

**ZESZYTY NAUKOWE
AKADEMII ROLNICZEJ
WE WROCŁAWIU**

NR 517

ROZPRAWY CCXXXII

ADAM MALICKI

**STUDIES ON THE SELECTED SORTS OF LIVEX
AND THEIR MICROBIOLOGICAL STATUS**

**DEPARTMENT OF FOOD HYGIENE
AND CONSUMER HEALTH CARE**



WROCLAW 2005

ADAM MALICKI

**BADANIA NAD WYBRANYMI ODMIANAMI
LIVEXÓW I ICH STANEM MIKROBIOLOGICZNYM**

**KATEDRA HIGIENY ŻYWNOŚCI
I OCHRONY ZDROWIA KONSUMENTA**



WROCŁAW 2005

Opiniodawca

prof. dr hab. Bolesław Wojtoń

Redaktor merytoryczny

prof. dr hab. Wojciech Zawadzki

Opracowanie redakcyjne i korekta

mgr Elżbieta Winiarska-Grabosz

Łamanie

Alina Gebel

Projekt okładki

Grażyna Kwiatkowska

© Copyright by Wydawnictwo Akademii Rolniczej we Wrocławiu, Wrocław 2005

Utwór w całości ani we fragmentach nie może być powielany ani rozpowszechniany
za pomocą urządzeń elektronicznych, nagrywających i innych
bez pisemnej zgody posiadacza praw autorskich

ISSN 0867-7964

ISSN 0867-1427

WYDAWNICTWO AKADEMII ROLNICZEJ WE WROCŁAWIU

Redaktor naczelny – J e r z y S o b o t a

ul. Sopocka 23, 50-344 Wrocław, tel./fax (071) 328-12-77

e-mail: wyd@ozi.ar.wroc.pl

Nakład: 100 + 16 egz. Ark. druk. 5,5

Druk i oprawa: F.P.H. „Elma”

SPIS TREŚCI

1. WSTĘP	7
2. CEL BADAŃ	14
3. MATERIAŁ I METODY	15
3.1. Produkcja plazmy krwi i gęszczy krwinek.....	15
3.2. Produkcja livexów.....	15
3.2.1. Produkcja livexów surowych.....	15
3.2.2. Wytwarzanie livexów modyfikowanych cukrami	16
3.2.3. Wytwarzanie livexów modyfikowanych serwatką lub mlekiem	17
3.2.4. Wytwarzanie livexów modyfikowanych o obniżonym pH.....	17
3.3. Wytwarzanie preparatów zawierających livex.....	17
3.4. Badania chemiczne i technologiczne	18
3.4.1. Oznaczenia chemiczne.....	18
3.4.2. Oznaczanie cech charakterystycznych livexów	19
3.5. Badania mikrobiologiczne	19
3.5.1. Badanie mikrobiologiczne livexów świeżych.....	19
3.5.2. Badanie mikrobiologiczne livexów suchych	19
3.5.3. Badanie mikrobiologiczne livexów modyfikowanych o obniżonym pH..	20
3.5.4. Przygotowanie próbek do badań mikrobiologicznych.....	20
3.5.5. Oznaczenia mikrobiologiczne.....	20
3.5.6. Badanie ciepłoporności szczepów testowych w środowisku wybranych livexów modyfikowanych glukozą.....	21
3.5.7. Badanie przeżywalności szczepów testowych <i>Escherichia coli</i> w środowisku preparatów zawierających livex	23
3.6. Analiza statystyczna wyników	24

4. WYNIKI BADAŃ I ICH OMÓWIENIE	25
4.1. Livexy modyfikowane cukrami	25
4.1.1. Modyfikowane livexy brązowe.....	25
4.1.2. Modyfikowane livexy czarne.....	35
4.1.3. Modyfikowane livexy białe	40
4.1.4. Analiza statystyczna składu chemicznego livexów modyfikowanych cukrami	44
4.1.5. Modyfikowane livexy suszone	45
4.2. Krzywe odbicia szczepów testowych w środowisku livexów modyfikowanych glukozą.....	50
4.3. Livexy modyfikowane serwatką lub mlekiem	50
4.3.1. Livexy świeże	50
4.3.2. Livexy suszone	57
4.4. Livexy modyfikowane o obniżonym pH.....	59
4.5. Preparaty zawierające livex.....	60
5. DYSKUSJA	70
6. WNIOSKI.....	76
7. PIŚMIENNICTWO	77

1. WSTĘP

Krew zwierząt rzeźnych jest jednym z najcenniejszych surowców ubocznych. Jej zaletą jest przede wszystkim zawartość łatwo strawnych białek o wysokiej wartości biologicznej. W 100 g krwi świńskiej znajduje się 16,6 g białka, a więc niewiele mniej niż w mięsie drobiowym czy wołowym (odpowiednio 19,2 i 20,8 g) [Pezacki, 1984, 1987; Kunachowicz i wsp., 1998].

W osoczu krwi świńskiej występuje ponad sto białek, które można podzielić na cztery grupy: albuminy oraz globuliny: α , β , i γ . W stanach fizjologicznych albuminy stanowią 31–50%, globuliny α 10–27%, β 10–22%, a γ 8–30% białek osocza. W osoczu krwi świńskiej występuje również 45–75 mg% glukozy. Ponadto, w 100 ml osocza znajduje się 300–500 mg fibrynogenu [Pelczyńska i Libelt, 1999; Bełkot, 2001; Bełkot i Pelczyńska, 2002].

W połączeniu z fibrynogenem w osoczu występuje transglutaminaza krwi, czyli inaczej czynnik XIII układu krzepnięcia. Cząsteczka transglutaminazy jest tetramerem, zbudowanym z 2 jednakowych podjednostek – proenzymów (A_2) i 2 białek nośnikowych (B_2). Stężenie transglutaminazy w osoczu człowieka, oznaczane osobno dla podjednostek A i B, wynosi odpowiednio 15 i 21 mg/ml [Greenberg, 1982; Mosesson, 1998].

W porównaniu z mięsem piersi indyczych czy wołowiną krew zawiera więcej takich aminokwasów, jak: leucyna (1815 mg w 100 g), cystyna (337 mg), fenyloalanina (1062 mg), tryptofan (280 mg), walina (1054 mg), histydyna (1090 mg), prolina (902 mg) i seryna (833 mg) [Pezacki, 1984, 1987; Kunachowicz i wsp., 1998].

Zawartość we krwi substancji mineralnych i witamin przedstawia się także korzystniej niż w mięsie. W 100 g krwi znajduje się 39,5 mg żelaza, a więc prawie 80 razy więcej niż w mięsie drobiowym (mięsień piersiowy indyka). W porównaniu z mięsem drobiu krew bogatsza jest też w takie pierwiastki, jak sód (205 mg w 100 g), wapń (7 mg) i miedź (0,14 mg). Zawartość witaminy A we krwi (28 μ g w 100 g) jest ponad 3-krotnie większa niż w mięsie drobiowym. Więcej jest tu także witaminy E (0,40 μ g w 100g), tiaminy (0,09 μ g) i ryboflawiny (0,03 μ g) [Kunachowicz i wsp., 1998].

Krew jest tkanką płynną, która nie ma barier strukturalnych co do rozprzestrzeniania się drobnoustrojów i dlatego łatwo ulega zanieczyszczeniu mikrobiologicznemu, przez co ma krótką trwałość i szybko się psuje [Pezacki, 1984, 1987].

Krew zwierząt i produkty z krwi są bezpieczne, jeśli ich pozyskiwanie prowadzone jest w sposób wykluczający możliwość zanieczyszczenia tkankami wysokiego ryzyka, takimi jak np. mózg, oraz zapewnione są rygory i procedury GMP. Procedury stosowane w Stanach Zjednoczonych i Europie, w tym także w Polsce, wymagają pobierania od zwierząt krwi bez zanieczyszczeń mikrobiologicznych, chemicznych i mechanicznych [FDA, 2002, 2004]. Krew pobierana jest wyłącznie od zwierząt przeznaczonych do

konsumpcji przez człowieka, przy przestrzeganiu wysokich wymogów sanitarno-technologicznych pozysku i przechowywania. Takie pozyskiwanie krwi ma miejsce przy zastosowaniu do wykrwawiania zwierząt noży rurkowych lub podciśnieniowych, w których krew jest stabilizowana, a następnie magazynowana w zbiornikach ze stali nierdzewnej. Proces pozysku krwi przeznaczonej na cele spożywcze lub paszowe powinien być prowadzony w rzeźnach znajdujących się pod nadzorem służb weterynaryjnych.

Pełna krew jest wykorzystywana do celów spożywczych lub wirowana na plazmę krwi i gąszcz krwinek. Zarówno krew, jak i jej frakcje powinny być schłodzone do temperatury 4–5°C w czasie nie dłuższym niż 2 godziny od pozysku. Plazma krwi może być użyta w produkcji wyrobów mięsnych [anonim., 1997; Duda i Jarmoluk, 1983; Jarmoluk, 1997; Makąła, 1998, 1999; Mróz, Dolata, 1998; Pyrcz i wsp., 1998; Busko, 2001; Duda, 2001; Silva i Silvestre, 2003; Viana i wsp., 2004].

Krew, gąszcz krwinek lub plazmę krwi można stosować jako dodatek do środków żywienia zwierząt. Plazma krwi wykorzystywana jest jako dodatek w stanie niewysuszonym lub wysuszona – najczęściej metodą rozpyłową [Gatnau i wsp., 2001; Polo i wsp., 2004].

Suszona plazma zwierzęca zawiera około 78% białka. Na białko to składa się około 50% frakcji albumin, 25% globulin, 5% fibrynogenu i 20% innych białek, włączając haptoglobiny, transferyny, czynniki wzrostu i inne białka czy peptydy [Quigley, 2002]. Każdy rodzaj białka może być wykorzystany w określonym celu.

Suszone preparaty plazmy krwi zwierzęcej potwierdziły swoją niekwestionowaną wartość jako dodatek paszowy u rosnących zwierząt. Suszona plazma, dodawana do paszy, poprawiała przyrosty masy ciała, stopień wykorzystania paszy i stan zdrowia prosiąt po odsadzeniu [Kats i wsp., 1994; Coffey i Cromwell, 1995; Bergström i wsp., 1997; Angulo i Cubilo, 1998; Lipiński, 1998, 2002; Korniewicz i Korniewicz, 1999; Radomyski i Stangierski, 1999; Kamyczek, 2000; Minkowski, 2000; Liu i wsp., 2001; van Dijk i wsp., 2001a, b, 2002a, c; Jarczyk i wsp., 2002; Touchette i wsp., 2002; Grela, 2003; Bikker i wsp., 2004].

Także cielęta, karmione przed odsadzeniem preparatami mlekozastępczymi z udziałem suszonej plazmy, miały lepsze przyrosty masy ciała oraz cechowały się mniejszą zachorowalnością i śmiertelnością [Quigley i Bernard, 1996; Quigley i wsp., 2000a, 2002a; Quigley i Wolfe, 2003].

Suszone preparaty krwi były również z powodzeniem stosowane w żywieniu jagniąt [Quigley i wsp., 2002c], psów [Quigley i wsp., 2004], lisów [Niedźwiadek i wsp., 1997; Zajac i wsp., 1997] oraz drobiu [Campbell i wsp., 2003] i ryb [Johnson i Summerfelt, 2000].

Ze względu na zawartość immunoglobulin preparaty krwi mogą również znaleźć zastosowanie w profilaktyce i terapii wielu schorzeń, a przede wszystkim zaburzeń wywołanych przez patogeny jelitowe. Liczni autorzy dowiedli, że pasze zawierające surowicę bydlęcą są wchłaniane do krwiobiegu cieląt-noworodków, a ich skuteczność jest równa z pobieraną siarą [Besser i wsp., 1988b, Quigley i wsp., 1998, 2000b, 2001, 2002b; Arthington i wsp., 2000a, b; Davenport i wsp., 2000; Hammer i wsp., 2004; Jones i wsp., 2004]. Również u prosiąt, podawanie preparatów suszonej plazmy krwi powodowało wzrost odporności [Carroll i wsp., 2003; Frank i wsp., 2003]. Podawane doustnie IgG mogą być częściowo odporne na trawienie i dzięki temu można je oznaczać

w kale zwierząt [Roos i wsp., 1995]. Sugeruje to, że nieuszkodzone, immunologicznie aktywne IgG z krwi zwierząt rzeźnych lub jej produktów mogą wspierać zarówno miejscową, jak i systemową odpowiedź odpornościową u zwierząt i ludzi.

Podawanie funkcjonalnych białek, a zwłaszcza IgG, zawartych we krwi lub jej produktach, zmniejszało śmiertelność i łagodziło objawy kliniczne, występujące u świń po zakażeniu enteropatogennymi *Escherichia coli* [Nollet i wsp., 1999; Bosi i wsp., 2001, 2004; Touchette i wsp., 2002; van Dijk i wsp., 2002b, Torrallardona i wsp., 2003]. Również u cieląt, zakażonych doustnie tymi mikroorganizmami, dodatek suszonej plazmy powodował poprawę stanu klinicznego i przyrostów, porównywalne do występujących u zwierząt leczonych antybiotykami [Quigley i Drew, 2000].

Transferyny i laktoferyny, zawarte we krwi zwierząt rzeźnych lub jej produktach, są białkami wiążącymi żelazo. Podanie zwierzętom laktoferyny osłabiało działanie patogenne takich drobnoustrojów, jak *Candida*, *Shigella*, *Salmonella*, *E. coli* i *Pseudomonas* [Ross i wsp., 2003].

Podanie suszonej plazmy u cieląt zmniejszało śmiertelność i zachorowalność w wyniku doustnego zakażenia rotawirusami [Besser i wsp., 1988a] lub koronawirusami [Arthington i wsp., 2002]. Także serwatka, uzyskana z siary zawierającej wysokie miana przeciwciał rotawirusowych, chroniła pozbawione siary cielęta przy doustnym zakażeniu rotawirusami [Besser i wsp., 1988a].

Podawanie koncentratów surowicy bydlęcej cielętom, chorym na zapalenie jelit wywołane przez kryptosporidia, powodowało szybszą poprawę stanu zdrowia [Hunt i wsp., 2002]. Ponadto, suszone produkty z krwi zwierząt przyspieszają w warunkach *in vitro* naprawę uszkodzonego nabłonka jelit u ludzi oraz u świń zakażonych patogenami jelitowymi [Torrallardona i wsp., 2003].

Cytowane dane sugerują, że podawanie z karmą suszonych pochodnych krwi może uzupełniać pierwszą linię obrony organizmu przed bakteriami, wirusami i pierwotniakami. Wymienione właściwości preparatów krwi sprawiają, że mogą one spełniać w żywieniu zwierząt rolę podobną jak ongiś antybiotyki, nie stanowiąc przy tym takiego jak one zagrożenia [Torrallardona i wsp., 2002].

Druga frakcja, gąszcz krwinek, może być wykorzystana przy produkcji środków spożywczych lub, podobnie jak plazma krwi, jako dodatek w żywieniu zwierząt.

Szersze zastosowanie krwi zwierząt i produktów z krwi jest ograniczone przede wszystkim względami sanitarnymi. Zarówno krew, jak i produkty z krwi są surowcami nietrwałymi i w bardzo krótkim czasie ulegają niekorzystnym zmianom, spowodowanym zanieczyszczeniem bakteryjnym. Sposobem eliminacji lub ograniczenia tych niekorzystnych wpływów może być produkcja livexów, która została opracowana przez Zespół pod kierownictwem prof. Stanisława Zaleskiego. Nazwa „livex” pochodzi od angielskiego słowa *liver* (wątroba), w którym literę r zastąpiono literą x. Określenie to wprowadził prof. S. Zaleski, gdyż świeży livex brązowy produkowany z pełnej krwi pod względem wielu cech przypomina surową wątrobę zwierzęcą.

Produkcja livexów umożliwia zmianę konsystencji krwi z płynnej na stałą oraz poprawę jej stanu mikrobiologicznego. Zestalony produkt z pełnej krwi lub jej frakcji nosi nazwę livexu surowego. Po obróbce termicznej zwany jest livexem świeżym, a po jego wysuszeniu – livexem suchym. Livexy można produkować z krwi pozyskanej od wszystkich gatunków zwierząt.

Produkcję livexów prowadzi się sposobem biotechnologicznym, który polega na wykorzystaniu aktywności enzymów zawartych we krwi. Poprzez zmianę gospodarki jonowej przywraca się włóknikowi zdolność krzepnięcia. Powstały skrzep ma zniesioną zdolność retrakcji. Wprowadzone związki chemiczne spełniają rolę substancji utwardzających, przyczyniając się do powstania zmodyfikowanego skrzepu [Nr Pat. PRL 122519, 132066, 135106, 140744, 141083; Zaleski i wsp., 1987, 1993a, b].

Czerchawski i Jagielski (1986) metodą trombelastograficzną porównali szybkość tworzenia i elastyczność livexów i skrzepów. Stwierdzili oni, że livexy charakteryzują się wielokrotnie dłuższym czasem zestalania niż skrzepy, a definitywnie utworzone mają znacznie mniejszą od nich elastyczność. Livexy są zatem utwardzonymi produktami z krwi zwierzęcej lub jej frakcji. Zależnie od warunków higienicznych ich pozyskiwania oraz przewidywanego przeznaczenia livexy mogą być produkowane w postaci podstawowej lub zmodyfikowanej. Livexy podstawowe uzyskuje się przez dodanie do krwi lub jej frakcji tylko roztworu substancji utwardzającej. Pełna krew jest surowcem do produkcji livexu brązowego, plazma krwi – livexu białego, a gąszcz krwinek – livexu czarnego. Powyższe odmiany livexów są wytwarzane jako livexy podstawowe. Livexy modyfikowane uzyskuje się przez wprowadzenie oprócz substancji utwardzających także wybranych czynników funkcjonalnych w formie płynnej lub stałej, np. cukrów, kondensatu dymu wędzarniczego, aminokwasów egzogennych, surowców roślinnych itp. [Duda i Jarmoluk, 1985, 1986].

Powstający w wyniku zastosowanej technologii livex ma postać stałego skrzepu, a w przestrzeniach siatki włóknika zamknięte są substancje płynne i elementy morfotyczne krwi. Pojemność siatki włóknika jest większa niż wymagana na potrzeby zamknięcia elementów komórkowych samej krwi, osocza lub ich produktów. Dzięki tej właściwości istnieje możliwość zamknięcia w tworzącej się siatce włóknika także innych płynów lub drobnych elementów, wprowadzonych celowo do krwi lub jej frakcji [Jarmoluk i Duda, 1988; Jarmoluk i wsp., 1988, 1989, 1991]. Cele wprowadzania tych składników mogą być różne, np. poprawienie smaku w gotowym produkcie. Wykorzystując tę właściwość preparatu, z pełnej krwi lub jej frakcji można wytwarzać dowolnie modyfikowany naturalny skrzep, nazwany livexem modyfikowanym [Nr Pat. PRL 122519, 132066, 135106, 140744, 141083; Zaleski i wsp., 1987, 1993a, b]. Dodany czynnik rozprowadza się równomiernie w płynnym środowisku krwi lub jej frakcji, które w ciągu kilku do kilkunastu minut przechodzi w stan stały.

W celu obróbki termicznej livex surowy tnie się na kawałki o wymiarach 5 x 5 x 5 cm. Proces obróbki termicznej powoduje koagulację białek krwi, której efektem jest definitywne utwardzenie livexu. Proces ten powinno się prowadzić w temperaturze nie wyższej niż 80°C, gdyż w tej temperaturze w zasadzie nie ulegają destrukcji związki chemiczne zawarte w produktach, a uzyskuje się redukcję drobnoustrojów. Zgodnie z zasadami termobakteriologii właściwe efekty letalne pasteryzacji uzyskuje się wtedy, gdy wyznaczona temperatura oddziałuje na najzimniejszy punkt lub najzimniejszą linię produktu przez określony czas. Warunkiem uzyskania takiego efektu jest wyznaczenie właściwej temperatury i czasu trwania pasteryzacji.

W wyniku procesu obróbki termicznej uzyskuje się livex świeży. Proces ten spełnia dwa zadania; pierwsze z nich polega na ostatecznej teksturacji livexu i nadaniu mu struktury, którą zachowuje przez cały okres ociekania, studzenia i przechowywania,

drugim jest pasteryzacja, w czasie której ulega redukcji liczba komórek bakteryjnych, np. *Salmonella* sp., *E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa* czy *Staphylococcus aureus*. Otrzymany livex świeży może być przeznaczony na cele spożywcze, farmaceutyczne, kosmetyczne lub paszowe. Może być też, zależnie od potrzeb, mrożony, suszony lub odbarwiany, co pozwala na znaczne przedłużenie jego trwałości i lepsze zagospodarowanie.

Różnorodność odmian livexów i ich trwałość oraz skład chemiczny pozwalają wykorzystywać je w różnych kierunkach. Możliwości te udowodniły wyniki licznych badań. I tak livex biały podstawowy świeży może być użyty jako zamiennik mięsa przy produkcji wyrobów spożywczych [Duda i Jarmoluk, 1985; Jarmoluk, 1997; Jarmoluk i wsp., 1990]. Wykorzystywany jest przy produkcji konserw mięsnych sterylizowanych typu luncheon meat, wędlin podrobowych, mrożonych wyrobów kulinarnych, w których 10% masy mięsnej zastępuje się livexem białym [Pyrzc i wsp., 1997]. Livex biały zastosowano przy produkcji makaronu jako preparat jajozastępczy. Po modyfikacji dodatkiem dymu wędzarniczego poprawia smakowitość różnych wyrobów gotowych, np. zrazów mięsnych czy fasoli po bretońsku [Malicki, 1989].

Livex brązowy modyfikowany serwatką został dopuszczony jako komponent białkowy do żywienia zwierząt, ponieważ nie stanowi zagrożenia epizootycznego i daje właściwą efektywność hodowlaną, wyrażoną poprawą zdrowotności i lepszymi przyrostami masy ciała, w porównaniu do grupy kontrolnej [Schleicher i wsp., 1987]. W postaci świeżej i suszonej livex może być składnikiem paszy dla trzody chlewnej i drobiu. Może być również używany jako pasza dla zwierząt futerkowych, wpływając korzystnie na szereg efektów hodowlanych. Lisy i norki, którym 30% masy mięsnej zastąpiono livexem, uzyskiwały na aukcjach skór oceny o jedną klasę wyższą niż zwierzęta żywione tradycyjnie [Jarosz i Barabas, 1987; Jarosz i wsp., 1986, 1987]. Okazało się, że suki żywione livexem miały mioty liczniejsze niż przy żywieniu tradycyjnym. Koty i psy żywione paszą z livexem brązowym mają gęsty brązowy włos, prawidłowo wybarwiony [Nicpoń i wsp., 1992]. Ta odmiana livexu paszowego nadaje się również do żywienia zwierząt w rezerwach i ogrodach zoologicznych, np. ptaków drapieżnych, bażantów, kotowatych, psowatych [Mazurkiewicz i wsp., 1990; Jamroz i wsp., 1992]. W żywieniu narybku pstrąga livex zastępuje całkowicie śledzionę dodawaną do paszy. Korzystne efekty osiągnęto również stosując suszony livex brązowy jako dodatek w żywieniu karpia [Olech i wsp., 1997]. Suszone livexy: brązowy, czarny i biały, badane *in vitro* oraz stosowane doświadczalnie w żywieniu bydła i owiec, wpływały korzystnie na fermentację w żwacu i w jelicie ślepym, a także zmniejszały zużycie paszy na przyrost jednego kilograma masy ciała w porównaniu z żywieniem tradycyjnym [Zawadzki i Malicki, 1995, 1996; Zawadzki i Borodulin-Nadzieja, 1998; Zawadzki i wsp., 1992, 2000, 2004]. Obecnie livex nie może być stosowany w żywieniu bydła ze względu na ryzyko wystąpienia gąbczastej encefalopatii [MRiRW, 2003, 2004]. Suszone livexy, brązowy i czarny, w badaniach *in vitro* wpływały korzystnie na parametry fermentacji w jelicie ślepym konia [Zawadzki i wsp., 2003].

Livex czarny suchy modyfikowany serwatką jest dobrym lekiem antyanemicznym. Podawany prosiętom w postaci premiksu, począwszy od 10 dnia życia, przez 10 dni, całkowicie eliminuje anemię. Prosięta, które otrzymywały premiks z livexem, w 42 dniu życia ważyły o 90% więcej niż zwierzęta kontrolne [Janiak i wsp., 1986; Nicpoń i wsp.,

1987; Jasek i wsp., 1993]. Livexy czarne w odmianie odbarwionej można zastosować do kremów i maseczek regenerujących skórę [AR we Wrocławiu, 1990 – *dane niepublikowane*].

Livex brązowy jak i czarny zastosowano w medycynie ludzkiej i od 1985 roku oceniany był przez grupę klinicystów z Akademii Medycznej we Wrocławiu i pracowników innych uczelni. Zgodnie z oczekiwaniem preparat okazał się skuteczny w leczeniu niedokrwistości z niedoboru żelaza, choć nie może konkurować z leczniczymi preparatami żelaza ze względu na mniejszą jego zawartość. Istotną jego przewagą jest jednak to, że zawiera żelazo łatwo przyswajalne oraz szereg składników wpływających korzystnie na czynność krwiotwórczą, funkcje wątroby i syntezę białka [Bara i wsp., 1989]. Potwierdzają to obserwacje dokonane u 25 osób dorosłych z niedokrwistością niedoborową, u których zbadano wskaźniki gospodarki żelazem przed, po 4 i po 12 tygodniach stosowania preparatu. Stwierdzono u nich statystycznie istotną poprawę parametrów morfologii krwi zależnych od żelaza oraz zwiększenie stężenia żelazotransferyny. Jednocześnie zaobserwowano korzystny wpływ na samopoczucie i aktywność życiową chorych [Nowicka i wsp., 1990]. Podobnie korzystne działanie wywierał livex stosowany w leczeniu niedokrwistości u kobiet ciężarnych [Robaczyński i wsp., 1990].

Zbadano także wpływ livexu w leczeniu niedokrwistości sideropenicznej w grupie 66 dzieci. Stwierdzono u nich poprawę wszystkich parametrów zależnych od żelaza, przy czym najbardziej istotne znaczenie miało, podobnie jak u osób dorosłych, zwiększenie stężenia żelazotransferyny [AR we Wrocławiu, 1990 – *dane niepublikowane*]. Tak więc korzystny wpływ preparatu na tą formę niedokrwistości wydaje się być bezsporny.

Drugim aspektem badania był wpływ livexu na stan ogólny chorych. Podawano go uzyskując korzystne efekty w stanach niedożywienia u dzieci, wychodząc z założenia, że jest bogatym źródłem białka, aminokwasów, jak również żelaza i pierwiastków śladowych. Preparat był niechętnie przyjmowany przez dzieci wykazujące stały brak apetytu, co stało się powodem poszukiwania innych form leku, bardziej przydatnych w pediatrii [Morawska i wsp., 1990].

W niedokrwistościach towarzyszących schorzeniom nowotworowym układu krwiotwórczego uzyskano także pewną korekcję parametrów morfologii krwi, poziomu białka w surowicy i zdolności wiązania żelaza, jednak poprawa ta nie była statystycznie istotna [Gola i wsp., 1990; Kuliczkowski i wsp., 1990]. Badania wykazały także korzystny wpływ livexu na gospodarkę białkową u ludzi [AR Wrocław, 1990 – *dane niepublikowane*]. Korzystny wpływ obserwowano również u chorych z marskością wątroby oraz w okresie rekonwalescencji po przebytych wirusowym zapaleniu tego narządu. W marskości wątroby livex jest preparatem bezpiecznym mimo zawartości żelaza. W chorobie tej, obok innych leków, livex powinien być podawany w kilkutygodniowych kuracjach lub stosowany jako stały środek wspomagający [AR Wrocław, 1990 – *dane niepublikowane*].

Korzystne działanie livexu stwierdzono u dzieci z zespołem nerczycowym. Powodował wzrost poziomu białka w surowicy i był preparatem bezpiecznym, ponieważ u dzieci z niewydolnością nerek nie zwiększał zawartości metabolitów przemiany białkowej. Ponadto, dużej wagi wartością preparatu okazała się możliwość korygowania, za jego pomocą, obniżonego poziomu pierwiastków śladowych w surowicy krwi dzieci

w ostrej fazie nerczycy [Dobrcka, 1989; Dobrcka i wsp., 1991, 1992; Zwolińska i wsp., 1990, 1991, 1993].

Z Kliniki Nefrologii pochodzą prace wykazujące, że preparat wpływał korzystnie na niedokrwistość osób dorosłych poddanych przewlekłej dializie i po transplantacji nerek [AR we Wrocławiu, 1990 – *dane niepublikowane*]. Niekorzystnym zjawiskiem była jednak zwyżka poziomu kwasu moczowego we krwi. Rozpoczęto również badania nad wpływem livexu na odporność u chorych przewlekle hemodializowanych, spowodowaną niedoborami żywieniowymi wywołanymi leczeniem oraz samą chorobą. Przesłanką do ich podjęcia był korzystny wpływ obecnych w preparacie pierwiastków śladowych na funkcję limfocytów T, granulocytów i innych komórek krwi [AR Wrocław, 1990 – *dane niepublikowane*].

Livex był także podawany sportowcom w celu zapobiegania częstej obecnie anemii związanej ze zwiększeniem aktywności ruchowej [Słowińska, 1990; Słowińska i wsp., 1990; Pędzikiewicz i Sobiech, 1995]. W porównaniu z grupą kontrolną powodował u nich wzrost poziomu żelaza we krwi oraz korzystnie wpływał na gospodarkę białkową i poziom mikroelementów. Badania wydolnościowe prowadzone z wieloraką kontrolą biochemiczną dostarczyły szeregu cennych danych, wspierających wyniki uzyskane w innych doświadczeniach klinicznych. W konkluzji autorzy stwierdzają, że livex może być cenną odżywką u osób intensywnie uprawiających sport, na obozach szkoleniowych czy dla maratończyków.

Wobec powyższych, różnorodnych pozytywnych zastosowań livexów, celowe wydaje się określenie jakości i trwałości mikrobiologicznej różnych ich modyfikacji. Dlatego uzasadnione jest sprawdzenie możliwości wiązania dodatków płynnych i stałych przez siatkę włóknika, co umożliwiłoby uzyskanie dużej liczby livexów, a tym samym stworzyłyby szersze możliwości ich zagospodarowania.

2. CEL BADAŃ

Celem podjętej pracy było sprawdzenie możliwości zagospodarowania krwi świńskiej i jej frakcji poprzez produkcję wybranych livexów modyfikowanych:

- livexów brązowych, czarnych i białych modyfikowanych cukrami,
- livexów brązowych i czarnych modyfikowanych serwatką lub mlekiem,
- livexów brązowych o obniżonym pH,

oznaczenie ich jakości mikrobiologicznej i wyznaczenie okresów trwałości, badanie wybranych cech chemicznych i technologicznych, a także określenie stabilności mikrobiologicznej preparatów zawierających livex, w kontekście zastosowania livexów modyfikowanych w przemyśle spożywczym, paszowym, farmaceutycznym lub kosmetycznym.

W celu sprawdzenia skuteczności obróbki cieplnej, której zadaniem jest utrwalenie struktury oraz redukcja drobnoustrojów, badano ciepłooporność wybranych szczepów bakterii w środowisku livexu brązowego, czarnego i białego modyfikowanego glukozą.

3. MATERIAŁ I METODY

Materiałem doświadczalnym były następujące odmiany livexów modyfikowanych:

- livexy brązowe, czarne i białe modyfikowane cukrami,
- livexy brązowe i czarne modyfikowane serwatką lub mlekiem,
- livexy brązowe o obniżonym pH,
- preparaty zawierające livex.

Ogółem przebadano 3570 próbek livexu.

Surowcem do produkcji livexów była krew świńska stabilizowana 10% roztworem cytrynianu sodu w ilości 0,5 dm³ na 9,5 dm³ krwi. Próbki przewożono do laboratorium, wykorzystując do dalszych badań pełną krew lub frakcjonując z niej plazmę krwi i gęszcz krwinek.

3.1. Produkcja plazmy krwi i gęszczy krwinek

Krew świńską frakcjonowano na plazmę i gęszcz krwinek poprzez wirowanie, wykorzystując do tego celu wirówkę Janetzki, typ K 70 D (w naczyniach wirówkowych o objętości 1000 cm³) przy prędkości 3000 obrotów na minutę przez 3 minuty. Otrzymane frakcje: gęszcz krwinek i plazma używane były do produkcji livexów.

3.2. Produkcja livexów

3.2.1. Produkcja livexów surowych

Pełna krew, plazma krwi oraz gęszcz krwinek stanowiły surowiec, z którego produkowano livex surowy. Z pełnej krwi produkowano livexy brązowe, z plazmy krwi – białe, a z gęszczy krwinek – czarne.

Do 85 cm³ krwi pełnej, plazmy lub gęszczy krwinek, umieszczonych w zlewkach o średnicy 55 mm, wprowadzano 15 cm³ roztworu soli utwardzających – chlorku wapnia i chlorku sodu – aby spowodować destabilizację i powstanie ciała stałego, zwanego livexem surowym.

3.2.1.1. Przygotowanie roztworu soli utwardzających

Do kolby miarowej o pojemności 1500 cm³ przenoszono 100 g NaCl i 20 g CaCl₂ i rozpuszczano w 1200 g wody, a następnie uzupełniano roztwór wodą do 1500 cm³.

3.2.1.2. Obróbka termiczna livexów surowych

Pasteryzację walców livexu o średnicy 50 mm przeprowadzono w wodzie o temperaturze 80°C przez 35 minut. Proporcja masy wody, w której przeprowadzano pasteryzację, i masy livexu wynosiła 1:1. Po zakończeniu obróbki termicznej produkt, określany jako livex świeży, chłodzono bieżącą zimną wodą.

3.2.2. Wytwarzanie livexów modyfikowanych cukrami

W związku z tym, że najlepsze livexy uzyskiwano stosując glukozę i sacharozę, oraz ze względu na ogólną dostępność wymienionych cukrów, do dalszych badań wytypowano livexy z glukozą i sacharozą. W roztworze soli utwardzających zamiast chlorku sodowego stosowano 300 g glukozy lub 600 g sacharozy. W niektórych livexach oprócz glukozy czy sacharozy stosowano serwatkę. Wprowadzona z serwatką laktoza zwiększała o ok. 20% zawartość cukrów w livexie, co nie wpływało negatywnie na proces wytwarzania livexów.

3.2.2.1. Wytwarzanie modyfikowanych livexów brązowych

W dotychczasowych badaniach stwierdzono, że livex brązowy podstawowy uzyskuje się przez destabilizację pełnej krwi dodatkiem chlorku wapnia do uzyskania koncentracji 0,2%, a zahamowanie retrakcji następuje po dodaniu 1% NaCl. Do badań użyto livexów brązowych, do których zamiast 1% chlorku sodu zastosowano 3% dodatek glukozy lub 6% sacharozy. Zachowano przy tym proporcje między objętością krwi i substancji utwardzających jak 85:15. Do niektórych wariantów livexów brązowych oprócz 3% glukozy lub 6% sacharozy dodawano 30% masowych serwatki.

3.2.2.2. Wytwarzanie modyfikowanych livexów czarnych

Gąszcz krwinek łączono z wodnym roztworem substancji utwardzających, tj. 0,2% chlorku wapnia i 3% glukozy lub 6% sacharozy. Proporcje między gąszczem krwinek a roztworem substancji utwardzających wynosiły 85:15. Do innych wariantów livexów czarnych oprócz 3% glukozy lub 6% sacharozy dodawano 30% masowych serwatki.

3.2.2.3. Wytwarzanie modyfikowanych livexów białych

Plazmę krwi łączono z wodnym roztworem substancji utwardzających, tj. 0,2% chlorku wapnia i 3% masowymi glukozy lub 6% sacharozy. Proporcja między objętością plazmy krwi i roztworem substancji utwardzających wynosiła 85:15.

3.2.2.4. Wytwarzanie livexów suchych

Po wysuszeniu livexu świeżego w temperaturze 80°C przez 48 godzin – uzyskano produkt określony jako livex suchy.

3.2.3. Wytwarzanie livexów modyfikowanych serwatką lub mlekiem

3.2.3.1. Livexy świeże

Mleko lub serwatkę łączono z gęszczeniem krwinek w proporcji 1:1. Substancje utwardzające rozpuszczano w mleku lub serwatce tak, że w mieszaninie uzyskiwano koncentracje 1% NaCl i 0,2% CaCl.

3.2.3.2. Livexy suche

Po wysuszeniu livexu świeżego w temperaturze 80°C przez 48 godzin – uzyskano produkt określony jako livex suchy.

3.2.4. Wytwarzanie livexów modyfikowanych o obniżonym pH

Do badań użyto livexu brązowego modyfikowanego mlekiem spożywczym o 2% zawartości tłuszczu, który badano jako:

- wariant podstawowy
- wariant wyprodukowany z krwi o pH obniżonym do 5,7 za pomocą kwasu octowego, pH gotowego livexu: 6,3
- wariant poddany 10-minutowej kąpieli w 5% roztworze kwasu octowego.

Badany livex wytworzono w warunkach laboratoryjnych, zgodnie z metodami określonymi w patentach. Livex umieszczony w ażurowych koszykach przechowywano w temperaturze 2–4°C.

3.3. Wytwarzanie preparatów zawierających livex

Materiał do badań stanowiły preparaty w formie proszku lub granulatu zawierającego modyfikowany glukozą livex brązowy. Preparaty wykonano w Zakładzie „Herbapol” we Wrocławiu według następujących receptur:

Receptura produkcji 1 kg preparatu granulowanego zawierającego livex brązowy

1.	Livex (sproszkowany) suchy modyfikowany glukozą	890 g
2.	Pektyna (cytrusowa)	90 g
3.	Gliceryna	20 g
4.	Woda destylowana	q.s.
		1000 g

Receptura produkcji 1 kg preparatu w formie proszku zawierającego livex brązowy

1.	Livex suchy modyfikowany glukozą	618 g
2.	Sacharoza	364 g
3.	Pektyna	12 g
4.	Aromat pomarańczowy	6 g
		1000 g

Livex do produkcji preparatów wytworzono w wytwórni livexów przy Zakładach Mięśnych we Wrocławiu. Preparaty zawierające livex wyprodukowano systemem przemysłowym w ilości 1500 kg każdy.

3.4. Badania chemiczne i technologiczne

3.4.1. Oznaczenia chemiczne

Oceny chemicznej livexów dokonano w zakresie zawartości suchej masy, białka, tłuszczu, popiołu, glukozy i sacharozy.

3.4.1.1. Oznaczenie suchej masy

Suchą masę oznaczono metodą suszarkową w temperaturze 105°C [Kretowska-Kuta, 1995].

3.4.1.2. Oznaczenie białka

Zawartość białka ogólnego oznaczano metodą Kjeldahla, stosując przelicznik azotu na białko 6.25 [PN-75/A-04018].

3.4.1.3. Oznaczanie tłuszczu

Zawartość tłuszczu oznaczano metodą Soxhleta zgodnie z Polską Normą PN-71/A-88021 (1971).

3.4.1.4. Oznaczanie popiołu ogólnego

Zawartość popiołu ogólnego i popiołu nierozpuszczalnego oznaczano w 10% roztworze kwasu chlorowodorowego według Polskiej Normy PN-A-79011-8:1998 (1998).

3.4.1.5. Oznaczanie glukozy

Zawartość glukozy w livexach modyfikowanych cukrami oznaczano według Kretowskiej-Kuty (1995).

3.4.1.6. Oznaczanie sacharozy

Zawartość sacharozy w livexach modyfikowanych cukrami oznaczano według Polskiej Normy PN-88/A-77626 (1988).

3.4.2. Oznaczanie cech charakterystycznych livexów

3.4.2.1. Oznaczanie wartości pH (kwasowości czynnej)

Pomiar pH przeprowadzono przy użyciu pH-metru N-517, zestawionego z elektrodą Sag P-201 w temperaturze 20°C. Pehametr przed badaniami skalowano każdorazowo wobec buforu o pH 6 i buforu o pH 8.

3.4.2.2. Pomiar czasu żelowania

Oznaczenie wykonano z dokładnością do jednej minuty, przyjmując, że czas żelowania został zakończony z chwilą wykształcenia stabilnego livexu surowego, tj. wtedy, gdy materiał utracił cechy cieczy i przyjął postać żelu.

3.4.2.3. Oznaczanie wydajności produkcyjnej livexów świeżych modyfikowanych cukrami

Wydajność produkcyjną wyznaczano dla 100-gramowych walców doświadczalnych livexów, ważonych bezpośrednio po pasteryzacji na wadze laboratoryjnej z dokładnością do 0,1 g. Wielkość omawianego wyróżnika obliczano ze stosunku:

$$\frac{\text{masa livexów świeżych (po pasteryzacji)}}{\text{masa livexów surowych}}$$

Wyniki oznaczenia wyrażano w procentach.

3.4.2.4. Oznaczanie wycieku swobodnego

Wyciek swobodny wyznaczono dla 100-gramowych walców doświadczalnych livexów umieszczonych w ażurowych koszykach przechowywanych w temperaturze 2–4°C. Livexy ważono z dokładnością 0,1 g, a wyniki wyrażano w procentach.

3.5. Badania mikrobiologiczne

3.5.1. Badanie mikrobiologiczne livexów świeżych

Livexy świeże oceniano mikrobiologicznie bezpośrednio po pasteryzacji i schłodzeniu wodą, a następnie przechowywano w temperaturze 2–4°C. Kolejne badania wykonywano codziennie przez 6 dni, a następnie livex badano co 2 lub 3 dni do czasu wystąpienia cech zepsucia.

3.5.2. Badanie mikrobiologiczne livexów suchych

Badania mikrobiologiczne wykonano po produkcji a następnie po 3-, 6-, 12-, 24- i 36-miesięcznym okresie składowania w temperaturze 22°C.

3.5.3. Badanie mikrobiologiczne livexów modyfikowanych o obniżonym pH

Badania trwałości livexów prowadzono do momentu pojawienia się na ich powierzchni dyskwalifikujących cech organoleptycznych (oślizłość lub widoczna gołym okiem plechka pleśni) albo do wystąpienia niekorzystnych zmian zapachowych.

3.5.4. Przygotowanie próbek do badań mikrobiologicznych

Do badań pobierano każdorazowo 20 g próbki: 1) livexu modyfikowanego świeżego lub suchego oraz 2) preparatu zawierającego livex. Próbki livexów suszonych pobierano z centrum worka. Pobrane naważki w pojemnikach homogenizera zalewano 180 ml zbuforowanej wody peptonowej i homogenizowano przez 3 minuty przy 2000 obrotów na minutę.

3.5.5. Oznaczenia mikrobiologiczne

3.5.5.1. Oznaczenie ogólnej liczby bakterii tlenowych

Ogólną liczbę bakterii tlenowych oznaczano według Polskiej Normy PN-A-82055-6. Dla bakterii psychrotrofowych zastosowano temperaturę inkubacji około $21\pm 1^{\circ}\text{C}$, a odczytu dokonywano po 72 godzinach. Dla bakterii mezofilnych zastosowano temperaturę inkubacji około 37°C , a odczytu dokonywano po 48 godzinach.

3.5.5.2. Oznaczenie beztlenowych bakterii przetrwalnikujących

Obecność beztlenowych laseczek przetrwalnikujących oznaczano według Polskiej Normy PN-A-82055-12.

3.5.5.3. Oznaczenie pałeczek z rodziny *Enterobacteriaceae*

Obecność pałeczek z rodziny *Enterobacteriaceae* oznaczano według Polskiej Normy PN-A-04023.

3.5.5.4. Oznaczenie gronkowców koagulazo-dodatnich

Obecność gronkowców koagulazo-dodatnich oznaczano według Polskiej Normy PN-A-82055-9.

3.5.5.5. Oznaczenie bakterii kwasu mlekowego

Liczbę bakterii kwasu mlekowego oznaczano według Polskiej Normy PN-A-82055-17.

3.5.5.6. Oznaczenie bakterii proteolitycznych

Obecność bakterii proteolitycznych oznaczano według Polskiej Normy PN-A-82055-14.

3.5.5.7. Oznaczenie liczby drożdży i pleśni

Liczbę drożdży i pleśni oznaczano według Polskiej Normy PN-A-82055-16.

3.5.6. Badanie ciepłooporności szczepów testowych w środowisku wybranych livexów modyfikowanych glukozą

Wyznaczano krzywe odbicia czasu śmierci cieplnej wybranych szczepów bakterii: *Salmonella Enteritidis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* i *Staphylococcus aureus* [Zaleski, 1985; Harrigan, 1998].

Zarówno dla produkcji livexu w warunkach laboratoryjnych, jak i przemysłowych przyjęto następujące założenia technologiczne obróbki termicznej:

- livex surowy należy pociąć na kawałki o wymiarach nie większych od 40 x 40 do 50 x 50 mm i umieścić w pojemniku z wodą o temperaturze 85°C;
- proces pasteryzacji powinien trwać 35–40 minut w wodzie o temperaturze 80°C, tj. do zmiany barwy livexu na jednakową na całej powierzchni przekroju.

3.5.6.1. Wyznaczenie krzywej odbicia czasu śmierci cieplnej *Salmonella Enteritidis* w środowisku livexu

Do badań użyto najbardziej ciepłoopornego spośród dostępnych szczepów – *Salmonella Enteritidis* PCM 843, otrzymanego z kolekcji Instytutu Immunologii i Terapii Doświadczalnej im. Ludwika Hirszfelda Polskiej Akademii Nauk we Wrocławiu. Szczep uaktywniano, zawieszając liofilizat w 9 ml podłoża TSB i inkubując przez 24 godziny w temperaturze 37°C. Następnie 1 ml otrzymanej hodowli przenoszono do 9 ml podłoża TSB i po kolejnej 24-godzinnej inkubacji otrzymaną hodowlę (10 ml) posiewano do 90 ml podłoża TSB.

Po 16 godzinach namnażania w temperaturze 37°C komórki bakteryjne oddzielano od podłoża przez 40-minutowe wirowanie przy 4,5 tys. obr./min. w wirówce typu T-23 Janetzki. Następnie osad przemywano, zawieszając go w 80 ml płynu Ringera i ponownie wirując przy 4,5 tys. obr./min przez 20 minut. Przemywanie w płynie Ringera powtarzano trzykrotnie.

Przemyte komórki bakteryjne zawieszano w 2 ml płynu Ringera i 1 ml zawiesiny dodawano do 0,5 ml pasteryzowanego przez 15 minut w temperaturze 80°C wodnego roztworu substancji utwardzających. Roztwór substancji utwardzających, zawierający hodowlę, łączono z plazmą krwi otrzymaną z krwi stabilizowanej 0,5% dodatkiem cytrynianu sodu, zachowując proporcje 15:85. Po dokładnym wymieszaniu całości, ale przed wytworzeniem się livexu, strzykawką o pojemności 1 ml wprowadzano 0,1 ml materiału do 4 kapilar heparynowych, które łączono paskiem taśmy metalowej.

W celu określenia liczby pałeczek *Salmonella*, wprowadzonych do środowiska livexu, kapilary (0,1 ml livexu zawierającego komórki bakteryjne) umieszczano w moździerzu z 9,9 ml podłoża TSB, rozcierano i dokładnie mieszano z podłożem, otrzymując rozcieńczenie 1:100. Liczbę bakterii oznaczano metodą płytkową na agarze Brilliant Green Agar (BGA, Oxoid, CM 263), posiewając 0,1 ml otrzymanego rozcieńczenia badanej próbki. Wykonywano równoległe posiewy na 3 płytkach. Wyniki odczytywano po 24-godzinnej inkubacji w temperaturze 37°C, posługując się wzorem Farmilee [Burbianka i wsp., 1983].

W celu określenia wrażliwości cieplnej – kapilary z livexem ogrzewano w ultratermostacie UTU-2 w wodzie o temperaturze 52, 54, 56 i 58°C w różnych interwałach czasowych. Poddane działaniu ciepła kapilary przenoszono do moździerza, w którym

znajdowało się 9,9 ml podłoża TSB ogrzanego do temperatury 37°C, rozcierano i pozostawiono w cieplarni w temperaturze 37°C przez 1 godzinę w celu regeneracji termicznie uszkodzonych komórek. Po regeneracji badano liczbę przeżywających komórek, według procedury opisanej powyżej, ale z zastosowaniem przedłużonego czasu inkubacji (48 godz.), w celu ujawnienia komórek, które uległy szokowi termicznemu.

Otrzymane wyniki posłużyły do wyznaczenia krzywych przeżycia pałeczek *Salmonella Enteritidis* PCM 843 w środowisku livexu, opisanych wzorami funkcji $Y = at + b$ w skali semilogarytmicznej. Parametry funkcji obliczono posługując się metodą najmniejszych kwadratów, a ich znamienność statystyczną określono na poziomie istotności $p < 0.001$. Następnie, w oparciu o uzyskane wartości parametrów funkcji, wyznaczono wartość F dla badanych temperatur 52, 54, 56 i 58°C. Posługując się uzyskanymi danymi wyznaczono krzywe odbicia (TDT) i na ich podstawie obliczono wartość z . Krzywe odbicia czasu śmierci cieplnej (TDT) wyznaczono na poziomie 7D.

Podobne postępowanie było prowadzone dla pozostałych badanych szczepów bakteryjnych.

3.5.6.2. Wyznaczenie krzywej odbicia czasu śmierci cieplnej *Pseudomonas aeruginosa* w środowisku livexu

Do badań użyto szczepu *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853. Hodowlę szczepu testowego i dalsze postępowanie prowadzono w sposób analogiczny jak z *Salmonella Enteritidis*.

Przy oznaczaniu liczby bakterii wprowadzonych do livexu surowego używano podłoża *Pseudomonas Selective Agar* (PSA, Oxoid, CM 457), inkubując posiewy w temperaturze 22°C przez 72 godziny.

Na podstawie uzyskanych wyników wyznaczono krzywe przeżycia *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 w środowisku livexu, opisane wzorami funkcji $Y = at + b$. Następnie wyznaczono krzywe odbicia czasu śmierci cieplnej na poziomie 7D.

3.5.6.3. Wyznaczanie krzywej odbicia czasu śmierci cieplnej *Escherichia coli* w środowisku livexu

Do badań użyto szczepu *Escherichia coli* O:55 PCM 224. Hodowlę szczepu testowego przygotowano i dalsze postępowanie prowadzono w sposób analogiczny jak z *Salmonella Enteritidis*.

Kalibrację liczby bakterii wprowadzonych do livexu surowego wykonywano metodą ilościową na podłożu Tryptone Soy Agar (TSA, Oxoid, CM 131).

Liczbę bakterii, przeżywających ogrzewanie przez określony czas, oznaczano po regeneracji na podłożu TSA, inkubowanym w temperaturze 37°C przez 48 godzin. Na ich podstawie wykreślono krzywe przeżycia *Escherichia coli* O:55 w środowisku livexu, opisane wzorami funkcji $Y = at + b$. Następnie wyznaczono krzywe odbicia czasu śmierci cieplnej na poziomie 7D.

3.5.6.4. Wyznaczenie krzywej odbicia czasu śmierci cieplnej *Staphylococcus aureus* w środowisku livexu

Do badań użyto szczepu *Staphylococcus aureus* PCM 2054. Hodowla szczepu testowego i dalsze postępowanie były analogiczne jak w przypadku *Salmonella Enteritidis*. Oznaczenie liczby bakterii wprowadzonych do livexu surowego wykonano płytkową metodą ilościową na podłożu Baird-Parkera (B-P, Oxoid, CM 275).

Liczbę bakterii, przeżywających ogrzewanie przez określony czas, oznaczano po regeneracji na podłożu B-P, inkubowanym w temperaturze 37°C przez 72 godziny. Na podstawie uzyskanych wyników wyznaczono krzywe przeżycia *Staphylococcus aureus* PCM 2054 w środowisku livexu, opisane wzorami funkcji $Y = at + b$. Następnie wyznaczono krzywe odbicia czasu śmierci cieplnej na poziomie 7D.

3.5.7. Badanie przeżywalności szczepów testowych *Escherichia coli* w środowisku preparatów zawierających livex

Do badań użyto dwóch najbardziej ciepłopornych spośród dostępnych szczepów *Escherichia coli*, uzyskanych z kolekcji Instytutu Immunologii i Terapii Doświadczalnej im. Ludwika Hirszfelda Polskiej Akademii Nauk we Wrocławiu.

Do wolnych od *Escherichia coli* preparatów w formie granulatu oraz proszku zawierającego livex wprowadzono szczep *Escherichia coli* O:111, symbol PCM 418 (=PCM 227) lub szczep *Escherichia coli* O:55, symbol PCM 419 (=PCM 224).

Szczep ożywiono przez posiew na podłożu TSB. Przygotowanie *inoculum* rozpoczęto posiewem z liofilizatu na 9 ml podłoża TSB, który inkubowano przez 24 godziny w temperaturze 37°C. Następnie przesiewano powtórnie 1 ml hodowli do 9 ml podłoża TSB i po 24 godzinach całość znajdującej się w probówce hodowli przenoszono do kolby, w której znajdowało się 90 ml podłoża TSB. Hodowlę inkubowano 16 godzin w temperaturze 37°C. Komórki bakteryjne oddzielano od podłoża przez 40-minutowe wirowanie w naczyniach wirówkowych o pojemności 100 ml przy 4,5 tys. obr./min w wirówce typu T-23 Janetzki. Otrzymany osad zawieszano za pomocą bagietki prostej w 80 ml płynu Ringera i ponownie wirowano przez 20 minut przy 4,5 tys. obr./min. Przemywanie w płynie Ringera powtarzano trzykrotnie. Jeden mililitr tak przygotowanej zawiesiny wprowadzano do 100 g preparatu w formie proszku lub granulatu. Komórki bakteryjne równomiernie rozprowadzano w preparacie w porcelanowym moździerzu. Po rozprowadzeniu komórek bakteryjnych materiał przenoszono do szklanej zlewki, w której warstwa livexu nie przekraczała 2 cm. Liczbę komórek szczepów wprowadzonych do preparatu oznaczano pobierając 10 g naważkę, którą przenoszono do 90 ml podłoża TSB i wytrząsano na wytrząsarce Universal Shaker typ 327, otrzymując rozcieńczenie 1:10. Po wykonaniu kolejnych rozcieńczeń liczbę bakterii oznaczano na podłożu VRBG.

Tak przygotowane preparaty zawierające livex ogrzewano w suszarce w temperaturach 95, 85, 75, 65 i 55°C do czasu, gdy w dwóch kolejnych badaniach nie stwierdzono wzrostu drobnoustrojów. Próbkę kontrolną przetrzymywano w cieplarni w temperaturze otoczenia, tj. 22°C. W celu określenia skuteczności eliminacji szczepów testowych z ogrzewanego materiału pobierano co 3 lub 24 godziny próbki, sporządzano kolejne

rozcieńczenia dziesiętne i oznaczano liczbę bakterii. Równolegle prowadzono badania, w których odwirowane szczepy testowe *Escherichia coli* suszono w temperaturze 37°C przez 24 godziny, a następnie po roztrączeniu ich w młynku – łączono ze 100 g preparatu zawierającego livex. Dalsze postępowanie prowadzono w sposób podobny do opisanego powyżej, przetrzymując próbki w temperaturze 95, 85, 75, 65 i 55°C lub w temperaturze otoczenia, tj. ok. 22°C.

3.6. Analiza statystyczna wyników

Wartość zebranego materiału doświadczalnego oceniono na podstawie analizy statystycznej danych, z uwzględnieniem: wartości średnich, odchyłeń standardowych z próbki (SD), błędu dla średniej dla danego obiektu z modelu (SE), mediany (Me) oraz wartości minimalnych i maksymalnych próbek. Wszystkie badania zostały wykonane w pięciu powtórzeniach. W celu porównania średnich efektów różnych wariantów cech doświadczeń oraz ich współdziałania użyto metod analizy wariancji. Oznaczenia pH krwi i jej frakcji, czasu żelowania i wydajności produkcyjnej podlegały klasyfikacji pojedynczej. W pozostałej części doświadczeń zastosowano klasyczny model dwukierunkowej analizy wariancji z interakcjami. Hipotezy o braku różnic między efektami poszczególnych obiektów weryfikowano korzystając z testu istotności F (Fishera-Snedecora). W przypadku odrzucenia hipotezy o braku różnic efektów analizowanych obiektów wyodrębniono tzw. grupy homogeniczne (jednorodne). W tym celu zastosowano rangowy test Tukeya. Uzyskana charakterystyka statystyczna badanych cech posłużyła do konstrukcji 95% przedziałów ufności dla średnich i zastosowania testów porównań wielokrotnych [Rao, 1982; Dąbrowski i wsp., 1997].

4. WYNIKI BADAŃ I ICH OMÓWIENIE

4.1. Livexy modyfikowane cukrami

4.1.1. Modyfikowane livexy brązowe

Dodatek do livexów glukozy lub sacharozy zamiast 1% chlorku sodu umożliwił sprawne przeprowadzenie procesu żelowania. Średnie czasy żelowania livexów brązowych modyfikowanych glukozą lub sacharozą wahały się od 5,3 do 16,4 minut (tab. 1). Najszybciej żelowały livexy brązowe modyfikowane glukożą, a czas ich żelowania nie przekraczał 6 minut. Maksymalnie do 7 minut żelowały livexy brązowe modyfikowane sacharozą. Czas żelowania livexów brązowych modyfikowanych serwatką i sacharozą nie przekraczał 12 minut. Przy użyciu metod analizy wariancji i testów porównań wielokrotnych można wyznaczyć następujące grupy homogeniczne o podobnych efektach reakcji:

I grupa – livex brązowy modyfikowany glukożą lub sacharozą – niski czas żelowania, około 5,5 min;

II – grupa – livex biały modyfikowany glukożą lub sacharozą – średni czas żelowania, około 9 min;

III grupa – livex brązowy modyfikowany serwatką i glukożą, livex czarny modyfikowany glukożą lub sacharozą, livex czarny modyfikowany serwatką i glukożą lub sacharozą – istotnie dłuższy czas żelowania, około 16 minut.

Livexy brązowe modyfikowane serwatką i glukożą lub sacharozą po pasteryzacji wykazywały odczyn kwaśny, a ich średnie pH wynosiło około 6,5 (tab. 2). Livexy modyfikowane tylko glukożą lub sacharozą miały odczyn zasadowy, od 7,1 do 7,3. W wyniku zastosowania dwukierunkowej analizy wariancji nie stwierdzono, aby obróbka termiczna wpłynęła istotnie na zmiany kwasowości czynnej (pH) za wyjątkiem livexów modyfikowanych glukożą, gdzie po obróbce termicznej wzrost pH był statystycznie istotny. Biorąc pod uwagę rodzaj livexu, można wyróżnić następujące charakterystyczne grupy homogeniczne:

I grupa – livexy brązowe modyfikowane serwatką i glukożą lub sacharozą, livexy czarne modyfikowane serwatką i glukożą – wartość średnia pH około 6,5;

II grupa – livexy czarne modyfikowane serwatką i sacharozą o średnim pH około 6,8;

III grupa – wszystkie pozostałe livexy - średni poziom pH mieszczący się w przedziale od 7,0 do 7,2.

Tabela 1
Table 1

Czas żelowania (w minutach) livexów modyfikowanych cukrami z/bez dodatku serwatki (SD – odchylenie standardowe, SE- błąd standardowy)
Gelation time (minutes) of livex modified with sugars with/without whey addition (SD – standard deviation, SE – standard error)

Livex	Średnia Mean	SD	SE	mediana median	min.	max.
Brazowy modyfikowany glukozą Brown modified with glucose	5,3	0,836	0,374	5,5	4	6
Brazowy modyfikowany sacharozą Brown modified with sucrose	5,8	0,750	0,375	5,5	5	7
Brazowy modyfikowany serwatką i glukozą Brown modified with whey and glucose	16,4	3,280	1,467	17,0	12	21
Brazowy modyfikowany serwatką i sacharozą Brown modified with whey and sucrose	11,9	1,240	0,556	11,5	11	14
Czarny modyfikowany glukozą Black modified with glucose	16,0	1,87	0,836	16,0	14	19
Czarny modyfikowany sacharozą Black modified with sucrose	15,8	1,480	0,660	16,0	14	18
Czarny modyfikowany serwatką i glukozą Black modified with whey and glucose	16,4	1,670	0,748	16,0	15	19
Czarny modyfikowany serwatką i sacharozą Black modified with whey and sucrose	15,6	1,140	0,509	16,0	14	17
Biały modyfikowany glukozą White modified with glucose	8,6	0,550	0,246	9,0	8	9
Biały modyfikowany sacharozą White modified with sucrose	9,4	1,940	0,870	10,0	7	12

* Wszystkie wyniki analiz statystycznych przedstawione w tabelach 1–45 i na rysunkach 1–16 odnoszą się do badań wykonanych w 5 powtórzeniach (n= 5)

** Grupy homogeniczne o podobnym efekcie badanych cech zostały utworzone na poziomie istotności $p < 0.05$

* All the statistical data shown in Tables 1–45 and Figures 1–16 were taken from the studies carried out in 5 replications

** Homogenous groups at $p < 0.05$

Tabela 2

Table 2

Kwasowość czynna (pH) livexów modyfikowanych cukrami z/bez dodatku serwatki przed i po obróbce termicznej (SD – odchylenie standardowe, SE – błąd standardowy, med. – mediana)
 The active acidity (pH) of livex modified with sugars with/without whey addition before and after thermal treatment (SD –standard deviation, SE – standard error, med – median).

Livex	Stan State	Średnia Mean	SD	SE	med	min.	max.
Brazowy modyfikowany glukoza Brown modified with glucose	przed before	7,06	0,047	0,021	7,05	7,02	7,14
	po after	7,28	0,188	0,084	7,25	7,02	7,5
Brazowy modyfikowany sacharozą Brown modified with sucrose	przed before	7,01	0,02	0,009	7,0	6,99	7,04
	po after	7,106	0,132	0,059	7,06	7,02	7,34
Brazowy modyfikowany serwatka i glukoza Brown modified with whey and glucose	przed before	6,43	0,53	0,23	6,63	5,48	6,72
	po after	6,54	0,067	0,030	6,55	6,43	6,6
Brazowy modyfikowany serwatka i sacharozą Brown modified with whey and sucrose	przed before	6,56	0,089	0,040	6,59	6,41	6,64
	po after	6,47	0,16	0,07	6,41	6,33	6,73
Czarny modyfikowany glukoza Black modified with glucose	przed before	7,184	0,051	0,023	7,21	7,1	7,23
	po after	7,122	0,075	0,033	7,12	7,03	7,23
Czarny modyfikowany sacharozą Black modified with sucrose	przed before	7,18	0,074	0,033	7,18	7,06	7,26
	po after	7,02	0,127	0,057	6,96	6,9	7,20
Czarny modyfikowany serwatka i glukoza Black modified with whey and glucose	przed before	6,98	0,46	0,20	6,78	6,76	7,8
	po after	6,51	0,088	0,039	6,48	6,46	6,67
Czarny modyfikowany serwatka i sacharozą Black modified with whey and sucrose	przed before	6,81	0,016	0,007	6,82	6,79	6,83
	po after	6,56	0,084	0,038	6,6	6,45	6,66
Biały modyfikowany glukoza White modified with glucose	przed before	7,12	0,087	0,039	7,14	6,98	7,19
	po after	7,134	0,22	0,099	7,03	6,94	7,4
Biały modyfikowany sacharozą White modified with sucrose	przed before	7,16	0,036	0,016	7,16	7,12	7,21
	po after	7,21	0,133	0,059	7,24	7,02	7,35

Wydajność produkcyjna (w %) livexów modyfikowanych cukrami z/bez dodatku serwatki
 (SD – odchylenie standardowe, SE – błąd standardowy)
 The productivity (%) of livex modified with sugars with/without whey addition
 (SD – standard deviation, SE – standard error)

Livex	Średnia Mean	SD	SE	mediana median	min.	max.
Brazowy modyfikowany glukozą Brown modified with glucose	91	4,52	2,02	93	83	93,9
Brazowy modyfikowany sacharozą Brown modified with sucrose	84,4	1,49	0,669	85	82,3	85,8
Brazowy modyfikowany serwatką i glukozą Brown modified with whey and glucose	87,2	1,65	0,74	87,7	84,4	88,5
Brazowy modyfikowany serwatką i sacharozą Brown modified with whey and sucrose	85,64	5,29	2,36	87,7	78,7	91,1
Czarny modyfikowany glukozą Black modified with glucose	83,74	3,43	1,53	83,4	80	88,6
Czarny modyfikowany sacharozą Black modified with sucrose	88,22	4,47	2	89,1	81,6	93,8
Czarny modyfikowany serwatką i glukozą Black modified with whey and glucose	85,08	6,12	2,73	82,8	79,1	95,2
Czarny modyfikowany serwatką i sacharozą Black modified with whey and sucrose	86,12	9,06	4,05	91,7	73	93
Biały modyfikowany glukozą White modified with glucose	83,3	8,26	3,7	86,5	71,5	90,5
Biały modyfikowany sacharozą White modified with sucrose	86,14	6,61	2,95	86,2	76,3	93,2

Średnie wydajności produkcyjne omawianych livexów były bliskie lub równe 85% (tab. 3), z wyjątkiem livexów brązowych modyfikowanych tylko glukozą, których średnie wydajności wyliczono na 91%. Uzyskane średnie wydajności produkcyjne livexów należy uznać za zadowalające i odzwierciedlające dobre wiązanie wody. Badając wydajność produkcyjną stwierdzono jej statystycznie istotne różnice jedynie pomiędzy livexami brązowymi modyfikowanymi glukozą i sacharozą. W pozostałych livexach różnice średnich wydajności są mało znaczące i związane z dużą zmiennością w grupie.

Tabela 4

Table 4

Ilość wycieku swobodnego (w %) z livexu brązowego modyfikowanego serwatką i sacharozą podczas przechowywania w temperaturze 4°C
(SD – odchylenie standardowe, SE – błąd standardowy)
The percentages of free leakage from brown livex modified with whey and sucrose during storage at 4°C (SD – standard deviation, SE – standard error)

Ilość wycieku po: Leakage after:	Średnia Mean	SD	SE	mediana median	min.	max.
24 godzinach/hours	9,74	1,97	0,88	10,5	6,9	12
48 godzinach/hours	11,06	2,29	1,02	11,7	7,8	14
72 godzinach/hours	11,98	2,16	0,96	11,7	8,8	14,6

Tabela 5

Table 5

Ilość wycieku swobodnego (w %) z livexu brązowego modyfikowanego serwatką i glukozą podczas przechowywania w temperaturze 4°C
(SD – odchylenie standardowe, SE – błąd standardowy)
The percentages of free leakage from brown livex modified with whey and glucose during storage at 4°C (SD – standard deviation, SE – standard error)

Ilość wycieku po: Leakage after:	Średnia Mean	SD	SE	mediana median	min.	max.
24 godzinach/hours	6,62	1,96	0,87	7,4	4,1	8,6
48 godzinach/hours	8,48	2,1	0,94	8,6	6,1	11,7
72 godzinach/hours	10,16	1,82	0,81	10,0	7,7	12,7

Swobodne wycieki przechowalnicze z livexu po 3 dobach ich przetrzymywania w temperaturze 4°C były najwyższe w livexach brązowych modyfikowanych serwatką i sacharozą i wynosiły średnio 11,98% (tab. 4). W livexach brązowych modyfikowanych serwatką i glukozą po tym okresie wyciek stanowił około 10,2% (tab. 5), podobnie jak w livexie brązowym modyfikowanym wyłącznie glukozą (tab. 6). Najniższą ilość wycieku po 3 dobach stwierdzono w livexach brązowych modyfikowanych sacharozą ($x = 9,2\%$) (tab. 7). Badając wpływ czasu przechowywania na ilość wycieku swobodnego stwierdzono jego wzrost, ale nie jest on statystycznie istotny na poziomie istotności $p < 0.05$ w obrębie danego livexu. Analiza wielkości wycieku w zależności od rodzaju livexu wykazała, że po 24 godzinach przechowywania istnieją istotne różnice w ilości wycieku z livexów brązowych modyfikowanych sacharozą (około 4%), brązowych modyfikowanych glukozą (6,4%) i brązowych modyfikowanych serwatką i sacharozą (9,8%).

Tabela 6
Table 6

Ilość wycieku swobodnego (w %) z livexu brązowego modyfikowanego glukozą podczas przechowywania w temperaturze 4°C
(SD – odchylenie standardowe, SE – błąd standardowy)
The percentages of free leakage from brown livex modified with glucose during storage at 4°C
(SD – standard deviation, SE – standard error)

Ilość wycieku po: Leakage after:	Średnia Mean	SD	SE	mediana median	min.	max.
24 godzinach/hours	6,4	1,13	0,51	6,3	4,8	7,9
48 godzinach/hours	8,38	1,47	0,65	7,9	7,0	10,4
72 godzinach/hours	10,32	2,32	1,04	9,4	7,4	12,8
96 godzinach/hours	10,68	2,31	1,03	9,8	7,8	13,2
120 godzinach/hours	10,22	2,30	1,02	10,0	8,1	13,4

Tabela 7
Table 7

Ilość wycieku swobodnego (w %) z livexu brązowego modyfikowanego sacharozą podczas przechowywania w temperaturze 4°C
(SD – odchylenie standardowe, SE – błąd standardowy)
The percentages of free leakage from brown livex modified with sucrose during storage at 4°C
(SD – standard deviation, SE – standard error)

Ilość wycieku po: Leakage after:	Średnia Mean	SD	SE	mediana median	min.	max.
24 godzinach/hours	3,92	0,47	0,21	3,9	3,2	4,5
48 godzinach/hours	6,48	1,999	0,894	6,1	4,4	9,8
72 godzinach/hours	9,2	0,85	0,38	9,0	8,3	10,6

Sucha masa livexów brązowych modyfikowanych tylko glukozą i sacharozą wynosiła około 20% (tab. 8–9), natomiast w livexach zawierających w swoim składzie serwatkę i glukozę lub sacharozę zawartość suchej masy wynosiła 18,3% (tab. 10–11). Mniejsza zawartość suchej masy w livexach z serwatką jest zrozumiała, gdyż serwatka powoduje uwodnienie livexu.

Najwyższą zawartość białka stwierdzono w livexie brązowym modyfikowanym glukozą ($x = 16,6\%$, tab. 8), a najniższą – w livexie brązowym modyfikowanym serwatką i sacharozą ($x = 11,97\%$, tab. 11).

Tabela 8

Table 8

Skład chemiczny livexu brązowego modyfikowanego glukozą (SD – odchylenie standardowe,
SE – błąd standardowy)
Chemical composition of brown livex modified with glucose (SD – standard deviation,
SE – standard error)

Wyróżnik Components	Średnia Mean	SD	SE	mediana median	min.	max.
Sucha masa (%) Dry matter (%)	20,14	0,91	0,41	20,58	19,08	20,75
Białko (%) Protein (%)	16,64	0,43	0,19	16,83	16,15	16,94
Tłuszcz (%) Fat (%)	0,5	0,04	0,02	0,5	0,46	0,54
Popiół (%) Ash (%)	0,73	0,34	0,15	0,93	0,34	0,93
Glukoza (%) Glucose (%)	1,42	0,45	0,20	1,68	0,90	1,68

Tabela 9

Table 9

Skład chemiczny livexu brązowego modyfikowanego sacharozą (SD – odchylenie standardowe,
SE – błąd standardowy)
Chemical composition of brown livex modified with sucrose (SD – standard deviation,
SE – standard error)

Wyróżnik Components	Średnia Mean	SD	SE	mediana median	min.	max.
Sucha masa (%) Dry matter (%)	20,65	0,056	0,025	20,65	20,61	20,69
Białko (%) Protein (%)	13,29	0,169	0,08	13,29	13,17	13,41
Tłuszcz (%) Fat (%)	0,555	0,049	0,022	0,555	0,52	0,59
Popiół (%) Ash (%)	1,035	0,035	0,016	1,035	1,01	1,06
Sacharoza (%) Sucrose (%)	5,79	0,014	0,006	5,79	5,78	5,8

Tabela 10
Table 10

Skład chemiczny livexu brązowego modyfikowanego serwatką i glukozą
(SD – odchylenie standardowe, SE – błąd standardowy)
Chemical composition of brown livex modified with whey and glucose
(SD – standard deviation, SE – standard error)

Wyróżnik Components	Średnia Mean	SD	SE	mediana median	min.	max.
Sucha masa (%) Dry matter (%)	18,30	0,66	0,29	18,66	17,54	18,72
Białko (%) Protein (%)	14,85	0,56	0,25	14,88	14,27	15,4
Tłuszcz (%) Fat (%)	0,47	0,11	0,05	0,42	0,39	0,6
Popiół (%) Ash (%)	0,8	0,36	0,16	0,97	0,38	1,05
Glukoza (%) Glucose (%)	2,31	0,53	0,24	2,4	1,55	3,0

Tabela 11
Table 11

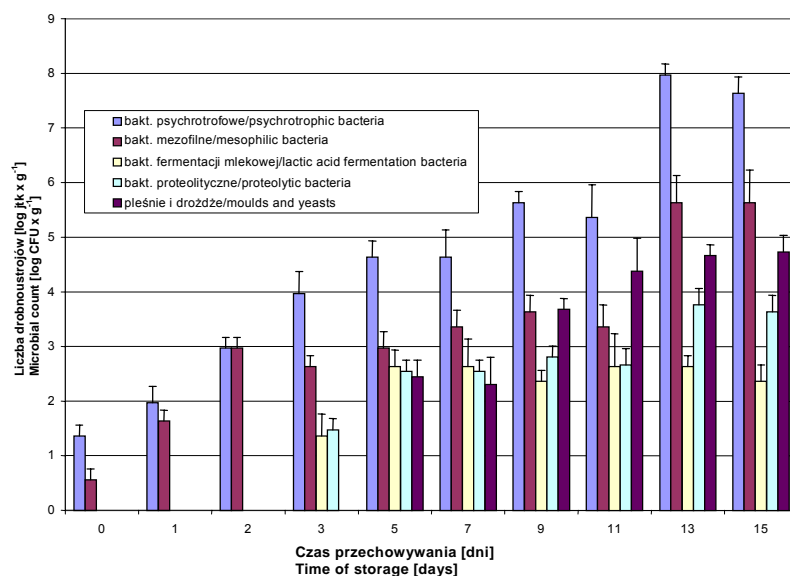
Skład chemiczny livexu brązowego modyfikowanego serwatką i sacharozą
(SD – odchylenie standardowe, SE – błąd standardowy)
Chemical composition of brown livex modified with whey and sucrose
(SD – standard deviation, SE – standard error)

Wyróżnik Components	Średnia Mean	SD	SE	mediana median	min.	max.
Sucha masa (%) Dry matter (%)	18,34	0,75	0,33	18,34	17,8	18,87
Białko (%) Protein (%)	11,97	1,02	0,46	11,97	11,24	12,69
Tłuszcz (%) Fat (%)	0,46	0,085	0,04	0,46	0,4	0,52
Popiół (%) Ash (%)	0,965	0,063	0,028	0,965	0,92	1,01
Sacharoza (%) Sucrose (%)	4,935	0,20	0,089	4,935	4,79	5,08

Z 3% glukozy dodanej do mieszaniny przed procesem żelowania – w livexie brązowym modyfikowanym glukozą pozostało jej jedynie 1,42% (tab. 8), natomiast w livexie brązowym modyfikowanym serwatką i glukozą jej średnia zawartość wynosiła 2,31% (tab. 10). W livexach brązowych modyfikowanych serwatką i sacharozą koncentracja tego cukru obniżyła się z początkowej zawartości 6% do około 5% (tab. 9, 11). W livexach brązowych modyfikowanych wyłącznie sacharozą jej koncentracja zmniejszała się nieznacznie – do 5,7%. Ilość sacharozy pozostającej w livexach świadczy o dobrym utrzymywaniu się tego cukru. W livexie modyfikowanym glukozą po zakończeniu pasteryzacji pozostawało tylko 50% początkowej ilości tego cukru. Należy sądzić, że w trakcie pasteryzacji glukoza przechodzi z livexu do wody parzelnej.

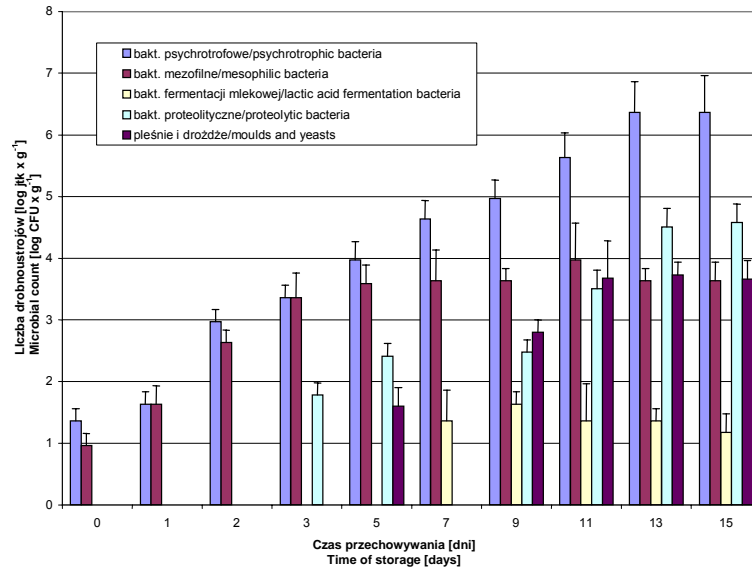
Trwałość mikrobiologiczną livexów modyfikowanych serwatką i glukozą lub sacharozą oraz livexów modyfikowanych tylko glukozą albo sacharozą należy określić na 7 dni, biorąc pod uwagę liczbę stwierdzonych w nich bakterii psychrotrofowych. W całym okresie prowadzenia badań, w livexach zawierających glukozę stwierdzono większą liczbę bakterii psychrotrofowych niż w ich odpowiednikach modyfikowanych sacharozą, ale różnica ta nie była znamienna statystycznie (rys. 1–4). Do siódmego dnia eksperymentu, liczba bakterii mezofilnych we wszystkich omawianych livexach nie przekraczała 5×10^3 jtk/g (rys. 1–4). Bakterie fermentacji mlekowej stwierdzono dopiero trzeciego dnia w livexach brązowych modyfikowanych glukozą (rys. 1). Natomiast w livexie brązowym modyfikowanym sacharozą te drobnoustroje stwierdzono dopiero w siódmym dniu eksperymentu (rys. 2). W livexach modyfikowanych serwatką i glukozą lub sacharozą bakterie fermentacji mlekowej wykryto bezpośrednio po pasteryzacji (rys. 3–4). Bakterie proteolityczne i grzyby stwierdzano z reguły dopiero w piątym dniu badań, a ich liczba we wszystkich badanych wariantach modyfikowanych livexów brązowych pozostawała do końca eksperymentu na poziomie 10^2 – 10^4 jtk/g (rys. 1–4).

Przez cały okres badań we wszystkich wariantach badanych livexów modyfikowanych w 0,1 g nie stwierdzono pałeczek z rodziny *Enterobacteriaceae*, gronkowców koagulazo-dodatnich i beztlenowych laseczek przetrwalnikujących.

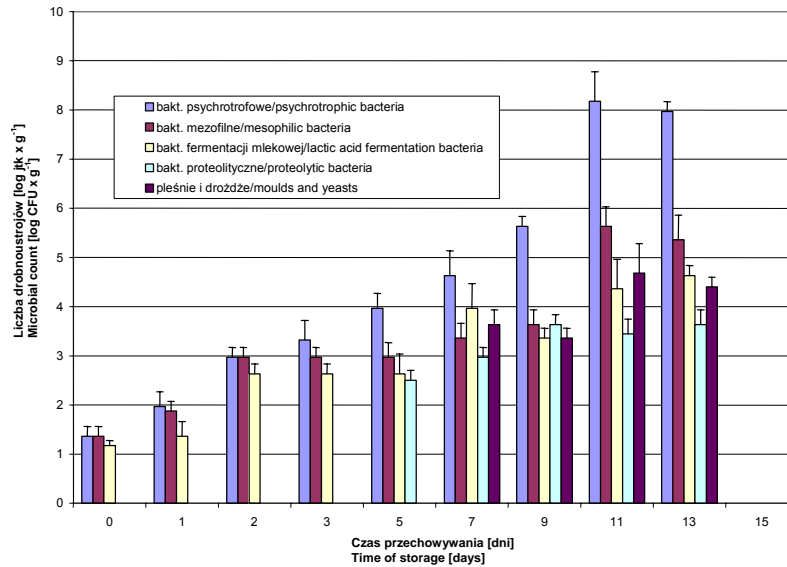


Rys. 1. Dynamika mikroflory (średni poziom liczby bakterii z odchyleniem standardowym) w livexie brązowym modyfikowanym glukozą

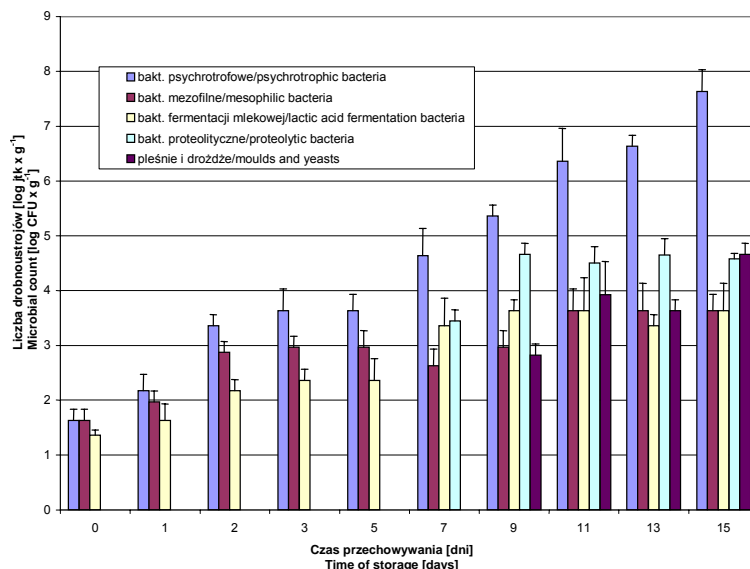
Fig. 1. The dynamics of microflora (the mean level of bacterial count with standard deviation) in brown livex modified with glucose



Rys. 2. Dynamika mikroflory w livexie brązowym modyfikowanym sacharozą
 Fig. 2. The dynamics of microflora in brown livex modified with sucrose



Rys. 3. Dynamika mikroflory w livexie brązowym modyfikowanym serwatką i glukozą
 Fig. 3. The dynamics of microflora in brown livex modified with whey and glucose



Rys. 4. Dynamika mikroflory w livexie brązowym modyfikowanym serwatką i sacharozą
 Fig. 4. The dynamics of microflora in brown livex modified with whey and sucrose

4.1.2. Modyfikowane livexy czarne

Średnie czasy żelowania livexów czarnych modyfikowanych serwatką i glukozą lub sacharozą oraz livexów czarnych modyfikowanych tylko glukozą lub sacharozą wynosiły około 16 minut (tab. 1). Maksymalne czasy żelowania badanych livexów czarnych nie przekraczały 20 minut. Modyfikowane livexy czarne żelowały średnio trzy razy dłużej niż analogiczne livexy brązowe. Należy przypuszczać, że przyczyną tego stanu rzeczy jest mniejsza zawartość włókna w gąszczu krwinek niż w pełnej krwi.

Podobnie jak brązowe – także livexy czarne modyfikowane serwatką i glukozą lub sacharozą wykazywały po pasteryzacji odczyn kwaśny, a ich średnie pH wynosiło około 6,5 (tab. 2). Livexy modyfikowane wyłącznie glukozą lub sacharozą miały odczyn zasadowy, wahający się od 7,02 do 7,12.

Livexy czarne ogólnie charakteryzuje wysoka wydajność produkcyjna. Najniższą średnią jej wartość stwierdzono w livexach czarnych modyfikowanych glukozą ($x = 83,7\%$), a najwyższą – w livexach czarnych modyfikowanych sacharozą ($x = 88,2\%$, tab. 3). Livexy czarne modyfikowane serwatką i glukozą lub sacharozą wykazywały średnią wydajność rzędu 85–86%, podobnie jak poddane podobnym modyfikacjom livexy brązowe.

Zawartość białka w livexach czarnych modyfikowanych tylko glukozą lub sacharozą wynosiła średnio 17,1–17,2% (tab. 12–13). Natomiast w livexach czarnych modyfikowanych serwatką i glukozą lub sacharozą było przeciętnie 15,6–15,8% białka (tab. 14–15). We wszystkich badanych livexach czarnych tłuszcz stanowił ok. 0,5, a popiół – 0,8–1% suchej masy.

Tabela 12
Table 12

Skład chemiczny livexu czarnego modyfikowanego glukozą
(SD – odchylenie standardowe, SE – błąd standardowy)
Chemical composition of black livex modified with glucose
(SD – standard deviation, SE – standard error)

Wyróżnik Components	Średnia Mean	SD	SE	mediana median	min.	max.
Sucha masa (%) Dry matter (%)	20,66	1,87	0,836	20,58	18,5	20,97
Białko (%) Protein (%)	17,23	1,77	0,79	17,5	14,84	19,08
Tłuszcz (%) Fat (%)	0,555	0,015	0,007	0,53	0,44	0,72
Popiół (%) Ash (%)	0,785	0,20	0,089	0,88	0,48	0,90
Glukoza (%) Glucose (%)	1,95	0,73	0,33	2,25	0,87	2,45

Tabela 13
Table 13

Skład chemiczny livexu czarnego modyfikowanego sacharozą
(SD – odchylenie standardowe, SE – błąd standardowy)
Chemical composition of black livex modified with sucrose
(SD – standard deviation, SE – standard error)

Wyróżnik Components	Średnia Mean	SD	SE	mediana median	min.	max.
Sucha masa (%) Dry matter (%)	22,73	2,90	1,30	22,49	19,52	25,18
Białko (%) Protein (%)	17,09	2,48	1,11	17,88	14,3	19,08
Tłuszcz (%) Fat (%)	0,56	0,023	0,10	0,57	0,53	0,57
Popiół (%) Ash (%)	0,90	0,046	0,21	0,87	0,87	0,95
Sacharoza (%) Sucrose (%)	4,21	0,49	0,22	4,16	3,76	4,73

Tabela 14
Table 14

Skład chemiczny livexu czarnego modyfikowanego serwatką i glukozą
(SD – odchylenie standardowe, SE – błąd standardowy)
Chemical composition of black livex modified with whey and glucose
(SD – standard deviation, SE – standard error)

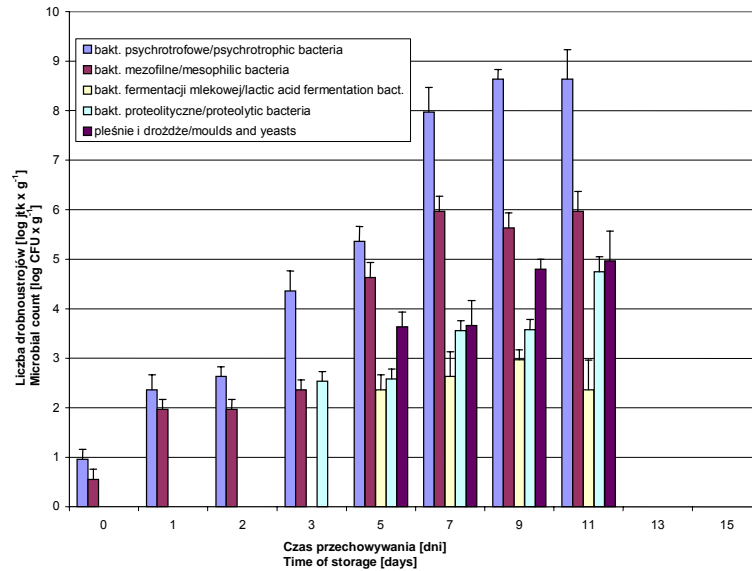
Wyróżnik Components	Średnia Mean	SD	SE	mediana median	min.	max.
Sucha masa (%) Dry matter (%)	19,39	2,10	0,94	19,1	17,46	22,1
Białko (%) Protein (%)	15,59	2,048	1,024	15,68	13,0	18,01
Tłuszcz (%) Fat (%)	0,51	0,087	0,039	0,47	0,46	0,64
Popiół (%) Ash (%)	0,85	0,22	0,098	0,96	0,52	0,96
Glukoza (%) Glucose (%)	2,54	0,65	0,291	2,8	2,59	3,0

Tabela 15
Table 15

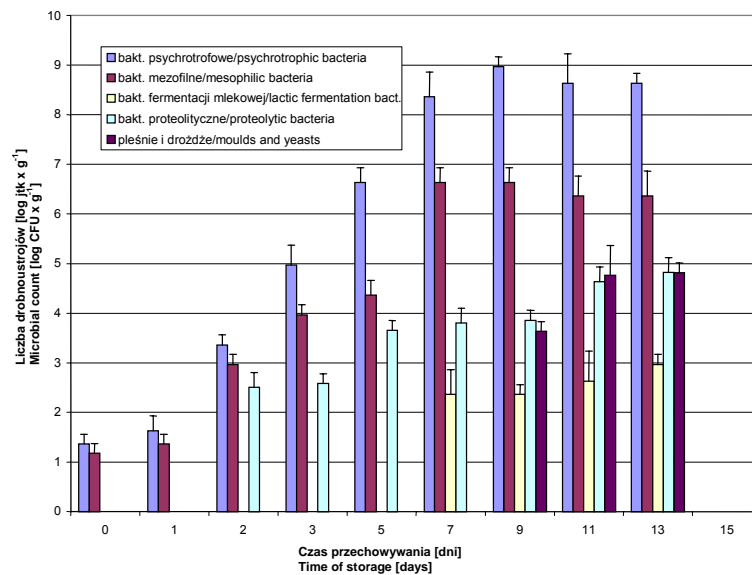
Skład chemiczny livexu czarnego modyfikowanego serwatką i sacharozą
(SD – odchylenie standardowe, SE – błąd standardowy)
Chemical composition of black livex modified with whey and sucrose
(SD – standard deviation, SE – standard error)

Wyróżnik Components	Średnia Mean	SD	SE	mediana median	min.	max.
Sucha masa (%) Dry matter (%)	23,18	2,23	0,997	23	21,04	25,5
Białko (%) Protein (%)	15,83	2,27	1,02	16,29	13,36	17,84
Tłuszcz (%) Fat (%)	0,48	0,072	0,032	0,46	0,42	0,56
Popiół (%) Ash (%)	1,01	0,05	0,022	1,01	0,96	1,06
Sacharoza (%) Sucrose (%)	4,26	0,44	0,197	4,49	3,75	4,54

Z 3% glukozy dodanej do mieszaniny przed procesem żelowania w livexach czarnych modyfikowanych glukozą pozostało średnio 1,95% (tab. 12), natomiast w livexach czarnych modyfikowanych glukozą i serwatką średnia zawartość tego cukru wynosiła 2,54% (tab. 14). Podobne ilości glukozy uzyskano w przypadku analogicznych livexów brązowych. Zawartość sacharozy obniżała się z wyjściowej koncentracji 6% do 4,21% w przypadku livexów czarnych modyfikowanych wyłącznie sacharozą i do 4,26% w przypadku livexów czarnych modyfikowanych serwatką i sacharozą (tab. 13, 15).



Rys. 5. Dynamika mikroflory w livexie czarnym modyfikowanym glukozą
 Fig. 5. The dynamics of microflora in black livex modified with glucose



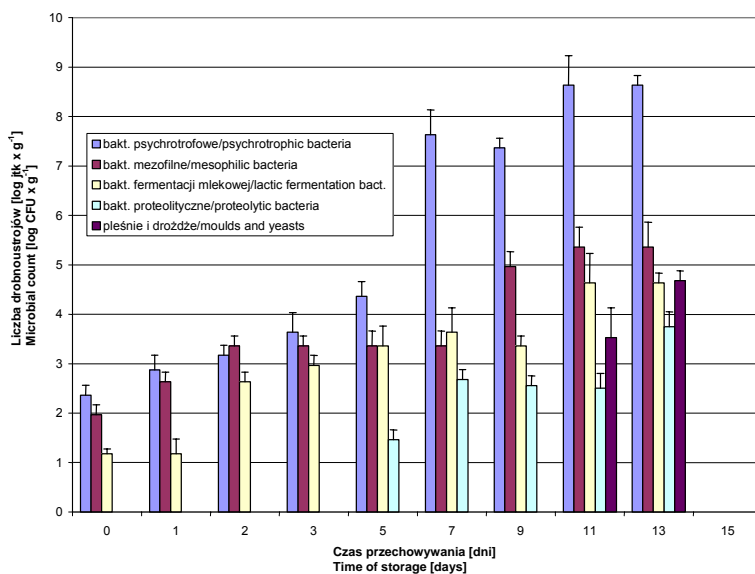
Rys. 6. Dynamika mikroflory w livexie czarnym modyfikowanym sacharozą
 Fig. 6. The dynamics of microflora in black livex modified with sucrose

Trwałość mikrobiologiczną livexów czarnych modyfikowanych glukozą lub sacharozą z dodatkiem serwatki oraz livexów modyfikowanych cukrami bez jej udziału wyznaczono na 5 dni. W siódmym dniu przechowywania livexów modyfikowanych glukozą lub sacharozą liczba bakterii psychrotrofowych wynosiła ok. 10^8 jtk/g (rys. 5–6). Analogiczny parametr, oznaczony po takim samym czasie przechowywania livexów czarnych modyfikowanych serwatką i glukozą lub sacharozą, wyniósł odpowiednio $4,3 \times 10^7$ lub $2,3 \times 10^6$ jtk/g (rys. 7–8). Należy sądzić, że niższe ilości bakterii psychrotrofowych w livexach zawierających serwatkę są wynikiem ich kwaśnego pH.

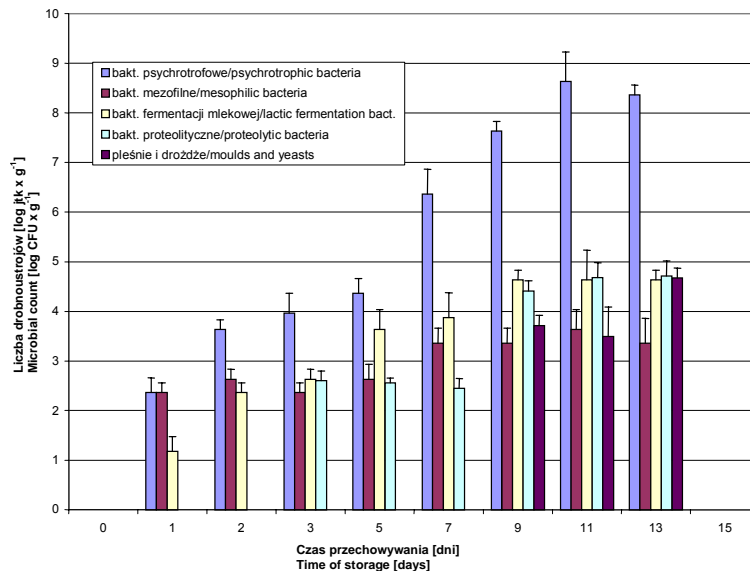
Liczba bakterii mezofilnych, oznaczona w siódmym dniu przechowywania livexów czarnych modyfikowanych wyłącznie glukozą lub sacharozą, kształtowała się na poziomie ok. 10^6 jtk/g (rys. 5–6). Koncentracja drobnoustrojów mezofilnych, stwierdzona w livexach czarnych modyfikowanych serwatką z dodatkiem glukozy lub sacharozy, była średnio o 3 cykle logarytmiczne niższa od oznaczonej w produktach bez udziału serwatki (rys. 7–8).

Podobnie jak w livexach brązowych – także w livexach czarnych modyfikowanych serwatką z dodatkiem glukozy lub sacharozy badania w kierunku pałeczek fermentacji mlekowej rozpoczęto bezpośrednio po pasteryzacji. Przez cały okres eksperymentu (14 dni) liczba omawianych drobnoustrojów nie przekraczała 10^4 jtk/g. Podobne wyniki uzyskano w odniesieniu do bakterii proteolitycznych, których liczba przez cały czas przechowywania nie przekraczała 5×10^4 jtk/g (rys. 5–8).

Największą koncentrację pleśni i drożdży (ok. 10^5 jtk/g) stwierdzono w 11 dniu przechowywania livexów czarnych modyfikowanych glukozą (rys. 5). W pozostałych odmianach livexów czarnych liczba pleśni i drożdży nie przekraczała z reguły 5×10^3 jtk/g (rys. 5–6).



Rys. 7. Dynamika mikroflory w livexie czarnym modyfikowanym serwatką i glukozą
 Fig. 7. The dynamics of microflora in black livex modified with whey and glucose



Rys. 8. Dynamika mikroflory w livexie czarnym modyfikowanym serwatką i sacharozą
 Fig. 8. The dynamics of microflora in black livex modified with whey and sucrose

4.1.3. Modyfikowane livexy białe

Czas żelowania livexów białych modyfikowanych sacharozą nie przekraczał 12 minut. Szybciej żelowały livexy białe modyfikowane glukozą, u których proces ten nie trwał dłużej niż 9 minut (tab. 1).

Livexy białe modyfikowane glukozą lub sacharozą uzyskiwały po pasteryzacji odczyn nieznacznie zasadowy, wynoszący odpowiednio 7,134 lub 7,21 (tab. 2).

Średnia wydajność produkcyjna livexów białych modyfikowanych glukozą kształtowała się na poziomie 83%, a livexów białych modyfikowanych sacharozą – 86% (tab. 3).

Największe swobodne wycieki przechowalnicze z livexów białych stwierdzono po 24 godzinach przetrzymywania, kiedy to wynosiły one ok. 12–13% masy produktu. Przy dalszym przetrzymywaniu w temperaturze 4°C dobowe straty płynu wahały się od 1,5 do 2,5%. Do 120 godziny przechowywania, livexy białe modyfikowane glukozą lub sacharozą traciły łącznie odpowiednio 15,7% lub 21% płynu (tab. 16–17).

Analizując dynamikę ilości wycieku w zależności od czasu przechowywania livexu białego modyfikowanego glukozą lub sacharozą, stwierdzono, że wyciek przy modyfikacji sacharozą (od 13 do 21%) znacznie przewyższał obserwowany przy modyfikacji glukozą (od 12 do 16%). Analizując krzywe regresji i ich obszary ufności można stwierdzić, iż badane zjawiska przebiegają odmiennie, a różnice są statystycznie istotne na poziomie $p < 0,05$.

Tabela 16

Table 16

Ilość wycieku swobodnego (w %) z livexu białego modyfikowanego glukozą podczas przechowywania w temperaturze 4°C (SD – odchylenie standardowe, SE – błąd standardowy)
Free leakage (%) from white livex modified with glucose during storage at 4°C
(SD – standard deviation, SE – standard error)

Ilość wycieku po: Leakage after:	Średnia Mean	SD	SE	mediana median	min.	max.
24 godzinach/hours	11,9	4,39	1,96	12,6	6,8	17,4
48 godzinach/hours	13,36	4,18	1,87	14,3	8,2	18,3
72 godzinach/hours	14,62	3,33	1,48	15,4	11,1	18,3
96 godzinach/hours	15,1	3,29	1,47	15,1	11,6	19,1
120 godzinach/hours	15,78	2,9	1,29	15,9	12,4	19,5

Tabela 17

Table 17

Ilość wycieku swobodnego (w %) z livexu białego modyfikowanego sacharozą podczas przechowywania w temperaturze 4°C (SD – odchylenie standardowe, SE – błąd standardowy)
Free leakage (%) from white livex modified with sucrose during storage at 4°C
(SD – standard deviation, SE – standard error)

Ilość wycieku po: Leakage after:	Średnia Mean	SD	SE	mediana median	min.	max.
24 godzinach/hours	13,12	3,04	1,36	12,3	10,3	17,6
48 godzinach/hours	15,96	1,74	0,78	16,3	13,9	18,4
72 godzinach/hours	18,08	1,13	0,50	18,3	16,5	19,3
96 godzinach/hours	19,86	1,08	0,49	20,4	18,3	21,0
120 godzinach/hours	20,90	0,95	0,42	20,6	19,8	22,2

Sucha masa livexów białych modyfikowanych glukozą lub sacharozą stanowiła odpowiednio 9,17 i 12,39% (tab. 18–19). Należy sądzić, że wyższa zawartość suchej masy w produktach modyfikowanych sacharozą odzwierciedla większy dodatek tego cukru w procesie modyfikacji.

W suchej masie livexów białych modyfikowanych cukrami było przeciętnie 5,6–5,8% białka, 0,2–0,3% tłuszczu i 0,8–0,9% popiołu (tab. 18–19).

Z 3% glukozy, dodanej do livexu białego przed procesem żelowania, w produkcie końcowym pozostało 2,55% tego cukru. W przypadku sacharozy ubytek cukru w trakcie produkcji livexu białego wyniósł 1,08% (tab. 18–19).

Na podstawie oznaczonej w badaniach mikrobiologicznych liczby bakterii psychrotrofowych trwałość livexów białych modyfikowanych glukozą lub sacharozą można określić na 9 dni.

Liczba bakterii mezofilnych wzrastała stopniowo od początkowej wielkości $1,5 \times 10^1$ jtk/g, oznaczonej w obu rodzajach livexów białych bezpośrednio po pasteryzacji, do 5×10^3 jtk/g w 15 dniu przechowywania (rys. 9–10). Podobne wyniki uzyskano w badaniach liczby bakterii fermentacji mlekowej. Największą ich zawartość stwierdzono w końcowym okresie badań (13 i 15 dzień) w livexie białym modyfikowanym glukozą ($4,3 \times 10^2$ jtk/g, rys. 9) oraz w 15 dobie składowania livexu białego modyfikowanego sacharozą ($4,3 \times 10^3$ jtk/g, rys. 10).

Tabela 18
Table 18

Skład chemiczny livexu białego modyfikowanego glukozą
(SD – odchylenie standardowe, SE – błąd standardowy)
Chemical composition of white livex modified with glucose
(SD – standard deviation, SE – standard error)

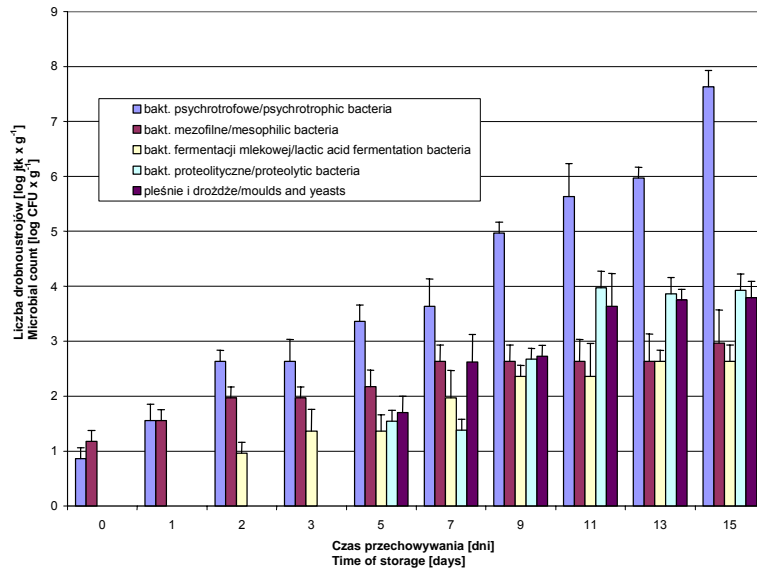
Wyróżnik Components	Średnia Mean	SD	SE	mediana median	min.	max.
Sucha masa (%) Dry matter (%)	9,17	0,296	0,13	9,1	8,91	9,49
Białko (%) Protein (%)	5,6	0,334	0,15	5,66	5,24	5,9
Tłuszcz (%) Fat (%)	0,18	0,02	0,009	0,18	0,18	0,19
Popiół (%) Ash (%)	0,79	0,04	0,018	0,79	0,79	0,80
Glukoza (%) Glucose (%)	2,55	0,051	0,023	2,51	2,51	2,61

Tabela 19
Table 19

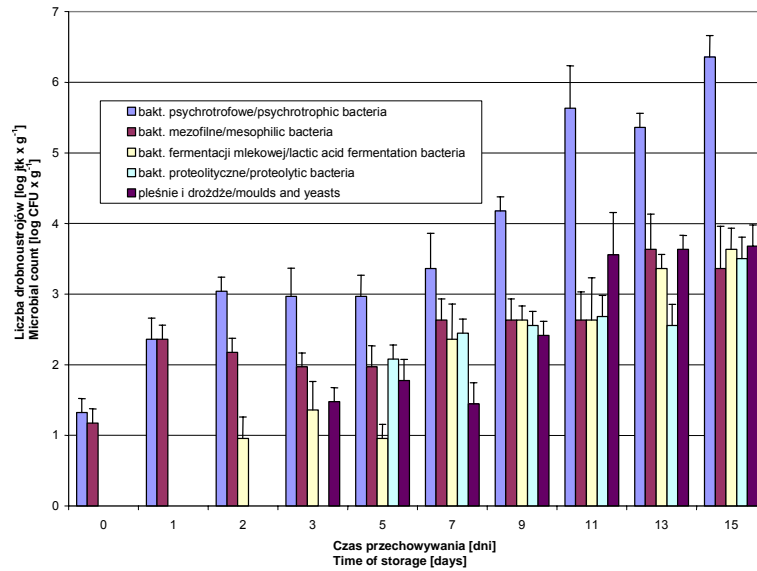
Skład chemiczny livexu białego modyfikowanego sacharozą
(SD – odchylenie standardowe, SE – błąd standardowy)
Chemical composition of white livex modified with sucrose
(SD – standard deviation, SE – standard error)

Wyróżnik Components	Średnia Mean	SD	SE	mediana median	min.	max.
Sucha masa (%) Dry matter (%)	12,39	0,088	0,049	12,42	12,29	12,46
Białko (%) Protein (%)	5,78	0,287	0,128	5,9	5,46	6,0
Tłuszcz (%) Fat (%)	0,346	0,0642	0,028	0,32	0,3	0,42
Popiół (%) Ash (%)	0,93	0,065	0,029	0,94	0,87	1,0
Sacharoza (%) Sucrose (%)	4,92	0,140	0,063	4,92	4,79	5,07

Obecność bakterii proteolitycznych stwierdzono po raz pierwszy w 5 dniu przechowywania badanych livexów białych. Do końca eksperymentu liczba tych drobnoustrojów nie przekroczyła poziomu 10^4 jtk/g (rys. 9–10).



Rys. 9. Dynamika mikroflory w livexie białym modyfikowanym glukozą
 Fig. 9. The dynamics of microflora in white livex modified with glucose



Rys. 10. Dynamika mikroflory w livexie białym modyfikowanym sacharozą
 Fig. 10. The dynamics of microflora in white livex modified with sucrose

4.1.4. Analiza statystyczna składu chemicznego livexów modyfikowanych cukrami

W celu stwierdzenia istotności różnic w zawartości suchej masy, białka, tłuszczu, popiołu i glukozy lub sacharozy zastosowano model jednokierunkowej analizy wariancji. Wśród badanych livexów wyznaczono następujące grupy o podobnych efektach badanych cech:

a) zawartość suchej masy

I grupa – livexy białe modyfikowane glukozą – około 9%;

II grupa – livexy białe modyfikowane sacharozą – około 12,4%;

III grupa – livexy brązowe modyfikowane serwatką i glukozą oraz livexy brązowe modyfikowane serwatką i sacharozą – około 18,3%;

IV grupa – livexy brązowe modyfikowane glukozą lub sacharozą – 20,5%.

Modyfikowane livexy czarne wykazywały dużą zmienność zawartości suchej masy. Wartości średnie omawianego parametru mieściły się w przedziale od 19,5 do 23% i były istotnie różne w porównaniu do analizowanych livexów białych modyfikowanych cukrami.

b) zawartość białka

I grupa – livexy białe modyfikowane glukozą lub sacharozą – 5,7%;

II grupa – livexy brązowe modyfikowane serwatką i sacharozą – 12%;

III grupa – livexy brązowe modyfikowane sacharozą – 13,5%;

IV grupa – livexy brązowe modyfikowane serwatką i sacharozą – 15%;

V grupa – livexy brązowe modyfikowane glukozą – 17,5-17,6%.

Modyfikowane livexy czarne wykazywały znaczne zróżnicowanie zawartości białka. Z tego powodu można je zaliczyć do jednej grupy z livexami brązowymi modyfikowanymi glukozą lub livexami modyfikowanymi serwatką i glukozą, istotnie różniącymi się od grupy I i II.

c) zawartość tłuszczu

I grupa – livexy białe modyfikowane glukozą – 0,2%;

II grupa – livexy białe modyfikowane sacharozą – 0,35%;

III grupa – pozostałe livexy – 0,45-0,55%.

d) zawartość popiołu

I grupa – livexy brązowe modyfikowane glukozą – 0,7%;

II grupa – livexy brązowe modyfikowane serwatką i glukozą, czarne modyfikowane glukozą, czarne modyfikowane serwatką i glukozą, białe modyfikowane glukozą – 0,8%;

III grupa – livexy brązowe modyfikowane sacharozą lub serwatką i sacharozą, czarne modyfikowane serwatką i sacharozą – 1%.

Livexy czarne i białe modyfikowane sacharozą wykazują średnie wartości zbliżone do grupy II i III. Porównując livexy modyfikowane glukozą i sacharozą, stwierdzono istotne różnice w zawartości tych cukrów w suchej masie. W obrębie livexów modyfikowanych glukozą wyodrębniono dwie grupy homogeniczne:

I grupa – livexy brązowe modyfikowane glukozą – zawierały 1,5% glukozy;

II grupa – livexy czarne modyfikowane serwatką i glukozą, livexy białe modyfikowane glukozą – zawierały 2,6% glukozy.

Wśród livexów modyfikowanych sacharozą również wyróżniono 2 grupy:

I grupa – do której zaliczono livexy czarne modyfikowane sacharozą i serwatką oraz sacharozą, w których zawartość sacharozy wynosiła 4,3% sacharozy;

II grupa – złożona z livexów brązowych modyfikowanych sacharozą – o przeciętnej zawartości tego cukru wynoszącej 5,7%.

4.1.5. Modyfikowane livexy suszone

Livexy suszone zawierały około 7% wody. Pozostałe parametry chemiczne uzależnione były od rodzaju wysuszonego livexu (tab. 20–22). Analiza składu chemicznego pozwoliła na wyróżnienie następujących grup homogenicznych:

a) pod względem zawartości suchej masy

I grupa – wszystkie livexy brązowe i białe modyfikowane cukrami – 91,2–92,2%;

II grupa – pozostałe livexy – 94–95,7%.

b) pod względem zawartości białka

I grupa – livexy białe modyfikowane sacharozą – 45%;

II grupa – livexy białe modyfikowane glukozą – 55,2%;

III grupa – pozostałe livexy – około 70–80%.

Tabela 20

Table 20

Skład chemiczny suszonych livexów brązowych modyfikowanych cukrami

(SD – odchylenie standardowe, SE – błąd standardowy)

Chemical composition of dried brown livex modified with sugars

(SD – standard deviation, SE – standard error)

Wyróżnik Components	Srednia Mean	SD	SE	mediana median	min.	max.
Livex brązowy modyfikowany glukozą – Brown livex modified with glucose						
Sucha masa (%) Dry matter (%)	92,2	0,83	0,37	92,7	89,9	94,7
Białko (%) Protein (%)	76,0	0,61	0,27	75,0	73,7	78,9
Livex brązowy modyfikowany sacharozą – Brown livex modified with sucrose						
Sucha masa (%) Dry matter (%)	91,4	0,79	0,35	91,0	88,1	94,0
Białko (%) Protein (%)	67,7	0,77	0,34	67,9	65,3	69,5
Livex brązowy modyfikowany serwatką i glukozą – Brown livex modified with whey and glucose						
Sucha masa (%) Dry matter (%)	91,9	0,61	0,27	92,3	89,1	93,7
Białko (%) Protein (%)	74,3	0,54	0,24	72,9	70,6	76,6
Livex brązowy modyfikowany serwatką i sacharozą – Brown livex modified with whey and sucrose						
Sucha masa (%) Dry matter (%)	92,1	0,72	0,32	93,1	90,0	94,8
Białko (%) Protein (%)	74,5	0,49	0,22	75,2	71,1	76,0

Tabela 21
Table 21

Skład chemiczny suszonych livexów czarnych modyfikowanych cukrami
(SD – odchylenie standardowe, SE – błąd standardowy)
Chemical composition of dried black livex modified with sugars
(SD – standard deviation, SE – standard error)

Wyróżnik Components	Średnia Mean	SD	SE	mediana median	min.	max.
Livex czarny modyfikowany glukozą – Black livex modified with glucose						
Sucha masa (%) Dry matter (%)	94,5	0,39	0,17	92,3	90,1	96,0
Białko (%) Protein (%)	80,2	0,28	0,13	79,4	77,3	82,5
Livex czarny modyfikowany sacharozą – Black livex modified with sucrose						
Sucha masa (%) Dry matter (%)	95,7	0,56	0,25	94,7	91,0	96,9
Białko (%) Protein (%)	74,1	0,45	0,20	75,3	72,2	76,5
Livex czarny modyfikowany serwatką i glukozą – Black livex modified with whey and glucose						
Sucha masa (%) Dry matter (%)	93,8	0,66	0,30	92,3	90,9	95,7
Białko (%) Protein (%)	76,2	0,60	0,27	75,5	73,1	77,4
Livex czarny modyfikowany serwatką i sacharozą – Black livex modified with whey and sucrose						
Sucha masa (%) Dry matter (%)	94,8	0,57	0,25	93,7	92,6	96,1
Białko (%) Protein (%)	77,2	0,76	0,34	76,0	75,9	78,4

Tabela 22
Table 22

Skład chemiczny suszonych livexów białych modyfikowanych cukrami
(SD – odchylenie standardowe, SE – błąd standardowy)
Chemical composition of dried white livex modified with sugars
(SD – standard deviation, SE – standard error)

Wyróżnik Components	Średnia Mean	SD	SE	mediana median	min.	max.
Livex biały modyfikowany glukozą – White livex modified with glucose						
Sucha masa (%) Dry matter (%)	91,3	0,89	0,40	92,4	85,4	93,6
Białko (%) Protein (%)	55,8	0,57	0,25	56,0	45,4	57,8
Livex biały modyfikowany sacharozą – White livex modified with sucrose						
Sucha masa (%) Dry matter (%)	92,1	0,77	0,34	91,8	87,3	93,9
Białko (%) Protein (%)	43,8	0,81	0,36	44,4	39,5	47,1

Tabela 23
Table 23

Dynamika mikrobiologiczna w suszonym livexie brązowym modyfikowanym glukozą (A) lub sacharozą (B)
Microbiological dynamics in dried brown livex modified with glucose (A) or sucrose (B)

Czas przechowywania (miesiące) Time of storage (months)	Bakterie psychrotrofowe Psychrotrophic bacteria		Bakterie mezofilne Mesophilic bacteria		Bakterie proteolityczne Proteolytic bacteria		Plesnie i drożdże Moulds and yeast	
	A	B	A	B	A	B	A	B
0 (po wysuszeniu – after drying)	3×10^1	4×10^1	2×10^1	–	–	–	–	–
3	–	2×10^1	3×10^1	–	–	–	–	–
6	–	–	–	–	–	–	–	–
12	–	–	–	–	–	–	–	–
24	–	–	–	–	–	–	–	–
36	–	–	–	–	–	–	–	–

– oznacza: nie stwierdzono – means: not observed

Tabela 24
Table 24

Dynamika mikrobiologiczna w suszonym livexie brązowym modyfikowanym serwatką i glukozą (A) lub sacharozą (B)
Microbiological dynamics in dried brown livex modified with whey and glucose (A) or sucrose (B)

Czas przechowywania (miesiące) Time of storage (months)	Bakterie psychrotrofowe Psychrotrophic bacteria		Bakterie mezofilne Mesophilic bacteria		Bakterie proteolityczne Proteolytic bacteria		Plesnie i drożdże Moulds and yeast	
	A	B	A	B	A	B	A	B
0 (po wysuszeniu – after drying)	$1,2 \times 10^2$	$2,3 \times 10^2$	9×10^1	$2,1 \times 10^2$	–	–	–	–
3	$1,4 \times 10^2$	$1,6 \times 10^2$	$1,2 \times 10^2$	$2,4 \times 10^2$	–	–	–	–
6	$1,2 \times 10^2$	$1,6 \times 10^2$	$1,2 \times 10^2$	$2,4 \times 10^2$	–	–	–	–
12	–	–	–	–	–	–	–	–
24	–	–	–	–	–	–	–	–
36	–	–	–	–	–	–	–	–

– oznacza: nie stwierdzono – means: not observed

Tabela 25
Table 25

Dynamika mikrobiologiczna w suszonym livexie czarnym modyfikowanym glukozą (A) lub sacharozą (B)
Microbiological dynamics in dried black livex modified with glucose (A) or sucrose (B)

Czas przechowywania (miesiące) Time of storage (months)	Bakterie psychrotrofowe Psychrotrophic bacteria		Bakterie mezofilne Mesophilic bacteria		Bakterie proteolityczne Proteolytic bacteria		Plesnie i drożdże Moulds and yeast	
	A	B	A	B	A	B	A	B
0 (po wysuszeniu – after drying)	9×10^1	7×10^1	9×10^1	5×10^1	–	–	–	–
3	–	–	–	–	–	–	–	–
6	–	–	–	–	–	–	–	–
12	–	–	–	–	–	–	–	–
24	–	–	–	–	–	–	–	–
36	–	–	–	–	–	–	–	–

– oznacza: nie stwierdzono – means: not observed

Tabela 26
Table 26

Dynamika mikrobiologiczna w suszonym livexie czarnym modyfikowanym serwatki i glukozą (A) lub sacharozą (B)
Microbiological dynamics in dried black livex modified with whey and glucose (A) or sucrose (B)

Czas przechowywania (miesiące) Time of storage (months)	Bakterie psychrotrofowe Psychrotrophic bacteria		Bakterie mezofilne Mesophilic bacteria		Bakterie proteolityczne Proteolytic bacteria		Plesnie i drożdże Moulds and yeast	
	A	B	A	B	A	B	A	B
0 (po wysuszeniu – after drying)	$1,8 \times 10^2$	$1,4 \times 10^2$	$1,2 \times 10^2$	$1,4 \times 10^2$	–	–	–	–
3	5×10^1	4×10^1	3×10^1	5×10^1	–	–	–	–
6	–	–	–	–	–	–	–	–
12	–	–	–	–	–	–	–	–
24	–	–	–	–	–	–	–	–
36	–	–	–	–	–	–	–	–

– oznacza: nie stwierdzono – means: not observed

Tabela 27
Table 27

Dynamika mikrobiologiczna w suszonym liwie białym modyfikowanym glukozą (A) lub sacharozą (B)
Microbiological dynamics in dried white lix modified with glucose (A) or sucrose (B)

Czas przechowywania (miesiące) Time of storage (months)	Bakterie psychrotrofowe Psychrotrophic bacteria		Bakterie mezofilne Mesophilic bacteria		Bakterie proteolityczne Proteolytic bacteria		Pleśnie i drożdże Moulds and yeast	
	A	B	A	B	A	B	A	B
0 (po wysuszeniu – after drying)	7 x 10 ¹	5 x 10 ¹	7 x 10 ¹	6 x 10 ¹	-	-	-	-
3	-	-	-	-	-	-	-	-
6	-	-	-	-	-	-	-	-
12	-	-	-	-	-	-	-	-
24	-	-	-	-	-	-	-	-
36	-	-	-	-	-	-	-	-

- oznacza: nie stwierdzono – means: not observed

Stan mikrobiologiczny wszystkich livexów suszonych był bardzo dobry, co jest wynikiem redukcji liczby bakterii, do której doszło w trakcie obróbki termicznej w wodzie a następnie – podczas suszenia. Najbardziej zanieczyszczone mikrobiologicznie były livexy suche z dodatkiem serwatki, z którą wprowadzane były do produktu bakterie ciepłooporne. Liczba bakterii w livexach modyfikowanych cukrami nie przekraczała 5×10^2 jtk/g (tab. 23–27).

4.2. Krzywe odbicia szczepów testowych w środowisku livexów modyfikowanych glukozą

Wartość z charakteryzuje ciepłooporność szczepów. W środowisku livexu białego największą ciepłooporność wykazywał *Staphylococcus aureus*, którego wartość z wyniosła 6,874°C. Mniejszą ciepłooporność w tym produkcie miały (w kolejności malejącej): *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* i *Salmonella Enteritidis* (rys. 11). W środowisku livexu brązowego i czarnego najbardziej ciepłoopornym okazał się natomiast szczep testowy *Pseudomonas aeruginosa*, przed *Staphylococcus aureus*, *Salmonella Enteritidis* i *Escherichia coli* (rys. 12–13). Podstawowe charakterystyki statystyczne opisujące badane zależności były znamienne na poziomie istotności $p < 0,001$. Uzyskane rozbieżności w zakresie ciepłooporności szczepów testowych, wprowadzonych do livexu białego i pozostałych produktów, wynikają prawdopodobnie ze zróżnicowania ich składu chemicznego. Livex biały, jako produkt wytworzony z plazmy krwi, zawierał istotnie mniej białka i tłuszczu niż livexy: brązowy i czarny. W procesie obróbki termicznej wymienione składniki chemiczne działają ochronnie na niektóre drobnoustroje.

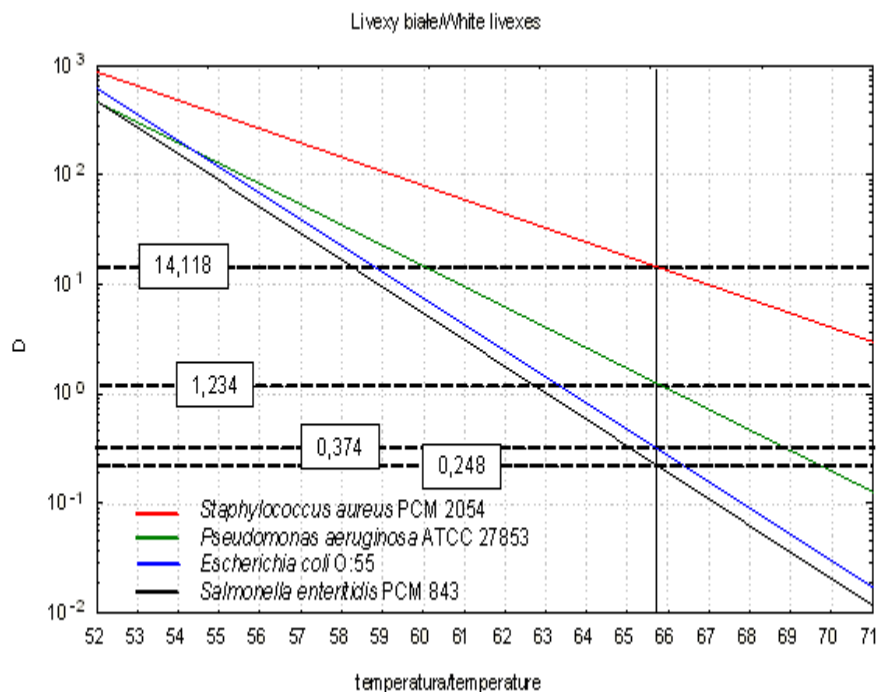
Analiza wartości F wykazała, że do redukcji na poziomie 7D najbardziej ciepłoopornych szczepów, *Staphylococcus aureus* w livexie białym i *Pseudomonas aeruginosa* w livexie brązowym i czarnym, konieczne jest działanie temperatury 65,6°C, utrzymujące się odpowiednio przez 14,1, 1,53 i 1,58 minut.

4.3. Livexy modyfikowane serwatką lub mlekiem

4.3.1. Livexy świeże

Mleko i serwatkę, w których rozpuszczano substancje utwardzające, łączono z gąszczem krwinek w proporcji 1:1. Średni czas żelowania mieszaniny nie przekraczał 20 minut (tab. 28).

Wartość pH livexów modyfikowanych mlekiem lub serwatką miała odczyn obojętny lub zasadowy (tab. 29), co jest zjawiskiem niekorzystnym, gdyż żywność o pH zasadowym może być odbierana organoleptycznie jako zepsuta.



Szczep – Strain	<i>z</i>	<i>F</i>
<i>Staphylococcus aureus</i> PCM 2054	6,874	14,118
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	5,712	1,234
<i>Escherichia coli</i> O:55	4,210	0,374
<i>Salmonella Enteritidis</i> PCM 843	4,190	0,248

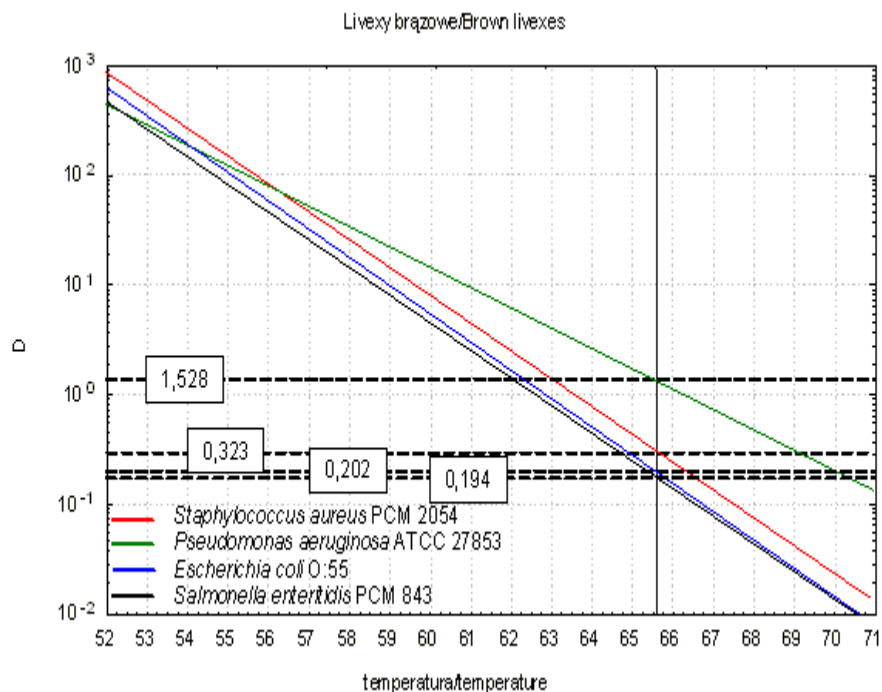
F (w minutach) – czas śmierci cieplnej w temperaturze odniesienia (65,6°C)

F (in minutes) – time of thermal death at reference temperature (65,6°C)

z (w °C) – 1/tg α, charakteryzuje nachylenie krzywej TDT

z (in °C) – 1/tg α, characterizes the inclination of TDT curve

Rys. 11. Krzywe odbicia szczepów testowych w środowisku livexu białego
 Fig. 11. The thermal death time curves of test strains in the environment of white livex



Szczep – Strain	z	F
<i>Staphylococcus aureus</i> PCM 2054	4,925	0,323
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	5,482	1,528
<i>Escherichia coli</i> O:55	3,740	0,202
<i>Salmonella Enteritidis</i> PCM 843	3,982	0,194

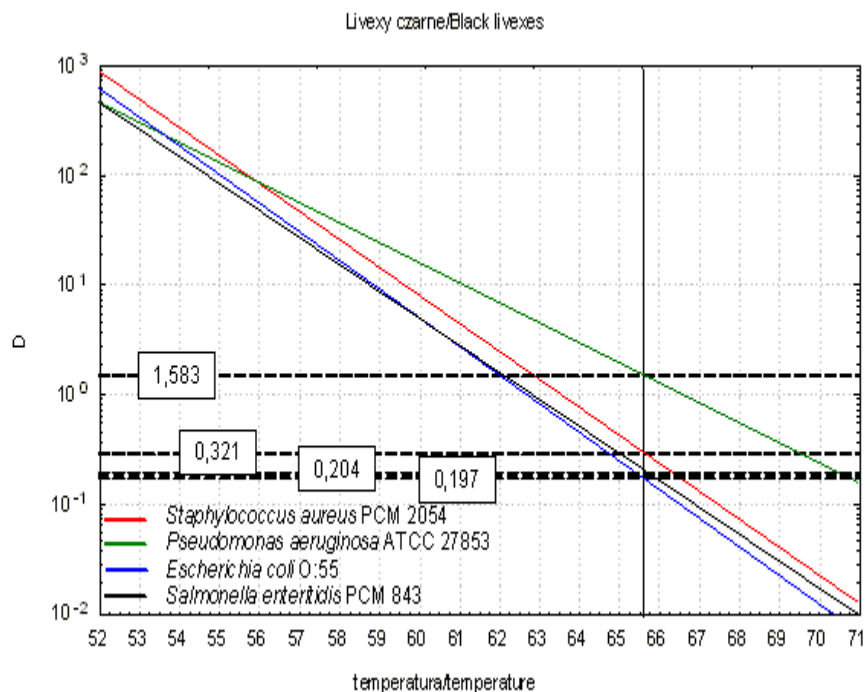
F (w minutach) – czas śmierci cieplnej w temperaturze odniesienia (65,6°C)

F (in minutes) – time of thermal death at reference temperature (65,6°C)

z (w °C) – $1/\text{tg } \alpha$, charakteryzuje nachylenie krzywej TDT

z (in °C) – $1/\text{tg } \alpha$, characterizes the inclination of TDT curve

Rys. 12. Krzywe odbicia szczepów testowych w środowisku livexu brązowego
 Fig. 12. The thermal death time curves of test strains in the environment of brown livex



Szczep – Strain	<i>z</i>	<i>F</i>
<i>Staphylococcus aureus</i> PCM 2054	4,328	0,321
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	5,246	1,583
<i>Escherichia coli</i> O:55	3,721	0,197
<i>Salmonella Enteritidis</i> PCM 843	3,842	0,204

F (w minutach) – czas śmierci cieplnej w temperaturze odniesienia (65,6°C)

F (in minutes) – time of thermal death at reference temperature (65,6°C)

z (w °C) – 1/tg α, charakteryzuje nachylenie krzywej TDT

z (in °C) – 1/tg α, characterizes the inclination of TDT curve

Rys. 13. Krzywe odbicia szczepów testowych w środowisku livexu czarnego
 Fig. 13. The thermal death time curves of test strains in the environment of black livex

Tabela 28

Table 28

Czas żelowania (w minutach) livexów czarnych modyfikowanych serwatką lub mlekiem
(SD – odchylenie standardowe, SE – błąd standardowy)
Gelation time (minutes) of black livex modified with whey or milk
(SD – standard deviation, SE – standard error)

Livex	Średnia Mean	SD	SE	mediana median	min.	max.
Czarny modyfikowany serwatką Black modified with whey	19,8	1,92	0,86	19	16,4	21,6
Czarny modyfikowany mlekiem Black modified with milk	17,8	1,74	0,78	18,2	15,8	21,2

Tabela 29

Table 29

Kwasowość czynna (pH) livexów czarnych modyfikowanych serwatką lub mlekiem
(SD – odchylenie standardowe, SE – błąd standardowy, med. – mediana)
The pH of black livex modified with whey or milk
(SD – standard deviation, SE – standard error, med – median)

Livex	Stan State	Średnia mean	SD	SE	med	min.	max.
Czarny modyfikowany serwatką Black modified with whey	przed before	7,19	0,074	0,033	7,10	7,04	7,26
	po after	7,0	0,120	0,054	6,92	6,84	7,18
Czarny modyfikowany serwatką Black modified with whey	przed before	7,22	0,144	0,064	7,14	7,02	7,28
	po after	7,04	0,204	0,091	6,98	6,89	7,22

Livexy modyfikowane serwatką lub mlekiem dobrze utrzymywały wodę, z tego względu w tej grupie produktów nie stwierdzono wycieku swobodnego. Wydajność livexów czarnych modyfikowanych serwatką wynosiła średnio 86,3% i była o 1% niższa niż w livexach modyfikowanych mlekiem – 87,2% (tab. 30).

Nie stwierdzono istotnych różnic dotyczących czasu żelowania i wydajności produkcyjnej livexów na poziomie istotności $p < 0,05$.

Badania chemiczne livexu czarnego modyfikowanego serwatką wykazały wysoką zawartość suchej masy, nawet do 26,2%. Średnia zawartość suchej masy wynosiła 20,4%, a białka – 18,2% (tab. 31). Analogiczne parametry livexu świeżego czarnego modyfikowanego mlekiem wynosiły: średnia zawartość suchej masy – 20,9%, zawartość białka – 18,9% (tab. 32).

Livex czarny modyfikowany serwatką pasteryzowano i przechowywano w takich samych warunkach jak livex czarny modyfikowany mlekiem.

Tabela 30

Table 30

Wydajność produkcyjna (w %) livexów czarnych modyfikowanych serwatką lub mlekiem
(SD – odchylenie standardowe, SE – błąd standardowy)
The productivity (%) of black livex modified with whey or milk
(SD – standard deviation, SE – standard error)

Livex	Średnia Mean	SD	SE	mediana median	min.	max.
Czarny modyfikowany serwatką Black modified with whey	86,3	5,42	2,42	88,5	83,2	92,7
Czarny modyfikowany mlekiem Black modified with milk	87,2	4,74	2,12	89,2	84,8	93,5

Tabela 31

Table 31

Skład chemiczny świeżego livexu czarnego modyfikowanego serwatką
(SD – odchylenie standardowe, SE – błąd standardowy)
Chemical composition of fresh black livex modified with whey
(SD – standard deviation, SE – standard error)

Wyróżnik Components	Średnia Mean	SD	SE	mediana median	min.	max.
Sucha masa (%) Dry matter (%)	20,4	1,25	0,56	21,3	19,2	26,2
Białko (%) Protein (%)	18,2	0,72	0,32	18,8	17,2	24,9
Tłuszcz (%) Fat (%)	0,25	0,035	0,016	0,27	0,23	0,31
Popiół (%) Ash (%)	0,98	0,058	0,026	1,02	0,85	1,38

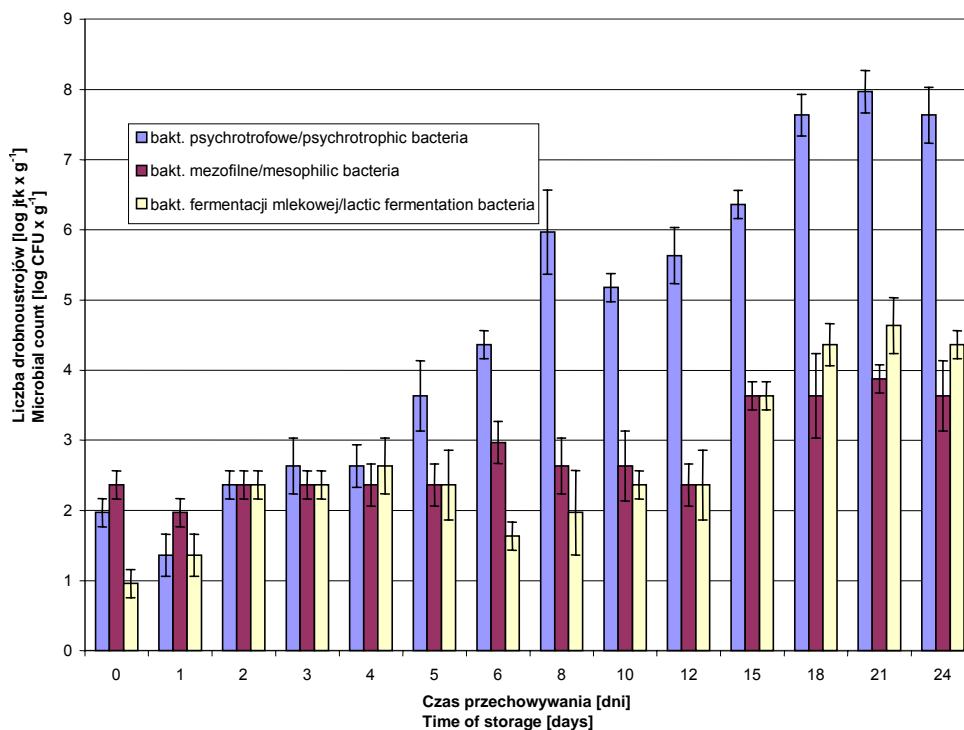
Tabela 32

Table 32

Skład chemiczny świeżego livexu czarnego modyfikowanego mlekiem
(SD – odchylenie standardowe, SE – błąd standardowy)
Chemical composition of fresh black livex modified with milk
(SD – standard deviation, SE – standard error)

Wyróżnik Components	Średnia Mean	SD	SE	mediana median	min.	max.
Sucha masa (%) Dry matter (%)	20,9	2,24	1,00	22,3	20,4	26,7
Białko (%) Protein (%)	18,9	0,87	0,39	19,1	17,9	22,3
Tłuszcz (%) Fat (%)	1,4	0,089	0,04	1,23	0,9	1,6
Popiół (%) Ash (%)	0,94	0,048	0,02	1,12	0,87	1,21

W wyniku pasteryzacji livexu czarnego modyfikowanego serwatką liczba stwierdzonych w nim bakterii mezofilnych i psychrotrofowych nie przekraczała 5×10^2 jtk/g, bakterii fermentacji mlekowej – 10^1 jtk/g, a pałeczek z rodziny *Enterobacteriaceae* nie stwierdzano (rys. 14).



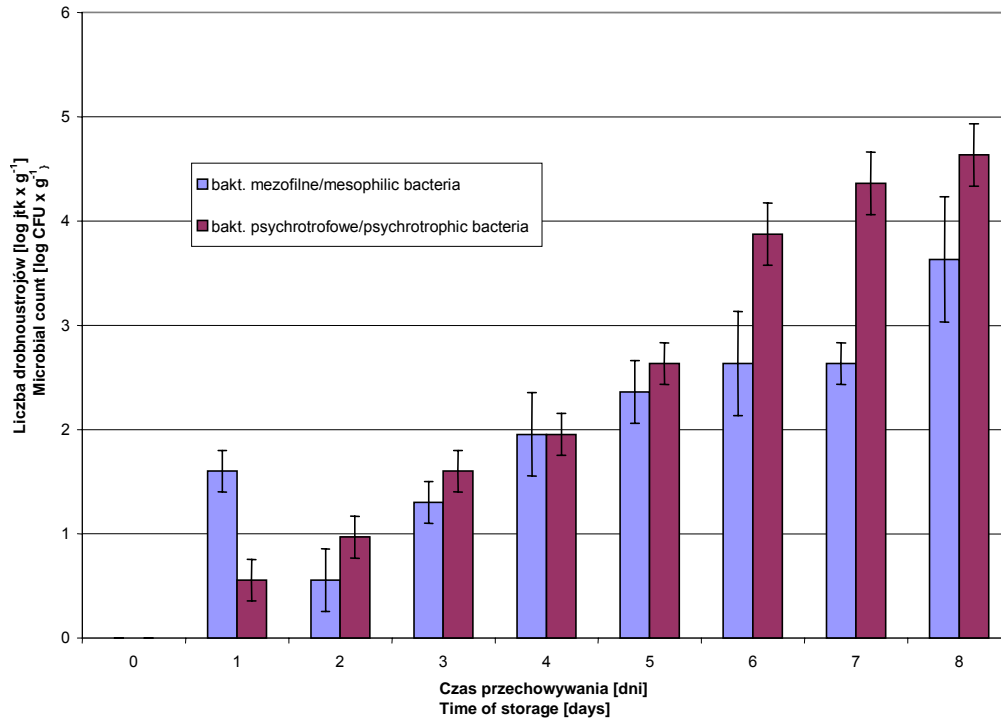
Rys. 14. Dynamika mikroflory w livexie czarnym świeżym modyfikowanym serwatką
 Fig. 14. The dynamics of microflora in fresh black livex modified with whey

Po 8 dniach przechowywania w temperaturze 0-2°C liczba bakterii psychrotrofowych osiągała poziom 10^6 jtk/g. Maksymalną jej wartość stwierdzono w 21 dniu eksperymentu. Produkt zawierał wtedy 10^8 jtk/g. Maksymalne liczby bakterii fermentacji mlekowej i bakterii mezofilnych wykazano po 21 dobach przechowywania (rys. 14).

Trwałość świeżego livexu czarnego modyfikowanego serwatką, który nie jest ostateczną formą użytkową, lecz stanowi półprodukt, z którego uzyskuje się livex suchy, określono na 6 dni przy przechowywaniu w temperaturze 2-4°C. Zmiany organoleptyczne livexu czarnego modyfikowanego serwatką wyrażają się głównie obecnością uszki, postępującej wraz z upływem czasu przechowywania.

Bezpośrednio po pasteryzacji w świeżym livexie czarnym modyfikowanym mlekiem nie stwierdzono obecności bakterii psychrotrofowych i mezofilnych. W trakcie przechowywania w temperaturze 2-4°C miał miejsce postępujący wzrost zawartości

obu grup drobnoustrojów. I tak, maksymalne liczby bakterii mezofilnych i psychrotrofowych, nieprzekraczające odpowiednio 10^4 i 10^5 jtk/g, stwierdzono po 8 dniach przechowywania (rys. 15).



Rys. 15. Dynamika mikroflory w livexie czarnym świeżym modyfikowanym mlekiem
 Fig. 15. The dynamics of microflora in fresh black livex modified with milk

4.3.2. Livexy suszone

W suchym livexie czarnym modyfikowanym serwatką zawartość suchej masy wynosiła 92%, białka – 84% (tab. 33).

Suchy livex czarny modyfikowany mlekiem miał 94% suchej masy, a zawartość białka wynosiła 97% (tab. 34).

Ogólna liczba bakterii psychrotrofowych i mezofilnych w suchym livexie czarnym modyfikowanym serwatką nie przekraczała 5×10^2 jtk/g po 6-miesięcznym okresie przechowywania (tab. 35). Dalsze przechowywanie produktu powodowało pełną eliminację drobnoustrojów, ponieważ w badanym livexie nie stwierdzano obecności bakterii ani pleśni i drożdży. Rezultat ten może być następstwem ich wymierania, spowodowanego niską zawartością wody.

Tabela 33
Table 33

Skład chemiczny livexu czarnego suchego modyfikowanego serwatką
(SD – odchylenie standardowe, SE – błąd standardowy)
Chemical composition of dried black livex modified with whey
(SD – standard deviation, SE – standard error)

Wyróżnik Components	Średnia Mean	SD	SE	mediana median	min.	max.
Sucha masa (%) Dry matter (%)	92,2	1,74	0,78	89,8	88,4	96,3
Białko (%) Protein (%)	84,1	3,92	1,75	85,3	81,3	89,2
Tłuszcz (%) Fat (%)	1,2	0,046	0,02	1,3	1,1	1,4
Popiół (%) Ash (%)	4,5	0,12	0,05	4,6	3,9	4,7

Tabela 34
Table 34

Skład chemiczny livexu czarnego suchego modyfikowanego mlekiem
(SD – odchylenie standardowe, SE – błąd standardowy)
Chemical composition of dried black livex modified with milk
(SD – standard deviation, SE – standard error)

Wyróżnik Components	Średnia Mean	SD	SE	mediana median	min.	max.
Sucha masa (%) Dry matter (%)	94,3	1,82	0,81	95,3	92,4	97,2
Białko (%) Protein (%)	87,2	0,42	0,19	86,2	85,7	88,9
Tłuszcz (%) Fat (%)	2,4	0,14	0,06	2,6	1,7	2,8
Popiół (%) Ash (%)	4,7	0,25	0,11	4,8	4,2	4,9

Tabela 35
Table 35

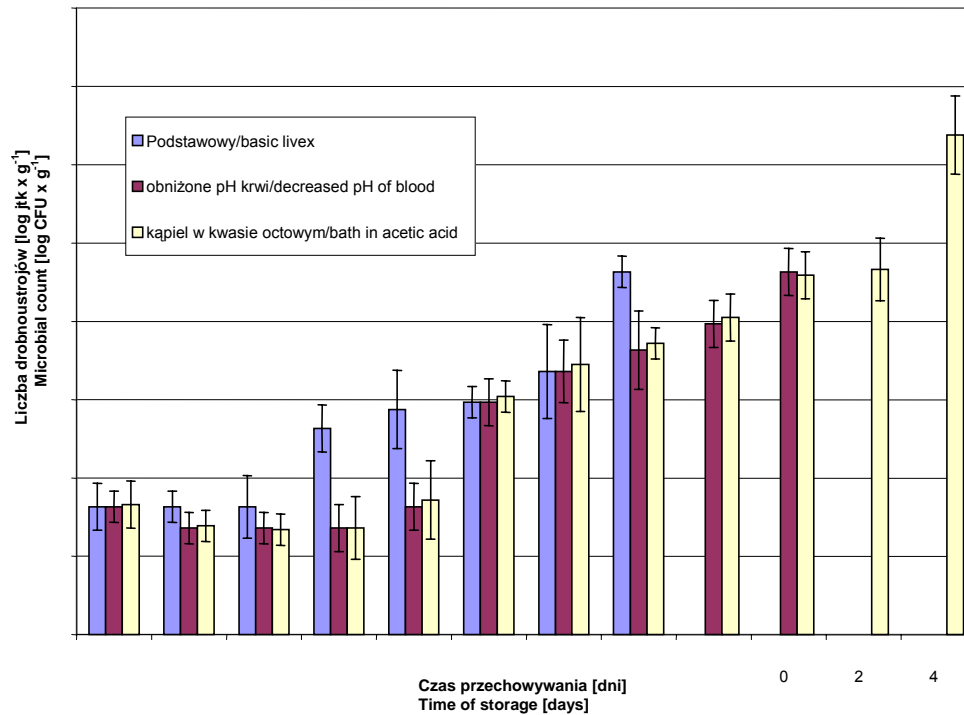
Dynamika mikrobiologiczna w livexie czarnym modyfikowanym serwatką, wysuszonym
w temperaturze 60-90°C i składowanym w temperaturze 22°C
Microbiological dynamics in black livex modified with whey, dried at 60–90°C
and stored at 22°C

Czas przechowywania (miesiące) Time of storage (months)	Bakterie psychrotrofowe Psychrotrophic bacteria	Bakterie mezofilne Mezophilic bacteria	Bakterie proteolityczne Proteolytic bacteria	Pleśnie i drożdże Moulds and yeast
0 (po wysuszeniu – after drying)	3×10^1	2×10^1	Nie stwierdzono Not observed	Nie stwierdzono Not observed
3	$2,3 \times 10^2$	$4,3 \times 10^2$		
6	$1,2 \times 10^2$	$1,2 \times 10^2$		
12	Nie stwierdzono Not observed			
24				
36				

W livexie suchym modyfikowanym mlekiem nie stwierdzano obecności bakterii oraz pleśni i drożdży zarówno bezpośrednio po produkcji, jak i po 3, 6, 12, 24 i 36 miesiącach przechowywania w temperaturze 22°C. Dobrą jakość mikrobiologiczną tej odmiany livexu wiązać należy z użyciem do produkcji mleka pasteryzowanego.

4.4. Livexy modyfikowane o obniżonym pH

Na rysunku 16 zestawiono wyniki badania trwałości livexu brązowego z krwi wieprzowej stabilizowanej NaCl, modyfikowanego mlekiem spożywczym w proporcji 50:50. Przy przechowywaniu w temperaturze 2–4°C trwałość wariantu podstawowego tego livexu wynosiła 7 dni. Obniżenie pH krwi użytej do jego produkcji do wartości 5,7 powodowało zwiększenie trwałości livexu do 11 dni, a zastosowanie kąpieli w 5% roztworze kwasu octowego – do 14 dni.



Rys. 16. Dynamika bakterii psychrotrofowych w livexach brązowych modyfikowanych mlekiem, livexie o pH 5.7 oraz livexie po 10-minutowym przetrzymywaniu w 5% kwasie octowym

Fig. 16. The dynamics of psychrotrophic bacteria in brown livex modified with milk at pH 5.7 and kept in 5% acetic acid for 10 minutes

4.5. Preparaty zawierające livex

Proces termicznego uzdatniania suchych preparatów (granulat, proszek) zawierających livex prowadzono w temperaturze 95, 85, 75, 65, 55 i 22°C. Za minimalną temperaturę o skuteczności bakteriobójczej przyjęto 55°C. Badania w temperaturze 22°C miały zobrazować, czy sam livex suchy, bez dodatkowego udziału temperatury, może wywierać wpływ na proces wymierania *Escherichia coli*.

Szczepy *Escherichia coli* wprowadzono do preparatów zawierających livex w postaci zawiesiny albo w formie wysuszonej, tzn. po jej odwirowaniu i wysuszeniu w temperaturze 37°C przez 24 godziny.

Liczba *Escherichia coli*, wprowadzonych w postaci zawiesiny do granulatu lub proszku, była o 2–3 cykle logarytmiczne wyższa od liczby bakterii w stanie wysuszonym, dodanej do tych preparatów. Badania skuteczności poszczególnych temperatur prowadzono do momentu, kiedy w dwóch kolejnych oznaczeniach nie stwierdzono obecności *Escherichia coli*.

Czas wymierania *Escherichia coli* O:55 PCM 419 był zróżnicowany. Najszybciej, po 12 godzinach, wymierały bakterie dodane w stanie wysuszonym do proszku lub granulatu zawierającego livex, poddanego działaniu temperatury 95°C (tab. 38–39). Komórki *Escherichia coli*, które dodano do omawianych preparatów w postaci zawiesiny, w temperaturze 95°C wymierały po 15 godzinach (tab. 36–37). Należy przypuszczać, że różnice w czasach eliminacji bakterii testowych z omawianych preparatów spowodowane były, między innymi, mniejszą liczbą żywych komórek wprowadzonych w formie wysuszonej. Porcja szczepu poddanego suszeniu, wprowadzana do badanego materiału w niniejszym eksperymencie, zawierała liczbę komórek o 2 cykle logarytmiczne niższą niż w zawieszynie.

Stosowanie niższych temperatur powodowało wydłużenie czasu eliminacji szczepu testowego *Escherichia coli*. W temperaturze 85°C komórki wprowadzone do badanych preparatów jako zawiesina wymierały po 24 godzinach. Natomiast przy zastosowaniu temperatur 75, 65 i 55°C czas eliminacji szczepu testowego wydłużał się odpowiednio do 144, 168 i 216 godzin (tab. 36–37).

Szczepy poddane procedurze suszenia, przetrzymywane w środowisku livexu sproszkowanego, wymierały po 15 godzinach działania temperatury 85°C, natomiast w granulacie czas wymierania był dłuższy o 3 godziny. Stosując temperatury 75 i 55°C, nie stwierdzono różnic czasu wymierania wysuszonych *Escherichia coli* w proszku i granulacie. W omawianych warunkach bakterie testowe ginęły odpowiednio po 144 i 216 godzinach. Z kolei w temperaturze 65°C czas wymierania *Escherichia coli* w granulacie był o 24 godziny dłuższy niż w proszku i wynosił 168 godzin (tab. 38–39).

Badania szczepu *Escherichia coli* O:111 PCM 418 wykazały jego mniejszą termooporność w porównaniu do serotypu O:55 PCM 419. Najszybciej, bo już po 9 godzinach, wymierały w obu preparatach bakterie wysuszone, poddane działaniu temperatury 95°C (tab. 42–43). Komórki *Escherichia coli*, dodane do preparatów w postaci zawiesiny, temperatura 95°C eliminowała po 12 godzinach (tab. 40–41). Wraz z obniżaniem temperatury środowiska obserwowano stopniowe wydłużanie się czasu przeżycia wprowadzonych bakterii, ale i tak ginęły one szybciej niż przetrzymywane w analogicznych warunkach komórki serotypu O:55. Pewne różnice w zakresie przeżywalności szczepów testowych w proszku i granulacie stwierdzono przy zastosowaniu temperatury 65°C.

Tabela 36
Table 36

Wpływ temperatury na przeżywalność bakterii *Escherichia coli* O:55 PCM 419 (= PCM 224) (wprowadzonych w postaci zawiesiny) w środowisku proszku zawierającego liwex
The effect of temperature on the survival of bacteria *Escherichia coli* O:55 PCM 419 (= PCM 224) (inoculated as a suspension) in the environment of liwex-containing powder

Czas ogrzewania [godziny] Heating time [hours]	Temperatura ogrzewania [°C] – Heating temperature [°C]					
	95	85	75	65	55	22
0	$9,5 \times 10^7$	$2,5 \times 10^7$	$2,5 \times 10^6$	$9,5 \times 10^6$	$9,5 \times 10^7$	$9,5 \times 10^6$
3	$9,5 \times 10^3$	$2,5 \times 10^5$	–	–	–	–
6	$9,5 \times 10^3$	$2,5 \times 10^3$	–	–	–	–
9	$2,5 \times 10^1$	$9,5 \times 10^1$	–	–	–	–
12	$0,3 \times 10^1$	$4,5 \times 10^1$	–	–	–	–
15	#	$0,3 \times 10^1$	–	–	–	–
18	#	$0,3 \times 10^1$	–	–	–	–
24	–	#	$2,5 \times 10^4$	$4,5 \times 10^5$	$4,5 \times 10^6$	$9,5 \times 10^5$
48	–	#	$2,5 \times 10^3$	$4,5 \times 10^3$	$4,5 \times 10^5$	$9,5 \times 10^4$
72	–	–	$2,5 \times 10^2$	$2,5 \times 10^2$	$9,5 \times 10^4$	$9,5 \times 10^4$
96	–	–	$9,5 \times 10^1$	$9,5 \times 10^1$	$1,5 \times 10^4$	$9,5 \times 10^4$
120	–	–	$2,5 \times 10^1$	$2,5 \times 10^1$	$1,5 \times 10^3$	$9,5 \times 10^4$
144	–	–	#	#	$4,5 \times 10^2$	$9,5 \times 10^4$
168	–	–	–	–	$9,5 \times 10^1$	$9,5 \times 10^4$
192	–	–	–	#	$2,5 \times 10^1$	$9,5 \times 10^4$
216	–	–	–	–	#	–
240	–	–	–	–	#	–

– oznacza: nie badano – means: not measured # oznacza: nie stwierdzono – means: not observed

Tabela 37
Table 37

Wpływ temperatury na przeżywalność bakterii *Escherichia coli* O:55 PCM 419 (= PCM 224) (wprowadzonych w postaci zawiesiny w środowisku granulatu zawierającego liwex
The effect of temperature on the survival of bacteria *Escherichia coli* O:55 PCM 419 (= PCM 224) (inoculated as a suspension) in the environment of liwex-containing granulate

Czas ogrzewania [godziny] Heating time [hours]	Temperatura ogrzewania [°C] – Heating temperature [°C]						
	95	85	75	65	55	22	
0	4,5 x 10 ⁷	9,5 x 10 ⁷	9,5 x 10 ⁷	4,5 x 10 ⁷	4,5 x 10 ⁷	2,5 x 10 ⁷	
3	4,5 x 10 ³	9,5 x 10 ⁵	–	–	–	–	
6	2,5 x 10 ²	4,5 x 10 ³	–	–	–	–	
9	0,9 x 10 ¹	9,5 x 10 ¹	–	–	–	–	
12	0,3 x 10 ¹	2,5 x 10 ¹	–	–	–	–	
15	#	0,3 x 10 ¹	–	–	–	–	
18	#	0,3 x 10 ¹	–	–	–	–	
24	–	#	2,5 x 10 ⁴	9,5 x 10 ⁴	2,5 x 10 ⁶	4,5 x 10 ⁶	
48	–	#	4,5 x 10 ²	4,5 x 10 ³	4,0 x 10 ⁵	2,5 x 10 ⁵	
72	–	–	2,5 x 10 ²	2,5 x 10 ²	2,5 x 10 ⁴	9,5 x 10 ⁴	
96	–	–	9,5 x 10 ¹	9,5 x 10 ¹	9,5 x 10 ³	9,5 x 10 ⁴	
120	–	–	4,5 x 10 ¹	2,0 x 10 ¹	2,5 x 10 ³	9,5 x 10 ⁴	
144	–	–	#	0,9 x 10 ¹	2,5 x 10 ²	9,5 x 10 ⁴	
168	–	–	#	#	4,5 x 10 ¹	9,5 x 10 ⁴	
192	–	–	–	–	2,5 x 10 ¹	9,5 x 10 ⁴	
216	–	–	–	–	4,5 x 10 ¹	9,5 x 10 ⁴	
240	–	–	–	–	2,5 x 10 ¹	9,5 x 10 ⁴	

– oznacza: nie badano – means: not measured # oznacza: nie stwierdzono – means: not observed

Tabela 38
Table 38

Wpływ temperatury na przeżywalność bakterii *Escherichia coli* O:55 PCM 419 (= PCM 224) (wprowadzonych w stanie wysuszonym) w środowisku proszku zawierającego liwex

The effect of temperature on the survival of bacteria *Escherichia coli* O:55 PCM 419 (= PCM 224) (inoculated in a dried form) in the environment of liwex-containing powder

Czas ogrzewania [godziny] Heating time [hours]	Temperatura ogrzewania [°C] – Heating temperature [°C]						
	95	85	75	65	55	22	
0	$9,5 \times 10^5$	$4,5 \times 10^5$	$4,5 \times 10^4$	$2,5 \times 10^4$	$9,5 \times 10^4$	$2,5 \times 10^4$	
3	$2,5 \times 10^2$	$9,5 \times 10^3$	–	–	–	–	–
6	$2,5 \times 10^1$	$4,5 \times 10^2$	–	–	–	–	–
9	$0,4 \times 10^1$	$2,5 \times 10^2$	–	–	–	–	–
12	#	$9,5 \times 10^1$	–	–	–	–	–
15	#	$2,5 \times 10^1$	–	–	–	–	–
18	–	#	–	–	–	–	–
24	–	–	$2,5 \times 10^2$	$9,5 \times 10^2$	$4,5 \times 10^3$	$2,5 \times 10^4$	–
48	–	–	$2,5 \times 10^1$	$2,5 \times 10^2$	$1,5 \times 10^3$	$2,5 \times 10^4$	–
72	–	–	$1,5 \times 10^1$	$9,3 \times 10^1$	$1,5 \times 10^2$	$2,5 \times 10^4$	–
96	–	–	$0,9 \times 10^1$	$4,5 \times 10^1$	$9,5 \times 10^1$	$2,5 \times 10^4$	–
120	–	–	$0,9 \times 10^1$	$0,9 \times 10^1$	$4,5 \times 10^1$	$4,5 \times 10^4$	–
144	–	–	#	#	$2,5 \times 10^1$	$2,5 \times 10^4$	–
168	–	–	–	–	$0,9 \times 10^1$	$2,5 \times 10^4$	–
192	–	–	–	–	$0,3 \times 10^1$	$2,5 \times 10^4$	–
216	–	–	–	–	#	$2,5 \times 10^4$	–
240	–	–	–	–	#	–	–

– oznacza: nie badano – means: not measured # oznacza: nie stwierdzono – means: not observed

Tabela 39
Table 39

Wpływ temperatury na przeżywalność bakterii *Escherichia coli* O:55 PCM 419 (= PCM 224) (wprowadzonych w stanie wysuszonym) w środowisku granulatu zawierającego liwex

The effect of temperature on the survival of bacteria *Escherichia coli* O:55 PCM 419 (= PCM 224) (inoculated in a dried form) in the environment of liwex-containing granulate

Czas ogrzewania [godziny] Heating time [hours]	Temperatura ogrzewania [°C] – Heating temperature [°C]						
	95	85	75	65	55	22	
0	$9,5 \times 10^5$	$4,5 \times 10^3$	$2,5 \times 10^5$	$2,5 \times 10^3$	$4,5 \times 10^3$	$4,5 \times 10^4$	
3	$2,5 \times 10^2$	$4,5 \times 10^3$	–	–	–	–	
6	$2,5 \times 10^1$	$4,5 \times 10^2$	–	–	–	–	
9	$0,3 \times 10^1$	$9,5 \times 10^1$	–	–	–	–	
12	#	$2,5 \times 10^1$	–	–	–	–	
15	#	$0,9 \times 10^1$	–	–	–	–	
18	–	#	–	–	–	–	
24	–	–	$4,5 \times 10^3$	$9,5 \times 10^3$	$4,5 \times 10^3$	$2,5 \times 10^4$	
48	–	–	$2,5 \times 10^2$	$9,5 \times 10^2$	$1,5 \times 10^3$	$2,5 \times 10^4$	
72	–	–	$9,5 \times 10^1$	$2,5 \times 10^2$	$2,5 \times 10^2$	$4,5 \times 10^4$	
96	–	–	$4,5 \times 10^1$	$9,5 \times 10^1$	$9,3 \times 10^1$	$2,5 \times 10^4$	
120	–	–	$0,9 \times 10^1$	$2,5 \times 10^1$	$4,5 \times 10^1$	$2,5 \times 10^4$	
144	–	–	#	$0,9 \times 10^1$	$2,5 \times 10^1$	$2,5 \times 10^4$	
168	–	–	–	#	$0,9 \times 10^1$	$2,5 \times 10^4$	
192	–	–	–	#	$0,3 \times 10^1$	$2,5 \times 10^4$	
216	–	–	–	–	#	$2,5 \times 10^4$	
240	–	–	–	–	#	–	

– oznacza: nie badano – means: not measured # oznacza: nie stwierdzono – means: not observed

Tabela 40
Table 40

Wpływ temperatury na przeżywalność bakterii *Escherichia coli* O:111 PCM 418 (= PCM 227) (wprowadzonych w postaci zawiesiny w środowisku proszku zawierającego liwex
The effect of temperature on the survival of bacteria *Escherichia coli* O:111 PCM 418 (= PCM 227) (inoculated as a suspension in the environment of liwex-containing powder

Czas ogrzewania [godziny] Heating time [hours]	Temperatura ogrzewania [°C] – Heating temperature [°C]					
	95	85	75	65	55	22
0	$2,5 \times 10^8$	$4,5 \times 10^8$	$4,5 \times 10^8$	$9,5 \times 10^7$	$4,5 \times 10^8$	$9,5 \times 10^7$
3	$2,5 \times 10^3$	$7,5 \times 10^3$	–	–	–	–
6	$2,5 \times 10^1$	$9,5 \times 10^1$	–	–	–	–
9	$0,3 \times 10^1$	$0,3 \times 10^1$	–	–	–	–
12	#	#	–	–	–	–
15	#	#	–	–	–	–
24	–	–	$4,5 \times 10^3$	$9,3 \times 10^3$	$4,5 \times 10^4$	$4,5 \times 10^5$
48	–	–	$4,5 \times 10^1$	$9,3 \times 10^1$	$4,5 \times 10^3$	$2,5 \times 10^5$
72	–	–	$1,5 \times 10^1$	$4,5 \times 10^1$	$2,5 \times 10^2$	$2,5 \times 10^5$
96	–	–	#	$0,3 \times 10^1$	$2,5 \times 10^1$	$2,5 \times 10^5$
120	–	–	#	#	$0,3 \times 10^1$	$2,5 \times 10^5$
144	–	–	–	–	#	–
168	–	–	–	–	#	–
192	–	–	–	–	–	–
216	–	–	–	–	–	–
240	–	–	–	–	–	–

– oznacza: nie badano – means: not measured # oznacza: nie stwierdzono – means: not observed

Tabela 41
Table 41

Wpływ temperatury na przeżywalność bakterii *Escherichia coli* O:111 PCM 418 (= PCM 227) (wprowadzonych w postaci zawiesiny w środowisku granulatu zawierającego liwex

The effect of temperature on the survival of bacteria *Escherichia coli* O:111 PCM 418 (= PCM 227) (inoculated as a suspension) in the environment of liwex-containing granulate

Czas ogrzewania [godziny] Heating time [hours]	Temperatura ogrzewania [°C] – Heating temperature [°C]						
	95	85	75	65	55	22	
0	$9,5 \times 10^8$	$2,0 \times 10^8$	$2,5 \times 10^8$	$2,5 \times 10^8$	$9,5 \times 10^7$	$2,5 \times 10^8$	
3	$4,5 \times 10^3$	$7,5 \times 10^3$	–	–	–	–	
6	$1,5 \times 10^1$	$4,5 \times 10^1$	–	–	–	–	
9	$0,3 \times 10^1$	$0,3 \times 10^1$	–	–	–	–	
12	#	#	–	–	–	–	
15	#	#	–	–	–	–	
24	–	–	$2,5 \times 10^3$	$2,5 \times 10^2$	$2,5 \times 10^3$	$4,5 \times 10^6$	
48	–	–	$4,5 \times 10^1$	$2,5 \times 10^1$	$2,5 \times 10^3$	$2,5 \times 10^5$	
72	–	–	$2,5 \times 10^1$	$0,9 \times 10^1$	$4,5 \times 10^1$	$1,5 \times 10^5$	
96	–	–	#	#	$0,9 \times 10^1$	$2,5 \times 10^5$	
120	–	–	#	#	$0,3 \times 10^1$	$2,5 \times 10^5$	
144	–	–	–	–	#	–	
168	–	–	–	–	#	–	
192	–	–	–	–	–	–	
216	–	–	–	–	–	–	
240	–	–	–	–	–	–	

– oznacza: nie badano – means: not measured # oznacza: nie stwierdzono – means: not observed

Tabela 42
Table 42

Wpływ temperatury na przeżywalność bakterii *Escherichia coli* O:111 PCM 418 (= PCM 227) (wprowadzonych w stanie wysuszonym w środowisku proszku zawierającego liwex w środowisku proszku zawierającego liwex
The effect of temperature on the survival of bacteria *Escherichia coli* O:111 PCM 418 (= PCM 227) (inoculated in a dried form) in the environment of liwex-containing powder

Czas ogrzewania [godziny] Heating time [hours]	Temperatura ogrzewania [°C] – Heating temperature [°C]					
	95	85	75	65	55	22
0	$2,5 \times 10^6$	$2,5 \times 10^6$	$9,3 \times 10^3$	$9,5 \times 10^4$	$4,5 \times 10^3$	$9,5 \times 10^4$
3	$2,5 \times 10^2$	$9,5 \times 10^3$	–	–	–	–
6	$0,9 \times 10^1$	$7,5 \times 10^2$	–	–	–	–
9	#	$0,9 \times 10^1$	–	–	–	–
12	#	#	–	–	–	–
24	–	–	$2,5 \times 10^2$	$2,5 \times 10^3$	$9,5 \times 10^3$	$9,3 \times 10^3$
48	–	–	$9,5 \times 10^1$	$1,5 \times 10^2$	$4,5 \times 10^2$	$1,5 \times 10^4$
72	–	–	$2,5 \times 10^1$	$2,5 \times 10^1$	$1,5 \times 10^2$	$2,5 \times 10^4$
96	–	–	#	#	$2,5 \times 10^1$	$2,5 \times 10^4$
120	–	–	#	#	$0,3 \times 10^1$	$2,5 \times 10^4$
144	–	–	–	–	#	–
168	–	–	–	–	–	–
192	–	–	–	–	–	–
216	–	–	–	–	–	–
240	–	–	–	–	–	–

– oznacza: nie badano – means: not measured # oznacza: nie stwierdzono – means: not observed

Tabela 43
Table 43

Wpływ temperatury na przeżywalność bakterii *Escherichia coli* O:111 PCM 418 (= PCM 227) (wprowadzonych w stanie wysuszonym w środowisku granulatu zawierającego liwex)
The effect of temperature on the survival of bacteria *Escherichia coli* O:111 PCM 418 (= PCM 227) (inoculated in a dried form) in the environment of liwex-containing granulate

Czas ogrzewania [godziny] Heating time [hours]	Temperatura ogrzewania [°C] – Heating temperature [°C]					
	95	85	75	65	55	22
0	$4,5 \times 10^6$	$9,5 \times 10^5$	$2,5 \times 10^5$	$4,5 \times 10^5$	$9,3 \times 10^5$	$2,5 \times 10^5$
3	$1,5 \times 10^2$	$1,5 \times 10^4$	–	–	–	–
6	$0,9 \times 10^1$	$9,3 \times 10^2$	–	–	–	–
9	#	$0,3 \times 10^1$	–	–	–	–
12	#	#	–	–	–	–
24	–	–	$2,5 \times 10^2$	$4,5 \times 10^3$	$2,5 \times 10^3$	$2,5 \times 10^4$
48	–	–	$9,5 \times 10^1$	$2,5 \times 10^2$	$4,5 \times 10^2$	$2,5 \times 10^4$
72	–	–	$2,5 \times 10^1$	$4,5 \times 10^1$	$9,3 \times 10^1$	$1,5 \times 10^4$
96	–	–	#	$0,3 \times 10^1$	$2,5 \times 10^1$	$2,5 \times 10^4$
120	–	–	#	#	$0,9 \times 10^1$	$2,5 \times 10^4$
144	–	–	–	#	#	–
168	–	–	–	–	–	–
192	–	–	–	–	–	–
216	–	–	–	–	–	–
240	–	–	–	–	–	–

– oznacza: nie badano – means: not measured # oznacza: nie stwierdzono – means: not observed

Poddane suszeniu komórki *E. coli*, przetrzymywane w środowisku proszku zawierającego livex, w temperaturze 65°C wymierały w czasie 96 godzin (tab. 42), natomiast w środowisku granulatu – po 120 godzinach (tab. 43). Nie stwierdzono natomiast różnic czasu przeżycia bakterii, wprowadzonych w formie zawiesiny do proszku lub granulatu i eksponowanych na działanie temperatury 65°C. Niezależnie od rodzaju środowiska bakterie testowe wymierały po 120 godzinach działania tej temperatury (tab. 40–41).

W zależności od formy preparatu i właściwości badanego szczepu, liczba komórek *Escherichia coli*, wprowadzonych w postaci zawiesiny do granulatu lub proszku zawierającego livex, ulegała redukcji o 2–3D po upływie 24–48 godzin przetrzymywania w temperaturze 22°C (tab. 36, 37, 40, 41). Natomiast liczba komórek bakteryjnych wprowadzonych do omawianych preparatów po uprzednim wysuszeniu nie ulegała znaczącym zmianom pod wpływem działania temperatury 22°C (tab. 38, 39, 42, 43).

5. Dyskusja

Jednym z problemów przemysłu mięsnego jest kwestia zagospodarowania i wykorzystania krwi zwierząt rzeźnych i innych ubocznych produktów uboju, tak żeby nie stanowiły one zagrożenia dla ludzi, zwierząt i środowiska.

Krew lub jej frakcje mogą być przeznaczone do bezpośredniej produkcji wyrobów, jednak ze względu na możliwości szybkiego rozwoju drobnoustrojów są surowcem nietrwałym, który może spowodować zagrożenie zdrowia konsumenta. W dużych zakładach amerykańskich i europejskich krew lub jej frakcje utrwała się poprzez suszenie metodą rozpyłową. W Polsce dokonuje się uboju zwierząt rzeźnych przeważnie w małych zakładach, dlatego przetwarzanie pozyskanej krwi lub jej frakcji metodą rozpyłową wydaje się ekonomicznie nieuzasadnione. Proces ten wymaga bowiem znacznych ilości przetwarzanego surowca oraz dużych nakładów energetycznych. Synchronizacja procesu przetwórczego wykorzystania krwi zwierząt rzeźnych lub jej frakcji natychmiast po pozyskaniu jest w warunkach małego zakładu zadaniem trudnym. Tylko niewielka jej część może być wykorzystana do produkcji tradycyjnych wyrobów krwistych, takich jak salceson czy kaszanka. Pozostała pula krwi powinna być szybko utrwalona w celu poprawienia lub wręcz zachowania zdolności przetwórczej. Produkcja izolatów białek krwi czy jej odwodnienie technikami membranowymi są kosztowne, materiałochłonne i wymagają specjalistycznego oprzyrządowania aparaturowego. Utrwalanie chłodnicze czy dodawanie związków chemicznych napotykać na trudności z magazynowaniem krwi i jej frakcji i stwarzają tym samym zagrożenie bezpieczeństwa mikrobiologicznego.

Produkcja livexów wydaje się być alternatywą dla obecnie stosowanych technologii i jest możliwa do wykorzystania niemal w każdym zakładzie, niezależnie od jego wielkości. Uzyskane korzystne efekty zastosowanej technologii produkcji livexów to zmiana konsystencji z płynnej na stałą, możliwości modyfikacji oraz dobra jakość mikrobiologiczna i trwałość. W dostępnym piśmiennictwie brak jest jednak danych umożliwiających porównanie trwałości livexów z innymi produktami z krwi.

Przetwarzając krew, plazmę krwi lub gęszcz krwinek na livex, z surowca o konsystencji płynnej uzyskuje się produkt o konsystencji stałej. Właściwość ta jest nie bez znaczenia dla dalszych etapów procesu produkcyjnego, ułatwia transport oraz dyspozycyjność, a uzyskiwana jest dzięki przeprowadzeniu procesu żelowania. Czas niezbędny dla jego wykonania ma istotne znaczenie dla opłacalności zagospodarowania krwi. Wykonane doświadczenia wykazały, że najszybciej żelują livexy brązowe modyfikowane tylko glukozą, dla których czas ten nie przekracza 6 minut. Stwierdzono, że niewielki dodatek cukru przyspiesza ten proces. Badania prowadzone w tym kierunku znacznie rozbudowano, a wynikiem tego etapu pracy były patenty [Nr Pat. PRL 122519, 132066, 135106, 140744, 141083; Zaleski i wsp., 1987, 1993a, b].

Oprócz fibrynogenu czynnikiem biorącym udział w procesie żelowania livexów jest czynnik XIII krzepnięcia krwi, czyli transglutaminaza. Występuje ona we krwi i innych tkankach, ale może także być produktem bakterii. Efektem działania wymienionych czynników jest trwałe połączenie różnych surowców [Motoki i Seguro, 1998; Krakowiak i Czekaj, 1999; Kalinowska i wsp., 2000; Kołakowski i Sikorski, 2001; Gerrard i wsp., 2002, 2003].

Czas żelowania livexów modyfikowanych jest jednym z wielu czynników limitujących czas trwania całego procesu produkcyjnego. Czas optymalny, z technologicznego punktu widzenia, nie powinien przekraczać 20 minut i w takim jego przedziale żelowały wszystkie badane livexy. Przy dłuższym czasie żelowania dochodzi do namnażania się bakterii, które wzrastając i produkując metabolity, prawdopodobnie degradują związki chemiczne krwi i wówczas proces żelowania może ulec zaburzeniu.

Przeprowadzone badania wykazały, że czas żelowania można skrócić używając wyciągów tkankowych, np. wątrobowego [Jarmoluk i wsp., 1986, 1991; Duda i wsp., 1989; Patent PRL nr 149112]. Karpiak i wsp. (1988) wykazali, że wydłużenie czasu żelowania nie jest spowodowane ani aktywnością enzymów tkankowych, ani nie jest związane ze stresem zdrowych świń poddawanych ubojowi. Wydłużenie czasu żelowania jest najczęściej wynikiem przedawkowania cytrynianu sodu.

Obróbka termiczna livexów modyfikowanych przeprowadzana w wodzie o temperaturze 80°C nie tylko utrwala ich strukturę, ale również powoduje redukcję liczby bakterii. Jej parametry sprawdzono posługując się szczepami testowymi. Ze względu na brak możliwości uzyskania najbardziej ciepłoopornych wśród szczepów pałeczek *Salmonella*: *Salmonella Senftenberg* 775W i *Salmonella Oranienburg* – do badań użyto najbardziej ciepłoopornego spośród dostępnych szczepów – *Salmonella Enteritidis* PCM 843. Ochronny wpływ środowiska livexów na wrażliwość cieplną drobnoustrojów badano również w odniesieniu do szczepów *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Escherichia coli* O:55 PCM 224 i *Staphylococcus aureus* PCM 2054. Badania miały dać odpowiedź, czy i w jaki sposób środowisko, w którym te bakterie mają największe możliwości wzrostu, tj. livexy białe, brązowe i czarne modyfikowane glukozą, oddziałuje na ich wrażliwość cieplną. Stwierdzono, że najbardziej ciepłooporne szczepy *Staphylococcus aureus* i *Pseudomonas aeruginosa* ulegają redukcji na poziomie wyższym niż wymagany dla zapewnienia bezpieczeństwa produktu. Pozostałe szczepy wykazywały większą wrażliwość cieplną.

Livexy modyfikowane glukozą lub sacharozą charakteryzują się bardzo dobrym stanem mikrobiologicznym. Wykazano, że pasteryzacja, a następnie przechowywanie w temperaturze 4°C, warunkują utrzymanie optymalnej trwałości mikrobiologicznej livexów białych, brązowych i czarnych przez odpowiednio 9, 7 i 5 dni. Takie parametry trwałości pozwalają na wykorzystanie świeżych livexów modyfikowanych cukrami do celów kosmetycznych bądź na ich dalsze utrwalenie przez wysuszenie.

Wysuszone livexy modyfikowane cukrami, ze względu na trwałość przekraczającą 36 miesięcy, są także – jak wykazały badania – produktami bezpiecznymi pod względem mikrobiologicznym. Ich trwałość związana jest z niską zawartością wody. Znaczne zanieczyszczenie bakteryjne wnosi jedynie serwatka, w której mogą znajdować się bakterie odporne na działanie obróbki termicznej. Jednakże niska aktywność wody jest czynnikiem, który ogranicza ich rozwój, a w dłuższym przedziale czasu powoduje ich wymieranie.

Wysuszone livexy modyfikowane mogą znaleźć zastosowanie np. w premiksach dla zwierząt oraz odżywkach dla ludzi [Janiak i wsp., 1986; Nicpoń i wsp., 1987; Jasek i wsp., 1993]. Zastosowanie u ludzi produktów zawierających krew lub jej frakcje jest praktycznie nieograniczone. Podobne zastosowania mogą mieć także u zwierząt, u których preparaty krwi, zgodnie ze stosownymi przepisami europejskimi i krajowymi, mogą być podawane pod warunkiem, że nie pochodzą od tego samego gatunku [PE, 2002; MRiRW 2003, 2004].

Należy sądzić, że cukry, dodane do krwi zwierzęcej, plazmy krwi czy do gąszczu krwinek, są naturalnie wbudowywane w tworzące się struktury livexów. Struktury te są następnie utrwalane w procesie pasteryzacji, co jest niezwykle korzystne dla ich różnych zastosowań mimo ubytku z nich części glukozy lub sacharozy. Dzięki takiemu postępowaniu uzyskuje się prawdopodobnie livexy o lepszych parametrach, które mogą znaleźć zastosowanie w przemyśle farmaceutycznym i kosmetycznym. Powyższa teza wymaga jednak potwierdzenia przez przeprowadzenie dodatkowych badań.

Opracowanie nowych odmian livexów modyfikowanych serwatką i glukozą lub sacharozą albo tylko glukozą lub sacharozą umożliwi lepsze i wszechstronniejsze zagospodarowanie zarówno krwi, jak i jej poszczególnych frakcji. Wykazano również dalsze możliwości zwiększania trwałości poszczególnych wariantów livexów poprzez ich wysuszenie.

Wartość pH badanych livexów przed pasteryzacją zbliżona była do wartości pH użytych surowców, tj. pełnej krwi, plazmy krwi czy gąszczu krwinek. Korzystny kwaśny odczyn livexów uzyskano tylko w przypadku zastosowania serwatki, zakwaszenia kwasem octowym lub kąpeli w kwasie octowym.

Używając kwasu octowego obniżono wartość pH livexu brązowego modyfikowanego mlekiem spożywczym do 5,7. Pozwoliło to na przedłużenie jego trwałości do 9–10 dni. Natomiast 10-minutowa kąpiel tego livexu w 5% roztworze kwasu octowego umożliwiła wydłużenie trwałości produktu do 14 dni.

Kwasy: octowy, bursztynowy czy propionowy, oprócz obniżenia wartości pH, używane są także do acylowania białek. Metoda ta, obok metody enzymatycznej, stosowana jest w poszukiwaniu nowych niekonwencjonalnych źródeł białek o pożądanych właściwościach fizycznych, chemicznych i/lub reologicznych [Stasińska, 1997; Sikorski, 2002]. Szybkość samej reakcji zależy od rodzaju czynnika acylującego, pH środowiska, konformacji białka i obecności inhibitorów. Acylowanie reszt aminokwasów przesuwają punkt izoelektryczny, zmieniając hydrofobowość białka, wzbogaca cząsteczkę w grupy funkcyjne i zwiększa zdolność wiązania jonów metali w wyniku dodatkowego usieciowania. Metoda ta znalazła zastosowanie przy produkcji koncentratów i izolatów białkowych. Zatem zastosowanie kwasu octowego wpływa także korzystnie na tworzenie się pożądanego usieciowania livexów.

Zastosowanie serwatki do modyfikacji livexów powodowało, podobnie jak w przypadku zastosowania kwasu octowego, obniżenie ich pH do 7,0, powodowane przez obecny w niej kwas mlekowy. Serwatka wzbogaca livexy w białko, składniki mineralne czy enzymy. Jej udział w mieszaninie krwi, plazmy krwi lub gąszczu krwinek może być powodem modyfikacji enzymatycznych w składnikach żywności. Modyfikacje te uważane są za najbardziej bezpieczne pod względem zdrowotnym i stanowią najbardziej efektywną metodę przy rozważaniu nowych rozwiązań technologicznych, [Sikorski 2002].

Użycie mleka w produkcji livexów modyfikowanych miało na celu ich wzbogacenie w składniki odżywcze. Niekorzystnym efektem zestawienia krwi zwierzęcej i mleka jest pH produktu (7,04), natomiast zapewne korzystne jest wprowadzenie z mlekiem naturalnych czynników antybakteryjnych. Zalicza się do nich laktoferynę i laktoglobuliny mleka. Także we krwi lub jej frakcjach występują czynniki antybakteryjne, które w połączeniu z obróbką termiczną na poziomie pasteryzacji – dają pożądany efekt bezpieczeństwa mikrobiologicznego [Roos i wsp., 2003].

Kwestia mechanizmu bezpośredniego działania przeciwbakteryjnego różnych substancji wciąż nie jest do końca wyjaśniona. Wiadomo jednak, że zastosowanie kilku czynników w małych dawkach – daje efekt silniejszy niż w przypadku jednego działającego w dużej koncentracji [Leistner, 2000]. U podstawy tego zjawiska leży upośledzenie zdolności adaptacyjnych i procesów naprawczych komórek bakteryjnych. Przykładem może być zastosowanie nizyny i lizozymu uszkadzających błony komórkowe bakterii w połączeniu z cytrynianem sodu, który wywiera efekt przeciwbakteryjny po wnikięciu do wnętrza komórki, zakłócając jej metabolizm. Podobne działanie może wywierać cytrynian sodu stosowany do stabilizacji krwi. Wywierany przez niego efekt może wzmacniać lizozym i inne aktywne czynniki przeciwbakteryjne zawarte w surowicy krwi czy dodatek laktoferyny, laktoperoksydazy lub laktoglobulin mleka, albo serwatki. Naturalnymi czynnikami przeciwbakteryjnymi mogą być również kwasy organiczne: cytrynowy, mlekowy i octowy [Roos i wsp., 2003].

Wyznaczona wydajność produkcyjna livexów zawierających glukozę lub sacharozę oscylowała w granicach 85%. Nieco wyższą jej wartość wyliczono dla livexów brązowych modyfikowanych glukozą. Jej wielkość zależy przede wszystkim od rodzaju surowców użytych do produkcji livexów oraz utraty płynów w czasie pasteryzacji.

W czasie przechowywania następuje dalsza utrata płynów w wyniku swobodnego wycieku. Zjawisko to znane jest w wielu surowcach, występuje także w modyfikowanych livexach białych i brązowych. Oznaczone jego ilości odnosiły się do pojedynczych walców livexów i były spowodowane naciskiem ich własnego ciężaru. Najwięcej wycieku oznaczono w modyfikowanych livexach białych. W analogicznych odstępach czasu mniejsze ilości wycieku stwierdzono w modyfikowanych livexach brązowych, a w livexach czarnych w zasadzie nie stwierdzono wycieków, a ubytek masy podczas przetrzymywania w temperaturze 4°C mógł być spowodowany ich wysychaniem. W modyfikowanych livexach białych oraz brązowych istnieje zatem możliwość zagęszczenia białka, poprzez utratę płynu w sposób swobodny, a także – jak należy przypuszczać – w sposób wymuszony.

Wyniki badań chemicznych uzależnione były od jakości użytych surowców, tj. pełnej krwi, plazmy krwi oraz gęszczy krwinek. Przy ocenie chemicznej zwraca uwagę fakt, że dodatek serwatki z reguły powodował zmniejszenie zawartości suchej masy. Pomimo jej zmniejszenia dodatek serwatki prowadził do korzystnej zmiany pH livexu, i w konsekwencji do poprawy jego cech organoleptycznych. Ilość białka zawartego w livexach modyfikowanych uzależniona była od ich rodzaju. Największe jego koncentracje stwierdzono w livexach czarnych (od 15,6 do 17,1%), mniejsze – w livexach brązowych (od 12 do 16,6%), najmniejsze – w livexach białych (od 5,6 do 5,8%). Prawidłowość ta wynika z zawartości białka w użytych do produkcji surowcach. Jego zawartość w livexach modyfikowanych jest zbliżona do stwierdzonej w analogicznych livexach

podstawowych [Malicki, 1994]. W związku z powyższym należy przypuszczać, że do wody parzelnej przechodzą tylko niewielkie ilości białka.

Przeprowadzone badania wykazały, że początkowa zawartość glukozy (3%) w surowcu zmniejsza się w wyniku procesów produkcyjnych. Koncentracja glukozy w gotowym livexie wahała się, w zależności od rodzaju produktu, od 1,42 (brązowy modyfikowany glukoza) do 2,55% (biały modyfikowany glukoza). Uzyskane wyniki wskazują, że część glukozy przechodzi w trakcie pasteryzacji livexu do wody parzelnej, co jest zjawiskiem niekorzystnym.

Początkowa zawartość sacharozy (6%) również obniżała się w trakcie wytwarzania livexów i osiągała, zależnie od rodzaju produktu finalnego, od 4,2 (livex czarny modyfikowany wyłącznie sacharozą) do 5,7% (livex brązowy modyfikowany wyłącznie sacharozą). Należy sądzić, że podobnie jak glukoza – także sacharoza, choć w mniejszej ilości, wydostaje się do wody parzelnej podczas pasteryzacji.

Chociaż uzyskane wysuszone livexy i preparaty zawierające livex charakteryzowały się bardzo dobrym stanem mikrobiologicznym, to w czasie ich produkcji może dochodzić do zanieczyszczenia *Escherichia coli*, w następstwie stosowanych zabiegów technologicznych. W celu uzdatnienia i uzyskania właściwego stanu mikrobiologicznego preparatów zawierających livex postanowiono zastosować obróbkę termiczną. Aby uzyskać redukcję pałeczek *Salmonella Oranienburg* na poziomie 6–7 D, konieczne jest przetrzymywanie proszku jajowego przez 2 tygodnie w temperaturze 55°C [Malicki, 2000]. W cytowanym eksperymencie zastosowano temperaturę 55°C w celu zminimalizowania zmian chemicznych w produkcie. Z tych powodów, również w niniejszym układzie doświadczalnym do uzyskania redukcji liczby wzorcowych szczepów *Escherichia coli* O:55 PCM 419 i O:111 PCM 418 zastosowano temperaturę 55°C.

W związku z tym, że zastosowana w czasie składowania preparatów zawierających livex temperatura 55°C powodowała redukcję liczby komórek *Escherichia coli* na poziomie 7–8D dopiero po 216 godzinach, postanowiono sprawdzić również szybkość wymierania szczepów testowych w temperaturach 65, 75, 85 i 95°C. Zgodnie z oczekiwaniami redukcja występowała najszybciej w temperaturze 95°C. Czas wymierania *Escherichia coli* w tej temperaturze w środowisku badanych preparatów wyniósł 15 godzin, mimo że wysuszone wstępnie *Escherichia coli* O:111 wymierały w tej temperaturze już po 9 godzinach. W temperaturze 85°C redukcję liczby *Escherichia coli* na poziomie 7–8 D uzyskuje się po 24 godzinach, w temperaturze 75°C – po 144 godzinach, a w 65°C – po 168 godzinach. Wykazano więc, że w zależności od zastosowanej temperatury – do uzyskania redukcji *Escherichia coli* na poziomie 7–8 D preparaty zawierające livex trzeba ogrzewać przez 15 do 216 godzin. Należy przypuszczać, że ze względu na możliwość pojawienia się zmian chemicznych najkorzystniejszą temperaturą powodującą redukcję *Escherichia coli* jest 55°C. Użycie wyższych temperatur powoduje wprawdzie skrócenie czasu ekspozycji preparatu, ale może być przyczyną zmian chemicznych.

Szybkość wymierania *Escherichia coli* uzależniona była również od użytego szczepu. Wymieranie badanych, najbardziej ciepłopornych szczepów *Escherichia coli* – we wszystkich temperaturach następowało szybciej w przypadku *Escherichia coli* O:111 niż *Escherichia coli* O:55.

Wpływ na liczbę *Escherichia coli* samego środowiska preparatu zawierającego livex, przetrzymywanego w temperaturze otoczenia, tj. 22°C (próbki kontrolne), był zróżnicowany. Redukcję ich liczby o 2–3D uzyskiwano tylko w przypadkach kiedy bakterii nie poddano wstępnemu suszeniu. Liczba *Escherichia coli* w przypadkach, kiedy wprowadzano je do preparatu po wstępnym wysuszeniu, z reguły pozostawała na poziomie zbliżonym do wyjściowego.

Różnorodność i praktycznie nieograniczone możliwości modyfikacji livexów mogą stworzyć nową jakość produktów funkcjonalnych. Produkcja ich w postaci stałej lub wysuszonego proszku to kolejne pozytywne cechy livexów modyfikowanych. Najważniejszą jednak ich zaletą jest uzyskanie produktu mikrobiologicznie bezpiecznego, o trwałości pozwalającej na jego bezpośrednie wykorzystanie bądź utrwalenie poprzez wysuszenie. W trakcie produkcji preparatów zawierających livex istnieje możliwość przypadkowego wtórnego zanieczyszczenia. Wyznaczone parametry temperaturowo-czasowe pozwalają uzyskać właściwy efekt redukcji bakterii. Zatem uzasadnione wydaje się postępowanie mające na celu użycie livexów modyfikowanych jako czynników oddziałujących korzystnie na zdrowie ludzi lub zwierząt, przy równoczesnym rozwiązaniu problemu jakim jest efektywne wykorzystanie krwi.

6. WNIOSKI

1. Livexy modyfikowane różnią się czasem żelowania oraz stopniem retrakcji, które zależą od składu chemicznego, ilości włókna i rodzaju dodatku modyfikującego.

2. Wiązanie dodatków płynnych i stałych w procesie żelowania pozwala na uzyskanie dużej liczby livexów modyfikowanych zależnie od ich przeznaczenia.

3. Wrażliwość cieplna badanych szczepów bakteryjnych w środowisku livexów modyfikowanych jest zróżnicowana w zależności od składu środowiska, czyli rodzaju livexu.

4. Badane odmiany livexów modyfikowanych są produktami bezpiecznymi, ze względu na zastosowaną obróbkę termiczną oraz obecność we krwi, plazmie krwi i gęszczu krwinek, a także w mleku czy serwatce „naturalnych” czynników antybakteryjnych.

5. Wyniki badań mikrobiologicznych wskazują, że trwałość livexów modyfikowanych jest zróżnicowana i zależy od zastosowanej modyfikacji i parametrów obróbki termicznej.

6. Redukcja liczby *Escherichia coli* w środowisku suchych preparatów zawierających livex zależy od wprowadzonego szczepu bakterii, temperatury i okresu ogrzewania.

7. Badania trwałości mikrobiologicznej wykazały, że livexy modyfikowane są produktami bezpiecznymi i można je bez obaw zastosować w żywieniu ludzi i zwierząt, a także w celach kosmetycznych lub farmaceutycznych.

7. PIŚMIENNICTWO

- Anderson R.M., Donnelly C.A., Ferguson N.M., Woolhouse M.E., Watt C.J., Udy H.J., MaWhinney S., Dunstan S.P., Southwood T.R., Wilesmith J.W., Ryan J.B., Hoinville L.J., Hillerton J.E., Austin A.R., Wells G.A.: 1996. Transmission dynamics and epidemiology of BSE in British cattle. *Nature*, 382, 779–788.
- Angulo E., Cubilo D.: 1998. Effect of different dietary concentrations of spray-dried porcine plasma and a modified soyprotein product on the growth performance of piglets weaned at 6 kg body weight. *Anim. Feed Sci. Tech.*, 72, 71–79.
- anonim.: (1997). Krew jako dodatek barwiący. *Problemy i możliwości w produkcji wyrobów mięsnych. Mięso i Wędl.*, 2, 26, 28, 40.
- AR Wrocław: 1990. Sprawozdania z badań. Wykorzystanie livexów na cele farmaceutyczne. *Dane niepublikowane*.
- Arthington J.D., Cattell M.B., Quigley J.D.: 2000b. Effect of dietary IgG source (colostrum, serum, or milk-derived supplement) on the efficiency of Ig absorption in newborn Holstein calves. *J. Dairy Sci.*, 83, 1463–1467.
- Arthington J.D., Cattell M.B., Quigley J.D., McCoy G.C., Hurley W.L.: 2000a. Passive immunoglobulin transfer in newborn calves fed colostrum or spray-dried serum protein alone or as a supplement to colostrum of varying quality. *J. Dairy Sci.*, 83, 2834–2838.
- Arthington J.D., Jaynes C.A., Tyler H.D., Kapil S., Quigley J.D.: 2002. The use of bovine serum protein as an oral support therapy following coronavirus challenge in calves. *J. Dairy Sci.*, 85, 1249–1254.
- Bara J.J., Szubińska S.M., Misiak L.: 1989. Mossbauer and ESR study of iron in livex – a product of blood. *J. Biochem. Biophys. Methods*, 19, 241–248.
- Bełkot Z.: 2001. Wartość spożywcza krwi bydła. *Med. Wet.*, 57, 412–414.
- Bełkot Z., Pełczyńska E.: 2002. Wartość spożywcza krwi kurcząt. *Med. Wet.*, 58, 208–10.
- Bergström J.R., Nelssen J.L., Tokach M.D., Goodband R.D., Dritz S.S., Owen K.Q., Nessmith Jr W.B.: 1997. Evaluation of spray-dried animal plasma and select menhaden fish meal in transition diets of pigs weaned at 12 to 14 days of age and reared in different production systems. *J. Anim. Sci.*, 75, 3004–3009.
- Besser T.E., Gay C.C., McGuire T.C., Evermann J.F.: 1988a. Passive immunity to bovine rotavirus infection associated with transfer of serum antibody into the intestinal lumen. *J. Virol.*, 62, 2238–2242.
- Besser T.E., McGuire T.C., Gay C.C., Pritchett L.C.: 1988b. Transfer of functional immunoglobulin G (IgG) antibody into the gastrointestinal tract accounts for IgG clearance in calves. *J. Virol.*, 62, 2234–2237.
- Bikker P., Van Dijk A.J., Dirkzwager A., Fledderus J., Ubbink-Blanksma M., Beynen A.C., Van Dijk A.J.: 2004. The influence of diet composition and an anti-

- microbial growth promoter on the growth response of weaned piglets to spray dried animal plasma. *Livestock Prod. Sci.*, 86, 201–208.
- Bosi P., Casini L., Finamore A., Cremokolini C., Meriardi G., Trevisi P., Nobili F., Mengheri E.: 2004. Spray-dried plasma improves growth performance and reduces inflammatory status of weaned pigs challenged with enterotoxigenic *Escherichia coli* K88. *J. Anim. Sci.*, 82, 1764–1772.
- Bosi P., Han I.K., Jung H.J., Heo K.N., Perini S., Castellazzi A.M., Casini L., Creston D., Gremokolini C.: 2001. Effect of different spray dried plasmas on growth, ileal digestibility, nutrient deposition, immunity and health of early-weaned pigs challenged with *E. coli* K88. *Asian-Australasian J. Anim. Sci.*, 14, 1138–1143.
- Brown K.L., Ritchie D.L., McBride P.A., Bruce M.E.: 2000. Detection of PrP in extra-neural tissues. *Microsc. Res. Tech.*, 50, 40–45.
- Brown P.: 1997. The risk of bovine spongiform encephalopathy („mad cow disease”) to human health. *JAMA*, 278, 1008–1011.
- Busko J.: 2001. Plazma krwi – niedoceniany dodatek. *Mięso*, 5, 34.
- Campbell J.M., Quigley J.D., Russell L.E., Kidd M.T.: 2003. Effect of spray-dried bovine serum on intake, health, and growth of broilers housed in different environments. *J. Anim. Sci.*, 81, 2776–2782.
- Carroll J.A., Touchette K.J., Matteri R.L., Dyer C.J., Allee G.L.: 2002. Effect of spray-dried plasma and lipopolysaccharide exposure on weaned pigs: II. Effects on the hypothalamic-pituitary-adrenal axis of weaned pigs. *J. Anim. Sci.*, 80, 502–509.
- Coffey R.D., Cromwell G.L.: 1995. The impact of environmental and antimicrobial agents on the growth response of earlyweaned pigs to spray-dried porcine plasma. *J. Anim. Sci.*, 73, 2532–2539.
- Czerchawski L., Jagielski J.: 1986: Materiały Konferencji Naukowo-Technicznej, Polanica Zdrój, 16–17.09.1986. Wydawnictwo AR we Wrocławiu, s. 25.
- Dąbrowski A., Gnot S., Szrednicka J., Michalski A.: 1997. Statystyka – 15 godzin z pakietem Statgraphics, wyd. III. Wydawnictwo AR we Wrocławiu.
- Davenport D.F., Quigley J.D., Martin J.E., Holt J.A., Arthington J.D.: 2000. Addition of casein or whey protein to colostrum or a colostrum supplement product on absorption of IgG in neonatal calves. *J. Dairy Sci.*, 83, 2813–2819.
- Dobracka A., Morawska Z., Zwolińska D.: 1992. Stężenie cynku we krwi dzieci chorych na zespół nerczycowy oraz próba korygowania niedoborów preparatem z krwi zwierzęcej Livex. *Pol. Tyg. Lek.*, 47 (31/33), 680–682.
- Dobracka A., Zwolińska D., Morawska Z., Skornowicz J.: 1991. Stężenie magnezu w surowicy i krwinkach czerwonych dzieci z zespołem nerczycowym oraz próba uzupełnienia niedoborów preparatem z krwi zwierzęcej Livex. *Pediat. Pol.*, 66 (3/4), 66–70.
- Dobracka A.: 1989. Stężenie magnezu, cynku i selenu w surowicy i krwinkach czerwonych dzieci z zespołem nerczycowym oraz próba korygowania niedoborów preparatem z krwi zwierzęcej – Livex. Praca doktorska, Akademia Medyczna we Wrocławiu.
- Duda Z.: 2001. Dodatki do żywności pochodzenia zwierzęcego. *Mag. Przem. Spoż.*, 5, 13–17.

- Duda Z., Jarmoluk A.: 1983. Dotychczasowe technologie przerobu krwi zwierzęcej na cele spożywcze i paszowe. Materiały z I Konferencji Naukowo-Technicznej nt.: „Nowe technologie wykorzystania krwi na cele spożywcze i paszowe”. Zakład Graficzny AR we Wrocławiu, 86–121.
- Duda Z., Jarmoluk A.: 1985. Assessment of selected functional and technological characteristics of the white livex processed from blood plasma. Proc. 31st Eur. Mtg. Meat Res. Workers, 622, 535–539.
- Duda Z., Jarmoluk A.: 1985. Ocena wybranych wyróżników funkcjonalno-technologicznych livexu białego z plazmy krwi spożywczej i jego przydatności w produkcji kielbas kutrowanych, parzonych (badania modelowe). Materiały II Konferencji naukowo-technicznej nt.: „Nowe technologie wykorzystania krwi na cele spożywcze i paszowe”. Zakład Graficzny AR we Wrocławiu, 117–159.
- Duda Z., Jarmoluk A.: 1986. Ocena wybranych wyróżników funkcjonalnych livexu białego i technologicznych modyfikacji jego właściwości sensorycznych. Materiały III Konferencji Naukowo-Technicznej nt.: „Nowe technologie wykorzystania krwi zwierzęcej do celów spożywczych paszowych i leczniczych”. Zakład Graficzny AR we Wrocławiu, 34–54.
- Duda Z., Jarmoluk A., Uhornicki J.: 1989. The effect of animal tissue homogenates addition on the gelation of blood plasma used in white livex manufacturing. Proc. 35th Int. Cong. Meat Sci. Technol., Vol. III, 893–896.
- FDA: 2002. Guidance for industry. Revised preventive measures to reduce the possible risk of transmission of Creutzfeldt-Jakob Disease (CJD) and variant Creutzfeldt-Jakob Disease (vCJD) by blood and blood products, 1–33.
- FDA: 2004. Use of materials derived from cattle in human food and cosmetics and recordkeeping requirements for human food and cosmetics manufactured from, processed with, or otherwise containing, material from cattle; final rule and proposed rule, 1–38.
- Frank J.W., Carroll J.A., Allee G.L., Zannelli M.E.: 2003. The effects of thermal environment and spray-dried plasma on the acute-phase response of pigs challenged with lipopolysaccharide. J. Anim. Sci., 81, 1166–1176.
- Gatnau R., Polo J., Robert E., Brufau J.: 2001. Plasma protein antimicrobial substitution at negligible risk. Feed manufacturing in the Mediterranean region. Improving safety: from feed to food. Cahiers Options Mediterraneennes, 54, 141–150.
- Gerrard J.A., Brown P.K., Fayle S.E.: 2002. Maillard crosslinking of food proteins I: the reactions of glutaraldehyde, formaldehyde and glyceraldehydes with ribonuclease. Food Chem., 79, 343–349.
- Gerrard J.A., Brown P.K., Fayle S.E.: 2003. Maillard crosslinking of food proteins II: the reactions of glutaraldehyde, formaldehyde and glyceraldehydes with wheat proteins in vitro and in situ. Food Chem., 80, 35–43.
- Gola A., Kuliszkiwicz-Janus M., Kowalewska B., Andrzejak R.: 1990. Wpływ livexu na stężenie elektrolitów i pierwiastków śladowych w osoczu i erytrocytach chorych z chłoniakiem ziarnicznym i niezziarnicznym. Pol. Arch. Med. Wew., 83, 7–11.
- Greenberg C.S., Shuman M.A.: 1982. The zymogen forms of blood coagulation factor XIII bind specifically to fibrinogen. J. Biol. Chem., 257, 6096–6101.
- Grela E.R.: 2003. Dodatki paszowe w żywieniu trzody chlewnej. Wieś Jutra, 3, 10–13.

- Hammer C.J., Quigley J.D., Ribeiro L., Tyler H.D.: 2004. Characterization of a colostrum replacer and a colostrum supplement containing IgG concentrate and growth factors. *J. Dairy Sci.*, 87, 106–111.
- Harrigan W.F.: 1998. *Laboratory methods in food microbiology*. 3rd edition. Academic Press, San Diego, London, Boston, New York, Sydney, Tokyo, Toronto.
- Hunt E., Fu Q., Armstrong M.U., Rennix D.K., Webster D.W., Galanko J.A., Chen W., Weaver E.M., Argenzio R.A., Rhoads J.M.: 2002. Oral bovine serum concentrate improves cryptosporidial enteritis in calves. *Pediatr. Res.*, 51, 370–376.
- Jamroz D., Mazurkiewicz M., Bartczak R., Gawęł A., Nicpoń J.: 1992. Wykorzystanie suszonego livexu w mieszankach treściwych dla rosnących i reprodukcyjnych bażantów. *Zesz. Nauk. AR Wroc., Wet. LII*, nr 222, 217–230.
- Janiak T., Hejłasz Z., Nicpoń J., Krzyżanowski A.: 1986. Żeloskrzep czarny jako odżywka dla prosiąt. *Now. Wet.*, 16 (1), 72–83.
- Jarczyk A., Rogiewicz A., Radomyski T., Rusik W.: 2002. Zastosowanie preparatu Appetain – suszonej rozpylowo plazmy krwi wieprzowej – w odchowie prosiąt i warchlaków w warunkach fermy wielkotowarowej. *Trzoda Chlew.*, 40 (5), 64–70.
- Jarmoluk A.: 1997. Wpływ stosowania plazmy krwi i jej ustrukturyowanych form jako zamienników mięsa bydłęcego na jakość kutrowanych kiełbas parzonych. *Zesz. Nauk. AR Wroc., Techn. Żywn. XI*, nr 319, 135–154.
- Jarmoluk A., Duda Z.: 1988. Próba polepszenia zdolności do wiązania i utrzymywania wody przez livex biały. *Materiały XIX Sesji Naukowej KTiChŻ PAN, Szczecin*, s. 112.
- Jarmoluk A., Duda Z., Awdziejczyk A.: 1991. Modified cured hemoglobin as colouring agent for gelated pig blood plasma in livex form. *Proc. 37th Int. Cong. Meat Sci. Technol.*, Vol. II, 881–884.
- Jarmoluk A., Duda Z., Grudka K.: 1990. Influence of liquid plasma, pre-gelated plasma (raw livex) and white livex processed from stabilized pig blood plasma and quality of model comminuted scalded sausages. *Proc. 36th Int. Cong. Meat Sci. Technol.*, Vol. II, 654–661.
- Jarmoluk A., Duda Z., Hajduk K.: 1988. Próba kształtowania wyróżników smaku i zapachu livexu białego. *Materiały XIX Sesji Naukowej KTiChŻ PAN, Szczecin*, s. 113.
- Jarmoluk A., Duda Z., Kuc D.: 1986. Wpływ zróżnicowanego stężenia NaCl w plazmie krwi świńskiej na zdolność do żelowania i niektóre wyróżniki reologiczne żelu. *Materiały XVII Sesji Naukowej KTiChŻ PAN, Łódź, D(175)*, 664–666.
- Jarmoluk A., Duda Z., Malinowska B.: 1989. Próba zastosowania dodatków białkowych w technologii wytwarzania livexu białego spożywczego. *Materiały XX Sesji Naukowej KTiChŻ PAN, Kraków*, 95–96.
- Jarmoluk A., Duda Z., Pietrasik Z.: 1991. Wpływ aktywatorów tkankowych na czas żelowania livexów produkowanych z udziałem destabilizatorów – wapniowego i magnezowego. *Materiały XXII Sesji Naukowej KTiChŻ PAN, Olsztyn*, s. 15.
- Jarosz S., Barabasz B.: 1987. Wykorzystanie livexu brązowego świeżego w żywieniu młodych lisów i nerek. *Informator Regionalny Zakładu Upowszechnienia Postępu AR w Krakowie*, 265, 25–28.
- Jarosz S., Barabasz B., Szeleszczuk O.: 1986. Effect of feeding diet supplemented with brown livex on the quality of fur in polar foxes. *Scientifur*, 10 (1), 57–59.

- Jarosz S., Barabasz B., Szeleszczuk O.: 1987. Wpływ żywienia dawkami z udziałem livexu brązowego na jakość okrywy włosowej lisów polarnych. Zesz. Probl. Post. Nauk Roln., 341, 219–228.
- Jasek S., Nicpoń J., Poznański W., Janeczko K.: 1993. Sulivex jako premiks profilaktyczno-leczniczy dla prosiąt. Zesz. Nauk. Pol. Tow. Zoot., 9, 64–70.
- Johnson J.A., Summerfelt R.C.: 2000. Spray-dried blood cells as a partial replacement for fishmeal in diets for rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. J. World Aquaculture Soc., 31, 96–104.
- Johnson R.T., Gibbs C.J.: 1998. Creutzfeldt-Jakob Disease and related transmissible spongiform encephalopathies. New Engl. J. Med., 339, 1994–2004.
- Jones C.M., James R.E., Quigley J.D., McGilliard M.L.: 2004. Influence of pooled colostrum or colostrum replacement on IgG and evaluation of animal plasma in milk replacer. J. Dairy Sci., 87, 1806–1814.
- Kalinowska H., Bielecka S., Turkiewicz M.: 2000. Enzymy nowej generacji w produkcji żywności. Cz. I. Przem. Spoż., 10, 3–5.
- Kamyczek M.: 2000. Wykorzystanie preparatów białka plazmy krwi oraz mączki z erytrocytów w żywieniu wczesnie odsadzonych prosiąt. Pasze Przem., 9 (9), 19–21.
- Karpiak S., Brzęk K.: 1988. Sprawozdanie z badań. Wyd. AR we Wrocławiu.
- Kats L.J., Nelssen J.L., Tokach M.D., Goodband R.D., Hansen J.A., Laurin J.L.: 1994. The effect of spray-dried porcine plasma on growth performance in the early-weaned pig. J. Anim. Sci., 72, 2075–2081.
- Kołąkowski E., Sikorski Z.E.: 2001. Transglutaminaza i jej wykorzystanie w przemyśle żywnościowym. Żywność Nauka Technologia Jakość, 2 (27), 5–16.
- Korniewicz D., Korniewicz A.: 1999. Efektywność suszonej plazmy krwi w mieszanekach dla wczesnie odsadzonych prosiąt. Trzoda Chlew., 37 (6), 31–37.
- Krakowiak A., Czekaj J.: 1999. Niektóre zastosowania mikrobiologicznej transglutaminazy w przemyśle spożywczym. Przem. Spoż., 1, 36–39.
- Kretowska-Kuta M.: 1995. Badanie jakości produktów spożywczych. PWN, Warszawa.
- Kuliczkowski K., Ściborski R., Kuliszkiwicz-Janus M., Gałązka Z.: 1990. Wpływ livexu brązowego wzbogaconego na stan ogólny chorych z chorobami rozrostowymi szpiku i układu chłonnego. Wiad. Lek., 43 (5/6), 188–192.
- Kunachowicz H., Nadolna I., Przygoda B., Iwanow K.: 1998. Tabele wartości odżywczej produktów spożywczych. Wyd. Instytutu Żywności i Żywienia, Warszawa.
- Leistner L.: 2000. Basic aspects of food preservation by hurdle technology. Int. J. Food Microbiol., 55, 181–186.
- Lipiński K.: 1998. Pasze z krwi w żywieniu prosiąt. Trzoda Chlew., 36 (11), 35–37.
- Lipiński K.: 2002. Źródła białka w żywieniu wczesnie odsadzonych prosiąt. Trzoda Chlew., 40 (5), 44–47.
- Liu H., Kim I.B., Touchette K.J., Newcomb M.D., Allee G.L.: 2001. The effect of spray dried plasma, lactose and soybean protein sources on the performance of weaned pigs. Asian-Australasian J. Anim. Sci., 14, 1290–1298.
- Makała H.: 1998. Charakterystyka białek mięśniowych i niemięśniowych stosowanych w przetwórstwie mięsa. Gosp. Mięs., 50, 24–27.
- Makała H.: 1999. Wpływ chlorku sodu i białek niemięsnych na właściwości reologiczne modelowego produktu mięsnego. Gosp. Mięs., 51, 30–35.

- Malicki: 2000. Mikrobiologia jaj i przetworów jajowych. W: Trziszka T. (red.): Jajczarstwo: nauka, technologia, praktyka. Wydawnictwo AR, Wrocław, s. 375–425.
- Malicki A.: 1989. Badania nad livexem białym i jego jakością. Praca doktorska. Akademia Rolnicza we Wrocławiu.
- Malicki A.: 1994. Badania nad livexem białym i jego jakością. Zesz. Nauk. AR Wroc., Wet., LIII, nr 239, 123–150.
- Malicki A., Zaleski S.J.: 1995. Badania nad możliwością zagospodarowania krwi zwierząt rzeźnych poprzez produkcję livexów. Med. Wet., 51, 656–658.
- Mazurkiewicz M., Jamroz D., Bartczak R., Gawel A.: 1990. Wpływ livexu na rozwój i stan zdrowotny rosnących bażantów. Med. Wet., 46, 35–37.
- Minkowski S.: 2000. Plazma w żywieniu prosiąt. Pilski Inf. Roln., 7–8, 8.
- Morawska Z., Bednarz R., Dobracka A., Miler M., Jaśniak K.: 1990. Leczenie niedokrwistości u dzieci z odmiedniczkowym zapaleniem nerek preparatem krwi zwierzęcej pod nazwą „Livex”. Wiad. Lek., 43, 559–563.
- Mosesson M.W., Siebenlist K.R., Voskuilen M., Nieuwenhuizen W.: 1998. Evaluation of the factors contributing to fibrin-dependent plasminogen activation. Thromb. Haemost., 79, 796–801.
- Motoki M., Seguro K.: 1998. Transglutaminase and its use in food processing. Trends Food Sci. Technol., 9, 204–210.
- MRiRW: 2003. Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 12 września 2003 r. w sprawie wykazu materiałów paszowych pochodzących z tkanek zwierząt, które mogą być stosowane w żywieniu zwierząt gospodarskich (Dz. U. Nr 165, poz. 1605).
- MRiRW: 2004. Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 30 stycznia 2004 r. zmieniające rozporządzenie w sprawie wykazu materiałów paszowych pochodzących z tkanek zwierząt, które mogą być stosowane w żywieniu zwierząt gospodarskich (Dz. U. Nr 32, poz. 280).
- Mróz J., Dolata W.: 1998. Zastosowanie nowego preparatu globin o wysokiej lepkości (VEPRO 95 HV) firmy VEOS do produkcji kielbas drobnoziarnistych. Gosp. Mięs., 50 (10), 32–33.
- Nicpoń J., Hejłasz Z., Janiak T., Miławski W.: 1987. Badania nad możliwością zastosowania livexu czarnego u prosiąt jako premixu uzupełniającego skład białkowy i mineralny oraz leku przeciw anemii prosiąt. Med. Wet., 43, 422–424.
- Nicpoń J., Jamroz D., Lewicka M.: 1992. Livex w żywieniu psów i kotów. Zesz. Nauk. AR Wroc., Wet., LI, nr 221, 41–46.
- Niedźwiadek S., Zoń A., Zając J., Bielański P., Sławoń J.: 1997. Wyniki badań nad maksymalnym wykorzystaniem krwi w dawkach pokarmowych dla samic lisów niebieskich w okresie laktacji. Roczn. Nauk. Zoot., 24, 187–192.
- Nollet H., Deprez P., Van Driessche E., Muylle E.: 1999. Protection of just weaned pigs against infection with F18+ *Escherichia coli* by non-immune plasma powder. Vet. Microbiol., 65, 37–45.
- Nowicka J., Kuliszkiwicz-Janus M., Fischer W.: 1990. Wpływ livexu na niedokrwistość z niedoboru żelaza. Pol. Tyg. Lek., 45, 1042–1045.

- Olech W., Niemczuk W., Filistowicz A.: 1997. Wpływ livexu na organizm karpia (stan zdrowia i kondycję). Cz. 1: Efekty produkcyjne. Zesz. Nauk. AR Wroc., Wet., LVII, nr 320, 39–47.
- PE: 2002. Rozporządzenie (WE) No 1774/2002 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 3 października 2002 roku ustanawiające przepisy zdrowotne związane z ubocznymi produktami zwierzęcymi nie przeznaczonymi do spożycia przez ludzi.
- Pędzikiewicz J., Sobiech K.A.: 1995. The effect of exogenous iron on levels of adenosinetriphosphate and 2,3-diphosphoglycerate in erythrocytes of men during extreme physical exertion. *Med. Pracy*, 46, 479–484.
- Pelczyńska E., Libelt K.: 1999. Wartość biologiczna krwi zwierząt rzeźnych. *Med. Wet.*, 55, 600–601.
- Pezacki W.: 1984. Przetwarzanie jadalnych surowców rzeźnych. Państwowe Wydawnictwo Naukowe, Warszawa.
- Pezacki W.: 1987. Przetwarzanie niejadalnych surowców rzeźnych. Państwowe Wydawnictwo Naukowe, Warszawa.
- Polo J., Saborido N., Rodenas J., Rodriguez C.: 2004. Determination of the presence of bovine immunoglobulin G in liquid or spray-dried porcine plasma and whole blood by agar gel immunodiffusion. *J. AOAC Int.*, 87, 78–82.
- Polska Norma PN-59/A-04015: 1959. Artykuły żywnościowe. Oznaczanie zawartości żelaza.
- Polska Norma PN-71/A-88021: 1971. Wyroby cukiernicze trwałe. Oznaczanie zawartości tłuszczu.
- Polska Norma PN-75/A-04018: 1975. Produkty rolno-żywnościowe. Oznaczanie azotu metodą Kjeldahla i przeliczanie na białko.
- Polska Norma PN-88/A-77626: 1988. Miód pszczeli.
- Polska Norma PN-A-04023: 2001. Mikrobiologia żywności. Wykrywanie i identyfikacja drobnoustrojów z rodziny *Enterobacteriaceae*.
- Polska Norma PN-A-79011-8: 1998. Koncentraty spożywcze. Metody badań. Oznaczanie zawartości popiołu ogólnego i popiołu nierozpuszczalnego w 10 procentowym (m/m) roztworze kwasu chlorowodorowego.
- Polska Norma PN-A-82055-12: 1997. Mięso i przetwory mięsne. Badania mikrobiologiczne. Wykrywanie obecności beztlenowych bakterii przetrwalnikujących i beztlenowych bakterii przetrwalnikujących redukujących siarczyn(IV).
- Polska Norma PN-A-82055-14: 1997. Mięso i przetwory mięsne. Badania mikrobiologiczne. Wykrywanie obecności bakterii proteolitycznych.
- Polska Norma PN-A-82055-16: 1994. Mięso i przetwory mięsne. Badania mikrobiologiczne. Oznaczenie liczby drożdży i pleśni.
- Polska Norma PN-A-82055-17: 1997. Mięso i przetwory mięsne. Badania mikrobiologiczne. Oznaczanie liczby bakterii kwasu mlekowego.
- Polska Norma PN-A-82055-6: 1994. Mięso i przetwory mięsne. Badania mikrobiologiczne. Oznaczanie ogólnej liczby drobnoustrojów.
- Polska Norma PN-A-82055-9: 1994. Mięso i przetwory mięsne. Badania mikrobiologiczne. Wykrywanie obecności i oznaczanie liczby *Staphylococcus aureus*.
- Prusiner S.B.: 1998. Prions. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 95, 13363–13383.

- Prusiner S.B.: 2001. Shattuck lecture – neurodegenerative diseases and prions. *New Engl. J. Med.*, 344, 1516–1526.
- Pyrzcz J., Uchman W., Balcerzak K., Kowalski R.: 1998. Technologiczna przydatność krwi wstępnie zdenaturowanej w produkcji krwistych wędlin podrobowych. *Gosp. Mięś.*, 50, 36–39.
- Pyrzcz J., Uchman W., Kowalski R., Szeszuła E.: 1997. Przydatność livexu białego w technologii produkcji krwistych wędlin podrobowych typu „kaszanka”. *Rocz. AR Poznań, Technol. Żyw.* XXI, nr 298, 19–24.
- Quigley J.D., Bernard J.K.: 1996. Milk replacers with or without animal plasma for dairy calves. *J. Dairy Sci.*, 79, 1881–1884.
- Quigley J.D., Campbell J.M., Polo J., Russell L.E.: 2004. Effects of spray-dried animal plasma on intake and apparent digestibility in dogs. *J. Anim. Sci.*, 82, 1685–1692.
- Quigley J.D., Carson A.F., Polo J.: 2002c. Immunoglobulin derived from bovine plasma as a replacement for colostrum in newborn lambs. *Vet. Ther.*, 3, 262–269.
- Quigley J.D., Drew M.D.: 2000. Effects of oral antibiotics or bovine plasma on survival, health and growth in dairy calves challenged with *Escherichia coli*. *Food Agric. Immunol.*, 12, 311–318.
- Quigley J.D., Fike D.L., Egerton M.N., Drewry J.J., Arthington J.D.: 1998. Effects of a colostrum replacement product derived from serum on immunoglobulin G absorption by calves. *J. Dairy Sci.*, 81, 1936–1939.
- Quigley J.D., French P., James R.E.: 2000b. Effect of pH on absorption of immunoglobulin G in neonatal calves. *J. Dairy Sci.*, 83, 1853–1855.
- Quigley J.D., Jaynes C.A., Miller M.L., Schanus E., Chester-Jones H., Marx G.D., Allen D.M.: 2000a. Effects of hydrolyzed spray dried red blood cells in milk replacer on calf intake, body weight gain, and efficiency. *J. Dairy Sci.*, 83, 788–794.
- Quigley J.D., Kost C.J., Wolfe T.A.: 2002a. Effects of spray-dried animal plasma in milk replacers or additives containing serum and oligosaccharides on growth and health of calves. *J. Dairy Sci.*, 85, 413–421.
- Quigley J.D., Kost C.J., Wolfe T.M.: 2002. Absorption of protein and IgG in calves fed a colostrum supplement or replacer. *J. Dairy Sci.*, 85, 1243–1248.
- Quigley J.D., Strohbahn R.E., Kost C.J., O'Brien M.M.: 2001. Formulation of colostrum supplements, colostrum replacers and acquisition of passive immunity in neonatal calves. *J. Dairy Sci.*, 84, 2059–2065.
- Quigley J.D., Wolfe T.M.: 2003. Effects of spray-dried animal plasma in calf milk replacer on health and growth of dairy calves. *J. Dairy Sci.*, 86, 586–592.
- Radomyski T., Stangierski J.: 1999. Ocena możliwości wykorzystania białek plazmy krwi w żywieniu prosiąt. *Trzoda Chlew.*, 37, 76–79.
- Rao C.R.: 1982. *Modele liniowe statystyki matematycznej*. Wydawnictwo Naukowe, Warszawa.
- Robaczyński J., Wilczyński A., Leicht M.: 1993. Leczenie niedokrwistości kobiet ciężarnych preparatem z krwi zwierzęcej pod nazwą „Livex”. *Wiad. Lek.*, 46, 96–99.
- Roos N., Mahe S., Benamouzig R., Sick H., Rautureau J., Tome D.: 1995. 15N-labeled immunoglobulins from bovine colostrum are partially resistant to digestion in human intestine. *J. Nutr.*, 125, 1238–1244.

- Ross A.I., Griffiths M.W., Mittal G.S., Deeth H.C.: 2003. Combining nonthermal technologies to control foodborne microorganisms. *Int. J. Food Microbiol.*, 31, 125–138.
- Schleicher A., Orda J., Fritz Z.: 1987. Ocena wartości pokarmowej livexu w doświadczeniu wykonanym na kurczętach brojlerach. *Biul. Inf. Przem. Pasz.*, 2, 11–19.
- Sikorski Z.E.: 2002. Charakterystyka białek głównych surowców żywnościowych. (W): Sikorski Z.E. (red.): *Chemia żywności*. WTN, Warszawa.
- Silva V.D.M., Silvestre M.P.C.: 2003. Functional properties of bovine blood plasma intended for use as a functional ingredient of human food. *Lebensmitt. Wiss. Technol.*, 36, 709–718.
- Słowińska M.: 1990. Wpływ preparatu livex na poziom wskaźników hematologicznych i biochemicznych i sportowców. Praca doktorska. Akademia Wychowania Fizycznego we Wrocławiu.
- Słowińska M., Kosendiak J., Sobiech K.A.: 1990. Wpływ preparatu livex na poziom niektórych wskaźników biochemicznych u lekkoatletów. *Człowiek, Populacja, Środowisko*, 39, 79–87.
- Sposób otrzymywania upostaciowionych produktów białkowych z krwi zwierzęcej i jej frakcji. Patent PRL nr 149112.
- Sposób otrzymywania żeloskrzepu do celów spożywczych lub paszowych. Nr Pat. PRL 132066, zgłoszony 5.11.1982, udzielony 15.12.1983.
- Sposób suszenia żeloskrzepu świeżego. Nr Pat. PRL 135106, zgłoszony 4.07.1983, udzielony 25.02.1985.
- Sposób utwardzania krwi zwierzęcej dla celów spożywczych lub paszowych. Nr Pat. PRL 122519, zgłoszony 10.09.1980, udzielony 7.10.1981.
- Sposób wytwarzania produktów białkowych z krwi zwierzęcej i jej frakcji. Nr Pat. PRL 141083, zgłoszony 23.10.1983, udzielony 29.10.1986.
- Sposób wytwarzania produktów białkowych z pełnej krwi zwierzęcej. Nr Pat. PRL 140744, zgłoszony 26.10.1983, udzielony 29.10.1986.
- Stasińska B.: 1997. Białka niekonwencjonalne i modyfikowane. W: Gawęcki J. (red.): *Białka w żywieniu i żywności*. Wyd. AR, Poznań.
- Torrallardona D., Conde M.R., Badiola I., Polo J., Brufau J.: 2003. Effect of fishmeal replacement with spray-dried animal plasma and colistin on intestinal structure, intestinal microbiology, and performance of weanling pigs challenged with *Escherichia coli* K99. *J. Anim. Sci.*, 81, 1220–1226.
- Torrallardona D., Conde R., Esteve-Garcia R., Brufau J.: 2002. Use of spray dried animal plasma as an alternative to antimicrobial medication in weanling pigs. *Anim. Feed Sci. Tech.*, 99, 119–129.
- Touchette K.J., Carroll J.A., Allee G.L., Matteri R.L., Dyer C.J., Beausang L.A., Zannelli M.E.: 2002. Effect of spray-dried plasma and lipopolysaccharide exposure on weaned pigs: I. Effects on the immune axis of weaned pigs. *J. Anim. Sci.*, 80, 494–501.
- Van Dijk A.J., Enthoven P.M., Van den Hoven S.G., Van Laarhoven M.M., Niewold T.A., Nabuurs M.J., Beynen A.C.: 2002b. The effect of dietary spray-dried porcine plasma on clinical response in weaned piglets challenged with a pathogenic *Escherichia coli*. *Vet. Microbiol.*, 84, 207–218.

- Van Dijk A.J., Everts H., Nabuurs M.J.A., Margry R.J.C.F., Beynen A.C., Van Dijk A.J.: 2001b. Growth performance of weanling pigs fed spray-dried animal plasma: a review. *Livest. Prod. Sci.*, 68, 263–274.
- Van Dijk A.J., Margry R.J., Van Der Lee A.G., Hemke G., Beynen A.C.: 2002c. Growth performance and health status in weanling piglets fed spray-dried porcine plasma under typical Northern European conditions. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.*, 86, 17–25.
- Van Dijk A.J., Niewold T.A., Margry R.J., Van den Hoven S.G., Nabuurs M.J., Stockhofe-Zurwieden N., Beynen A.C.: 2001a. Small intestinal morphology in weaned piglets fed a diet containing spray-dried porcine plasma. *Res. Vet. Sci.*, 71, 17–22.
- Van Dijk A.J., Niewold T.A., Nabuurs M.J., Van Hees J., De Bot P., Stockhofe-Zurwieden N., Ubbink-Blanksma M., Beynen A.C.: 2002a. Small intestinal morphology and disaccharidase activities in early-weaned piglets fed a diet containing spray-dried porcine plasma. *J. Vet. Med. A, Physiol. Pathol. Clin. Med.*, 49, 81–86.
- Viana F.R., Bizzotto C.S., Dias D.R., Oliveira A.L., Silvestre M.P.C.: 2004. Bovine blood constituents as fat replacers in ham pate. *Food Technol. Biotechnol.*, 42, 5–10.
- Zajac J., Niedźwiadek S., Bielański P., Zoń A.: 1997. Krew i odpady drobiowe cennym surowcem paszowym w żywieniu lisów niebieskich. *Biul. Inf. Inst. Zoot.*, 35, 25–34.
- Zaleski S.J., Karpiak S., Malicki A., Brzęk K., Zaleski G., Ławik B., Tereszkievicz R.: 1993a. Sposób otrzymywania ustrukturowanych produktów białkowo-mineralnych z krwi zwierzęcej lub jej frakcji. Patent nr 162083, opublikowany dn. 31.08.1993, WUP 08/93, 1–4.
- Zaleski S.J., Karpiak S., Malicki A., Zaleski G., Brzęk K., Ławik B., Tereszkievicz R.: 1993b. Sposób przetwarzania pełnej krwi, plazmy krwi oraz gąszczu krwinek. Patent nr 162084, opublikowany dn. 31.08.1993, WUP 08/93, 1–4.
- Zaleski S.J., Szubińska S., Malicki A., Kumor L., Tereszkievicz R., Kierzkowski M.: 1987. Verfahren zur Verarbeitung von Tierblut und seinen Fraktionen. Europäische Patentanmeldung 0139844. European Patent Office, 1–12.
- Zawadzki W., Borodulin-Nadzieja L.: 1998. Changes in insulin level and growth hormone in lambs blood caused by adding blood meal and dry brown livex (modified by whey) to forage. *Pol. J. Vet. Sci.*, 1, 43–46.
- Zawadzki W., Brzęk K., Jeszka J.: 1992. Changes of energetic value and protein level of rumen content in sheep fed with stuff with livex and blood meal supplementation. *Arch. Vet. Pol.*, 32, 101–107.
- Zawadzki W., Czerski A., Malicki A., Wincewicz E., Czerw M., Graczyk S.: 2003. Przydatność preparatu białkowo-mineralnego w sterowaniu fermentacją *in vitro* w treści jelita ślepego konia. *Folia Univ. Agric. Stetin., Zoot.*, 233, 117–122.
- Zawadzki W., Malicki A.: 1995. Fermentacja zwaczowa *in vitro* pod wpływem suszonego livexu czarnego. *Med. Wet.*, 51, 687–690.

- Zawadzki W., Malicki A.: 1996. Wpływ suszonego livexu białego na wytwarzanie *in vitro* metanu przez mieszaną florę bakteryjną żwacza jagniąt. Acta Acad. Agricult. Techn. Olst., Vet., 23, 69–77.
- Zawadzki W., Malicki A., Hreczyński J., Czerski A.: 2004. Wpływ diety opartej na sianie i mieszance treściwej C-J z dodatkiem preparatu białkowo-mineralnego na wybrane parametry krwi owiec. Acta Sci. Pol., Med. Vet., 3 (1), 85–90.
- Zawadzki W., Popiel J., Malicki A., Miśta D., Zawadzka A.: 2000. Influence of forage addition of three kinds of blood dried preparates: livexes (black and brown) and meal on caecal fermentation in sheep during preliminary *in vitro* investigations. EJPAU, Vet. Med. 3 (1), <http://www.ejpau.media.pl/series/volume3/issue1/veterinary/art-05.html>
- Zwolińska D., Morawska Z., Dobracka A.: 1990. The influence of the diet containing animal blood preparation Livex on the serum proteins, Mg, Zn, Se concentrations and on the levels of Mg, Zn in red cells in children with lipoid nephrosis (LN). 27th Congress of the European Dialysis and Transplant Association European Renal Association, Vienna, Austria, September 5–8, abstract 54.
- Zwolińska D., Morawska Z., Dobracka A., Michalewska M.: 1991. Stężenie selenu w surowicy krwi dzieci z nerczycą lipidową oraz próba korygowania niedoborów preparatem z krwi zwierzęcej – Livex. Wiad. Lek., 44, 772–776.
- Zwolińska D., Morawska Z., Dobracka A., Miler M., Makulska I., Król Z.: 1993. Stężenie wybranych pierwiastków śladowych w surowicy krwi i krwinkach czerwonych u dzieci z przewlekłą niewydolnością nerek oraz próba korygowania niedoborów preparatem krwi zwierzęcej „Livex”. Wiad. Lek., 46 (3/4), 116–119.

STUDIES ON THE SELECTED SORTS OF LIVEX AND THEIR MICROBIOLOGICAL STATUS

S u m m a r y

The objective of the studies was to determine some livex characteristics proving that porcine blood, plasma and condensed erythrocytes can be used for the production of the following sorts of livex: 1) brown, black and white, fresh or dried, modified with sugars with or without whey addition, 2) black, fresh or dried modified with sugar or milk, 3) brown (with a decreased pH) modified with milk.

Microbiological stability of various sorts of livex modified with glucose, sucrose, whey and milk was assessed. Moreover, the shelf-life of some sorts of livex was determined, at the pH decreased to 5.7 using 5% acetic acid or after a 10-minute bath in acetic acid.

As has been found, drying of any sort of the livex progressively increases its stability. Heat treatment of white, brown or black livex samples modified with glucose, containing test strains of *Salmonella Enteritidis* PCM 843, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Escherichia coli* O:55 PCM 224 and *Staphylococcus aureus* PCM 2054 in environment optimal for their growth showed that the best potential of growth was reduced with the most heat-resistant strains of *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* and the reduction was higher than expected, which is a desirable phenomenon from the consumer's point of view. The heat resistance of the remaining strains was lower, therefore, higher safety of the product.

Technological parameters, i.e. gelation time, free leakage and productivity necessary for the industrial production of livex were also determined. The measurements of chemical composition included the content of dry matter, protein, fat, ash, glucose and sucrose.

Moreover, the results obtained in the studies show that it is possible to reduce *Escherichia coli* in the livex-containing powder or granulate, inoculated with dried bacteria or a bacterial suspension. The effects of temperature on the survival of these bacteria were determined at pasteurization temperatures (55–95°C).

The results of the studies show that full porcine blood, condensed erythrocytes and plasma can be successfully used for biotechnological livex production. The possibility of binding different liquid or solid modifiers by the net of fibrin enables the production of different sorts of modified livex for a variety of applications in food, feed, pharmaceutical and cosmetic industries.