



RAPORT Z BADAŃ ZREALIZOWANYCH W RAMACH PROJEKTU
Opracowanie udoskonalonych produktów o ulepszonej wartości
żywnościowej a także niekonwencjonalnego procesu obróbki
termicznej materiałów żywnościowych

Projekt nadzorowany przez Agencję Restrukturyzacji i Modernizacji Rolnictwa,
współfinansowany ze środków Unii Europejskiej w ramach działania „Współpraca”
Programu Rozwoju Obszarów Wiejskich na lata 2014-2020

OSOBY ODPOWIEDZIALNE ZA REALIZACJĘ:

dr Anna Goszkiewicz
dr inż. Maria Buła
mgr inż. Eliza Kołodziejczyk
mgr inż. Katarzyna Korczak
mgr Katarzyna Woźniak

Konstantynów Łódzki, 31.12.2019



Spis treści

1	Cel badania	5
2	Materiał badany	6
2.1	Prażenie konwencjonalne	6
2.2	Prażenie mikrofalowe	6
2.2.1	Przechowalność	8
2.3	Mieszanki	8
3	Metodyka badań	10
3.1	Badania sensoryczne	10
3.2	Analiza wybranych paramentów jakościowych tłuszczu	13
3.2.1	Ekstrakcja tłuszczu	13
3.2.2	Liczba kwasowa	13
3.2.3	Liczba nadtlenkowa	13
3.2.4	Profil kwasów tłuszczowych	14
3.2.5	Zawartość steroli	14
3.3	Aktywność wody	15
3.4	Barwa	15
3.5	Objętość	16
3.6	Instrumentalny pomiar parametrów tekstury	16
3.7	Wydajność procesu	17
3.8	Energochłonność i LCA (ocena wpływu na środowisko)	17
3.9	Analiza wielokryterialna	18
3.10	Badania mikrobiologiczne	18
3.11	Oznaczenie zawartości białka	19
3.12	Oznaczenie zawartości tłuszczu	19
3.13	Oznaczenie zawartości składników mineralnych	19
4	Wyniki badań	20
4.1	Badania sensoryczne	20
4.2	Analiza wybranych paramentów jakościowych tłuszczu	44
4.2.1	Liczba kwasowa	44
4.2.2	Liczba nadtlenkowa	48
4.2.3	Profil kwasów tłuszczowych	50
4.2.4	Profil kwasów tłuszczowych w próbkach po przechowywaniu	59
4.2.5	Profil kwasów tłuszczowych w mieszankach	61
4.2.6	Zawartość steroli	62
4.2.7	Zawartość steroli w próbkach po przechowywaniu	63



4.2.8	Zawartość steroli w mieszankach	64
4.3	Aktywność wody.....	65
4.3.1	Aktywność wody po przechowywaniu	66
4.4	Barwa.....	67
4.4.1	Próbki po przechowywaniu	68
4.5	Objętość.....	68
4.6	Instrumentalny pomiar parametrów tekstury	69
4.6.1	Próbki prażone mikrofalowo	69
4.6.2	Próbki po przechowywaniu	78
4.7	Wydajność procesu	80
4.8	Energochłonność i LCA	80
4.9	Analiza wielokryterialna	84
4.10	Badania mikrobiologiczne	84
4.11	Oznaczenie zawartości białka	85
4.12	Oznaczenie zawartości tłuszczu w mieszankach	85
4.13	Oznaczenie zawartości węglowodanów oraz składników mineralnych.....	85
5	Podsumowanie i wnioski	90
6	Literatura	93



Spis skrótów i symboli

a*	parametr barwy od czerwonej do zielonej w systemie CIE L*a*b*
ASLT	(ang. <i>Accelerated Shelf-Life Tests</i>) – przyspieszone testy przechowalnicze
b*	parametr barwy od żółtej do niebieskiej w systemie CIE L*a*b*
BSTFA	N,O-bis-(trimetylosililo)trifluoroacetamid
ELCD	(ang. <i>European reference Life Cycle Database</i>) europejska referencyjna baza danych na temat cyklu życia
FAME	(ang. <i>Fatty Acids Methyl Esters</i>) – estry metylowe kwasów tłuszczowych
FC	funkcja celu
L*	jasność w systemie CIE L*a*b*
LCA	(ang. <i>life-cycle assessment</i>) – ocena cyklu życia
LK	liczba kwasowa
LOO	liczba nadtlenkowa
m.m.	mokra masa
MUFA	(ang. <i>Monounsaturated Fatty Acids</i>) – jednonienasycone kwasy tłuszczowe
NIST	(ang. <i>National Institute of Standards and Technology</i>) – Narodowy Instytut Standaryzacji i Technologii
NNKT	niezbędne nienasycone kwasy tłuszczowe
pkt	punkty
PUFA	(ang. <i>Polyunsaturated Fatty Acids</i>) – wielonienasycone kwasy tłuszczowe
Q10	współczynnik szybkości reakcji
QDA	(ang. <i>Quantitative Descriptive Analysis</i>) – metoda ilościowej analizy opisowej
s.m.	sucha masa
SD	odchylenie standardowe
SFA	(ang. <i>Saturated Fatty Acids</i>) – nasycone kwasy tłuszczowe
TMCS	trimetylochlorosilan
TPA	(ang. <i>Texture Profile Analysis</i>) test analizy profilu tekstury
TSA	(ang. <i>Tryptone Soya Agar</i>) – agar tryptonowy
X _i	wartości nominalne
X _{śr}	średnia arytmetyczna
Z _i	wartości znormalizowane zmiennych
ΔE	bezwzględna różnica barwy



1 Cel badania

Projekt „Opracowanie udoskonalonych produktów o ulepszonej wartości żywieniowej a także niekonwencjonalnego procesu obróbki termicznej materiałów żywnościowych” miał na celu:

- opracowanie i wdrożenie znacznie udoskonalonych produktów, w postaci nasion i orzechów o lepszych cechach żywieniowych,
- opracowanie i wdrożenie nowej innowacyjnej technologii przetwórstwa produktów (obróbki termicznej nasion i orzechów),
- opracowanie i wdrożenie nowej metody marketingu dotyczącej wprowadzania do obrotu produktów.

Do realizacji powyższych celów, na podstawie umowy konsorcjum z dnia 27.07.2017 r., została utworzona Grupa Operacyjna „Doskonałe Bakalie”. W skład Grupy weszli:

- EIG Finanse sp. z o.o. – firma doradcza i lider konsorcjum
- Centrum Badań i Innowacji Pro-Akademia – jednostka naukowa
- Bakalland SA – duży przedsiębiorca, lider krajowego rynku bakalii.

Projekt był nadzorowany przez Agencję Restrukturyzacji i Modernizacji Rolnictwa i współfinansowany ze środków Unii Europejskiej w ramach działania „Współpraca” Programu Rozwoju Obszarów Wiejskich na lata 2014-2020, na podstawie umowy nr 00007.DDD.6509.00013.2017.05. Badania w ramach projektu trwały od 1 stycznia 2019 r. do 31 grudnia 2019 r. i obejmowały trzy etapy.

Celem etapu I była weryfikacja i optymalizacja procesu prażenia mikrofalowego jak i konwencjonalnego pod kątem jego stosowania w warunkach przemysłowych. Wybrane pestki i orzechy (słonecznik, orzech włoski, orzech laskowy, orzech arachidowy, migdał), po wyprażeniu mikrofalowym, konwencjonalnym, jak i nieprażone, zostały poddane badaniom indywidualnym i porównawczym w zakresie następujących cech: jakość sensoryczna, objętość i wydajność procesu, aktywność wody i barwa (pomiar instrumentalny), parametry tekstury (pomiar instrumentalny), wybrane parametry jakościowe tłuszczu (parametry fizyko-chemiczne, kwasy tłuszczowe, fitosterole).

W ramach etapu II wykonano badania przechowalnicze (20 prób technologicznych) surowców prażonych mikrofalowo według zoptymalizowanych parametrów, dla różnych czasów przechowywania. Badania dotyczyły następujących cech: jakość sensoryczna, parametry tekstury (pomiar instrumentalny), wybrane parametry tłuszczu (parametry fizyko-chemiczne, kwasy tłuszczowe, fitosterole).

Etap III miał na celu opracowanie składu co najmniej 3 mieszanek pestek i orzechów, tj. określenie pożądanej ilości, proporcji kwasów tłuszczowych i zawartości steroli. Dla przygotowanych mieszanek została wykonana analiza:

- podstawowych składników odżywczych: wody, białka, tłuszczu, węglowodanów, składników mineralnych ogółem,
- profilu kwasów tłuszczowych,
- profilu steroli,
- jakości mikrobiologicznej.



5 Podsumowanie i wnioski

Nowe, łagodne technologie przetwarzania żywności, wykorzystujące niskie temperatury i zastosowanie ograniczonych ilości substancji pomocniczych, mogą ułatwić zachowanie składników odżywczych i ich biodostępność, zapewnić dobrą jakość produktów, a ponadto zmaksymalizować funkcje końcowe (atrybuty sensoryczne, skład odżywczy). Do takich technologii zalicza się prażenie mikrofalowe. Mikrofałe działają na cały surowiec, generują ciepło i zwiększają ciśnienie pary wodnej w produkcie. Z kolei prażenie konwencjonalne (konwekcyjne) wykorzystuje gorące powietrze do podgrzewania i działa głównie na powierzchnię surowców (Schlörmann i wsp., 2015; Sharma i Gujral, 2011). W projekcie wykorzystano metodę prażenia konwencjonalnego (konwekcyjnego) w temperaturze 180°C oraz prażenia mikrofalowego w mocy 500W, 600W, 800W w podciśnieniu (40 hPa)

W ramach projektu wykonano analizę procesu prażenia mikrofalowego i konwencjonalnego pod względem ich energochłonności i wpływu na środowisko. Przy obecnym systemie zasilania urządzeń stwierdzono, że **proces prażenia mikrofalowego był bardziej energochłonny w porównaniu do prażenia konwencjonalnego**. Jednak na niekorzyść prażenia konwencjonalnego przemawia emisja gazów cieplarnianych, wynikająca ze spalania gazu (butan), jakim zasilane są tradycyjne piece piekarnicze wykorzystywane do tego procesu. **Analiza LCA wykazała, że najmniejszy wpływ na środowisko dla każdego z surowców ma prażenie mikrofalowe zasilane energią elektryczną pochodzącą z odnawialnych źródeł energii. Wpływ ten jest od 14÷28 razy mniejszy niż prażenie konwencjonalne (w zależności od surowca) i 231 razy mniejszy niż prażenie mikrofalowe zasilane z sieci elektroenergetycznej**. Tak duża różnica wynika ze struktury produkcji energii elektrycznej w Polsce, opartej w ponad 80% na węglu kamiennym i brunatnym. W związku z tym rekomenduje się zastosowanie alternatywnych źródeł energii do zasilania urządzeń do prażenia.

Niezbędne nienasycone kwasy tłuszczowe (NNKT) stanowią nieodłączny element zbilansowanej diety człowieka. Wspomagają pracę układu nerwowego i mózgu, ułatwiają odchudzanie, a także wykazują działanie przeciwmiażdżycowe (Cardoso, Duarte, Reis, i Cozzolino, 2017). Dodatkowo regulują ciśnienie krwi, zapobiegając nadciśnieniu tętniczemu (Alexiadou i Katsilambros, 2011). W analizowanych próbkach pestek i orzechów zidentyfikowano dwa NNKT: kwas linolowy (we wszystkich rodzajach próbek) oraz α -linolenowy (w orzechach włoskich). Profil kwasów tłuszczowych w pestkach i orzechach prażonych konwencjonalnie jak i mikrofalowo jest porównywalny. Na podstawie przeprowadzonych badań stwierdzono, że **zastosowanie prażenia mikrofalowego nie obniżało jakości tłuszczów pestek/orzechów pod względem profilu kwasów tłuszczowych w odniesieniu do prażenia konwencjonalnego**. Najkorzystniejszy pod kątem proporcji kwasów z rodziny ω -6 do ω -3 oznaczono w przypadku orzechów włoskich i był on zgodny z aktualnymi zaleceniami żywieniowymi (1:3-5) (Jarosz, 2017).

Fitosterole to grupa związków o właściwościach bioaktywnych, występujących w formie wolnej lub zestryfikowanej z kwasami tłuszczowymi. Wpływają na obniżenie poziomu cholesterolu we krwi. Dzielne spożycie 2-3 g fitosteroli może zmniejszyć poziom cholesterolu LDL o około 10-15%. Fitosterolami najczęściej występującymi w orzechach są: β -sitosterol oraz stigmasterol (Chen i Blumberg, 2008). **Przeprowadzone badania wykazały, że prażenie mikrofalowe nie zmniejsza zawartości steroli w próbkach pestek/orzechów w odniesieniu do prażenia konwencjonalnego**. Jedynie w orzechach laskowych oraz arachidowych prażonych konwencjonalnie zanotowano nieznacznie wyższe stężenie β -sitosterolu niż w prażonych mikrofalowo.

Jakość tłuszczu pestek/orzechów oceniono poprzez sprawdzenie liczby kwasowej (miara zawartości wolnych kwasów tłuszczowych w tłuszczu) oraz liczby nadtlenkowej (miara zawartości nadtlenuków). Zaobserwowano **niższą podatność na jełczenie pestek/orzechów prażonych mikrofalowo określoną przez niższą wartość liczby nadtlenkowej**. Liczba nadtlenkowa jest traktowana jako wskaźnik stopnia utlenienia (zjełczenia) tłuszczu. Różnice w wartościach liczby nadtlenkowej pestek i orzechów prażonych metodą mikrofalową i konwencjonalną sugerują, że **proces**



wykorzystujący mikrofałe może sprzyjać wydłużeniu przydatności do spożycia produktów prażenia mikrofalowego. Ponadto ten sposób prażenia może sprzyjać zachowaniu wysokich cech sensorycznych, ponieważ zjawisko jełczenia istotnie obniża walory smakowe i zapachowe produktów.

Kolejnym badanym parametrem była objętość pestek i orzechów. Zaobserwowano, że objętość pestek i orzechów wzrasta wraz z czasem prażenia. **W przypadku orzechów włoskich, laskowych oraz migdałów prażenie mikrofalowe przyczyniło się do wzrostu objętości w porównaniu z prażeniem konwencjonalnym.** Proces prażenia mikrofalowego przyczyna się do błyskawicznego odparowania wody i osiągnięcia efektu „puffingu” (Rakesh i Datta, 2011). Orzechy i nasiona stały się spęczniałe a zarazem chrupkie. Instrumentalne badania parametrów tekstury potwierdzają spadek twardości oraz wzrost chrupkości orzechów laskowych, migdałów oraz orzechów włoskich prażonych mikrofalowo w porównaniu z prażonymi konwencjonalnie.

Istotnym zagadnieniem badawczym była ocena jakości sensorycznej orzechów i nasion poddanych obróbce mikrofalowej i konwencjonalnej. Zespół ekspertów ocenił próbki pestek słonecznika, migdałów, orzecha włoskiego, arachidowego i laskowego. Stwierdzono, że **prażenie mikrofalowe wpływało pozytywnie na odbiór przez konsumentów wszystkich badanych próbek pestek/orzechów z wyłączeniem arachidów.** Oceniający stwierdzili, że orzechy arachidowe charakteryzuje nieprzyjemny posmak „zielonego groszku”, który znacznie odbiega od oczekiwanego zarówno w przypadku prażenia konwencjonalnego, jak i mikrofalowego.

Analiza poszczególnych prób prażonych mikrofalowo wykazała, że optymalnymi warunkami prażenia mikrofalowego dla poszczególnych surowców były:

- 600 W, 6 min – słonecznik,
- 600 W, 4 min – orzechy włoskie,
- 600 W, 8 min – orzechy laskowe,
- 800 W, 6 min – orzechy arachidowe,
- 500 W, 8 min – migdały.

Z kolei dla prób prażonych konwencjonalnie optymalny czas prażenia wynosił:

- 25 minut – słonecznik,
- 15 minut – orzechy włoskie,
- 20 minut – orzechy laskowe,
- 20 minut – orzechy arachidowe,
- 25 minut – migdały.

W czasie **przechowywania** zaobserwowano zmiany w strukturze produktów: zmniejszyła się twardość i kruchość pestek słonecznika oraz orzechów laskowych. W przypadku pozostałych produktów prażenia mikrofalowego stwierdzono, że przechowywanie nie powoduje zmian w teksturze. Badania sensoryczne wskazały, że pożądalność ogólna produktu i stopień akceptacji konsumenckiej obniżały się w przypadku orzechów laskowych i włoskich, natomiast dla orzechów arachidowych, pestek słonecznika i migdałów nie zaobserwowano istotnych zmian. Przechowywanie wpływało istotnie na zmniejszenie ogólnej intensywności zapachu dla orzechów arachidowych oraz migdałów, a także zapachu orzechowego orzechów laskowych. W próbkach orzecha arachidowego, włoskiego oraz słonecznika zapach obcy był bardziej wyczuwalny. Przechowywanie nie wpływało na zmiany objętości produktów. Natomiast zaobserwowano, że wraz z czasem wzrastała aktywność wody, jednak wartość A_w pozostawała poniżej poziomu umożliwiającego rozwój drobnoustrojów. Parametry fizykochemiczne tłuszczu (LK, LOO) rosły wraz z czasem przechowywania. Przechowywanie spowodowało uwolnienie wolnych kwasów tłuszczowych powyżej dopuszczalnego zakresu w przypadku słonecznika i arachidów. W pozostałych produktach LK mieściła się w dopuszczalnym zakresie. Przechowywanie spowodowało wzrost liczby nadtlencowej. Wartość liczby nadtlencowej (LOO), tylko dla migdałów, po 6 miesiącach przechowywania, mieściła się w dopuszczalnym zakresie. Przechowywanie nie wpływało istotnie na profil kwasów tłuszczowych, zatem **prażenie mikrofalowe pozwala na utrzymanie wysokiej jakości NNKT** w nasionach i orzechach w trakcie przechowywania.



Zawartość β -sitosterolu podczas przechowywania zmieniała się w przypadku orzechów włoskich oraz pestek słonecznika. W przypadku pozostałych orzechów nie odnotowano istotnych zmian. W przypadku pestek słonecznika zaobserwowano spadek stężenia β -sitosterolu po 6 miesiącach przechowywania. Najlepsze właściwości podczas przechowywania wykazywały **migdały**. Nawet po 6 miesiącach przechowywania charakteryzowały się szczególnie niską liczbą nadtlenkową, co warunkuje ich niską podatność na jęczenie. Ponadto w badaniach sensorycznych eksperci wysoko ocenili kruchość oraz smak słodki migdałów, a także zadeklarowali wysoki stopień pożądalności i akceptowalności konsumenckiej. Na podstawie powyższych wniosków można **zarekomendować produkcję migdałów prażonych mikrofalowo**.

Analiza wyników badań **mieszkanek** wykazała, że najlepszymi właściwościami w zakresie profilu kwasów tłuszczowych charakteryzowała się mieszanka nr 1 składająca się z orzechów włoskich (50%), migdałów (30%) oraz orzechów laskowych (20%). Profil kwasów tłuszczowych tej mieszanki odznaczał się najwyższą zawartością wielonienasyconych kwasów tłuszczowych (PUFA) oraz najlepszą proporcją kwasów ω -3 do ω -6 (1:4). Z kolei mieszanka nr 2 składająca się z pestek słonecznika (30%), orzechów laskowych (20%), włoskich (20%) i migdałów (30%) charakteryzowała się najwyższą zawartością steroli. Wszystkie mieszanki odznaczały się wysoką czystością mikrobiologiczną oraz wysoką zawartością białka (powyżej 20%) i tłuszczu (powyżej 50%).

Na podstawie powyższych wniosków można zarekomendować produkcję mieszanki nr 1 (orzechy włoskie (50%), migdały (30%) i orzechy laskowe (20%)), a także mieszanki nr 2 (słonecznik (30%), orzechy laskowe (20%), włoskie (20%) i migdały (30%)). Ponadto na podstawie otrzymanych wyników można zarekomendować produkcję migdałów prażonych mikrofalowo (500 W, 8 minut).



6 Literatura

- (WE) NR 2073/2005. (2005). Kryteria mikrobiologiczne dotyczące środków spożywczych. - Dz.U.UE.L.2005.338.1. Dostęp: 04.12.2019, <https://sip.lex.pl/akty-prawne/dzienniki-UE/kryteria-mikrobiologiczne-dotyczace-srodkow-spozywczych-67567154>
- Alexiadou K., Katsilambros N. (2011). Nuts: Anti-atherogenic food? *European Journal of Internal Medicine*, 22:141–146.
- Cardoso B.R., Duarte G.B.S., Reis B.Z., Cozzolino S.M.F.(2017) Brazil nuts: Nutritional composition, health benefits and safety aspects. *Food Research International*, 100(Pt 2):9–18.
- Chen O., Blumberg J. (2008). Phytochemical composition of nuts. *Asia Pacific journal of clinical nutrition*. 17 Suppl 1:329–32.
- David F., Vickers A. K. (2005). Column Selection for the Analysis of Fatty Acid Methyl Esters Application. *Agilent Application Note*, 1–12.
- Derewiaka D., Obiedziński M. (2009). Oznaczenie zawartości steroli oraz produktów utleniania steroli w wybranych jogurtach owocowych. *Bromatologia i Chemia Toksynologiczna*, XLII, 2, 564–668.
- Haouet M. N., Tommasin M., Mercuri M. L., Benedetti F., Di Bella S., Framboas M., Pelli S., Altissimi M. S. (2018). Experimental accelerated shelf life determination of a ready-to-eat processed food. *Italian Journal of Food Safety*, 7(4), 189–192.
- Ishihara S. (1917). ISHIHARA COLOUR PLATES – 38 SET.
- Jarosz M. (2017). Normy żywienia dla populacji Polski. Instytut Żywności i Żywienia, <https://doi.org/10.1186/1743-0003-7-21>
- Kochhar S. P., Henry C. J. K. (2009). Oxidative stability and shelf-life evaluation of selected culinary oils. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 60(7), 289–296.
- Kowal K. (2012). Wpływ aktywności wody na wzrost drobnoustrojów. *Przemysł Spożywczy*, T. 66, nr 8/9, 50–52.
- Kumirska J., Migonowska N., Caban M., Plenis A., Stepnowski P. (2011). Chemometric analysis for optimizing derivatization in gas chromatography - based procedures. *Journal of Chemometrics*, 25(12), Melski K., Walkowiak-Tomczak D. (red.) (2016). Żywność dla świadomego konsumenta. Wydział Nauk o Żywności i Żywieniu, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, Poznań.
- PN-EN ISO 3960:2012. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce - Oznaczanie liczby nadtlenkowej - Jodometryczne (wizualne) oznaczanie punktu końcowego. Polski Komitet Normalizacyjny.
- PN-EN ISO 660:2005. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce - Oznaczanie liczby kwasowej i kwasowości. Polski Komitet Normalizacyjny.
- PN-EN ISO 8586-03:2014. Analiza sensoryczna. Ogólne wytyczne wyboru, szkolenia i monitorowania wybranych oceniających i ekspertów oceny sensorycznej. Polski Komitet Normalizacyjny.
- PN-A-86908:2000. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Rafinowane oleje roślinne. Polski Komitet Normalizacyjny.
- Rakesh V., Datta A. K. (2011). Microwave puffing: Determination of optimal conditions using a coupled multiphase porous media - Large deformation model. *Journal of Food Engineering*, 107(2), 152–163.
- Shun Na. (2011). Analysis of Fatty Acids in Infant Formulas using an Agilent J& W HP-88 Capillary GC Column. *Agilent Technologies*, 5990-8429EN. Dostęp: 04.03.2019 <http://www.chem.agilent.com/Library/applications/5990-8429EN.pdf>
- Schlörmann W., Birringer M., Böhm V., Löber K., Jahreis G., Lorkowski S., Müller A.K., Schöne F., Gleis M. (2015) Influence of roasting conditions on health-related compounds in different nuts. *Food Chemistry*, 180:77-85.
- Sharma P., Gujral H.S. (2011) Effect of sand roasting and microwave cooking on antioxidant activity of barley. *Food Research International*, 44:235–240



Sobczyk M., Ziarno M. (2013). Charakterystyka jakości mikrobiologicznej i zawartości składników odżywczych (białka, tłuszczu, związków mineralnych) wybranych płatków musli. *Zeszyty Problemowe Postępów Nauk Rolniczych*, 575:119–129.

Wu J., Hu R., Yue J., Yang Z., Zhang L. (2009). Determination of fecal sterols by gas chromatography-mass spectrometry with solid-phase extraction and injection – post derivatization. *Journal of Chromatography A*, 1216:1053–1058.