owsianej	44750 ^a ±2692	0,879 ^a ±0,016	0,66 ^a ±0,023	29527 ^a ±2118	25931 ^a ±1550	0,408 ^a ±0,026
Wariant 100% mąki owsianej	51687 ^{ab} ±5887	0,911 ^{ab} ±0,002	0,843 ^a ±0,016	41038 ^{ab} ±4515	37372 ^{ab} ±4048	0,63 ^a ±0,061
Wariant 30% mąki ryżowej	37955 ^{cd} ±7621	0,907 ^{ab} ±0,034	0,572 ^a ±0,068	21706 ^b ±5250	19833 ^b ±5711	0,303 ^a ±0,063
Wariant 50% mąki ryżowej	24424 ^{cd} ±1454	0,843 ^a ±0,054	0,525 ^b ±0,024	12812 ^c ±439	10800 ^c ±773	0,259 ^b ±0,021
Wariant 70% mąki ryżowej	30190 ^d ±2365	0,849 ^a ±0,053	0,554 ^c ±0,030	16711 ^d ±1514	14182 ^d ±1592	0,309 ^c ±0,031

Wartość parametru pomiędzy badanymi wariantami pumpernika z tym samym indeksem górnym nie różni się istotnie statystycznie na poziomie istotności $\alpha=0,05$.

Wprowadzenie do ciasta surowców bezglutenowych wpłynęło na zmianę tekstury wypieczonego chleba typu pumpernikiel, rys. 32, 33. W przypadku dodatku mąki owsianej, zaobserwowano w próbach wzrost twardości miękiszu, spoistości, sprężystości, żujności, a także gumowatości. Im wyższy dodatek, tym większe różnice ($p>0,05$). Po całkowitym zastąpieniu mąki żytniej mąką owsianą wartość poszczególnych parametrów zmieniła się następująco: twardość wzrosła o 80%, spoistość o 50%, gumowatość o 170%, żujność o 190% i sprężystość o 125%. W próbach z mąką ryżową, głównie w wariacie z dodatkiem 30% mąki ryżowej odnotowano istotny wzrost twardości o 40%, gumowatości o 44% oraz żujności o 50%. Poziom sprężystości i spoistości zmniejszył się kolejno o 1,5% oraz o 0,7% pumpernika z dodatkiem 70 % mąki ryżowej w porównaniu z wartościami pumpernika klasycznego. Wytrzymałość w wariacie chleba z 70% dodatkiem mąki ryżowej wzrosła o 5%. Niskie poziomy pozostałych wariantów pumpernika z dodatkiem mąki ryżowej (50% oraz 70%) wskazują na to, że próby te nie osiągnęły różnic istotnych statystycznie pomiędzy wynikami.



Rys. 32. Kromki prób pumpernika, od lewej: klasycznego, z dodatkiem 100% mąki owsianej, z dodatkiem 70% mąki ryżowej. Fotografia własna.



Rys. 33. Kromki prób pumpernika, od lewej: z dodatkiem 50% mąki owsianej, z dodatkiem 70% mąki owsianej, z dodatkiem 30% mąki ryżowej, z dodatkiem 50% mąki ryżowej. Fotografia własna.

6.9. Pomiar barwy w systemie CIE L*a*b*

Pomiaru barwy poszczególnych prób wypieczonego pumpernika dokonano w celu porównania różnic pomiędzy chlebami z wykorzystaniem pełnoziarnistej mąki żytniej oraz surowców o obniżonej zawartości białek glutenowych a konkretniej rzecz ujmując mąki owsianej oraz ryżowej.

Poszczególne parametry pomiaru barwy opisują różne odcienie oraz kolory danej próbki. Parametr L* występuje w przedziale: od 0% - absolutnej czerni do 100% - absolutnej bieli. Wyraża on jasność danej barwy. Parametry a* oraz b* służą do opisywania chromatyczności barwy, przy czym parametr a* jest odzwierciedleniem zmieniającego się udziału barw: czerwonej dla wartości dodatnich oraz zielonej dla wartości ujemnych, z kolei parametr b* reprezentuje zmiany w udziale barwy: żółtej dla wartości dodatnich oraz niebieskiej dla wartości ujemnych. Wyniki poszczególnych parametrów barwy prób pumpernika przedstawiono w tab. 18.

Tab.18. Pomiar barwy prób pumpernikla w systemie CIE L*a*b*.

PRÓBA	PARAMETR		
	L*	a*	b*
Pumpernikiel klasyczny 100% mąki żytniej	36,32±1,33	8,57±0,33	0,84±0,56
Wariant 50% mąki owsianej	35,35±0,83	8,39±0,12	2,07±0,30
Wariant 70% mąki owsianej	36,37±0,32	8,74±0,09	2,03±0,24
Wariant 100% mąki owsianej	33,92±1,78	8,36±0,31	0,57±1,07
Wariant 30% mąki ryżowej	33,06±1,72	7,82±0,51	-0,92±1,75
Wariant 50% mąki ryżowej	34,62±1,09	7,80±0,21	-1,38±0,82
Wariant 70% mąki ryżowej	34,23±0,86	8,32±0,15	-0,21±0,33

Poziomy parametru L* opisującego jasność barwy kształtowały się od 36,37 (próba najjaśniejsza) w wariacie pumpernikla z 70% zawartością mąki owsianej i 30% zawartością mąki żytniej do 33,06 (próba najciemniejsza) w wariacie pumpernikla z 30% zawartością mąki ryżowej. Wartości tego parametru pomiędzy poszczególnymi próbkami nie różniły się istotnie. Najbardziej zbliżony poziom L* w porównaniu z pumpernikiem klasycznym (L*=36,32) wystąpił w próbie z zawartością 70% mąki owsianej (L*=36,37). W przypadku prób z mąką ryżową, próbą najciemniejszą okazała się próba z 30% dodatkiem mąki ryżowej. Parametr a* we wszystkich próbach z mąką ryżową oraz w próbie ze 100% dodatkiem mąki owsianej (a*=8,32) osiągnął wartości zbliżone do wartości pumpernikla klasycznego (a*=8,57). W wariacie z dodatkiem 30%, 50% oraz 70% mąki ryżowej wartości parametru a* były następujące: 7,82; 7,80 oraz 8,32. Dodatkowo wartości parametru a* świadczą o barwie kromek chleba zbliżonej bardziej w kierunku czerwonego niż zielonego odcienia. Mniej nasycone w odcień czerwony okazały się próby z dodatkiem 30% (a*=7,82) oraz 50% (7,80) mąki ryżowej. Próby z mąką owsianą uzyskały zbliżone wartości parametru a*, porównując z wartościami pumpernikla klasycznego (a*=8,57). Wartości parametru b* poniżej zera, zbliżające się w kierunku barwy niebieskiej, zlokalizowano w trzech próbach z dodatkiem 30% , 50% oraz 70% mąki ryżowej, kolejno: -0,92, -1,38 oraz -0,21. Wszystkie pozostałe próby otrzymały wyniki na poziomie bliskim zera, lecz z wartościami dodatnimi. W kierunku barwy żółtej, najbardziej zbliżone okazały się być próby z dodatkiem 50% oraz 70% mąki owsianej, uzyskując wartości powyżej 2. Pumpernikiel klasyczny uzyskał wartości na poziomie

$a^*=0,84$, zbliżone najbardziej do próby ze 100% dodatkiem mąki owsianej $a^*=0,57$, również w odcieniu żółtym. Najbliżej zera w osi barw żółty-niebieski znalazła się próba z 70% dodatkiem mąki ryżowej.

6.10. Określenie zależności pomiędzy: oceną sensoryczną, profilem związków zapachowych oraz teksturą prób pumpernikla: klasycznego, z dodatkiem mąki ryżowej oraz z dodatkiem mąki owsianej

W celu wykazania korelacji pomiędzy oceną sensoryczną, profilem związków zapachowych oraz teksturą otrzymanych wariantów prób chleba typu pumpernikiel z różnym dodatkiem mąki ryżowej lub owsianej, przeprowadzono analizę statystyczną w oparciu o analizę składowych głównych – (PCA), które zebrano na rys. 34 i 35. Na rys. 34 przedstawiono zestawienie zmiennych: oceny sensorycznej 5-cio punktowej, profilu związków zapachowych oraz pomiar tekstury. Na rysunku 35 przedstawiono próby pumpernikla im odpowiadające: warianty z 30, 50, 70% dodatkiem mąki ryżowej oraz warianty z 50, 70 i 100% mąki owsianej.

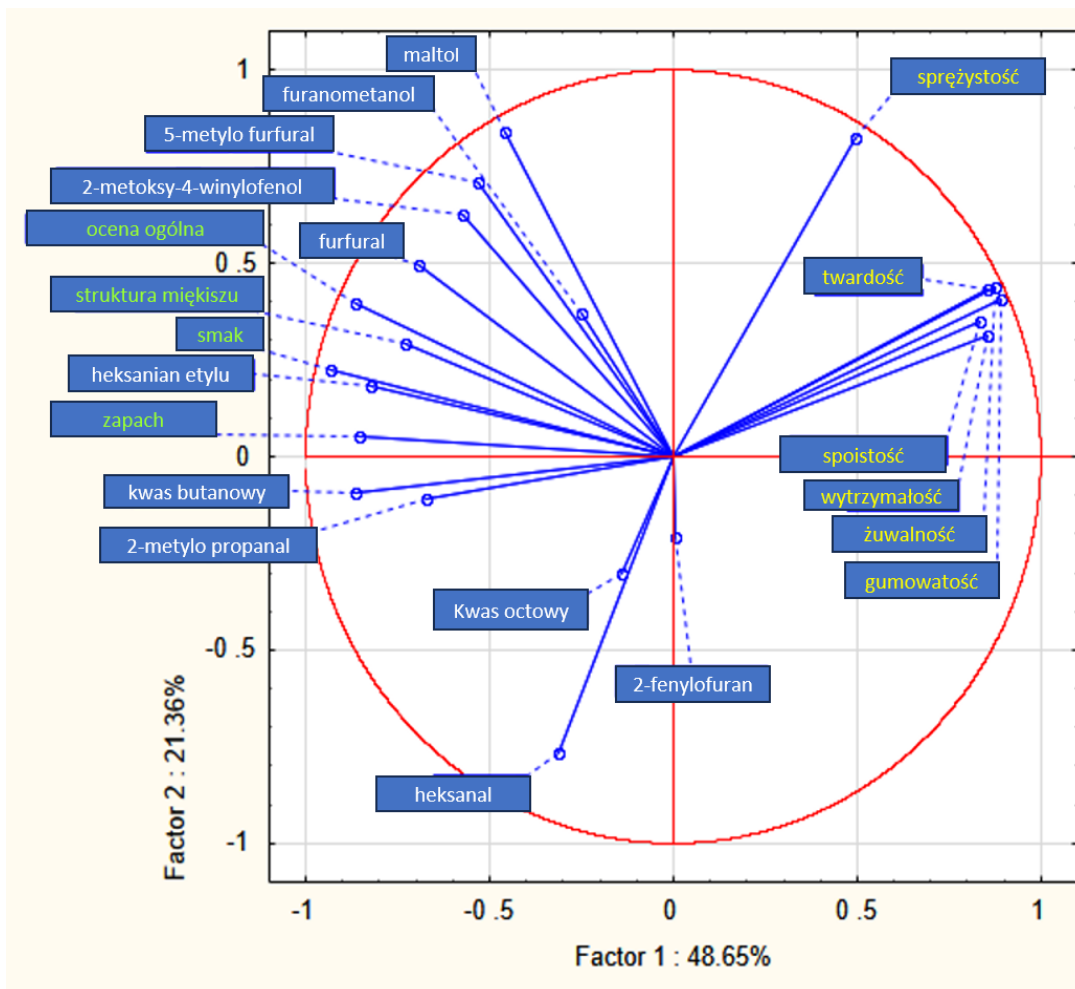
Profil związków lotnych uzyskano za pomocą techniki SPME GC/MS i metodyki opisanej w punkcie 4.4. Wartości oceny sensorycznej prób pumpernikla porównano na wykresie PCA, w nawiązaniu do wykresów 28, 29, 30 oraz 31 umieszczonych w punkcie 6.7. niniejszej pracy.

Analizując dane przedstawione na rysunkach 34 i 35 można stwierdzić, że najbardziej korzystnie została oceniona próba pumpernikla z dodatkiem 30% mąki ryżowej. Uzyskane wyniki wskazują na wyraźną korelację pomiędzy oceną ogólną (4,3 pkt.) chleba z 30% dodatkiem mąki ryżowej a wyróżnikami takimi jak smak (4,3 pkt.), zapach (4,0 pkt.), struktura miękiszu (4,3 pkt.) oraz związkami lotnymi: maltolu, furanometanolu, 5-metylofurfuralu, 2-metoksy-4-winylofenolu, furfuralu oraz heksanianu etylu.

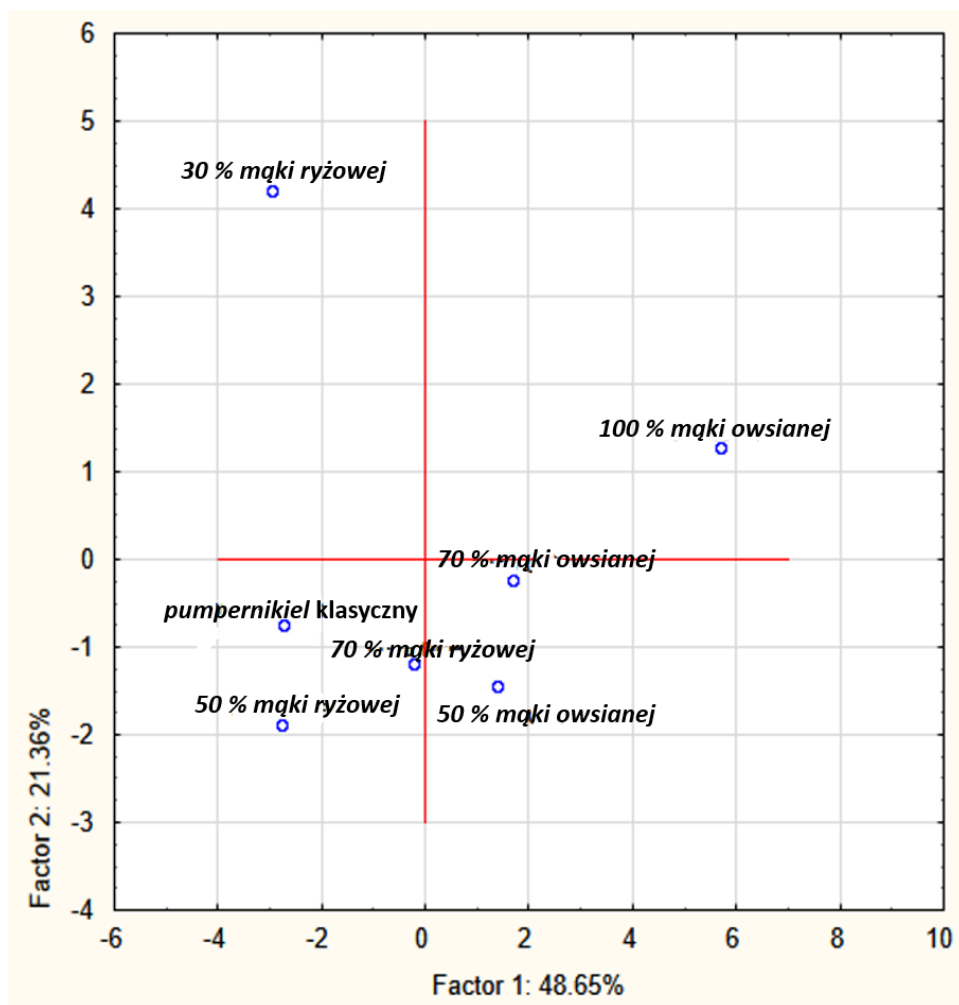
Pumpernikel klasyczny znalazł się w grupie z próbami z dodatkiem 50% i 70% mąki ryżowej oraz z próbą z dodatkiem 50% mąki owsianej z wyróżnikami zapachowymi takimi jak heksanal i kwas octowy.

Najbardziej od pozostałych prób odbiegał pumpernikiel ze 100% dodatkiem mąki owsianej, co korelowało z odbiegającymi wynikami pomiaru tekstury takimi jak:

sprężystość (0,911), twardość (51687 N), spoistość (0,843), wytrzymałość (0,63 N),
 żuwalność (37372 N mm) oraz gumowatość (41038).



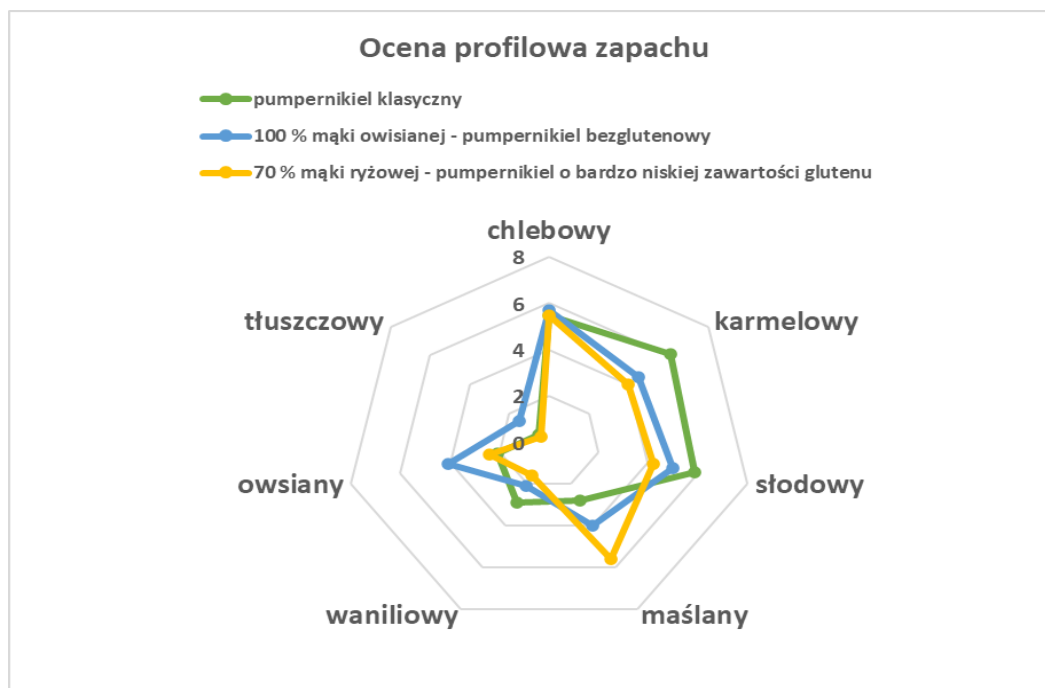
Rys. 34. Wykres PCA prób pumpernikla przedstawiający zestawienie oceny sensorycznej 5-cio punktowej, stosunek związków zapachowych oraz pomiar tekstury.



Rys. 35. Wykres PCA prób pumpernika powiązany z rys. 34.

6.11. Profilowa ocena sensoryczna zapachu prób pumpernika klasycznego, pumpernika bezglutenowego oraz pumpernika o bardzo niskiej zawartości glutenu

W celu dokonania szczegółowej charakterystyki profilu zapachowego prób pumpernika klasycznego, pumpernika bezglutenowego oraz pumpernika o bardzo niskiej zawartości glutenu, przeprowadzono ocenę sensoryczną porównując intensywność następujących wyróżników zapachowych: chlebowego, karmelowego, słodowego, maślanego, waniliowego, owsianego oraz tłuszczowego. Wyróżniki te zostały wybrane w badaniach wstępnych przez wyspecjalizowany zespół sensoryczny, zgodnie z opisem w punkcie 4.4.7. Na rys. 36, przedstawiono wyniki profilowej oceny zapachu.



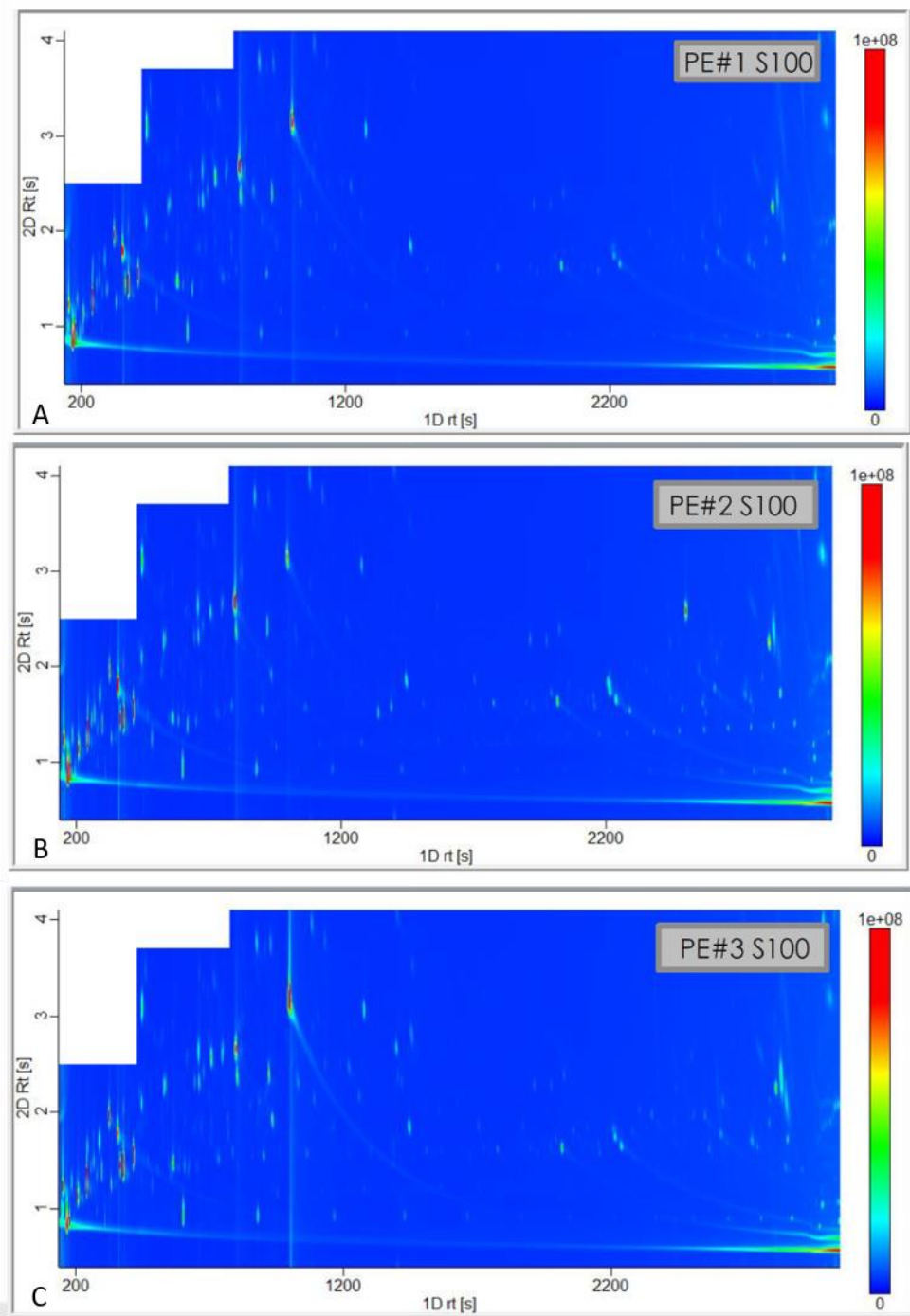
Rys. 36. Wykres oceny profilowej zapachu pumpernika klasycznego, pumpernika bezglutenowego oraz o bardzo niskiej zawartości glutenu. Wartości rzeczywiste wraz z odchyleniem standardowym znajdują się w załączniku 4.

Zapach chlebowy został oceniony na podobnym poziomie we wszystkich próbach pumpernika, 5,5 pkt. uzyskano dla próby pumpernika klasycznego oraz z 70% dodatkiem mąki ryżowej, natomiast dla próby ze 100% dodatkiem mąki owsianej 5,7 pkt. Zapach karmelowy wyróżnił się w próbie klasycznego pumpernika (6,1 pkt.), natomiast w pozostałych próbach z dodatkiem mąk bezglutenowych zapach ten kształtował się na poziomie pomiędzy 4,0 a 4,5 pkt. Słodowa nuta zapachowa najbardziej intensywna była w klasycznym pumperniku (5,9 pkt.), natomiast w próbach z surowcami bezglutenowymi osiągnęła poziom kolejno: 5,0 pkt. w próbie z mąką owsianą oraz 4,2 pkt. z mąką ryżową. Maślany deskryptor zapachowy oceniono najwyżej w punktacji w próbie z mąką ryżową (5,6 pkt.). Wyróżnik waniliowy, najbardziej wyczuwalny był w próbie klasycznego pumpernika (poniżej 3 pkt.). W próbie z mąką owsianą osiągnął poziom 2,1 pkt., najniższą notę przypisano dla próby z mąką ryżową, a mianowicie 1,6 pkt. Zapachem owsianym charakteryzowała się próba z mąką owsianą, 4,1 pkt. Pozostałe próby uzyskały punktację niemalże dwa razy niższą. Zapach tłuszczowy, spośród innych wyróżników, okazał się być najmniej wyczuwalnym we wszystkich próbach pumpernika (w pumperniku klasycznym: 0,5 pkt., w pumperniku z mąką owsianą: 1,5 pkt., w pumperniku z mąką ryżową: 0,4 pkt.).

Podsumowując, zapach karmelowy, słodowy oraz waniliowy był najbardziej wyczuwalny w pumperniku klasycznym. Próba pumpernika z mąką owsianą charakteryzowała się zapachem tłuszczowym oraz owsianym, natomiast próba z mąką ryżową zapachem maślanym. Zapach chlebowy pojawił się na podobnym poziomie, zarówno w próbie pumpernika klasycznego, jak i w próbach z mąką owsianą oraz ryżową.

6.12. Porównanie zawartości związków zapachowych występujących w próbach pumpernika klasycznego oraz w próbach wyprodukowanych z surowców o obniżonej zawartości białek glutenowych

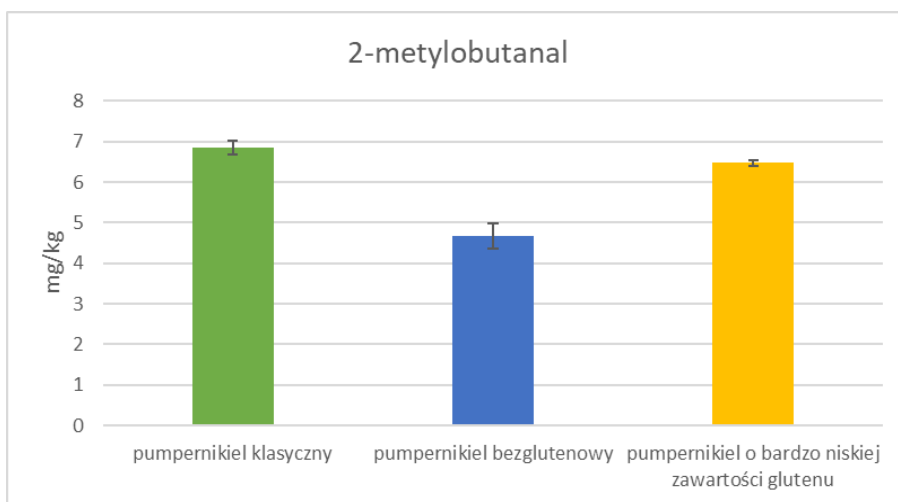
Kolejnym celem pracy doktorskiej było porównanie zawartości kluczowych związków zapachowych w trzech próbach pumpernika: pumperniku klasycznym, pumperniku bezglutenowym oraz pumperniku o bardzo niskiej zawartości glutenu. Analizę porównawczą wykonano w oparciu o uzyskane ekstrakty SAFE z dodatkiem standardu wewnętrznego naftalenu d₈. Opis wykonania analizy znajduje się w punkcie 4.4.4. Stężenie poszczególnych związków obliczono porównując znane stężenie w klasycznym pumperniku w przeliczeniu na standard wewnętrzny. Uzyskane wyniki są traktowane jako estymacje a nie dokładne obliczenie i mają służyć jedynie porównaniu próbek chleba. Na rys. 37 przedstawiono porównanie chromatogramów ekstraktów SAFE uzyskanych w wyniku analizy na aparacie GCxGC-TOFMS.



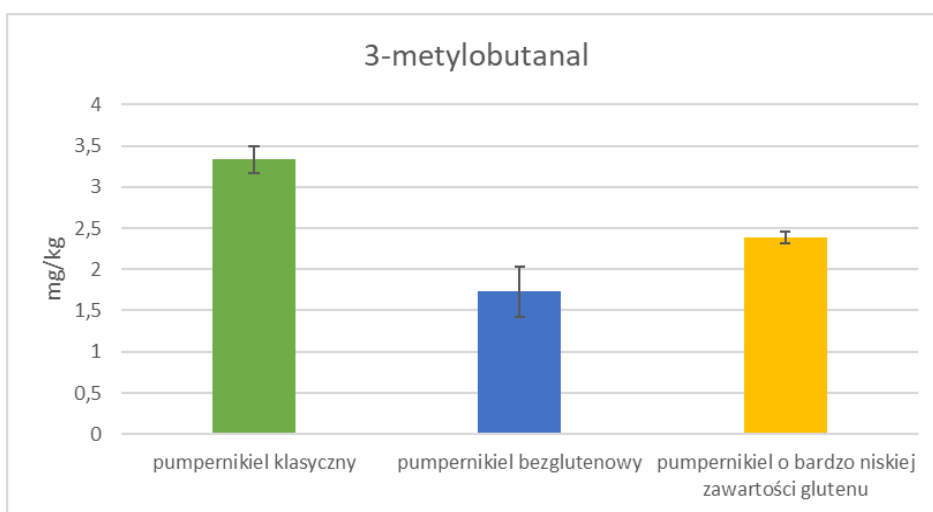
Rys. 37. Chromatogramy uzyskane na aparacie GCxGC-TOFMS: A: ekstrakt SAFE z klasycznego pumpernika; B: ekstrakt SAFE z pumpernika bezglutenowego; C: ekstrakt SAFE z pumpernika o bardzo niskiej zawartości glutenu.

Wyniki analizy ilościowej poszczególnych związków zestawiono na rysunkach od 38 do 47. Związkami tymi były: 2-metylobutanal, 3-metylobutanal, metional, trisiarczek dimetylu, 3-metylo-1-butanol, 2,3-butanodion, sotolon, wanilina, norfuraneol oraz furaneol. Na podstawie uzyskanych wyników można stwierdzić, że zawartość 2-

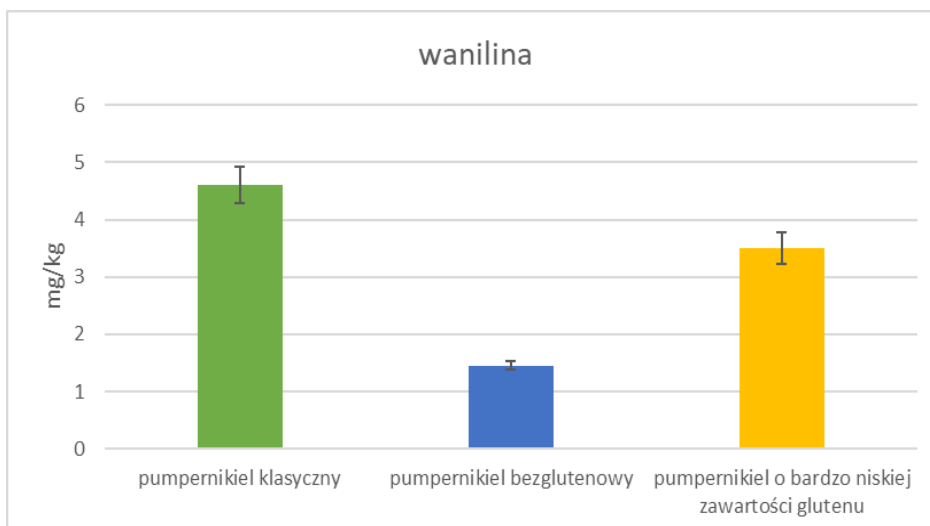
metylobutanalu, 3-metylobutanalu, waniliny, metionalu oraz sotolonu zmniejszyła się w próbie pumpiernikla z dodatkiem mąki owsianej oraz mąki ryżowej, jednakże spadek ten był wyższy w próbie z mąką owsianą. W przypadku 2 i 3-metylo butanalu o zapachu słodowym, oraz waniliny o zapachu wanilii, wartości te korelują z wynikami profilowej analizy sensorycznej, gdzie zapach słodowy i waniliowy był również najsilniej wyczuwany w pumpierniklu klasycznym. (pkt. 6.11., rys. 36).



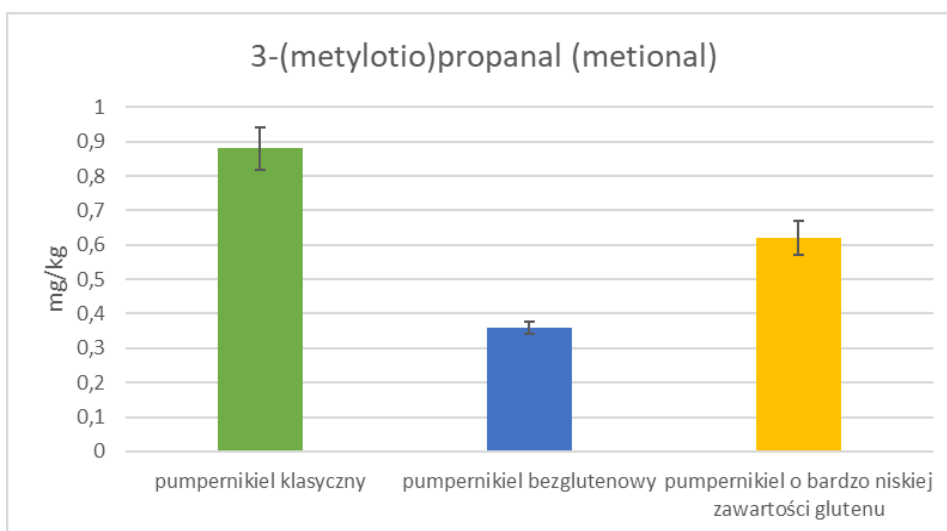
Rys. 38. Porównanie zawartości 2-metylobutanalu w próbach pumpiernikla klasycznego, pumpiernikla bezglutenowego oraz pumpiernikla o bardzo niskiej zawartości glutenu.



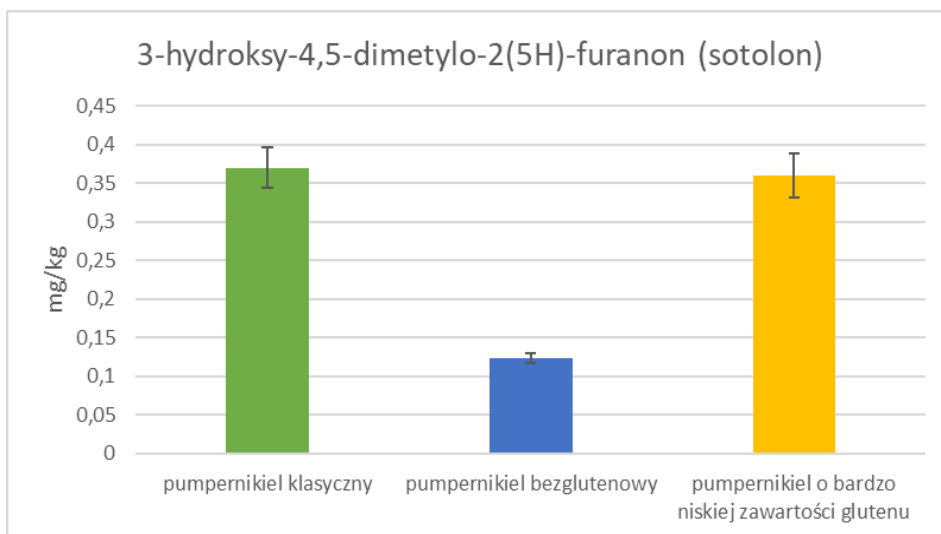
Rys. 39. Porównanie zawartości 3-metylobutanalu w próbach pumpiernikla klasycznego, pumpiernikla bezglutenowego oraz pumpiernikla o bardzo niskiej zawartości glutenu.



Rys. 40. Porównanie zawartości waniliny w próbach pumpernikla klasycznego, pumpernikla bezglutenowego oraz pumpernikla o bardzo niskiej zawartości glutenu (wariant 70% mąki ryżowej).

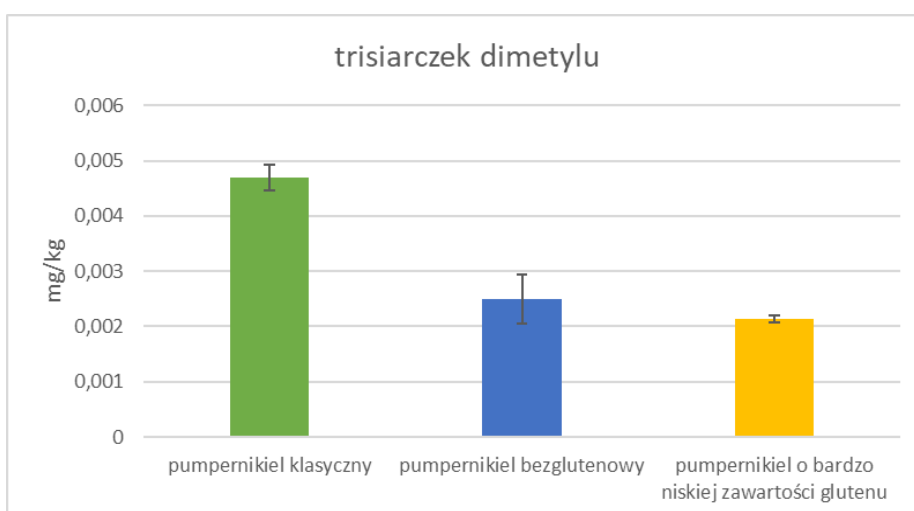


Rys. 41. Porównanie zawartości 3-(metylotio)propanalu (metionalu) w próbach pumpernikla klasycznego, pumpernikla bezglutenowego oraz pumpernikla o bardzo niskiej zawartości glutenu (wariant 70% mąki ryżowej).

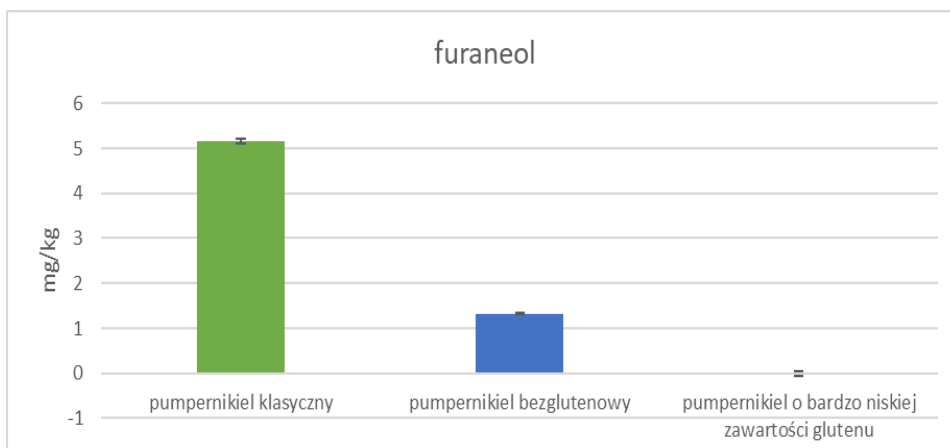


Rys. 42. Porównanie zawartości 3-hydroksy-4,5-dimetylo-2(5H)-furanonu (sotolonu) w próbach pumpernikla klasycznego, pumpernikla bezglutenowego oraz pumpernikla o bardzo niskiej zawartości glutenu.

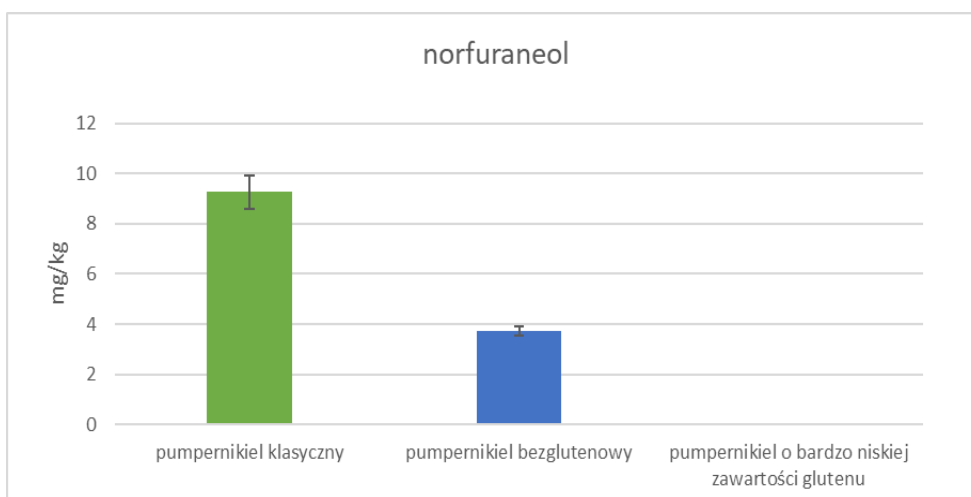
Zawartość trisiarczku dimetylu o zapachu kapusty, norfuraneolu i furaneolu o zapachu karmelowym była niższa w próbach wytworzonych z surowców o obniżonej zawartości białek glutenowych w stosunku do pumpernikla klasycznego, jednakże spadek ten był wyższy w pumperniklu z dodatkiem mąki ryżowej, rys. 43, 44, 45. Wyniki te są zbieżne z profilową analizą sensoryczną, gdzie nuta waniliowa była najsilniej wyczuwana w klasycznym pumperniklu a najslabiej w pumperniklu o bardzo niskiej zawartości glutenu (wariant 70% mąki ryżowej).



Rys. 43. Porównanie zawartości trisiarczku dimetylu w próbach pumpernikla klasycznego, pumpernikla bezglutenowego oraz pumpernikla o bardzo niskiej zawartości glutenu.

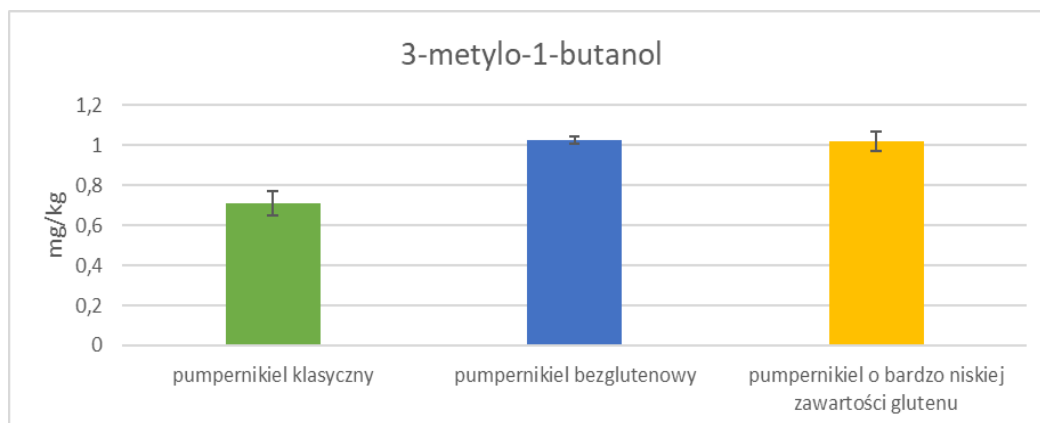


Rys. 44. Porównanie zawartości furaneolu w próbach pumpnickla klasycznego, pumpnickla bezglutenowego oraz pumpnickla o bardzo niskiej zawartości glutenu.



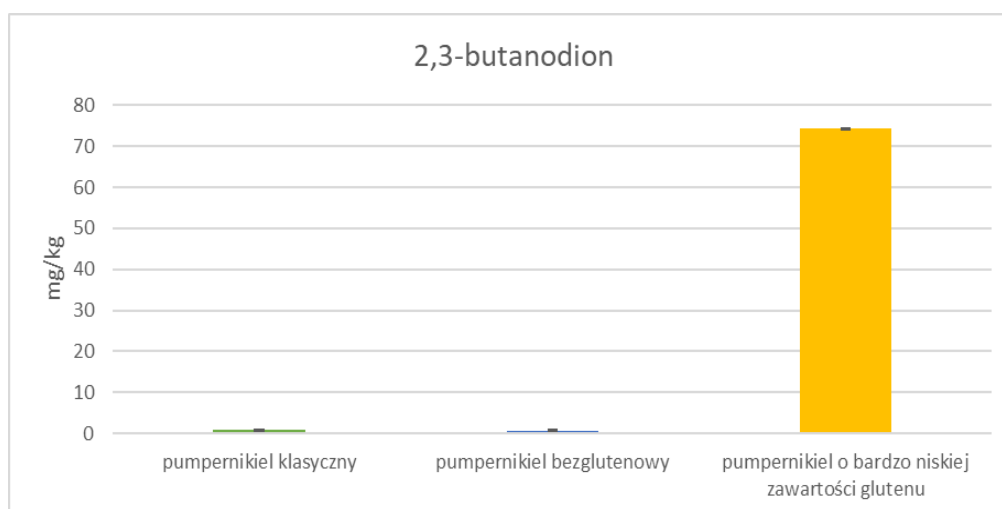
Rys. 45. Porównanie zawartości norfuraneolu w próbach pumpnickla klasycznego, pumpnickla bezglutenowego oraz pumpnickla o bardzo niskiej zawartości glutenu.

W przypadku 3-metylo-1-butanolu o zapachu owocowym stwierdzono, że jego zawartość wzrosła po zastosowaniu surowców o obniżonej zawartości białek glutenowych, rys. 46.



Rys. 46. Porównanie zawartości 3-metylo-1-butanolu w próbach pumpernika klasycznego, pumpernika bezglutenowego oraz pumpernika o bardzo niskiej zawartości glutenu.

Zawartość 2,3-butanodionu związku reprezentującego zapach maślany, kształtowała się na najwyższym poziomie w pumperniku o bardzo niskiej zawartości glutenu (rys. 47).



Rys. 47. Porównanie zawartości 2,3-butanodionu w próbach pumpernika klasycznego, pumpernika bezglutenowego oraz pumpernika o bardzo niskiej zawartości glutenu.

Uzyskane dane dotyczące profilowej analizy zapachowej oraz wykazania różnic pomiędzy związkami zapachowymi klasycznego pumpernika wytworzonego z maki żytniej a chleba typu pumpernikiel otrzymanego z maki ryżowej lub owsianej mogą być w przyszłości podstawą do optymalizacji jakości pieczywa przygotowanego na bazie bezglutenowych składników.

7. Wnioski

1. Za aromat pumpernikla odpowiadają 23 kluczowe związki zapachowe o wartości $OAV > 1$: 2-metylobutanal ($OAV=4560$) i 3-metylobutanal ($OAV=6660$) o zapachu słodowym, 3-(metylotio)propanal ($OAV=2047$) o zapachu gotowanych ziemniaków, 3-hydroksy-4,5-dimetylo-2(5H)-furanon ($OAV=1233$) o zapachu lubczyku, trisiarczek dimetylu ($OAV=475$) o zapachu kapusty, 2-fenyletanol ($OAV=414$) o zapachu różanym, β -damascenon ($OAV=200$) o zapachu gotowanych jabłek, 4-hydroksy-3-metylobenzaldehyd ($OAV=184$) o zapachu waniliowym, 2,5-dimetylo-4-hydroksy-3(2H)-furanon ($OAV=172$) o zapachu waty cukrowej, fenylacetaldehyd ($OAV=100$) o zapachu miodowym, 2,3-butanodion ($OAV=58$) o zapachu maślanym, 2-acetylo-1-pyrolina ($OAV=50$) o zapachu popcornu, 2-metoksyfenol ($OAV=33$) o zapachu mięsnym, 3-metylomaślan etylu ($OAV=31$) o zapachu owocowym, kwas octowy ($OAV=17$) o zapachu octowym, maślan etylu ($OAV=13$) o zapachu owocowym, octan etylu ($OAV=9$) o zapachu owocowym, heksanal ($OAV=5$) o zapachu trawiastym, heksanian etylu ($OAV=5$) o zapachu owocowym, 3-hydroksy-2-metylo-4H-piran-4-on ($OAV=4$) o zapachu karmelowym, 4-etylo-2-metoksyfenol ($OAV=4$) o zapachu wędzonym, 2-metoksy-4-winylofenol ($OAV=3$) o zapachu wędzonym oraz siarczek dimetylu ($OAV=2$) o zapachu kapusty.
2. Etap wypieku pumpernikla ma największy wpływ na powstawanie kluczowych dla jego aromatu związków zapachowych tj. 2- i 3-metylobutanal o zapachu słodowym, metional o zapachu gotowanych ziemniaków oraz 3-hydroksy-4,5-dimetylo-2(5H)-furanon o zapachu lubczyku. W czasie procesu fermentacji powstają przede wszystkim estry o zapachu owocowym i kwiatowym, 3-metylobutanol o zapachu owocowym oraz kwas fenylloctowy o zapachu miodowym, jednakże nie mają one znaczącego wpływu na kształtowanie się zapachu w wyrobie gotowym. Dodatek sódów oraz błonnika pszennego w procesie wytwarzania ciasta, wpływa na wzrost stężenia kluczowych dla aromatu pumpernikla: 2- i 3-metylobutanalu o zapachu słodowym, maltolu o zapachu karmelowym oraz waniliny o zapachu wanilii.

3. Możliwe jest wyprodukowanie chleba typu pumperniel bezglutenowego oraz o bardzo niskiej zawartości glutenu o korzystnych cechach sensorycznych poprzez zastąpienie w pumperniku klasycznym mąki żytniej mąką ryżową lub owsianą odpowiednio w 70 i 100%.
4. Zastąpienie w pumperniku mąki żytniej mąką ryżową w ilości 70% wpływa na obniżenie zawartości glutenu do wartości 91 ppm oraz zmianę profilu zapachu chleba w kierunku bardziej intensywnego odczuwania aromatu maślanego i mniej intensywnego aromatu karmelowego i słodowego. Natomiast, analiza porównawcza kluczowych związków zapachowych wykazała wyższą zawartość 2,3-butanodionu, 3-metylo-1-butanolu oraz niższą zawartość waniliny, metionalu, trisiarczku dimetylu, 2- oraz 3-metylobutanalu, norfuraneolu oraz furaneolu.
5. Zastąpienie w pumperniku mąki żytniej mąką owsianą w ilości 100% wpływa na obniżenie zawartości glutenu do wartości 9,6 ppm oraz zmianę profilu zapachu chleba w kierunku bardziej intensywnego odczuwania aromatu owsianego i tłuszczowego i mniej intensywnego aromatu karmelowego, słodowego i waniliowego. Natomiast, analiza porównawcza kluczowych związków zapachowych wykazała wyższą zawartość 3-metylo-1-butanolu oraz niższą zawartość waniliny, metionalu, sotolonu, trisiarczku dimetylu, 2- oraz 3-metylobutanalu, norfuraneolu oraz furaneolu.

8. Literatura

- [1] Ciborowska H. 2016. Żywnienie dietetyczne w chorobach metabolicznych. W: Dietetyka. Żywnienie zdrowego i chorego człowieka. Ciborowska H., A. Rudnicka. Wydawnictwo Lekarskie PZWL, Wydanie IV, rozszerzone, i uaktualnione, Warszawa: 433.
- [2] Breen C., M. Ryan, M.J. Gibney, M. Corrigan, D. O’Shea. 2013. Glycemic, Insulinemic, and Appetite Responses of Patients With Type 2 Diabetes to Commonly Consumed Breads’. Opublikowano przez SAGE w imieniu *American Association of Diabetes Educators*: 6-7.
- [3] Reński A. 1964. Pumpernikiel. Technologia piekarstwa. Część III. Wydawnictwo Przemysłu Lekkiego i Spożywczego, Wydanie II poprawione i uzupełnione, Warszawa: 40-47.
- [4] Olszak-Ossowska D., Majcher M., Gierlik M. Pumpernikiel – połączenie tradycji i współczesnych oczekiwań. *Przegląd zbożowo-młynarski*. 2/2020: 33-35.
- [5] Rozporządzenie Rady (WE) NR 510/2006 w sprawie ochrony oznaczeń geograficznych i nazw pochodzenia produktów rolnych i środków spożywczych „Westfälischer Pumpernickel” EG-Nr.:DE-PGI-0005-01095– 22.02.2013: 20-22.
- [6] Gambuś H. 2016. Rodzaje pieczywa w Polsce i na świecie. W: Produkty zbożowe. Technologia i rola w żywieniu człowieka. – pod red. Gawęckiego J., Obuchowskiego W. Wydawnictwo Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu. Poznań: 70-71, 86-87.
- [7] Sobczyk A., Kaszuba J. 2015. Technologia zbóż. Część I. Wydawnictwo Uniwersytetu Rzeszowskiego, Rzeszów: 10, 12-18.
- [8] Byszewski W., Kalinowska-Zdun M., Ostrowska D., Szczygielski T. 1972. Surowce roślinne. Państwowe Wydawnictwo Naukowe. Wrocław: 93-94, 100.
- [9] Gawęcki J., 2016. Wartość odżywcza produktów zbożowych. W: Produkty zbożowe. Technologia i rola w żywieniu człowieka. - pod redakcją Gawęckiego J., Obuchowskiego W. Wydawnictwo Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu. Poznań: 142, 144-148, 151-152.
- [10] Rosell M. C., Bajerska J., El Sheikha A.F. 2016. Bread and Its Fortification. Nutrition and Health Benefits. CRC Press - Taylor and Francis Group: 376, 380-382.

- [11] Ruszkowska M., Kropisz P. 2017. Charakterystyka pieczywa bezglutenowego wytworzonego z mąk niekonwencjonalnych. *Inżynieria i Aparatura Chemiczna*. 56,5: 180.
- [12] Jankowski S. 1988. Surowce mączne i kaszowe. *Ziarno zbóż, gryki i grochu*. Wydawnictwo Naukowo-Techniczne. Warszawa:119-120, 130.
- [13] Michniewicz J., Makowska A. 2016. Podstawy technologii produkcji pieczywa. W: *Produkty zbożowe. Technologia i rola w żywieniu człowieka - pod redakcją Gawęckiego J., Obuchowskiego W.* Wydawnictwo Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu. Poznań: 46, 53-57, 59, 61-62.
- [14] Horubałowa A., Haber T. 1985. *Analiza techniczna w piekarstwie*. Wydanie 2. Wydawnictwo Szkolne i Pedagogiczne, Warszawa: 41-46, 55-61.
- [15] Kubiński W., Niekurzak M., Kubińska-Jabcoń E. 2018. *Badanie towarów spożywczych*. Wydanie 1. Wydawnictwo PWN, Warszawa: 305-308.
- [16] Sadkiewicz J., Sadkiewicz J. 2009. *Badania parametrów technologicznych ziarna, mąki i pieczywa*. Wydanie Jubileuszowe. Wydawnictwo Uczelniane Uniwersytetu Technologiczno-Przyrodniczego, Bydgoszcz: 116.
- [17] Bartnik M., Jakubczyk T. 1995. *Surowce w piekarstwie*. Wydanie V. Wydawnictwo Szkolne i Pedagogiczne, Warszawa: 67-68, 88-90, 101-103, 109-110.
- [18] Gil M., Głodek E., Rudy M., Stanisławczyk R., Zin M. 2014. *Technologia żywności i żywienia – pod redakcją Zin M.* Wydawnictwo Uniwersytetu Rzeszowskiego, Rzeszów: 32-33, 99-102, 110.
- [19] PN-A-74032:2002. *Przetwory zbożowe. Mąka żytnia*.
- [20] Bijok B., Bijok F., Dąbek A. 1999. *Surowce i technologia żywności. Część II*. Wydanie 8. Wyd. Szkolne i Pedagogiczne, Warszawa: 303-304, 306-307, 310-312.
- [21] Różyło R., Dziki D., Laskowski J. 2009. Ocena cech struktury chleba wykonanego z różnym udziałem wody. *Acta Agrophysica*. Lublin: 761-762, 767-768
- [22] Ambroziak Z. 1998. *Produkcja piekarsko-ciastkarska. Część I*. Wydawnictwo Szkolne i Pedagogiczne, Warszawa: 56, 69-73, 76-78, 105, 188-190.
- [23] Belitz H.-D., Grosch W., Schieberle P., 2009. *Aroma compounds*. In: *Food Chemistry*. 4th revised and extended Edition. Springer. Berlin: 340-352, 737-739.
- [24] Czubaszek A., Drozdowicz J., Czaja A., Błażewicz J. 2015. *Wpływ dodatku ekstraktów słodowych na jakość pieczywa pszennego*. W: *Technologiczne kształtowanie*

jakości żywności – pod red. naukową Wójciak K.M. i Dolatowskiego Z.J. Wydawnictwo Naukowe PTTŻ. Kraków: 41-42.

[25] Gondek E., Jakubczyk E., Jażdżyk B. 2013. Wpływ dodatku błonnika na właściwości sorpcyjne owocowych nadzień cukierniczych. Zeszyty Problemowe Postępów Nauk Rolniczych. Nr 573. Warszawa: 29, 32.

[26] Staroszczyk H., 2017. Sacharydy – występowanie i znaczenie. W: Chemia żywności. Główne składniki żywności. – praca zbiorowa pod redakcją Sikorskiego Z.E., Staroszczyk H. Wydanie 1. Wydawnictwo PWN. Warszawa: 145.

[27] Rozporządzenie (WE) Nr 1924/2006 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 20 grudnia 2006r. w sprawie oświadczeń żywieniowych i zdrowotnych dotyczących żywności: 24.

[28] Jędrzejczyk H., Hoffmann M., 2008. Tendencje w produkcji wyrobów piekarniczych o podwyższonej wartości odżywczej. Postępy Techniki Przetwórstwa Spożywczego. Warszawa. 1: 48, 52-53.

[29] Jeleń H., 2017. Substancje zapachowe i smakowe w żywności. W: Chemia żywności. Główne składniki żywności. – praca zbiorowa pod redakcją Sikorskiego Z.E., Staroszczyk H. Wydanie 1. Wydawnictwo PWN. Warszawa: 364-366.

[30] Pico J., Bernal J., Gómez M., 2015. Wheat bread aroma compounds in crumb and crust: A review. Food Research International. 75: 200-215.

[31] Rögner N.S., Mall V., Steinhaus M. 2021. Impact of Malt Extract Addition on Odorants in Wheat Bread Crust and Crumb. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 69: 13586-13591.

[32] Gąsiorowski H., 1995. Aspekty żywieniowe owsa i jego przetworów. W: Owies. Chemia i technologia. – pod red. Gąsiorowskiego H. Państwowe Wydawnictwo Rolnicze i Leśne. Poznań: 104-105, 107-111, 115.

[33] Rohleder A.R., Scherf K.A., Schieberle P., Koehler P. 2019. Quantitative Analyses of Key Odorants and Their Precursors Reveal Differences in the Aroma of Gluten-Free Rice Bread and Wheat Bread. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 67: 11179, 11183-11185.

[34] Boeswetter A.R., Scherf K.A., Schieberle P., Koehler P. 2019. Identification of the Key Aroma Compounds in Gluten-Free Rice Bread. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 67: 2963, 2965-2966, 2968, 2970-2972.

- [35] Pawliszyn J. 1999. Quantitative Aspects of SPME. In: Applications of solid phase microextraction. – Edited by Pawliszyn J. The Royal Society of Chemistry. UK. 3-5.
- [36] Brattoli M., Cisternino E., Dambruoso P.R., De Gennaro G., Giungato P., Mazzone A., Palmisani J., Tutino M. 2013. Gas chromatography analysis with olfactometric detection (GC-O) as a useful methodology for chemical characterization of odorous compounds. *Sensors*. 13(12): 16759, 16761-16762.
- [37] Witkiewicz Z., Hetper J., 2001. *Chromatografia gazowa*. Wydawnictwa Naukowo-Techniczne. Warszawa: 15-18.
- [38] Cordero C., Kiefl J., Schieberle P., Reichenbach E.S., Bicchi C. 2015. Comprehensive two-dimensional gas chromatography and food sensory properties: potentials and challenges. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 407: 169-180.
- [39] Dunkel A., Steinhaus M., Kotthoff M., Nowak B., Krautwurst D., Schieberle P., Hofmann T. 2014. Nature's chemical signatures in human olfaction: A foodborne perspective for future biotechnology. *Angewandte Chemie International Edition*. 53: 3-7.
- [40] Steinhaus M. 2020. Gas Chromatography-Olfactometry: Principles, Practical Aspects and Applications in Food Analysis. In: *Advanced Gas Chromatography in Food Analysis*. – Edited by Tranchida P.Q. The Royal Society of Chemistry. UK: 337-399.
- [41] Lange E., 2013. Produkty bezglutenowe na rynku polskim. *Handel wewnętrzny*. SGGW. Warszawa. 4(345): 86-91.
- [42] Jurga R., 1994. *Przetwórstwo zbóż. Część 1. Wydanie pierwsze*. Wydawnictwo Szkolne i Pedagogiczne. Warszawa: 37-40.
- [43] Przetaczek-Roźnowska I., Bubis E., 2016. Zboża bezglutenowe alternatywą dla osób chorych na celiakię. *KOSMOS Problemy Nauk Biologicznych*. 65,1: 129-137.
- [44] Gawęcki J., Obuchowski W. 2016. Produkty zbożowe. *Technologia i rola w żywieniu człowieka*. Wydawnictwo Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu. Poznań: 8-9.
- [45] Rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady (UE) nr 1169/2011 z dnia 25 października 2011r. w sprawie przekazywania konsumentom informacji na temat żywności: 31-32, 43.
- [46] Rozporządzenie Wykonawcze Komisji (UE) NR 828/2014 z dnia 30 lipca 2014 r. w sprawie przekazywania konsumentom informacji na temat nieobecności lub zmniejszonej zawartości glutenu w żywności.

- [47] Hiperłącze: Polskie Stowarzyszenie Osób z Celiakią i na Diecie Bezglutenowej: <https://celiakia.pl/>
- [48] Hiperłącze zdjęcia: <https://www.przekreslonyklos.pl/licencja/>
- [49] Marciniak-Łukasiak K., Skrzypacz M., 2008. Koncentrat chleba bezglutenowego z dodatkiem mąki z szarłat. Żywność. Nauka. Technologia. Jakość. 4(59): 132-133.
- [50] Van den Dool, H.; Kratz, P. D. A generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas-liquid partition chromatography. J. Chromatogr. 1963, 11, 463–471.
- [51] Schieberle, P.; Grosch, W. Quantitative analysis of aroma compounds in wheat and rye bread crust using a stable isotope dilution assay. J. Agric. Food Chem. 1987, 35, 252–257.
- [52] Stampanoni Koeflerli C.R., Ujednoczenie słownictwa sensorycznego definicje wyróżników smakowitości. Przemysł spożywczy. 1998. 4, 37-39.
- [53] Kaukovirta-Norja A., Wilhelmson A., Poutanen K., Germinaton: a means to improve the functionality of oat. Agricultural and Food Science. 2004. 13, 106.
- [54] Hutchings J.B. 1994. Food colour and appearance. Springer Science Business Media, B.V., UK: 219.
- [55] Schieberle, P., Grosch W. Potent odorants of rye bread crust - Differences from the crumb and from wheat bread crust. Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und Forschung 1994, 198, 292–296.
- [56] Kirchhoff E., Schieberle, P. Determination of key aroma compounds in the crumb of a three-stage sourdough rye bread by stable isotope dilution assays and sensory studies. Journal of Agricultural and Food Chemistry 2001, 49, 4304–4311.
- [57] Kirchhoff E., Schieberle P. Quantitation of odor-active compounds in rye flour and rye sourdough using stable isotope dilution assays. Journal of Agricultural and Food Chemistry 2002, 50, 5378–5385.
- [58] Grosch, W., Schieberle, P. Flavor of cereal product-A review. Cereal Chemistry. 1997, 74, 91–97.
- [59] Schieberle, P.; Grosch, W. Evaluation of the flavour of wheat and rye bread crusts by aroma extract dilution analysis. Z. Lebensm.-Unters. Forsch. 1987, 185, 111–113.
- [60] Zehentbauer, G.; Grosch, W. Crust aroma of baguettes I. Key odorants of baguettes prepared in two different ways. J. Cereal Sci. 1998, 28, 81–92.

- [61] Schieberle, P. The role of the odorants 2-acetyl-1-pyrroline and 2-acethyltetrahydropyridine in wheat crust. *Z. Lebensm.-Unters. Forsch.* 1990, 191, 206–209.
- [62] Majcher M.A., Olszak-Ossowska D., Szudera-Kończal K., Jeleń H.H. Formation of key aroma compounds during preparation of pumpernickel bread. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2020, 10352-10360.

9. Załączniki

Załącznik 1. Zestawienie wyników profilowej oceny zapachowej pumpernika klasycznego wraz z odchyleniem standardowym, dotyczy rys. 27.

WYRÓŻNIK ZAPACHOWY	RODZAJ PRÓBY
	PUMPERNIKIEL STANDARDOWY
Chlebowy	5,5±1,13
Zbożowy	5,4±1,11
Brązowy	6,5±1,76
Słodowy	6,0±1,23
Karmelowy	6,0±1,17
Waniliowy	1,8±0,54
Maślany	1,8±0,84

Załącznik 2. Kluczowe związki zapachowe wraz z odchyleniem standardowym zidentyfikowane w zakwasach, cieście oraz pumperniklu klasycznym, dotyczy tab. 12.

Związek	Zapach	IR-DB 5	Zawartość związku w poszczególnych próbach (µg/kg) ^a						
			Zaczątek	Zakwas I, 20 h	Zakwas II, 0 h	Zakwas II, 5 h	Ciasto, 0 h	Ciasto, 40 minut	Pumpernikiel klasyczny
siarczek dimetylu	siarkowy	480	nd	nd	nd	nd	4±0,36	4±0,24	2±1,4
octan etylu	owocowy	614	nd	131±11,79	224±26,88	1399±125,91	289±17,34	404±36,36	44±3,96
2,3-butanodion	maślane	670	52±3,12	263±23,67	401±48,12	584±52,56	631±37,86	680±47,6	870±60,9
kwas octowy	octowy	691	343000±20580	732000±58560	425000±51000	1324000±119160	847000±50820	1244000±74640	1671000±117005
2-metylobutanal	słodowy	690	nd	nd	nd	nd	350±21	700±63	6840±612
3-metylobutanal	słodowy	695	nd	nd	nd	nd	250±22,5	420±46,2	3330±61,6
3-metylo-1-butanol	owocowy	719	3530±211,8	5600±448	4940±592,8	4370±393,3	2890±173,4	1675±83,75	711±78,1
maślan etylu	owocowy	803	9±0,54	45±4,05	93±11,16	30±2,7	5±0,45	6±0,36	30±3,3
heksanal	trawiasty	809	nd	nd	nd	nd	445±48,95	565±50,85	346±31,5
mleczan etylu	fermentacji	815	nd	9400±846	7500±900	6100±549	1200±72	225±13,5	215±19,8
furfural	słodki	835	nd	nd	nd	nd	nd	nd	17344±1557
3-metylomaślan etylu	owocowy	854	nd	0,8±0,072	2,8±0,336	15,5±1,24	4,4±0,308	3,1±0,217	0,7±0,0648
kwas 2(3)-metylobutanowy	sera, skarpet	877	120±7,2	110±8,8	120±14,4	138±12,42	48±2,88	44±5,28	78±5,46
(Z)-4-heptenal	rybny	900	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nq
3-(metylotio)propanal	gotowanych ziemniaków	908	3,1±0,186	1,3±0,117	1,5±0,18	22,3±2,007	23±2,07	31±1,86	880±61,6
2-acetylo-1-pyrolina	popcornu	922	nd	nd	nd	nd	nq	nq	6±0,66
trisiarczek dimetylu	kapusty	985	nd	nd	nd	nd	1,9±0,171	0,4±0,02	4,7±0,423
heksanian etylu	owocowy	988	81±4,86	294±23,52	275±33	262±23,58	285±17,1	129±12,9	25±1,75
4-hydroksy-5-metylo-3(2H)-furanon	karmelowy	1042	nd	nd	nd	nd	nd	nd	9261±1023
2,5-dimetylo-4-hydroksy-3(2H)-furanon	waty cukrowej	1060	nd	nd	nd	nd	nd	nd	5162±468
fenyloacetaldehyd	miodu	1080	8±0,48	5±0,45	8±0,96	55±4,4	52±3,64	54±3,24	630±56,7
2-metoksyfenol	mięśny	1090	nd	nd	nd	nd	3±0,27	4±0,36	28±2,52
3-hydroksy-2-metylo-4H-piran-4-on	karmelowy, spalony	1109	nd	nd	nd	nd	63±5,67	21430±1285,8	36313±3993
3-hydroksy-4,5-dimetylo-2(5H)-furanon	lubczyku	1110	nd	nd	nd	nd	nd	15±1,05	370±40,7
2-fenyletanol	różany	1124	2050±123	11210±896,8	8456±1014,72	6250±562,5	1982±118,92	751±45,06	58256±5238
oktanian etylu	owocowy	1180	nd	nd	nd	52±3,13	80±7,2	34±2,72	22±1,98
4-etylo-2-metoksyfenol	spalony	1280	nd	nd	nd	nd	6±0,54	5±0,3	18±1,62
kwas fenylooctowy	miodowy	1260	414±24,84	428±38,52	425±51	977±78,16	281±19,67	172±15,48	144±12,6
2-metoksy-4-winylofenol	spalony	1320	nd	nd	nd	nd	8±0,56	6±0,54	16±1,44
2,6-dimetoksy fenol	mydlany	1350	nd	nd	nd	nd	441±39,69	452±22,6	820±57,4
4-hydroksy-3-metoksybenzaldehyd	waniliowy	1406	21±1,26	14±1,26	18±2,16	25±2	127±8,89	142±15,62	4605±506
B-damascenon	kompotowy/gotowanych owoców	1405	nd	nd	nd	nd	nd	nd	0,4±0,028

Załącznik 3. Zestawienie wyników oceny sensorycznej prób pumpernikla wraz z odchyleniem standardowym, dotyczy rys. 28, 29, 30 oraz 31.

PRÓBA	WYRÓŻNIK SENSORYCZNY			
	STRUKTURA MIĘKISZU	ZAPACH	SMAK	OCENA OGÓLNA
Pumpernikiel klasyczny 100% mąki żytniej	3,9±0,95	3,6±0,74	3,7±1,0	3,9±0,78
Wariant 50% mąki owsianej	3,3±0,87	2,9±1,25	2,9±1,62	2,8±1,12
Wariant 70% mąki owsianej	3,3±0,91	3,2±0,84	3,7±0,87	3,4±0,58
Wariant 100 % mąki owsianej	2,6±1,01	2,9±0,94	2,6±0,86	2,7±0,67
Wariant 30% mąki ryżowej	4,3±1,09	4±1,31	4,3±1,09	4,3±1,10
Wariant 50% mąki ryżowej	3,5±1,17	3,9±0,83	3,7±0,97	3,7±0,71
Wariant 70% mąki ryżowej	2,8±1,06	3,3±1,04	3,4±0,88	3,4±0,88

Załącznik 4. Zestawienie wyników oceny profilowej zapachu pumpernikla klasycznego, bezglutenowego oraz o bardzo niskiej zawartości glutenu, dotyczy rys. 36.

WYRÓŻNIK ZAPACHOWY	RODZAJ PRÓBY PUMPERNIKLA		
	PUMPERNIKIEL KLASYCZNY	PUMPERNIKIEL BEZGLUTENOWY (100% MĄKI OWSIANEJ)	PUMPERNIKIEL O BARDZO NISKIEJ ZAWARTOŚCI GLUTENU (70% MĄKI RYŻOWEJ)
Chlebowy	5,5±1,03	5,7±0,82	5,5±1,32
Karmelowy	6,1±1,53	4,5±0,51	4,0±0,61
Słodowy	5,9±1,15	5,0±0,79	4,2±0,59
Maślany	2,8±0,82	4,0±0,46	5,6±0,48
Waniliowy	2,9±0,68	2,1±0,37	1,6±0,21
Owsiany	2,1±0,41	4,1±0,26	2,4±0,53
Tuszczowy	0,5±0,29	1,5±0,27	0,4±0,35

Załącznik 5. Potwierdzenie złożenia wniosku o udzielenie Patentu.



URZĄD PATENTOWY
RZECZYPOSPOLITEJ POLSKIEJ

al. Niepodległości 188/192
00-950 Warszawa, skrz. poczt. 203
tel.: (+48) 22 579 05 55 | fax: (+48) 22 579 00 01
e-mail: kontakt@uprp.gov.pl | www.uprp.gov.pl

Kancelaria Ogólna

Warszawa, 2022-07-07

Nasz znak: POTWIERDZENIE/258231/P.441663
Wasz znak: 372/750/281/2022

POTWIERDZENIE

Urząd Patentowy RP stwierdza, że dnia 2022-07-07 przyjęto w formie elektronicznej wniosek o udzielenie patentu na wynalazek:

Sposób produkcji pieczywa typu pumpernikiel o bardzo niskiej zawartości glutenu i bezglutenowego oraz receptura pieczywa typu pumpernikiel o bardzo niskiej zawartości glutenu i bezglutenowego

Zgłoszenie oznaczono numerem: P.441663

[WIPO ST 10/C PL441663]

Zgłaszający: Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, Poznań, Polska

Dokument wystawiony automatycznie przez system teleinformatyczny UPRP.

Pouczenie:

1. Strony oraz ich przedstawiciele i pełnomocnicy mają obowiązek zawiadomić Urząd o każdej zmianie swojego adresu. W razie niezachowania tego obowiązku dotychczasowy adresem ma skutek prawny (art. 41 kpa).
2. O zgłoszeniu wynalazku Urząd Patentowy dokonuje ogłoszenia niezwłocznie po upływie 18 miesięcy od daty pierwszeństwa do uzyskania patentu. Zgłaszający może w okresie 12 miesięcy od daty pierwszeństwa złożyć wniosek o dokonanie ogłoszenia w terminie wcześniejszym (art. 43 ustawy z dnia 30 czerwca 2000r. Prawo własności przemysłowej (Dz. U. z 2021 r. poz. 324)).
3. W korespondencji należy powoływać się na nr P.441663.

Klauzula informacyjna:

Zgodnie z art. 13 ust. 1 i 2 Rozporządzenia Parlamentu Europejskiego i Rady (UE) 2016/679 z dnia 27 kwietnia 2016 r. w sprawie ochrony osób fizycznych w związku z przetwarzaniem danych osobowych i w sprawie swobodnego przepływu takich danych oraz uchylenia dyrektywy 95/46/WE (dalej RODO) Urząd Patentowy Rzeczypospolitej Polskiej informuje, że:

1. Administratorem Pani/Pana danych osobowych jest Urząd Patentowy Rzeczypospolitej Polskiej z siedzibą w Warszawie, adres: al. Niepodległości 188/192, 00-950 Warszawa, skrytka pocztowa 203;
2. Inspektor Ochrony Danych, dane kontaktowe: adres: al. Niepodległości 188/192, 00-950 Warszawa, tel. bezpośredni (022) 579 00 25, fax (022) 579 00 01, e-mail: iod@uprp.pl;
3. Pani/Pana dane osobowe przetwarzane będą w celu realizowania zadań Urzędu Patentowego RP określonych przepisami ustawy z dnia 30 czerwca 2000 r. Prawo własności przemysłowej;
4. Podstawą prawną przetwarzania Pani/Pana danych osobowych jest ustawa z dnia 30 czerwca 2000 r. Prawo własności przemysłowej, rozporządzenia wykonawcze do ww. ustawy, umowy międzynarodowe oraz art. 6 ust. 1 lit. c RODO;
5. Pani/Pana dane osobowe mogą być przekazywane do podmiotów publicznych na zasadach obowiązujących w przepisach prawa oraz organizacjom międzynarodowym i organom unijnym, zgodnie z obowiązującymi przepisami prawa i umowami międzynarodowymi, po upływie terminów zastrzeżonych dla nieujawniania informacji o zgłoszeniu;
6. Pani/Pana dane osobowe będą przechowywane przez okres zgodny z zasadami archiwizacji dokumentów w Urzędzie Patentowym RP;
7. Posiada Pani/Pan prawo żądania dostępu do treści swoich danych osobowych, prawo ich sprostowania oraz prawo do ograniczenia ich przetwarzania;
8. Przysługuje Pani/Panu prawo wniesienia skargi do organu nadzorczego właściwego w zakresie ochrony danych osobowych gdy uzna Pani/Pan, że przetwarzanie Pani/Pana danych osobowych narusza przepisy RODO;
9. Podanie przez Panią/Pana danych osobowych jest wymogiem ustawowym niezbędnym do dalszego procedowania przez Urząd Patentowy RP.

UWAGA NA OSZUSTÓW!

Przed dokonaniem jakiegokolwiek opłaty do Urzędu Patentowego RP,
sprawdź czy numer rachunku zgadza się z numerem konta Urzędu:

NBP O/O Warszawa: 93 1010 1010 0025 8322 3100 0000

Urząd Patentowy RP posiada tylko jeden numer rachunku i pobiera opłaty wyłącznie w złotych!

W przypadku jakiegokolwiek wątpliwości prosimy o kontakt z Centrum Informacji w Urzędzie Patentowym RP pod nr tel. 22 579 05 55. Aktualne ostrzeżenia o podobnych wyłudzeniach publikowane są na stronach Urzędu Patentowego RP (uprp.gov.pl) oraz w komunikatach FinCERT.pl - Bezpiecznego Centrum Cyfrowego Związku Banków Polskich (zbp.pl).



W celu weryfikacji autentyczności korespondencji zesłanej podany kod QR lub przejdź na stronę weryfikacji korespondencji Urzędu Patentowego RP dostępnej pod adresem:
<https://pau.uprp.gov.pl/public-stampa/verify/>
i przepisz kod stempla.

Kod stempla: 48e-71bb-f5