

ANNA KAMIŃSKA-DWÓRZNICKA, KATARZYNA SAMBORSKA,  
KATARZYNA RYBAK

## WPŁYW HYDROLIZATÓW KAPPA KARAGENU NA OGRANICZENIE NADMIERNEGO WZROSTU KRYSZTAŁÓW LODU W LODACH MLECZNYCH

### Streszczenie

Celem pracy było pozyskanie nowych substancji stabilizujących i zaprojektowanie układu mającego na celu ograniczenie procesu rekrytalizacji w trakcie przechowywania lodów mlecznych. Pierwszy etap badań obejmował proces hydrolizy kwasowej  $\kappa$ -karagenu, z wykorzystaniem  $H_2SO_4$  i  $HCl$ . Przy użyciu chromatografii żelowej SEC określono masę cząsteczkową otrzymanych hydrolizatów. Następnie podjęto próbę wykorzystania otrzymanych związków jako stabilizatorów do lodów mlecznych. Kolejnym etapem badań była analiza procesu rekrytalizacji na podstawie fotografii kryształów lodu wykonanych po przygotowaniu lodów mlecznych, po tygodniu oraz po miesiącu ich przechowywania, za pomocą mikroskopu Alphaphot-2 YS2 i kamery Nikon DS-F. W badanych próbkach oprócz  $\kappa$ -karagenu i jego pochodnych zastosowano również dodatek żelatyny, gumy guar, alkoholu i gotowych mieszanek stabilizujących firmy Danisco (DuPont).

Hydroliza kwasowa z zastosowaniem  $HCl$  i  $H_2SO_4$  wpłynęła na redukcję masy cząsteczkowej  $\kappa$ -karagenu ok. 10-krotnie. Na podstawie fotografii kryształów lodu zawartych w lodach mlecznych stwierdzono, że obecność hydrolizatów  $\kappa$ -karagenu miała większy wpływ na ograniczenie procesu rekrytalizacji niż dodatek samego  $\kappa$ -karagenu czy dodatek przemysłowych mieszanek stabilizujących. Po miesiącu przechowania średnica kryształów lodu w próbkach lodów z dodatkiem hydrolizatu  $\kappa$ -karagenu uzyskanego po hydrolizie  $HCl$  nie przekroczyła 16  $\mu m$ , podczas gdy w próbkach z dodatkiem niehydrolizowanego  $\kappa$ -karagenu, po tym samym czasie – przekraczała 25  $\mu m$ .

**Słowa kluczowe:** lody mleczne,  $\kappa$ -karagen, hydrolizat, rekrytalizacja

## Wprowadzenie

Lody są mrożonym deserem o wyjątkowych cechach sensorycznych. Podczas przechowywania zachodzą w nich niepożądane zmiany, m.in. proces rekrystalizacji lodu, ubytek powietrza (lub azotu, w zależności od technologii produkcji), krystalizacja laktozy czy utrata trwałości produktu. Jednym z głównych problemów w trakcie przechowywania lodów jest utrzymanie stałej temperatury, która ma znaczący wpływ na jakość produktu. Już niewielkie jej wahania przyczyniają się do inicjacji procesu rekrystalizacji lodu. Polega ona na wzroście kryształów w trakcie przechowywania lodów [8, 10, 24]. Naturę tego zjawiska tłumaczy się na podstawie dwóch modeli: koalescencji i migracji [8,15,16]. Koalescencja polega na łączeniu dwóch małych kryształów, które sąsiadują ze sobą, w jeden duży. Jest to możliwe przez wytworzenie mostków wodorowych z dyfundujących cząstek wody między kryształami [26]. Migracja związana jest z topnieniem małych kryształów lodu w wyniku wzrostu temperatury. Po kolejnym obniżeniu temperatury powstała woda zamraża na powierzchni dużych kryształów. Według modelu Ostwalda, prężność pary wodnej nad powierzchnią kryształu lodu jest odwrotnie proporcjonalna do jego promienia. Siłą napędową procesu dyfuzji cząsteczek wody od mniejszych do większych kryształów jest różnica ciśnień cząstkowych pomiędzy powierzchniami takich kryształów [11, 14]. Rozwiązaniem problemu z nadmiernym wzrostem kryształów lodu w trakcie przechowywania mrożonek jest odpowiedni dobór stabilizatora, który może zmniejszyć, a nawet całkowicie wyeliminować zjawisko tworzenia się wyczuwalnych kryształów lodu (powyżej 25  $\mu\text{m}$ ) w gotowym produkcie [1, 10, 15]. W większości lodów dodatek substancji stabilizująco-emulgujących jest niezbędny, jeśli chce się uzyskać ich odpowiednią konsystencję i strukturę. Wpływają one także na: wiązanie wody wolnej, zwiększenie lepkości i gęstości układu, utrwalenie emulsji, wydłużenie czasu topnienia produktu, zmniejszenie odczucia zimna w ustach podczas spożywania itd. Adapa i wsp. [1] stwierdzili, że stabilizatory działają w dwojaki sposób: (1) absorbują wodę i zmniejszają jej udział w mieszance lodowej, (2) zwiększają lepkość układu, dzięki czemu obniżają stopień dyfuzji wody wolnej. Wybrane stabilizatory we wzajemnym połączeniu wykazują działanie synergistyczne. Łącząc różne substancje o charakterze stabilizatorów, można uzyskać lepszy efekt bądź całkowicie wyeliminować efekty niepożądane.

Karageny stosowane jako stabilizatory charakteryzują się masą cząsteczkową powyżej  $10 \cdot 10^5$  Da. Aby uzyskać oligosacharydy o nowych właściwościach stabilizujących, stosuje się proces hydrolizy polisacharydów, np.  $\kappa$ -karagenu. Hydrolizaty  $\kappa$ -karagenu nie mogą mieć mniejszej masy cząsteczkowej niż  $10^5$  Da, ponieważ mogłyby negatywnie wpływać na układ pokarmowy człowieka [4]. Natomiast część hydrolizatów  $\kappa$ -karagenu (wybrane frakcje) może wykazywać działanie ochronne, a nawet zapobiegać powstawaniu niektórych rodzajów komórek nowotworowych w układach biologicznych [13]. Różne frakcje karagenu ulegają rozpadowi w trakcie hydrolizy

z różną prędkością,  $\kappa$ -karagen – najszybciej,  $\iota$ -karagen o połowę wolniej, natomiast  $\lambda$ -karagen ze znacznie mniejszą prędkością [12]. Yang i wsp. [27] udowodnili, że w wyniku hydrolizy kwasowej powstają hydrolizaty o różnych masach cząsteczkowych, przez co proces ten jest trudny do kontrolowania.

Celem pracy było określenie wpływu dodatku hydrolizatów  $\kappa$ -karagenu do mieszanki lodowej na przebieg procesu rekryształizacji lodu w lodach mlecznych podczas zamrażalniczego przechowywania.

### Material i metody badań

Material doświadczalny stanowiły lody mleczne. Mieszanka, z której przygotowywano lody zawierała: 24,2 % śmietany (o 30-procentowej zawartości tłuszczu), 56,2 % odtłuszczonego (0,5 %) mleka, 5 % odtłuszczonego mleka w proszku, 10 % sacharozy i od 4,25 do 4,35 % glukozy, tak, aby suma składników z dodatkiem mieszanek stabilizujących wynosiła 100 %. Przygotowano 5 wariantów lodów z substancjami stabilizującymi, oznaczonych symbolami od A do E:

- A – żelatyna (0,125 %), guma guar (0,125 %),  $\kappa$ -karagen (0,1 %),
- B – żelatyna (0,125 %), guma guar (0,125 %), hydrolizat  $\kappa$ -karagenu po hydrolizie HCl (0,005 %),
- C – żelatyna (0,125 %), guma guar (0,125 %), hydrolizat  $\kappa$ -karagenu po hydrolizie  $H_2SO_4$  (0,005 %),
- D – Cremodan Danisco (DuPont) (0,25 %), zawierający mieszankę mono- i diacylogliceroli,
- E – żelatyna (0,125 %), guma guar (0,125 %), alkohol (0,05 %).

Pochodne karagenu były użyte w stężeniu, które wynikało bezpośrednio ze sposobu przygotowania próbek hydrolizatów. Hydrolizę  $\kappa$ -karagenu przeprowadzano przy użyciu kwasu solnego (HCl) lub kwasu siarkowego ( $H_2SO_4$ ), przy pH = 3,0 i w temp. 60 °C. Po upływie określonego czasu ( $H_2SO_4$  – 1 i 1,5 h, HCl – 3 h), zgodnie z metodą Karlssona i Singha [20], próbki neutralizowano za pomocą NaOH. Masę cząsteczkową otrzymanych hydrolizatów wyznaczano przy użyciu chromatografii żelowej SEC (ang. *Size Exclusion Chromatography*). Masa cząsteczkowa zdegradowanego  $\kappa$ -karagenu po 3 h hydrolizy kwasem solnym wynosiła  $2,7 \cdot 10^6$  Da, a po 1,5 h hydrolizy kwasem siarkowym(VI) –  $3,2 \cdot 10^6$  Da [17].

Mieszanki z dodatkiem stabilizatorów były pasteryzowane w temp. 85 °C przez 3 s i natychmiast schładzane do temp.  $20 \pm 2$  °C, po czym przenoszono je do chłodni (temp. 4 °C) na okres dojrzewania (minimum 18 h). Wśród stabilizatorów wyjątek stanowił alkohol dodawany po procesie pasteryzacji. Po okresie dojrzewania mieszanki przenoszono na 40 min do frezera NemoxGelato Pro 1700 w celu uzyskania lodów, a następnie gotowy produkt pakowano do pojemników o pojemności 0,5 l i przechowywano przez 1 miesiąc w temp. -18 °C. W celu wykonania analizy mikroskopowej

obrazu lodów (po: 1 h, 1 tygodniu i 1 miesiącu od momenty wyprodukowania) pobierano szpatułką, z odległości około 20 mm od powierzchni, niewielką ilość materiału do badań na schłodzone szkiełko mikroskopowe i nakładano również schłodzone szkiełko nakrywkowe. Zdjęcia wykonywano za pomocą mikroskopu, model Alphaphot-2YS2 (NIKON, Japonia) i kamery firmy Nikon DS-F (Japonia). Urządzenia były przystosowane do wykonywania zdjęć w temperaturze ujemnej dzięki zastosowanemu systemowi chłodzenia LinkamScientific PE94 [info@linkam.co.uk]. Następnie otrzymany obraz analizowano za pomocą programu NIS Elements D, aby wyznaczyć powierzchnię i średnicę zastępczą kryształów lodu.

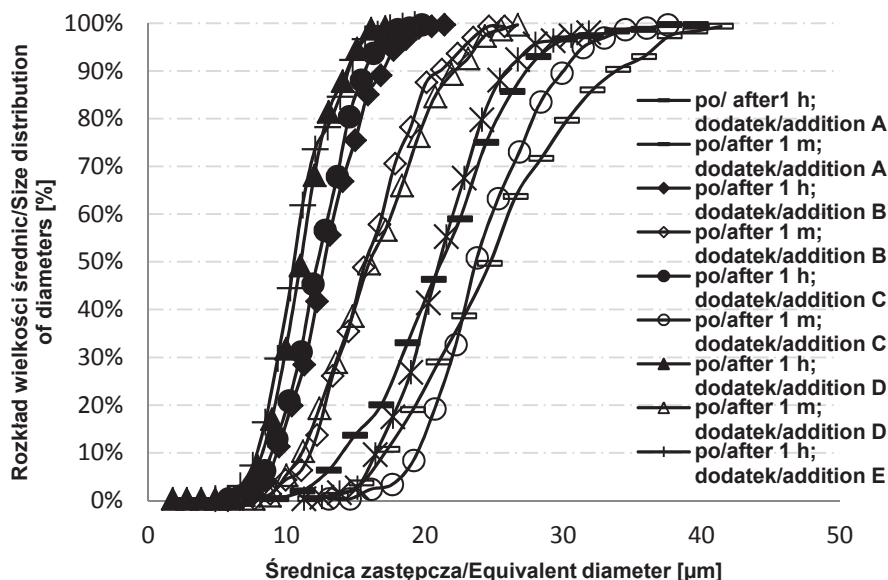
Analiza jednej próbki lodów wymagała precyzyjnego obrysowania powierzchni od 300 do 500 kryształów. Pole powierzchni każdego kryształu było obliczane w programie NIS Elements D automatycznie. Na podstawie pola powierzchni obliczana była również średnica zastępcza każdego kryształu i odchylenie standardowe. Z rozkładu średnic kryształów lodu, przygotowanych za pomocą analizy danych w programie Microsoft Excel 2011, parametr  $X_{50}$  – uśredniona wielkość z 50 % średnic kryształów lodu w danej próbce po określonym czasie przechowywania, był analizowany metodą stosowaną przez Flores i Goff [6, 7], oraz Regand i Goff [25].

## Wyniki i dyskusja

Na rys. 1. przedstawiono graficzny rozkład wielkości średnic kryształów lodu w przechowywanych (przez 1 h i 1 miesiąc) lodach mlecznych, z udziałem pięciu wariantów dodatków stabilizujących.

Największą średnicę kryształów zaobserwowano w lodach z dodatkiem mieszanki A (żelatyna + guma guar +  $\kappa$ -karagen) zarówno po godzinie, jak i po miesiącu przechowywania. Analiza histogramu (rys. 1) oraz krzywych rekrytalizacji (rys. 2) pozwala stwierdzić, że 50 % kryształów lodu w próbce po godzinie przechowywania w temp.  $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$  odznaczało się średnicą na poziomie  $20\text{ }\mu\text{m}$ , a po miesiącu przechowywania wartości te osiągnęły próg wyczuwalności, definiowany na poziomie  $25\text{ }\mu\text{m}$  [2, 3]. Regand i Goff [25] w badaniach modelowych z dodatkiem białek mleka wykazali, że interakcje na poziomie molekularnym między białkami mleka a stabilizatorami polisacharydowymi, takimi jak  $\kappa$ -karagen, mogą ograniczać ich zdolności do hamowania nadmiernego wzrostu kryształów lodu. Potwierdzono, że sam  $\kappa$ -karagen jest lepszym stabilizatorem lodów wodnych niż  $\iota$ -karagen, który lepiej stabilizuje lody melczne [1, 15, 16].

Nie bez wpływu na rozmiar powstających kryształów lodu jest również dodatek żelatyny i gumy guar, ale jak sprawdzono, żelujące działanie niektórych stabilizatorów nie jest jedynym i najważniejszym czynnikiem wpływającym na ograniczanie procesów rekrytalizacji [23, 24].



Objaśnienia: / Explanatory notes:

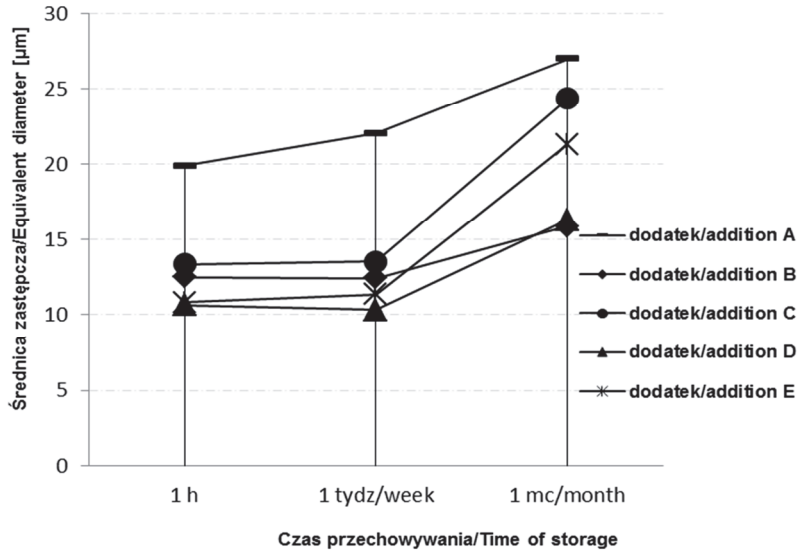
Warianty lodów mlecznych z dodatkiem substancji stabilizujących: / Ice cream variants with stabilizing substances addend:

A – żelatyna (0,125 %), guma guar (0,125 %),  $\kappa$ -karagen (0,1 %) / gelatine (0.125 %), guar gum (0.125 %),  $\kappa$ -carrageenan (0.1 %); B – żelatyna (0,125 %), guma guar (0,125 %), hydrolizat  $\kappa$ -karagenu po hydrolizie HCl (0,005 %) / gelatine (0.125 %), guar gum (0.125 %),  $\kappa$ -carrageenan hydrolysate after hydrolysis with HCl (0.005 %); C – żelatyna (0,125 %), guma guar (0,125 %), hydrolizat  $\kappa$ -karagenu po hydrolizie  $H_2SO_4$  (0,005 %) / gelatine (0.125 %), guar gum (0.125 %),  $\kappa$ -carrageenan hydrolysate after hydrolysis with  $H_2SO_4$  (0.005 %); D – Cremodan Danisco (DuPont) (0,25 %) / Cremodan Danisco (DuPont) stabilizing mixture (0.25 %); E – żelatyna (0,125 %), guma guar (0,125 %), alkohol (0,05 %) / gelatine (0.125 %), guar gum (0.125 %), alcohol (0.05 %).

Rys. 1. Wpływ dodatków stabilizujących na zmiany średnicy zastępczej kryształów lodu w lodach mlecznych, po 1 h i 1 miesiącu przechowywania w temp.  $-18\text{ }^\circ\text{C}$

Fig. 1. Effect of stabilizing additives on changes in equivalent diameter of ice crystals in ice creams after one hour and one month of storing them at  $-18\text{ }^\circ\text{C}$  of temperature

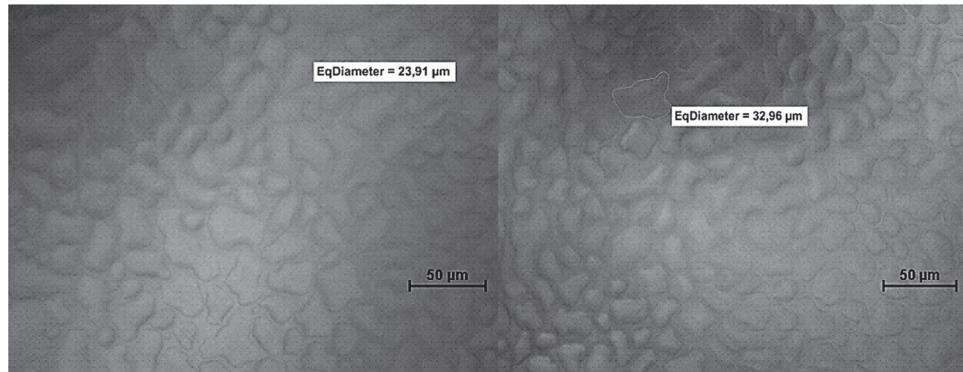
Analiza fotografii (fot. 1. – A1 i A2) wskazuje, że w próbkach badanych lodów przeważały procesy koalescencji między sąsiadującymi kryształami lodu. Dowodzą tego wymiar i nieregularność kryształów lodu w próbce po miesiącu przechowywania (fot. 1. – A2).



Objaśnienia symboli jak pod rys. 1 / Explanatory notes as in Fig. 1.

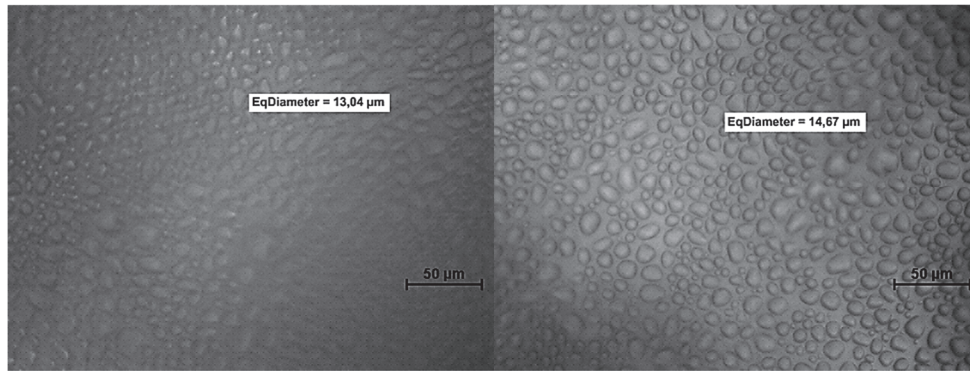
Rys. 2. Krzywe rekrytalizacji lodów mlecznych z dodatkiem substancji stabilizujących  
 Fig. 2. Recrystallization curves of Ice creams with stabilizing substances added

Dobre i porównywalne wyniki w ograniczaniu nadmiernego wzrostu kryształów lodu uzyskano w przypadku dodatków B i D, przy czym mieszanka D stanowiła standardowe substancje stabilizujące, stosowane do produkcji lodów mlecznych, o nazwie handlowej Cremodan (DuPont). Dodatek mieszanki B (żelatyna + guma guar + hydrolyzат κ-karagenu po hydrolizie HCl) spowodował bardzo dobry efekt stabilizujący. W trakcie przechowywania tej wersji lodów (1 miesiąc) średnica kryształów lodu wzrosła jedynie o ok. 4 µm (rys. 2). Z analizy wartości parametru  $X_{50}$  (rys. 1) wynika, że po godzinie przechowywania próbek lodów z dodatkiem mieszanki B w temp. -18 °C, 50 % kryształów odznaczało się średnią średnicą na poziomie 13 µm, a po miesiącu w tych samych warunkach 50 % średnic kryształów lodu osiągnęło poziom 16 µm. Dobre efekty uzyskano przy przechowywaniu w tych samych warunkach sorbetu truskawkowego z dodatkiem hydrolyzatu κ-karagenu po hydrolizie HCl [19].



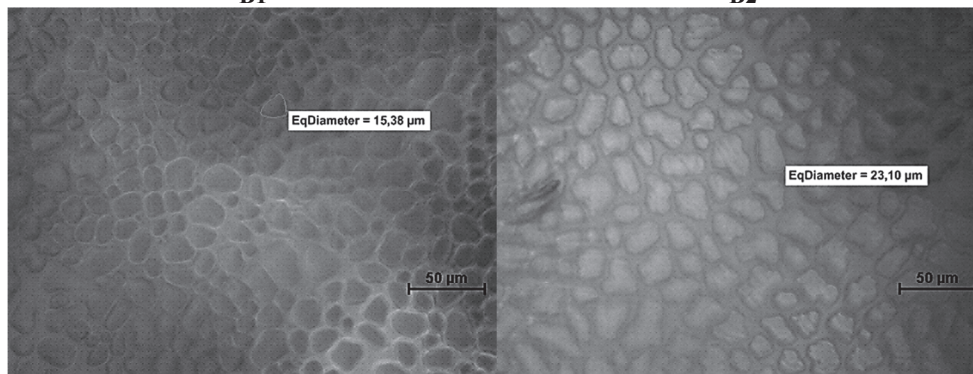
A1

A2



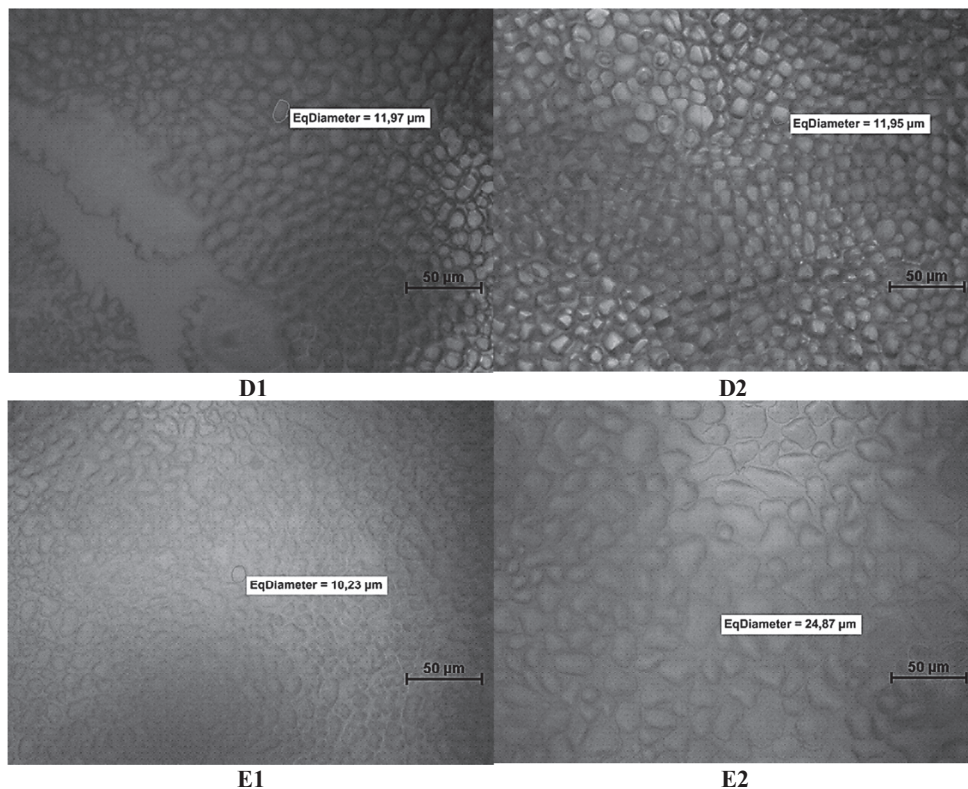
B1

B2



C1

C2



Objaśnienia symboli jak pod rys. 1 / Explanatory notes as in Fig. 1.

Fot. 1. Fotografie kryształów lodu w lodach mlecznych z dodatkiem substancji stabilizujących, po 1 h (1) i po 1 miesiącu (2) przechowywania w temp.  $-18^{\circ}\text{C}$

Phot. 1. Images of ice crystals in ice creams with stabilizing substances added after one hour (1) and one month (2) of storing them at  $-18^{\circ}\text{C}$  of temperature

Niewielkie zmiany struktury i wielkości kryształów widoczne są na fot. 1. (B1 i B2). Kryształy są regularne, o zaokrąglonych krawędziach, z frakcją bardzo drobnych kryształków znajdujących się między większymi kryształami. Mimo że w próbkach z dwoma dodatkami (B i D) średnice kryształów lodu po miesiącu były porównywalne pod względem wielkości, to jednak w lodach z dodatkiem Cremodanu (dodatek D) powstawały kryształy o wyraźnie zarysowanych krawędziach, dość gęsto upakowane i trudno było dostrzec wolne przestrzenie między nimi (fot. 1 – D2). Tak dobrych efektów nie uzyskano po zastosowaniu drugiego hydrolizatu w mieszance dodatków, oznaczonej jako C (żelatyna + guma guar + hydrolizat karagenu po hydrolizie  $\text{H}_2\text{SO}_4$ ). W przypadku tej próbki wartość parametru  $X_{50}$  (rys. 1) po miesiącu przechowywania lodów w temp.  $-18^{\circ}\text{C}$  odpowiadała wartościom próbek z niehydrolizowanym



$\kappa$ -karagenem – różnica wynosiła 1 - 2  $\mu\text{m}$ . W lodach z dodatkiem obu hydrolizatów (mieszanki B i C), wielkość kryształów lodu po godzinie od zakończenia procesu produkcji praktycznie nie uległa zmianie (rys. 2). W ciągu miesiąca przechowywania średnica kryształów lodu w próbkach z dodatkiem C wzrosła o ok. 10  $\mu\text{m}$ . Kamińska-Dwórznička i wsp. [20] wykazali, że ten rodzaj hydrolizatu sprawdzał się jako dodatek ograniczający nadmierny wzrost kryształów lodu w lodach typu sorbet.

Duży wzrost kryształów w trakcie przechowywania zaobserwowano również w lodach z dodatkiem alkoholu – mieszanka E (żelatyna + guma guar + alkohol). Po godzinie przechowywania wartość parametru  $X_{50}$  była na poziomie 11  $\mu\text{m}$ , podobnie jak w próbce z dodatkiem Cremodanu (D). Po upływie miesiąca od produkcji lodów 50 % kryształów lodu charakteryzowało się średnią średnicą na poziomie 21  $\mu\text{m}$ , co wciąż oznacza ograniczenie wzrostu kryształów poniżej progu odczucia piaszczystości w lodach spożywczych, tj. poniżej 25  $\mu\text{m}$ . Alkohol jest bardzo dobrym krioprotektantem. Na fotografiach struktury lodów z dodatkiem alkoholu, po godzinie i po miesiącu przechowywania w temp.  $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ , widoczne były niewielkie zmiany pod względem morfologii kryształów lodu, zauważalny był jedynie ich wzrost (fot. 1 – E1 i E2).

Hydrolizaty  $\kappa$ -karagenu zachowały częściowo właściwości żelujące, co można było zaobserwować tuż po procesie ich otrzymania (hydrolizy). Prawdopodobnie tworzą one żełe o zmienionych w stosunku do żeli karagenowych właściwościach. Można przypuszczać, że będą wpływać na ograniczenie dostępności wody, a tym samym na rekrytalizację typu topnienie – wzrost zamiast topnienie – dyfuzja – wzrost, co może skutkować nieznacznym wzrostem średnic kryształów lodu w trakcie przechowywania lodów spożywczych. Biorąc pod uwagę wyniki wcześniejszych badań naukowych [5, 21, 22, 23, 24], właściwości żelujące nie muszą być jedynym i determinującym czynnikiem ograniczania procesów nadmiernej rekrytalizacji lodu. Powstałe hydrolizaty to prawdopodobnie oligosacharydy, które po wprowadzeniu do roztworu wodnego mogą ulegać hydratacji i w ten sposób ograniczać zdolność całego roztworu do organizowania struktury w kierunku sieci krystalicznej [18, 19].

Gaukel i wsp. [9] sformułowali tezę, zgodnie z którą  $\kappa$ -karagen może ograniczać nadmierną rekrytalizację w podobny sposób jak ochronne białko określane jako AFP (*antifreeze protein*). Hydrolizaty  $\kappa$ -karagenu o zmniejszonej masie cząsteczkowej byłyby zatem bardziej zbliżone do wspomnianych białek ochronnych z uwagi na samą masę. Teza ta może jednak wzbudzać wiele wątpliwości, chociażby dotyczących odmiennych mechanizmów działania dwóch zupełnie różnych związków, czyli polisacharydu ( $\kappa$ -karagen) i białka (AFP) [18]. Dlatego też, aby spróbować opisać mechanizm działania hydrolizatów  $\kappa$ -karagenu, należałoby lepiej poznać ich budowę i szeroko rozumiane właściwości fizykochemiczne [19].

## Wnioski

1. Zadawalający efekt ograniczania nadmiernego wzrostu kryształów lodu w lodach mlecznych uzyskano w próbkach z dodatkiem hydrolizatów kappa karagenu po hydrolizie z użyciem HCl.
2. Porównywalne średnice kryształów lodu stwierdzono w lodach z dodatkiem hydrolizatów  $\kappa$ -karagenu po hydrolizie kwasem solnym i w lodach z dodatkiem standardowej mieszanki o nazwie handlowej CremodanDanisco (DuPont). Po miesiącu przechowywania średnice kryształów lodu w obu próbkach nie przekraczały 16  $\mu\text{m}$ .
3. Hydrolizat  $\kappa$ -karagenu po hydrolizie z użyciem  $\text{H}_2\text{SO}_4$  nie wpływał na ograniczenie nadmiernego wzrostu kryształów lodu, a ich średnica po miesiącu przechowywania odpowiadała średnicom kryształów w lodach z dodatkiem niehydrolizowanego  $\kappa$ -karagenu i wynosiła 25  $\mu\text{m}$ .
4. W lodach z dodatkiem alkoholu stwierdzono wzrost średnic kryształów lodu w trakcie procesu przechowywania o ponad 10  $\mu\text{m}$ , przy czym wielkość tych kryształów pozostała na poziomie nieprzekraczającym progu odczucia piaszczystości czyli poniżej 25  $\mu\text{m}$ .

*Artykuł został opracowany na podstawie badań finansowanych przez Narodowe Centrum Nauki w latach 2010-2014.*

## Literatura

- [1] Adapa S., Schmidt K.A., Jeon I.J., Herald T.J., Flores R.A.: Mechanisms of ice crystallization and recrystallization in ice cream: a review. *Food Rev. Int.*, 2000, **3** (16), 259-271.
- [2] Amamou A.H., Benkhelifa H., Alvarez G., Flick D.: Study of crystal size evolution by focused-beam reflectance measurement during the freezing of sucrose/water solutions in a scraped-surface heat exchanger. *Process Biochemistry*, 2010, **45**, 1821-1825.
- [3] Arellano M., Flick D., Benkhelifa H., Alvarez, G.: Rheological characterization of sorbet using pipe rheometry during the freezing process. *J. Food Eng.*, 2013, **119**, 385-394.
- [4] Delahunty T., Recher L., Hollander D.: Intestinal permeability changes in rodents: a possible mechanism for degraded carrageenan-induced colitis. *Food Chem. Toxicol.*, 1987, **25**, 113-118.
- [5] Drewett E.M., Hartel R.W.: Ice crystallization in a scraped surface freezer. *J. Food Eng.*, 2007, **78**, 1060-1066.
- [6] Flores A.A., Goff H.D.: Ice crystal size distributions in dynamically frozen model solutions and ice cream as affected by stabilizers. *J. Dairy Sci.*, 1999, **82**, 1399-1407.
- [7] Flores A.A., Goff H.D.: Recrystallization in ice cream after constant and cycling temperature storage conditions as affected by stabilizers. *J. Dairy Sci.*, 1999, **82**, 1408-1415.
- [8] Gaukel V., Karl A., Muller K., Spiess W.E.L.: Einfluss von Antifrierproteinen auf die Rekristallisation von Eisin Modelllösungen für Eiskrem. *Chem. In. Technol.*, 2003, **4** (74), 454-459.
- [9] Gaukel V., Leiter A., Spiess W.E.L.: Synergism of different fish antifreeze proteins and hydrocolloids on recrystallization inhibition of ice in sucrose solutions. *J. Food Eng.*, 2014, **141**, 44-50.

- [10] Goff H.D., Caldwell K.B., Stanley D.W., Maurice T.J.: Influence of polysaccharides on the glass transition in frozen sucrose solutions and ice cream. *J. Dairy Sci.*, 1993, **76**, 1268-1277.
- [11] Gruda Z., Postolski J.: *Zamrażanie żywności*. Wyd. 3. WNT, Warszawa 1999, ss. 73-137.
- [12] Guiseley K.B., Stanley N.F., Whitehouse P.A.: Carrageenan. In: *Handbook of Water-Soluble Gums and Resins* ed. by Davidson R. L., McGraw-Hill, New York 1980, pp. 51-85.
- [13] Haijin M., Xiaolu J., Huashi G.: A  $\kappa$ -carrageenan derived oligosaccharide prepared by enzymatic degradation containing anti-tumor activity. *J. Appl. Phycol.*, 2003, **15**, 297-303.
- [14] Heiss R., Eichner K.: *HaltbarmachenvoeLebensmitteln. Chemische, physikalische und mikrobiologische Grundlagen der Verfahren*. Ayflage. Springer, Berlin 2002, pp. 169-170.
- [15] Kamińska A., Lewicki P.P.: Metody ograniczania krystalizacji lodu w procesie zamrażania. *Przem. Spoż.*, 2008, **9 (62)**, 24-28.
- [16] Kamińska A., Gäükel V.: Kontrola wzrostu kryształów w lodach spożywczych. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2009, **1 (62)**, 57-64.
- [17] Kamińska A., Tarnowska E.: Wpływ dodatków stabilizujących na strukturę kryształów lodu, jakość sensoryczną i właściwości fizyczne lodów mlecznych. W: *Wpływ procesów technologicznych na właściwości materiałów i surowców roślinnych*. PAN, Warszawa 2010, ss. 57-67.
- [18] Kamińska-Dwórznicza A., Ulanicka U.K.: Badanie udziału wody wymrożonej i niewymrożonej po zamrożeniu roztworów modelowych sacharozy bez dodatku i z dodatkiem substancji ochronnych. *Zesz. Probl. Post. Nauk Rol.*, 2012, **571**, 59-66.
- [19] Kamińska-Dwórznicza A., Antczak A., Samborska K., Lenart A.: Acid hydrolysis of kappa-carrageenan as a way of gaining new substances for freezing process modification and protection from excessive recrystallization of ice. *Int. J. Food Sci. Technol.*, 2015, **5 (8)**, 1799-1806.
- [20] Kamińska-Dwórznicza A., Matusiak M., Samborska K., Witrowa-Rajchert D., Gondek E., Jakubczyk E., Antczak A.: The influence of kappa carrageenan and its hydrolysates on the recrystallization process in sorbet. *J. Food Eng.*, 2015, **167**, part B, 162-165.
- [21] Karlsson A., Singh S.K.: Acid hydrolysis of sulphated polysaccharides. Desulphation and the effect on molecular mass. *Carbohydrate Polymers*, 1999, **38**, 7-15.
- [22] Kluza F., Kozłowicz K.: Gel products properties influenced by freezing in different conditions. *Int. J. Refrig.*, 2012, **35**, 1715-1721.
- [23] Kozłowicz K.: Charakterystyka wykorzystania wybranych substancji kriochronnych w zamrażaniu i przechowywaniu żywności. *Acta Sci. Pol.*, 2012, **11 (3-4)**, 13-24.
- [24] Regand A., Goff H.D.: Effect of biopolymers on structure and ice recrystallization in dynamically frozen ice cream model system. *J. Dairy Sci.*, 2002, **85**, 2722-2732.
- [25] Regand A., Goff H.D.: Structure and ice recrystallization in frozen stabilized ice cream model systems. *Food Hydrocoll.*, 2003, **17**, 95-102.
- [26] Sutton R.L., Wilcox J.: Recrystallization in model ice cream solution as affected by stabilizer concentration. *J. Food Sci.*, 1998, **61**, 9-11.
- [27] Yang B., Yu G., Zhao X., Jiao G., Ren S., Chai W.: Mechanism of mild acid hydrolysis of galactan polysaccharides with highly ordered disaccharide repeats leading to a complete series of exclusively odd-numbered oligosaccharides. *FEBS J.*, 2009, **7 (276)**, 2125-2137.

## EFFECT OF KAPPA CARRAGEENAN HYDROLYSATES ON LIMITING EXCESSIVE ICE CRYSTALS GROWTH IN ICE CREAMS

### S u m m a r y

The objective of the research study was to produce new stabilizing substances and to develop a system to reduce the recrystallization process while storing ice cream products. The first stage of the research comprised an acid hydrolysis process of  $\kappa$ -carrageenan with the use of  $H_2SO_4$  and HCl. A SEC gel permeation chromatography was applied to determine the weight of the hydrolysates produced. Then, an attempt was made to utilize the compounds produced as stabilizers for ice creams. The next research stage was to analyze, with the use of Alphaphot-2 YS2 microscope and Nikon DS-F camera, the process of recrystallization on the basis of the ice crystals images taken instantly after the ice creams were made, after one week and, next, one month of storing them. In addition to  $\kappa$ -carrageenan and its derivatives, gelatin, guar gum, alcohol, and ready-mixed stabilizing mixtures manufactured by Danisco Co. (DuPont) were added to the samples investigated.

The acid hydrolysis with the use of  $H_2SO_4$  and HCl caused the molar mass of  $\kappa$ -carrageenan to decrease by ca. 10 times. Based on the images of ice crystals contained in ice cream products, it was found that the presence of  $\kappa$ -carrageenan hydrolysates had a greater effect on reducing the recrystallization process than the addition of  $\kappa$ -carrageenan alone or the addition of industrial compound stabilizers. As regards the ice cream samples with the added  $\kappa$ -carrageenan hydrolysate after hydrolysis with HCl, after one month of storing the ice creams, the equivalent diameter of ice crystals therein did not exceed 16  $\mu m$ , whereas, as regards the ice cream samples stored for one month and with the non-hydrolyzed  $\kappa$ -carrageenan added, that diameter exceeded 25  $\mu m$ .

**Key words:** ice creams, kappa carrageenan, hydrolysate, recrystallization ☒