

UNIwersytet PRZYRODniczy we WROcławiu



Wydział BIOTECHNOLOGII I NAUK O ŻYwności
KATEDRA TECHNOLOGII SUROWCÓW ZWIERZĘCYCH
I ZARZĄDZANIA JAKOŚCIĄ

mgr inż. Żaneta Król

ROZPRAWA DOKTORSKA

**Zmienność właściwości biopolimerowych hydrozoli i hydrożeli
poddanych działaniu prądu stałego**

*Variability of properties of biopolymer hydrosols and hydrogels treated with
direct electric current*

Promotor:

Prof. dr hab. inż. ANDRZEJ JARMOLUK

Promotor pomocniczy:

dr inż. ŁUKASZ BOBAK

Wrocław 2018

STRESZCZENIE

Celem pracy było określenie właściwości biofizykochemicznych hydrozoli i hydrożeli żelatyny, karagenu i alginianu sodu poddanych działaniu prądu stałego oraz ocena możliwości ich zastosowania jako jadalnych powłok ochronnych dla produktów mięsnych. Założono, iż skutkiem przepływu prądu stałego przez wieloskładnikowe biopolimerowe hydrozole/hydrożele, możliwym będzie otrzymanie materiałów o nowych, unikatowych właściwościach biofizykochemicznych, w szczególności przeciwdrobnoustrojowych.

Dowiedziano, że w wyniku aplikacji prądu stałego w hydrozolahydrożelach eksperymentalnych biopolimerów, generowane są jony wykazujące właściwości przeciwdrobnoustrojowe. W materiale doświadczalnym określono również zmienność pH, potencjału oksydo-redukcyjnego oraz przewodności elektrycznej. Stwierdzono zależność mierzonych parametrów od rodzaju biopolimeru, jego stężenia, dodatku chlorku sodu, a także natężenia prądu elektrycznego. Na podstawie analizy aktywności przeciwutleniającej DPPH hydrozoli alginianowych potwierdzono obecność czynników utleniających w elektrolizowanych materiałach.

Zoptymalizowano parametry prądu stałego oddziałującego na eksperymentalnie wytwarzane hydrozole i hydrożele pod kątem aktywności przeciwdrobnoustrojowej, którą wykazano wobec czystych kultur bakterii: *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Bacillus cereus*, *Micrococcus luteus*, *Escherichia coli*, *Salmonella enteritidis*, *Yersinia enterocolitica* i *Pseudomonas fluorescens*. Odnotowano całkowite zahamowanie wzrostu testowanych szczepów bakterii skutkiem zastosowania hydrozolu alginianowego z dodatkiem 0,2% chlorku sodu poddanego działaniu prądu o natężeniu 400 mA przez 5 minut. Zmiany morfologiczne wybranych szczepów zobrazowano przy użyciu skaningowego transmisyjnego mikroskopu elektronowego. Ponadto, określono efektywność hamowania wzrostu ogólnej liczby drobnoustrojów, drożdży i pleśni, bakterii psychrotrofowych, bakterii kwasu mlekowego oraz z rodzaju *Enterobacteriaceae* na powierzchni kiełbas homogenizowanych typu parówka. Stwierdzono stopień redukcji mikroflory w przedziale 1,5-5 rzędów logarytmicznych w zależności od testowanej grupy drobnoustrojów.

W celu weryfikacji bezpieczeństwa stosowanej metody wykonano badania cytotoksyczności eksperymentalnych hydrozoli i hydrożeli alginianowych poddanych działaniu prądu stałego względem dwóch mysich linii komórkowych RAW 264,7 i L929. Analiza porównawcza uzyskanych wyników z rezultatami testów mikrobiologicznych

umożliwiła uznanie natężenia prądu 200 mA oraz dodatku 0,2% za optymalne warunki prowadzenia procesu elektrolizy gwarantującego skuteczną dekontaminację przy zachowaniu bezpieczeństwa zdrowotnego. Stwierdzono, że skutkiem zastosowania wariantu C200N0,2 możliwe jest osiągnięcie satysfakcjonującego stopnia redukcji bakterii bez niepożądanego toksycznego efektu względem komórek organizmu.

Na podstawie analizy FT-IR oraz pomiaru temperatury żelowania i płynięcia nie zaobserwowano wystąpienia niepożądanych zmian w strukturze i właściwościach badanych biopolimerów skutkiem oddziaływania na nie prądu elektrycznego. Natomiast stwierdzono możliwość kształtowania właściwości mechanicznych hydrożeli w zależności od traktowania prądem hydrozolu lub na hydrożelu. Ponadto, dowiedziono lepszych zdolności pochłaniania wody przez żele żelatynowe wytwarzane na bazie hydrozoli poddanych działaniu prądu stałego.

Nie odnotowano niepożądanego wpływu powlekania eksperymentalnymi hydrozolami kiełbas homogenizowanych na zmienność ich jakości. Po 28 dniach chłodniczego przechowywania próbek kiełbas wykazano jedynie niewielki wzrost wartości TBARS wariantów doświadczalnych w porównaniu do próbek kontrolnych. Stwierdzono również znikome oddziaływanie eksperymentalnych osłonek na zmniejszenie całkowitej pojemności oksydacyjnej kiełbas a także brak ich wpływu na zmiany ubytku przechowalniczego i termicznego. Natomiast oceniając próbki mięsa powlekanego eksperymentalnymi powłokami zaobserwowano stopniowe pogorszenie jakości sensorycznej w trakcie chłodniczego przechowywania. Akceptowalność surowca mięsnego przez oceniających w głównej mierze była determinowana dodatkową powłoką a nie działaniem prądu elektrycznego. Stwierdzane różnice w wartościach parametrów $L^*a^*b^*$, były na tyle małe, że nie obserwowano zmienności barwy próbek mięsa w ocenie wzrokowej.

Wykazano wysoki potencjał aplikacyjny, wdrożeniowy oraz funkcjonalność hydrozoli/żeli poddawanych oddziaływaniu prądu stałego. Materiały tego typu ze względu na aktywność przeciwdrobnoustrojową oraz brak niepożądanego wpływu na cechy fizykochemiczne i sensoryczne powlekanych nimi produktów mogą być z powodzeniem stosowane w przemyśle żywnościowym jako aktywne, jadalne powłoki ochronne zapewniające jakość mikrobiologiczną.

Słowa kluczowe: alginian sodu, żelatyna, karagen, hydrozol, hydrożel, prąd stały, dekontaminacja, cytotoksyczność, jadalne powłoki ochronne

ABSTRACT

The aim of the study was to investigate the biophysicochemical properties of gelatine, carrageenan and sodium alginate hydrosols and hydrogels treated with direct electric current. Moreover, the possibility of using these materials as new coatings for meat products was evaluated. New and unique properties, especially the antibacterial activity of hydrosols and hydrogels treated with direct electric current were assumed.

Research confirmed that direct electric current applied in hydrosols/hydrogels layer generates the appearance of ions with antimicrobial properties. The pH, oxidation-reduction potential and electrical conductivity were also investigated. The results have shown that measured parameters depend on the type of polymer and its concentration as well as the addition of sodium chloride. Radical scavenging (DPPH) confirmed the presence of oxidative substances in electrolyzed materials.

The parameters of direct electric current were optimized for antimicrobial properties, which was evident in case of a pure culture of bacteria: *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Bacillus cereus*, *Micrococcus luteus*, *Escherichia coli*, *Salmonella enteritidis*, *Yersinia enterocolitica* and *Pseudomonas fluorescense*. The results showed that using direct electric current of 400 mA in sodium alginate hydrosols with 0.2% of NaCl totally inhibited the growth of all tested bacteria. The morphological changes of *E. coli* and *S. aureus* were presented on microphotographs obtained from scanning transmission microscopy. Moreover, the effect of sodium alginate hydrosols used as a coating on the total number of microorganisms, the number of yeast and moulds, psychrotrophic bacteria, lactic acid bacteria and *Enterobacteriaceae* of skinned pork sausages or with artificial casing was evaluated. Log reduction was achieved in the range of 1.5-5 log cycle depending on the tested group of microorganisms.

The cytotoxicity effect of sodium alginate hydrosols and hydrogels treated with DC against mouse RAW 264.7 cells and L929 cells was investigated. Comparison of the results obtained for antibacterial activity measurements with the cytotoxicity analysis revealed that the 200 mA applied in sodium alginate materials with 0.2% of NaCl results in a satisfactory antibacterial effect without undesirable impacts on normal cells. The variant C200N0.2 was considered optimal.

The results of FT-IR and flow and gelling temperatures analyses showed that direct electric current did not cause undesirable changes in structure and properties of tested biopolymers. However, the results have shown that depending on whether the current is applied,

in the hydrosols or hydrogel layer, it is possible to obtain materials with different mechanical properties. Furthermore, better water absorption of gelatine hydrogels prepared on a basis of hydrosols treated with direct electric current was noticed.

Quality attributes of sausages covered with experimental coatings were evaluated and no undesirable effect was found. After 28 days of storage, only slightly higher TBARS values were noticed for samples treated with sodium alginate than for control samples. Moreover, slightly impact of experimental materials on total antioxidant capacity and no effect on the weight of samples was found. Quality of sausages gradually decreased during storage. Sensory acceptance was mainly determined by the additional coating, not by the use of direct electric current. Changes in L*a*b* color parameters were noticed. However, the differences were very small and not noticeable by visual inspection.

The study demonstrated high potential for application, implementation, and functionality of hydrosols/hydrogels treated with direct electric current. These materials, due to their good antibacterial properties and no undesirable impact on physiochemical and sensory properties of covered products can be applied in the food industry as active, edible coatings for quality assurance.

Keywords: sodium alginate, gelatin, carrageenan, hydrosol, hydrogel, direct electric current, decontamination, cytotoxicity, edible coatings