

LECHNIAK DOROTA, ŚWITOŃSKI MAREK

# Próba oceny cytogenetycznej oocytów bydłych dojrzałych „in vitro”

Katedra Genetyki i Podstaw Hodowli Zwierząt Wydziału Zootechnicznego AR,  
ul. Wołyńska 33, 60-637 Poznań

## Summary

### Cattle oocytes cultivated in vitro — cytogenetic evaluation

The studies were performed on 890 oocytes collected from 67 ovaries. For cultivation in vitro 302 oocytes were qualified. Cytogenetic slides were made from 236 oocytes cultivated in vitro. Out of them only 103 oocytes (44%) proved to be suitable for cytogenetic analysis. It was found that: 28% of the oocytes were at metaphase I, 4% at anaphase I, 14% at telophase I and 54% at metaphase II of meiosis. Among secondary oocytes which were studied cytogenetically (metaphase II) 8% of the cells had diploid number of chromosomes. The studies showed that cytogenetic analysis could be useful to assess the maturation progress of oocytes in vitro and to study chromosome abnormalities.

Rozwój nowych technik biotechnologicznych, do których należą m.in. przenoszenie zarodków oraz dojrzewanie i zapłodnienie oocytów poza organizmem samicy, pozwala na istotny wzrost wykorzystania potencjału rodzicielskiego i genetycznego samic. Może to również wpływać na znaczne skrócenie odstępów pokoleń, co ma doniosłe znaczenie w pracy hodowlanej (1).

W warunkach naturalnych wykorzystywana jest tylko nieznaczna część potencjału genetycznego tkwiącego w komórkach rozrodczych samicy. Liczba tych komórek (oocytów) ustala się w jajnikach płodu żeńskiego około 70 dnia ciąży (9) w wyniku wielokrotnych podziałów mitotycznych oogoniów. Zaraz potem komórki te podejmują podział mejotyczny, który zatrzymuje się około 200 dnia życia zarodka w stadium zwanym diktiotemem. Ponowna inicjacja rozpoczętego podziału mejotycznego następuje już za życia samicy po osiągnięciu przez nią dojrzałości płciowej. W naturalnym cyklu rujowym najczęściej owuluje jedna komórka w stadium oocytu II rzędu. Biorąc pod uwagę długość ciąży oraz okres użytkowania rozplodowego samicy średnio od jednego osobnika uzyskujemy od kilku do kilkunastu cieląt.

Wiadomo jednak, że niedojrzałe oocyty ssaków po usunięciu ich z pęcherzyka jajnikowego mogą podejmować w warunkach „in vitro” zatrzymany podział mejotyczny. Ma to znaczenie o tyle doniosłe, że proces dojrzewania i zapłodnienia oocytów może odbywać się bez udziału samicy, po zakończeniu przez nią okresu rozrodczego. Dojrzewanie oocytów „in vitro” rozumiane jest jako kontynuacja mejozy rozpoczętej „in vivo” aż do uzyskania dojrzałości do zapłodnienia czyli stadium metafazy drugiej mejozy. Do oceny dojrzałości oocytów oraz prawdziwości zestawu chromosomów można wykorzystać badania cytogenetyczne (13). Dzięki ocenie cytogenetycznej oocytów można prowadzić kontrolę procesu dojrzewania „in vitro”, a także wykrywać zaburzenia podziału mejotycznego ujawniające się w postaci różnych aberracji chromosomowych, takich jak: diploidy, aneuploidy, itp.

Celem niniejszej pracy było uzyskiwanie i ocena cytogenetyczna preparatów mejotycznych wykonywanych z oocytów bydłych dojrzałych „in vitro”.

## Materiał i metody

Pozyskiwanie oocytów. Badania prowadzono na oocytach z jajników krów rzeźnych. Jajniki klasyfikowano wstępnie pod względem ilości i wielkości pierwotnych pęcherzyków. Preferowano jajniki z dużą ilością małych pęcherzyków (średnica 1—5 mm) bez cyst i ciałek żółtych. Transport jajników z rzeźni do laboratorium odbywał się w czasie do 2 godz. od uboju w środowisku 0,9% roztworu NaCl i temperaturze ok. 35°C (ostatecznie temperatura materiału nie była niższa od 20°C). Oocyty pozyskiwano drogą nakłuwania wybranych pęcherzyków o średnicy 1—5 mm i opłukiwania powierzchni jajnika w pożywce (PBS, 5% surowica cielęca, antybiotyki) nad płytką Petriego. Wyszukiwanie i ocenę oocytów przeprowadzano pod mikroskopem stereoskopowym. Wybrane oocyty przenoszono do pożywki (PBS, płyn Parkera, 10% surowica cielęca, antybiotyki) i przechowywano w ciemności w temperaturze 37°C do chwili włożenia ich do hodowli (ok. 1 godz.).

Klasyfikację oocytów oparto na schemacie Leibfried (8). Wyodrębniono trzy grupy jakościowe (tab. 1).

Warunki hodowli oocytów. Oocyty hodowano w atmosferze 5% CO<sub>2</sub> w temperaturze 37°C i podwyższonej wilgotności. Hodowlę przeprowadzano w kroplach medium do dojrzewania (pirogonian sodu — 22 µg na 10 ml 0,9% roztworu NaCl, płyn Parkera, 20% surowica bydła rujowa (10), antybiotyki) o objętości 50 µl pokrytych parafiną płynną. Na 2 godziny przed planowanym wprowadzeniem oocytów krople poddano ekwilibracji w atmosferze 5% CO<sub>2</sub>. Hodowlę kontynuowano przez 22 godziny w odpowiednio przystosowanych eksykatorach. Doświadczenie prowadzono wyłącznie na bazie odczynników krajowych.

Preparaty cytogenetyczne. Wykonywano je w oparciu o zmodyfikowaną procedurę opisaną przez Süß i wsp. (12). Oocyty oczyszczano z kumulusa poprzez wielokrotne pipetowanie. Średnica pipety była zbliżona do średnicy nagiego oocytu. Oczyszczone oocyty umieszczano w hipotonicznym roztworze 0,075 N KCl w temperaturze pokojowej na około 10 min., po czym w małej ilości płynu przenoszono na odłuszczone, lodowate szkiełko podstawowe. Następnie nakraplano utrwalacz (alkohol metylowy : kwas octowy lodowaty w stosunku 1 : 1) pod mikroskopem stereoskopowym aż do chwili pęknięcia osłonki przejrzystej oocytu. Szkiełka umieszczano w utrwalaczu (stosunek 3 : 1) i pozostawiano na 1—3 godziny. Po wyjęciu z utrwalacza i wysuszeniu na powietrzu preparaty barwio-

Tab. 1. Klasyfikacja morfologiczna oocytów po pozyskaniu z jajników

Grupa	Otoczenie	Ooplazma
1	obecność kompletnego kumulusa o grubości powyżej trzech warstw	równomierna granulacja, plazma równomiernie wypełnia osłonkę przejrzystą, bez przejaśnień i ziarnistości
2	obecność części zwarłego, niecałkowicie otaczającego oocyt kumulusa, o grubości poniżej 3 warstw	ooplazma wypełnia osłonkę przejrzystą, zbrylenia lub nierównomierne rozmieszczenie ooplazmy
3	kumulus rozpulchniony, komórki ułożone luźniej lub oocyt nagi — brak kumulusa	ooplazma odkurczona, nierównomiernie wypełnia osłonkę przejrzystą, zdegenerowana, fragmentacja, pusta osłonka

Tab. 2. Klasyfikacja oocytów po dojrzeniu „*in vitro*” zależnie od ich oceny cytogenetycznej

Klasa	Stadium podziału mejotycznego i jego opis
Oocyty dojrzałe mejotycznie	metafaza II-chromosomy oocytu rozproszone, chromosomy ciała kierunkowego zbite telofaza I-jednakowy stopień rozproszenia chromosomów oocytu i ciała kierunkowego
Oocyty niedojrzałe mejotycznie	metafaza I-rozproszone bivalenty anafaza I-chromosomy odsuwają się od siebie ku przeciwnym końcom wrzeciona
Analiza cytogenetyczna niemożliwa do przeprowadzenia	1. Stadia podziałowe nierozpoznawalne 2. Nie stwierdzono obecności chromosomów

Tab. 3. Odzysk i ocena morfologiczna oocytów

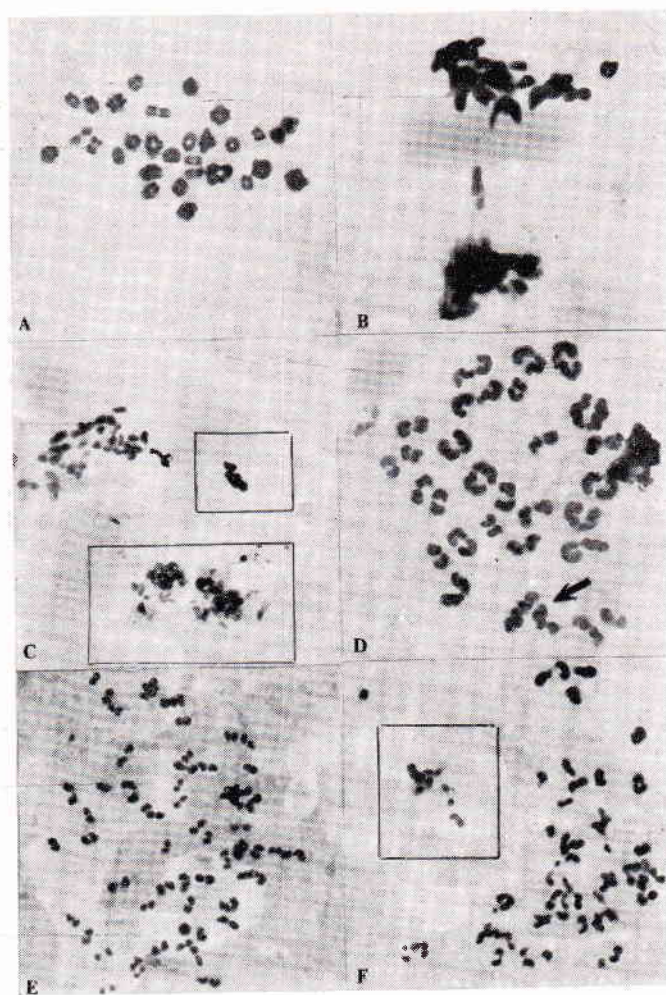
jajników	Liczba		%/o odzysku	Liczba oocytów na jajnik	Oocyty w grupach jakościowych /jajnik		
	nakłutych pęcherzyków	oocytów			I	II	III
4	78	62	79	15,5	1,8	11,0	2,8
5	79	62	78	12,4	1,4	9,6	1,4
5	84	57	68	11,4	3,4	7,0	1,0
5	80	60	75	15,0	1,8	8,4	1,8
6	133	91	68	11,4	0,8	11,4	3,0
3	69	59	86	19,7	3,4	10,4	6,0
5	102	58	57	11,6	0,8	10,0	0,8
3	59	48	81	16,0	0,7	11,0	4,4
5	102	73	72	14,6	0,6	7,6	6,4
4	81	57	70	14,3	0,5	9,3	4,5
6	113	67	59	11,2	—	7,4	3,8
5	92	68	74	13,6	0,6	8,2	4,8
5	55	51	93	10,2	—	6,6	3,6
6	116	77	66	12,8	0,2	6,5	6,2
67	1243	890	72	13,3	1,0	8,7	3,5

no Giemsa przez 5 min., a następnie przepłukano wodą i suszono w temperaturze pokojowej. Ocena cytogenetyczną (tab. 2) przeprowadzano w oparciu o zmodyfikowaną klasyfikację opisaną przez Süss i wsp. (12).

### Wyniki i omówienie

Badania cytogenetyczne umożliwiają ocenę stanu dojrzałości oocytu po hodowli w warunkach „*in vitro*” oraz ocenę gamet pod względem prawidłowości zestawu chromosomów. Tylko gamety wolne od anomalii chromosomowych zapewniają powstanie i normalny rozwój zarodków o prawidłowym kariotypie. Wiadomo, że niedojrzałe oocyty I — rzędu po usunięciu z pęcherzyków jajnikowych mogą ponownie proces mejozy w warunkach „*in vitro*”. W badaniach wykorzystano 890 oocytów pochodzących z 67 jajników krów rzeźnych, co dało przeciętnie 13,3 oocytów w przeliczeniu na jeden jajnik. Procent odzysku wynosił 72% z wahaniami od 48% do 91%. Do wyróżnionych trzech klas jakościowych zakwalifikowano odpowiednio: I — 7,8%, II — 65,5%, III — 26,6% odzyskanych oocytów, co w przeliczeniu na jajnik dało 1,0, 8,7 oraz 3,5 oocytów w każdej klasie (tab. 3).

Istnieje kilka technik pozyskiwania oocytów z pęcherzyków jajnikowych np. aspirowanie płynu pęcherzykowego wraz z oocytami, izolowanie pojedynczych pęcherzyków i uwalnianie oocytów pod mikroskopem oraz nakłuwanie igłą pęcherzyków i wyciskanie ich zawartości. Metoda aspirowania płynu charakteryzuje się



Ryc. 1. Stadia podziału mejotycznego oocytów dojrzałych „*in vitro*”: A. Stadium metafazy pierwszej (MI), B. Stadium anafazy pierwszej (AI), C. Stadium telofazy pierwszej (TI), (w ramkach umieszczono chromosomy nie mieszczące się w polu widzenia), D. Stadium metafazy drugiej (MII), (n=29, podział hipohaplodalny, strzałką oznaczono chromosom X), E, F Stadium MII — podziały diploidalne (w ramce umieszczono chromosomy nie mieszczące się w polu widzenia).

stosunkowo niską wydajnością (30—60%), natomiast druga metoda pozwala osiągnąć nawet 100% (5). Zatem uzyskany w omawianym doświadczeniu procent odzysku (72%) można uznać za zadowalający. Należy przy tym zaznaczyć, że liczono wszystkie oocyty bez względu na ich jakość. Po uwzględnieniu tylko oocytów I i II grupy odzysk wynosił 52%.

Istotną różnicę w stosunku do danych literaturowych odnotowano w stosunku do ilości oocytów zakwalifikowanych do I grupy, która zawierała zaledwie 7,8% pozyskanych oocytów, podczas gdy w innych opracowaniach była znacznie wyższa: 45,0% (5), 50,0% (8), 46,9% (12). Przyczyn takiego stanu rzeczy można upatrywać z jednej strony w niskiej jakości jajników, z drugiej strony we wpływie techniki pozyskiwania oocytów na ich jakość oraz wczesnej degeneracji już w pęcherzykach (8). Najliczniejszą grupę stanowiły oocyty II grupy jakościowej (66%), gdzie dopuszczano niższą jakość otoczenia oraz ooplazmy oocytu. Ze względu na małą liczbę oocytów I grupy w niniejszym doświadczeniu wykorzystano znaczną liczbę oocytów II grupy jakościowej (73%). Miało to zapewne wpływ na uzyskane wyniki.

Tab. 4. Analiza cytogenetyczna oocytów po dojrzewaniu „in vitro”

Liczba oocytów hodowlanych	Liczba oocytów, z których wykonano preparaty	%	Analiza cytogenetyczna możliwa do przeprowadzenia						Analiza cytogenetyczna niemożliwa do przeprowadzenia			
			liczba oocytów ogółem	%	stadia mejotycznie niedojrzałe		stadia mejotycznie dojrzałe		liczba oocytów ogółem	%	stadia nierozpoznawalne	chromosomów nie stwierdzono
					MI	AI	TI	MII				
32	16	50	5	31,3	—	—	—	5	11	68,8	—	11
13	13	100	4	30,8	1	—	—	3	9	69,2	3	6
12	12	100	6	50,0	4	—	—	2	6	50,0	—	6
19	13	68,4	8	61,5	1	—	—	7	5	38,5	3	2
15	14	93,4	11	78,6	1	—	—	10	3	21,4	2	1
22	19	86,4	13	68,4	2	—	6	5	6	31,6	2	4
23	19	82,6	8	42,1	3	—	3	2	11	57,9	2	9
19	16	84,2	4	25,0	2	—	2	—	12	75,0	2	10
24	19	79,2	12	63,2	6	—	—	6	7	36,8	3	4
27	20	74,1	3	15,0	2	—	—	1	17	85,0	6	7
23	18	78,3	6	33,3	1	1	2	2	12	66,6	2	10
32	26	81,3	14	53,8	2	3	2	7	12	46,2	3	9
21	16	76,2	3	18,8	1	—	—	2	13	81,3	3	10
20	15	75,0	6	40,0	3	—	—	3	9	60,0	4	5
302	236	78,1	103	43,6	29	4	15	55	133	56,4	35	98

Osiągnięcie przez oocyt stadium metafazy drugiej mejozy (MII) jest równoznaczne z uzyskaniem stanu dojrzałości do zapłodnienia. Z 890 pozyskanych oocytów (tab. 4) do hodowli zakwalifikowano 302, z czego znaczną część (232) stanowiły oocyty drugiej grupy jakościowej. Preparaty cytogenetyczne wykonano z 236 hodowlanych oocytów. Różnica między liczbą oocytów, z których wykonano preparaty cytogenetyczne a liczbą oocytów hodowlanych wynika z mechanicznego zagubienia ich części w trakcie manipulacji lub pęknięcia osłonki przejrzystej w KCl przed przeniesieniem na szkiełko podstawowe. Analizę cytogenetyczną można było przeprowadzić dla 103 oocytów (43,6%), natomiast była ona niemożliwa do wykonania dla 133 oocytów (56,4%). W grupie tej jakość 35 preparatów (26,3%) była na tyle niska, że wykonanie analizy było niemożliwe, a w przypadku 98 oocytów (73,7%) nie udało się uzyskać obrazów chromosomowych. Fakt ten nie jest równoznaczny z niepodjęciem podziału mejotycznego przez oocyt, ponieważ istnieje prawdopodobieństwo mechanicznego ich zagubienia w trakcie utrwalania (2, 6). Wśród analizowanych podziałów dość często obserwowano niepełny zestaw chromosomów. Zdarzały się przypadki odnalezienia brakujących chromosomów w dużej odległości od oocytu.

Wśród oocytów, dla których przeprowadzono analizę cytogenetyczną, w poszczególnych stadiach podziału mejotycznego stwierdzono następujące liczebności: metafaza pierwsza (MI) — 29 (28,2%), anafaza pierwsza (AI) — 4 (3,9%), telofaza pierwsza (TI) — 15 (14,6%), metafaza druga (MII) — 55 (53,4%). Wymienione stadia podziału mejotycznego przedstawia ryc. 1: A-D. Szczegółowa analiza powyższych oocytów ujawniła obecność 8 komórek (7,8%) w stadium MII z diploidalną liczbą chromosomów (ryc. 1: E-F). W przyjętej klasyfikacji (12) za oocyty dojrzałe uważano również te, które osiągnęły stadium telofazy I włączając je do grupy oocytów w stadium MII. Sirard (11) uważa także za dojrzałe te oocyty, które osiągnęły stadium AI. W omawianym doświadczeniu oocyty w stadium MII stanowiły 53,4% w stosunku do oocytów, dla których udało się wykonać analizę cytogenetyczną. Po włączeniu oocytów w stadium TI stosunek ten wynosił 68%.

Wyniki te korespondują z danymi z literatury 75% (12), 68% (6), 49% (8). Precyzyjne ustalenie liczby chromosomów możliwe jest tylko w stadium MI (liczba biwalentów) i MII. Wśród ocenianych cytogenetycznie 103 oocytów 84 było w stadium MI lub MII. Niestety, w przypadku 67 preparatów dokładne ustalenie liczby chromosomów sprawiało trudności. Spowodowane to było dość niską jakością obrazu mikroskopowego (chromosomy silnie zbite lub ponakładane na siebie). Dlatego też w niniejszych badaniach nie wyróżniono kategorii hipo- lub hiperhaploidalnych oocytów. Należy jednak zaznaczyć, że ocena stadium podziałowego nie sprawiała kłopotów.

Ocena cytogenetyczna umożliwia również ustalenie prawidłowości zestawu chromosomowego oocytów. W licznych badaniach cytogenetycznych oocytów różnych zwierząt gospodarskich stwierdzono występowanie anomalii chromosomowych. Do najczęstszych należą: diploidy, hipohaploidy, hiperhaploidy. W badaniach oocytów końskich (6) stwierdzono wystąpienie 2,7% diploidów, 13,8% hipohaploidów oraz 2,7% hiperhaploidów. Przyczyny tych anomalii autorzy upatrywali m.in. w zakłóceniu rozejścia się chromosomów w pierwszym podziale mejotycznym. Z drugiej strony nierówne proporcje występowania hipo- i hiperhaploidów (5:1) skłaniały do interpretacji, która sugerowała możliwość zagubienia chromosomów w czasie utrwalania oocytów. Podobnie problem ten był tłumaczony w przypadku oocytów bydłych (7), gdzie obserwowano hipohaploidy przy braku hiperhaploidów. Sugeruje się jednocześnie (7), że podziały diploidalne (stanowiły one ok. 1% badanych oocytów) są rezultatem zaburzeń w procesie wyrzucania pierwszego ciała kierunkowego. W omawianym doświadczeniu znacznie częściej stwierdzono podziały diploidalne. Stanowiły one 7,8% analizowanych cytogenetycznie oocytów. Niestety, sposób prowadzenia eksperymentów nie pozwolił na ustalenie, czy zjawisko to wystąpiło losowo w oocytach pochodzących z różnych jajników, czy też istniał związek między pochodzeniem jajnika i obecnością oocytów diploidalnych. Gdyby taki związek zachodził oznaczałoby to, że u niektórych krów częściej ma miejsce zakłócenie wyrzutu ciała kierunkowego prowadzące do di-

ploidalności oocytów. Pojawianie się diploidalnych gamet może wpływać na zwiększone ryzyko powstania w wyniku zapłodnienia poliploidalnych zarodków, które giną we wczesnych stadiach rozwoju embrionalnego (3, 4).

### Wnioski

1. Przeprowadzone badania wskazują na potrzebę ulepszenia techniki wykonywania preparatów cytogenetycznych.

2. Dość częste (7,8%) występowanie drugorzędowych oocytów o diploidalnej liczbie chromosomów sugeruje, że może to być jedna z istotnych przyczyn wpływających na obniżenie płodności krów.

### Piśmiennictwo

1. Betteridge K. J., Smith C., Stubbings R. B., Xu K. P., King W. A.: *J. Reprod. Fert.* 38, 37, 1989.
2. Dyban A. P., Baranow W. S.: *Die Zytogenetik der Säuger-Embryogenese*. Verlag Paul Parey, Berlin-Hamburg, 1989, s. 73.
3. Iwasaki S., Shioya Y., Masuda H., Hanada A., Nakahara T.: *Gamete Res.* 22, 33, 1989.
4. Iwasaki S., Nakahara T.: *Theriogenology* 34, 683, 1990.
5. Kątska L.: *Rocz. Nauk. Zoot.* 23, 83, 1985.
6. King W. A., Bousquet D., Greve T., Goff K.: *Acta vet. Scand.* 27, 267, 1986.
7. King W. A., Desjardins M., Xu K. P., Bousquet D.: *Genet. Sel. Evol.* 22, 151, 1990.
8. Leibfried L., First N. L.: *Anim. Sci.* 48, 76, 1979.
9. Prepin J., Vigier B., Jost A.: *Ann. Biol. anim. Bioch. Biophys.* 19, 1263, 1979.
10. Schellander K., Fuhrer F., Brackett B. G., Korb H., Schleger W.: *Theriogenology* 33, 477, 1990.
11. Strard M. A., Blodeau S.: *Biol. Reprod.* 43, 777, 1990.
12. Süß U., Wüthrich K., Stranzinger G.: *Biol. Reprod.* 38, 871, 1988.
13. Świtoński M.: *Prz. hod.* nr 9-10, 20, 1990.

Adres autora: doc. dr hab. Marek Świtoński, ul. Wołyńska 17/2, 60-616 Poznań

## HIGIENA ŻYWNOŚCI

JACEK SZCZAWIŃSKI, JAN TROPIŁO, MAŁGORZATA SZCZAWIŃSKA, BOŻENNA STAŃCZAK

### Ocena wrażliwości sensorycznej studentów Wydziału Weterynaryjnego SGGW w latach 1975 – 1991

Katedra Higieny Żywności Wydziału Weterynaryjnego SGGW,  
ul. Nowoursynowska 161, 02-975 Warszawa

#### Summary

#### Evaluation of a sensory sensitivity of students of the Faculty of Veterinary Medicine of Warsaw Agricultural University in 1975—1991

Sensory sensitivity of 1378 students was evaluated in the tests of taste, odor and color discrimination. Seventy seven and half per cent of students passed the test of taste discrimination, 74,5% the test of odor discrimination and 89,3% the test of color discrimination. Statistically significant effect of sex on the results of all tests was found. Women identified better the samples of tastes, particularlyly sour and bitter, odors and colors than men did. The results obtained by smokers were worse than those obtained by non-smokers in all tests, however, statistically significant differences were found only in the test of color discrimination. The time of day and the declared feeling of students did not affect statistically the results of the tests. Since considerable number of alumni of the faculties of veterinary medicine may fail to meet the requirements of so-called „sensory minimum” (approx. 46%), the results of the evaluation of a sensory sensitivity should be taken into account during qualification of veterinarians for the work in the veterinary food inspection service.

że sprawą podstawową jest właściwa selekcja kandydatów do zespołu oceniającego. Celem tej selekcji jest wyeliminowanie osób o wrażliwości niższej od przeciętnej, które nie spełniają wymagań tzw. minimum sensorycznego (1, 4, 5).

Wychodząc z założenia, że znajomość podstaw analizy sensorycznej jest niezbędna dla lekarzy weterynarii przeprowadzających rutynową kontrolę jakości zdrowotnej produktów spożywczych, wybrane aspekty analizy sensorycznej włączono do programu ćwiczeń z przedmiotu „Higiena żywności i przetwórstwa spożywczego”. W ramach tych ćwiczeń określano wrażliwość sensoryczną studentów. Wyniki badań, obejmujące lata 1975—1983, opublikowano w 1985 r. (7). Ponieważ od tego czasu liczba testowanych osób znacznie wzrosła, zdecydowano się na przeprowadzenie dokładniejszej oceny statystycznej, wykonanej na większej liczbie danych, które umożliwiłyby uściślenie lub weryfikację opublikowanych poprzednio wyników. Celem oceny było: (a) określenie wpływu płci, palenia tytoniu, pory dnia oraz samopoczucia studentów na poprawność uzyskiwanych wyników; (b) określenie liczby osób, które mogą mieć trudności z zaliczeniem próby na daltonizm smakowy oraz prób różnicowania zapachów i barw przy badaniu wrażliwości sensorycznej metodami stosowanymi w naszym kraju.

#### Materiał i metody

Badaniom poddano 1378 osób w wieku od 22 do 43 lat, przy czym najliczniejszą grupę stanowiły osoby mające 24 lata. Badania przeprowadzono w okresie wiosennym w godzinach od 10.00 do 12.00 oraz od 13.00 do 15.00.

Próbę na daltonizm smakowy oraz próbę definiowania zapachów przeprowadzono w dwóch identycznych salach ćwiczeniowych. Dołożono starań, aby stanowiska do oceny wrażliwości sensorycznej zapewniały dogodne warunki

Do podstawowych i najczęściej stosowanych metod określania jakości produktów spożywczych należy ocena organoleptyczna i analiza sensoryczna. Przez ocenę organoleptyczną rozumie się pojętą ogólnie ocenę jakości wykonaną za pomocą zmysłów przez jedną osobę. Analiza sensoryczna jest natomiast badaniem jakości z zachowaniem metod i warunków zapewniających dokładność i powtarzalność wyników, wykonanym przez zespół co najmniej dwóch osób o uprzednio sprawdzonej, odpowiednio wysokiej wrażliwości sensorycznej (3, 5). Z definicji analizy sensorycznej wynika,