

MAŁGORZATA PIECYK, MARTA SZEMBERG

WPLYW SIECIOWANIA NA WYBRANE WŁAŚCIWOŚCI SKROBI Z NASION GROCHU (*PISUM SATIVUM*)

Streszczenie

Skrobię izolowano z obłuszczonych i zmielonych nasion grochu odmiany Poa i Roch. Otrzymane preparaty niemodyfikowane (PSNM) poddawano modyfikacji chemicznej trimetafosforanem. W wyniku przeprowadzonej modyfikacji chemicznej do skrobi został podstawiony fosfor w ilości 50 mg/100 g w s.m. skrobi (Poa) i 80 mg/100 g w s.m. skrobi (Roch).

Skrobia z nasion grochu odmiany Poa charakteryzowała się około dwukrotnie wyższą strawnością (43 %) niż skrobia z nasion odmiany Roch (21 %). Pod wpływem modyfikacji nastąpił niewielki wzrost strawności skrobi w obu preparatach, zmniejszenie zawartości amylozy w skrobi i zmniejszenie powierzchni właściwej skrobi. Ponadto stwierdzono zmniejszenie się rozpuszczalności skrobi i zdolności wiązania wody w porównaniu ze skrobią wyjściową.

Słowa kluczowe: skrobia grochu, modyfikacja chemiczna, rozpuszczalność, wodochłonność, strawność

Wprowadzenie

Nasiona roślin strączkowych są źródłem wielu składników odżywczych oraz związków o dużej aktywności biologicznej. Pomimo dużej zawartości skrobi (22 - 45 %) charakteryzują się one niskim indeksem glikemicznym [4, 5, 18]. Jest to spowodowane małą przyswajalnością skrobi, która według licznych autorów wynika z obecności nienaruszonych struktur tkankowych otaczających ziarenka skrobi, wysokim udziałem amylozy (25 - 65 %), dużą zawartością rozpuszczalnych frakcji błonnika o dużej lepkości, typem krystaliczności C i silnymi interakcjami między łańcuchami amylozy [2, 18, 40].

Pomimo korzyści wynikających z obecności w diecie nasion roślin strączkowych, związanych nie tylko z zawartością skrobi o korzystnych walorach, ale również z powodu obecności wielu składników o dużej aktywności biologicznej, ich spożycie

Dr inż. M. Piecyk, mgr inż. M. Szemberg, Katedra Biotechnologii, Mikrobiologii i Oceny Jakości Żywności, Wydz. Nauk o Żywności, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego, ul. Nowoursynowska 159 C, 02-776 Warszawa

w Polsce nie jest duże, co wynika m.in. z długotrwałego przygotowywania nasion do konsumpcji, efektu gazotwórczego oraz niskich walorów sensorycznych. W literaturze zwraca się uwagę na zastosowanie nasion roślin strączkowych jako surowca do otrzymywania preparatów i izolatów białek i skrobi oraz błonnika będącego produktem procesów, którym poddawana jest skrobia [11]. Wśród nasion strączkowych najczęściej wykorzystywany jest do tego celu groch, z którego izolowana jest zarówno skrobia, jak i białka znajdujące zastosowanie w produkcji żywności [33]. Wykorzystanie ich w przemyśle w stosunku do analogicznych preparatów skrobiowych pozyskiwanych z innych źródeł jest niewielkie. Jednak niektóre badania wskazują, że skrobia wyizolowana z grochu charakteryzuje się mniejszą strawnością niż zawarta w nasionach. Piecyk i Godlewska [31] wykazały, w badaniach jednej odmiany grochu, że strawność skrobi po wyizolowaniu była mniejsza (44 %) niż zawartej w mące (58,7 %) i tendencja ta nie zmieniała się również po skleikowaniu. Niską strawność natywnej skrobi (od 15 do 35 %) wyizolowanej z nasion roślin strączkowych wykazali również Chavan i wsp. [1]. Na dobre właściwości żywieniowe skrobi grochu wskazują również badania prowadzone *in vivo* przez Seewi i wsp. [37], które wykazały, że zastosowane posiłki z wyizolowaną skrobią grochu (zupa z dodatkami smakowymi poddana gotowaniu przez 5 min) powodowały mniejszą hiperglikemię (-47 %) i hiperinsulinemię (-54 %) w porównaniu ze skrobią kukurydzianą modyfikowaną i niemodyfikowaną.

Niewielki udział skrobi grochowej w przemyśle spożywczym wynika z tego, że o jej zastosowaniu w produktach decydują właściwości funkcjonalne, a w przypadku natywnych skrobi z nasion strączkowych są one ograniczone. W zależności od końcowego zastosowania, jedną lub więcej tych właściwości, które mogą zostać uznane za niepożądane lub niewystarczające, można poprawić, stosując modyfikacje skrobi roślin strączkowych [3]. Tradycyjne metody modyfikacji skrobi obejmują zmiany jej struktury cząsteczkowej i nadcząsteczkowej w toku przemian fizycznych, chemicznych, enzymatycznych [23] bądź też kombinacji tych metod, przy czym najczęściej stosowane są metody chemiczne, gdyż są one najefektywniejsze [22]. Jedną z metod modyfikacji chemicznych jest sieciowanie, w wyniku którego otrzymywane są m.in. fosforany di-skrobiowe. Dostępne informacje na temat właściwości skrobi roślin strączkowych poddanych sieciowaniu nie są wystarczające, aby można było wnioskować o ich przydatności w przemyśle [33]. Jedyne informacje pochodzą z publikacji Deshpande i wsp. [3] oraz Hoovera i Sosulskiego [16], które dotyczyły skrobi poddanych modyfikacji tlenochlorkiem fosforu.

Jak wiadomo rodzaj użytego reagenta i warunki modyfikacji, jak również pochodzenie skrobi mają wpływ na właściwości skrobi modyfikowanej. Dlatego celem pracy było wyizolowanie skrobi z polskich odmian grochu i określenie wpływu

sieciowania skrobi trimetafosforanem sodu (TMF) na jej strawność oraz właściwości funkcjonalne.

Material i metody badań

Material badawczy stanowiła mąka z nasion grochu (*Pisum sativum*) dwóch odmian Poa i Roch, z której izolowano skrobię. W tym celu prowadzono ekstrakcję białek w środowisku o pH 10, następnie przemywano osad wodą i trzykrotnie alkoholem etylowym o wzrastającym stężeniu (30, 50 i 70 %), po czym suszono w temp. 22 - 25 °C, mielono i przesiewano przez sita o średnicy oczek 0,08 mm w celu uzyskania jednolitej granulacji końcowego produktu. Otrzymane preparaty niemodyfikowane (PSNM) poddawano modyfikacji chemicznej TMF w pH 10 wg metody Lima i Seiba [25]. W tym celu przygotowano roztwór składający się z siarczanu sodu (7,5 g), TMF (3 g) i wody (150 cm³), którego pH doprowadzano do 10 za pomocą 0,1 M NaOH. Do roztworu dodawano preparat skrobiowy (150 g) i po wymieszaniu korygowano pH zawiesiny do 10. Następnie doprowadzano masę zawiesiny do 500 g przez dodanie wody i mieszano przez 1 h w temp. 22 - 25 °C. Zawiesinę suszono w temp. 40 °C do końcowej zawartości wody na poziomie 10 - 15 %, a następnie ogrzewano przez 2 h w temp. 130 °C. Po ochłodzeniu do temp. pokojowej preparat rozpuszczano w wodzie destylowanej (350 cm³) i wirowano (1500 g, 10 min). Czynność tę powtarzano trzykrotnie i na koniec doprowadzano pH zawiesiny do 6,5, po czym suszono ją w temp. 40 °C, otrzymując preparaty skrobi modyfikowanej chemicznie (PSMCH). Jednocześnie w ten sam sposób przygotowywano skrobię (PSM), ale bez czynnika modyfikującego TMF, aby określić ubytek natywnego fosforu i wyznaczyć faktyczny stopień wbudowania fosforu podczas modyfikacji. Jego ilość oznaczano we wszystkich preparatach po uprzedniej mineralizacji na mokro metodą Fiske-Subbarowa.

We wstępnych badaniach przeprowadzono charakterystykę chemiczną, oznaczając zawartość skrobi polarymetrycznie oraz znormalizowanymi metodami zawartość azotu i związków mineralnych w postaci popiołu. Oznaczano również pozorną zawartość amylozy metodą spektrofotometryczną z jodem [29], mierząc absorbancję przy długości fali $\lambda = 635$ nm oraz oznaczano powierzchnię właściwą skrobi na podstawie zmniejszenia absorbancji roztworu 0,6 % błękitu metylenowego ($\lambda = 600$ nm) w wyniku zaadsorbowania barwnika na powierzchni skrobi [7].

W preparatach modyfikowanych i próbkach wyjściowych oznaczano zdolność wiązania wody i rozpuszczalność wg Leacha i wsp. [21].

Strawność skrobi *in vitro* oznaczano metodą Muir i O'Dea [30] zmodyfikowaną przez Galińskiego i wsp. [10]. Przygotowywano równolegle dwie naważki preparatów zawierające około 100 mg skrobi, które mieszano z 0,15 cm³ śliny, a następnie dodawano do nich 1cm³ roztworu pepsyny (1 g / 0,02 M HCl, pH 2,0), po czym inkubowano

w temp. 37 °C przez 30 min. Po ochłodzeniu roztwór neutralizowano 0,1 M NaOH, i dodawano 5 cm³ buforu octanowego (0,2 M, pH 4,9). Do jednej z próbek (oznaczanie skrobi łatwo trawionej – RDS i wolnej glukozy – FG) dodawano 1 cm³ mieszaniny trawiącej (25 U amyloglukozydazy, Merck, 75 U/mg, oraz 10 mg pankreatyny, Sigma, P 1500) i inkubowano 6 h w temp. 37 °C, po czym wirowano (1500 g, 10 min). Supernatant zbierano, natomiast osad trzykrotnie przemywano buforem octanowym (1,5 cm³), za każdym razem odwirowując. Supernatant z pierwszego wirowania i przemywania łączono i wykorzystywano do oznaczenia (RDS+FG). W drugiej równoległej próbie oznaczano skrobię całkowitą i wolną glukozę (TS + FG). W tym przypadku prowadzono trawienie po dodaniu mieszaniny trawiącej przez 17 h w temp. 37 °C, a następnie kontynuowano po dodaniu Termamylu 120L (0,1 cm³, 30 min, t = 100 °C). Po odwirowaniu zbierano supernatant, a osad rozpuszczano w DMSO (1 cm³, 60 min, t = 100 °C). Rozpuszczony osad łączono z supernatantem, dodawano 2 cm³ mieszaniny trawiącej i inkubowano (60 min, t = 50°C), po czym odwirowano. Glukozę uwolnioną podczas trawienia oznaczano po reakcji z kwasem dinitrosalicylowym, mierząc absorbancję w spektrofotometrze (Shimadzu, UV-1201V) przy $\lambda = 550$ nm. Po hydrolizie wyliczano stosunek RDS+FG/TS + FG. Końcową wartość wyrażano w procentach.

Wszystkie analizy wykonano w trzech powtórzeniach, a otrzymane wyniki podano analizie statystycznej przy użyciu programu Statgraphics wersja Plus 4.1. Ocenę istotności różnic pomiędzy wartościami średnimi wykonano testem LSD przy $p < 0,05$.

Wyniki i dyskusja

Modyfikacji poddano preparaty PSNM, charakteryzujące się dość dużą zawartością skrobi, zbliżoną w obu odmianach, która wynosiła 82,70 % s.m. w PSNM z Poa i 81,78 % s.m. z odmiany Roch (tab. 1). Jednak uzyskane wartości są mniejsze od rezultatów uzyskanych przez Morada i wsp. [28] w badaniach preparatów skrobiowych otrzymanych z różnych roślin strączkowych (od 90,8 % w bobie do 91,3 - 91,5 % w soczewicy i grochu żółtym) oraz uzyskanych w badaniach grochu tj. 92,5 % [31]. Może to świadczyć o niedokładnym usunięciu substancji towarzyszących, na co wskazuje m.in. oznaczona wysoka zawartość azotu, która wynosiła w PSNM z odmiany Poa 0,30 % natomiast z odmiany Roch 0,58 %, podczas gdy w literaturze w wyizolowanej skrobi grochu podawana jest na poziomie np. 0,19 % [39] czy nawet 0,07 - 0,09 % [1]. Podobnie zawartość popiołu była wyższa w porównaniu z danymi literaturowymi, ponieważ wynosiła 1,11 % w PSNM z Poa i 0,97 % w PSNM z odmiany Roch, podczas gdy Hoover i Sosulski [15] podają znacznie mniejszą zawartość popiołu w wyizolowanej skrobi z nasion roślin strączkowych, która mieści się w granicach 0,05 -

0,67 %. Podobną zawartość popiołu w skrobi grochu (ok. 0,5 %) podaje Gujska i wsp. [12], a Morad i wsp. [28] - 0,62 %.

Duża zawartość popiołu w porównaniu z danymi literaturowymi może wskazywać na obecność w preparatach skrobiowych pozostałości łusek nasiennych bogatych w składniki mineralne, natomiast duża zawartość azotu w badanych preparatach wskazuje na niecałkowite usunięcie białek. Izolacja skrobi z nasion grochu jest trudna z powodu obecności nierozpuszczalnych białek oraz błonnika, które ograniczają sedymentację i opadają ze skrobią. Stosowana na skalę przemysłową klasyfikacja pneumatyczna jest mniej skuteczna niż izolacja mokra stosowana w laboratoriach. Jednak ta ostatnia wymaga wielokrotnego przemywania wodą połączonego z traktowaniem roztworami alkalicznymi w celu dokładnego usunięcia białek [12]. Pominięcie wstępnego przemywania wodą w izolacji skrobi w porównaniu z poprzednimi badaniami [32] skutkowało mniej skutecznym usunięciem składników towarzyszących.

Tabela 1

Charakterystyka preparatów niemodyfikowanych (PSNM).
Profile of non-modified preparations (PSNM).

Źródło skrobi Source of starch	Wilgotność [%] Moisture [%]	Zawartość skrobi [% s.m.] Content of starch [% d.m.]	Zawartość popiołu [% s.m.] Content of ash [% d.m.]	Zawartość azotu [% s.m.] Content of nitrogen [% d.m.]
Groch odmiany Poa Poa pea variety	9,36 ^a (± 0,16)	82,70 ^a (± 0,38)	1,11 ^a (± 0,04)	0,38 ^a (± 0,01)
Groch odmiany Roch Roch pea variety	5,77 ^c (± 0,17)	81,78 ^c (± 0,01)	0,97 ^c (± 0,06)	0,58 ^c (± 0,01)

Objaśnienia: / Explanatory notes:

a-d – te same litery w kolumnie oznaczają brak statystycznie istotnych różnic pomiędzy wartościami średnimi ($p \geq 0,95$) / the same letters in the column mean no statistically significant differences between the means ($p \geq 0,95$).

W wyniku zastosowanej modyfikacji skrobi trimetafosforanem sodu nastąpiło wbudowanie w jej łańcuchy reszt fosforanowych, jednak efektywność tego procesu zależała od odmiany nasion, z których była izolowana. Przeprowadzone badania wskazują, że proces modyfikacji przebiegał efektywniej w skrobi z nasion odmiany Roch niż z odmiany Poa (tab. 2).

W literaturze podawane są różne ilości fosforu wbudowanego podczas modyfikacji trimetafosforanem. Może się ona wahać od 2 mg fosforu [9] do 75 mg [8]. Porównując uzyskane wyniki z danymi literaturowymi można stwierdzić, że proces modyfi-

kacji przebiegał z dużą efektywnością. Stopień modyfikacji skrobi jest uzależniony od warunków, takich jak: pH, temperatura, rodzaj i dawka reagenta, także od rodzaju modyfikacji oraz od rodzaju skrobi i jej powierzchni właściwej [9, 25]. Duży wpływ na stopień wbudowania fosforu do cząsteczek skrobi ma pH oraz rodzaj reagenta. Według Lima i Seiba [25] w pH = 10,0 przy zastosowaniu TMF podczas reakcji sieciowania, czyli w takich warunkach, które były zastosowane w pracy, najlepiej zachodzi proces wbudowywania reszt kwasu fosforowego.

Tabela 2

Zawartość fosforu w preparatach skrobi niemodyfikowanych (PSNM), modyfikowanych bez TMF (PSM) i z TMF (PSMCH).

Content of phosphorus in non-modified starch preparations (PSNM), in modified without TMF (PSM) and with TMF (PSMCH).

Źródło skrobi Source of starch	Zawartość fosforu [mg/100 g s.m. skrobi] Content of phosphorus [mg/100 g d.m. of starch]		
	PSNM	PSM	PSMCH
Groch odmiany Poa Poa pea variety	89 ^a (± 1)	87 ^a (± 2)	137 ^b (± 1)
Groch odmiany Roch Roch pea variety	81 ^a (± 1)	70 ^b (± 2)	150 ^c (± 1)

Objaśnienia: / Explanatory notes:

a-d – te same litery w wierszu oznaczają brak statystycznie istotnych różnic pomiędzy wartościami średnimi ($p \geq 0,95$) / the same letters in the line mean no statistically significant differences between the means ($p \geq 0.95$).

Badania wskazują również na wpływ rodzaju nasion na ilość wbudowanego fosforu [5, 9]. Jednym z czynników może być różnica wielkości i budowy ziarenek skrobiowych, a zwłaszcza wielkości powierzchni właściwej, która decyduje o reaktywności chemicznej skrobi. Na podstawie uzyskanych wyników można zauważyć, że powierzchnia właściwa miała wpływ na stopień modyfikacji, ponieważ w skrobi z odmiany Roch, której powierzchnia była większa (4,83 m²/g) niż z odmiany Poa (4,13 m²/g) obserwowano większy stopień wbudowania fosforu. Porowatość ziaren skrobiowych pozostaje w dość ścisłej zależności z ich reaktywnością zachodzącą pod wpływem czynników fizycznych, chemicznych i enzymatycznych. Po modyfikacji obserwowano zmniejszenie się powierzchni właściwej skrobi w obu PSMCH, przy czym było ono większe w skrobi z nasion odmiany Poa (o 47 %) niż Roch (o 27 %). Badania powierzchni ziaren skrobi ziemniaczanej sieciowanej POCl₃, prowadzone techniką SEM, nie wykazały większych zmian, ponieważ pozostawały one nadal gład-

kie i podobne do ziaren natywnych [19]. Jednak badania powierzchni właściwej skrobi wykazały, że podczas fosforylacji jej wielkość się zwiększa w przypadku skrobi ziemniaczanej pszennej i owsianej, natomiast w kukurydzianej pozostaje bez zmian [6], a więc zmiany te w dużym stopniu zależą od pochodzenia skrobi.

Tabela 3

Charakterystyka chemiczna preparatów skrobiowych niemodyfikowanych (PSNM) i modyfikowanych (PSMCH).
Chemical profile of non-modified starch preparations (PSNM) and modified starch preparations (PSMCH).

Źródło skrobi Source of starch	Rodzaj preparatu Type of preparation	Zawartość amylozy [% s.m. skrobi] Content of amylose [% d.m. of starch]	Powierzchnia właściwa [m ² /g] Specific surface [m ² /g]
Groch odmiany Poa Poa pea variety	PSNM	30,10 ^a (± 0,11)	4,13 ^a (± 0,18)
	PSMCH	28,23 ^b (± 0,18)	2,18 ^b (± 0,18)
Groch odmiany Roch Poa pea variety	PSNM	33,14 ^c (± 0,16)	4,83 ^c (± 0,21)
	PSMCH	23,93 ^d (± 0,10)	3,48 ^d (± 0,17)

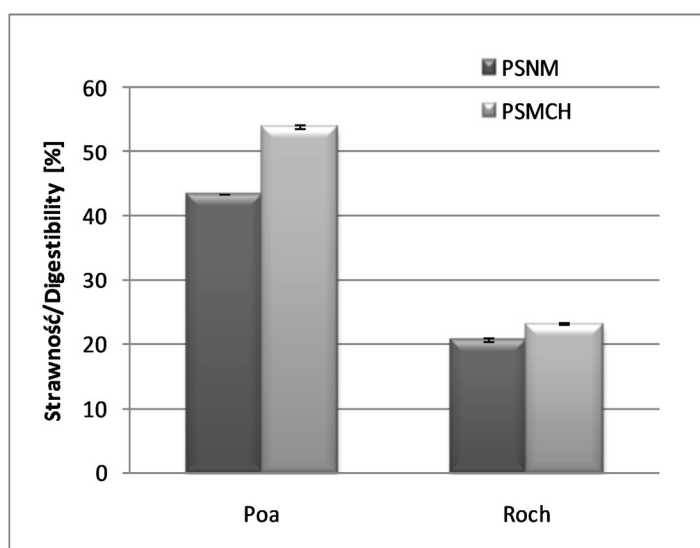
Objaśnienia: / Explanatory notes:

± – odchylenie standardowe / standard deviation;

a-d – te same litery w kolumnie oznaczają brak statystycznie istotnych różnic pomiędzy wartościami średnimi ($p \geq 0,95$) / the same letters in the column mean no statistically significant differences between the means ($p \geq 0.95$).

Przeprowadzone badania PSNM wykazały istotne różnice odmianowe pod względem zawartości amylozy (tab. 3), która wynosiła 30,10 % w skrobi z grochu odmiany Poa i 33,14 % w skrobi z grochu odmiany Roch, ale są one zbliżone do wartości podawanych przez różnych autorów [1, 12, 34, 39]. W wyniku sieciowania nastąpiło znaczne zmniejszenie zawartości amylozy. W skrobi z nasion odmiany Poa wynosiła ona 28,23 %, natomiast z odmiany Roch – 23,93 %. Zmniejszanie się zawartości amylozy podczas fosforylacji w skrobi stwierdzili Fortuna i Juszczak [6], przy czym stopień ubytku zależał od jej pochodzenia botanicznego. Największy ubytek amylozy występował w skrobi ryżowej (z 23,4 do 16,9 %). Jednocześnie wymienieni autorzy stwierdzili zmniejszenie jej w skrobi przygotowanej w analogiczny sposób, jak skrobi fosforylowanej, ale bez czynnika modyfikującego. Autorzy tłumaczyli to wpływem warunków modyfikacji tj. środowiska alkalicznego i temperatury. Zmniejszanie się ilości amylozy w procesie fosforylacji skrobi ryżu zaobserwowali również Lin i wsp. [26]. Stwierdzili oni, że zmiana temperatury modyfikacji, wpływająca na wzrost pod-

stawienia fosforem, powodowała jednocześnie większe zmniejszenie zawartości amylozy. Dlatego prawdopodobnie większa efektywność modyfikacji skrobi z odmiany Roch wpłynęła na większy ubytek ilości amylozy. Należy również wziąć pod uwagę fakt, że wyniki uzyskiwane zastosowaną w pracy metodą Morrisona i Laigneleta [29] pozwalają na wyznaczenie tzw. pozornej zawartości amylozy, ponieważ tłuszcz związany ze skrobią może wpływać na uzyskiwane rezultaty i w efekcie wyniki te mogą być obciążone pewnym błędem.



Rys. 1. Strawność skrobi w preparatach skrobiowych niemodyfikowanych (PSNM) i modyfikowanych chemicznie (PSMCH).

Fig.1. Digestibility of starch in non-modified preparations (PSNM) and in chemically modified preparations (PSMCH).

Strawność skrobi w PSNM z nasion odmiany Poa kształtowała się na poziomie 43,4 %, natomiast odmiany Roch była o połowę mniejsza i wynosiła 20,7 % (rys. 1). Otrzymane wyniki są zbliżone do rezultatów uzyskanych przez Marconiego i wsp. [27] w badaniach skrobi zawartej w surowych nasionach roślin strączkowych (27,5 i 35,6 %) oraz przez Sandhu i Lima [35] w badaniach skrobi wyizolowanej z nasion (21,1 - 49,7 %), a jednocześnie niższe od otrzymanych w badaniach skrobi z nasion strączkowych przez Chunga i wsp. [2] tj. 81,6 - 91,9 %. Znaczne różnice pomiędzy przytoczonymi badaniami wynikają nie tylko z różnego pochodzenia skrobi, ale są spowodowane różnorodnością stosowanych metod oznaczania strawności wykorzystujących enzymy o różnym stężeniu i pochodzeniu [17]. Jednak liczne badania wykazały, że skrobia zawarta w nasionach roślin strączkowych charakteryzuje się małą strawnością, co jest spowodowane obecnością nienaruszonych struktur tkankowych otaczają-

cych ziarenka skrobi, wysokim udziałem amylozy (25 - 65 %), dużą zawartością rozpuszczalnych frakcji błonnika o dużej lepkości, typem krystaliczności C i silnymi interakcjami między łańcuchami amylozy [2, 17, 40].

Modyfikacja wpłynęła w niewielkim stopniu, choć istotnie, na wzrost strawności w obu przypadkach i w efekcie strawność skrobi z nasion odmiany Poa wynosiła 53,9 %, a Roch 23,1 %.

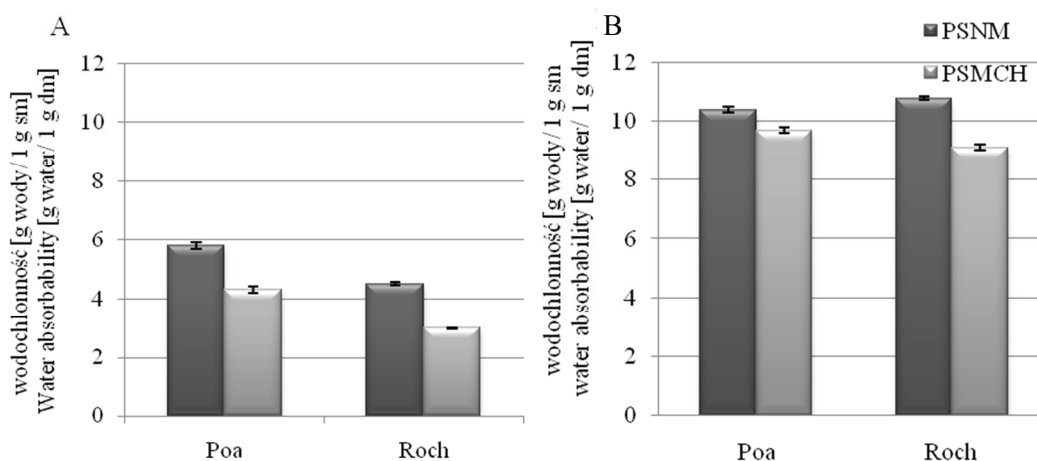
Poszukiwanie metod modyfikacji skrobi, które umożliwiłyby obniżenie jej indeksu glikemicznego poprzez zwiększenie udziału skrobi wolno trawionej i skrobi odpornej zwróciły również uwagę na skrobie modyfikowane chemicznie. Przeprowadzone w ostatnich latach badania zarówno skrobi handlowych, jak i otrzymanych w laboratoriach, wskazują na niewielkie zmiany strawności lub szybkości trawienia w stosunku do skrobi natywnych [13, 20, 38]. Badania te dotyczyły skrobi ziemniaczanej, kukurydzianej i tapiokowej, jednak trudno ich rezultaty porównywać ze względu na stosowane różne metody oznaczania strawności. W badaniach Le Than i wsp. [20], podczas trawienia α -amylazą trzustkową oraz glukoamylazą w ciągu 16 h w przypadku fosforanów diskrobiowych, nie wykazano znaczących różnic w porównaniu ze skrobią niemodyfikowaną, a pod koniec trawienia była ona na tym samym poziomie. Podobne rezultaty uzyskali Wolf i wsp. [38], którzy w badaniach strawności, metodą Muir i Odea, skrobi woskowej nie stwierdzili zmian w porównaniu ze skrobią niemodyfikowaną. Natomiast większe różnice obserwowali Han i BeMiller [13] w badaniach sieciowanej skrobi kukurydzianej. Badając udział poszczególnych frakcji skrobi po procesie modyfikacji stwierdzili zmniejszenie strawności po 120 min trawienia (o 12,8 %) w wyniku utworzenia się skrobi odpornej. Jednocześnie obserwowali korzystne zmiany we frakcjach skrobi szybko trawionej i wolno trawionej, gdyż stwierdzili wzrost udziału tej ostatniej frakcji, korzystnej pod względem żywieniowym. Natomiast jedyne badania strawności fosforanów diskrobiowych otrzymanych ze skrobi wyizolowanej z nasion strączkowych przeprowadzone przez Hoovera i Sosulskiego [16] wykazały zmniejszenie się strawności po modyfikacji.

Obserwowany w pracy wzrost strawności sieciowanej skrobi grochowej może wynikać ze zmian w strukturze skrobi. Według Zhou i wsp. [40] jednym z takich czynników hamujących działanie α -amylazy jest powstawanie nowych obszarów krystalicznych podczas hydrolizy w wyniku retrogradacji amylozy, a powstające struktury są bardziej odporne na trawienie. Dlatego obserwowane w PSMCH znaczne zmniejszenie zawartości amylozy mogło mieć decydujący wpływ na wzrost strawności skrobi. Ponadto badania ^{31}P NMR sieciowanej skrobi pszennej przeprowadzone przez Sang i wsp. [36] wskazują, że po modyfikacji TMF w skrobi oprócz estrów diskrobiowych powstawać mogą również monofosforany. Po potraktowaniu tych skrobi wodorotlenkiem sodu (pH 12) hydrolizie ulegają monofosforany, czemu towarzyszy niewielki wzrost strawności. Dlatego prawdopodobne jest, że zastosowane w pracy warunki mo-

dyfikacji prowadzące z jednej strony do niewielkiego usunięcia natywnych monofosforanów i do otrzymania głównie estrów diskrobiowych, z drugiej strony miały również wpływ na wzrost strawności skrobi.

Zdolność wiązania wody w preparatach wyjściowych kształtowała się w temp. 60 °C na poziomie 5,8 g H₂O/g próbki PSNM z nasion odmiany Poa i 4,5 g H₂O/g próbki PSNM z odmiany Roch (rys. 2). Podobne rezultaty w badaniach skrobi grochu uzyskał również Li i Yeh [24], tj. ok. 5 g H₂O/g w 55 °C, ok. 10 g H₂O/g w 75 °C oraz 13 g H₂O/g w 95 °C. Modyfikacja skrobi wpłynęła istotnie na zmniejszenie zdolności wiązania wody przez preparaty skrobiowe i jej wartość zmniejszyła się do 4,33 g H₂O/g próbki PSMCH z nasion Poa i 2,98 g H₂O/g próbki PSMCH z odmiany Roch.

Wodochłonność wszystkich badanych preparatów w temp. 80 °C zwiększyła się tj. w PSNM z nasion odmiany Poa wynosiła 10,39 g H₂O/g próbki, natomiast z odmiany Roch 10,79 g H₂O/g próbki. W preparatach modyfikowanych z TMF również obserwowano jej wzrost do 9,96 g H₂O/g próbki (Poa) i do 9,10 g H₂O/g próbki (Roch), ale była ona mniejsza niż w PSNM.



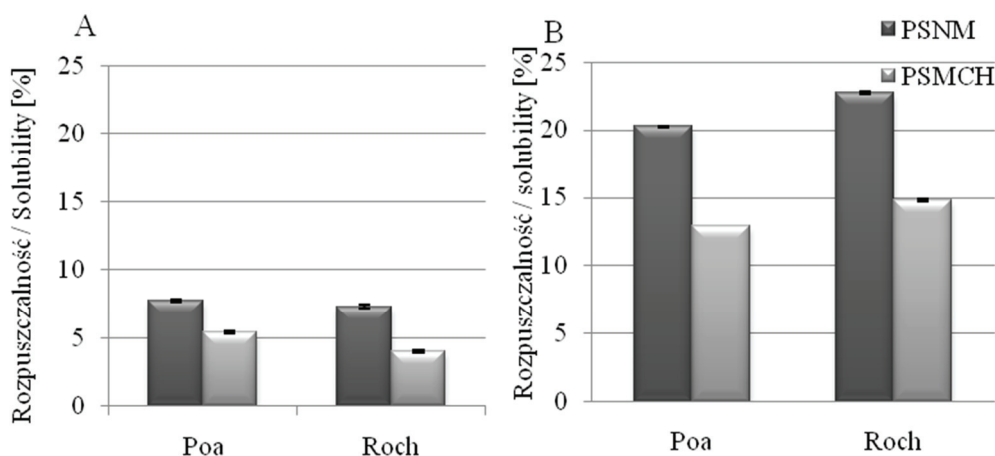
Rys. 2. Wodochłonność preparatów skrobiowych niemodyfikowanych (PSNM) i modyfikowanych chemicznie (PSMCH) w temperaturze 60 °C (A) i 80 °C (B).

Fig. 2. Water holding capacity of non-modified starch preparations (PSNM) and chemically modified starch preparations (PSMCH) at a temperature of 60 °C (A) and 80 °C (B).

Zmniejszanie się wodochłonności skrobi w wyniku sieciowania znajduje potwierdzenie w literaturze, przy czym wielkość obniżenia jest uzależniona od pochodzenia botanicznego skrobi, która była poddana modyfikacji. Badania skrobi ziemniaczanej i pszennej poddanej sieciowaniu TMF wykazały zmniejszenie zdolności wiązania wody w obu przypadkach, przy czym było ono większe w przypadku skrobi ziemniaczanej i zwiększało się wraz ze wzrostem podstawienia fosforem [9]. Natomiast badania

skrobi fasolowej modyfikowanej tlenochlorkiem fosforu wykazały niewielkie zwiększenie zdolności wiązania wody po modyfikacji [3]; autorzy ci nie sprawdzali jednak efektywności procesu modyfikacji, a jak wskazują poprzednie przytoczone badania ma ona kluczowe znaczenie dla tej właściwości skrobi.

Rozpuszczalność skrobi niemodyfikowanej z odmiany Poa kształtowała się na poziomie 7,75 % w temp. 60 °C, natomiast z odmiany Roch była mniejsza i wynosiła 7,32 %. Dane literaturowe podają różne wartości rozpuszczalności skrobi z roślin strączkowych. Hoover i Sosulski [15] otrzymali preparaty skrobiowe z nasion fasoli, których rozpuszczalność w temp. 60 °C była mniejsza od tych otrzymanych w pracy i wynosiła 3,5 %. Natomiast Gujska i wsp. [12] otrzymali preparaty z grochu i fasoli, których rozpuszczalność w temp. 60 °C wynosiła odpowiednio około 0,5 i 1,5 %. Skrobie natywne roślin strączkowych charakteryzują się więc małą rozpuszczalnością w porównaniu ze skrobią z innych źródeł np. skrobia ziemniaczana wykazuje rozpuszczalność na poziomie 10 %, ale wartości uzyskane w niniejszej pracy są zbliżone do podawanej rozpuszczalności skrobi pszennej tj. około 7 % [9].



Rys. 3. Rozpuszczalność preparatów skrobiowych niemodyfikowanych (PSNM) i modyfikowanych chemicznie (PSMCH) w temperaturze 60 °C (A) i 80 °C (B).

Fig. 3. Solubility of non-modified starch preparations (PSNM) and chemically modified starch preparations (PSMCH) at a temperature of 60 °C (A) and 80 °C (B).

Modyfikacja wpłynęła na zmniejszenie rozpuszczalności w temp. 60 °C obu PSMCH i wynosiła 5,43 % (Poa) i 4,01 % (Roch). Wzrost temp. z 60 do 80 °C spowodował prawie 3-krotny wzrost rozpuszczalności skrobi w obu preparatach niemodyfikowanych – do 20,26 % (Poa) i do 22,73 % (Roch). Wzrost temp. z 60 do 80 °C spowodował również wzrost rozpuszczalności skrobi w PSMCH, ale była ona mniejsza niż w preparatach niemodyfikowanych.

Dane literaturowe potwierdzają mniejszą rozpuszczalność skrobi sieciowanej w stosunku do skrobi natywnych w obydwu badanych wartościach temperatury np. po modyfikacji tlenochlorkiem fosforu Deshpande i wsp. [3] dowiedli zmniejszenia rozpuszczalności skrobi w temp. 60 °C z 4 do 2,5 %. Również sieciowanie skrobi z innych źródeł wpływa na zmniejszenie rozpuszczalności, co wykazała w badaniach skrobi ziemniaczanej i pszennej Fortuna [9].

Na zdolność wiązania wody oraz rozpuszczalność skrobi mają wpływ takie czynniki, jak: obecność kompleksów amylozy z tłuszczami, struktura molekularna amylopektyny, siła związania sieci miceli oraz długość łańcuchów amylopektyny [12, 14]. Sieciowanie skrobi zwiększa integralność jej ziaren poprzez wytworzenie wiązań między łańcuchami skrobi. Wraz ze zwiększaniem się usieciowania skrobi zmniejsza się jej rozpuszczalność i zdolność wiązania wody [9, 20, 25].

Podsumowanie

Sieciowanie skrobi wyizolowanej z grochu trimetafosforanem sodu wpłynęło na:

- niewielki wzrost strawności skrobi w obu preparatach,
- ubytek ilości amylozy w skrobi i zmniejszenie powierzchni właściwej skrobi.
- zmniejszenie się rozpuszczalności skrobi i zdolności wiązania wody w porównaniu ze skrobią wyjściową.

Literatura

- [1] Chavan U.D., Shahidi F., Hoover R., Perera C.: Characterization of beach pea (*Lathyrus maritimus* L.) starch. *Food Chem.*, 1999, **65**, 61-70
- [2] Chung H.-J., Liu Q., Donner E., Hoover R., Warkentin T.D., Vandenberg B.: Composition, molecular structure, properties, and in vitro digestibility of starches from newly released Canadian pulse cultivars. *Cereal Chem.*, 2008, **85**, 471-479.
- [3] Deshpande S.S., Sathe S.K., Rangnekar P.D., Salunkhe D.K.: Functional properties of modified black gram (*Phaseolus mungo* L.) Starch. *J. Food Sci.*, 1982, **47**, 1528-1533, 1602.
- [4] Englyst H.N., Veenstra J., Hudson G.J.: Measurement of rapidly available glucose (RAG) in plant foods: a potential *in vitro* predictor of the glycaemic response. *Br. J. Nutr.*, 1996, **75**, 327-337.
- [5] Fortuna T., Juszcak L., Pałasiński M.: Change in the granule porosity on modification of starch. *Żywność. Technologia. Jakość*, 1998, **17**, 124-130.
- [6] Fortuna T., Juszcak L.: Susceptibility of various starches to phosphorylation. *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, 1997, **47**, 19-25.
- [7] Fortuna T., Januszewska R., Wąchlewski T.: Metoda kolorymetrycznego oznaczania powierzchni właściwej skrobi różnego pochodzenia. *Zesz. Nauk. AR w Krakowie. Technol. Żywności*, 1996, **8**, 6-9.
- [8] Fortuna T., Juszcak L., Tobiasz E.: Characterisation of barley starches and their modified preparation. *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, 2001, **2**, **51**, 63-67.
- [9] Fortuna T.: Wpływ czasu trwania modyfikacji na właściwości fosforanów dwuskrobiowych. *Zesz. Nauk. AR w Krakowie*, 1996, **309**, 51-63.

- [10] Galiński G., Gawęcki J., Lewandowicz G.: Strawność *in vitro* skrobi natywnych i modyfikowanych bez i z dodatkiem środków słodzących. Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 2000, **3** (24), 69-77.
- [11] Guillon F., Champ M. M.-J.: Carbohydrate fractions of legumes: uses in human nutrition and potential for health. Br. J. Nutr., 2002, **88**, S3, 293-S306
- [12] Gujska E., Reinhard W., Khan K.: Physicochemical properties of Field Pea, Pinto and Navy Bean starches. J. Food Sci., 1994, **59** (4), 634-636, 651.
- [13] Han J.-A., BeMiller J.N.: Preparation and physical characteristic of slowly digesting modified food starches. Carbohydr. Polym., 2007, **67**, 366-374.
- [14] Hoover R., Ratnayake W.S.: Starch characteristics of black bean, chick pea, lentil, navy bean and pinto bean cultivars grown in Canada. Food Chem., 2002, **78**, 489-498.
- [15] Hoover R., Sosulski F.: Composition, structure, functionality and chemical modification of legume starches: a review. Can. J. Physiol. Pharm., 1991, **69**, 79-92.
- [16] Hoover R., Sosulski F.: Effect of cross-linking on functional properties of legume starches. Starch, 1986, **38**, 149-155.
- [17] Hoover R., Zhou Y.: *In vitro* and *in vivo* hydrolysis of legume starches by α -amylase and resistant starch formation in legumes – a review. Carbohydr. Polym., 2003, **54**, 401-417.
- [18] Jenkins D.J., Kendall C.W., Augustin L.S., Franceschi S., Hamidi M., Marchie A., Jenkins A.L., Axelson M.: Glycemic index: overview of implications in health and disease. Am J Clin Nutr., 2002, **76**, 266-273.
- [19] Kaur L., Singh J., Singh N.: Effect of cross-linking on some properties of potato (*Solanum tuberosum* L.) starches. J. Sci. Food Agric., 2006, **86**, 1945-1954.
- [20] Le Than J., Błaszczak W., Lewandowicz G.: Digestibility vs structure of food grade modified starches. EJPAU, 2007, **10** (3), #10.
- [21] Leach H.W., Mc Cowen L.D., Schoch T.J.: Structure of the starch granule. I. Swelling and solubility patterns of various starches. Cereal Chem., 1959, **36**, 534-537.
- [22] Leszczyński W.: Zróżnicowanie właściwości skrobi. Przem. Spoż., 2001, **3**, 38-40.
- [23] Lewandowicz G., Grajek W.: Możliwość modyfikacji skrobi metodami inżynierii genetycznej. Przem. Spoż., 2004, **11**, 16-20, 50.
- [24] Li J.-Y.; Yeh A.-I.: Relationships between thermal, rheological characteristics and swelling power for various starches. J. Food Eng., 2001, **50**, 141-148
- [25] Lim S., Seib P. A.: Preparation and pasting properties of wheat and corn starch phosphates. Cereal Chem., 1993, **2**, 70, 137-144.
- [26] Lin Q., Xiao H., Zhao J., Li L., Yu F.: characterization of the pasting, flow and rheological properties of native and phosphorylated rice starch. Starch, 2009, **61**, 709-715.
- [27] Marconi E, Ruggeri S., Cappelloni M., Leonardi D, Carnovale E.: Physicochemical, nutritional, and microstructural characteristics of chickpeas (*Cicer arietinum* L.) and common beans (*Phaseolus vulgaris* L.) following microwave cooking. J. Agric. Food Chem., 2000; **48** (12), 5986-94.
- [28] Morad M.M., Leung H.K., Hsu D.L., Finney P.L.: Effect of germination on physicochemical and bread-baking properties of yellow pea, lentil and Faba bean flours and starches. Cereal Chem., 1980, **57** (6), 390-396.
- [29] Morrison W.B., Laignelet B.: An important colorimetric procedure for determining apparent and total amylose in cereal and other starches. J. Cereal Sci., 1983, **1**, 19-20.
- [30] Muir J.G., O'Dea K.: Measurement of resistant starch: factor affecting the amount of starch escaping digestion *in vitro*. Am. J. Clin. Nutr., 1992, **56**, 123-127.
- [31] Piecyk M., Godlewska M., Wpływ izolacji i obróbki termicznej na strawność skrobi grochu. Nauka, Przyn. Technol., 2009, **3**, 4, 134.

- [32] Piecyk M., Konarzewska M., Sitkiewicz I.: Wpływ modyfikacji hydrotermicznej typu annealing na wybrane właściwości skrobi grochu (*Pisum sativum*). *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2009, 5, (66), 58-71.
- [33] Ratanayake W.S., Hoover R., Warkentin T.: Pea starch: composition, structure and properties – a review. *Starch*, 2002, 54, 217-234.
- [34] Ratnayake W.S., Hoover R., Shahidi F., Perera C., Jane J.: Composition, molecular structure and physicochemical properties of starches from four field pea (*Pisum sativum* L.) cultivars. *Food Chem.*, 2001, 74, 789-202.
- [35] Sandhu K.S., Lim S-T.: Digestibility of legume starches as influenced by their physical and structural properties. *Carbohydr. Polym.*, 2008, 71, 245-252.
- [36] Sang Y., Seib P.A., Herrera A.I., Prakash O., Shi Y-Ch.: Effects of alkaline treatment on the structure of phosphorylated wheat starch and its digestibility. *Food Chem.*, 2010, 118, 323-327.
- [37] Seewi G., Gnauck G., Stute R., Chantelau E.: Effects on parameters of glucose homeostasis in healthy humans from ingestion of leguminous versus maize starches. *Eur. J. Nutr.*, 1999, 38, 183-189.
- [38] Wolf B.W., Bauer L.L., Fahey G.C., Jr: Effect of chemical modification on *in vitro* rate and extent of food starch digestion: an attempt to discover a slowly digested starch. *J. Agric. Food Chem.*, 1999, 47, 4178-4183.
- [39] Wronkowska M., Juśkiewicz J., Soral-Śmietana M.: Nutritional and physiological effects of native and physically- modified starches of different origin on rats. *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, 2002, 52, 62-67.
- [40] Zhou Y., Hoover R., Liu Q.: Relationship between α -amylase degradation and the structure and physicochemical properties of legume starches. *Carbohydr. Polym.*, 2004, 57, 299-31.

EFFECT OF CROSS-LINKING ON SELECTED PROPERTIES OF PEA (*PISUM SATIVUM*) STARCH

S u m m a r y

The starch was isolated from ground and shelled seeds of two pea (*Pisum sativum*) varieties: Poa and Roch. The non-modified preparations obtained (NMSP) were chemically modified using a sodium trimetaphosphate (TMF). As a result of this chemical modification performed, a phosphorus was substituted in the Poa starch in the amount of 50 mg/100 g d.m. starch and into the Roch starch in the amount of 80 mg/100 g d.m. starch.

The Poa pea starch was characterized by a digestibility value that was almost twice as high as the digestibility of the Roch pea starch (43 % and 21 %, respectively). The modification applied caused the digestibility of starch in the two preparations to slightly increase, and both the content of amylose in starch and the specific surface of starch to decrease. Moreover, it was found that the solubility of starch and its water holding capacity decreased compared to the initial starch.

Key words: pea starch, chemical modification, solubility, water absorption, digestibility ☒