

# ŻYWNOSĆ

## Organ naukowy PTTŻ – kwartalnik

Nr 4 (45)

Kraków 2005

Rok 12

### SPIS TREŚCI

Od Redakcji .....	3
EMILIA JANISZEWSKA, DOROTA WITROWA-RAJCHERT: Ekstrakcja nadkrytyczna w przemyśle spożywczym.....	5
BARTOSZ BRZOZOWSKI, WŁODZIMIERZ BEDNARSKI, MAREK ADAMCZAK: Biotechnologiczna modyfikacja biologicznych właściwości białek zbóż.....	17
DOMINIK SZWAJGIER, ZDZISŁAW TARGOŃSKI: Arabinoksylany ze słodu źródłem naturalnego przeciwutleniacza – kwasu ferulowego i błonnika pokarmowego w piwie.....	27
ELŻBIETA HAĆ-SZYMAŃCZUK, JAN MROCZEK, SABINA TWORZYDLAK, BARTOSZ STOLPE: Wpływ wysokiego ciśnienia na wybrane cechy jakościowe polędwicy sopockiej i surowej polędwicy wędzonej.....	42
GRAŻYNA CICHOSZ, ANETA KONOPKA, ANNA ZALECKA: Dojrzewanie sera Gouda – monitoring z zastosowaniem metody odwoławczej i metod alternatywnych .....	52
ZBIGNIEW RZEDZICKI, PIOTR ZARZYCKI: Wpływ procesu ekstruzji mieszanek kukurydziano-owsianych na zmiany składu frakcyjnego błonnika pokarmowego .....	62
JAROSŁAW KORUS, MAREK GIBIŃSKI, BOHDAN ACHREMOWICZ: Zastosowanie natywnej i modyfikowanej skrobi lędźwianu siewnego ( <i>Lathyrus sativus</i> L.) do mikrokapsułkowania aromatów .....	74
JAROSŁAW KORUS, DOROTA GUMUL, BOHDAN ACHREMOWICZ: Skład chemiczny pięciu nowych odmian fasoli zwyczajnej ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.).....	81
EWA DOMIAN: Właściwości fizyczne modelowej żywności w proszku w aspekcie metody aglomeracji .....	87
GRAŻYNA MORKIS: Problematyka żywnościowa w ustawodawstwie krajowym.....	98
HENRYK KOSTYRA, ELŻBIETA KOSTYRA: Współczesny leksykon wiedzy o żywności.....	102
STANISŁAW POPEK: Nowe książki.....	104
MARIOLA FRIEDRICH: XXXVI Sesja Naukowa Komitetu Nauk o Żywności Polskiej Akademii Nauk – Forum Dyskusyjne .....	109
JUSTYNA ŻULEWSKA, STEFAN ZIAJKA: Warmińsko-Mazurskie Centrum Doskonałości Mleczarstwa „Wamadairec” .....	120
MARIA SORAL ŚMIETANA: Z Olsztyńskiego życia naukowego .....	125
<b>Technolog Żywności .....</b>	<b>128</b>
Spis treści kwartalnika „Żywność” Nr 42–45 .....	132
Wykaz nazwisk Autorów w 2005 roku.....	139
Wykaz nazwisk Recenzentów w 2005 roku .....	142

*Zamieszczone artykuły są recenzowane*

*Czasopismo jest referowane przez: AGRO-LIBREX, Chemical Abstracts Service i IFIS*

# FOOD

The Scientific Organ of Polish Food Technologists' Society (PTTŻ) – quarterly

No 4 (45)

Kraków 2005

Vol. 12

## CONTENTS

From the Editor .....	3
EMILIA JANISZEWSKA, DOROTA WITROWA-RAJCHERT: Supercritical fluid extraction in food industry .....	5
BARTOSZ BRZOZOWSKI, WŁODZIMIERZ BEDNARSKI, MAREK ADAMCZAK: Biotechnological modification of biological properties of proteins in cereals .....	17
DOMINIK SZWAJGIER, ZDZISŁAW TARGOŃSKI: Arabinoxylans from malt as a source of natural antioxidant ferulic acid and dietary fibre in beer .....	27
ELŻBIETA HAĆ-SZYMAŃCZUK, JAN MROCZEK, SABINA TWORZYDLAK, BARTOSZ STOLPE: Effect of high pressure on some selected quality attributes of the cooked (sopocka) and raw smoked pork loin .....	42
GRAŻYNA CICHOSZ, ANETA KONOPKA, ANNA ZALECKA: Ripening of the Gouda cheese – monitoring using an appeal method and alternative methods .....	52
ZBIGNIEW RZEDZICKI, PIOTR ZARZYCKI: Effect of the extrusion of maize-oat meal mixtures on changes in the fractional composition of dietary fibre .....	62
JAROSŁAW KORUS, MAREK GIBIŃSKI, BOHDAN ACHREMOWICZ: Applying the native and modified grass pea ( <i>Lathyrus sativus</i> L.) starch in the micro-encapsulation of aroma compounds .....	74
JAROSŁAW KORUS, DOROTA GUMUL, BOHDAN ACHREMOWICZ: Chemical composition of five new kidney bean ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.) cultivars .....	81
EWA DOMIAN: Physical properties of model food powders from the point of view of the agglomeration method .....	87
GRAŻYNA MORKIS: Food problems in Polish legislation .....	98
HENRYK KOSTYRA, ELŻBIETA KOSTYRA: Food science lexicon – contemporary terms .....	102
STANISŁAW POPEK: Book reviews .....	104
MARIOLA FRIEDRICH: The 36 <sup>th</sup> Scientific Session held by the Board of Food Sciences, The Polish Academy of Science – discussion forum .....	109
JUSTYNA ŻULEWSKA, STEFAN ZIAJKA: Warmia and Mazury Dairy Excellence Center „Wamadairac” .....	120
MARIA SORAL ŚMIETANA: From the scientific life in Olsztyn .....	125
<b>The Food Technologist .....</b>	<b>128</b>
Annual contents .....	132
Index of Authors .....	139
Index of Reviewers .....	142

*Only reviewed papers are published*

*Covered by: AGRO-LIBREX and Chemical Abstracts Service and IFIS*

**Redaktor naczelny:** prof. dr hab. Tadeusz Sikora; tel./fax 012/ 293-50-54

**Sekretarz redakcji:** dr Ewa Ślawska; tel. 012/ 662-51-61; 657-69-78;

e-mail: ewaslawska@wp.pl

**Redaktorzy:** prof. dr hab. Bohdan Achremowicz, prof. dr hab. Włodzimierz Grajek,  
prof. dr hab. Danuta Kolożyn-Krajewska, prof. dr hab. Bogusław Król, prof. dr hab. Krzysztof  
Krygier, prof. dr hab. Mieczysław Pałasiński, dr Teresa Woźniakiewicz, prof. dr hab. Stefan Ziajka

**Stali współpracownicy:** prof. dr hab. Teresa Fortuna (Kraków), prof. dr hab. Jacek Kijowski  
(Poznań), dr Grażyna Morkis (Warszawa), dr hab. inż. Stanisław Popek (Kraków),  
prof. dr hab. Maria Soral-Śmietana (Olsztyn)

**RADA PROGRAMOWA:** prof. dr Antoni Rutkowski (*przewodniczący*), dr hab. Kazimierz  
Dąbrowski (*sekretarz*), prof. dr hab. Barbara Baraniak, prof. dr hab. Nina Baryłko-Pikielna,  
prof. dr hab. Józefa Chrzanowska, prof. dr hab. Janusz Czapski, prof. dr hab. Zbigniew  
Czarnecki, prof. dr hab. Mirosław Fik, prof. dr hab. Józef Fornal, prof. dr hab. Roman A.  
Grzybowski, prof. dr hab. Jan Iciek, prof. dr hab. Edward Kołakowski, prof. dr hab. Henryk  
Kostyra, prof. dr hab. Andrzej Lenart, prof. dr hab. Paweł M. Pisulewski, prof. dr hab. Piotr  
Przybyłowski, prof. dr hab. Zdzisław E. Sikorski, prof. dr hab. Stanisław Tyszkiewicz

**KONSULTANCI NAUKOWI:** prof. dr hab. Zbigniew Duda, prof. dr hab. Jan Kiszka,  
prof. dr hab. Helena Oberman

**RADA KONSULTACYJNA:** prof. dr Henryk Daun (USA), prof. dr Jerzy Jankun (USA),  
dr Józef Korolczuk (Francja), prof. dr Marian Naczk (Kanada), prof. dr Jan Pokorný (Czechy),  
prof. dr Roman Przybylski (Kanada), dr Andrzej Sośnicki (USA), dr Leszek Stepaniak  
(Norwegia), dr Alina Surmacka-Szcześniak (USA), dr John Wojciak (Kanada)

**WYDAWCA:**

POLSKIE TOWARZYSTWO TECHNOLOGÓW ŻYWNOSCI  
WYDAWNICTWO NAUKOWE PTTŻ

W latach 1994-1999 wydawcą kwartalnika był Oddział Małopolski PTTŻ

© Copyright by Polskie Towarzystwo Technologów Żywności, Kraków 2005

Printed in Poland

Wydawanie publikacji dofinansowane przez Komitet Badań Naukowych

ISSN 1425-6959  
ISBN 83-89541-61-0

**ADRES REDAKCJI:**

31-425 KRAKÓW, AL. 29 LISTOPADA 46

Nakład: 800 egz.

---

**SKŁAD I DRUK:**



Wydawnictwo Naukowe „Akapit”, Kraków

tel./fax (012) 280-71-51; www.akapit.krakow.pl

e-mail: wn@akapit.krakow.pl

---

**ISSN 1425-6959**  
**ISBN 83-89541-61-0**

### **Warunki prenumeraty**

Szanowni Państwo,  
uprzejmie informujemy, że przyjmujemy zamówienia na prenumeratę naszego kwartalnika, zarówno od Czytelników indywidualnych, jak i od instytucji, co powinno Państwu zapewnić bieżące otrzymywanie kolejnych wydawanych przez nas numerów.  
Szczegółowe informacje znajdują się na stronie **[www.ptz.org](http://www.ptz.org)**

Zamówienia na prenumeratę, jak i na poszczególne numery prosimy kierować na adres:

**Wydawnictwo Naukowe PTTŻ**

**31-425 Kraków, Al. 29 Listopada 46**

**Nr konta: Deutsche Bank Oddz. w Krakowie**

**70 1910 1048 0009 1444 1121 0001**

EMILIA JANISZEWSKA, DOROTA WITROWA-RAJCHERT

## **EKSTRAKCYJA NADKRYTYCZNA W PRZEMYŚLE SPOŻYWCZYM**

### Streszczenie

W pracy scharakteryzowano proces ekstrakcji nadkrytycznej: jego podstawy teoretyczne oraz sposób prowadzenia. Przedstawiono wady i zalety procesu świadczące o możliwościach jego zastosowania w przemyśle spożywczym. Dokonano również przeglądu zastosowań ekstrakcji nadkrytycznej. Omówiono stosowane na skalę przemysłową procesy dekofeinacji kawy, ekstrakcji chmielu i dealkoholizacji, w których wykorzystuje się omawianą metodę rozdziału. Przedstawiono także aplikacje ekstrakcji nadkrytycznej, wokół której skupiają się badania naukowe. Za szczególnie atrakcyjne zastosowanie tej techniki należy uznać izolację wysoko wartościowych składników, występujących w małej koncentracji w produktach spożywczych.

**Słowa kluczowe:** punkt krytyczny, CO<sub>2</sub>, dekofeinacja, izolacja, frakcjonowanie

### **Wprowadzenie**

Po raz pierwszy rozpoznano stan nadkrytyczny w 1822 r. Odkrycia tego dokonał C. Cagniard de la Tour. Zauważył on, że powyżej pewnej temperatury niektóre substancje nie podlegają procesowi parowania oraz kondensacji, ale występują pod postacią płynu o specyficznych właściwościach. Jednak stan nadkrytyczny został zbadany dopiero w latach 70. XIX w. przez Andrewsa, który jako pierwszy nazwał temperaturę, powyżej której substancje uzyskiwały właściwości płynu nadkrytycznego, „punktem krytycznym”. W 1879 r. Hannay i Hogarth udowodnili, że płyny w stanie nadkrytycznym mają zdolności rozpuszczające [16, 27].

Jednak dopiero około sto lat później płyny nadkrytyczne znalazły zastosowanie w przemyśle. W latach 20. XX w. przeprowadzono badania dotyczące zastosowania płynów nadkrytycznych w przemyśle paliwowym. Również w tym czasie zainteresowano się rozdziałem mieszanin z wykorzystaniem płynów nadkrytycznych, prowadzonych w kolumnach wypełnionych [26]. W latach 60. XX w. Zosel rozwinął uzyskiwanie ekstraktu z naturalnych substratów z użyciem nadkrytycznego CO<sub>2</sub>. W przemyśle spożywczym w latach 70. XX w. ekstrakcja nadkrytyczna znalazła

zastosowanie do dekofeinacji kawy. Równocześnie prowadzono także prace nad dekofeinacją herbaty oraz ekstrakcją olejków chmielowych.

W latach 80. XX w. w Europie, USA i Australii nastąpił rozwój technik stosujących ekstrakcję nadkrytyczną na skalę przemysłową. Także w tym czasie zbudowana została pierwsza jednostka do całkowitego frakcjonowania, a pierwsze przyprawy otrzymane tą metodą znalazły się na rynku.

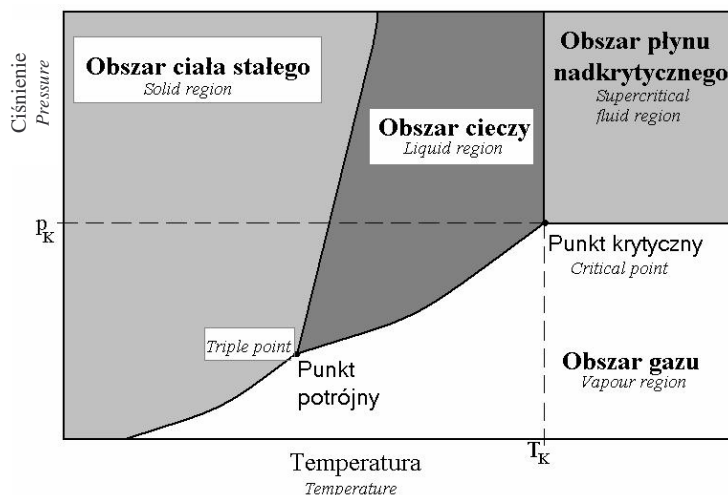
W latach 80. i 90. XX w. można było zauważyć znaczny wzrost zainteresowania tą metodą, chociażby na podstawie wzrostu liczby publikacji oraz patentów dotyczących ekstrakcji nadkrytycznej [27].

Obecnie ekstrakcja nadkrytyczna znajduje coraz szersze zastosowanie w licznych przemysłach (m.in. spożywcym, farmaceutycznym, kosmetycznym, paliwowym).

### Płyn nadkrytyczny

Czysty rozpuszczalnik znajduje się w stanie nadkrytycznym, gdy jego temperatura i ciśnienie są wyższe niż krytyczne wartości temperatury i ciśnienia ( $T_k$ ,  $p_k$ ). Przy krytycznych wartościach  $T_k$  i  $p_k$  nie następuje nagła zmiana właściwości rozpuszczalnika. Zmiany te następują stopniowo wraz ze zbliżaniem się do punktu krytycznego [2, 10, 13, 16, 17, 18, 20, 26, 27].

Wykres równowagi fazowej czystej substancji w układzie ciśnienie-temperatura przedstawiono na rys. 1. Zaznaczono na nim obszary poszczególnych faz. Linie wyznaczają współlistnienie dwóch faz ze sobą. Linia ciec-z-gaz przebiega od punktu potrójnego do punktu krytycznego, w którym ciecz i para mają takie same właściwości.



Rys. 1. Wykres fazowy czystej substancji [2, 20, 26].

Fig. 1. Phase diagram of a pure substance [2, 20, 26].

Nadkrytyczne płyny charakteryzują się lepkością zbliżoną do gazów, gęstością do cieczy oraz wysoką dyfuzyjnością. Mają zmienną siłę rozpuszczalności.

Rozpuszczalność składników w płynie jest związana z jego ciśnieniem i temperaturą [2, 10, 12, 18, 26].

Ekstrakcja nadkrytyczna jest uwarunkowana gęstością cieczy, którą można kierować poprzez zmianę temperatury i ciśnienia. Zdolność rozpuszczania płynu w ekstrakcji nadkrytycznej rośnie wraz ze wzrostem temperatury. Dlatego też, zdolność rozpuszczania w stanie nadkrytycznym może być łatwo kontrolowana.

Zachowanie cieczy w stanie nadkrytycznym można porównać do zachowania bardzo ruchliwego płynu. W następstwie przejścia w stan nadkrytyczny tempo ekstrakcji wzrasta oraz skraca się etap oddzielania, w porównaniu z tradycyjnymi metodami. Także warunki ekstrakcji mogą być kontrolowane, w efekcie można pozyskiwać różne składniki z tego samego substratu.

W ekstrakcji nadkrytycznej stosuje się rozpuszczalniki o dużym zakresie temperatur krytycznych, masie cząsteczkowej i polarności. Parametry krytyczne wybranych rozpuszczalników przedstawiono w tab. 1.

Tabela 1

Parametry krytyczne wybranych rozpuszczalników.  
Critical parameters of some selected solvents.

Rozpuszczalnik Solvent	Temperatura krytyczna Critical temperature [K]	Ciśnienie krytyczne Critical pressure [MPa]	Gęstość krytyczna Critical density [g/cm <sup>3</sup> ]
Aceton / Acetone	508,1	4,70	0,278
Amoniak / Ammonia	405,6	11,30	0,235
Benzen / Benzene	562,1	4,89	0,302
Chlorotrifluorometan Chlorotrifluoromethane	302,0	3,92	0,579
Dwutlenek węgla / Carbon dioxide	304,2	7,38	0,468
Eter etylowy / Diethyl ether	467,6	3,64	0,265
Etylen / Ethylene	282,4	5,03	0,218
Metanol / Methanol	512,6	8,09	0,272
Propylen / Propylene	365,0	4,62	0,233
Toluen / Toluene	591,7	4,11	0,292
Woda / Water	647,3	22,00	0,322

Źródło: / Source: [13]

Na ogół płyny nadkrytyczne są rozpuszczalnikami niepolarnymi, przez co lepiej rozpuszczają substancje niepolarne. W większości w płynie nadkrytycznym nie rozpuszczają się substancje zjonizowane, tj. ze zdysocjowanymi grupami kwasowymi i zasadowymi oraz sole mineralne. W takich przypadkach można zastosować jedną z metod prezentowanych przez Luque de Castro i Énez-Carmona [17], a mianowicie:

zmienić rozpuszczalnik nadkrytyczny na bardziej polarny, np. wodę, zastosować dodatek substancji modyfikującej, charakteryzującej się pośrednią lotnością między lotnością rozpuszczalnika i substancji ekstrahowanej (np. dodatek etanolu do CO<sub>2</sub>) lub zmienić parametry prowadzenia procesu.

Najczęściej stosowanym płynem nadkrytycznym jest dwutlenek węgla. Jest on głównym rozpuszczalnikiem stosowanym w przemyśle spożywczym. Tak szerokie zastosowanie zawdzięcza swoim właściwościom. Do najważniejszych zalicza się: małą lepkość, wysoką dyfuzyjność, co umożliwia dogłębną penetrację substratu w celu uzyskania z surowca wszystkich pożądaných składników, stosunkowo niskie parametry krytyczne (304,2 K, 7,38 MPa), brak korozyjności, niepalność, nietoksyczność. Ponadto charakteryzuje się dużą lotnością, co ułatwia jego usuwanie z produktu po procesie ekstrakcji, jest nieszkodliwy z fizjologicznego punktu widzenia oraz jest niedrogi, ponieważ jest składnikiem powietrza [2, 7, 17, 19, 20, 26, 27].

W stosunku do ostatniej wymienionej właściwości zgłaszano jednak zastrzeżenia. Obawiano się, iż zastosowanie CO<sub>2</sub> do ekstrakcji nadkrytycznej spowoduje wzrost emisji gazu do atmosfery. Problem ten nie wystąpi wówczas, gdy dwutlenek węgla do procesu ekstrakcji nadkrytycznej będzie pochodził z nadwyżek produkcyjnych pochodzących z innych przemysłów [5].

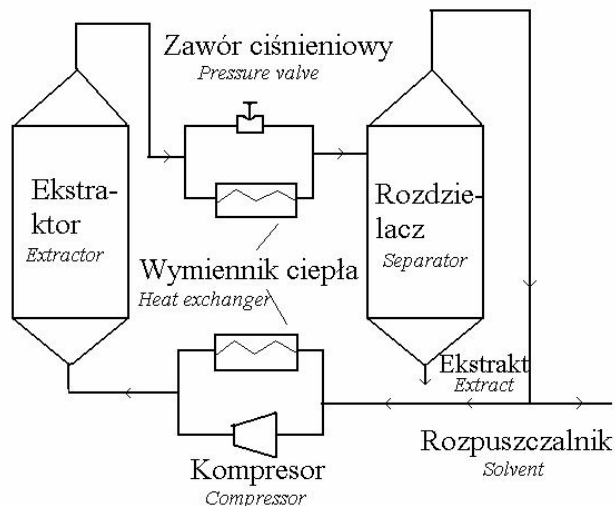
### **Proces ekstrakcji nadkrytycznej**

Aparatura do procesu ekstrakcji składa się najczęściej z: pompy sprężającej rozpuszczalnik lub kompresora, systemu pomiarowego ciśnienia i temperatury, ekstraktora ciśnieniowego i rozdzielacza (rys. 2).

Surowiec jest dostarczany do ekstraktora ciśnieniowego. Rozpuszczalnik doprowadza się poprzez ogrzanie i zmianę ciśnienia do właściwości krytycznych. Nadkrytyczny rozpuszczalnik wprowadza się do ekstraktora, gdzie styka się on z surowcem i następuje wydobywanie składnika ekstrahowanego. Następnie mieszanina roztworu i rozpuszczalnika opuszcza ekstraktor. Jest rozdzielana w rozdzielaczu, w którym rozpuszczalnik przechodzi w stan gazowy. Proces rozdziału może być przeprowadzony poprzez zmianę temperatury mieszaniny lub zmianę jej ciśnienia.

Najczęściej stosuje się jednoczesną zmianę obu parametrów. W przypadku regulacji temperatury mieszanina przechodzi przez wymiennik ciepła, gdzie jest chłodzona do temperatury, w której dany składnik jest najslabiej rozpuszczalny. W ten sposób dochodzi do wytrącenia składnika i wydzielenia go do rozdzielacza. W drugim przypadku doprowadza się do wytrącenia składnika wskutek redukcji ciśnienia. W obu przypadkach rozpuszczalnik jest regenerowany i po ponownym doprowadzeniu do krytycznych warunków wraca do ekstraktora, a substancja oddzielona jest usuwana z rozdzielacza. Jeżeli prowadzi się ekstrakcję kilku składników z substratu, to rozdział przeprowadza się stopniowo. Dzięki temu uzyskuje się możliwość selektywnego wydzielenia kilku składników ekstraktu [10].





Rys. 2. Schemat aparatury ciśnieniowej do ekstrakcji w warunkach nadkrytycznych; wydzielanie składnika przez zmianę ciśnienia i temperatury [10].

Fig. 2. Schema of the supercritical fluid extraction pressure apparatus; a component is extracted by changing the pressure and temperature [10].

### Zalety i wady ekstrakcji nadkrytycznej

Zalety tej metody to:

- możliwość regulowania rozpuszczalności poszczególnych składników w zależności od temperatury i ciśnienia procesu;
- prowadzenie procesu w niskiej temperaturze;
- stosowanie nietoksycznych rozpuszczalników;
- całkowite wydzielenie rozpuszczalnika z ekstraktu;
- frakcjonowanie wyekstrahowanych substancji w trakcie ich wydzielania;
- proces ekstrakcji przebiega bez dostępu powietrza, co chroni substancje przed utlenianiem;
- duża selektywność procesu, co jest wynikiem bardzo dobrej penetracji rozpuszczalnika w głąb struktury surowca;
- możliwość recyrkulacji rozpuszczalnika, co obniża koszty;
- zastosowanie ekstrakcji nadkrytycznym dwutlenkiem węgla pozwala na wyeliminowanie ekstrakcji przy użyciu dichlorometanu lub chlorku metylenu.

Do wad można zaliczyć:

- konieczność stosowania drogiej wysokociśnieniowej aparatury, co znacznie ogranicza jej rozpowszechnienie;
- ponoszenie znacznych nakładów energii na sprężanie rozpuszczalnika.

### Zastosowanie ekstrakcji nadkrytycznej

W przemyśle spożywczym ekstrakcja nadkrytyczna stosowana jest do ekstrakcji chmielu [10, 13, 16], dekofeinacji kawy [4, 19, 23] oraz redukcji zawartości alkoholu [9].

Badania nad zastosowaniem ekstrakcji nadkrytycznej prowadzone są również w innych procesach:

- ekstrakcji naturalnych barwników ( $\beta$ -karoten, astaksantan) [3, 6, 14, 24],
- usuwaniu tłuszczu zwierzęcego (z mleka, z żółtka) [1],
- deodoryzacji tłuszczu i oleju, rozdziale fosfatydów (lecytyna) [15],
- ekstrakcji esencji olejowych (mięta, czosnek, oregano) [7],
- ekstrakcji aromatów i smaków (owoce tropikalne i cytrusowe) [22],
- ekstrakcji estrów kwasów tłuszczowych [8],
- ekstrakcji aromatów i substancji smakowych do drinków [25].

W ostatnich latach rośnie zainteresowanie wykorzystaniem ekstrakcji nadkrytycznej w przetwórstwie żywności, o czym świadczą między innymi opatentowane rozwiązania technologiczne (tab. 2).

Ekstrakcja nadkrytyczna jest stosowana do usuwania najbardziej lotnych związków z substratów. Proces ten nosi nazwę deodoryzacji. Proces ten prowadzony jest przy bardzo niskiej temperaturze i ciśnieniu krytycznym rozpuszczalnika. W takich warunkach rozpuszczaniu ulegają tylko substancje najbardziej lotne, o małej masie cząsteczkowej. Związki te zazwyczaj składają się na aromat produktu [10, 22]. Przykładem może być odzysk aromatu cytryny [22]. Badania czterech różnych odmian cytryny, w temp. 313 i 333 K oraz wybranych ciśnieniach ekstrakcji (13,79; 27,58 i 41,37 kPa) dowiodły, że proces ekstrakcji nadkrytycznej przebiegał znacznie szybciej niż hydroliza (ekstrakcja ok. 20 min, hydroliza ok. 40 min). Także w przypadku dwóch odmian wyekstrahowano składniki aromatu, których nie odzyskiwano w procesie hydrolizy.

Ekstrakcja nadkrytyczna, szczególnie dotycząca odzyskiwania olejków eterycznych, jest atrakcyjną alternatywą dla tradycyjnych metod oddzielenia, takich jak destylacja lub ekstrakcja zwykłym rozpuszczalnikiem [15]. Przykładem może być ekstrakcja związków zapachowych z przypraw. Wydajność ekstrakcji olejków smakowo-zapachowych z przypraw jest zależna od warunków procesu, np. w przypadku imbiru wynosi 4,5%, a pieprzu 12% [10]. Louli i wsp. [15] prowadzili badania ekstrakcji nadkrytycznej olejków zapachowych z nasion pietruszki. Stwierdzili, że wyższe ciśnienie procesu (10 i 15 MPa) spowodowało zwiększenie szybkości ekstrakcji. Natomiast podwyższenie temp. z 308 do 318 K i wielkości cząstek nasion pietruszki z 293 do 495  $\mu\text{m}$  było przyczyną obniżenia szybkości procesu, spowodowanego w pierwszym przypadku zmniejszeniem rozpuszczalności, a w drugim – wzrostem oporu dyfuzji.

Przykłady zastosowania ekstrakcji nadkrytycznej w przemyśle spożywczym.  
Some examples of supercritical fluid extraction applications in the food industry.

Proces Process	Surowce Raw materials	Patenty Patents
Dekofeinacja Decaffeination	Kawa, herbata Coffee, tea	Niemcy, USA Germany, USA
Deodoryzacja Deodorization	Olej roślinny, tłuszcz zwierzęcy, olej drożdży browarniczych Plant oil, animal fat, brewery yeast oil	Niemcy, USA, Austria Germany, USA, Austria
Fracjonowanie Fractionation	Olej z wątroby dorszów, mieszaniny glicerydów Cod's liver oil, mixture of glycerides	Holandia Holland
Oczyszczanie olejów Oil purification	Usuwanie kwasów tłuszczowych Removal of fatty acids	Niemcy, USA Germany, USA
Odzyskiwanie aromatu Aroma recovery	Przyprawy, chmiel, tytoń, kawa Spices, hop, tobacco, coffee	USA, Kanada, Niemcy, Francja, Wielka Brytania USA, Canada, Germany, France, GB
Odzyskiwanie olejów Oil recovery	Soja, rzepak, kakao, cytryna, słonecznik Soya, rape, cocoa, lemon, sunflower	Niemcy, Austria Germany, Austria
Odzyskiwanie barwników Recovering dye stuffs	Warzywa Vegetables	Niemcy Germany
Usuwanie białek, cukrów Removing proteins and sugars	Substancje organiczne Organic substances	Patent WO 95/01221, 1994.
Usuwanie nikotyny Nicotine removal	Tytoń Tobacco	Niemcy, USA Germany, USA

Źródło: / Source: [10, 11]

Proces ekstrakcji prowadzony w warunkach nadkrytycznych umożliwia także frakcjonowanie rozpuszczalnych substancji przez wprowadzanie powolnych zmian w parametrach procesu. Efektem tego jest zmiana rozpuszczalności poszczególnych składników, co umożliwia ich stopniowe wytrącanie [8, 12, 27].

Najnowsze kierunki badań wykazują, że dobre wyniki frakcjonowania otrzymuje się przy połączeniu ekstrakcji z kolumną rektyfikacyjną. Dowodem na to mogą być badania prowadzone przez Flecka i wsp. [8]. Właściwy dobór temperatur w kolumnie umożliwia zatrzymanie w ekstraktorze tylko jednego składnika, dzięki czemu składniki bardziej lotne mogą uchościć do rozdzielacza. W ten sposób możliwe jest bardzo precyzyjne rozdzielanie i zagęszczanie poszczególnych składników. Metoda ta znalazła zastosowanie przy rozdziale składników olejów, szczególnie rybich. Frakcjonowanie rybiego oleju jest trudne, ponieważ jego różne składniki mają podobną budowę chemiczną i właściwości fizyczne. Frakcjonowanie estrów kwasów tłuszczowych jest jednak możliwe dzięki różnicy w długości łańcucha lub stopniu

nasycenia. Trudnością jednak jest wrażliwość termiczna estrów. Dlatego wskazane jest zastosowanie ekstrakcji nadkrytycznej do tego typu składników [8].

Prowadzono także badania nad frakcjonowaniem różnych aktywnych składników przeciwutleniających z liści rozmarynu, poprzez zmianę gęstości rozpuszczalnika. Składniki te ekstrahowano w dwóch etapach, w każdym otrzymując frakcje zawierające inne związki przeciwutleniające. Pierwszy etap prowadzono w temp. 313 K i ciśnieniu 10 MPa, drugi w 333 K i 40 MPa [12].

Całkowita ekstrakcja składników jest prowadzona głównie przy wysokich ciśnieniach, z powodu największej rozpuszczalności większości składników w takich warunkach. Jednocześnie ważne jest utrzymanie możliwie niskiej temperatury ekstrakcji w celu ochrony wrażliwych substancji organicznych przed zniszczeniem. Jednakże, często ze względu na koszty, obniża się ciśnienie, poprawiając w ten sposób jakość uzyskanego ekstraktu [10, 19, 23, 25]. Przykładem takiego postępowania jest ekstrakcja oliwy z oliwek [10].

Z powodu zmiennej wybiórczości wykorzystania nietoksycznego rozpuszczalnika i umiejętności produkcji aromatycznych wyciągów o zwiększonej jakości w krótszym czasie, ekstrakcja nadkrytyczna ma wyraźną przewagę nad innymi metodami frakcjonowania napojów alkoholowych [9, 25]. W przypadku izolacji aromatu brandy [25] badania przeprowadzono przy ciśnieniu od 7 do 30 MPa, otrzymując ekstrakt o wyższej zawartości związków aromatycznych przy wyższym ciśnieniu.

Ekstrakcja nadkrytyczna znalazła jednak największe zastosowanie przy dekofeinacji – usuwaniu kofeiny z ziaren kawowych oraz do produkcji ekstraktów chmielowych. Instalacje do tych procesów są stosowane na skale przemysłową.

W suchych ziarnach kawy ekstrakcja przebiega bardzo wolno. W związku z tym proces ekstrakcji kawy w warunkach nadkrytycznych jest poprzedzony wstępnym nawilżeniem ziaren wodą w celu zwiększenia selektywności działania rozpuszczalnika wobec kofeiny. Woda jest tutaj czynnikiem destabilizującym wewnętrzną strukturę kawy, tworzoną przez kwas chlorogenowy. W charakterze rozpuszczalnika nadkrytycznego jest stosowany CO<sub>2</sub>. Nawilżone ziarno wprowadzane jest do ekstraktora ciśnieniowego [16]. Następnie tak przygotowana kawa poddawana jest działaniu rozpuszczalnika. W kolejnym etapie rozpuszczalnik wraz z rozpuszczoną kofeiną jest przenoszony do płuczki wodnej. Wymaga to dekompresji CO<sub>2</sub>, co podwyższa koszty procesu. Kofeina zostaje rozpuszczona w wodzie, a następnie izolowana na drodze destylacji. W omawianym procesie zawartość kofeiny jest zredukowana z 0,7-3% do 0,02%. Odbywa się to bez rozpuszczania substancji lotnych, a więc bez zmiany aromatu [10, 16].

Kofeina może być także uzyskiwana w procesie ekstrakcji nadkrytycznej z nasion guarany. Podobnie jak w przypadku ziaren kawy, ziarna guarany powinny być namoczone przed procesem, co przyspiesza ekstrakcję. Proces ekstrakcji nadkrytycznej przeprowadzili jako pierwsi Mehr i wsp. [19] w temperaturze 307, 318 i 328 K oraz w zakresie ciśnień od 13,8 MPa do 27,58 MPa. Stwierdzili oni, że ekstrakcja w wyższym

ciśnieniu zwiększa wydobyte kofeiny z ziaren. Natomiast Saldaña i wsp. [23] przeprowadzili badania przy wyższych parametrach: 313 i 343 K oraz 10, 20 i 40 MPa. Otrzymali oni 98-procentowe wyekstrahowanie kofeiny z ziaren przy ciśnieniu 40 MPa i w temperaturze 343 K.

Drugim ważnym zastosowaniem ekstrakcji nadkrytycznej z CO<sub>2</sub> jest ekstrakcja żywic chmielowych. Ekstrakty uzyskane tą metodą są wykorzystywane w browarnictwie do produkcji piwa o podwyższonej zawartości goryczki. Surowiec jest mielony i granulowany, a następnie wprowadzany do ekstraktora. Proces ekstrakcji prowadzi się w klasycznym układzie aparaturowym ekstraktor/rozdzielacz. Wytrącanie żywic zachodzi w wyniku jednostopniowej redukcji ciśnienia. Uzyskane żywice charakteryzują się dużą czystością. Wydajność procesu ekstrakcji sięga 99% [10, 16].

W wyniku ekstrakcji nadkrytycznej z chmielu otrzymuje się ekstrakt zawierający gorzkie kwasy, część tłuszczów i olejki eteryczne, a nie ekstrahują się polarne pestycydy. Zawartość ww. związków w ekstrakcie wynosi ok. 90%, w tym olejki eteryczne stanowią 10% całości ekstraktu [27]. Otrzymane tym sposobem ekstrakty nie zmieniają swoich właściwości przez wiele lat, co pozwala na długi okres przechowywania. Warto podkreślić, że zastosowanie ekstrakcji nadkrytycznym dwutlenkiem węgla umożliwiło wyeliminowanie ekstrakcji olejków chmielowych przy użyciu dichlorometanu lub chlorku metylenu [16].

Instalację do produkcji ekstraktów chmielowych, o różnych zawartościach alfa-kwasów, w warunkach nadkrytycznych posiada Instytut Nawozów Sztucznych w Puławach. Instalacja pracuje w warunkach: 313–353 K i 30 MPa, wydajność instalacji wynosi 10 t/dobę.

Badania nad zastosowaniem procesu ekstrakcji nadkrytycznej są nadal kontynuowane. Jako kolejne zastosowanie wymienia się usuwanie alkoholu z wina i piwa w celu uzyskania napojów bezalkoholowych o dobrej jakości. Wielu naukowców badało proces oddzielenia etanolu z roztworów wodnych, używając CO<sub>2</sub> jako rozpuszczalnika. W pierwszym etapie może być usuwany aromat z wina za pomocą nadkrytycznego CO<sub>2</sub>, a etanol jest oddzielany w późniejszej kolumnie destylacyjnej. Poprzez mieszanie wydobytych składników aromatu z destylatem otrzymuje się bezalkoholowe wino. Inna metoda polega na oddzieleniu etanolu i aromatu w pierwszym etapie poprzez destylację. Natomiast po destylacji etanol poddawany jest ekstrakcji nadkrytycznym CO<sub>2</sub> w celu odzyskania aromatu. Aby uzyskać wysokiej jakości produkt końcowy, wyekstrahowane substancje aromatyczne muszą być dodane do bezalkoholowego już produktu [10, 21].

Wadą tych procesów jest to, że w obydwu przypadkach stosowana jest destylacja – proces przebiegający w podwyższonej temperaturze, co wiąże się z utratą lub zmianą substancji termolabilnych. Do tej pory zostało wykrytych ok. 280 substancji termolabilnych. Ideą badań prowadzonych przez Gamse i wsp. [9] było zaprojektowanie procesu obniżającego zawartość alkoholu w winie, przebiegającego bez udziału destylacji, dzięki któremu można by otrzymać zadowolające wyniki.

Procesem takim okazała się ekstrakcja nadkrytyczna prowadzona w kolumnie o wysokości 2 m, wypełnionej pierścieniami Palla, przy parametrach procesu: 16 MPa, 298 K. Ekstrakcja w tych warunkach wyniosła 74,6%, co obniżyło koncentrację alkoholu z 11,3 do około 3%.

### Podsumowanie

Obecnie prowadzone są liczne badania nad zastosowaniem ekstrakcji nadkrytycznej w wielu gałęziach przemysłu. Za celowe zastosowania ekstrakcji nadkrytycznej trzeba uznać wydzielanie aromatów, barwników, rozdział kwasów tłuszczowych. Rozdział składników żywności za pomocą nadkrytycznego CO<sub>2</sub> poprawia ich czystość, a tym samym jakość otrzymanego produktu.

Jednakże oceniając proces ekstrakcji nadkrytycznej należy także stwierdzić, że jest to technologia droga, co ogranicza możliwość jej stosowania. Wynika to przede wszystkim z konieczności instalowania wysokociśnieniowej aparatury i ponoszenia znacznych nakładów energii na sprzężanie rozpuszczalnika.

### Literatura

- [1] Boselli E., Caboni M. F., Lercker G.: Extraction and purification of free cholesterol from some egg-containing food by on-line supercritical fluid extraction – solid-phase extraction. *Euro Food Res Technol.*, 2001, **212**, 244–246.
- [2] Brunner G.: Supercritical fluids: technology and application to food processing. *J. Food Engin*, 2005, **67**, 21–33.
- [3] Cadoni E., De Giorgi M. Rita, Medda E., Poma G.: Supercritical CO<sub>2</sub> extraction of lycopene and β-carotene from ripe tomatoes. *Dyes and Pigments*, 2000, **44**, 27-32.
- [4] Chang Chiehming J., Chiu Kou-Lung, Chen Ying-Ling, Chang Ching-Yuan: Separation of catechins from green tea using carbon dioxide extraction. *Food Chem.*, 2000, **68**, 109-113.
- [5] Chin K., Crabb Ch., Ondrey G., Kamiya T.: Supercritical fluid stay solvent. *Chem. Engin*, 1998, **10**, 32-41.
- [6] Döker O., Salgын U., Sanal I., Mehmetoğlu Ü., Çalýmly A.: Modelling of extraction of β-carotene from apricot bagasse using supercritical CO<sub>2</sub> in packed bed extractor. *J. Supercritical Fluids*, 2004, **28**, 11–19.
- [7] Díaz-Maroto M. C., Soledad Perez-Coello M., Dolores Cabezudo M.: Supercritical carbon dioxide extraction of volatiles from spices Comparison with simultaneous distillation–extraction. *J. Chromatography A*, 2002, **947**, 23–29.
- [8] Fleck U., Tiegs C., Brunner G.: Fractionation of fatty acid ethyl esters by supercritical CO<sub>2</sub>: high separation efficiency using an automated countercurrent column. *J. Supercritical Fluids*, 1998, **14**, 67–74.
- [9] Gamse T., Rogler I., Marr R.: Supercritical CO<sub>2</sub> extraction for utilisation of excess wine of poor quality. *J. Supercritical Fluids*, 1999, **14**, 123–128.
- [10] Grajek W., Łukaszynski D.: Ekstrakcja składników żywności dwutlenkiem węgla w warunkach nadkrytycznych. *Przem. Spoż.*, 1993, **11**, 307–310.
- [11] Jung J., Perrut M.: Particle design using supercritical fluids: Literature and patent survey. *J. Supercritical Fluids*, 2001, **20**, 179–219.



- [12] Lang Qingyong, Wai Chien M.: Supercritical fluid extraction in herbal and natural product studies – a practical review. *Talanta*, 2001, **53**, 771–782.
- [13] Leman J., Leman H.: Ekstrakcja rozpuszczalnikami nadkrytycznymi – nowa metoda rozdziału składników żywności. *Przem. Spoż.*, 1990, **10**, 241–243.
- [14] Lim Gio-Bin, Lee Sang-Yun, Lee Eun-Kyu, Haam Seung-Joo, Kim Woo-Sik: Separation of astaxanthin from red yeast *Phaffia rhodozyma* by supercritical carbon dioxide extraction. *Biochem. Engin. J.*, 2002, **11**, 181–187.
- [15] Louli V., Folas G., Voutsas E., Magoulas K.: Extraction of parsley seed oil by supercritical CO<sub>2</sub>. *J. Supercritical Fluids*, 2004, **30**, 163–174.
- [16] Łukaszyński D.: Zastosowanie technologii nadkrytycznych do ekstrakcji i analizy produktów spożywczych oraz substancji aktywnych biologicznie. *Post. Nauk Roln.*, 1995, **6**, 91–97.
- [17] Luque de Castro M.D., Eñez-Carmona M.M.J.: Where is supercritical fluid extraction going? *Trends Anal. Chem.*, 2000, **19** (4), 223–228.
- [18] Marr R., Gamse T.: Use of supercritical fluids for different processes including new developments—a review. *Chem. Engng Proc.*, 2000, **39**, 19–28.
- [19] Mehr C. B., Biswal R. N., Collins J. L., Cochran H. D.: Supercritical carbon dioxide extraction of caffeine from guaraná. *J. Supercritical Fluids*, 1996, **9**, 185–191.
- [20] Palmer M. V., Ting S. S. T.: Applications for supercritical fluid technology in food processing. *Food Chem.*, 1995, **52**, 345–352.
- [21] Prospekt Schoeller – Bleckmann.
- [22] Rozzi N. L., Phippen W., Simon J. E., Singh R. K.: Supercritical Fluid Extraction of Essential Oil Components from Lemon-Scented Botanicals. *Lebensm.-Wiss. u.-Technol.*, 2002, **35**, 319–324.
- [23] Saldaña M. D. A., Zeltz C., Mohamed R. S., Brunner G.: Decaffeination of guaraná seeds in a microextraction column using water-saturated CO<sub>2</sub>. *J. Supercritical Fluids*, 2002, **22**, 119–127.
- [24] Şanal İ.S., Güvenç A., Salgin U., Mehmetoğlu Ü., Çalimli A.: Recycling of apricot pomace by supercritical CO<sub>2</sub> extraction. *J. Supercritical Fluids*, 2004 **32**, 221–230.
- [25] Señoráns F. J., Ruiz-Rodríguez A., Ibáñez E., Tabera J., Reglero G.: Isolation of brandy aroma by counter-current supercritical fluid extraction. *J. Supercritical Fluids*, 2003, **26**, 129–135.
- [26] Sihvonen M., Järvenpää E., Hietaniemi V. and Huopalahti R.: Advances in supercritical carbon dioxide technologies. *Trends Food Sci. Technol.* 1999, **10**, 217–222.
- [27] Valcárcel M., Tena M.T.: Applications of supercritical fluid extraction in food analysis. *Fresenius J. Anal. Chem.*, 1997, **358**, 561–573.

## SUPERCritical FLUID EXTRACTION IN FOOD INDUSTRY

### S u m m a r y

In this paper, the process of supercritical fluid extraction was characterized: its theoretical basis and the method of performing it. Those flaws and advantages of the process were presented which confirmed the possibility of applying this process in the food industry. Furthermore, the range of supercritical fluid extraction applications was reviewed. Also, there were discussed three processes used on an industrial scale, and involving the method of separation described in this paper: coffee decaffeination, hop extraction, and dealcoholization. Additionally, owing to the fact that the scientific research has focused on the method of supercritical fluid extraction, its applications were presented. Among those applications, the isolation of highly valuable components occurring in small concentrations in food products was regarded as particularly interesting and attractive.

**Key words:** critical point, CO<sub>2</sub>, decaffeination, isolation, fractioning ☒



BARTOSZ BRZOZOWSKI, WŁODZIMIERZ BEDNARSKI,  
MAREK ADAMCZAK

## **BIOTECHNOLOGICZNA MODYFIKACJA BIOLOGICZNYCH WŁAŚCIWOŚCI BIAŁEK ZBÓŻ**

### **Streszczenie**

Przedstawiono właściwości biologiczne peptydów otrzymywanych z białek zapasowych ziarniaków zbóż. Wskazano na sekwencje aminokwasów w peptydach uwalnianych z białek m.in. zbóż wykazujących aktywność biologiczną. Przedstawiono udział peptydów w reakcjach alergicznych prowadzących do takich chorób, jak celiakia czy astma. Scharakteryzowano funkcje epitopów peptydów izolowanych z białek zbóż odpowiedzialnych za reakcje alergiczne. Omówiono funkcje transglutaminazy w przemianach białek w blaszkach właściwych jelita. Wskazano na potencjalne zastosowanie enzymów (transglutaminazy, peptydaz prolinowych) i mikroorganizmów (bakterii fermentacji mlekowej zakwasu chlebowego) w redukcji alergenicności peptydów pochodzenia roślinnego. Scharakteryzowano biotechnologiczne metody zmniejszania alergenicności białek ziarniaków zbóż.

**Słowa kluczowe:** białka, zboża, alergeny, transglutaminaza, peptydazy prolinowe

### **Wprowadzenie**

W analizie przyczyn alergenicności niektórych białek zbóż zwraca się m.in. uwagę na produkty ich hydrolizy w surowcach oraz technologii ich przetwarzania. Niezbędna jest wiedza o aktywności proteaz na każdym z wymienionych etapów oraz o właściwościach biologicznych produktów enzymatycznej degradacji białek. W opracowaniu przedstawiono obecny stan wiedzy o biologicznie aktywnych peptydach pochodzenia roślinnego oraz sposobach ich enzymatycznej modyfikacji w celu eliminacji cech niepożądanych, w tym także immunoreaktywności.

Białka są podstawową i integralną częścią żywności. Są źródłem energii i aminokwasów niezbędnych do wzrostu żywego organizmu. Ponadto dzięki swoim właściwościom fizykochemicznym mogą pełnić różne funkcje w żywności.

---

*Dr inż. B. Brzozowski, prof. dr hab. W. Bednarski, dr inż. M. Adamczak, Katedra Biotechnologii Żywności, Wydz. Nauki o Żywności, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski, ul. J. Heweliusza 1, 10-719, Olsztyn,  
e-mail: Bartosz.Brzozowski@uwm.edu.pl*

Dodatkowo wiele białek ma specyficzne właściwości biologiczne. Właściwości te nieobecne w spożywanej żywności mogą się uaktywniać w czasie procesów trawiennych zachodzących w przewodzie pokarmowym. Peptydy uwalniane z białek przez enzymy proteolityczne mogą wykazywać właściwości regulatorowe podobne do tych, jakie wykazują hormony [20] lub właściwości alergizujące [34].

Z charakterystyki enzymów proteolitycznych zbóż wynika, że proteazy są obecne w ziarnach w stanie spoczynku, uaktywniając się podczas kiełkowania. Ponadto, część enzymów jest syntetyzowana w czasie kiełkowania [26]. Proteazy hydrolizują białka zapasowe uwalniając peptydy i aminokwasy wykorzystywane przez zarodek do wzrostu. Modyfikują one skład i właściwości uwalnianych peptydów mogących stać się potencjalnym źródłem bioaktywnych związków regulatorowych. Ponadto udowodniono, że białka zbóż obecne w żywności i trawione w przewodzie pokarmowym mogą być źródłem alergicznych peptydów [24].

### Bioaktywne peptydy

Najpowszechniejszym źródłem bioaktywnych peptydów są białka mleka [20], ale występują one także w białkach jaj, ryb czy białkach ziaren takich roślin, jak: soja, kukurydza, ryż, pszenica [3]. Poznano fizjologiczną aktywność peptydów otrzymywanych podczas hydrolizy *in vivo* i *in vitro* białek zapasowych zbóż [13].

W sekwencjach białek mogą występować fragmenty o aktywności przeciwnadciśnieniowej, opioidowej, antagonistycznej w stosunku do opioidowej, immunomodulacyjnej, antybakteryjnej i antywirusowej, przeciwtleniającej, wiążącej i transportującej metale, antyamnezycznej, powodującej skurcze mięśni gładkich i przeciwwkrzepliwej [20, 23]. Aktywność biologiczna uwalnianych peptydów wynika z ich specyficznej sekwencji aminokwasów.

Miyoshi i wsp. [25] wyizolowali z kukurydzy poddanej działaniu termolizyny inhibitor enzymu konwertującego angiotensynę (inhibitor ACE), wpływający na regulację ciśnienia krwi w organizmach ludzi. Inhibitor ACE był izolowany także z białek zapasowych ryżu (glutenin i prolamin) i soi (11S glicynina, 7S konglycynina) [27]. Z białek ryżu, glutenin i prolamin, wyizolowano peptydy o działaniu przeciwnadciśnieniowym [20].

Źródłem bioaktywnych peptydów mogą też być białka pszenicy. Fukudome i wsp. [12] wyizolowali z białek glutenu, w wyniku trawienia enzymatycznego, peptydy o aktywności opioidowej zwane egzorfinami. Wśród tych peptydów egzorfina GE-B5, o sekwencji aminokwasowej YGGWL, wykazywała największą aktywność *in vitro* i antagonizm do  $\mu$  i  $\delta$  receptorów opioidowych. W porównaniu z L-enkefaliną o sekwencji YGGFL, różniącej się jedną resztą aminokwasową, egzorfina GE-B5 wykazywała aktywność opioidową niższą 1,2- i 4,2-krotnie w stosunku do receptorów  $\mu$  i  $\delta$  oraz niższe powinowactwo odpowiednio 1,2- i 1,7-krotnie [12].

Peptydy o aktywności morfinowej uwalniane z glutenu przez hydrolizę *in vivo* przez żołądkową proteinazę i pepsynę wykazywały odporność na działanie trypsyny i chymotrypsyny [36]. Sugeruje się, że peptydy te nie są dalej trawione i w niezmienionej postaci przenikają barierę jelita. Niektóre peptydy mogą być absorbowane bez degradacji z przewodu pokarmowego do krwi. Zioudrou i wsp. [36] udowodnili, że peptydy te mają zdolność do przenikania bariery krew-mózg i łączenia się z receptorami opioidowymi w mózgu, jak i innych organach wewnętrznych.

### **Alergeny zbóż**

Mills i wsp. [24] wskazują na następujące grupy roślinnych alergenów, które mogą uczulać poprzez układ pokarmowy: prolaminy, 2S albuminy, niespecyficzne białka enzymatyczne transferujące lipidy (nsLTP), kupiny, proteazy cysteinowe i serynowe oraz inhibitory  $\alpha$ -amylazy i trypsyny.

Białka alergenne wykryto w pszenicy, jęczmieniu, życie, owsie, a także w kukurydzy, sorgo i gryce [24]. Jednym z najczęściej znanych objawów alergienności białek zbożowych jest zespół chorób określonych nazwą celiakii. Nietolerancja określonych frakcji białek zapasowych zbóż może prowadzić także do astmy, zmian dermatologicznych i wywołanego ćwiczeniami fizycznymi szoku anafilaktycznego [34].

Badania przyczyn celiakii wykazały, że jest ona wywoływana między innymi spożyciem produktów zawierających białka pszenicy, a przede wszystkim glutenu [28]. To jedna z najczęstszych i podstawowych chorób genetycznych. Jej dokładny mechanizm nie jest znany, jednak wiadomo, że to właśnie gluten inicjuje łańcuch nie w pełni poznanych reakcji, wywołując aktywację układu immunologicznego u predysponowanych genetycznie osób [14].

Gluten zawiera dwie grupy białek: monomerowe gliadyny i polimerowe gluteniny, ale tylko te pierwsze uważa się za odpowiedzialne za reakcje uczuleniowe [21]. Białka glutenu mają nietypowy skład chemiczny. Zawierają one duże ilości prolaminy (P) i glutaminy (Q), odpowiednio ok. 15 i 35% reszt aminokwasowych [7]. Budowa chemiczna proliny i glutaminy powoduje, że wiązania peptydowe utworzone przy udziale tych aminokwasów w łańcuchu polipeptydowym są odporne na działania enzymów proteolitycznych przewodu pokarmowego człowieka.

Procesy trawienia białek glutenu uwalniają wiele peptydów i polipeptydów. Shan i wsp. [30] prowadzili enzymatyczną hydrolizę *in vitro* rekombinowanej  $\alpha$ 2-gliadyny (będącej odpowiednikiem  $\alpha$ -gliadyny) uzyskując m.in. 33-merowy peptyd bogaty w prolinę i glutaminę. Peptyd ten był odporny na działanie proteaz. Analiza sekwencji aminokwasów tego peptydu wykazała obecność epitopów: PFPQPQLPY, PQQPQLPYPQ, PYPQPQLPY oraz WQIPEQSR odpowiedzialnych za reakcje z

komórkami CD4<sup>+</sup> T i białkami HLA-DQ2 lub HLA-DQ8, będącymi mediatorami w reakcjach immunologicznych u pacjentów chorych na celiakię. Wymienione epitopy w swej sekwencji zawierają co najmniej jedną resztę glutaminy, będącej substratem w reakcji z transglutaminazą. Proces deaminacji tych reszt jest istotny w stymulowaniu komórek T. Odłączenie grupy amonowej od glutaminy powoduje wytworzenie ujemnego ładunku odpowiedzialnego za łączenie się z białkami HLA-DQ2 [1]. Stąd sugestia, że trawienie enzymatyczne białek glutenu w przewodzie pokarmowym, a następnie modyfikacja uwolnionych peptydów przez transglutaminazę odgrywa krytyczną rolę w patogenezie celiakii [22].

Mcl Mowat [22] zaproponował hipotetyczny schemat interakcji między glutenem a systemem immunologicznym u chorych na celiakię. Z glutenu poddanego trawieniu enzymami proteolitycznymi uwalniane są peptydy o określonej sekwencji, bogate w prolinę i glutaminę. Peptydy te przenikają barierę jelita i są poddane działaniu transglutaminazy w blaszkach właściwych, w wyniku czego od reszt glutaminy po deaminacji zostają odłączone grupy amonowe. Tak zmodyfikowany peptyd rozpoznawany jest przez komórki T i białka HLA-DQ2 lub HLA-DQ8, wywołując reakcje immunologiczne, powodujące aktywację  $\gamma$ -interferonu i mechanizmów odpowiedzialnych za zanik kosmków jelitowych i hyperplazję uchyłków jelita.

U osób chorych na celiakię obecność frakcji gliadynowych w organizmie wywołuje reakcje immunologiczne objawiające się m.in. wysokim poziomem przeciwciał IgA i IgG w surowicy krwi [28]. Alergenność prolamin zbóż zależy od zawartości i sekwencji aminokwasów. Tanabe i wsp. [32] badali właściwości struktury pierwszorzędowej glutenu i wykazali, że najkrótszym peptydem zdolnym do reakcji z przeciwciałami IgE jest peptyd o sekwencji QQQPP. Ensari i wsp. [10] podają, że tetrapeptydy o sekwencji PSQQ, PQQP lub QQQP są charakterystyczne dla peptydów alergicznych w celiakii. Badania *in vivo* 12 i 13-merowych oligopeptydów uzyskanych z N-końca łańcucha  $\alpha$ -gliadyny (reszty aminokwasowe 3-96) wykazały aktywność oligopeptydów tylko w przypadku wystąpienia sekwencji PQQP.

Badania proteomiczne białek zbóż wykazały obecność w  $\omega$ -gliadynie pszenicy,  $\omega$ -sekalinie żyta i C hordeinie jęczmienia oktapeptydu PQQPFPQQ odpowiedzialnego za reakcje alergiczne [10]. Wyznaczona sekwencja aminokwasów zawiera motyw PQQP charakterystyczny dla  $\alpha$ -gliadyny. Ponadto Cornel i Mothes [5] sugerują, że obecny we frakcjach  $\omega$  motyw QQPY wywołuje celiakię. Arentz-Hansen i wsp. [1] wykazali immunoreaktywność epitopu peptydów w 57-75 regionie  $\alpha$ -gliadyny. Kolejne badania tych autorów [2] dowiodły, że T-komórki CD4<sup>+</sup> rozpoznają trzy peptydy bogate w prolinę i glutaminę o sekwencjach: PFPQPQLPY, PQPQLPYPQ i PYPQPQLPY otrzymane z regionu  $\alpha$ -gliadyny. Region ten reaguje z przeciwciałami u pacjentów chorych na celiakię.

Inną postacią alergii wywołanej kontaktem z białkami zbóż jest astma. Gomez i wsp. [16] wyizolowali i oczyścili różne antygeny związane z uczuleniami na mąkę pszenną i jęczmienną, reagujące z przeciwciałami IgE. Alergeny o masach cząsteczkowych od  $12 \cdot 10^3$  do  $15 \cdot 10^3$  Da należały do grupy inhibitorów  $\alpha$ -amylazy i trypsyny. Z kolei Armentia i wsp. [4] scharakteryzowali dwa dominujące alergeny w jęczmieniu i pszenicy. Były to glikozydowe pochodne tetramerowych inhibitorów  $\alpha$ -amylazy: CM16 z pszenicy i CMb z jęczmienia oraz monomerowy inhibitor BMAI-1 z jęczmienia. Inhibitory  $\alpha$ -amylazy uwalniane podczas procesów trawienia w przewodzie pokarmowym także wykazują działanie alergizujące. James i wsp. [17] wydzielili z ziaren pszenicy frakcję białkową o masie cząsteczkowej  $15 \cdot 10^3$  Da wywołującą reakcje uczuleniowe. Tsuji i wsp. [34] także wyizolowali z białek pszenicy inhibitory  $\alpha$ -amylazy CM16 i CM17 o masach cząsteczkowych  $17 \cdot 10^3$  Da będące glikoproteinami. Sugerują oni, że kluczową rolę w reakcjach alergicznych może odgrywać reszta glikozydowa. Kimoto i wsp. [19] badali serum 65 pacjentów wrażliwych na białka mąki pszennej i wykryli 15 antygenów rozpoznawanych przez przeciwciała IgE. Alergeny o masach cząsteczkowych  $(27, 31 \text{ i } 47) \cdot 10^3$  Da były głównymi alergenami w pszenicy.

Źródłem alergenów mogą być także inhibitory  $\alpha$ -amylazy i trypsyny oraz białka jęczmienia. Alergeny zawarte w jęczmieniu mogą przechodzić do produktów wytworzonych przy jego udziale, np. do piwa. Figueredo i wsp. [11] wyizolowali z piwa polipeptyd o masie cząsteczkowej  $38 \cdot 10^3$  Da rozpoznawany przez przeciwciała IgE. Podobnie Curioni i wsp. [6] wyizolowali polipeptyd o masie cząsteczkowej  $16 \cdot 10^3$  Da będący alergenem w jęczmieniu i obecny w piwie.

### **Możliwości redukcji alergenności białek zbóż**

Zmniejszeniu immunoreaktywności białek zbóż sprzyja stosowanie enzymów lub mikroorganizmów zdolnych do degradacji alergennych peptydów. Wiadomo, że za alergenność białek zbóż odpowiadają uwalniane z nich peptydy przeważnie bogate w prolinę i glutaminę. Ich eliminacja powinna polegać na dalszej degradacji lub wytworzeniu dodatkowych izo-wiązań poprzez łączenie reszt aminokwasowych blokujących glutaminę. W rozwiązaniu tego problemu pomocne są dwie grupy enzymów: transglutaminazy oraz peptydazy prolinowe.

Transglutaminaza (EC.2.3.2.13) to ogólna nazwa enzymu R-glutaminyl-peptyd- $\gamma$ -glutamyltransferazy. Enzym ten bierze udział w reakcjach katalitycznych m.in. przenosi reszty aminokwasowe ( $\epsilon$ -aminoacylowe) w specyficzne miejsce  $\gamma$ -amidowe, tworząc wiązanie peptydowe z glutaminą, katalizuje reakcje: deaminacji w miejscu  $\gamma$ -amidowym, nitrozylację i denitrozylację grup  $-SH$  cysteiny, przyłączania aminy lub

aminokwasu do łańcucha peptydowego i tworzenia lub hydrolizy wiązania izopeptydowego [18].

Transglutaminaza występuje w tkankach ssaków, jak również w komórkach mikroorganizmów. Była ona izolowana z komórek *Streptovercillium* sp., *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* czy *Physarum polycephalum* [31]. Enzym ten występuje także w tkankach takich roślin, jak: soja, topinambur, burak pastewny, jabłoń domowa [29, 31].

Transglutaminazy są obecnie stosowane w technologii piekarnictwa w celu wytworzenia połączeń między łańcuchami polipeptydowymi prolamin, a przez to polepszają właściwości reologiczne ciasta, zapewniają odpowiednie pory i elastyczność chleba po wypieku [33]. Transglutaminazy wykorzystywane są także we wzbogacaniu prolamin w lizynę lub inne aminokwasy egzogenne, czy fruktooligosacharydy [18].

Perspektywiczne wydaje się zastosowanie transglutaminaz do odtwarzania wiązań między łańcuchami polipeptydowymi prolamin. Wytworzenie izo-wiązań przy udziale glutaminy prawdopodobnie blokuje możliwość rozpoznawania takiego fragmentu peptydu przez T-komórki, a tym samym zostaje zahamowany mechanizm prowadzący do celiakii. Miejsce powstawania peptydów o sekwencjach rozpoznawanych, jako alergenów w wyniku działania transglutaminazy nie jest do końca wyjaśnione. Skovbjerg i wsp. [31] sugerują, że przyczyną alergenicności peptydów mogą być transglutaminazy syntetyzowane przez mikroorganizmy bytujące stale lub okresowo w przewodzie pokarmowym człowieka. Ponadto źródłem transglutaminaz mogą być mikroorganizmy i pokarm roślinny spożywany przez człowieka.

Drugą grupą enzymów mających znaczenie w eliminacji czy obniżaniu alergenicności białek zbóż są peptydazy prolinowe. Prowadzą one hydrolizę wiązań peptydowych utworzonych przy udziale proliny. Są produkowane przez niektóre szczepy bakterii fermentacji mlekowej zakwasu chlebowego: *Lactobacillus brevis*, *Lb. brevis* ssp. *linderi*, *Lb. plantarum*, *Lb. delbruecki* ssp. *delbruecki*, *Lb. sanfranciscensis*, *Lb. alimentarius*, czy *Lb. hilgardii* [8, 9, 15], a także przez *Flavobacterium meningosepticum* [30]. Hydroliza białek glutenowych, bogatych w prolinę, w czasie fermentacji zakwasu piekarniczego zależy od aparatu enzymatycznego mikroorganizmów. Degradacja wiązań peptydowych utworzonych przez prolinę pozytywnie wpływa na tolerancję glutenu przez organizm człowieka [8, 9]. Di Cagno i wsp. [9] zastosowali bakterie fermentacji mlekowej do hydrolizy alergennych peptydów wywołujących celiakię. Badania fragmentów syntetyzowanej chemicznie A-gliadyny wykazały, że krótkie sekwencje aminokwasów (PSQQ i QQQP) są alergenowe dla pacjentów chorych na celiakię. Fragmenty 31-43 A-gliadyny poddano 4-godzinnej hydrolizie przy zastosowaniu preparatów enzymatycznych uzyskanych z pałeczek mlekowych. W doświadczeniu wykorzystano dwie frakcje: enzymy związane ze ścianą



komórkową i z cytoplazmą. Wszystkie frakcje enzymów uzyskanych z następujących szczepów bakterii fermentacji mlekowej: *Lb. alimentarius* 15M, *Lb. brevis* 14G, *Lb. sanfranciscensis* 7A i *Lb. hilgardii* 51B hydrolizowały badany peptyd [9]. Wyższą aktywnością charakteryzowały się frakcje uzyskane z cytoplazmy. Autoliza komórek bakterii zachodząca podczas przygotowywania i fermentacji zakwasu piekarniczego wpływa korzystnie na uwalnianie enzymów wewnątrzkomórkowych. Di Cagno i wsp. [9] badali wpływ hydrolizy (trawionej wcześniej pepsyną i trypsyną) frakcji gliadyny pszenicznej przez bakterie fermentacji mlekowej na aglutynację komórek K 562 (S). Peptydazy biosyntetyzowane przez *Lb. alimentarius* 15M i *Lb. brevis* 14G całkowicie zapobiegały aglutynacji komórek K562 (S) przez polipeptydy przy ich stężeniu 0,875 g/l. Wyższe stężenia prolamin powodowały niższą procentowo inhibicję procesu aglutynacji.

Przeprowadzone przez Shana i wsp. [30] doświadczenia wykazały, że 33-merowy polipeptyd bogaty w prolinę i glutaminę jest odporny na działanie pepsyny, trypsyny, chymotrypsyny i estalazy. Analiza struktury drugorzędowej tego peptydu wykazała helikalną budowę typu II stabilizowaną przez poliprolinę. Tego typu konformacja drugorzędowa jest typowa dla peptydów wiążących białka MHC klasy II. Liczebność i lokalizacja reszt proliny w peptydzie jest czynnikiem warunkującym odporność na działanie enzymów przewodu pokarmowego. Znając strukturę drugorzędową peptydu, Shan i wsp. [30] poddali go działaniu propyl-endopeptydazy biosyntetyzowanej przez *Flavobacterium meningosepticum*. Wstępne badania *in vitro* i *in vivo* wykazały obniżenie alergenicności badanego peptydu. Ponadto, zmodyfikowany peptyd wykazywał mniejszą stymulację komórek T. Di Cagno i wsp. [8] wykorzystali ten sam 33-merowy polipeptyd poddając go degradacji przez enzymy szczepów: *Lb. alimentarius* 15M, *Lb. brevis* 14G, *Lb. sanfranciscensis* 7A i *Lb. hilgardii* 51B. Szczepy te wykazywały aktywność enzymatyczną charakterystyczną dla: iminopeptydaz, dipeptydyl-peptydaz, prolyl-endopeptydaz, prolidaz, prolinaz i aminopeptydaz. Wyniki 12- i 24-godzinnej hydrolizy wykazały rozkład badanego peptydu, odpowiednio w 70 i 100%.

Alergenność prolamin pszenicy można także obniżyć stosując bromelainę, która hydrolizuje wiązania w pobliżu proliny w epitopie IgE: QQQPP lub stosując kolagenazę [24]. Uzyskana w ten sposób mąka nie traci właściwości funkcjonalnych i wykorzystywana jest do produkcji bułek drożdżowych. Innym przykładem zastosowania procesów enzymatycznych w obniżaniu alergenicności jest produkcja hipoalergicznego ryżu metodą dwu-etapową z wykorzystaniem aktinazy [35].

## Podsumowanie

Przedstawiono złożoność procesu biodegradacji białek zapasowych ziarniaków zbóż. Żywność zawiera białka roślinne, które w czasie trawienia w przewodzie

pokarmowym ulegają modyfikacjom. Produkty przemian białek – peptydy i polipeptydy nie pozostają obojętne dla zdrowia człowieka. Immunologiczne reakcje z białkami żywności w tym także białkami zbóż, a niekiedy białkami enzymów są coraz powszechniejsze. Poznanie, a następnie wykorzystanie aparatu enzymatycznego bakterii fermentacji mlekowej zakwasów piekarniczych do zmniejszenia alergenicności białek i produktów ich przemian wskazuje kierunek dalszych badań w tym zakresie.

### Literatura

- [1] Arentz-Hansen H., Körner R., Molberg Ø.: The intestinal T cell response to  $\alpha$  gliadin in adult celiac disease is focused on single deaminated glutamine targeted by tissue transglutaminase. *J. Exp. Med.*, 2000, **191**, 603-612.
- [2] Arentz-Hansen H., McAdam S.N., Molberg Ø.: Celiac lesion T cells recognize epitopes that cluster in regions of gliadin rich in proline residues. *Gastroenterology*, 2002, **123**, 803-809.
- [3] Ariyoshi Y.: Angiotensin-converting enzyme inhibitors derived from food proteins. *Trends Food Sci. Tech.*, 1993, **4**, 139-144.
- [4] Armentia A., Sánchez-Monge R., Gomez L., Barber D., Sálcedo G.: *In vivo* allergenic activities of eleven purified members of major allergen family from wheat and barley flour. *Clin. Exp. Allergy*, 1993, **23**, 410-415.
- [5] Cornell H.J., Mothes T.: Further studies of the *in vitro* activity of synthetic gliadin peptides in coeliac disease. *Biochim. Biophys. Acta*, 1995, **1270**, 168-172.
- [6] Curioni A., Santucci B., Cristaudo A., Canistraci C., Pietravalle M., Simonato B., Giannattasio M.: Urticaria from beer: An immediate hypersensitivity reaction due to a 10-kDa protein derived from barley. *Clin. Exp. Allergy*, 1999, **29**, 407-413.
- [7] Dewar D., Pereira S.P., Ciclitira P.J.: The pathogenesis of coeliac disease. *Int. J. Biochem. Cell B.*, 2004, **36**, 17-24.
- [8] Di Cagno R., De Angelis M., Auricchio S., Greco L., Clarke C., De Vincenzi M., Giovannini C., D'Archivio M., Landolfo F., Parrilli G., Minervini F., Arendt E., Gobbetti M.: Sourdough bread made from wheat and non-toxic flours and started with selected *Lactobacilli* is tolerated in celiac patients. *Appl. Environ. Microb.*, 2004, **70** (2), 1088-1096.
- [9] Di Cagno R., De Angelis M., Lavermicocca P., De Vincenzi M., Giovannini C., Faccia M., Gobbetti M.: Proteolysis by sourdough lactic acid bacteria: Effects on Wheat Flour protein fractions and gliadin peptides involved in human cereal intolerance. *Appl. Environ. Microb.*, 2002, **68** (2), 623-633.
- [10] Ensari A., Marsh M.N., Moriarty K.J., Moore C.M., Fido R.J., Tatham A.S.: Studies *in vivo* of  $\omega$  gliadins in gluten sensitivity (coeliac sprue disease). *Clin. Sci.*, 1998, **95**, 419-424.
- [11] Figueredo E., Quirce S., del Amo A., Ceresta J., Arrieta I., Lahoz C., Sastre J.: Beer-induced anaphylaxis: Identification of allergens. *Allergy*, 1999, **54**, 630-634.
- [12] Fukudome S., Jinsmaa Y., Matsukawa T., Sasaki R., Yoshikawa M.: Release of opioid peptides, gluten exorphins by the action of pancreatic elastase. *FEBS Lett.*, 1997, **412** (3), 475-479.
- [13] Fukushima D.: Recent progress of soybean protein foods: chemistry, technology and nutrition. *Food Rev. Int.*, 1991, **7** (3), 323-351.



- [14] Gentile V., Violante V., D'Amico B., Illiano M., Luongo A.: Tissue transglutaminase and coeliac disease pathogenesis: potential molecular mechanisms for other human diseases. *Neurochem. Int.*, 2002, **40**, 79-83.
- [15] Gobbetti M.: The sourdough microflora: Interactions of lactic acid bacteria and yeast. *Trends Food Sci. Tech.*, 1998, **9**, 267-274.
- [16] Gomez L., Martin E., Hernandez D., Sánchez-Monge R., Barber D., del Pozo V., de Andres B., Armentia A., Lahoz C., Sálcedo G., Palomino P.: Members of the  $\alpha$ -amylase inhibitor family from wheat endosperm are major allergens associated with baker's asthma. *FEBS Lett.*, 1990, **261**, 85-88.
- [17] James J.M., Sixbey J.P., Helm R.M., Bannon G.A., Burks A.W.: Wheat  $\alpha$ -amylase inhibitor: A second route of allergic sensitization. *J. Allergy Clin. Immun.*, 1997, **99**, 239-244.
- [18] Kączkowski J.: Transglutaminase – an enzyme group of extended metabolic and application possibilities. *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, 2005, **14/55**, **1**, 3-12.
- [19] Kimoto M., Yoshikawa M., Takahashi K., Bando N., Okita M., Tsuji H.: Identification of allergen in cereals and their hypoallergenization. I. Screening of allergens in wheat and identification of an allergen, Tri a Bd 17K. *Ann Report Interdisipl. Res. Inst. Environ. Sci.*, 1998, **17**, 53-60.
- [20] Korhonen H., Pihlanto-Leppälä A., Rantamäki P., Tupasela T.: Impact of processing on bioactive proteins and peptides. *Trends Food Sci. Tech.*, 1998, **9**, 307-319.
- [21] Marsh M.N.: Gluten, major histocompatibility complex and the small intestine: a molecular and immuno-biological approach to the spectrum of gluten-sensitivity ("celiac sprue"). *Gastroenterology*, 1992, **102**, 330-354.
- [22] Mcl Mowat A.: Coeliac disease – a meeting point for genetics, immunology, and protein chemistry. *Lancet*, 2003, **361**, 1290-1292.
- [23] Meisel H., Schlimme E.: Bioactive peptides derived from milk proteins: ingredients for functional foods. *Kieler Milchw. Forsch.*, 1996, **48**, 343-357.
- [24] Mills E.N.C., Madsen C., Shewry P.R., Wichers H.J.: Food allergens of plant origin – their molecular and evolutionary relationships. *Trends Food Sci. Tech.*, 2003, **14**, 145-156.
- [25] Miyoshi S., Ishikawa H., Kaneko T., Fukui F., Tanaka H., Maruyama S.: Structures and activity of angiotensin-converting enzyme inhibitors in an alpha-zein hydrolysate. *Agr. Biol. Chem. Tokyo*, 1991, **55**, 1313-1318.
- [26] Müntz K., Belozersky M.A., Dunaevsky Y.E., Schlereth A., Tiedemann J.: Stored proteinases and the initiation of storage protein mobilization in seed during germination and seedling growth. *J. Exp. Bot.*, 2001, **52** (362), 1741-1752.
- [27] Okamoto A., Hanagata H., Matsumoto E., Kawamura Y., Koizumi Y., Yanugida F.: Angiotensin I. Converting enzyme inhibitory activity of various fermented foods. *Biosci. Biotech. Bioch.*, 1995, **59** (6), 1147-1149.
- [28] Rocher A., Soriano F., Molina E., González-Limas G., Méndez E.: Characterization of distinct  $\alpha$ - and  $\gamma$ -type gliadins and low molecular weight components from wheat endosperm as coeliac immunoreactive proteins. *Biochim. Biophys. Acta*, 1995, **1247**, 143-148.
- [29] Serafini-Fracassini D., Dei Duca S., Beninati S.: Plant transglutaminases. *Phytochemistry*, 1995, **40** (2), 355-365.
- [30] Shan L., Molberg Ø., Parrot I., Haush F., Filiz F., Gray G.M., Sollid L.M., Khosla C.: Structural Basis for Gluten Intolerance in celiac sprue. *Science*, 2002, **297** (5590), 2275-2279.
- [31] Skovbjerg H., Norén O., Anthonsen D., Moller J., Sjöström H.: Gliadin is a good substrate of several transglutaminases: Possible implication in the pathogenesis of coeliac disease. *Scand. J. Gastroenterol.*, 2002, **7**, 812-817.

- [32] Tanabe S., Arai S., Yanagihara Y., Mita H., Takahashi K., Watanabe M.: A major wheat allergen has a Gln-Gln-Gln-Pro-Pro motif identified as an IgE-binding epitope. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1996, **219**, 290-293.
- [33] Tatham A.S., Shewry P.R.: Elastomeric proteins; biological roles. Structure and mechanisms. *Trends Biochem. Sci.*, 2000, **25**, 567-571.
- [34] Tsuji H., Kimoto M., Natori Y.: Allergens in major crops. *Nutr. Res.*, 2001, **21**, 925-934.
- [35] Watanabe M., Yoshizawa T., Miyakawa J., Ikezawa Z., Abe K., Yanagisawa T., Arai S.: Quality improvement and evaluation of hypoallergenic rice grains. *J. Food Sci.*, 1990, **55**, 1105-1107.
- [36] Zioudrou C., Streaty R.A., Klee W.A.: Opioid peptides derived from food proteins (the exorphins). *J. Biol. Chem.*, 1979, **254** (4), 2446-2449.

## BIOTECHNOLOGICAL MODIFICATION OF BIOLOGICAL PROPERTIES OF PROTEINS IN CEREALS

### S u m m a r y

In the paper, there were presented biological properties of peptides obtained from storage proteins of cereal grains. Aminoacid sequences were pointed out in the peptides released from the proteins contained in, among other things, cereals showing biological activity. It was also shown what role those peptides played in allergic reactions causing such diseases as coeliac disease or asthma. There were characterized those functions of the peptide epitops isolated from cereals proteins that were responsible for allergenic reactions. The functions of transglutaminase were discussed with regard to their role in the conversion of proteins in the lamina propria of colon. Potential applications of some enzymes (transglutaminase, proline, and peptidase) and microorganisms (sourdough lactic acid bacteria) were suggested with regard to the possibility of reducing the allergenicity of plant-originating peptides. Several biotechnological methods of reducing the allergenicity of cereals proteins were described.

**Key words:** proteins, cereals, allergens, transglutaminase, proline peptidase 

DOMINIK SZWAJGIER, ZDZISŁAW TARGOŃSKI

## ARABINOKSYLANY ZE SŁODU ŹRÓDŁEM NATURALNEGO PRZECIWUTLENIACZA – KWASU FERULOWEGO I BŁONNIKA POKARMOWEGO W PIWIE

### Streszczenie

Ostatnio obserwuje się tendencję do zastępowania syntetycznych przeciwutleniaczy dodawanych do żywności produktami naturalnymi zawierającymi takie substancje. W artykule scharakteryzowano rolę, jaką kwas ferulowy, główny kwas fenolowy jęczmienia i słodu, odgrywa w kształtowaniu potencjału przeciwutleniającego piwa. Przedstawiono aktualny stan wiedzy na temat aktywności przeciwutleniającej kwasu ferulowego mierzonej w warunkach *in vitro* i *in vivo*, ponadto szczegółowo przedstawiono budowę, funkcje jak również znaczenie technologiczne arabinoksylianów i b-glukanów w czasie słodowania i produkcji piwa. Wolny kwas ferulowy dodany w niskim stężeniu do piwa jest bardzo stabilny, podczas gdy w wyższych dawkach jego zawartość gwałtownie zmniejsza się. Aktywność przeciwutleniająca kwasu ferulowego w piwie jest podobna do aktywności (+)katechiny. Jednak (+)katechina powoduje powstanie zmętnienia w piwie przy stężeniu o wiele niższym niż ma to miejsce w przypadku kwasu ferulowego. W wyższych stężeniach kwas ferulowy może więc wpływać pozytywnie na stabilność koloidalną piwa. Będąc aktywnym przeciwutleniaczem z jednym miejscem aktywnym, kwas ferulowy może blokować miejsca aktywne białek wywołujących zmętnienia i w ten sposób uniemożliwiać katechinie i jej pochodnym dostęp do białek w miejscach wiązań z polifenolami. Z tego względu, zwiększanie stężenia kwasu ferulowego w piwie w formie połączeń z cukrami może przyczynić się do zwiększenia cech prozdrowotnych piwa przy minimalnych nakładach na modyfikację procesu produkcji piwa, a zwłaszcza zacierania słodu.

**Słowa kluczowe:** piwo, kwas ferulowy, arabinoksyliany, aktywność przeciwutleniająca

### Wprowadzenie

Współczesne procesy technologiczne produkcji piwa, soków i koncentratów soków owocowych zostały opracowane w taki sposób, aby usuwać związki fenolowe, powodujące powstawanie zmętnień. Wymagane jest coraz skuteczniejsze zapewnianie podwyższonej trwałości koloidalnej i smakowej napojów i ich naturalnego aromatu

przy wydłużonym okresie przydatności do spożycia. Ten kierunek działań spotyka się z krytyką naukowców zajmujących się żywieniem. Według obecnych wyników badań nad rolą naturalnych przeciwutleniaczy w żywności wydaje się istotne, aby prowadzić badania nad modyfikacją dotychczasowych technologii produkcji napojów, w tym piwa, w celu zwiększenia właściwości prozdrowotnych. Może to być osiągnięte dzięki wzrostowi zawartości składników piwa o charakterze przeciwutleniaczy, bez utraty pożądanych cech sensorycznych i stabilności tego napoju. Szczególną uwagę należy zwrócić na takie etapy produkcji piwa, jak słodowanie jęczmienia i zacieranie słodu.

Umiarkowane spożycie piwa zmniejsza ryzyko choroby wieńcowej serca, co przypisano obecności polifenoli w piwie, wykazujących aktywność przeciwutleniającą i zdolność wiązania wolnych rodników. Stwierdzono istotne podwyższenie całkowitej aktywności przeciwutleniającej plazmy krwi już po 1 godz. po spożyciu piwa [9]. Wykryto znaczące stężenie kwasu syringowego i synapowego w plazmie krwi. Usunięcie etanolu z piwa spowodowało ograniczenie przenikania kwasów fenolowych do krwi po spożyciu napoju, zaś całkowita aktywność przeciwutleniająca plazmy krwi nie wzrastała. Podobnie, spożycie równoważnej ilości alkoholu nie wywołało wzrostu aktywności przeciwutleniającej plazmy krwi. Wyniki badania jednoznacznie wskazywały na rolę etanolu zawartego w piwie w ułatwianiu wchłaniania związków fenolowych w przewodzie pokarmowym. W badaniach dowiedziono także, że spożycie alkoholu w ilości obecnej przeciętnie w piwie (18 g w 500 ml piwa) nie wywoływało zmian markerów „nieprawidłowej” plazmy krwi, takich jak stężenie triacylogliceroli i kwasu moczowego.

Obecne procesy technologiczne ukierunkowane są na maksymalne usuwanie związków fenolowych z piwa, gdyż są one odpowiedzialne za występowanie zmętnień w piwie, poprzez tworzenie połączeń z białkami. Z tego powodu, aktywność przeciwutleniająca piwa, mierzona np. w układzie zawierającym lipoproteiny o niskiej gęstości i plazmę ludzkiego osocza w warunkach *in vivo* jest niska w porównaniu z aktywnością innych napojów, takich jak wino i sok z winogron czy zielona lub czarna herbata [35]. Z drugiej strony, w porównaniu z niektórymi napojami o wysokiej ogólnej zawartości związków fenolowych, np. białym lub czerwonym winem, zawartość związków fenolowych w piwie jest mniejsza. Mimo to, aktywność przeciwutleniająca piwa *in vitro* w porównaniu z białym winem jest wyższa, co spowodowane jest wyższą zawartością proantocyjanidyn, epikatechiny i kwasu ferulowego w piwie [10].

Celem niniejszego artykułu jest przedstawienie roli, jaką kwas ferulowy, główny kwas fenolowy jęczmienia i słodu, może odgrywać w formowaniu potencjału przeciwutleniającego piwa. W opracowaniu scharakteryzowano arabinoksylany i  $\beta$ -glukany jęczmienia z uwzględnieniem roli obu klas polisacharydów nieskrobiowych w technologii piwa. Kwas ferulowy jest związany estrowo z arabinoksylanami, więc

modyfikacje procesu słodowania i produkcji piwa mające na celu podniesienie stężenia arabinoksylianów mogą przyczynić się do wzrostu zawartości kwasu ferulowego w piwie. Kwas ferulowy, zarówno w formie wolnej, jak i związanej estrowo, będzie w ten sposób wpływał na prozdrowotne właściwości omawianego napoju.

### **Budowa arabinoksylianów i ich funkcje w ścianie komórkowej jęczmienia i słodu**

Arabinoksyliany stanowią od 4,4 do 7,8% suchej masy ziarna jęczmienia. Zaliczane są wraz z  $\beta$ -glukanami do grupy hemiceluloz, przy czym stanowią około 10–20% hemiceluloz, podczas gdy pozostałe 80–90% to  $\beta$ -glukany [13]. Cząsteczki arabinoksylianów stanowią liniowe łańcuchy zbudowane z reszt 1,4- $\beta$ -D ksylopiranozowych, do których przyłączone są reszty  $\alpha$ -L-arabinofuranozy w pozycjach O(3) lub O(2) ksylozy. Bardzo często występuje także substytucja w obu pozycjach jednocześnie [41]. Symulacja konformacji utworzonych przez łańcuch ksylopiranozowy pozbawiony reszt arabinofuranozydowych [21] ujawniła bardzo dużą liczbę możliwych przestrzennych konformacji łańcucha, wynoszącą ponad 100. Obecność reszt arabinofuranozydowych przyłączonych do reszt ksylopiranozowych w pozycjach O(3), O(2) lub w obu pozycjach jednocześnie wymusza powstanie o wiele mniejszej liczby prawdopodobnych konformacji o niskiej energii. Stopień przyłączenia reszt arabinofuranozowych, jak również ich przestrzenne rozmieszczenie w łańcuchu ksylopiranozowym, decyduje o fizycznych i biologicznych właściwościach arabinoksylianów.

Zarówno arabinoksyliany, jak i  $\beta$ -glukany pełnią w ścianie komórkowej bielma ważną rolę budulcową, tworząc mechanicznie odporny szkielet, przy czym istotniejszą rolę, ze względu na wyższą zawartość, spełnia  $\beta$ -glukan. Zawartość arabinoksylianów w poszczególnych częściach ziarna jęczmienia jest następująca: 46% w łusce, 6% w perikarpie, 24% w warstwie aleuronowej i subaleuronowej, zaś 24% w endospermie. Arabinoksyliany jęczmienia stanowią około 25% składu ściany komórkowej endospermy [1]. Ponieważ warstwa aleuronowa jest ważnym źródłem enzymów degradujących skrobię, spowolniony lub utrudniony rozkład ścian komórkowych warstwy aleuronowej może spowodować utrudnione uwalnianie wspomnianych enzymów do wnętrza komórek endospermy. Może to w rezultacie prowadzić do niewłaściwego rozkładu skrobi. Całkowita degradacja arabinoksylianów w ścianach komórkowych wymaga obecności kompleksu enzymów, m.in. endo- i egzo-(1-4)- $\beta$ -ksylanazy, esterazy kwasu ferulowego, esterazy kwasu octowego i arabinofuranozydazy. Enzymy te są syntetyzowane w czasie słodowania ziarna jęczmienia [24].

Arabinoksyliany ścian komórkowych roślin z rodziny *Graminaceae* tworzą różnorodne wiązania z ligninami. Najpowszechniejszym wiązaniem między tymi

dwoma składnikami ściany komórkowej jest wiązanie estrowe poprzez 5-O-feruloarabinofuranozę. W ścianach komórkowych ziarna ryżowego występują ponadto wiązania eterowe poprzez arabinozę w pozycji 5-O oraz w mniejszych ilościach, wiązania estrowe między ligniną i resztą ksylopiranozową oraz wiązania eterowe poprzez pozycje O-2 i O-3 reszt ksylopiranozowych. Występowanie różnorodnych wiązań łączących dwie frakcje tworzące ściany komórkowe ma ważne implikacje ze względu na możliwości degradacji ścian komórkowych i uzyskiwanie struktur aktywnych biologicznie, takich jak wolne kwasy fenolowe oraz ich połączenia estrowe z arabinoksylianami [38].

Z arabinoksylianami ściany komórkowej związany jest kwas ferulowy, będący integralną częścią budowy łańcuchów tych polisacharydów. Kwas ferulowy jest głównym kwasem fenolowym obecnym w jęczmieniu, a także w ścianach komórkowych innych roślin z rodziny *Graminaceae*, np. pszenicy, ryżu, kukurydzy, owsa i sorgo [2]. Około 75% kwasu ferulowego znajduje się łusce ziarniaka, około 15% w endospermie ziarna, zaś pozostała część zawarta jest w warstwie aleuronowej [4]. Kwas ferulowy w arabinoksylianach jęczmienia jest połączony przeciętnie z co piętnastą resztą  $\alpha$ -L-arabinofuranozydową łańcucha arabinoksylianozowego za pomocą wiązania estrowego w pozycji C5 arabinofuranozy. Całkowita zawartość kwasu ferulowego w 18 odmianach jęczmienia dwurzędowego i sześciorzędowego, oznaczona metodą HPLC, wynosiła w zależności od odmiany od 343,2 do 579,7  $\mu\text{g/g}$  ziarna [42]. Zestryfikowane reszty kwasu ferulowego mają zdolność łączenia się ze sobą i tworzenia dimerów ferulowych. Uważa się, że mostki diferulowe zapewniają naturalną barierę ochronną przed atakiem szkodników ziarna i drobnoustrojami. Tworzenie mostków diferulowych między cząsteczkami kwasu ferulowego sąsiadujących ze sobą łańcuchów polisacharydów poprzez wytworzenie wiązań estrowych może także odgrywać pewną rolę w zatrzymywaniu wzrostu komórek. Pod wpływem czynników utleniających, takich jak nadtlenek wodoru lub peroksydaza i w obecności ferulowanych arabinoksylianów wyizolowanych z mąki pszennej, w roztworach modelowych następuje tworzenie mostków diferulowych, przez co wzrasta lepkość roztworu [28]. Badania nad nierozpuszczalnymi frakcjami błonnika pokarmowego roślin z rodziny *Graminaceae* (pszenicy, jęczmienia, owsa, kukurydzy i ryżu) pozwoliły na identyfikację kilku form dehydrodimerów kwasu ferulowego. Omawiane struktury powstają w wyniku tworzenia przez kwas ferulowy par dimerów połączonych wiązaniami 8-8', 8-5', 8-O-4' i 5-5'. Kwas ferulowy połączony wiązaniami estrowymi i eterowymi może być uwalniany z opisywanych połączeń przez łagodną hydrolizę zasadową. Przeważające formy występowania kwasu ferulowego w omawianych połączeniach to aryl diferulowy z wiązaniami 8-8' i 5-5' między resztami kwasu ferulowego. Analiza błonnika pokarmowego wskazuje, że kwas ferulowy w formie połączeń eterowych stanowi w tym materiale ponad 60% ogólnej zawartości



rozważanego kwasu [25]. Z błonnika surowego kukurydzy wyizolowano i scharakteryzowano strukturę dehydrotrimeru kwasu ferulowego charakteryzującą się wiązaniami 5-5/8-O-4. Występowanie wiązania 5-5' dimerowego w strukturze zidentyfikowanego trimeru kwasu ferulowego sugeruje tworzenie mostków poprzecznych między trzema łańcuchami polisacharydowymi [5]. W słomie traw z rodziny *Graminaceae* zidentyfikowano także połączenia kwasu ferulowego z alkoholem koniferylowym poprzez wiązanie eterowe. Opisana struktura bierze udział w tworzeniu mostków z ligniną i formowanie struktury ściany komórkowej przez „zakotwiczenie” ligniny i polisacharydów strukturalnych [18]. Kwas ferulowy podnosi hydrofobowość cząsteczek arabinoksylianów i obniża ich rozpuszczalność, więc związany kwas ferulowy może być czynnikiem antyżywnościowym dla zwierząt hodowlanych, ograniczającym spożycie pasz zawierających zboża. Zaobserwowano także związek między twardością ziarniaków pszenicy i zawartością kwasu ferulowego [14].

### **Znaczenie arabinoksylianów i $\beta$ -glukanów w technologii słodowania i produkcji piwa**

Pomimo, że całkowita zawartość arabinoksylianów w ziarnie jęczmiennym jest niewielka, mają one duże znaczenie technologiczne w browarnictwie, zwłaszcza gdy stosuje się także surowce niesłodowane. nierozpuszczalna w wodzie frakcja arabinoksylianów jęczmienia wynosi ok. 86% [37]. Podobnie arabinoksyliany zawarte w słodzie jęczmiennym rozpuszczają się w wodzie jedynie w niewielkim stopniu. Rozpuszczalne w wodzie frakcje arabinoksylianów pochodzące z jęczmienia i słodu charakteryzują się wysokim stopniem substytucji reszt ksylopiranozowych przez arabinozę w pozycjach O-(2) i O-(3) ksylozy [15,16]. Ponadto, arabinoksyliany rozpuszczalne w wodzie mają wysokie masy cząsteczkowe, zaś stosunek zawartości reszt arabinofuranozowych do ksylopiranozowych jest wysoki. Około 50% reszt ksylozowych nie jest podstawionych resztami arabinozy, około 31% jest podstawionych przez dwie reszty arabinofuranozydowe, a około 3,5% jest podstawionych w pozycji O-3 i 8,5% w pozycji O-2. Podstawienie reszt ksylozowych w dwóch pozycjach jednocześnie jest przyczyną obniżonej podatności arabinoksylianów na degradację enzymatyczną w czasie zacierania słodu. Zauważono negatywny wpływ arabinoksylianów o wyższych masach cząsteczkowych dochodzących do  $1 \cdot 10^6$  Da na przebieg filtracji brzezki, przy czym stosowanie wysokiej temperatury w czasie zacierania słodu, a następnie szybkie jej obniżanie przyspiesza procesy agregacji długich łańcuchów arabinoksylianowych i tworzenie kompleksów zwiększających lepkość [8].

W odróżnieniu od arabinoksylianów,  $\beta$ -glukany zawarte w jęczmieniu są w dużej części rozpuszczalne w gorącej wodzie. Wysalanie arabinoksylianów przy użyciu

roztworu siarczanu amonu powoduje tworzenie agregatów złożonych zarówno z arabinoksylianów, jak i  $\beta$ -glukanów. Przyczyną tego zjawiska jest tworzenie połączeń łańcuchów  $\beta$ -glukanowych z arabinoksylianami. Za tworzenie połączeń tych dwóch polisacharydów odpowiedzialne są długie fragmenty obu polisacharydów o charakterystycznej budowie. W przypadku arabinoksylianów są to łańcuchy  $\beta$ -(1-4)-ksylopiranozowe, w których reszty ksylozowe nie są podstawione przez reszty arabinofuranozowe. W przypadku  $\beta$ -glukanów są to długie fragmenty liniowe glukozy połączone wiązaniami  $\beta$ -(1-4), przypominające swoją budową łańcuchy celulozowe. Obie charakterystyczne cechy struktury polimerów wpływają na występowanie ugrupowań łańcuchów w wyniku tworzenia niekowalentnych interakcji. Oddziaływania pomiędzy fragmentami łańcuchów obu polisacharydów mogą wystąpić, o ile niepodstawione liniowe łańcuchy arabinoksylianów i  $\beta$ -glukanów mają wystarczającą długość do wytworzenia odpowiedniej liczby wiązań wodorowych [17]. W ścianach komórkowych roślin połączenia obu polisacharydów mogą wpływać na zmniejszenie podatności na enzymatyczną degradację oraz słabszą rozpuszczalność w wodzie. W roztworze, np. w brzeczce piwnej, w obecności soli mineralnych oddziaływania typu polimer-polimer są znacznie ułatwione. Ponadto działanie enzymów, np. lichenazy lub 1,4-endoksylianazy przyczynia się do znacznego zwiększenia reaktywności łańcuchów  $\beta$ -glukanów i arabinoksylianów w wyniku odsłaniania prostych, niepodstawionych fragmentów podobnych w swej budowie do celulozy (w przypadku  $\beta$ -glukanów) i prostych fragmentów łańcuchów ksylianopiranozowych. Opisane interakcje mogą przyczyniać się do potęgowania niekorzystnych zjawisk zachodzących w roztworze, w którym obecne są  $\beta$ -glukany w podwyższonym stężeniu. Arabinoksyliany mogą być w związku z tym wskazywane jako polisacharydy zwiększające lepkość brzeczki i wzmagające problemy z jej filtracją, obniżające uzysk ekstraktu, powodujące tworzenie zmętnień piwa i wytrącanie się osadu [32]. Pentozanom przypisuje się podwyższenie strat brzeczki w wyniku wiązania wody przez młóto browarnicze w czasie filtracji brzeczki, ponieważ mogą one wiązać wodę w ilości kilkakrotnie przekraczającej ich własną masę [31]. Pod wpływem nadtlenu wodoru oraz peroksydazy arabinoksyliany podwyższają lepkość roztworu, przy czym zawartość reszt kwasu ferulowego w formie zestryfikowanych monomerów nie ma wpływu na przebieg procesu, lecz na wzrost lepkości wpływają dimery tego kwasu. Główne czynniki wpływające na zdolność arabinoksylianów do tworzenia ferulowych mostków poprzecznych i zwiększania lepkości, to masa cząsteczkowa arabinoksylianów, stosunek zawartości arabinozy do ksylozy w cząsteczce oraz stopień czystości polimeru [27].

W czasie słodowania ziarna jęczmienia, polisacharydy nieskrobiowe ulegają częściowej degradacji, której stopień zależy od rodzaju polisacharydu oraz jego



rozmieszczenia w ziarniaku. Największe zmiany zachodzą w endospermie i w warstwie aleuronowej ziarna. O ile  $\beta$ -glukany w czasie słodowania są hydrolizowane w znacznym stopniu, to arabinoksyłany są o wiele bardziej odporne na działanie enzymów w czasie tego procesu. Wykorzystanie jęczmienia o podwyższonej zawartości  $\beta$ -glukanów wpływa ujemnie na stopień modyfikacji endospermy, zwłaszcza w pierwszych etapach słodowania [13]. Co więcej, zawartość  $\beta$ -glukanów w gotowym słodzie jest ujemnie skorelowana z ekstraktywnością słod, zaś wyższy stopień enzymatycznej modyfikacji endospermy powoduje uzyskanie wyższego ekstraktu brzezki. Zawartość rozpuszczalnych frakcji arabinoksyłanowych i ich modyfikacja jest dodatkowo skorelowana z ekstraktywnością słod. Zawartość arabinozy i ksylozy wyizolowanej z frakcji polisacharydów nieskrobiowych (PN) w stosunku do glukozy wzrasta po słodowaniu, co świadczy o nierozpuszczalności arabinoksyłanów w wodzie; z drugiej strony, spadek zawartości glukozy we frakcji PN po słodowaniu dowodzi, że większa część  $\beta$ -glukanów występuje w jęczmieniu i słodzie w formie rozpuszczalnej w wodzie [12]. Wyniki frakcjonowanego wytrącania polisacharydów nieskrobiowych za pomocą etanolu wskazują, że arabinoksyłany ze słod różnią się od arabinoksyłanów jęczmienia stosunkiem arabinozy do ksylozy w cząsteczce, gdyż w arabinoksyłanach słod stosunek ten jest niższy w porównaniu z arabinoksyłanami jęczmienia. Analizy struktury arabinoksyłanów z jęczmienia za pomocą metylacji wykazały, że około 43% reszt ksylopiranozowych jest podstawiona w pozycji C2 i C3, 22% w pozycji C2 i 34% w pozycji C3 reszty ksylopiranozowej. W przypadku słod, stopień podstawienia wynosi odpowiednio 39, 28 i 33% [33]. Analiza połączeń reszt ksylopiranozowych z resztami arabinofuranozowymi wskazuje, że stopień substytucji nie jest jedynym czynnikiem wpływającym na rozpuszczalność arabinoksyłanów. Wpływ na przechodzenie tych makromolekuł do roztworu w czasie produkcji brzezki może mieć także sposób rozmieszczenia reszt arabinofuranozydowych wzdłuż głównego łańcucha ksylopiranozowego. W przypadku, gdy dłuższe odcinki łańcuchów ksylopiranozowych pozbawione są reszt arabinofuranozydowych, bardziej prawdopodobne są interakcje regularnych liniowych cząsteczek arabinoksyłanu między sobą lub też z łańcuchem „celulozowym”, czyli niepodstawionym  $\beta$ -glukanem. Ponadto, wysoki stopień substytucji łańcuchów arabinoksyłanowych może wpływać na łączenie się cząsteczek arabinoksyłanów z białkami [12]. O częściowej degradacji arabinoksyłanów w czasie słodowania ziarna jęczmiennego świadczy obecność wolnej ksylozy i arabinozy w gotowym słodzie, zaś nieobecne są rozpuszczalne w wodzie frakcje arabinoksyłanów o większych masach cząsteczkowych [32]. W innych badaniach, w których porównywano budowę arabinoksyłanów jęczmienia, słod i wyprodukowanej z niego brzezki wykazano, że różnice w budowie arabinoksyłanów jęczmienia, słod i brzezki są niewielkie, niezależnie od odmiany jęczmienia [31]. Cechą charakterystyczną arabinoksyłanów pochodzących ze wszystkich trzech

badanych materiałów była duża zawartość reszt ksylopiranozowych, podstawionych przez reszty arabinofuranozydowe w pozycji O2. Inną charakterystyczną cechą arabinoksylianów jest obecność około 2% reszt arabinofuranozowych podstawionych do końcowej reszty ksylopiranozowej w cząsteczce arabinoksylianu. Istotna różnica między arabinoksylianami jęczmienia (słodu) oraz brzezki polega na niższym stosunku arabinozy do ksylozy w brzezce, prawdopodobnie z uwagi na obecność pentozanów pochodzących z łuski i kielków liścieniowych. Wyniki badań potwierdziły także wysoką zawartość w brzezce ksylozy połączonej z resztami arabinofuranozowymi w pozycjach O2 i O3 reszty ksylopiranozowej, jak również zawartość reszt ksylopiranozowych podstawionych tylko w jednej ze wspomnianych pozycji.

W przypadku wykorzystania do produkcji brzezki słodu o odpowiednim stopniu rozluźnienia i degradacji  $\beta$ -glukanów, arabinoksyliany stanowią główny składnik polisacharydów nieskrobiowych w brzezce i w wysłodzinach. Badania wskazują, że stosunek całkowitej zawartości arabinozy do zawartości ksylozy w czasie słodowania obniżył się i wynosił w przypadku jęczmienia 0,7, w gotowym słodzie około 0,6, zaś w brzezce 0,5 [12]. W czasie gotowania brzezki nie występują zmiany stosunku zawartości arabinozy i ksylozy. Niskocząsteczkowe arabinoksyliany obecne w brzezce mają niższy stosunek ara:ksyl niż arabinoksyliany o wyższych masach cząsteczkowych, wytrącające się w obecności 80% etanolu. W arabinoksylianach znajdujących się w brzezce arabinoza występuje głównie w położeniu terminalnym cząsteczki arabinoksylianów, zaś reszty ksylopiranozowe połączone są głównie wiązaniami 1,4 jak również 1,2,3,4 i 1,2,4 lub 1,3,4. Stosunek całkowitej zawartości arabinozy do zawartości ksylozy w młócie jest niższy niż w brzezce po gotowaniu, co świadczy o występowaniu dłuższych łańcuchów arabinoksylianowych w tym ubocznym produkcie piwowarskim. Obecność reszt arabinofuranozowych w pozycjach O2 i O3 lub też w obu jednocześnie w łańcuchu arabinoksylianowym hamuje degradację arabinoksylianów w czasie słodowania, jak również w czasie zacierania słodu. Dalszą degradację arabinoksylianów w brzezce może zapewnić zastosowanie endo-1,4- $\beta$ -ksylanazy pochodzenia grzybowego lub bakteryjnego [34].

Kwas ferulowy jest głównym kwasem fenolowym jęczmienia i słodu związanym jednocześnie w przeważającej części estrowo z arabinoksylianami i jedynie przeciętnie około 0,6% tego kwasu jest obecna w ziarnie jęczmienia w formie wolnej [42]. Zawartość arabinozy w brzezkach niechmielonych wyprodukowanych ze słodów pszennych i jęczmiennych wynosiła od 570 do 650 mg/l, podczas gdy w brzezkach po chmieleniu od 670 do 940 mg/l. Zawartości ksylozy w tych samych brzezkach wynosiła odpowiednio 1150–1230 i 1340–1810 mg/l. Badania piw wykazały, że zawartość błonnika pokarmowego w piwie była znaczna i wynosiła od 183 do 3534 mg/l napoju, w zależności od gatunku piwa. Najwyższą zawartość błonnika

stwierdzono w piwach pszennych typu Doppelbock i Rauchbier [31]. Zawartość błonnika pokarmowego poniżej 1 g/l oznaczono w piwach bezalkoholowych, w piwach dietetycznych, podczas gdy w piwach pszennych i ciemnych mocnych zawartość błonnika pokarmowego przekraczała 2 g/l. W innych badaniach oznaczano zawartość  $\beta$ -glukanów i arabinoksylianów w 15 komercyjnych piwach różniących się zawartością ekstraktu rzeczywistego, alkoholu i cukrów ogółem [29]. Stężenie arabinoksylianów w piwach jasnych wynosiło 51,4 mg/100 cm<sup>3</sup> a w piwach pszennych 421,1 mg/100 cm<sup>3</sup>. Co ważne, zawartość  $\beta$ -glukanów we wszystkich badanych piwach była kilkakrotnie niższa niż zawartość arabinoksylianów i wynosiła maksymalnie 24,77 mg/100 cm<sup>3</sup>. Wyniki badań wskazują, że arabinoksyliany mogą stanowić do 10% zawartości węglowodanów w piwie i występują w nim w znacznej przewadze nad  $\beta$ -glukanami. Należy jednak podkreślić, że w obu przytoczonych pracach badawczych wykorzystywano piwa wyprodukowane z dodatkiem słodu pszennego, zaś surowiec ten charakteryzuje się wyższą zawartością arabinoksylianów niż sód jęczmienny, niemniej jednak wyższą zawartość frakcji arabinoksylianów w stosunku do frakcji  $\beta$ -glukanów zanotowano w przypadku wszystkich badanych piw, także jęczmiennych. Biorąc pod uwagę tak dużą różnicę zawartości obu polisacharydów nieskrobiowych w piwie, zastanawiać może fakt, że zainteresowanie arabinoksylianami jest od wielu lat o wiele mniejsze niż  $\beta$ -glukanami.

### **Przeciwutleniające właściwości kwasu ferulowego**

Kwas ferulowy wykazuje silną aktywność przeciwutleniającą, dzięki czemu może przyczyniać się do ochrony bogatej w lipidy warstwy aleuronowej ziarna już na etapie produkcji słodu. Właściwości przeciwutleniające kwasu ferulowego wykazano za pomocą wielu metod, takich jak metody chemiluminescencyjne oraz metody z wiązaniem rodników hydroksylowych i ponadtlenkowych. W badaniach prowadzonych w układach modelowych aktywność kwasu ferulowego mierzona za pomocą metody chemiluminescencyjnej była zbliżona do aktywności silnych przeciwutleniaczy, takich jak (+)katechina, kwercetyna i rutyna. W metodzie z użyciem rodników hydroksylowych aktywność wiązania wolnych rodników w układzie zawierającym 2-deoksyrybozę przez kwas ferulowy jest wyższa niż aktywność wymienionych przeciwutleniaczy. Co więcej, w wymienionym układzie badawczym, (+)katechina i kwercetyna, związki przeciwutleniające zawarte w znacznych stężeniach w piwie, wykazywały aktywność prooksydacyjną, jeśli były obecne w stężeniu wynoszącym 0,1 mg/ml. Podobnie, rutyna wykazywała aktywność prooksydacyjną w niskich stężeniach w układzie badawczym zawierającym 2-deoksyrybozę i rodniki hydroksylowe. W mieszaninie reagującej zawierającej rodniki ponadtlenkowe katechina wykazywała natomiast wyższą aktywność przeciwutleniającą

niż kwas ferulowy. Kwas ferulowy był w omówionych układach badawczych skutecznym przeciwutleniaczem, gdyż był donorem wodoru lub elektronów. Powstająca forma rodnikowa była względnie stabilna z uwagi na delokalizację elektronów i brak odpowiednich miejsc w cząsteczce podatnych na atak tlenu [39].

W badaniach *in vitro* prowadzonych w układzie badawczym mierzącym stopień wiązania rodników ponadtlenkowych, kwas ferulowy wykazywał wysoką aktywność przeciwutleniającą ze względu na obecność grupy hydroksylowej w położeniu para- oraz metoksyłowej w położeniu meta- w pierścieniu fenolowym [20]. Aktywność przeciwutleniająca kwasu ferulowego była wyższa niż aktywność pochodnych kwasu benzoowego (p-hydroksybenzoowego, protokatechowego, waniliowego i syringinowego). Wysoka aktywność przeciwutleniająca pochodnych kwasu cynamonowego, do których należy kwas ferulowy, wynika z obecności podwójnego wiązania w łańcuchu propionowym, które przyczynia się do stabilizacji rodnika fenoksyłowego na drodze rezonansu. Ponadto, grupa karboksylowa kwasu oddziałuje na pierścień fenolowy, mając ujemny wpływ na zdolność atomów wodoru pierścienia fenolowego do oddawania elektronów. Kwas ferulowy, który ma jedną grupę hydroksylową w pozycji para- oraz jedną grupę metoksyłową w pozycji meta- wykazuje aktywność przeciwutleniającą niższą od aktywności przeciwutleniającej kwasu kawowego (dwie grupy OH w pozycjach meta- i para) i sinapinowego (dwie grupy metoksyłowe w pozycjach meta- i para-). W innych badaniach prowadzonych w środowisku lipofilowym [7] stwierdzono, że kwas ferulowy hamuje autooksydację linolenianu metylowego skuteczniej niż pochodne kwasu benzoowego (kwas p-hydroksybenzoowy, salicyłowy, wanilinowy, syringinowy i galusowy), jednak mniej efektywnie niż wszystkie pochodne kwasu cynamonowego, oprócz kwasu p-kumarowego. Wykazano, że kwas ferulowy nie hamuje utleniania lipoprotein o niskiej gęstości w obecności jonów miedziowych [20]. Jednak inni autorzy [19] wskazują na wysoką aktywność kwasu ferulowego w zakresie hamowania utleniania lipoprotein o niskiej gęstości.

Przyczyną niższej aktywności przeciwutleniającej kwasu ferulowego w stosunku do kwasów fenolowych, takich jak chlorogenowy, kawowy, neochlorogenowy jest, jak wcześniej wspomniano, obecność większej liczby grup hydroksylowych w sąsiadujących pozycjach. Kwas p-kumarowy ma niższą aktywność przeciwutleniającą od kwasu ferulowego z uwagi na obecność tylko jednej grupy hydroksylowej. Kwas ferulowy zestryfikowany resztą arabinofuranozydową (*FA-Araf*), w porównaniu z wolnym kwasem ferulowym, wykazuje wyższą aktywność przeciwutleniającą w stosunku do frakcji lipoprotein o niskiej gęstości (LDL) w obecności jonów miedziowych [22, 23]. Estryfikacja kwasu p-kumarowego lub ferulowego kwasem winowym podnosiła aktywność przeciwutleniającą w stosunku do frakcji lipoprotein o niskiej gęstości (LDL). Wyższa aktywność przeciwutleniająca obu kwasów fenolowych po estryfikacji kwasem

winowym była spowodowana większą zdolnością kwasu fenolowego do wiązania się do obszaru cząsteczki lipoproteiny noszącej nazwę apolipoproteina B. Aktywność wykazywana przez przeciwutleniacze była bardzo uzależniona od zastosowanego układu badawczego. Stwierdzono brak aktywności hamowania utleniania kwasów tłuszczowych w smalcu i oleju kukurydzianym przez kwas ferulowy, podczas gdy w teście z rodnikiem DPPH<sup>\*</sup> kwas ferulowy był skuteczniejszym przeciwutleniaczem niż butylohydroksytoluen [6]. W innych badaniach stwierdzono, że w teście z rodnikami DPPH<sup>\*</sup> kwas ferulowy wykazywał aktywność przeciwutleniającą nieco niższą niż rutyna i kwercetyna, zaś był skuteczniejszym przeciwutleniaczem niż resweratrol i butylohydroksyanizol (BHA) [26].

W lipofilowym układzie badawczym, z wolnymi rodnikami ponadtlennymi, zawierającym kwas linolowy jako substrat, pochodne kwasu hydroksycynamonowego wykazywały wyższą aktywność przeciwutleniającą ze względu na obecność grupy  $-\text{CH}=\text{CH}-\text{COOH}$ . W układzie hydrofilowym hamowanie aktywności lipooksygenazy było skuteczniejsze w przypadku pochodnych kwasu hydroksybenzoesowego [7]. Dane te wskazują na zasadnicze znaczenie polarności rozpuszczalnika użytego do oznaczeń potencjalnej aktywności przeciwutleniającej, w tym przypadku w odniesieniu do kwasu ferulowego.

Kwas ferulowy jest bardzo aktywnym związkiem o działaniu antymutagennym [40]. Wykazuje silną aktywność hamowania uszkodzeń DNA w koloniach komórek nabłonka okrężnicy myszy po indukcji za pomocą benzo- $\alpha$ -pirenu. Należy podkreślić, że aktywność kwasu ferulowego jest wyższa niż aktywności tak silnych przeciwutleniaczy w warunkach *in vitro*, jak: butylohydroksytoluen, kwas kawowy, kwas elagowy i kwercetyna. W innych badaniach [30] dowiedziono, że kwasy: ferulowy, kawowy, elagowy i chlorogenowy wydajnie redukowały częstotliwość wystąpienia inicjacji nowotworu języka u szczurów wywołwanego przez 1-tlenek 4-nitrochinolinu. Dieta wzbogacona w wymienione kwasy powodowała znaczny spadek częstości występowania neoplazmii języka i preneoplastycznych zapaleń bez wystąpienia toksycznych skutków ubocznych u zwierząt doświadczalnych. Sposób wchłaniania, przemieszczania i antymutagennego działania kwasów fenolowych, w tym kwasu ferulowego, w obrębie tkanek biorących udział w zmianach nowotworowych, wymaga jednak szczegółowego wyjaśnienia.

Wolny kwas ferulowy bierze udział w regulacji metabolizmu glukozy i wolnych kwasów tłuszczowych poprzez aktywność antyhiperlipidemiczną i stabilizację dyslipidemii spowodowanej wystąpieniem cukrzycy. Streptozotocyna (STZ), cytostatyk będący składnikiem wielu leków, wywołuje stres oksydacyjny w komórkach trzustki, powodując przerwanie pojedynczych łańcuchów DNA w komórkach tego organu. Efektem działania streptozotocyny jest obniżona sekrecja insuliny, co upośledza wykorzystanie glukozy przez tkanki organizmu. Szczury

żywione dietą z dodatkiem kwasu ferulowego mają unieczynnione wolne rodniki produkowane przez STZ w trzustce i w ten sposób dochodzi do obniżania toksyczności streptozotocyny. Obecność kwasu ferulowego w diecie szczurów (10 mg/kg masy ciała) stymuluje komórki beta trzustki do podwyższenia produkcji i wydzielania insuliny, co obniża poziom glukozy we krwi. Nawet w wysokim stężeniu (40 mg/kg masy ciała), kwas ferulowy nie ma toksycznego działania w przewodzie pokarmowym i nie przyczynia się do wystąpienia hipoglikemii u szczurów, co świadczy o jego przydatności w łagodzeniu objawów choroby cukrzycowej. Działanie kwasu ferulowego w regulacji działania trzustki występuje już przy małym dodatku tego kwasu fenolowego do diety (10 mg/kg masy ciała) [3]. Obecność kwasu ferulowego w diecie szczurów obniża poziom wolnych kwasów tłuszczowych, triacylogliceroli, cholesterolu i fosfolipidów w plazmie. Podobnie, jak w przypadku poziomu glukozy we krwi, kwas ferulowy skuteczniej obniża poziom wymienionych grup związków we krwi, jeśli jest obecny w diecie w małym stężeniu wynoszącym 10 mg na kilogram masy ciała. Zastosowanie wyższej dawki kwasu ferulowego w diecie (40 mg/kg masy ciała) nie ogranicza występowania wolnych kwasów tłuszczowych i triacylogliceroli, cholesterolu i fosfolipidów w plazmie w takim stopniu, jak niska dawka tego kwasu fenolowego.

### **Podsumowanie**

Arabinoksylany są naturalnymi składnikami słodcy; ponieważ w gotowym słodzie związany z arabinoksylanami kwas ferulowy występuje w znacznej przewadze nad jego wolną formą, może okazać się konieczne zwiększenie stopnia uwolnienia omawianego kwasu w połączeniach z cukrami i jego transfer do roztworu w czasie produkcji brzezki. Arabinoksylany w połączeniach z kwasem ferulowym w jęczmieniu, obecne w brzezce, są potencjalnym bogatym źródłem kwasu ferulowego w formie związanej z krótkimi łańcuchami arabinoksylanowymi i w dużej mierze decydują one o właściwościach przeciwutleniających w piwie. Będąc aktywnym przeciwutleniaczem z jednym miejscem aktywnym, kwas ferulowy może blokować miejsca aktywne białek wywołujących zmętnienia i w ten sposób uniemożliwiać katechinie i jej pochodnym dostęp do białek w miejscach wiązań z polifenolami. Z tego względu, zwiększanie stężenia kwasu ferulowego w piwie w formie połączeń z cukrami może przyczynić się do zwiększenia cech prozdrowotnych piwa przy minimalnych nakładach na modyfikację procesu produkcji piwa, a zwłaszcza zacierania słodcy.

### **Literatura**



- [1] Ahluwalia B., Fry S.C.: Barley endosperm cell walls contain a feruloylated arabinoxylan and a non-feruloylated  $\beta$ -glucan. *J. Cereal Sci.*, 1986, **4**, 287-295.
- [2] Akin D.E.: Microspectrophotometric characterization of aromatic constituents in cell walls of hard and soft wheats. *J. Sci. Food Agric.*, 1995, **68**, 207-214.
- [3] Balashubashini S., Rukkumani R., Menon V.P.: Protective effect of ferulic acid on hyperlipidemic diabetic rats. *Acta Diabet.*, 2003, **40**, 118-122.
- [4] Bartolome B., Garcia-Conesa M., Williamson G.: Release of bioactive compound, ferulic acid from malt extracts. *Biochem. Soc. Trans.*, 1996, **24**, 379S.
- [5] Bunzel M., Ralph J., Funk C., Steihart H.: Isolation and identification of a ferulic acid dehydrotrimer from saponified maize bran insoluble fiber. *Eur. Food Res. Techn.*, 2003, **217** (2), 128-133.
- [6] Chen J.H., Ho C.T.: Antioxidant activities of caffeic acid and its related hydroxycinnamic acid compounds. *J. Agric. Food Chem.* 1997, **45**, 2374-2378.
- [7] Cuvelier M.-E., Richard H., Berset C.: Comparison of the antioxidative activity of some acid-phenols: structure- activity relationship. *Biosci. Biotech. Biochem.*, 1992, **56** (2), 324-325.
- [8] Dervilly G., Leclercq C., Zimmermann D., Roue C., Thibault J.-F., Saulnier L.: Isolation and characterization of high molar mass water-soluble arabinoxylans from barley and barley malt. *Carbohydr. Polym.*, 2002, **47**, 143-149.
- [9] Ghiselli A., Natella F., Guidi A., Montanari L., Fantozzi P., Scaccini C.: Beer increases plasma antioxidant capacity in humans. *J. Nutr. Biochem.*, 2000, **11**, 76-80.
- [10] Gorinstein S., Caspi A., Zemser M., Trakhtenberg S.: Comparative contents of some phenolics in beer, red and white wines. *Nutr. Res.*, 2000, **20** (1), 131-139.
- [11] Gromes R., Ruhland J., Piendl A.: Erfassung und vorkommen der gesamtballaststoffe in bier. *Monatsschrift Brauwiss.*, 1993, **6**, 221-223.
- [12] Han J.Y., Schwarz P.B.: Arabinoxylan composition in barley, malt and beer. *J. Am. Brew. Chem.*, 1996, **54** (4), 216-220.
- [13] Henry R.J.: Changes in  $\beta$ -glucan and other carbohydrate components of barley during malting. *J. Sci. Food Agric.* 1988, **42**, 333-341.
- [14] Irving D.W., Fulcher R.G., Bean M.M., Saunders R.M.: Differentiation of wheat based on fluorescence, hardness and protein. *Cereal Chem.*, 1989, **66** (6), 471-477.
- [15] Izydorczyk M.S., Macri L.J., MacGregor A.W.: Structure and physicochemical properties of barley non-starch polysaccharides – I. Water-extractable  $\beta$ -glucans and arabinoxylans". *Carbohydr. Polym.*, 1998, **35**, 249-258.
- [16] Izydorczyk M.S., Macri L.J., MacGregor A.W.: Structure and physicochemical properties of barley non-starch polysaccharides – II. Alkali-extractable  $\beta$ -glucans and arabinoxylans". *Carbohydr. Polym.*, 1998, **35**, 259-269.
- [17] Izydorczyk M.S., MacGregor A.W.: Evidence of intermolecular interactions of  $\beta$ -glucans and arabinoxylans. *Carbohydr. Polym.*, 2000, **41**, 417-420.
- [18] Jacquet G., Pollet B., Lapierre C.: New ether-linked ferulic acid- coniferyl alcohol dimers identified in grass straws. *J. Agric. Food Chem.*, 1995, **43**, 2746-2751.
- [19] Meyer A.S., Donovan J.L., Pearson D.A., Waterhouse A.L., Frankel E.N.: Fruit hydroxycinnamic acids inhibit human low-density lipoprotein oxidation in vitro. *J. Agric. Food Chem.*, 1998, **46**, 1783-1787.
- [20] Natella F., Nardini M., DiFelice M., Scaccini C.: Benzoic and cinnamic acid derivatives as antioxidants: structure-activity relation. *J. Agric. Food Chem.*, 1999, **47**, 1453-1459.

- [21] Nowiński S.K., Rybka K., Molecular mechanics of arabinoksyylan oligomers. *Acta Biochimica Polonica*. 1994, **41** (2), 216.
- [22] Ohta, T., Yamasaki S., A., Egashira, Y., Sanada, H.: Antioxidant activity of corn bran hemicellulose fragments. *J. Agric. Food Chem.*, 1994, **42**, 653- 656.
- [23] Ohta, T., Semboku, N., Kuchii, A., Egashira, Y., Sanada, H.: Antioxidant activity of corn bran cell-wall fragments in the LDL oxidation system. *J. Agric. Food Chem.*, 1997, **45**, 1644- 1648.
- [24] Preece I.A., McDougall M.: Enzymic degradation of cereal hemicelluloses. Pattern of pentosan degradation. *J. Inst. Brew.*, 1961, **64**, 489-500.
- [25] Renger A., Steinhart H.: Ferulic acid dehydrodimers as structural elements in cereal dietary fibre. *Eur. Food Res. Technol.*, 2000, **211**, 422-428.
- [26] Sanchez-Moreno, Larrauri J.A., Saura-Calixto F.: A procedure to measure the antiradical efficiency of polyphenols. *J. Sci. Food Agric.*, 1998, **76**, 270-276.
- [27] Schooneveld-Bergmans M.E.F., Hopman A.M.C.P., Beldman G., Voragen A.G.J.: Extraction and partial characterization of feruloylated glucuronoarabinoxylans from wheat bran. *Carbohydr. Polym.*, 1998, **35**, 39-47.
- [28] Schooneveld-Bergmans M.E.F., Dignum M.J.W., Grabber J.H., Beldman G., Voragen A.G.J.: Studies on the oxidative cross-linking of feruloylated arabinoxylans from wheat flour and wheat bran. *Carbohydr. Polym.*, 1999, **38**, 309-317.
- [29] Schwarz P.B. Han J.Y.: Arabinoxylan content of commercial beers. *J. Am. Brew. Chem.*, 1995, **53**(4), 157-159.
- [30] Tanaka T., Kojima T., Kawamori T., Wang A., Suzui M., Okamoto K., Mori H.: Inhibition of 4-nitroquinoline-1-oxide-induced rat tongue carcinogenesis by the naturally occurring plant phenolics caffeic, ellagic, chlorogenic and ferulic acids. *Chemopreventions by plant phenolics*. Oxford University Press. 1321-1325.
- [31] Viëtor R.J., Angelino S.A.G.F., Voragen A.G.J.: Arabinoxylans barley, malt and wort. *Proc. Eur. Brew. Conv. Cong.*, 1991, **23**, 139-146.
- [32] Viëtor R.J., Voragen A.G.J., Angelino S.A.G.F., Pilnik W.: Non-starch polysaccharides in barley and malt: a mass balance of flour fractionation. *J. Cereal Sci.*, 1991, **14**, 73-83.
- [33] Viëtor R.J., Angelino S.A.G.F., Voragen A.G.J.: Structural Features of Arabinoxylans from Barley and Malt Cell Wall Material. *J. Cereal Sci.*, 1992, **15**, 213-222.
- [34] Viëtor R.J., Voragen A.G.J.: Composition of non-starch polysaccharides in wort and spent grain from brewing trials with malt from a good malting quality barley and a feed barley. *J. Inst. Brew.*, 1993, **99**, 243-248.
- [35] Vinson J.A., Jan J., Jang J., Dabbagh Y.A., Liang X., Serry M.M., Proch J., Cai S.: Vitamins and especially flavonoids in common beverages are powerful *in vitro* antioxidants which enrich lower density lipoproteins and increase their oxidative resistance after *ex vivo* spiking in human plasma. *J. Agric. Food Chem.*, 1999, **47**, 2502-2504.
- [36] Vliegenthart J.F.G., Hoffmann R.A., Kamerling J.P.: A <sup>1</sup>H-NMR spectroscopic study on oligosaccharides obtained from wheat arabinoxylans. *Xylans and Xylanases*, Ed. J. Visser et al., Elsevier Science Publishers, B.V., Amsterdam, 1992.
- [37] Voragen A.G.J., Gruppen, M.A., Verbruggen M.A., Vietor R.J.: Characterisation of cereal arabinoxylans. *Xylans and Xylanases*, Ed. J. Visser et al., 1992 Elsevier Science Publishers, B.V., Amsterdam, 1992.
- [38] Wallace G., Russel W.R., Lomax J.A., Jarvis M.C., Lapierre C., Chesson A.: Extraction of phenolic-carbohydrate complexes from graminaceous cell walls. *Carbohydr. Res.*, 1995, **272**, 41-53.



- [39] Walters M.T., Heasman A.P., Hughes, P.S.: Comparison of (+)-catechin and ferulic acid as natural antioxidants and their impact on beer flavor stability. Part 1: Forced-aging. *J. Am. Soc. Brew. Chem.*, 1997, **55** (2), 83-89.
- [40] Wargovich M.J., Eng V.W.S., Newmark H.L.: Inhibition by plant phenols of benzo[ $\alpha$ ]pyrene – induced nuclear aberrations in mammalian intestinal cells: a rapid *in vivo* assessment method. *Food Chem.Toxic.*, 1985, **23** (1), 47-49.
- [41] Westerlund E., Andersson R., Aman P.: Isolation and chemical characterization of water-soluble mixed-linked  $\beta$ -glucans and arabinoxylans in oat milling fractions. *Carbohydr. Polym.* 1993, **20**, 115-123.
- [42] Zupfer J.M., K.E. Churchill, D.C. Rasmusson, Fulcher R.G.: Variation in ferulic acid concentration among diverse barley cultivars measured by HPLC and microspectrophotometry. *J. Agric. Food Chem.*, 1998, **46**, 1350-1354.

### ARABINOXYLANS FROM MALT AS A SOURCE OF NATURAL ANTIOXIDANT FERULIC ACID AND DIETARY FIBRE IN BEER

#### S u m m a r y

Recently, a tendency is observed to replace synthetic antioxidants, which are added to food, by natural products containing the same substances. This paper deals with the role the ferulic acid, a main phenolic acid of barley and malt, plays in shaping the antioxidant potential of beer. There is also presented the current state of knowledge of the ferulic acid's antioxidant activity measured under the *in vitro* and *in vivo* conditions. Furthermore, the paper contains a detailed description of the structure, functions, and technological significance of arabinoxylans and  $\beta$ -glucans under the processes of beer malting and brewing. If the amounts of free ferulic acid added to beer have low concentration rates, then, the ferulic acid is very stable, whereas the highly concentrated free ferulic acid amounts cause a very rapid decrease in the ferulic acid content. The antioxidant activity of ferulic acid in beer is similar to the antioxidant activity of (+)-catechin. However, (+)-catechin causes beer to haze at a concentration rate being much lower if compared with the ferulic acid. Therefore, the ferulic acid at higher concentration rates can positively impact the colloidal stabilization of beer. As an active antioxidant with one active site, the ferulic acid can block active sites of the haze-generating proteins and, in this way, make it impossible for (+)-catechin and its derivatives to access proteins in the sites with polyphenol bonds. Thus, the increased concentration rates of ferulic acid in beer in the form of combination with sugars can contribute to enhancing the health-promoting properties of beer alongside low outlays necessary to modify the beer manufacturing process, especially the mashing process

**Key words:** beer, ferulic acid, arabinoxylans, antioxidant activity 

ELŻBIETA HAĆ-SZYMAŃCZUK, JAN MROCZEK, SABINA TWORZYDLAK,  
BARTOSZ STOLPE

## **WPŁYW WYSOKIEGO CIŚNIENIA NA WYBRANE CECHY JAKOŚCIOWE POŁĘDWICY SOPOCKIEJ I SUROWEJ POŁĘDWICY WĘDZONEJ**

### **Streszczenie**

Badano wpływ wysokiego ciśnienia na wybrane cechy jakościowe i trwałość polędwicy sopockiej oraz surowej polędwicy wędzonej. Wyprodukowano polędwice z 20-procentowym nastrzykiem solanki w stosunku do masy produktu. Próbki gotowego wyrobu porcjowano, pakowano próżniowo, poddawano działaniu wysokiego ciśnienia 600 MPa przez 30 min w temp. pokojowej ( $20\pm 2^{\circ}\text{C}$ ) i przechowywano przez 0, 6 i 8 tygodni w warunkach chłodniczych ( $4-6^{\circ}\text{C}$ ).

Oznaczano fizyczne składowe barwy, ilość wymuszonego wycieku, zawartość barwników ogółem, nitrozylobarwników, resztkowego azotanu(III), stopień przereagowania barwników oraz oceniano sensorycznie: barwę, zapach, smak i konsystencję. Wykonano oznaczenia mikrobiologiczne oraz zdjęcia doświadczalnych produktów.

Na podstawie wyników badań stwierdzono, że zastosowanie wysokiego ciśnienia wydłużyło trwałość polędwicy sopockiej do 6 tygodni przechowywania w warunkach chłodniczych, bez pogorszenia smaku, zapachu i konsystencji. Jakość mikrobiologiczna próbek surowej polędwicy wędzonej, poddanych działaniu wysokiego ciśnienia była lepsza, ponieważ podczas przechowywania nie rozwijały się drobnoustroje mezofilne, psychrofilne i kwaszące. Zastosowanie obróbki wysokociśnieniowej spowodowało niekorzystne zwiększenie ilości wycieku wymuszonego w opakowaniu, zarówno w próbkach polędwicy sopockiej, jak i surowej polędwicy wędzonej oraz istotne rozjaśnienie barwy surowej polędwicy wędzonej.

**Słowa kluczowe:** wysokie ciśnienie, utrwalanie, polędwica sopocka, surowa polędwica wędzona

### **Wstęp**

W celu poprawy jakości i trwałości produktów żywnościowych prowadzone są intensywne badania nad możliwością zastosowania wysokiego ciśnienia hydrostatycznego. Zastosowanie wysokich ciśnień jest procesem nietermicznym. Podczas przetwarzania nie powstają toksyczne substancje i nie tworzą się obce posmaki. Wysokie ciśnienie hydrostatyczne również niszczy wegetatywne formy

---

*Dr inż. E. Hać-Szymańczuk, Zakład Biotechnologii i Mikrobiologii Żywności, Katedra Biotechnologii, Mikrobiologii i Oceny Żywności, prof. dr hab. J. Mroczek, mgr inż. S. Tworzydłak, mgr inż. B. Stolpe, Zakład Technologii Mięsa, Katedra Technologii Żywności, Wydz. Technologii Żywności SGGW, ul. Nowoursynowska 159 C, 02-776 Warszawa, e-mail: hac@alpha.sggw.waw.pl*

drobnoustrojów. Mechanizm niszczącego działania nie został jeszcze do końca wyjaśniony. Decydującą rolę odgrywają zmiany morfologiczne komórek (deformacja i zmiana struktury błony komórkowej, zmiany w jądrze komórkowym) oraz oddziaływanie na aktywność enzymów komórkowych [3, 14].

Celem badań było określenie wpływu wysokiego ciśnienia hydrostatycznego działającego w temp. pokojowej ( $20\pm 2^{\circ}\text{C}$ ) na właściwości i trwałość polędwicy sopockiej oraz surowej polędwicy wędzonej.

### **Materiał i metody badań**

W doświadczeniu technologicznym wyprodukowano surową polędwicę wędzoną oraz polędwicę sopocką. Materiał doświadczalny nastrzykiwano solanką peklującą, w ilości 20% w stosunku do masy surowca, o następującym składzie: 13,50% soli kuchennej, 0,81% azotan(III) sodu, 0,54% mieszaniny fosforanów BRIFISOL 512, 0,16% izoaskorbinianu sodu, 1,60% glutaminianu sodu oraz 83,39% wody. Skład solanki zestawiono tak, aby przy tej wielkości nastrzyku i 10-procentowym ubytku termicznym uzyskać 2,5% NaCl i 0,015%  $\text{NaNO}_2$  w przeliczeniu na gotowy wyrób. Surowcem do produkcji był mięsień najdłuższy (*m. longissimus*) wycinany z tusz świń: od przodu – pomiędzy 4 i 5 kręgiem piersiowym a od tyłu – po linii oddzielenia biodrówki, pobierany po 48 h od uboju.

Surową polędwicę wędzono dymem ciepłym. Temp. w komorze wynosiła ok.  $40^{\circ}\text{C}$ . Polędwicę sopocką wędzono dymem gorącym o temp. ok.  $55^{\circ}\text{C}$  przez 50 min, do osiągnięcia barwy brązowej z odcieniem złocistym, po czym pieczono w temp.  $80^{\circ}\text{C}$  przez 140 min, do uzyskania temp.  $68^{\circ}\text{C}$  w centrum geometrycznym batonu.

Po wychłodzeniu batony dzielono na plastry o grubości ok. 3 cm, z których do oznaczeń mikrobiologicznych odkrawano kawałki o masie ok. 10 g. Porcje pakowano próżniowo w folię wielowarstwową. Połowę próbek poddawano działaniu ciśnienia 600 MPa przez 30 min w temp. pokojowej ( $20\pm 2^{\circ}\text{C}$ ).

Doświadczalne polędwice wyprodukowano w trzech powtórzeniach. Próbkę surowej polędwicy wędzonej oraz polędwicy sopockiej, bezpośrednio po produkcji (czas „0”) oraz po 6 i 8 tygodniach przechowywania w warunkach chłodniczych ( $4-6^{\circ}\text{C}$ ), poddawano oznaczeniom: fizycznym, chemicznym, sensorycznym i mikrobiologicznym. Wykonywano pomiary ilości wycieku wymuszonego metodą wagową oraz barwy metodą odbiciową (parametry  $a^*$ ,  $b^*$  i  $L^*$ ) przy użyciu kolorymetru Minolta CR-200. Wykonano również zdjęcia przekroju poprzecznego batonu polędwicy. Chemicznie oznaczano: zawartość azotanów(III) wg PN [12], nitrozylobarwników i barwników ogółem metodą Hornseya [7] oraz wyliczano stopień przereagowania barwników. Sensorycznie oceniano: barwę, zapach, smak i konsystencję, stosując 5-punktową skalę. Ponadto oznaczano ogólną liczbę drobnoustrojów tlenowych mezofilnych, bakterii z grupy coli, enterokoków, bakterii kwaszących i psychrofilnych wg PN [13].

Analizę statystyczną wyników przeprowadzono z wykorzystaniem programu statystycznego Statgraphics Plus, stosując dwuczynnikową analizę wariancji.

## Wyniki i dyskusja

W próbkach polędwicy sopockiej, zarówno kontrolnych, jak i poddanych działaniu wysokiego ciśnienia, wartości składowe barwy  $a^*$  oraz  $b^*$  były wyższe w porównaniu z próbkami surowej polędwicy wędzonej. Wartość składowej  $b^*$  wzrastała w obydwu wyrobach wraz z upływem czasu przechowywania. Wysokie ciśnienie spowodowało istotne rozjaśnienie barwy surowej polędwicy wędzonej, wyrażające się wzrostem składowej  $L^*$  o ponad 50% (tab. 1 i 4 oraz fot. 1 i 2). Natomiast próbki polędwicy sopockiej poddane działaniu ciśnienia, w porównaniu z próbkami kontrolnymi, charakteryzowały się nieco niższymi wartościami  $L^*$  (tab. 1 i 4). Kontrolne próbki polędwicy sopockiej miały mniej intensywną barwę czerwoną niż próbki poddane działaniu ciśnienia (fot. 3 i 4). Według Jiménez-Colmenero i wsp. [9], zastosowanie obróbki wysokociśnieniowej w technologii mięsa powoduje wzrost jasności oraz jednocześnie zmniejszenie udziału barwy czerwonej (parametr  $a^*$ ). Jankowska i wsp. [8], badając wpływ wysokich ciśnień w zakresie 100–400 MPa na barwę mięsa wołowego i wieprzowego, stwierdzili, iż mięso poddawane działaniu ciśnienia 100–200 MPa zachowuje niezmienną barwę. Natomiast pod wpływem ciśnienia 300 MPa zmienia barwę na brunatnoszarą, a przy ciśnieniu 400 MPa na biało-szarą. Jednocześnie próbki o najwyższej jasności barwy ( $L^*$ ) charakteryzowały się największym stopniem denaturacji barwników hemowych.

W kontrolnych próbkach polędwicy sopockiej, w porównaniu z próbkami poddanymi działaniu wysokiego ciśnienia, zawartość barwników ogółem była mniejsza, podczas gdy w surowej polędwicy wędzonej była istotnie większa, co mogło być spowodowane zwiększonym wyciekami wymuszonym (tab. 2). W próbkach surowej polędwicy wędzonej zawartość nitrozylobarwników zmniejszała się wraz z upływem czasu przechowywania. Podobne tendencje zaobserwowano w przypadku stopnia przereagowania barwników. Grochalska i wsp. [6] nie stwierdzili istotnego wpływu ciśnienia 500 MPa, działającego przez 10 i 30 min w temp. pokojowej, na zawartość barwników ogółem i nitrozylobarwników oraz na stopień przereagowania barwników w handlowej surowej polędwicy wędzonej, zarówno bezpośrednio po produkcji, jak i podczas 8-tygodniowego przechowywania w warunkach chłodniczych.

Próbki polędwicy sopockiej i surowej wędzonej poddane działaniu wysokiego ciśnienia, w porównaniu z próbkami kontrolnymi, charakteryzowały się istotnie większym wyciekami wymuszonym, będącym efektem pakowania próżniowego, działania

Tabela 1

Wpływ wysokiego ciśnienia na składowe barwy oraz efektywność procesu peklowania połówki sopockiej oraz surowej połówki wędzonej.  
Influence of high pressure on colour parameters and efficiency of curing process of cooked and raw smoked pork loin.

Wyrób Product	Wariant doświadczenia Variable	Czas przechowywania [tygodnie] Storage time [weeks]	Składowe barwy/Colour parameters			Barwniki ogółem Total pigments [x 10 <sup>-4</sup> %]	Nitrozylobarwniki Nitrosylpigments [x 10 <sup>-4</sup> %]	Stopień przereagowania barwników Rate of pigment conversion [%]
			a*	b*	L*			
Połdewica sopocka Cooked pork loin	Próbka kontrolna Non pressured sample	0	11,0	3,7	68,4	83,9	35,9	42,9
		6	10,9	4,3	67,7	76,8	30,3	39,4
		8	11,0	4,5	68,0	83,0	26,4	31,7
	Próbka poddana działaniu ciśnienia Pressured sample	0	11,0	3,7	68,2	93,7	38,6	41,2
		6	10,7	3,9	66,3	81,9	29,0	35,4
		8	10,7	4,5	66,9	88,7	29,0	31,9
Surowa połdewica wędzona Raw smoked pork loin	Próbka kontrolna Non pressured sample	0	9,5	- 0,9	42,0	79,4	31,0	39,0
		6	8,6	1,0	46,0	75,3	29,6	39,1
		8	7,4	1,7	45,2	74,7	27,7	37,1
	Próbka poddana działaniu ciśnienia Pressured sample	0	6,8	0,8	68,4	69,6	26,2	37,7
		6	7,6	2,4	67,4	74,2	25,3	34,1
		8	7,0	3,1	67,2	72,3	24,4	33,8

Tabela 2

Wpływ wysokiego ciśnienia na ilość wycieku, resztkowego azotynu oraz wyróżniki oceny sensorycznej polędwicy sopockiej oraz surowej polędwicy wędzonej.

Influence of high pressure on drip, residual nitrite and sensory parameters of cooked and raw smoked pork loin.

Wyrób Product	Wariant doświadczenia Variable	Czas przechowywania [tygodnie] Storage time [weeks]	Wyciek wymuszony Drip [%]	Resztkowy azotan (III) Residual nitrite[%]	Ocena sensoryczna [punkty] Sensory assessment [scores]			
					Barwa Colour	Zapach Smell	Smak Taste	Konsystencja Consistency
Polędwica sopocka  Cooked pork loin	Próbka kontrolna  Non pressured sample	0	1,7	0,0045	4,9	5,0	4,9	4,8
		6	2,4	0,0016	4,9	4,9	4,8	4,6
		8	2,8	0,0000	4,7	4,9	4,7	4,8
	Próbka poddana działaniu ciśnienia  Pressured sample	0	3,1	0,0046	5,0	5,0	4,9	4,8
		6	3,2	0,0017	5,0	5,0	4,7	4,6
		8	3,6	0,0000	4,6	5,0	4,7	4,9
Surowa polędwica wędzona  Raw smoked pork loin	Próbka kontrolna  Non pressured sample	0	0,7	0,0063	4,8	4,9	4,8	4,7
		6	1,5	0,0015	4,8	4,9	4,9	4,6
		8	2,0	0,0005	4,9	4,9	4,9	4,4
	Próbka poddana działaniu ciśnienia  Pressured sample	0	0,9	0,0037	4,5	5,0	4,8	4,6
		6	2,9	0,0013	4,3	4,8	4,7	4,6
		8	4,0	0,0001	4,0	4,7	4,6	4,3

Tabela 3

Wpływ wysokiego ciśnienia na jakość mikrobiologiczną polędwicy sopockiej oraz surowej polędwicy wędzonej.  
Influence of high pressure on microbial quality of cooked and raw smoked pork loin.

Wyrób Product	Wariant doświadczenia Variable	Czas przechowywania [tygodnie] Storage time [weeks]	Liczba drobnoustrojów [jtk/g produktu]/Number of microorganisms [cfu/g]				
			Mezofilnych Mesophilic	Psychrofilnych Psychrophilic	Kwaszących Acidophilic	Enterokoków Enterococci	Z grupy coli Coliforms
Połędwica sopocka Cooked pork loin	Próbka kontrolna Non pressured sample	0	$3,5 \times 10^2$	<10	$7,5 \times 10^2$	<100	<10
		6	$2,0 \times 10^7$	<10	$2,1 \times 10^3$	<100	<10
		8	$4,1 \times 10^8$	$1,6 \times 10^3$	$3,2 \times 10^3$	<100	<10
	Próbka poddana działaniu ciśnienia Pressured sample	0	<10	<10	<10	<100	<10
		6	$1,5 \times 10^2$	<10	<10	<100	<10
		8	$2,5 \times 10^2$	<100	$1,0 \times 10^2$	<100	<10
Surowa polędwica wędzona Raw smoked pork loin	Próbka kontrolna Non pressured sample	0	$2,5 \times 10^4$	$2,5 \times 10^2$	$2,0 \times 10^2$	<100	<10
		6	$1,1 \times 10^7$	$1,2 \times 10^7$	$9,4 \times 10^6$	<100	$2,5 \times 10^1$
		8	$1,1 \times 10^8$	$1,2 \times 10^8$	$6,0 \times 10^7$	<100	$1,5 \times 10^3$
	Poddany działaniu ciśnienia Pressured sample	0	<10	<10	<10	<100	<10
		6	<10	<10	<10	<100	<10
		8	<10	<10	<10	<100	<10



Tabela 4

Wpływ wysokiego ciśnienia na wyróżniki połówicy sopockiej oraz surowej wędzonej. Dwuczynnikowa analiza wariancji (Multifactor ANOVA).  
Influence of high pressure on parameters of cooked and raw smoked pork loin. Two factors analysis of variance (Multifactor ANOVA).

Czynniki zmienności Main effects	Df	Połędwica sopocka/ Cooked pork loin $F_{emp}$							$F_{tab}$ $\alpha = 0,05$
		Wyciek Drip	a*	b*	L*	Barwniki ogółem Total pigments	Nitrozylobarwniki Nitrosylpigments	Stopień przereagowania barwników Rate of pigment conversion	
A	2	1,45	0,30	3,08	3,61	0,37	3,29	9,72*	3,59
B	1	8,25*	1,02	0,58	5,00*	0,56	0,20	0,91	3,62
C	2	0,31	0,25	0,26	0,87	0,03	0,17	0,37	3,59
Czynniki zmienności Main effects	Df	Połędwica sopocka/ Cooked pork loin $F_{emp}$					$F_{tab}$ $\alpha = 0,05$		
		Resztkowy azotan (III) Residual nitrite	Barwa Colour	Zapach Smell	Smak Taste	Konsystencja Consistency			
A	2	76,40*	3,70	0,09	1,08	1,96	3,59		
B	1	0,02	0,00	0,82	0,06	0,05	3,62		
C	2	0,03	0,76	0,27	0,02	0,17	3,59		
Błąd/ Error	17								
Czynniki zmienności Main effects	Df	Surowa połówica wędzone/ Raw smoked pork loin $F_{emp}$							$F_{tab}$ $\alpha = 0,05$
		Wyciek Drip	a*	b*	L*	Barwniki ogółem Total pigments	Nitrozylobarwniki Nitrosylpigments	Stopień przereagowania barwników Rate of curing	
A	2	37,56*	0,63	2,27	0,66	2,63	0,05	1,37	3,59
B	1	31,77*	1,99	2,55	485,57*	5,46*	0,86	9,19*	3,62
C	2	5,83*	1,27	0,20	2,16	2,42	1,28	1,87	3,59
Czynniki zmienności Main effects	Df	Surowa połówica wędzone/ Raw smoked pork loin $F_{emp}$					$F_{tab}$ $\alpha = 0,05$		
		Resztkowy azotan (III) Residual nitrite	Barwa Colour	Zapach Smell	Smak Taste	Konsystencja Consistency			
A	2	35,73*	0,64	0,59	0,09	0,51	3,59		
B	1	5,04*	20,15*	0,22	2,42	0,36	3,62		
C	2	2,50	0,87	0,17	0,38	0,71	3,59		
Błąd/ Error	17								

A – czas przechowywania/ storage time, B – działanie wysokiego ciśnienia/ high pressure, C – współdziałanie/ relationship

\* różnice istotne statystycznie na poziomie  $\alpha = 0,05$  / statistically significant difference at  $\alpha = 0.05$

wysokiego ciśnienia oraz przechowywania. Ilość wycieku wzrastała w obydwu przypadkach wraz z upływem czasu przechowywania, jednak w próbkach polędwicy surowej ilość wycieku była mniejsza w porównaniu z próbkami polędwicy sopockiej (tab. 2 i 4). Pietrzak i Mroczek [11] wykazali, że zastosowanie ciśnienia 500 MPa przez 30 min w temp. 40°C istotnie zwiększyło ilość wycieku w próżniowo zapakowanych szynkach. W miarę upływu czasu przechowywania ubytki masy były coraz większe, przy czym w szynkach kontrolnych wzrastały znacznie wolniej niż w szynkach poddanych działaniu ciśnienia. Świadczy to o niekorzystnym wpływie wysokiego ciśnienia na zdolność utrzymywania wody przez przetwory poddane obróbce termicznej.

Istotnie większą zawartość resztkowego azotanu(III), w porównaniu z próbkami ciśnieniowanymi, oznaczono w kontrolnych próbkach surowej polędwicy wędzonej, podczas gdy w polędwicy sopockiej oznaczone wartości utrzymywały się na podobnym poziomie. Zawartość resztkowego azotanu(III) zmniejszała się istotnie we wszystkich badanych próbkach polędwic wraz z upływem czasu przechowywania (tab. 2 i 4). Cassens i wsp. [2] oraz Tyszkiewicz [15] podają, że zawartość resztkowego azotanu(III) związana jest z reakcją powstawania nitrozylobarwników, a także z możliwością przyłączenia azotanu(III) przez składniki mięsa.

Polędwica surowa poddana ciśnieniowaniu otrzymała w ocenie sensorycznej noty za barwę istotnie niższe aniżeli kontrolna. Podobnie niżej oceniono smak polędwicy surowej poddanej działaniu wysokiego ciśnienia, jednak nie były to różnice statystycznie istotne. Materiał doświadczalny poddany obróbce wysokociśnieniowej, zarówno w przypadku surowej polędwicy wędzonej, jak i polędwicy sopockiej, w porównaniu z próbkami kontrolnymi, był wyżej oceniany za zapach. Przechowywanie przez 8 tygodni powodowało obniżenie ocen za konsystencję polędwicy wędzonej, zarówno ciśnieniowanej, jak i kontrolnej. Nie stwierdzono istotnego wpływu wysokiego ciśnienia na barwę, smak i konsystencję polędwicy sopockiej (tab. 2 i 4). Garriga i wsp. [4] podają, że działanie ciśnieniem 600 MPa przez 6 min na plasterkowane surowo-dojrzewające szynki (zapakowane próżniowo) pozwala zapobiec niekorzystnym zmianom smaku i zapachu podczas 60 dni przechowywania. Wg Matser i wsp. [10] zastosowanie wysokociśnieniowej obróbki, w porównaniu z tradycyjnym procesem sterylizacji, powoduje mniejsze straty wartości odżywczych produktu. Tekstura, smak i zapach produktu utrwalonego w ten sposób są odbierane przez osoby oceniające lepiej niż utrwalonego z użyciem wysokiej temperatury.

W żadnej z próbek polędwic nie stwierdzono wzrostu enterokoków (tab. 3). Podczas przechowywania surowej polędwicy wędzonej, poddanej działaniu wysokiego ciśnienia, nie stwierdzono wzrostu drobnoustrojów mezofilnych, psychrofilnych oraz kwaszących. W polędwicy sopockiej drobnoustroje mezofilne pojawiły się już po 6, a kwaszące po 8 tygodniach przechowywania w warunkach chłodniczych. Bakterie

z grupy coli pojawiły się tylko w kontrolnej surowej polędwicy wędzonej po 6 i 8 tygodniach przechowywania, natomiast we wszystkich próbkach polędwic niepoddawanych działaniu ciśnienia stopniowo wzrastała liczba bakterii mezofilnych, psychrofilnych i kwaszących. Ananth i wsp. [1], badając wpływ wysokiego ciśnienia na surową polędwicę wieprzową, stwierdzili, że ciśnienia 414 MPa przez 13 min w temp. 25°C inaktywuje takie patogeny, jak *Listeria monocytogenes* i *Salmonella typhimurium*, nie powodując, w porównaniu z próbką kontrolną, istotnych zmian sensorycznych. Górecka [5] dowiodła, że zastosowanie ciśnienia rzędu 300 i 400 MPa przez 10 min nie było wystarczające do przedłużenia trwałości oraz zapewnienia jakości szynki tradycyjnej. Dopiero ciśnienie 500 MPa w ciągu 10 min zahamowało w szynkach przechowywanych w warunkach chłodniczych wzrost ogólnej liczby bakterii, bakterii psychrofilnych, kwaszących oraz enterokoków.

### Wnioski

1. W przypadku surowej polędwicy wędzonej ciśnienie 600 MPa w temp. pokojowej (20±2°C) zahamowało rozwój enterokoków, bakterii z grupy coli, bakterii mezofilnych, psychrofilnych oraz kwaszących, natomiast nie wyeliminowało ich wzrostu w przypadku polędwicy sopockiej.
2. Niekorzystnym skutkiem zastosowania obróbki wysokociśnieniowej próżniowo pakowanej polędwicy sopockiej oraz surowej polędwicy wędzonej było zwiększenie ilości wycieku w opakowaniu oraz istotne, nienaturalne rozjaśnienie barwy w przypadku surowej polędwicy wędzonej. Świadczy to o częściowej denaturacji białek mięśniowych. Brak niekorzystnych zmian barwy w polędwicy sopockiej jest powodowany przez wcześniejszą obróbką termiczną.

### Literatura

- [1] Ananth V., Dickson J.S., Olson D.G., Murano E.A.: Shelf life extension, safety and quality of fresh pork loin treated with high hydrostatic pressure. *J. Food Sci.*, 1998, **61** (12), 1649-1656.
- [2] Cassens R.G., Greaser M.L., Ito T., Lee M.: Reactions of nitrite in meat. *Food Technol.*, 1979, **33** (7), 46.
- [3] Dehne L.I., Pfister M.K.-H., Bogl K.W.: Verfahren zur Haltbarmachung. *Fleischwirt.*, 2000, **81** (10), 41-45.
- [4] Garriga M., Aymerich M.T., Hugas M.: Effect of high pressure processing on the microbiology of skin-vacuum packaged sliced meats products: cooked pork ham, dry cured ham and marinated beef loin. Profit Final Project Report. 2002, FIT06000020006.
- [5] Górecka K.: Influence of UHP treatment on quality of ham. Proc. 4<sup>th</sup> International High Pressure School, Warszawa 2001, p. 18.
- [6] Grochalska D., Gajos K., Windyga B., Fonberg-Broczek M., Ścieżyńska H., Mroczek J.: Wpływ wysokich ciśnień na właściwości i trwałość surowej polędwicy wędzonej. *Mięso i Wędliny*, 2001, (6), 24-26.

- [7] Hornsey M.: The colour of cooked cured pork. *J. Sci. Agric.*, 1956, **9** (7), 534.
- [8] Jankowska B., Korzeniowski W., Kwiatkowska A., Korzeniowski J., Olendzki B.: Wpływ wysokich ciśnień na barwę mięsa. *Materiały XXIX Sesji Naukowej KTiChŻ PAN, Olsztyn 1998*, s. 83-84.
- [9] Jimenéz-Colmenero F., Carballo J., Fernández P., Baretto G., Solas M.: High-pressure-induced changes in the characteristics of low and high-fat sausages. *J. Sci. Agric.*, 1997, **75**, 61-66.
- [10] Matser A.M., Krebbers B., Van den Berg R.W., Bartels P.V.: Advantages of high pressure sterilization on quality of food products. *Trends Food Sci. Technol.*, 2004, **15**, 79-85.
- [11] Pietrzak D., Mroczek J.: Wpływ wysokich ciśnień na jakość i trwałość gotowanych wędzonek wieprzowych. *Postępy Techniki Przetw. Spoż.*, 2003, (1), 4-8.
- [12] PN-73/A-82114. Mięso i przetwory mięsne. Oznaczanie zawartości azotynów i azotanów.
- [13] PN-A-82055-8:1994. Mięso i przetwory mięsne. Badania mikrobiologiczne.
- [14] Tierno M., Vogel E., Stahl J., Fries L.L.M., Terra N.N.: Replacement substance in the curing. 47<sup>th</sup> ICoMST, Kraków 2001, vol. 1, pp. 192-193.
- [15] Tyszkiewicz I.: Funkcje azotynu w procesie peklowania mięsa. *Gosp. Mięsna*, 1980, **32** (7), 23.

#### **EFFECT OF HIGH PRESSURE ON SOME SELECTED QUALITY ATTRIBUTES OF THE COOKED (SOPOCKA) AND RAW SMOKED PORK LOIN**

##### S u m m a r y

The effect of high pressure on some selected quality attributes and stability of cooked pork loin (the so called sopocka pork loin) and raw smoked pork loin was investigated. A pork loin was produced with a 20% brine injection with relation to the entire product mass. Samples of the final product were portioned, treated with a high pressure of 600 MPa during a period of 30 minutes at a room temperature ( $20\pm 2^{\circ}\text{C}$ ), and stored at  $4-6^{\circ}\text{C}$  for 0, 6 and 8 weeks under the chilling conditions ( $4-6^{\circ}\text{C}$ ).

The following parameters were determined: physical components of colour, amount of the forced drip, content of total pigments, nitrosylpigments, residual nitrite(III), and the degree of pigment conversion; also, the sensory evaluation of the pork loin colour, smell, taste, and consistency was made. The microbiological determinations were made, too, and the photographs of the experimental products were taken.

On the basis of the investigation results, it was stated that the high pressure treatment extended the shelf life of the sopocka pork loin up to 6 weeks under the chilling conditions and did not deteriorate its taste, smell and consistency. The microbiological consistency of raw smoked pork loin samples treated by high pressure was better since no mesophilic, psychrophilic, and acidifying bacteria grew during the storage period. The high pressure treatment applied to pork loin samples investigated generated an increase in the volume of forced drip in the packages containing samples of both the sopocka and the raw smoked pork loin, and affected the colour of the raw smoked pork that became lighter (a higher  $L^*$  value of the colour was stated).

**Key words:** high pressure, preservation, cooked pork loin (sopocka pork loin), raw smoked pork loin ☒

GRAŻYNA CICHOSZ, ANETA KONOPKA, ANNA ZALECKA

**DOJRZEWANIE SERA GOUDA – MONITORING  
Z ZASTOSOWANIEM METODY ODWOŁAWCZEJ  
I METOD ALTERNATYWNYCH**

**Streszczenie**

Różnorodność procesów mikrobiologicznych i biochemicznych podczas dojrzewania sera, wzajemne pomiędzy nimi zależności oraz zmienność w czasie utrudniają monitorowanie procesów proteolizy i peptydolizy. Z tego powodu w różnych ośrodkach naukowych realizowane są badania nad opracowaniem wiarygodnych metod monitoringu proteolizy podczas dojrzewania różnego typu serów.

Oceniając degradację parakazeiny podczas dojrzewania sera Gouda stwierdzono odmienną dynamikę formowania niskocząsteczkowych związków azotowych. Podczas 6 tygodni dojrzewania przyrosty zawartości N-peptydowego, N-aminokwasowego i N-aminowego wynosiły odpowiednio 280,4; 304,6 i 242,0%. Natomiast przyrosty zawartości peptydów rozpuszczalnych w 2- i 12-procentowym TCA były zdecydowanie mniejsze i wynosiły odpowiednio: 167 oraz 153,8%.

Nie stwierdzono korelacji między zawartością N-rozpuszczalnego, peptydów rozpuszczalnych w 2- i 12-procentowym TCA oraz zawartością niskocząsteczkowych związków azotowych w serach podczas dojrzewania. Natomiast w serach dojrzałych zawartość N-peptydowego i N-aminowego była skorelowana z zawartością N-rozpuszczalnego w pH 4,6. Z kolei zawartość N-aminokwasowego nie była skorelowana z ilością N-rozpuszczalnego, ale korelowała z ilością peptydów rozpuszczalnych w 2- i 12-procentowym TCA.

Metody alternatywne z 2- i 12-procentowym TCA mogą być zatem przydatne do porównywania zakresu i głębokości proteolizy w dojrzałych serach typu holenderskiego. Natomiast w ocenie dynamiki proteolizy podczas dojrzewania sera bardziej przydatny jest tradycyjny (choć praco- i czasochłonny) sposób frakcjonowania różnych form związków azotowych i ich oznaczanie odwoławczą metodą Kjeldahla.

W odróżnieniu od serów typu holenderskiego, w serach Cheddar proteoliza i peptydoliza przebiegała znacznie wolniej i równomiernie – w związku z mniejszą aktywnością wody i stałym składem chemicznym w całej masie sera. Umożliwia to stosowanie metod alternatywnych do monitoringu proteolizy podczas dojrzewania sera Cheddar.

**Słowa kluczowe:** ser Gouda, proteoliza – metody oceny

**Wstęp**

W produkcji i dojrzewaniu sera aktywne są enzymy pochodzące z różnych źródeł: surowca, zakwasu, mikroflory wtórnej oraz egzogenne proteinazy stosowane we wszystkich serach podpuszczkowych w celu koagulacji. Ukierunkowanie tak różnorodnych i złożonych procesów biochemicznych możliwe jest dzięki stosowaniu

kultur starterowych. Zmiany kwasowości, a zwłaszcza ich dynamika, decydują o stopniu odwapnienia skrzepu oraz wielkości micel kazeiny, co wpływa na zwięźłość skrzepu i jego podatność na synerezę, a w konsekwencji na strukturę sera.

Pomiędzy enzymami aktywnymi w procesie wyrobu i dojrzewania sera istnieje wiele zależności. Produkty metabolizmu kultur starterowych uaktywniają działanie podpuszczki. Mimo, iż niewielka część enzymu zatrzymywana jest w skrzepie, podpuszczka odgrywa istotną rolę w degradacji parakazeiny podczas dojrzewania sera, a efektem jej hydrolitycznej aktywności jest formowanie rozpuszczalnych związków azotowych. Z kolei produkty hydrolizy kazeiny podpuszczką mogą uaktywnić proteiny i peptydazy bakteryjne odpowiedzialne za formowanie niskocząsteczkowych peptydów (endopeptydazy) oraz wolnych aminokwasów (egzopeptydazy) [11, 20, 21].

Aktywność enzymów bakteryjnych zależna jest od dostępu do odpowiednich substratów; im więcej w masie sera znajduje się wysokocząsteczkowych peptydów powstających pod wpływem podpuszczki, tym większa jest aktywność peptydaz [7, 9].

Wyniki wcześniejszych opracowań autorów dowodzą, że w degradacji parakazeiny do niskocząsteczkowych związków azotowych bardziej istotne są proteiny i peptydazy nie pochodzących z zakwasu pałeczek mlekowych (NSLAB) niż enzymy uwalniane po autolizie kultur zakwasu. Żaden z wyróżników określających zakres degradacji parakazeiny nie korelował ze stopniem autolizy kultur zakwasu. Stwierdzono natomiast występowanie istotnej korelacji między wzrostem nie pochodzących z zakwasu pałeczek mlekowych (NSLAB) a zawartością N-rozpuszczalnego, N-peptydowego i N-aminowego oraz peptydów rozpuszczalnych w 12-procentowym TCA [5]. Wymienione produkty degradacji parakazeiny w statystycznie istotnym stopniu determinowały jakość sensoryczną sera Gouda [6, 14, 23].

Różnorodność procesów mikrobiologicznych i biochemicznych podczas dojrzewania sera, wzajemne pomiędzy nimi zależności oraz zmienność w czasie utrudniają śledzenie procesów proteolizy i peptydolizy. Dlatego też, w różnych ośrodkach naukowych realizowane są badania nad opracowaniem wiarygodnych metod monitoringu proteolizy podczas dojrzewania serów [15, 16, 17, 18, 19].

Istnieje potrzeba stosowania szybkich metod alternatywnych, gdyż ocena zawartości poszczególnych form związków azotowych w serze odwoławczą metodą Kjeldahla jest zarówno czaso- i pracochłonna, jak też kosztowna. Wyniki metod alternatywnych powinny być jednak zgodne z wynikami metody odwoławczej.

Wobec powyższego podjęto badania, za cel których postawiono:

- ocenę stopnia degradacji parakazeiny metodą odwoławczą (poprzez oznaczanie N-rozpuszczalnego, N-peptydowego i N-aminokwasowego [w % N ogółem]) po soleniu oraz 2, 4 i 6 tygodniach dojrzewania sera Gouda,
- ocenę stopnia degradacji parakazeiny metodą z 2- i 12-procentowym TCA oraz z TNBS po soleniu, jak również po 2, 4 i 6 tygodniach dojrzewania sera Gouda,

- określenie stopnia korelacji między wynikami uzyskanymi metodami alternatywnymi a zawartością poszczególnych form związków azotowych oznaczanych metodą odwoławczą.

### **Materiał i metody badań**

Sery Gouda (n=12) produkowano w warunkach przemysłowych zgodnie z instrukcją zakładową w Spółdzielni Mleczarskiej Mlekoop w Grajewie, Zakład w Kolnie, z mleka poddanego termizacji, baktofugacji i pasteryzacji, wzbogaconego dodatkiem  $\text{CaCl}_2$  i  $\text{KNO}_3$ . Zastosowano podpuszczkę Chymax oraz kultury starterowe typu BD w postaci zakwasów roboczych, (do których propagacji zastosowano podłoża buforowe) lub głęboko mrożonych koncentratów bakterii mlekowych. Kultury starterowe oraz podłoża pochodziły od dwóch różnych producentów.

Ocenę stopnia degradacji parakazeiny podczas dojrzewania sera przeprowadzono metodą odwoławczą (metoda Kjeldahla), uwzględniającą zmiany zawartości poszczególnych form związków azotowych a także metodami alternatywnymi z zastosowaniem kwasu trichlorooctowego o stężeniu 2 i 12% oraz TNBS.

Oznaczano zawartość: związków azotowych ogółem [8], związków azotowych rozpuszczalnych w środowisku o pH 4,6 wg Sode Mogensena [8], związków azotowych peptydowych wg Boulanger i wsp. w roztworze związków azotowych niebiałkowych przygotowanym wg Schobera i wsp. [8], związków azotowych aminokwasowych metodą Sirksa [8], aminowych związków azotowych (wolne grupy aminowe z TNBS) [12], związków azotowych rozpuszczalnych w 2- i 12-procentowym roztworze kwasu trichlorooctowego (TCA) [10].

Obliczono podstawowe miary statystyczne: wartość średnią ( $\bar{x}$ ), odchylenie standardowe (SD), współczynnik zmienności (v). Istotność różnic między zawartością poszczególnych form związków azotowych oznaczonych metodą odwoławczą oraz alternatywną określano wyznaczając współczynnik korelacji przy prawdopodobieństwie  $\alpha = 0,05$ . Obliczenia wykonano za pomocą programu komputerowego Microsoft Excel 2000.

### **Wyniki i dyskusja**

Porównanie dynamiki degradacji parakazeiny w badanych serach było możliwe dzięki odniesieniu zawartości poszczególnych form związków azotowych do zawartości N ogółem (tab. 1, rys. 1).

Nie stwierdzono korelacji między ilością niskocząsteczkowych form związków azotowych a zawartością N-rozpuszczalnego (tab. 2). W skład N-rozpuszczalnego, oprócz niskocząsteczkowych produktów degradacji parakazeiny – formowanych przez enzymy bakteryjne – wchodzi także peptydy uwalniane przez podpuszczkę [7, 9]. Enzymy bakteryjne odpowiedzialne za formowanie niskocząsteczkowych peptydów, wolnych aminokwasów i związków aminowych są mało aktywne w początkowych etapach dojrzewania ze względu na brak odpowiednich substratów.



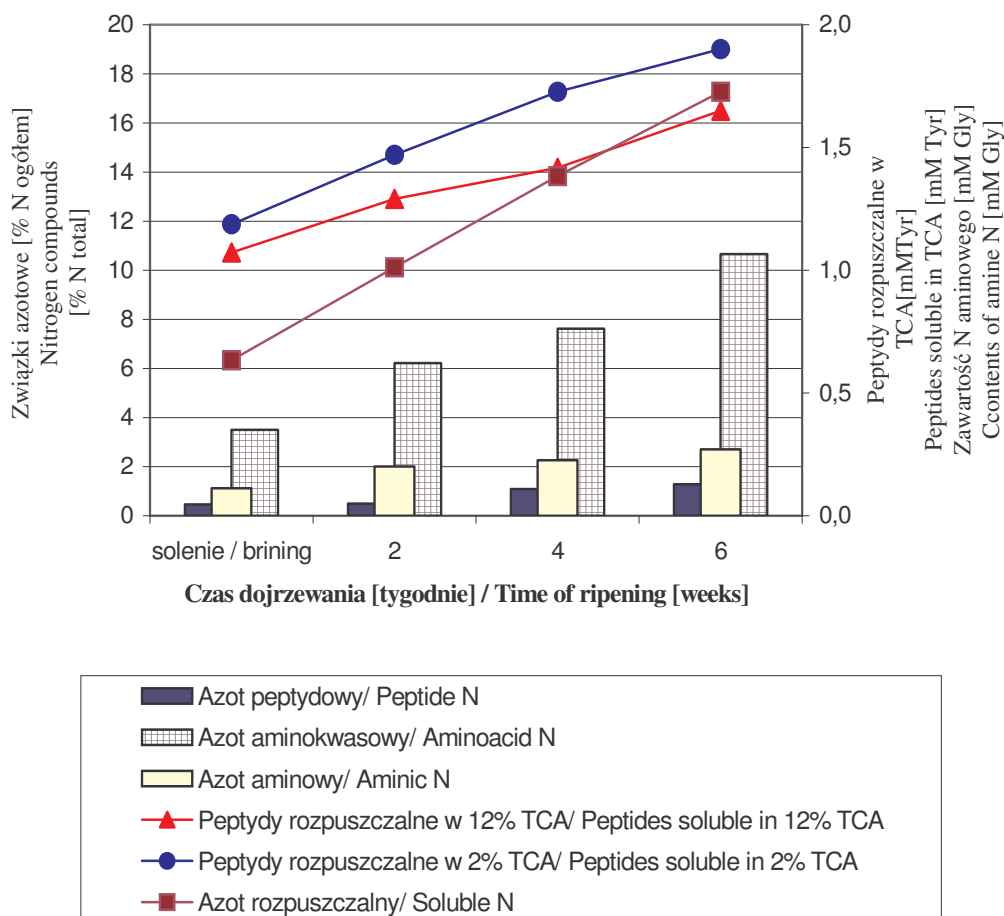
Tabela 1

Zawartość związków azotowych podczas dojrzewania sera Gouda (n = 12).  
The content of nitrogen compounds when the Gouda cheese ripens (n = 12).

Forma związków azotowych Type of nitrogen compounds	Miary statystyczne Statistical parameters	Czas dojrzewania [tygodnie] Time of ripening [weeks]			
		Solenie Brining	2	4	6
N-rozpuszczalny [% N ogółem] Soluble N [% of total N]	$\bar{x}$	6,33	10,12	13,84	17,27
	SD	1,41	1,65	2,77	2,64
	v [%]	22,1	82,5	69,3	44,0
N-peptydowy [% N ogółem] Peptide N] [% of total N]	$\bar{x}$	0,46	0,49	1,09	1,29
	SD	0,19	0,11	0,36	0,55
	v [%]	0,9	0,1	0,5	1,3
N-aminokwasowy [% N ogółem] Aminoacid N [% of total N]	$\bar{x}$	3,50	6,22	7,62	10,66
	SD	1,38	1,34	0,93	2,84
	v [%]	160,7	1005,0	178,9	227,2
N-aminowy Aminic N [mM Gly]	$\bar{x}$	0,11	0,20	0,23	0,27
	SD	0,04	0,03	0,02	0,05
	v [%]	33,9	16,4	8,8	18,8
Peptydy rozpuszczalne w 2% TCA Peptides soluble in 2 % TCA [mM Tyr]	$\bar{x}$	1,22	1,47	1,73	24,92
	SD	0,22	0,22	0,20	64,36
	v [%]	0,6	1,1	1,7	302,4
Peptydy rozpuszczalne w 12% TCA Peptides soluble in 12 % TCA [mM Tyr]	$\bar{x}$	1,07	1,29	1,42	1,65
	SD	0,28	0,17	0,18	0,14
	v [%]	45,5	15,6	10,7	8,3

Objaśnienia: / Explanatory notes:

$\bar{x}$  – wartość średnia / mean value; SD – odchylenie standardowe / standard deviation;  
v – współczynnik zmienności / variability coefficient.



Rys. 1. Zmiany zawartości N-rozpuszczalnego, peptydów rozpuszczalnych w 2- i 12-procentowym TCA w zależności od zawartości niskocząsteczkowych produktów degradacji parakazeiny.

Fig. 1. Changes in the content of soluble N, peptides soluble in 2% and 12% TCA depending on the content of low-molecular products of the paracasein degradation.

W skład frakcji peptydów rozpuszczalnych w 2-procentowym TCA oraz frakcji związków azotowych rozpuszczalnych w środowisku o pH 4,6 weszły produkty degradacji parakazeiny o podobnej masie cząsteczkowej. Mimo to, porównując wymienione wyróżniki stopnia dojrzewania sera, nie stwierdzono zależności statystycznie istotnej. Dodatnią korelację stwierdzono natomiast między ilością peptydów rozpuszczalnych w 2-procentowym TCA a zawartością N-aminokwasowego – ale tylko po 4 i 6 tygodniach dojrzewania (tab. 2).

Frakcja peptydów rozpuszczalnych w 12-procentowym TCA, to przede wszystkim niskocząsteczkowe peptydy (2 do 20 aminokwasów) i wolne aminokwasy [4, 13]. Wbrew oczekiwaniom zmiany zawartości N-peptydowego oraz N-aminokwasowego w badanych serach nie były skorelowane ze zmianami zawartości peptydów rozpuszczalnych w 12-procentowym TCA (tab. 2).

Z porównania zmian zawartości N-rozpuszczalnego oraz peptydów rozpuszczalnych w 2- i 12-procentowym TCA wynika całkowicie odmienna dynamika formowania wymienionych produktów degradacji parakazeiny (rys. 1). W serach bezpośrednio po soleniu stwierdzono zdecydowanie wyższą zawartość peptydów rozpuszczalnych w 2- i 12-procentowym TCA niż ilość N-rozpuszczalnego. Podczas kolejnych etapów dojrzewania różnicowanie to sukcesywnie malało. Uzyskane w tym zakresie wyniki są całkowicie zgodne z rezultatami, jakie przedstawili różni autorzy w licznych opracowaniach naukowych dotyczących procesu dojrzewania serów: ementalskiego [15, 16], francuskiego Comte [3], Cheddar [10, 18, 19], greckiego Kefalotyri oraz niedojrzewających serów Feta i Teleme [12].

Tabela 2

Współczynniki korelacji między zawartością N-rozpuszczalnego, peptydów rozpuszczalnych w 2 i 12-procentowym TCA a zawartością niskocząsteczkowych form związków azotowych.  
Coefficients of correlation among the contents of soluble N, peptides soluble in 2% and 12 % TCA, and of the low – molecular nitrogen compounds.

Forma związków azotowych Type of nitrogen compounds	N-rozpuszczalny Soluble N				Peptydy rozpuszczalne w 2% TCA Peptides soluble in 2% TCA				Peptydy rozpuszczalne w 12% TCA Peptides soluble in 12 % TCA			
	Solenie Brining	2	4	6	Solenie Brining	2	4	6	Solenie Brining	2	4	6
N-peptydowy Peptide N	-0,59	-0,02	0,58	0,58	0,77	-0,21	-0,38	-0,67	0,37	-0,25	-0,15	0,02
N-aminokwasowy Aminoacid N	-0,60	-0,24	0,18	0,16	0,13	-0,46	0,12	0,65	-0,15	-0,49	0,06	0,06
N-aminowy Aminic N	0,49	-0,16	0,07	0,64	-0,62	0,59	0,18	-0,25	-0,39	0,66	0,30	0,36
N-rozpuszczalny Soluble N	-	-	-	-	-0,50	-0,29	-0,68	-0,10	-0,57	-0,14	-0,39	0,53

Wytrącanie produktów degradacji parakazeiny roztworem TCA jest klasyczną, stosowaną przez różnych autorów [4, 13, 15] metodą frakcjonowania związków azotowych rozpuszczalnych w wodzie (WSF). W zależności od koncentracji TCA (2, 2,5 i 12%) wytrącane są produkty hydrolizy kazeiny o różnej masie cząsteczkowej. Stosując 2- i 12-procentowy TCA wytrąca się odpowiednio ok. 10 i 50% N-rozpuszczalnego w środowisku o pH 4,6. Frakcja wytrącona 2-procentowym TCA zawiera w większości peptydy o wysokiej masie cząsteczkowej. Z kolei frakcja

wytracona 12-procentowym TCA, oprócz wysokocząsteczkowych, zawiera także peptydy o mniejszej masie cząsteczkowej, co udowodniono stosując elektroforezę [10].

Fracjonowanie 5-procentowym kwasem fosforowolframowym (PTA) jest bardziej selektywne. W przypadku sera Cheddar po 1 i 3 miesiącach dojrzewania frakcja rozpuszczalna w 5-procentowym PTA stanowiła odpowiednio 1,5 i 3,0% N ogółem. W skład omawianej frakcji wchodzi aminokwasy i peptydy o masie cząsteczkowej poniżej 600 Da [4]. W badanych serach Gouda zawartość frakcji rozpuszczalnych w 5% kwasie fosforowolframowym, (czyli zawartość N-aminokwasowego) wynosiła średnio od 3,5 (w serach po soleniu) do 10,66% N-ogółem (w serach po 6 tygodniach dojrzewania) (tab.1). Tak wysokie przyrosty zawartości N-aminokwasowego były konsekwencją wyższej  $a_w$  w serach Gouda w porównaniu z serami Cheddar. Skutkiem tego, mimo zaledwie 6 tygodni dojrzewania, procesy hydrolizy parakazeiny są w serach Gouda bardzo intensywne[5].

Statystycznie istotną zależność między ilością N-rozpuszczalnego [% N ogółem] oznaczonego metodą Kjeldhala a ilością N-aminowego oznaczonego z TNBS w niedojrzewających serach Feta i Teleme stwierdziła Polychroniadou [12].

Kuchroo i wsp. [10] stwierdzili powolne tempo formowania N-rozpuszczalnego oraz N-aminowego oznaczanego z TNBS podczas pierwszych tygodni dojrzewania sera Cheddar. Dopiero po 12 tygodniach dojrzewania sera procesy proteolizy i peptydolizy uległy wyraźnej intensyfikacji.

Prace badawcze dotyczące stosowania metod alternatywnych zamiast pracochłonnego frakcjonowania związków azotowych metodą Kjeldhala w serze ementalnym realizował Rohm i wsp. [15,16]. W dojrzałych serach Groyer zawartość N-rozpuszczalnego korelowała z ilością amoniaku uwalnianego podczas destylacji próbek sera rozpuszczonych w 40-procentowym roztworze NaOH [17].

Fracjonowanie związków azotowych sera Cheddar oraz identyfikacja peptydów były przedmiotem badań Singh i wsp.[18, 19]. Ekstrakt frakcji rozpuszczalnej w wodzie z sera Cheddar frakcjonowano poprzez ultrafiltrację i diafiltrację. Stosując oznaczanie sekwencji aminokwasów spektrometrią masową oraz chromatografią DEAE na celulozie, zidentyfikowano peptydy uwalniane przez podpuszczkę oraz proteiny ściany komórkowej kultur starterowych *Lactococcus* ssp. z poszczególnych frakcji kazeiny.

Z licznych opracowań naukowych wynika, że możliwy jest monitoring degradacji parakazeiny podczas dojrzewania serów przy zastosowaniu metod, których podstawą jest oznaczanie zawartości wolnych aminokwasów [1, 3, 4] lub grup aminowych (TNBS) [10, 22]. Jednak wymienione opracowania naukowe dotyczą sera Cheddar oraz greckich serów niedojrzewających. Tymczasem w serach typu holenderskiego przemiany biochemiczne są bardzo intensywne ze względu na wysoką aktywność wody, czym należy tłumaczyć brak korelacji wyników uzyskanych metodą odwoławczą oraz metodami z 2- i 12-procentowym TCA, a także TNBS.

Również metody instrumentalne: chromatografia, elektroforeza – stosowane we frakcjonowaniu oraz identyfikacji peptydów, a także określaniu ich masy cząstecz-

kowej – w ilościowej ocenie procesu hydrolizy parakazeiny podczas dojrzewania sera nie są przydatne [2, 10, 18].

### Wnioski

1. Nie stwierdzono korelacji między zawartością N-rozpuszczalnego, ilością peptydów rozpuszczalnych w 2- i 12-procentowym TCA oraz zawartością niskocząsteczkowych form związków azotowych w serach podczas dojrzewania.
2. W serach dojrzałych zawartość N-rozpuszczalnego skorelowana była z ilością N-eptydowego i N-aminowego, poza tym stwierdzono korelację N-aminokwasowego i peptydów rozpuszczalnych w 2-procentowym TCA.
3. Metody alternatywne nie są przydatne w monitoringu proteolizy i peptydolizy podczas dojrzewania sera Gouda. Mogą być natomiast stosowane przy porównaniach zakresu proteolizy w dojrzałych serach różnego typu.

*Pracę zrealizowano w ramach grantu KBN 5P06G01818*

### Literatura

- [1] Ardö Y., Meisel H.: Methods for direct measurement of peptide bond cleavage in cheese. Bulletin IDF, 1991, **261**, 10-13.
- [2] Ardö Y., Gripon J.C.: Chromatographic methods used to measure proteolysis in cheese. Bulletin IDF, 1991, **261**, 29-34.
- [3] Bouton Y., Grappin R.: Measurement of proteolysis in cheese: relationship between phosphotungstic acid-soluble N fraction by Kjeldahl and 2,4,6- trinitrobenzenesulphonic acid-reactive groups in water-soluble N. J. Dairy Res., 1994, **61**, 437-440.
- [4] Christensen T.M.I.E., Bech A.M., Werner H.: Methods for crude fractionation (extraction and precipitation) of nitrogen components in cheese. Bulletin IDF, 1991, **261**, 4-9.
- [5] Cichosz G., Zalecka A., Lenkiewicz M.: The influence of streptococci and lactobacilli on proteolysis in Gouda cheese. Milchwissenschaft, 2003, **58 (5/6)**, 297-300.
- [6] Cichosz G., Zalecka A., Kornacki M.: Effect of paracasein degradation on sensory properties of Gouda cheese. Nahrung/Food, 2003, **47 (6)**, 383-387.
- [7] El Soda M.: Accelerated maturation of cheese. Int. Dairy J., 1993, **(93)**, 531-544.
- [8] Heldrich K.: Official methods of analysis of the association of official analytical chemists. Association of Official Analytical Chemists, Inc., Arlington 1990, Virginia.
- [9] Khalid N.M., Marth E.H.: Lactobacilli- Their enzymes and role in ripening and spoilage of cheese. A review. J. Dairy Sci., 1990, **73**, 2669-2684.
- [10] Kuchroo C.N., Fox P.F.: Soluble nitrogen in Cheddar cheese: comparison of extraction procedures. Milchwissenschaft, 1982, **37**, 331-335.
- [11] Law B.A.: 1987; Proteolysis in relation to normal and accelerated cheese ripening in cheese. Chemistry, Physics and Microbiology, 1987, **1**, 365-392.
- [12] Polychroniadou A.: A simple procedure using trinitrobenzenesulphonic acid for monitoring proteolysis in cheese. J. Dairy Res., 1988, **55**, 585-596.
- [13] Yvon M., Chabenet C., Pelissier J.P.: Solubility of peptides in trichloroacetic acid (TCA) solutions. Int. J. Peptide Protein Res., 1989, **39**, 166-176.
- [14] Yvon M., Rijnen L.: Cheese flavour formation by amino acid catabolism. Int. Dairy J., 2001, **11**, 185-201.

- [15] Rohm H., Jaros D., Rockenbauer Ch., Riedler-Hellrigl M., Uniacke-Lowe T., Fox P.F.: Comparison of ethanol and trichloroacetic acid fractionation for measurement of proteolysis in Emmental cheese. *Int. Dairy J.*, 1996, **6**, 1069-1077.
- [16] Rohm H., Tschager E., Jaros D.: 1996; Determination of Proteolysis in Swiss Cheese: Comparison of the Kjeldahl Method and a Spectrophotometric OPA Assay. *Lebensm.-Wiss. U.-Technol.*, 1996, **29**, 191-194.
- [17] Rohm H., Jaros D., Riedler-Hellrigl M.: A simple distillation method for the assessment of proteolysis in hard cheese. *Lebensm.-Wiss. U. Technol.*, 1997, **30** 767-769.
- [18] Singh T.K., Fox P.F., Hojrup P. Healy A.: A scheme for the fractionation of cheese nitrogen and identification of principal peptides. *Int. Dairy J.*, 1994, **4**, 111-122.
- [19] Singh T.K., Fox P.F., Healy A.: Water-soluble peptides in Cheddar cheese: isolation and identification of peptides in the diafiltration retentate of the water-soluble fraction. *J. Dairy Res.*, 1995, **62**, 629-640.
- [20] Sousa M.J., Ardö Y., McSweeney P.L.H.: Advances in the study of proteolysis during cheese ripening. *Int. Dairy J.*, 2001, **11**, 327-345.
- [21] Van der Berg G., Exterkate F.A.: Technological parameters involved in cheese ripening. *Int. Dairy J.*, 1993, **3**, 458-507.
- [22] Wallace J.M., Fox P.F.: Rapid spectrophotometric and fluorimetric methods for monitoring nitrogenous (proteinaceous) compounds in cheese and cheese fractions: a review. *Food Chem.*, 1998, **62** (2), 217-224.
- [23] Williams A.G., Noble J., Banks J.M.: Catabolism of amino acids by lactic acid bacteria isolated from Cheddar cheese. *Int. Dairy J.*, 2001, **11**, 203-215.

## **RIPENING OF THE GOUDA CHEESE – MONITORING USING AN APPEAL METHOD AND ALTERNATIVE METHODS**

### **S u m m a r y**

The diversity of microbiological and biochemical processes occurring while cheeses ripen, interrelations among those processes, as well as their changeability with time make the monitoring of proteolysis and peptidolysis processes difficult. This is why special research projects are performed in many scientific centres aiming at developing a reliable method to monitor the proteolysis process when various types of cheeses ripen.

While evaluating the degradation of paracasein during the ripening of Gouda cheese, it was stated that the dynamics of the process of forming low-molecular nitrogen compounds was different. During a 6 week period of ripening, the rates of increase in the contents of peptide N, aminoacid N, and aminic N amounted to 280.4; 304.6; and 242.0%, respectively. However, the rates of increase in the contents of soluble peptides in 2% and 12% TCA were definitely lower, and amounted to 167 and 153.8%, respectively.

No correlation was found among the content of soluble N, peptides soluble in 2% and 12% TCA, and of the low-molecular nitrogen compounds in cheeses during their ripening. Yet, in the ripe cheeses, the contents of peptide N, aminic N, and of the total content of low-molecular products of the degradation of paracasein were correlated with the content of soluble N at pH 4.6. On the other hand, the content of aminoacid N was not correlated with the content of soluble N, but it was correlated with the amount of soluble peptides in 2% and 12% TCA.

Therefore, those alternative methods with 2% and 12% TCA can be useful when comparing the range and depth of proteolysis in ripe Dutch type cheeses. Yet, for the purpose of evaluating the dynamics of proteolysis occurring whilst cheeses ripen, a traditional method for the fractionation of various forms of nitrogen compounds, and their determination with the Kjeldahl method appears to be more suitable.

Contrary to Dutch type cheeses, the proteolysis and peptidolysis in the Cheddar cheeses run much slower and evenly owing to a lower water activity and thanks to the constant chemical composition throughout the whole mass. This fact makes it possible to apply alternative methods to monitor the proteolysis process whilst the Cheddar cheese ripens.

**Key words:** Gouda cheese, proteolysis – analytical methods 



ZBIGNIEW RZEDZICKI, PIOTR ZARZYCKI

## **WPŁYW PROCESU EKSTRUZJI MIESZANEK KUKURYDZIANO-OWSIANYCH NA ZMIANY SKŁADU FRAKCYJNEGO BŁONNIKA POKARMOWEGO**

### Streszczenie

Badano wpływ udziału razówki owsianej i lędwianowej na przebieg procesu ekstruzji oraz przemiany chemiczne polisacharydów nieskorbiowych w ekstrudatach. Stwierdzono, że mieszanina kaszki kukurydzianej z razówką owsianą może być wartościowym surowcem do produkcji wyrobów ekstrudowanych. Założone parametry procesu (profil rozkładu temperatury cylindra 145/165/120°C, wilgotność surowca 13,5%; matryca 3,5 mm) umożliwiły ustabilizowanie warunków wytłaczania przy maksymalnej, 18-procentowej zawartości razówki owsianej w ekstrudowanej mieszance. Proces ekstruzji wpłynął na obniżenie w ekstrudatach zawartości błonnika pokarmowego całkowitego (TDF) i jego frakcji nierozpuszczalnej (IDF) oraz powodował wzrost zawartości frakcji rozpuszczalnej (SDF). Wielkość tych zmian była uzależniona od składu mieszanki. Nie stwierdzono znaczącego wzrostu zawartości żelaza, manganu i niklu w wyrobach ekstrudowanych w porównaniu z mieszankami surowców.

**Słowa kluczowe:** ekstruzja, owies, lędwian, kukurydza, błonnik pokarmowy

### **Wprowadzenie**

Jednym z podstawowych i niezastąpionych składników żywności o korzystnym wpływie na organizm człowieka jest błonnik pokarmowy [1, 6, 14]. Obserwowany od kilkunastu lat wzrost zainteresowania błonnikiem pokarmowym zarówno ze strony nauki, jak i konsumentów nie wpłynął jednak na spodziewaną zmianę nawyków żywieniowych. Nadal codzienne spożycie błonnika w krajach wysokorozwiniętych jest niższe od zalecanego [5]. W wielu procesach technologicznych przemysłu spożywczego błonnik ciągle traktowany jest jako zbędny „balast” obniżający właściwości funkcjonalne i sensoryczne żywności. Upowszechnianie się nowych technologii, w tym ekstruzji, nie spowodowało radykalnych zmian w tym zakresie. Niewątpliwą zaletą ekstruzji, która powinna być szeroko wykorzystana, jest możliwość bardzo dobrego wkomponowania frakcji błonnikowej w skład produktu. Otrzymane ekstrudaty wykazują wysoki stopień przetworzenia, dobrą teksturę i są pod względem sensorycznym atrakcyjne dla konsumenta [9, 10, 11, 15]. W czasie ekstruzji materiał

jest intensywnie mieszany, uplastyczniany aż do upłynnienia masy włącznie. Tak przetworzony surowiec jest formowany do postaci gotowego produktu. W wyniku procesu dochodzi nie tylko do całkowitej zmiany fizycznej przetwarzanego surowca, ale także zachodzą istotne przemiany chemiczne w składnikach ekstrudowanej masy. Obserwuje się m.in. gwałtowny wzrost rozpuszczalności suchej masy [12, 13], spadek zawartości całkowitego błonnika pokarmowego (TDF) przy jednoczesnym wzroście zawartości frakcji rozpuszczalnej (SDF) i jednoczesnym spadku zawartości frakcji nierozpuszczalnej (IDF) w ekstrudacie w porównaniu z surowcem [4, 7, 8, 10, 19]. Autorzy tłumaczą to zachodzącą w czasie procesu depolimeryzacją polisacharydów nieskrobiowych, które w czasie analiz oznaczane są jako frakcje rozpuszczalne. Istotny wpływ na zachodzące zmiany wywiera temperatura procesu i wilgotność surowca. Niektórzy badacze zwracają uwagę na pewne niebezpieczeństwo, że duży udział komponentów błonnikowych w przetwarzanym surowcu może powodować zwiększone ścieranie elementów roboczych ekstrudera i powodować istotny wzrost zanieczyszczeń metalicznych w produktach gotowych [3].

Celem niniejszej pracy było określenie wpływu składu ekstrudowanych mieszanin z udziałem kaszki kukurydzianej, razówki owsianej i lędźwianu na przebieg ekstruzji, zmiany składu chemicznego ze szczególnym uwzględnieniem zawartości poszczególnych frakcji błonnika pokarmowego (TDF, IDF, SDF) oraz możliwość wzrostu zanieczyszczeń metalicznych produktu.

### **Materiał i metody badań**

Surowcami zastosowanymi w badaniach były: kaszka kukurydziana, nasiona lędźwianu siewnego odmiany Derek, ziarno owsa obłuszczonego o składzie chemicznym podanym w tab. 1. i 2. oraz pełnotłuste mleko w proszku i sól. Nasiona lędźwianu siewnego oraz ziarno owsa łuszczonego rozdrabniano do odpowiedniej granulacji przy użyciu rozdrabniacza udarowego, typ H-111/3, z zastosowaniem sit o średnicy otworów 3 mm [13]. Komponenty mieszano w ściśle określonych proporcjach wynikających z zastosowanego modelu doświadczenia (tab. 3), nawilżano do wilgotności 13,5% a następnie kondycjonowano przez okres 12 h w celu zapewnienia właściwej dyfuzji wody w surowcu. W badaniach zastosowano ekstruder jednoślindakowy S-45 produkcji Metalchem Gliwice (L:D=12:1; stopień sprężania ślimaka 3:1). Na podstawie dotychczasowych badań [13] oraz badań pilotażowych przyjęto następujące parametry procesu: średnica matrycy 3,5 mm; obroty ślimaka 110 obr./min; rozkład temperatury cylindra 145/165/120°C. W surowcach (tab. 1 i 2) oraz otrzymanych ekstrudatach (tab. 3, rys. 1 - 5)) oznaczano zawartość białka [AACC, Method 46-08, N x 6,25], tłuszczu [AACC, Method 30-10], włókna surowego metodą weendejską (AACC, Method 32-10) i popiołu [AACC, Method 08-01]. Oznaczano również błonnik pokarmowy całkowity (TDF), nierozpuszczalny (IDF) i rozpuszczalny (SDF). Oznaczenia wykonywano według metod AOAC, Method 991.43; AOAC Method 985.29; AACC, Method 32-07; AACC, Method 32-21; AACC, Method 32-05 stosując zestawy enzymów i procedury firmy Megazyme. Oznaczenia poszczególnych

frakcji włókna detergentowego wykonano zgodnie z metodyką opracowaną przez van Soesta [17] oraz van Soesta i wsp. [18]. Zawartość żelaza, manganu, i niklu w poszczególnych ekstraktach określano metodą atomowej spektrofotometrii absorpcyjnej (ASA) przy użyciu aparatu Unicam 939 [AOAC, Method 975.03].

Tabela 1

Skład chemiczny surowców [% s.m.].

The chemical composition of raw materials [% d.m.].

Komponent Component	Białko Protein	Tłuszcz Fat	Popiół Ash	Błonnik pokarmowy Dietary fibre			Pierwiastki / Elements [mg/kg s.m.]		
				TDF	IDF	SDF	Fe	Mn	Ni
Kaszka kukurydz. Corn semolina	8,41	1,18	1,45	6,26	5,32	0,94	13,05	1,21	0,23
Lędźwian Everlasting pea	28,00	1,14	3,40	33,37	29,02	4,35	76,32	22,14	3,50
Razówka owsiana Oat whole grain meal	14,93	7,64	2,12	18,05	13,32	4,73	38,96	32,56	0,65

Objaśnienia; / Explanatory notes:

TDF – błonnik pokarmowy całkowity / total dietary fibre; IDF – błonnik pokarmowy nierozpuszczalny / insoluble dietary fibre; SDF – błonnik pokarmowy rozpuszczalny / soluble dietary fibre.

Tabela 2

Zawartość poszczególnych frakcji włókna detergentowego w surowcach [% s.m.].

The content of particular dietary fibre fractions in raw materials [% d.m.].

Komponent Component	NDF	ADF	HCEL	CEL	ADL	Włókno surowe Crude fibre
Kaszka kukurydz. Corn semolina	3,65	0,86	2,79	0,75	0,11	0,45
Lędźwian Everlasting pea	21,72	7,87	13,85	7,81	0,06	5,75
Razówka owsiana Oat whole grain meal	13,02	4,7	8,32	2,75	1,95	2,3

Objaśnienia; / Explanatory notes:

NDF – włókno neutralno-detergentowe / neutral detergent fibre; ADF – włókno kwaśno-detergentowe / acid detergent fibre; HCEL – hemiceluloza / hemi-cellulose; CEL – celuloza / cellulose; ADL – lignina / lignin.

Poszczególne oznaczenia wykonywano w 3 powtórzeniach, obliczano wartość średnią, odchylenie standardowe i współczynnik zmienności. Jeżeli współczynnik zmienności przekraczał szacowany błąd metod, analizy wykonywano ponownie aż do uzyskania właściwego rozrzutu wyników.

### Wyniki i dyskusja

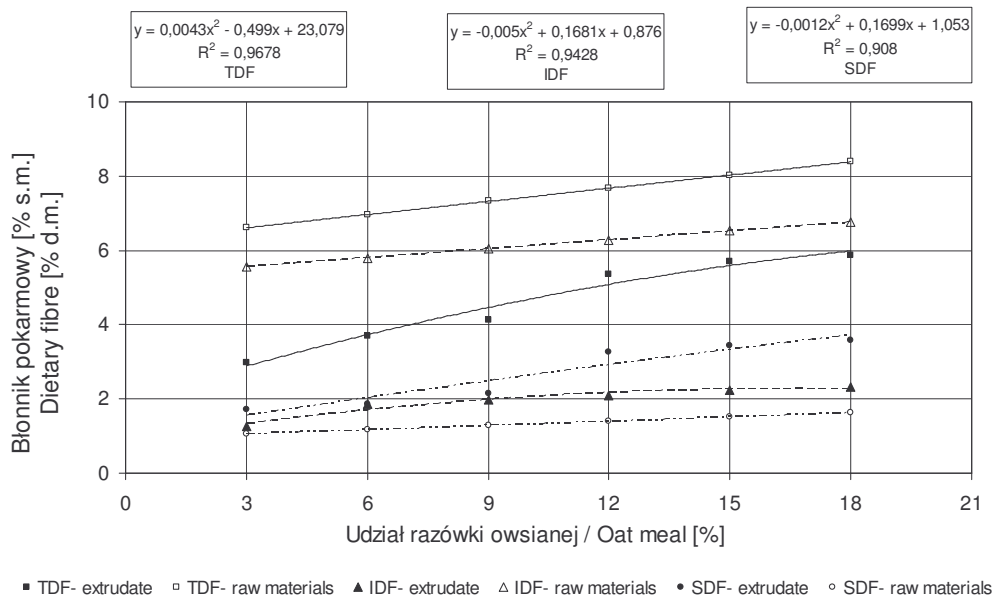
Wprowadzenie do mieszanek z kaszką kukurydzianą razówki owsianej, lędźwianu i pełnego mleka w proszku nie wpłynęło na pogorszenie warunków ekstruzji. Przy zastosowanych parametrach procesu (profil rozkładu temperatury 145/165/120°C, wilgotność surowca 13,5%; matryca 3,5 mm) istnieje możliwość ustabilizowania warunków wytłaczania i otrzymania produktów o cechach ekstrudatu spożywczego [13]. Zastosowany ekstruder jednoślindakowy S-45, produkcji Metalchem Gliwice (L:D = 12:1; stopień sprężania ślimaka 3:1), umożliwił przetwarzanie mieszanek z maksymalnym, 18-procentowym dodatkiem razówki owsianej. Wyższy udział powodował „płynięcie materiału”, występowanie poślizgu i brak możliwości ustabilizowania warunków wytłaczania.

Zwiększenie udziału razówki owsianej i dodatek rozdrobnionych nasion lędźwianu spowodował znaczący wzrost zawartości białka oraz wzrost zawartości poszczególnych frakcji błonnika pokarmowego oznaczanego metodą detergentową (tab. 3). W przypadku mieszanin kukurydziano-owsianych zwiększenie udziału razówki owsianej z 3 do 18% spowodowało wzrost TDF odpowiednio z 2,97 do 5,88% s.m., IDF z 1,25 do 2,31% s.m. oraz SDF z 1,72 do 3,57% s.m. (rys. 1). Najwyższą zawartość TDF i IDF otrzymano po wprowadzeniu do mieszanin dodatku lędźwianu (rys. 3). W próbach z 3-procentowym udziałem razówki owsianej, 1-procentowy dodatek lędźwianu powodował wzrost TDF odpowiednio z 2,97 do 4,77% s.m. i IDF z 1,25 do 2,54% s.m. Porównując jednak oznaczone zawartości błonnika pokarmowego całkowitego oraz jego frakcji w ekstrudatach z wartościami oczekiwanymi, wynikającymi ze składu surowcowego mieszanki, należy stwierdzić, że ekstruzja jednoślindakowa powodowała istotne zmiany w błonniku pokarmowym. Obserwowano wzrost zawartości frakcji rozpuszczalnych SDF i jednoczesne zmniejszenie zawartości nierozpuszczalnych frakcji IDF. Stwierdzono także zmniejszenie zawartości błonnika całkowitego TDF, jak również frakcji włókna detergentowego w odniesieniu do wartości oczekiwanych. Tendencje takie wystąpiły we wszystkich analizowanych próbach (rys. 1-4). Podobny wpływ ekstruzji na zmiany zachodzące w poszczególnych frakcjach błonnika pokarmowego obserwowali także Camire i wsp. [3], Martin-Cabrejas i wsp. [8] oraz Larrea i wsp. [7]. Tak intensywna obróbka, jaką jest ekstruzja, może powodować rozrywanie długich łańcuchów frakcji IDF na mniejsze fragmenty i utratę niektórych swoich właściwości, jak np. zdolność wiązania kwasów żółciowych [3]. Przyrost frakcji błonnika rozpuszczalnego nie rekompensował zatem ubytku

błonnik nierozpuszczalnego, co skutkowało zmniejszeniem zawartości błonnika całkowitego. Można więc wnioskować, że w wyniku intensywnej obróbki termoplastycznej musi następować rozpad polisacharydów nieskrobiowych do postaci oligosacharydów niepoddających się precypitacji w czasie oznaczania błonnika rozpuszczalnego. Podobne zmiany zawartości TDF, SDF i IDF obserwowali również Rzedzicki i wsp. [10], poddając ekstruzji mieszaniny kaszki kukurydzianej i łuski grochowej. Autorzy wykazali, że istotny wpływ na zachodzące zmiany wywiera zarówno skład mieszanki, jak i parametry procesu, takie jak wilgotność przetwarzanego surowca i temperatura procesu.

Wprowadzenie do mieszanki 1% pełnotłustego mleka w proszku nie wpłynęło ochronnie na błonnik pokarmowy. Należało oczekiwać, że zwiększona zawartość tłuszczu w mieszance obniży destrukcyjne oddziaływanie ciśnienia i ciepła. Zaobserwowane zmiany są jednak niewielkie.

Główną trudnością w porównywaniu wyników różnych autorów i interpretacji wpływu poszczególnych parametrów procesu na zmiany zawartości błonnika pokarmowego jest duża różnorodność stosowanych technik analitycznych do oznaczania tego składnika żywności. W pracy zestawiono ze sobą wyniki uzyskane przy zastosowaniu trzech różnych metod: detergentowej, enzymatycznej oraz wendejskiej (włókno surowe). Analiza tych wyników (tab. 1, 2, 3 i rys. 1–4) wskazuje na znikomą przydatność metody oznaczania włókna surowego do oceny zawartości składników niestrawnych żywności wysoko przetworzonej. Rozbieżności pomiędzy błonnikiem pokarmowym całkowitym TDF oraz włóknem surowym są bardzo duże. Należy podkreślić, że jak dotychczas, najdoskonalszą metodą do oznaczania tej grupy związków jest metoda enzymatyczna rekomendowana przez trzy kolejne Światowe Kongresy Błonnika Pokarmowego. Metoda oznaczania włókna surowego jest szczególnie zawodna w przypadku produktów poddawanych obróbce termoplastycznej (tab. 3). Należy mieć na uwadze, że metoda enzymatyczna (w polskich warunkach), bez dopracowanej recyrkulacji odczynników, jest kosztowna. Do badania i oceny przemian frakcji błonnika pokarmowego niektórzy badacze stosują metodę detergentową. Nasze badania wykazują, że jest ona bardzo zawodna i może być stosowana tylko do orientacyjnego śledzenia kierunkowości zmian w ramach danej grupy surowców.



Rys. 1. Wpływ udziału razówki owsianej na zawartość błonnika całkowitego (TDF) oraz frakcji rozpuszczalnej (SDF) i nierozpuszczalnej (IDF) w ekstrudatach.

Fig. 1. Effect of the oat whole grain meal' per cent share in the mixture on the content of the total dietary fibre (TDF) and its soluble (SDF) and insoluble (IDF) fractions in the extrudates.

Objaśnienia: Explanatory notes:

TDF - extrudate / błonnik całkowity w ekstrudacie,

TDF - raw materials / błonnik całkowity w surowcach,

IDF - extrudate / frakcja nierozpuszczalna błonnika w ekstrudacie,

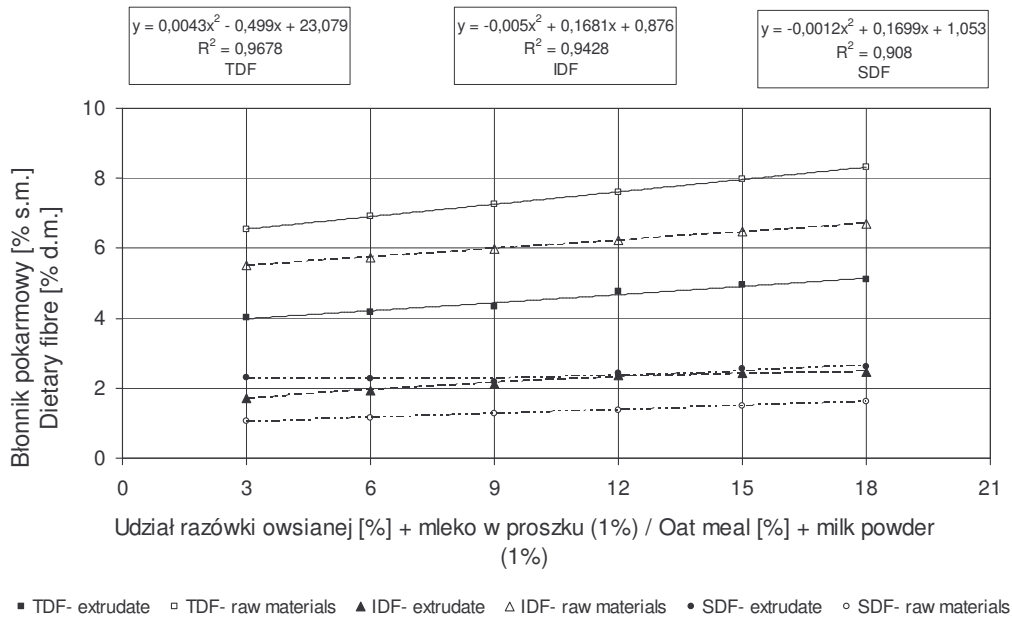
IDF - raw materials / frakcja nierozpuszczalna błonnika w surowcach,

SDF - extrudate / frakcja rozpuszczalna w ekstrudacie,

SDF - raw materials / frakcja rozpuszczalna w surowcach.

Wielu autorów stwierdziło istotny wzrost zawartości metali w wyniku procesu ekstruzji. Artz i wsp. [2] zaobserwowali nawet sześciokrotny wzrost zawartości żelaza w ekstrudatach w porównaniu z surowcem wyjściowym. Szpendowski i wsp. [16] notowali pięciokrotnie wyższą zawartość Fe w ekstrudacie w porównaniu z surowcem. Wyniki te nie znajdują potwierdzenia w niniejszych badaniach. Do takich wniosków można także dojść, biorąc pod uwagę liczbę godzin pracy ekstrudera, godzinową wydajność i możliwe ubytki masy cylindra i ślimaków w strefie wysokiego ciśnienia, wynikające z trwałości elementów roboczych. Dobrej jakości elementy robocze ekstrudera (cylinder i ślimak) wytrzymują nawet 5000 h pracy, ponieważ powierzchnia robocza cylindra i ślimaków jest utwardzana metodą azotowania. Przeprowadzone badania analityczne wykazały wzrost zawartość żelaza w otrzymanych produktach w wyniku zwiększenia udziału razówki owsianej, jak również poprzez dodatek lędwianu (tab. 3). Stwierdzono natomiast tylko nieznaczny przyrost zawartości żelaza w ekstrudatach w porównaniu z wartościami oczekiwanymi, wynikającymi ze składu surowcowego mieszanek (rys. 5). Wyniki takie mogą być warunkowane także

stosunkowo wysoką zawartością tłuszczu i śluzowych frakcji błonnika rozpuszczalnego, działających z pewnością ochronnie na ekstruder.



Rys. 2. Wpływ dodatku mleka w proszku na zawartość błonnika całkowitego (TDF) oraz frakcji rozpuszczalnej (SDF) i nierozpuszczalnej (IDF) w ekstrudatach.

Fig. 2. Effect of the milk powder (1%) added on the content of the total dietary fibre (TDF) and its soluble (SDF) and insoluble (IDF) fractions in the extrudates.

Objaśnienia jak na rys. 1. / Denotations as in Fig. 1.



Tabela 3

Model doświadczenia i skład chemiczny ekstrudatów.

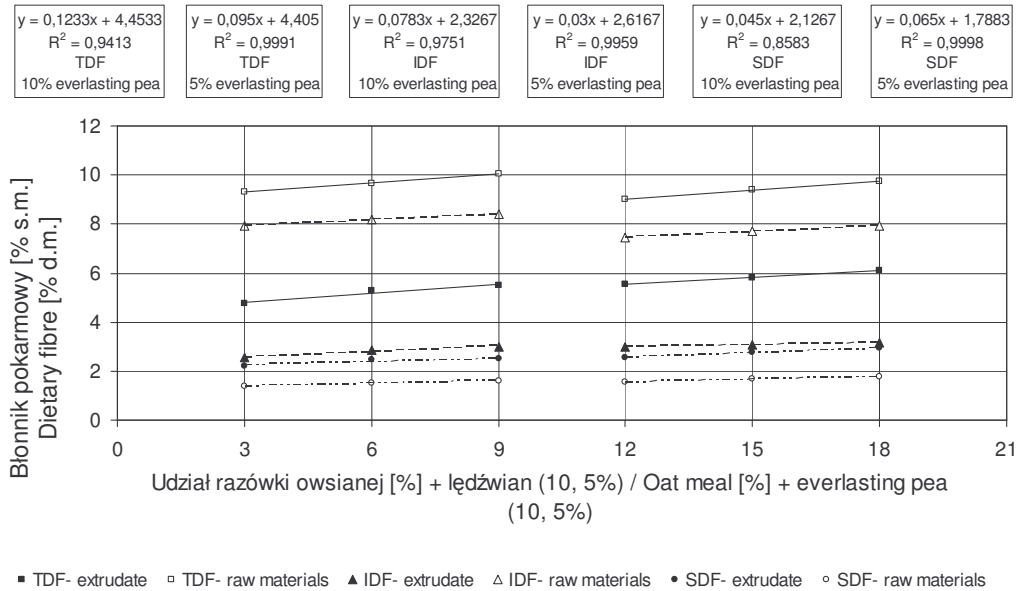
Model of the experiment and the chemical composition of extrudates.

Nr No	Komponenty / Components [%]				Białko [% s.m.] Protein [%d.m.]	Fracje włókna pokarmowego [% s.m.] Dietary fibre fraction [% d.m.]					Włókno surowe [% s.m.] Crude fibre [%d.m.]	Popiół [% s.m.] Ash [%d.m.]	Fe [mg/kg s.m.] [mg/kg d.m.]	Mn [mg/kg s.m.] [mg/kg d.m.]	Ni [mg/kg s.m.] [mg/kg d.m.]
	Kaszka kukurydz. Corn semolina	Razówka owsiana Oat whole grain meal	Łędwian Everlasting pea	Pełne mleko w proszku Milk powder		NDF	ADF	HCEL	CEL	ADL					
1	97	3			8,55	2,09	0,48	1,60	0,33	0,16	0,28	1,54	13,89	2,02	0,24
2	94	6			8,72	2,61	0,51	2,11	0,35	0,15	0,35	1,61	14,59	3,32	0,27
3	91	9			9,01	2,95	0,50	2,44	0,33	0,17	0,33	1,68	15,48	4,55	0,29
4	88	12	0	0	9,22	3,33	0,57	2,77	0,37	0,20	0,31	1,71	16,41	6,07	0,30
5	85	15			9,31	3,64	0,65	2,99	0,37	0,28	0,37	1,70	16,99	7,33	0,31
6	82	18			9,52	3,95	0,70	3,25	0,38	0,32	0,42	1,73	17,85	7,31	0,33
7	97	3			9,46	3,36	0,49	2,87	0,31	0,18	0,33	1,56	13,65	3,36	0,26
8	94	6			9,65	3,45	0,59	2,86	0,38	0,21	0,41	1,61	14,42	3,80	0,26
9	91	9			9,88	3,61	0,89	2,72	0,67	0,22	0,60	1,60	15,35	4,30	0,29
10	88	12	0	1	10,03	3,69	1,20	2,49	0,99	0,21	0,73	1,62	16,63	4,77	0,31
11	85	15			10,25	3,95	1,05	2,90	0,84	0,21	0,68	1,64	17,02	6,20	0,30
12	82	18			10,44	4,28	0,93	3,35	0,71	0,22	0,61	1,65	17,54	6,57	0,32
13	87	3	10		10,76	3,49	0,84	2,65	0,61	0,23	0,48	1,70	20,77	3,73	0,58
14	84	6	10		10,95	3,51	0,85	2,66	0,63	0,22	0,50	1,71	21,05	5,30	0,60
15	81	9	10		11,21	3,98	0,86	3,12	0,65	0,21	0,48	1,73	21,82	6,04	0,63
16	83	12	5	0	9,72	4,99	0,85	4,14	0,64	0,21	0,49	1,81	19,82	6,24	0,45
17	80	15	5		9,95	5,06	0,90	4,16	0,64	0,26	0,54	1,86	21,61	7,54	0,47
18	77	18	5		10,15	5,13	0,91	4,22	0,64	0,27	0,59	1,83	20,74	7,94	0,48
19	92	3			10,37	2,26	0,41	1,95	0,26	0,13	0,36	1,61	16,90	3,86	0,39
20	89	6			10,50	2,46	0,43	2,03	0,29	0,13	0,37	1,65	17,79	4,67	0,43
21	86	9			10,68	2,51	0,48	2,07	0,31	0,16	0,37	1,69	18,58	5,18	0,45
22	83	12	5	0,5	10,87	3,29	0,60	2,69	0,35	0,25	0,37	1,72	19,96	6,34	0,47
23	80	15			10,98	3,48	0,61	2,87	0,37	0,25	0,38	1,76	20,50	7,52	0,49
24	77	18			11,10	3,50	0,62	2,88	0,43	0,26	0,40	1,80	20,85	7,95	0,50

Objaśnienia: / Explanatory notes:

NDF – włókno neutralno-detergentowe / neutral detergent fibre; ADF – włókno kwaśno-detergentowe / acydy detergent fibre;

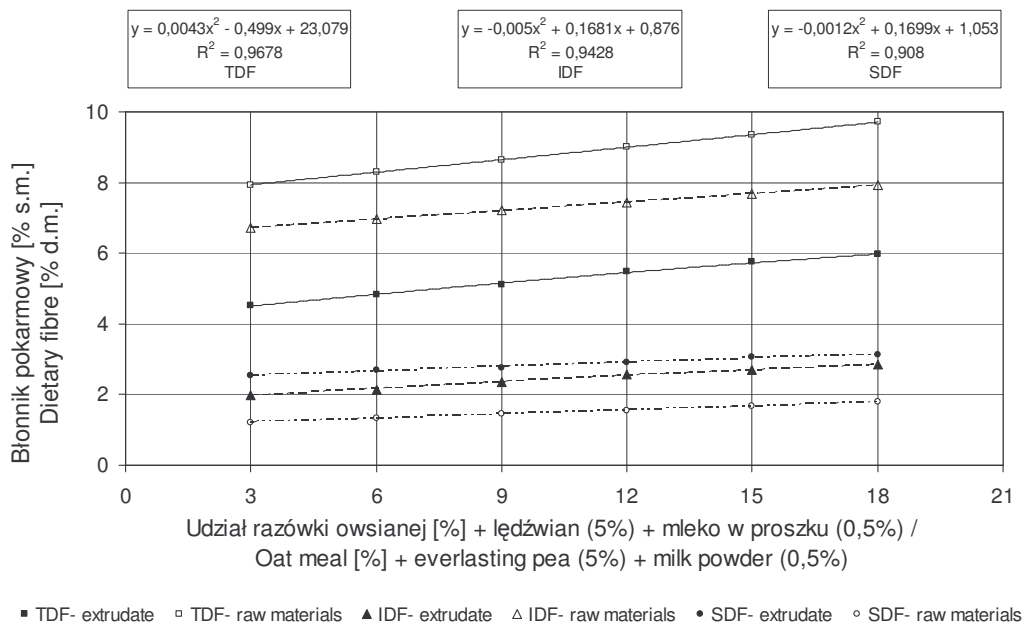
HCEL – hemiceluloza / hemi-cellulose; CEL – celuloza / cellulose; ADL – lignina / lignin.



Rys. 3. Wpływ dodatku lędzwanu (5 i 10%) na zawartość błonnika całkowitego (TDF) oraz frakcji rozpuszczalnej (SDF) i nierozpuszczalnej (IDF) w ekstrudatach.

Fig. 3. Effect of the everlasting pea added (5 and 10%) on the content of the total dietary fibre (TDF) and its soluble (SDF) and insoluble (IDF) fractions in the extrudates.

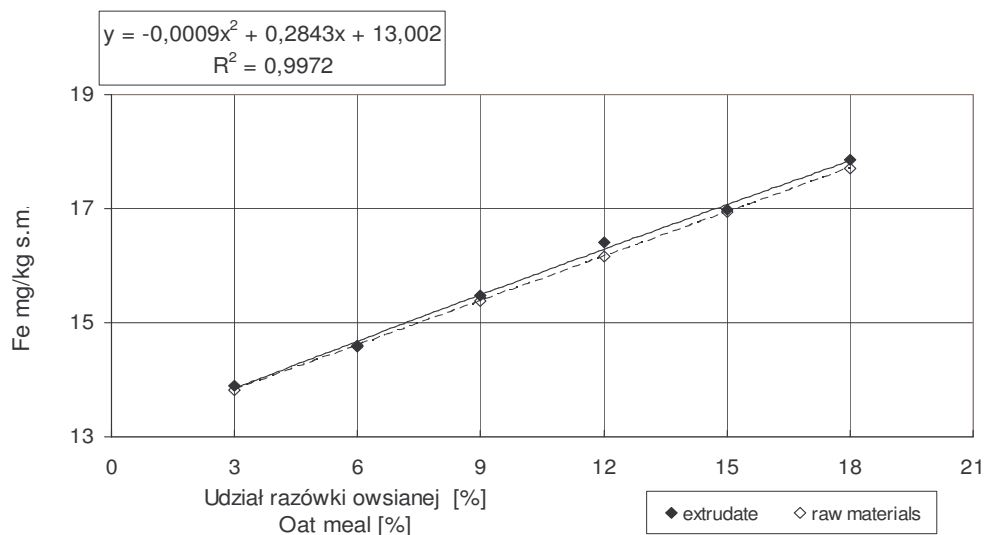
Objaśnienia jak na rys. 1. / Denotations as in Fig. 1.



Rys. 4. Wpływ dodatku łądźwianu i mleka w proszku na zawartość błonnika całkowitego (TDF) oraz frakcji rozpuszczalnej (SDF) i nierozpuszczalnej (IDF) w ekstrudatach.

Fig. 4. Effect of the everlasting pea added (5%) and milk powder (0,5%) on the content of the total dietary fibre (TDF) and its soluble (SDF) and insoluble (IDF) fractions in the extrudates.

Objaśnienia jak na rys. 1. / Denotations as in Fig. 1.



Rys. 5. Wpływ udziału razówki owsianej na zawartość żelaza w ekstrudatach.

Fig. 5. Effect of the oat whole grain meal on the content of iron in the extrudates.

Objaśnienia jak na rys. 1. / Denotations as in Fig. 1.

## Wnioski

1. Wprowadzenie do ekstrudowanych mieszanek dodatku razówki owsianej w ilości do 18% i rozdrobnionych nasion łądźwianu w ilości do 10% nie powoduje zakłócenia procesu ekstruzji oraz umożliwia zwiększenie zawartości białka i błonnika pokarmowego, zwłaszcza frakcji rozpuszczalnych, w otrzymanych ekstrudatach.
2. Proces ekstruzji powoduje istotne zmiany w zawartości poszczególnych frakcji błonnika pokarmowego w wyrobach ekstrudowanych w porównaniu z surowcem. W wyniku przeprowadzonej ekstruzji, w ekstrudatach stwierdzono zmniejszenie zawartości błonnika pokarmowego całkowitego (TDF) oraz frakcji nierozpuszczalnej (IDF) z jednoczesnym wzrostem zawartości frakcji rozpuszczalnej (SDF).

3. Pomimo zastosowania dodatku razówki owsianej i pełnotłustego mleka w proszku odnotowano znaczące ubytki błonnika całkowitego i nierozpuszczalnego przy nieznacznym wzroście błonnika rozpuszczalnego.
4. Ekstruzja mieszanin kaszki kukurydzianej z razówką owsianą i rozdrobnionymi nasionami lędźwianu wpłynęła tylko nieznacznie na zanieczyszczenia metaliczne; w otrzymanych ekstrudatach stwierdzono tylko kilkuprocentowy wzrost zawartości Fe, Mn i Ni w porównaniu z wartościami oczekiwanymi.

### Literatura

- [1] Aldoori W. H., GioVannucci E. L., Rockett H. R. H., Sampson L., Rimm E. B., Willett W. C.: A prospective study of dietary fibre types and symptomatic diverticular disease in men. *J. Nutr.*, 1997, **127**, 714-719.
- [2] Artz W. E., Rao S. K., Sauer R. M.: Lipid oxidation in extruded products during storage as affected by extrusion temperature and selected antioxidants. In: *Food Extrusion Science and Technology*. Mercer Dekker. Inc., New York 1992, pp. 449-461.
- [3] Camire M. E., Zhao J., Violette D. A.: *In vitro* binding of bile acids of extruded potato peels. *J. Agric. Food Chem.*, 1993, **41**, 2391-2394.
- [4] Camire M., Violette D., Dougherty M.P., McLaughlin M.A.: Potato peel dietary fibre composition: Effects of peeling and extrusion cooking processes. *J. Agric. Food Chem.*, 1997, **45**, 1404-1408.
- [5] Jones J. M.: Dietary fibre intake, disease prevention, and health promotion. In: *Dietary Fibre bio-active carbohydrates for food and feed*. Wageningen Academic Publishers, 2004, pp. 143-164.
- [6] Kritchevsky D.: Dietary fibre in health and disease. In: *Advanced Dietary Fibre Technology*. Blackwell Science. U. K., 2001, pp. 149-161.
- [7] Larrea M. A., Chang Y. K., Martinez Bustos F.: Effect of some operational extrusion parameters on the constituents of orange pulp. *Food Chem.*, 2005, **89**, 301-308.
- [8] Martin-Cabrejas M.A., Jamie L., Karanja C., Downie A.J. Parker M.L., Lopez-Andreu F.J., Maina G., Esteban R. M., Smith A. C., Waldron K. W.: Modification to physicochemical and nutritional properties of hard-to-cook beans (*Pahsedus vulgaris L.*) by extrusion cooking. *J. Agric. Food Chem.*, 1999, **47** (3), 1174-1182.
- [9] Rzedzicki Z., Sobota A., Zarzycki P. The influence of pea hulls on twin screw extrusion-cooking process of cereal mixtures and the physical properties of the extrudate. *Int. Agrophysics*, 2004, **18**, 73-81.
- [10] Rzedzicki Z., Kozłowska H., Troszyńska A.: Application of pea hulls for extrudate production. *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, 2004, **13/54**, 363-368.
- [11] Rzedzicki Z., Zarzycki P., Sobota A.: Badania właściwości reologicznych ekstrudatów z udziałem komponentów owsianych. *Annales UMCS Sec. E*, 2004, **59**, 315-322.
- [12] Rzedzicki Z.: Badania składu chemicznego wybranych błyskawicznych zbóż śniadaniowych. *Brom. Chemia Toksykol.*, 2005, **XXXVII** S, 141-146.
- [13] Rzedzicki Z., Zarzycki P.: Badania procesu ekstruzji mieszanin z udziałem lędźwianu i razówki owsianej. *Acta Agrophysica*, 2005, w druku.
- [14] Rowland I.: Non-digestible carbohydrates and gut function: implications for carcinogenesis. In: *Advanced Dietary Fibre Technology*. Blackwell Science. U. K., 2001, pp. 226-231.
- [15] Sobota A., Rzedzicki Z.: Badania nad technologią ekstruzji duwślimakowej ekstrudatów z udziałem otrąb pszennych. *Annales UMCS Sec. E*, 2004, **59**, 303-313.

- [16] Szpendowski J., Śmietana Z., Świgoń J.: The effect of extrusion on the content of minerals in selected extruded products. *Acta Acad. Agricult. Tech. Olst. Technologia Alimentorum*, 1996, **29**, 15-23.
- [17] Van Soest P.: Use of detergents in the analysis of fibrous Leeds. II: A rapid method for the determination of fibre and lignin. *J. A.O.A.C.*, 1963, **46**, 829-835.
- [18] Van Soest P. J., Wine R. H.: Use of detergents in the analysis of fibrous Leeds. IV: Determination of plant cell-wall constituents. *J. A.O.A.C.* 1967, **50**, 50-51.
- [19] Vasanthan T., Bhatta R. S.: Enhancement of resistant starch (RS3) in amylomaize, barley, field pea and lentil starches. *Starch/Staerke*, 1998, **50**, 286-291.

#### EFFECT OF THE EXTRUSION OF MAIZE-OAT MEAL MIXTURES ON CHANGES IN THE FRACTIONAL COMPOSITION OF DIETARY FIBRE

##### S u m m a r y

It was investigated the effect of oat whole grain meal's and everlasting pea's shares on the course of the extrusion cooking process and on the chemical change in non-starch polysaccharides (NSP) contained in extrudates. It was stated that the mixture of corn semolina and oat whole grain meal could be a valuable raw material for producing extrudates. Owing to the process parameters assumed (temperature distribution profile of the cylinder: 145/165/120°C; moisture content in the raw material: 13,5%; and a die of 3,5 mm) it was possible to stabilize the extrusion cooking conditions at the 18% of the maximum content of the oat whole grain meal in the mixture being extruded. Owing to the effect of extrusion cooking process on the mixtures, there was a decrease in the content of dietary fibre (TDF) and of its insoluble fraction (IDF) in the extrudates, as well as an increase in the content of soluble fraction of fibre (SDF). The level of the changes stated depended on the composition of a given mixture undergoing extrusion cooking. No significant increase in the content of iron, manganese, and nickel in the extruded products was stated compared with their content in the raw material mixtures.

**Key words:** extrusion, oat, corn, everlasting pea, dietary fibre ☒

JAROSŁAW KORUS, MAREK GIBIŃSKI, BOHDAN ACHREMOWICZ

**ZASTOSOWANIE NATYWNEJ I MODYFIKOWANEJ SKROBI  
ŁĘDŹWIANU SIEWNEGO (*LATHYRUS SATIVUS L.*) DO  
MIKROKAPSUŁKOWANIA AROMATÓW**

Streszczenie

Mikrokapsułkowanie, czyli powlekanie cząstek substancji kapsułkowanej otoczką substancji kapsułkującej jest bardzo korzystne. Pozwala m.in. chronić substancje, oddziela składniki, które mogą, a nie powinny, ze sobą reagować, maskuje niepożądany smak i zapach niektórych dodatków do żywności (np. witamin z grupy B), ułatwia dozowanie i przechowywanie składników ciekłych, przekształcając je w postać proszku. Jednym z materiałów stosowanych do tworzenia mikrokapsulek jest skrobia, zarówno natywna, jak i modyfikowana. W Polsce od kilku lat uprawiane są dwie odmiany łądźwianu siewnego (*Lathyrus sativus L.*), którego nasiona zawierają w suchej masie około 45% skrobi o dużej zawartości amylozy wynoszącej około 35%.

Celem pracy było określenie możliwości wykorzystania skrobi z nasion łądźwianu siewnego do tworzenia mikrokapsulek.

Dwoma metodami otrzymano stearyniany skrobiowe (ze skrobi ziarnistej i wstępnie skleikowanej), w których następnie mikrokapsułkowano menton. Oznaczano m.in. ogólną ilość mentonu w mikrokapsułkach, ilość mentonu rzeczywiście zakapsułkowanego i ilość niezakapsułkowaną, pozostałą na powierzchni.

Wstępne skleikowanie skrobi powodowało zwiększenie podatności na estryfikację, o czym świadczył wyższy stopień podstawienia kwasem stearynowym. Biorąc pod uwagę skrobie natywne, najwięcej mentonu zawierały kapsułki uzyskane z obu skrobi łądźwianowych (36,7-37,2 g w 100 g masy kapsulek), a mniej – ze skrobi pszennej i ziemniaczanej (odpowiednio 28,7 g i 25,6 g w 100 g masy kapsulek). Niezależnie od metody otrzymywania, stearyniany skrobi obu odmian łądźwianu zawierały średnio o 46% więcej mentonu niż odpowiednie stearyniany skrobi pszennej i ziemniaczanej. Stearyniany wszystkich badanych skrobi otrzymane przez wstępne skleikowanie charakteryzowały się większą zawartością mentonu niż stearyniany otrzymane ze skrobi ziarnistych.

**Słowa kluczowe:** łądźwian, *Lathyrus sativus*, skrobia, mikrokapsułkowanie

## Wprowadzenie

Mikrokapsułkowanie, czyli powlekanie cząstek substancji kapsułkowanej otoczką substancji kapsułkującej jest bardzo korzystne. Pozwala chronić substancje labilne

przed szkodliwymi czynnikami (tlen, światło, pH) przedłużając w ten sposób ich trwałość, oddziela składniki, które mogą, a nie powinny, ze sobą reagować, maskuje niepożądany smak i zapach niektórych dodatków do żywności (np. witamin z grupy B), ułatwia dozowanie i przechowywanie składników ciekłych, przekształcając je w postać proszku itp. [3].

Skrobia natywna jest bardzo rzadko wykorzystywana w mikrokapsułkowaniu ze względu na niski stopień retencji jaki można osiągnąć przy jej użyciu jako materiału kapsułkującego, pewnym wyjątkiem są skrobie wysokoamylozowe. Dotyczy to zwłaszcza substancji hydrofobowych, gdyż hydrofilowa cząsteczka skrobi wykazuje słabe powinowactwo wobec takich składników. Znacznie częściej wykorzystywane są skrobie modyfikowane, gdyż duża podatność skrobi na różnego typu modyfikacje pozwala uzyskać produkty o bardzo zróżnicowanych właściwościach [3, 6, 7].

W naszym kraju lędźwian siewny (*Lathyrus sativus* L.) jest mało znany i rozpowszechniony, choć w Zakładzie Hodowli i Nasiennictwa Ogrodniczego „Spójnia” w Nochowie powstały dwie pierwsze polskie odmiany tej rośliny. Lędźwian jest popularny zwłaszcza w Azji i Afryce. Nasiona i zielona masa wykorzystywane są głównie w żywieniu ludzi i zwierząt. Mniejsze znaczenie dla przetwórstwa ma natomiast skrobia, obecna w nasionach lędźwianu w dość znacznej ilości – około 45% suchej masy. Niewielkie zainteresowanie skrobią lędźwianu siewnego jest powodem małej liczby publikacji na temat jej właściwości i możliwości wykorzystania.

W niniejszej pracy podjęto próbę określenia możliwości wykorzystania skrobi z nasion lędźwianu siewnego do tworzenia mikrokapsulek.

### **Materiał i metody badań**

Materiałem do badań były skrobie handlowe pszenna i ziemniaczana oraz skrobie wyizolowane laboratoryjnie z dwóch odmian lędźwianu siewnego: średnionasiennej Krab i drobnonasiennej Derek, wyhodowanych w Zakładzie Hodowli i Nasiennictwa Ogrodniczego „Spójnia” w Nochowie. Jako modelowy aromat stosowano menton firmy Fluka, nr katalogowy 63680.

Skrobie wyizolowano według metodyki Akalu i wsp. [1] w modyfikacji Korusa i wsp. [5]. W badanym materiale oznaczano zawartość białka ( $N \times 6,25$ ) metodą Kjeldahla w aparacie Büchi digestion unit B 426/distillation unit B 324 według PN-EN ISO 3188 [9], zawartość tłuszczu metodą Soxhleta w aparacie Büchi extraction system B 811 według PN-EN ISO 3947 [10], amylozy według Morrisona i Laigneleta [8]. Stearyniany skrobiowe uzyskano według metodyki Varavinita i wsp. [11]. Mikrokapsułkowanie mentonu w skrobiach natywnych i stearynianach oraz oznaczanie ilości mentonu zakapsułkowanego i stopnia podstawienia skrobi kwasem stearynowym wykonywano według metodyk podanych przez tych samych autorów [11]. Stosowano suszarkę rozpyłową, typ B-191 firmy Büchi, temperatura wejściowa wynosiła 180°C, wyjściowa 90°C.



W pracy stosowane są następujące skrótowe oznaczenia: I i II oznacza stearyniany otrzymane odpowiednio ze skrobi ziarnistej lub wstępnie skleikowanej, a towarzyszące im litery P i Z oznaczają stearyniany uzyskane ze skrobi pszennej lub ziemniaczanej.

## Wyniki i dyskusja

Podstawową charakterystykę badanych skrobi zamieszczono w tab. 1. Obydwie skrobie lędźwianowe zawierały podobną ilość amylozy ('Derek' – 35,23 g/100 g i 'Krab' – 36,51 g/100 g). Większe różnice wystąpiły pod względem zawartości białka i tłuszczu. Skrobia lędźwianu odmiany Krab zawierała o 79% więcej białka niż odmiany Derek, a tłuszczu o 57%. Jest to zgodne z wcześniejszymi badaniami skrobi tych samych odmian lędźwianu [5]. Zbliżoną zawartość amylozy w skrobi kanadyjskich odmian lędźwianu, tj. 36,37%, uzyskał Chavan i wsp. [2].

Tabela 1

Wybrane wskaźniki składu chemicznego badanych skrobi. <sup>a)</sup>  
Some selected chemical components of the starches investigated. <sup>a)</sup>

Skrobia Starch from	Sucha masa Dry matter [g/100 g]	Białko Protein [g/100 g]	Tłuszcz Lipids [g/100 g]	Amyloza Amylose [g/100 g]
Lędźwianowa Grass pea 'Derek'	89,34 (±3,12)	0,29 (±0,05)	0,07 (±0,01)	35,23 (±1,87)
Lędźwianowa Grass pea 'Krab'	90,11 (±3,15)	0,52 (±0,08)	0,11 (±0,02)	36,51 (±1,92)
Pszenna Wheat	89,29 (±3,24)	0,38 (±0,07)	0,88 (±0,11)	24,32 (±1,31)
Ziemniaczana Potatoes	87,86 (±3,09)	0,07 (±0,01)	0,05 (±0,01)	18,54 (±1,17)

<sup>a)</sup> wartości średnie, ± odchylenia standardowe z trzech powtórzeń

<sup>a)</sup> mean values ± standard deviations calculated for the three replications

Stopień podstawienia badanych skrobi kwasem stearynowym (DS) podano w tab. 2. W przypadku stearynianów otrzymanych ze skrobi ziarnistej (stearyniany I) najwyższy stopień podstawienia uzyskano w przypadku obu skrobi lędźwianowych: 'Krab' – 0,036 i 'Derek' – 0,024. DS stearynianu I skrobi pszennej wyniósł 0,019, a ziemniaczanej 0,013. Varavinit i wsp. [11] uzyskali w badanych skrobiach sago i tapiokowej stopień podstawienia odpowiednio 0,014 i 0,009. Z powyższych danych wynika, iż estryfikacja zachodziła najefektywniej w obu badanych skrobiach

lędźwianowych. W mniejszym stopniu modyfikacja zachodziła w skrobi pszennej, a w najmniejszym w ziemniaczanej. Najniższa reaktywność tej ostatniej może być związana ze strukturą powierzchniową ziaren skrobiowych. Ziarnista skrobia ziemniaczana jest na przykład mało podatna na działanie enzymów, co związane jest z niewielką liczbą porów na jej powierzchni, mogących pełnić rolę centrów ataku enzymatycznego [4]. Jednakże nie jest to jedyny czynnik odpowiadający za niski stopień podstawienia skrobi ziemniaczanej kwasem stearynowym, gdyż stearynian uzyskany z tej skrobi po skleikowaniu (stearynian II) także wykazał najniższy DS (tab. 2). Również w tym przypadku estryfikacja najefektywniej zachodziła w obu skrobiach lędźwianowych. Różnica pomiędzy DS skrobi odmiany Derek i Krab była mniejsza niż w stearynianach uzyskanych ze skrobi ziarnistych. Może to wskazywać na różną porowatość ziarenek skrobi obu odmian lędźwianu, jednak nie można tego stwierdzić z całą pewnością, gdyż cecha ta nie była w niniejszej pracy badana, natomiast w literaturze brak jest danych na temat porowatości skrobi lędźwianu siewnego. Można natomiast zauważyć pewną prawidłowość polegającą na tym, że skrobie o wyższej zawartości amylozy łatwiej ulegały estryfikacji, o czym świadczy wyższy DS ich stearynianów (tab. 1 i 2).

W tab. 2. podano całkowitą zawartość mentonu (MC) w badanych próbkach, ilość mentonu zakapsułkowanego (MZ) i ilość mentonu zaadsorbowanego na powierzchni mikrokapsulek (MN). Z przedstawionych danych wynika, że największe ilości mentonu zawierały oba stearyniany skrobi lędźwianowych. W przypadku stearynianów uzyskanych ze skrobi natywnych różnica MC pomiędzy odmianą Derek i Krab wynosiła zaledwie 0,8 g mentonu w 100 g mikrokapsulek (odpowiednio 62,3 i 61,5 g/100 g). Mikrokapsułki uzyskane ze stearynianu I skrobi pszennej zawierały 40,1 g mentonu w 100 g, a ze skrobi ziemniaczanej 37,7 g. Spośród stearynianów otrzymanych ze skrobi wstępnie skleikowanej największą ilość mentonu oznaczono w stearynianie skrobi odmiany Derek (69,8 g/100 g), o 5,9% więcej niż w stearynianie 'Krab' II, 31,9% więcej niż w P II i 49,1% więcej niż w Z II. Stearyniany uzyskane ze skrobi wstępnie skleikowanej zawierały w każdym przypadku większe ilości mentonu niż stearyniany ze skrobi ziarnistej. Różnice w ilości mentonu zakapsułkowanego w stearynianach I i II wynosiły w przypadku skrobi lędźwianowych 7,5 g/100 g ('Derek') i 4,4 g/100 g ('Krab') oraz w przypadku skrobi pszennej 12,8 g/100 g i ziemniaczanej 9,1 g/100 g.

Większość mentonu zawartego w mikrokapsułkach stanowił aromat rzeczywiście zakapsułkowany, MZ, (tab. 2). Ilość mentonu zaadsorbowanego na powierzchni wynosiła 2,4-6,2 g w 100 g mikrokapsulek i była tym większa im wyższa była całkowita zawartość mentonu, stąd najniższe wartości MN stwierdzono w przypadku

Tabela 2

Podstawowa charakterystyka stearynianów skrobiowych oraz uzyskanych mikrokapsulek<sup>a)</sup>.

Basic profile of starch steirates and microcapsules manufactured<sup>a)</sup>.

Próbka Sample	Sucha masa Dry matter [g/100 g]	Stopień podstawienia Degree of substitution	MC [g/100 g]	MZ [g/100 g]	MN [g/100 g]	Straty podczas suszenia <sup>b)</sup> Losses occurring when drying <sup>b)</sup> [%]
Skrobia natywna Native starch 'Derek'	89,34 (±3,12)	-	37,2 (±0,99)	31,1 (±0,56)	6,1 (±0,63)	62,8
'Derek' I	95,22 (±3,46)	0,024 (±0,005)	62,3 (±1,23)	57,4 (±1,61)	4,9 (±0,73)	37,7
'Derek' II	86,89 (±3,15)	0,036 (±0,006)	69,8 (±1,47)	64,8 (±1,83)	5,0 (±0,48)	30,2
Skrobia natywna Native starch 'Krab'	90,11 (±3,15)	-	36,7 (±0,84)	30,5 (±0,45)	6,2 (±0,75)	63,3
'Krab' I	95,14 (±3,53)	0,031 (±0,002)	61,5 (±1,55)	56,8 (±1,51)	4,7 (±0,89)	38,5
'Krab' II	87,52 (±3,05)	0,039 (±0,003)	65,9 (±1,61)	60,6 (±1,76)	5,3 (±0,32)	34,1
Skrobia natywna pszenna Native starch of wheat	89,29 (±3,24)	-	28,7 (±0,62)	23,1 (±0,75)	5,6 (±0,58)	71,3
P I	94,1 (±3,57)	0,019 (±0,001)	40,1 (±0,99)	37,0 (±0,84)	3,1 (±0,44)	59,9
P II	87,4 (±3,02)	0,026 (±0,002)	52,9 (±1,52)	49,5 (±1,56)	3,4 (±0,46)	47,1
Skrobia natywna ziemniaczan a Native starch of potatoes	87,86 (±3,09)	-	25,6 (±0,20)	20,4 (±0,18)	5,2 (±0,51)	74,4
Z I	93,47 (±3,50)	0,013 (±0,001)	37,7 (±0,79)	35,6 (±0,64)	2,9 (±0,33)	62,3
Z II	83,23 (±3,09)	0,021 (±0,001)	49,8 (±1,13)	44,4 (±1,07)	2,4 (±0,41)	50,2

wartości średnie, ± odchylenia standardowe z trzech powtórzeń / mean values, ± standard deviations calculated for the three replications

100%-ilość mentonu pozostała po suszeniu (MC) / 100%- total menthone amount remaining after drying (MC)

MC – całkowita ilość mentonu / total menthone amount remained

MZ – menton rzeczywiście zakapsułkowany / really encapsulated menthone

MN – menton niezakapsułkowany / menthone not encapsulated

pozostałe oznaczenia w rozdziale Materiał i metody / for further abbreviations see in the Chapter 'Material and methods'

skrobi ziemniaczanej i jej stearynianów, a najwyższe w przypadku skrobi i stearynianów lędźwianowych. Wyższą zdolność kapsułkowania przez stearyniany uzyskane

ze skrobi skleikowanej, w porównaniu ze stearynianami otrzymanymi ze skrobi ziarnistej, można tłumaczyć wyższą wartością DS tych pierwszych. Podobną zależność obserwował Varavinit i wsp. [11]. Wynika to ze wzrastających, wraz z rosnącą zawartością kwasu stearynowego, właściwości emulgujących. Skrobie natywne kapsułowaly znacznie mniejsze ilości mentonu ('Derek' – 37,2 g/100 g, 'Krab' – 36,7 g/100 g, pszenna – 28,7 g/100 g i ziemniaczana – 25,6 g/100 g). Większe ilości mentonu zakapsułowanego przez obie skrobie lędźwianowe, w porównaniu z dwiema pozostałymi, mogły wynikać z wyższego stopnia podstawienia kwasem stearynowym i co z tym związane, zwiększonych właściwości emulgujących.

### Wnioski

1. Wstępne skleikowanie skrobi powodowało zwiększenie podatności na estryfikację, o czym świadczył wyższy stopień podstawienia kwasem stearynowym.
2. Spośród mikrokapsulek otrzymanych ze skrobi natywnych najwięcej mentonu zawierały mikrokapsułki obu skrobi lędźwianowych (36,7–37,2 g/100 g), a mniej – skrobi pszennej i ziemniaczanej (odpowiednio 28,7 g i 25,6 g/100 g).
3. Niezależnie od metody otrzymywania stearynianu, mikrokapsułki uzyskane ze skrobi obu odmian lędźwianu zawierały więcej mentonu niż odpowiednie mikrokapsułki ze stearynianów skrobi pszennej i ziemniaczanej, średnio o 46%.
4. W mikrokapsułkach otrzymanych ze stearynianów wszystkich badanych skrobi uzyskanych przez wstępne skleikowanie oznaczono wyższą zawartość mentonu niż w mikrokapsułkach otrzymanych ze stearynianów skrobi ziarnistych.

### Literatura

- [1] Akalu G., Tufvesson F., Jönsson C., Nair B.M.: Physico-chemical characteristics and functional properties of starch and dietary fibre in grass pea seeds. *Starch/Stärke*, 1998, **5**, 374-382.
- [2] Chavan U.D., Shahidi F., Hoover R., Perera C.: Characterization of beach pea (*Lathyrus maritimus* L.) starch. *Food Chem.*, 1999, **65** (1), 61-69.
- [3] Gouin S.: Microencapsulation: industrial appraisal of existing technologies and trends. *Trends in Food Sci. Technol.*, 2004, **15**, 330-347.
- [4] Juszcak L., Fortuna T.: Struktura powierzchniowa ziaren skrobiowych. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość.*, 2000, **4** (25), 36-47.
- [5] Korus J., Achremowicz B., Prokop B.: Physico-chemical properties of starch from Polish grass pea (*Lathyrus sativus* L.) varieties. *Electronic J. Polish Agric. Univ.*, series Food Sci. Technol., 2001, **4**(2), <http://www/ejpau.media.pl/series/volume4/issue2/food/art-10.html>.
- [6] Krasaekoopt W., Bhandar B., Deeth H.: Evaluation of encapsulation techniques of probiotics for yoghurt. *Int. Dairy J.*, 2003, **13** (1), 3-13.
- [7] Mattila-Sandholm T., Myllarinen P., Crittanden R., Mogensen G., Fonden R., Saarela M.: Technological challenges for future probiotic foods. *Int. Dairy J.*, 2002, **12** (2/3), 173-182.
- [8] Morrison W.R., Laignelet B.: An improved colorimetric procedure for determining apparent and total amylose in cereal and other starches. *J. Cereal Sci.*, 1983, **1**, 9-20.

- [9] PN-EN ISO 3188: 2000. Skrobia i produkty pochodne. Oznaczanie zawartości azotu metodą Kjeldahla. Metoda miareczkowa.
- [10] PN-EN ISO 3947: 2001. Skrobie naturalne i zmodyfikowane – oznaczanie całkowitej zawartości tłuszczu.
- [11] Varavinit S., Chaokasem N., Shobsngob S.: Studies of flavor encapsulation by agents produced from modified sago and tapioca starches. *Starch/Stärke*, 2001, **53**, 281-287.

### APPLYING THE NATIVE AND MODIFIED GRASS PEA (*LATHYRUS SATIVUS* L.) STARCH IN THE MICRO-ENCAPSULATION OF AROMA COMPOUNDS

#### S u m m a r y

Microencapsulation, i.e. a process by which particles of a substance being encapsulated are coated using another encapsulating substance, offers many benefits. Among other things, when using this method, it is possible to protect some substances, to separate compounds that may react with each other although they should not, to mask an unpleasant taste or odour of some food additives (for example vitamins from the B group); by encapsulating liquid compounds, it is easier to dose and store them owing to the fact that they are converted into powder. One of the materials used to manufacture microcapsules is starch, both the native and the modified. In Poland, for several years already, there have been grown two varieties of grass pea (*Lathyrus sativus* L.); in the dry matter of its seeds, there is about 45% of starch containing approximately 35% of amylose.

The objective of the paper was to determine possibilities of using the starch produced from grass pea seeds to make microcapsules.

Starch stearates were obtained (from granular or pre-gelatinized starch) using two methods, and, next, they were applied to encapsulate menthone. There were determined, among other things, the total amount of menthone in microcapsules, the amount of menthone that was really (truly) encapsulated, and the amount of menthone that was not encapsulated and remained on the surface.

The pre-gelatinization of starch caused an increase in the susceptibility to esterification, and the proof thereof was its higher degree of stearic acid substitution. With regard to the native starches, the highest amounts of menthone were contained in microcapsules produced from the two varieties of grass pea (36,7-37,2 g/100 g) whereas the microcapsules made of wheat and potato starches showed less amounts of menthone (28,7g and 25,6 g/100 g respectively). Also, irrespective of the method of manufacturing, the stearates from grass pea starches had, averagely, by 46% more menthone than those from wheat or potato starch. The stearates of all the starched investigated, which were produced using the pre-gelatinization, were characterized by a higher content of menthone if compared with the stearates obtained from granular starches.

**Key words:** grass pea, *Lathyrus sativus*, starch, microencapsulation ☒

JAROSŁAW KORUS, DOROTA GUMUL, BOHDAN ACHREMOWICZ

**SKŁAD CHEMICZNY PIĘCIU NOWYCH ODMIAN FASOLI  
ZWYCZAJNEJ (*PHASEOLUS VULGARIS* L.)**

**KOMUNIKAT NAUKOWY**

**Streszczenie**

Nasiona roślin strączkowych, do których należy także fasola zwyczajna *Phaseolus vulgaris* L., są cennym składnikiem diety ze względu na wysoką zawartość m.in. białka, witamin z grupy B, błonnika i składników mineralnych. Skład chemiczny nasion podlega znacznym wahaniom pod względem ilościowym oraz jakościowym i zależy od wielu czynników, m.in. odmiany i stopnia dojrzałości, środowiska, głównie warunków pogodowych, agrotechniki i in.

Celem badań było określenie zawartości wybranych składników chemicznych w suchych nasionach pięciu nowych odmian fasoli zwyczajnej karłowej *Phaseolus vulgaris* L. Oznaczono zawartość: białka ogółem, tłuszczu, błonnika pokarmowego, skrobi, cukrów po inwersji i popiołu.

Zawartość białka w suchej masie badanych nasion fasoli wahała się w zakresie od 23,96 do 29,85 g/100g s.m. Zawartość tłuszczu we wszystkich odmianach była zbliżona i wynosiła od 1,54 do 1,78 g/100g s.m. Nasiona badanych odmian fasoli zawierały 20,66-24,69 g/100 g s.m. błonnika pokarmowego ogółem (TDF) oraz 5,92-9,98 g/100 g s.m. jego frakcji rozpuszczalnej (SDF) i 11,28-17,29 g/100g s.m. nierozpuszczalnej (IDF). Zawartość związków mineralnych oznaczonych jako popiół całkowity wahała się w zakresie 3,7-4,2 g/100g s.m., a cukrów po inwersji 5,17-6,58 g/100g s.m.

**Słowa kluczowe:** nasiona fasoli, *Phaseolus vulgaris*, skład chemiczny

**Wprowadzenie**

Nasiona roślin strączkowych, do których należy także fasola zwykła *Phaseolus vulgaris* L., są cennym składnikiem diety ze względu na wysoką zawartość m.in. białka, witamin z grupy B, błonnika i składników mineralnych [9]. Kahlon i wsp. [8] przypisują m.in. stosunkowo wysokiemu spożyciu nasion roślin strączkowych przez mieszkańców Azji (110 g dziennie/osobę, w USA ok. 9 g) ich niską zapadalność na choroby układu krążenia. W ostatnich kilkadziesiąt latach konsumpcja nasion roślin strączkowych w Europie znacznie się zmniejszyła, choć zwiększająca się liczba

wegetarian i wzrastająca wiedza na temat zdrowego odżywiania powodują powolną zmianę tej tendencji. Skład chemiczny nasion podlega znacznym wahaniom pod względem ilościowym oraz jakościowym i zależy od wielu czynników, m.in. odmiany i stopnia dojrzałości, środowiska, głównie warunków pogodowych, agrotechniki i in. [4].

Celem badań było określenie zawartości wybranych składników chemicznych w suchych nasionach pięciu nowych krajowych odmian fasoli zwyczajnej karłowej *Phaseolus vulgaris* L.

### **Materiał i metody badań**

Materiałem do badań były suche nasiona pięciu nowych odmian fasoli, o różnym zabarwieniu okrywy nasiennej: czerwonym – Augusta (MTN 530 g), Rawela (MTN 630 g), czarnym – Nigeria (MTN 800 g), Tip-Top (MTN 290 g) i kremowym – Toffi (MTN 480 g), wyhodowanych w Zakładzie Hodowli i Nasiennictwa Ogrodniczego PlantiCo w Szymanowie i wpisanych do rejestru COBORU w roku 2004. W badaniach określano zawartość białka ogółem metodą Kjeldahla (AOAC 2.047) w aparacie Büchi B 324 (N·6,25), tłuszczu metodą Soxhleta w aparacie Büchi Universal Extraction System B 811, błonnika pokarmowego według metody AOAC 991.43, skrobi według ICC Standard nr 122, cukrów po inwersji według metody AOAC 32.041 i popiołu według metody AOAC 32.027 [1, 7].

Uzyskane wyniki, w przeliczeniu na 100 g suchej masy, poddano ocenie statystycznej, stosując test F Snedecora i t-Studenta. Najmniejszą istotną różnicę (NIR) obliczano na poziomie  $p \leq 0,01$ .

### **Wyniki i dyskusja**

Stosunkowo wysoka zawartość białka w największym stopniu wpływa na wartość odżywczą nasion fasoli. Zawartość białka w suchej masie badanych odmian była istotnie zróżnicowana i wahała się w zakresie od 23,96 g/100g s.m. w odmianie Tip-Top do 29,85 g/100 g s.m. w odmianie Toffi (tab. 1). Zbliżoną zawartość białka, 25,93 g/100 g s.m., oznaczyli w fasoli Berrios i wsp. [2] oraz Candela i wsp. [3] – 23,33 g/100 g s.m. Z kolei Granito i wsp. [5] stwierdzili w nasionach fasoli badanych przez nich odmian mniejszą zawartość tego składnika, na poziomie 22,43 g/100 g s.m., a Martín-Cabrejas i wsp. [9] jedynie 20,9 g/100 g s.m.

Nasiona fasoli badanych odmian wykazały zbliżony poziom związków mineralnych oznaczonych jako popiół ogółem (choć różnice były statystycznie istotne), a jego zawartość wynosiła od 3,7 g/100 g s.m. w nasionach fasoli odmiany Nigeria do 4,2 g/100 g s.m. w nasionach odmiany Tip-Top. Jest to ilość znacząco wyższa niż podają Martín-Cabrejas i wsp. [9], którzy uzyskali 1,6 g/100 g s.m., a zbliżona do wartości 3,77 g/100 g s.m. stwierdzonej przez Granito i wsp. [5], a także



Berriosa i wsp. [2] oraz Candelę i wsp. [3], odpowiednio 4,65 g/100 g s.m. i 4,87 g/100 g s.m.

Tabela 1

Zawartość suchej masy, białka i popiołu w suchych nasionach pięciu odmian fasoli.  
The content of dry matter, protein, and in dry seeds of five bean cultivars.

Analizowany wyróżnik Analysed component	Odmiana fasoli / Bean cultivar					NIR/NRI P ≤ 0,01
	Augusta	Nigeria	Rawela	Tip-Top	Toffi	
Sucha masa Dry matter [g/100g]	88,7	87,3	87,9	87,8	87,7	n.s.
Białko ogółem Total protein [g/100g s.m./d.b.]	28,06	28,46	28,37	23,96	29,85	0,586
Popiół ogółem Total ash [g/100g s.m./d.b.]	3,8	3,7	4,0	4,2	4,0	0,07

Objaśnienia: / Explanatory notes:

n.s. – nieistotne statystycznie / statistically insignificant, n = 4

Tabela 2

Zawartość cukrów po inwersji, skrobi i tłuszczu w suchych nasionach pięciu odmian fasoli.  
The content of carbohydrates after inversion, starch and fat in five bean cultivars.

Analizowany wyróżnik Analysed component	Odmiana fasoli / Bean cultivar					NIR/NRI P ≤ 0,01
	Augusta	Nigeria	Rawela	Tip-Top	Toffi	
Cukry po inwersji Carbohydrates after inversion [g/100 g s.m./d.m.]	5,86	5,75	6,13	5,17	6,58	0,335
Skrobia Starch [g/100 g s.m./d.m.]	38,23	36,95	32,28	39,95	32,25	n.s.
Tłuszcz Fat [g/100 g s.m./d.m.]	1,78	1,54	1,71	1,67	1,63	0,068

Objaśnienia: / Explanatory notes:

n.s. – nieistotne statystycznie / statistically insignificant, n = 4

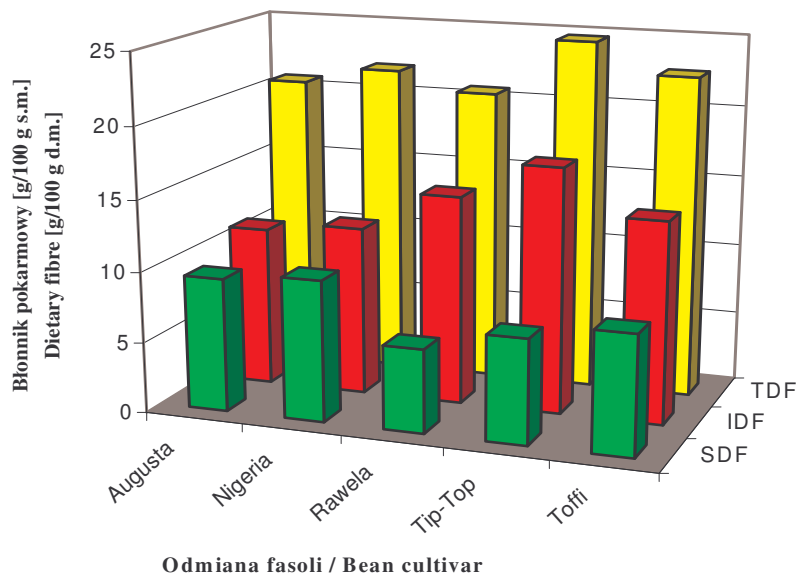
Nie wykryto istotnych różnic pomiędzy badanymi odmianami fasoli pod względem zawartości skrobi. Najwięcej tego składnika zawierały nasiona odmiany Tip-Top – 39,95 g/100 g s.m., a najmniej odmiany Toffi – 32,25 g/100 g s.m. i porównywalnie odmiany Rawela – 32,28 g/100 g s.m. (tab. 2). Podobną zawartość

skrobi, na poziomie 33,6-36,7 g/100 g s.m., wykazali w pięciu badanych odmianach fasoli uprawianej w Meksyku Vargas-Torres i wsp. [10]. Granito i wsp. [5] stwierdzili w badanej przez nich fasoli 37,06 g/100 g s.m. tego składnika.

Z kolei największą zawartością cukrów po inwersji – 6,58 g/100 g s.m. – charakteryzowały się nasiona odmiany Toffi, a najmniejszą – 5,17 g/100 g s.m. – odmiana Tip-Top. Granito i wsp. [5] stwierdzili zawartość cukrów w badanej przez nich odmianie fasoli na poziomie 3,82 g/100 g s.m.

Zawartość tłuszczu we wszystkich badanych odmianach była zbliżona i wynosiła od 1,54 g/100 g s.m. w nasionach fasoli odmiany Nigeria do 1,78 g/100 g s.m. w odmianie Augusta. Berrios i wsp. [2] oraz Granito i wsp. [5] stwierdzili w nasionach badanych odmian fasoli zbliżoną zawartość tłuszczu na poziomie odpowiednio 1,59 g/100 g s.m. i 1,60 g/100 g s.m., natomiast Candela i wsp. [3] oznaczyli w badanej przez nich fasoli 3,50 g/100 g s.m. tego składnika.

Badane odmiany fasoli różniły się istotnie pod względem zawartości błonnika pokarmowego ogółem i jego frakcji nierozpuszczalnej. Najzasobniejsze w błonnik ogółem (TDF) były nasiona odmiany Tip-Top – 24,69 g/100 g s.m., zaś najmniej błonnika zawierała fasola odmiany Rawela – 20,66 g/100 g s.m. (rys. 1). Nieco inaczej przedstawiała się zawartość frakcji rozpuszczalnej (SDF) i nierozpuszczalnej (IDF) błonnika. Najwięcej frakcji rozpuszczalnej zawierały nasiona odmiany Nigeria – 9,98 g/100 g s.m., a najmniej odmiana Rawela – 5,92 g/100 g s.m., jednak różnice w zawartości tego składnika były statystycznie nieistotne. Natomiast największą zawartość frakcji nierozpuszczalnej błonnika wykazano w nasionach fasoli odmiany Tip-Top – 17,29 g/100 g s.m., a najmniejszą w odmianie Augusta – 11,28 g/100 g s.m. Martín-Cabrejas i wsp. [9] uzyskali zbliżone wartości w badanej przez nich odmianie Carilla – 24,5 g/100 g s.m. błonnika ogółem oraz 7,7 g/100 g s.m. frakcji SDF i 17,1 g/100 g s.m. IDF. Znacznie wyższe wartości stwierdzili natomiast Granito i wsp. [5] oraz Candela i wsp. [3], odpowiednio w przypadku błonnika ogółem – 31,76 g/100 g s.m. i 32,11 g/100 g s.m., frakcji IDF 28,50 g/100 g s.m. i 27,18 g/100 g s.m., natomiast niższe w przypadku frakcji SDF – odpowiednio 3,26 g/100 g s.m. i 4,93 g/100 g s.m. Hughes [6] zwraca uwagę na fasolę jako bogate i tanie źródło błonnika pokarmowego, zarówno rozpuszczalnego, jak i nierozpuszczalnego. Błonnik jest istotnym składnikiem produktów spożywczych pod względem kształtowania ich wartości żywieniowej. Temu składnikowi żywności przypisuje się rolę w zapobieganiu chorobom układu krążenia, regulowaniu pracy przewodu pokarmowego oraz ograniczaniu występowania raka jego dolnych odcinków, utrzymywaniu prawidłowego poziomu glukozy we krwi itp. [6].



Rys. 1. Zawartość błonnika pokarmowego ogółem (TDF), błonnika rozpuszczalnego (SDF) i nierozpuszczalnego (IDF) w nasionach fasoli badanych odmian.

Fig. 1. The contents of total dietary fibre (TDF), soluble (SDF) and insoluble (IDF) fractions in bean seeds of cultivars investigated.

## Wnioski

1. Nasiona badanych odmian fasoli charakteryzowały się w większości zbliżonym poziomem analizowanych składników chemicznych.
2. Porównując zawartość poszczególnych składników w nasionach fasoli, wykazano że:
  - nasiona odmiany Toffi były najzasobniejsze w białko i cukry ogółem,
  - nasiona odmiany Tip-Top zawierały najwięcej składników mineralnych w postaci popiołu, jak również skrobi oraz błonnika ogółem i jego frakcji nierozpuszczalnej,
  - nasiona odmiany Augusta były najzasobniejsze w tłuszcz i błonnik rozpuszczalny, a najuboższe w błonnik nierozpuszczalny,
  - odmiany fasoli Nigeria i Rawela zawierały odpowiednio najmniej związków mineralnych w postaci popiołu, tłuszczu oraz błonnika ogółem i rozpuszczalnego.

*Praca naukowa finansowana ze środków Ministra Nauki w latach 2004-2006 jako projekt badawczy zamawiany nr PBZ-KBN-094/P06/2003/29*

## Literatura

- [1] AOAC Official methods of analysis. Wyd. Association of Official Analytical Chemists, Arlington 1984.
- [2] Berrios J.J., Swanson B.G., Cheong W.A.: Physico-chemical characterization of stored black beans (*Phaseolus vulgaris* L.). Food Res. Int., 1999, **32**, 669-676.
- [3] Candela M., Astiasaran I., Bello J.: Cooking and warm-holding: effect on general composition and amino acids of kidney beans (*Phaseolus vulgaris*), chickpeas (*Cicer arietinum*), and lentils (*Lens culinaris*). J. Agric. Food Chem., 1997, **45**, 4763-4767.
- [4] Dostalova J.: Strączkowe – żywność znana od dawna. Przem. Spoż., 2000, **12**, 42-43.
- [5] Granito M., Frias J., Doblado R., Guerra A., Champ M.: Nutritional improvement of beans (*Phaseolus vulgaris*) by natural fermentation. Eur. Food Res. Technol., 2002, **214**, 226-231.
- [6] Hughes J.S.: Potential contribution of dry bean dietary fiber to health. Food Technol., 1991, **45** (9), 122-125.
- [7] ICC-standards. Standard methods of the International Association of Cereal Sci. and Technol. (ICC), Wyd. ICC. Wiedeń 1995.
- [8] Kahlon T.S., Smith G.E., Shao Q.: In vitro binding of bile acids by kidney bean (*Phaseolus vulgaris*), black bean (*Vigna mungo*), bengal gram (*Cicer arietinum*) and moth bean (*Phaseolus aconitifolius*). Food Chem., 2005, **90**, 241-246.
- [9] Martín-Cabrejas M.A., Sanfiz B., Vidal A., Mollá E., Esteban R., López-Andréu F.J.: Effect of fermentation and autoclaving on dietary fiber fractions and antinutritional factors of beans (*Phaseolus vulgaris* L.). J. Agric. Food Chem., 2004, **52**, 261-266.
- [10] Vargas-Torres A., Osorio-Díaz P., Tovar J., Paredes-López O., Ruales J., Bello-Pérez L.A.: Chemical composition, starch bioavailability and indigestible fraction of common beans (*Phaseolus vulgaris* L.). Starch/Stärke, 2004, **56**, 74-78.


#### CHEMICAL COMPOSITION OF FIVE NEW KIDNEY BEAN (*PHASEOLUS VULGARIS* L.) CULTIVARS

##### S u m m a r y

The seeds of leguminous plants, among which kidney bean *Phaseolus vulgaris* L. is classified, are very valuable food ingredients owing to their high contents of, among other things, protein, vitamins of the 'B' group, dietary fibre, and mineral compounds. The chemical composition of seeds fluctuates both quantitatively and qualitatively, and it depends on many factors, inter alia, on cultivar and maturity stage, environment, mainly weather conditions, agricultural science, and on other things.

The objective of the study was to determine the content of some selected chemical compounds contained in dry seeds of five new cultivars of dwarf kidney bean (French bean) (*Phaseolus vulgaris* L.) The content of the following compounds was determined: total protein, fat, dietary fibre, starch, carbohydrates after inversion, and ash.

The content of crude protein in dry matter of bean cultivar seeds investigated ranged from 23,96 to 29,85 g/100 g d.b. The content of fat in all the cultivars was similar and amounted between 1,54 and 1,78 g/100 g d.b. The seeds of the bean cultivars under investigation contained 20,66 g/100 g to 24,69 g/100 g d.b. of the total dietary fibre (TDF), 5,92 to 9,98 g/100 g d.b. of its soluble fraction (SDF), and 11,28 to 17,29 g/100 g d.b. of its insoluble fraction (IDF). The content of mineral compounds determined as total ash ranged from 3,7 to 4,2 g/100 g d.b., and the content of carbohydrates after inversion: from 5,17 to 6,58 g/100 g d.b.

**Key words:** bean seeds, *Phaseolus vulgaris*, chemical composition 

EWA DOMIAN

## **WŁAŚCIWOŚCI FIZYCZNE MODELOWEJ ŻYWNOSCI W PROSZKU W ASPEKCIE METODY AGLOMERACJI**

### **Streszczenie**

Celem pracy było określenie wpływu aglomeracji nawilżeniowej, poprzez mieszanie w złożu fluidalnym, na wybrane właściwości fizyczne otrzymanych aglomeratów na przykładzie modelowej żywności w proszku. Aglomerację przeprowadzono dwoma metodami: w pneumatycznie i mechanicznie generowanym złożu fluidalnym. Analiza właściwości fizycznych obejmowała: wielkość cząstek, skład granulometryczny, gęstość nasypową luźną i utrzęsioną, porowatość, sypkość i zwilżalność. Modelową żywność w proszku stanowiły mieszaniny tworzone z takich proszków spożywczych, jak: serwatka, izolat białka sojowego, izolat białek serwatkowych, glukoza, proszek mleczny, tłuszcz roślinny. Nieaglomerowane mieszaniny były proszkami drobnoziarnistymi, trudno rozpuszczalnymi w wodzie, o wysokiej gęstości nasypowej luźnej i utrzęsionej oraz słabej sypkości. Aglomeracja nawilżeniowa poprzez mieszanie modelowej żywności w proszku, przeprowadzona zarówno w pneumatycznie, jak i mechanicznie generowanym złożu fluidalnym, umożliwiała otrzymanie produktu o zmniejszonej zawartości pyłu, dobrej sypkości i szybkiej rozpuszczalności w cieczach. Wyższa gęstość nasypowa i gęstość rzeczywista oraz niższa porowatość złoża proszków aglomerowanych przez mieszanie mechaniczne wskazuje na istnienie bardziej upakowanej struktury tych aglomeratów. Nawilżanie roztworami węglowodanów podczas aglomeracji, zwłaszcza w przypadku mieszania pneumatycznego i nawilżania roztworem maltodekstryny, może doprowadzić do otrzymania aglomeratu o wyższej gęstości nasypowej i niższej porowatości w porównaniu z aglomeratem wytworzonym z użyciem wody. Nadanie cechy instant zwilżalności modelowej żywności w proszku, poprzez aglomerację, uzależnione jest od jej składu surowcowego.

**Słowa kluczowe:** aglomeracja, żywność w proszku, złoże fluidalne

### **Wprowadzenie**

Produkty w proszku mają strukturę systemów zdyspergowanych o dużym znaczeniu praktycznym [12]. Charakterystyka jakościowa proszków obejmuje najczęściej aspekty związane z ich obrotem, jak też aspekty związane z odtwarzaniem w cieczy. Celem powiększania rozmiarów cząstek poprzez aglomerację jest polepszenie wybranych właściwości fizycznych systemu zdyspergowanego [4, 7]. Takie właściwości cząstek ciał stałych, jak: gęstość nasypowa, sypkość, dozowność, unikanie segregacji składników czy tworzenia pyłu mają podstawowe znaczenie.

Ponadto artykuły spożywcze w proszku z przeznaczeniem do dyspersji w płynie powinny charakteryzować się właściwościami instant, co oznacza ich dobrą zwilżalność, opadalność, dyspergowalność i rozpuszczalność. Zależnie od metody aglomeracji powyższe kryteria są spełniane w różnym stopniu. Sposób formowania aglomeratów w danym procesie determinuje ich właściwości [5, 9, 10].

Łączenie cząstek proszku w większe skupiska może następować wskutek działania sił molekularnych i elektrostatycznych, sił powierzchniowych kohezji i adhezji oraz wskutek wytwarzania mostków ciekłych lub stałych. W stanie suchym łączenie się cząstek wiąże się z ich deformacją plastyczną, łamaniem struktury, spiekaniem lub nadtapianiem w warunkach podwyższonego ciśnienia lub temperatury. W stanie mokrym do łączenia i wzrostu rozmiarów cząstek konieczny jest dodatek substancji ciekłej – odpowiedniego lepiszcza lub cieczy [4].

Dobór metody i parametrów prowadzenia procesu ma istotne znaczenie. Nawilżeniowa aglomeracja prowadzona w warunkach mieszania mechanicznego lub pneumatycznego stwarza możliwość granulacji mieszanin różnorodnych składników, z których każdy może charakteryzować się innymi właściwościami [5, 9]. Polepszenie wszystkich właściwości jakościowych jednocześnie nie jest możliwe. Zwiększenie stabilności mechanicznej (struktury) aglomeratu zazwyczaj wiąże się z pogorszeniem właściwości instant [11]. W tworzeniu stabilnych aglomeratów, pierwotne cząstki najpierw muszą być doprowadzone do wzajemnego kontaktu, co zazwyczaj uzyskuje się poprzez siły zewnętrzne, a następnie muszą być zapewnione trwałe siły łączące cząstki, silniejsze niż jakiegokolwiek istniejące siły rozrywające. Trwałość i intensywność sił łączących ma zasadniczy wpływ na stabilność i porowatość aglomeratów. Proces, w którym na cząstki działają duże siły zewnętrzne, umożliwia uzyskanie stabilnych, łatwych w obrocie i dozowaniu produktów w postaci gęstych i gładkich granul. Jednak właściwości instant są niezadowalające z powodu małej porowatości granul i dużych sił wiążących pierwotne cząstki. Każda metoda aglomeracji wyróżnia się szczególnymi mechanizmami wiążącymi, dając aglomeraty o specyficznych cechach jakościowych [7].

Celem pracy było określenie wpływu aglomeracji nawilżeniowej, poprzez mieszanie w pneumatycznie i mechanicznie generowanym złożu fluidalnym, na wybrane właściwości fizyczne otrzymywanych aglomeratów, na przykładzie modelowej żywności w proszku.

### **Materiały i metody badań**

Materiał badawczy, modelową żywność w proszku, stanowiły mieszaniny tworzone z takich proszków spożywczych, jak: serwatka (S) zdemineralizowana D25 (Lacma), izolat białka sojowego (IBSj) SUPRO 670 (The Solae Company), izolat białek serwatkowych (IBSw) (Lacma), glukoza (Glu) (Hortimex), tłuszcz roślinny w proszku (TP) (BHA Belgium), odtłuszczone mleko w proszku (PM) (OSM Radomsko). Mieszaniny w ułamkach masowych zawierały: A (S 0,66 IBSj 0,34), B (IBSw 0,16 Glu 0,50 IBSj 0,34), C (S 0,34 IBSj 0,66), D (IBSw 0,08 Glu 0,26 IBSj 0,66), F (S 0,49

IBSj 0,25 TP 0,26), PM (PM 1). Różniły się one pod względem ilościowej i/lub jakościowej zawartości białka oraz węglowodanów. Ogólna zawartość białka i węglowodanów wynosiła odpowiednio 37 i 50% w mieszaninach A, B i PM oraz 66 i 22% w mieszaninach C i D. Mieszanina F oprócz 26% białka i 39% węglowodanów, zawierała 26% rafinowanego tłuszczu palmowego.

Aglomerację prowadzono dwoma metodami: w aglomeratorze STREA 1 (Niro-Aeromatic AG) (pneumatycznie generowane złożo fluidalne) i w laboratoryjnym mieszalniku lemieszowo-płującym PLUGHSHARE MIXER L5 (Lödige) (mechanicznie generowane złożo fluidalne). Parametry procesu aglomeracji w aparacie STREA 1 były następujące: wsad – masa mieszaniny 300 g; ciecz nawilżająca – 60 g woda oraz 85 g syrop maltozowy 30-procentowy, 120 g syrop maltozowy 50-procentowy, 85 g roztwór maltodekstryny średniosukrzonowej 30-procentowej lub 120 g roztwór maltodekstryny średniosukrzonowej 50-procentowej; temp. powietrza wlotowego 50°C; strumień przepływu powietrza przez złożo od 50 do 80 m<sup>3</sup>/h; ciśnienie sprężonego powietrza w dyszy rozpylającej 50 kPa; nawilżanie z przerwami w czasie do 10 min; suszenie aglomeratu 15 min powietrzem wlotowym o temp. 50°C. Aglomerację w aparacie PLUGHSHARE MIXER prowadzono wg następujących parametrów: wsad, masa mieszaniny – 400 g; ciecz nawilżająca, woda – 70 g oraz 30-procentowy syrop maltozowy – 100 g, 50-procentowy syrop maltozowy – 140 g, 30-procentowy roztwór maltodekstryny średniosukrzonowej – 100 g lub 50-procentowy roztwór maltodekstryny średniosukrzonowej – 140 g; temp. granulacji 22°C; prędkość mieszadła impelerowego 200 obr./min; czas granulacji 3 min, ciśnienie sprężonego powietrza w dyszy rozpylającej 50 kPa; suszenie aglomeratu 30 min powietrzem wlotowym o temp. 50°C.

Każdego rodzaju mieszaniny w formie proszku oraz aglomeratu (frakcji użytecznej o rozmiarach cząstek 0,2-2 mm) analizowano, oznaczając podstawowe właściwości fizyczne: wielkość cząstek, gęstość nasypową, porowatość, sypkość i zwilżalność w wodzie.

Średni wymiar cząstek aglomeratów  $d_{50}$  oznaczano przy użyciu analizatora wielkości cząstek ciał stałych w powietrzu AWK – V 97 (Kamika Warszawa), zaś wymiar  $d_{50}$  cząstek mieszaniny nieaglomerowanej stosując Master Sizer Microplus (Malvern Instruments). Gęstość nasypową luźną  $\rho_L$  (gęstość nasypowa materiału luźno usypanego) i utrzoną  $\rho_T$  (gęstość nasypowa materiału upakowanego 1250 standardowymi postukiwaniem) [2, 8, 13] oznaczano z wykorzystaniem objętościomierza wstrząsowego STAV 2003 (Engelsmann AG, Niemcy). Gęstość rzeczywistą  $\rho$  wyznaczano przy użyciu piknometru helowego Stereopycnometer (Quantachrome Instruments). Na podstawie gęstości  $\rho$ ,  $\rho_L$  i  $\rho_T$  obliczano porowatość złoża proszku lub aglomeratu: luźno usypanego  $\varepsilon_L = (1 - \rho_L / \rho)$  i upakowanego  $\varepsilon_T = (1 - \rho_T / \rho)$ . Sypkość  $I_S$  określano jako czas potrzebny do wysypu 25 cm<sup>3</sup> proszku lub aglomeratu przez szczeliny obracającego się naczynia [8, 13]. Zwilżalność w wodzie ( $z$ ) oznaczano jako czas potrzebny do zwilżenia wszystkich cząstek proszku lub aglomeratu zawartych w masie 10 g [8, 13].



## Wyniki i dyskusja

Wymagane cechy użytkowe spożywczych aglomerowanych produktów sypkich dotyczą głównie dobrej sypkości, szybkiej rozpuszczalności w cieczach, zmniejszonej zawartości pyłu. Aglomeracja nawilżeniowa poprzez mieszanie modelowej żywności w proszku, przeprowadzona zarówno w pneumatycznie (STREA 1), jak i mechanicznie (PLUGHSHARE MIXER) generowanym złożu fluidalnym, umożliwia otrzymanie produktu spełniającego powyższe wymagania. Nadanie pożądanych cech modelowej żywności w proszku poprzez aglomerację uzależnione było od rodzaju mieszaniny i od zastosowanej metody aglomeracji. Na podstawie wyników można było także stwierdzić, że mieszaniny proszków spożywczych, zdecydowanie różniących się pochodzeniem i składem chemicznym mogą być podobne pod względem właściwości fizycznych.

Wielkość cząstek odgrywa szczególną rolę, gdyż wykazuje związek nie tylko z cechami użytkowymi proszku, lecz także decyduje o jego zachowaniu się podczas dalszych procesów. Rozmiar cząstek jest jedną z najistotniejszych właściwości definiujących sypkość proszków. Gdy średnica cząstek przekracza 200  $\mu\text{m}$ , proszki mogą charakteryzować się dobrą sypkością, natomiast proszki drobne zalicza się do proszków kohezyjnych, a ich dozowanie jest trudniejsze [6, 10]. W tab. 1. przedstawiono wartości średniej średnicy  $d_{50}$  badanych mieszanin odpowiednio w formie proszku oraz aglomeratu. Średnią średnicę  $d_{50}$  przyjmowano jako medianę skumulowanego rozkładu udziałów objętościowych. Proces aglomeracji zmieniał skład granulometryczny w stronę większych cząstek. Średnica  $d_{50}$  mieszanin nieaglomerowanych wynosiła 52–75  $\mu\text{m}$ , a mieszanin aglomerowanych w pneumatycznie generowanym złożu fluidalnym 346–68  $\mu\text{m}$ , natomiast mieszanin aglomerowanych w mechanicznie generowanym złożu fluidalnym 351–606  $\mu\text{m}$  (nawet 968  $\mu\text{m}$  w przypadku proszku mlecznego). Aglomeracja badanych mieszanin w aparacie STREA 1 zwiększyła wymiar charakterystyczny cząstek średnio 5–12 razy, natomiast aglomeracja w mieszalniku PLUGHSHARE MIXER średnio 6–11 razy (17 razy w przypadku proszku mlecznego). Zastosowanie roztworów węglowodanów zamiast wody, jako cieczy nawilżającej, podczas aglomeracji mieszaniny A w aparacie STREA 1 spowodowało zwiększenie wymiarów granu, natomiast w przypadku aglomeracji w PLUGHSHARE MIXER ich zmniejszenie.

Gęstość rzeczywista  $\rho$  badanych mieszanin przed i po aglomeracji przyjmowała zbliżone wartości (tab. 1). Przy czym mieszaniny aglomerowane w mieszalniku PLUGHSHARE MIXER w porównaniu z proszkami charakteryzowały się o kilka procent wyższą gęstością rzeczywistą  $\rho$ , niezależnie od rodzaju mieszaniny i cieczy nawilżającej. Zwiększenie gęstości  $\rho$  na skutek aglomeracji w mieszalniku STREA 1 występowało tylko w przypadku mieszanin trójskładnikowych. Wyższa gęstość  $\rho$

Tabela 1

Średnia średnica  $d_{50}$  i gęstość rzeczywista  $\rho$  modelowych mieszanin w proszku oraz aglomeratów uzyskanych z tych mieszanin.

Mean diameter  $d_{50}$  and apparent density  $\rho$  of model mixture powders and of agglomerates produced from those mixtures.

Aglomerat / Agglomerate			$d_{50}$ [ $\mu\text{m}$ ]	$\rho$ [ $\text{kg}/\text{m}^3$ ]
Aglomerator Device	Ciecz nawilżająca Wetting liquid	Materiał <sup>a)</sup> Material <sup>a)</sup>		
	proszek powder	A B C D F PM	53±1 66±1 52±1 49±1 75±1 56±1	1139±10 1222±15 1049±22 1092±24 1045±6 1035±2
STREA 1	woda / water woda / water woda / water woda / water woda / water woda / water	A B C D F PM	380±1 346±3 384±3 340±3 506±15 467±3	1017±5 1117±1 1148±14 1205±13 1224±3 1037±3
PLUGHSHARE MIXER	woda / water woda / water woda / water woda / water woda / water woda / water	A B C D F PM	604±13 417±16 351±12 385±6 604±34 968±39	1216±0 1229±3 1148±3 1224±5 1144±1 1109±5
STREA 1	maltoza 30% / maltose 30% maltoza 50% / maltose 50% maltodekstryna 30% / maltodextrin 30% maltodekstryna 50% / maltodextrin 50%	A A A A	497±42 437±9 525±15 687±7	1011±1 1112±2 1097±2 1174±2
PLUGHSHARE MIXER	maltoza 30% / maltose 30% maltoza 50% / maltose 50% maltodekstryna 30% / maltodextrin 30% maltodekstryna 50% / maltodextrin 50%	A A A A	481±11 358±8 430±3 606±5	1205±2 1223±0 1212±2 1205±3

Objaśnienia: / Explanatory notes:

<sup>a)</sup> skład surowcowy w Metodyce

<sup>a)</sup> raw material composition in the "Methodology"

$d_{50}$  – średnia średnica cząstek,  $\rho$  – gęstość rzeczywista

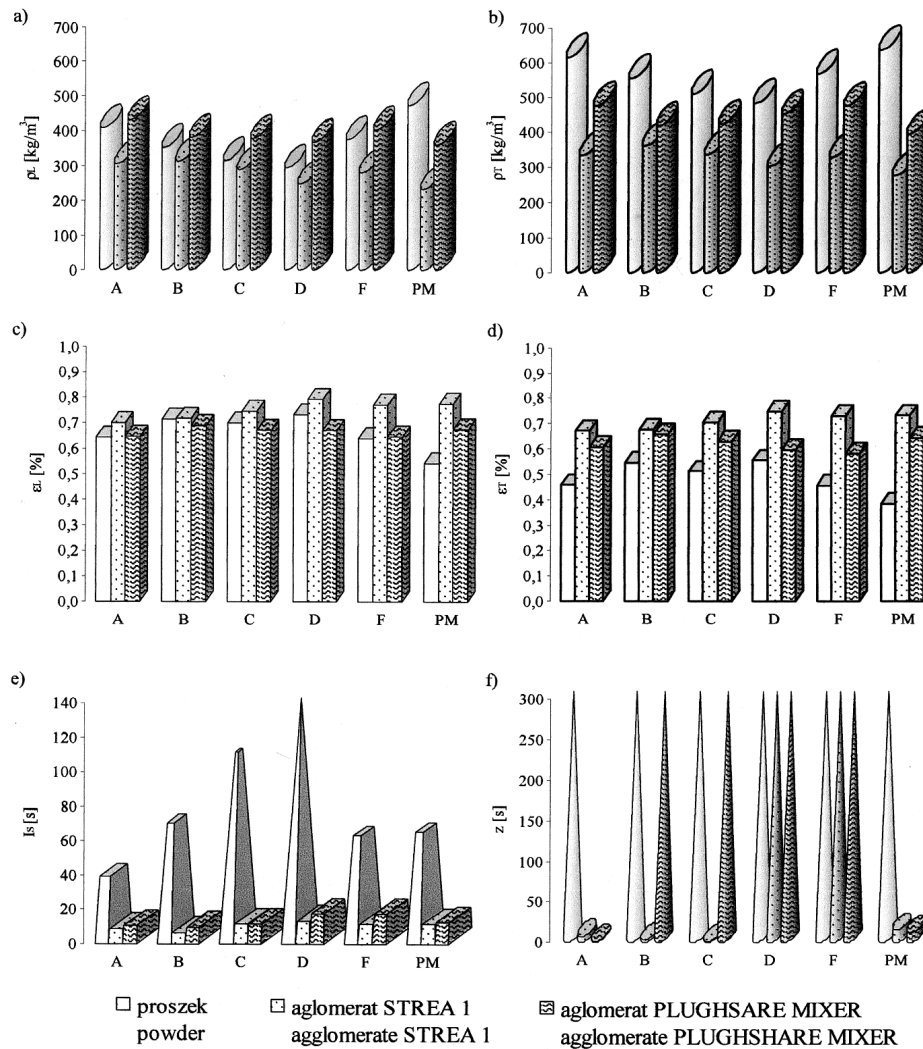
$d_{50}$  – mean diameter of particles,  $\rho$  – apparent density

proszków aglomerowanych przez mieszanie mechaniczne sugeruje wystąpienie bardziej upakowanej struktury granul.

Gęstość nasypowa umożliwia ocenę stopnia wypełnienia materiałami sypkimi zbiorników i opakowań. Określenie tego parametru wykorzystuje się do charakterystyki materiałów. Gęstość nasypowa proszków, granulatów czy innych sypkich materiałów silnie zależy od upakowania cząstek [1, 6]. Gęstość nasypowa luźna  $\rho_L$  określa objętość proszku luźno przesypanego razem z objętością przestrzeni

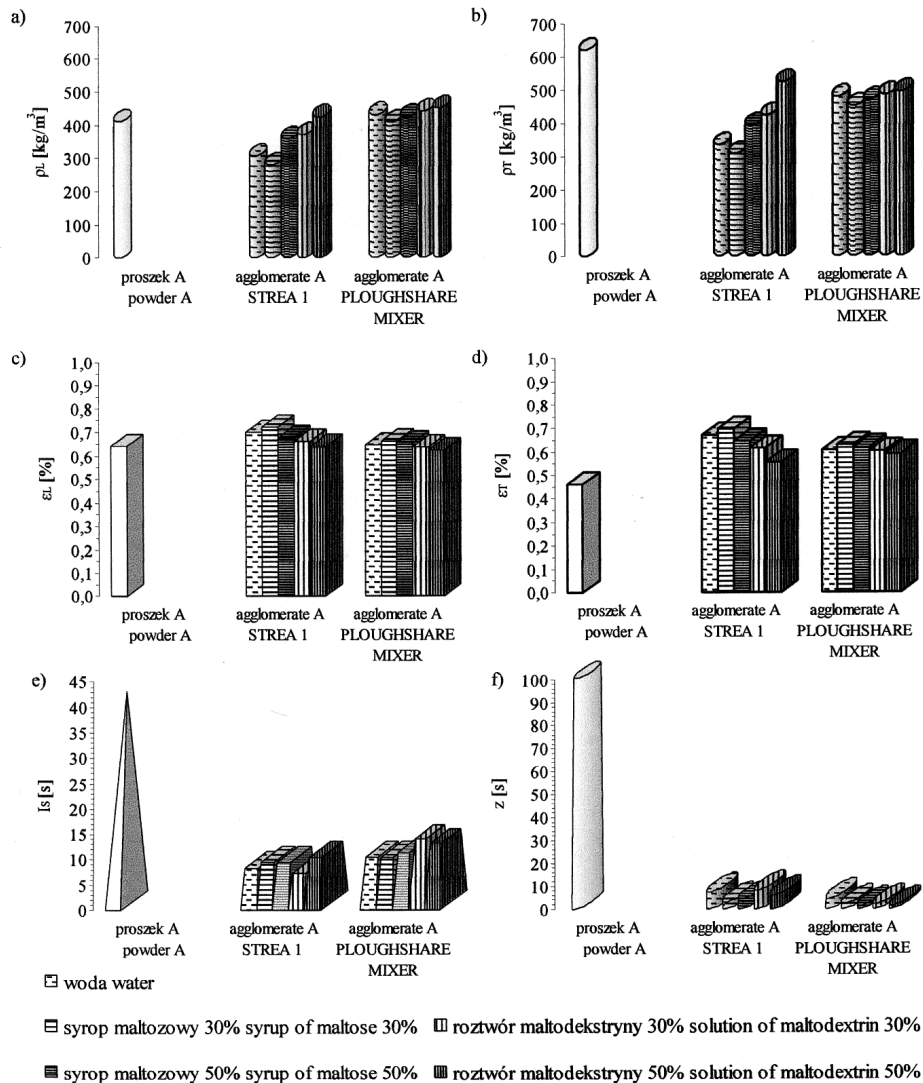
między cząstkami proszku. Aby poprawić upakowanie proszku stosuje się „postukiwanie”. W wyniku ubijania mniejsze cząstki przechodzą w puste przestrzenie pomiędzy większymi i objętość proszku zmniejsza się. Obliczona gęstość materiału standardowo upakowanego (utrząsionego) do najmniejszej objętości jest tak zwaną gęstością nasypową utrząsioną  $\rho_T$ . Gęstość nasypowa luźna i utrząsiona mieszanin nieaglomerowanych wynosiła odpowiednio  $\rho_L$  295÷473 i  $\rho_T$  485÷638 kg/m<sup>3</sup> (rys. 1a i 1b). Aglomeracja wodą badanych mieszanin zdecydowanie obniżyła ich gęstość nasypową, niezależnie od rodzaju mieszaniny i metody aglomeracji. Gęstość nasypowa luźna i utrząsiona aglomeratów otrzymanych w aparacie STREA 1 (mieszanie pneumatyczne) wynosiła odpowiednio  $\rho_L$  235÷314 i  $\rho_T$  278÷362 kg/m<sup>3</sup>, zaś aglomeratów otrzymanych w aparacie PLUGHSHARE MIXER (mieszanie mechaniczne) odpowiednio  $\rho_L$  360÷431 i  $\rho_T$  396÷477 kg/m<sup>3</sup> (rys. 1a i 1b). Bardziej znaczące zmniejszenie gęstości nasypowej zaobserwowano w przypadku aglomeracji w pneumatycznie generowanym złożu fluidalnym. Spadek gęstości  $\rho_T$  wynosił odpowiednio 34-56% (STREA 1) i 7-38% (PLUGHSHARE MIXER). W przypadku gęstości nasypowej luźnej aglomeracja w aglomeratorze STREA 1 spowodowała zmniejszenie  $\rho_L$  o 8-50%, natomiast aglomeracja w mieszalniku PLUGHSHARE MIXER zwiększenie  $\rho_L$  o 6-25% oraz zmniejszenie  $\rho_L$  o 24% tylko w przypadku proszku mlecznego. Podobna tendencja zmiany gęstości nasypowej  $\rho_L$  i  $\rho_T$  na skutek aglomeracji utrzymywała się przy zastosowaniu roztworów węglowodanów jako cieczy nawilżającej (rys. 2a i 2b). Aglomeraty mieszaniny A otrzymane przy użyciu roztworu maltodekstryny w porównaniu z aglomeratem A nawilżanym wodą, charakteryzowały się zdecydowanie wyższą gęstością  $\rho_L$  i  $\rho_T$  zarówno w przypadku aglomeratora STREA 1, jak i mieszalniku PLUGHSHARE MIXER. Istotnie mniejszą gęstość nasypową aglomeratów otrzymywanych w pneumatycznie generowanym złożu fluidalnym można wyjaśnić większą porowatością i nieregularnością kształtu cząstek tych aglomeratów [5, 9, 11].

Z gęstością nasypową i gęstością rzeczywistą związana jest porowatość złoża materiału sypkiego, obejmująca zewnętrzną międzyziarnową porowatość, czyli system pustych przestrzeni pomiędzy poszczególnymi cząstkami i porowatość wewnętrzną, czyli sieć porów i kapilar w obrębie pojedynczych cząstek. Droбноziarniste kohezyjne materiały sypkie w formie proszku charakteryzują się wysoką porowatością złoża proszku luźno usypanego na skutek tworzenia dużych wolnych przestrzeni międzycząstkowych. Porowatość luźna  $\varepsilon_L$  badanych mieszanin w formie proszku



Rys. 1. Wpływ aglomeracji wodą w pneumatycznie (STREA 1) i mechanicznie (PLUGSHARE MIXER) generowanym złożu fluidalnym na fizyczne właściwości modelowych mieszanin proszków spożywczych A, B, C, D, F i PM: a) gęstość nasypowa luźna  $\rho_L$ , b) gęstość nasypowa utrzęsiona  $\rho_T$ , c) porowatość luźna  $\epsilon_L$ , d) porowatość utrzęsiona  $\epsilon_T$ , e) sypkość  $I_s$ , f) zwilżalność  $z$ .

Fig. 1. The effect of wet agglomeration in pneumatically (STREA 1) and mechanically (PLUGSHARE MIXER) generated fluidized bed on the physical properties of model mixtures of food powders A, B, C, D, F, and PM on physical properties: a) loose bulk density  $\rho_L$ , b) tapped bulk density  $\rho_T$ , c) loose porosity  $\epsilon_L$ , d) tapped porosity  $\epsilon_T$ , e) flowability  $I_s$ , f) wettability  $z$ .



Rys. 2. Wpływ aglomeracji roztworami węglowodanów w pneumatycznie (STREA 1) i mechanicznie (PLUGHSHARE MIXER) generowanym złożu fluidalnym na fizyczne właściwości mieszanki A: a) gęstość nasypowa luźna  $\rho_L$ , b) gęstość nasypowa utrząsiona  $\rho_T$ , c) porowatość luźna  $\varepsilon_L$ , d) porowatość utrząsiona  $\varepsilon_T$ , e) sypkłość  $I_S$ , f) zwilżalność  $z$ .

Fig. 2. The effect of agglomeration by carbohydrates solutions in a pneumatically (STREA 1) and mechanically (PLUGHSHARE MIXER) generated fluidized bed on physical properties of a mixture A: a) loose bulk density  $\rho_L$ , b) tapped bulk density  $\rho_T$ , c) loose porosity  $\varepsilon_L$ , d) tapped porosity  $\varepsilon_T$ , e) flowability  $I_S$ , f) wettability  $z$ .

przyjmowała wartości w zakresie od 0,54 do 0,73. Porowatość  $\varepsilon_L$  aglomeratów mieszanin otrzymanych w mieszalniku STREA 1 była o kilka procent wyższa, zaś aglomeratów z mieszalnika PLUGHSHARE MIXER o kilka procent niższa w stosunku



do proszków (rys. 1c). Porowatość złoża upakowanego  $\varepsilon_T$  badanych mieszanin wynosiła odpowiednio: 0,38–0,56 (proszki), 0,67–0,75 (aglomerat STREA 1) i 0,58–0,66 (aglomerat PLUGHSHARE MIXER) (rys. 1d). Aglomeracja wodą w złożu fluidalnym generowanym pneumatycznie wiązała się z 24–90% wzrostem porowatości  $\varepsilon_T$ , gdy w mechanicznie generowanym tylko z 7–67%. Podobna tendencja zmiany porowatości  $\varepsilon_L$  i  $\varepsilon_T$  na skutek aglomeracji utrzymywała się przy zastosowaniu roztworów węglowodanów (rys. 2c i 2d). Nawilżanie roztworami węglowodanów wiąże się z otrzymaniem aglomeratu o niższej porowatości w porównaniu z aglomeracją wodą, zwłaszcza w przypadku mieszania pneumatycznego i roztworu maltodekstryny.

Wyróżnik  $I_S$  badanych produktów charakteryzuje sypkość materiału w warunkach dynamicznych, podobnych do przesypywania i transportu mechanicznego materiałów sypkich i nie wymaga konsolidacji próbki. Wysyp proszku  $I_S$  w czasie do 20 s wg kryterium NIRO pozwala sklasyfikować materiał sypki jako swobodnie płynący, zaś czas wysypu powyżej 60 s określa materiał jako trudno płynący [8]. Wyróżnik sypkości  $I_S$  jako czas wysypu określa badane mieszaniny w proszku jako słabo sypkie (rys. 1e). Mieszanina A wysypywała się w ciągu ok. 40 s, zaś mieszaniny B, C, D, F i PM w czasie dłuższym niż 60 s. Przy czym należy zauważyć, że mieszaniny C i D zawierające większą ilość białka charakteryzowały się 2-3-krotnie dłuższym czasem wysypu  $I_S$  wynoszącym odpowiednio 108 i 138 s. Ponadto obecność w mieszaninie izolatu białek serwatkowych wpłynęła na pogorszenie sypkości. Mieszaniny B i D wysypywały się w czasie dłuższym w porównaniu z ich odpowiednikami A i C. Wyróżnik  $I_S$  różnicuje pod względem sypkości mieszaniny w proszku i mieszaniny aglomerowane. Modelowa żywność w formie aglomeratów, niezależnie od charakteru i składu chemicznego oraz metody aglomeracji i cieczy nawilżającej, według wyróżnika  $I_S$  wykazywała bardzo dobrą sypkość, gdyż wysypywała się w czasie krótszym niż 20 s (rys. 1e i 2e).

Wskaźnikiem charakteryzującym właściwości rekonstruktoryjne jest zwilżalność określana jako wskaźnik szybkości odtwarzania proszków w cieczy [8, 15]. Zwilżalność wyznaczano jako czas zwilżenia wszystkich cząstek proszku zawartych w masie 10 g i nasypanych na swobodną powierzchnię wody o temp. 20°C. Zwilżalność mieszanin nieaglomerowanych była niewielka, gdyż porcja proszku utrzymywała się na powierzchni cieczy przez czas dłuższy niż 3 min. Mieszaniny te ulegały zdyspergowaniu w wodzie dopiero w trakcie intensywnego mieszania. Zwilżalność odpowiadająca właściwości błyskawicznej rozpuszczalności instant (czas zwilżania <15 s) na skutek aglomeracji w aglomeratorze STREA 1 uzyskano w przypadku mieszanin A, B, C i PM, zaś na skutek aglomeracji w aparacie PLUGHSHARE MIXER tylko w przypadku mieszanin A i PM (rys. 1f i 2f). Nadanie cechy instant zwilżalności mieszaninom zawierającym w składzie tłuszcz lub większą ilość białka może wiązać się z zastosowaniem podczas aglomeracji preparatów powierzchniowo czynnych, jak na przykład lecytyny [3, 11].

## Wnioski

1. Aglomeracja nawilżeniowa poprzez mieszanie modelowej żywności w proszku, przeprowadzona zarówno w pneumatycznie, jak i mechanicznie generowanym złożu fluidalnym, umożliwia otrzymanie produktu o zmniejszonej zawartości pyłu, dobrej sypkości i szybkiej rozpuszczalności w cieczach.
2. Większa gęstość nasypowa i gęstość rzeczywista oraz mniejsza porowatość złoża proszków aglomerowanych przez mieszanie mechaniczne wskazuje na istnienie bardziej upakowanej struktury tych aglomeratów.
3. Nawilżanie roztworami węglowodanów podczas aglomeracji może spowodować otrzymanie aglomeratu o większej gęstości nasypowej i mniejszej porowatości w porównaniu z aglomeracją wodą, zwłaszcza w przypadku mieszania pneumatycznego i nawilżania roztworem maltodekstryny.
4. Nadanie cechy instant zwilżalności modelowej żywności w proszku poprzez aglomerację uzależnione jest od jej składu surowcowego.

*Badania wykonano w ramach pracy naukowej finansowanej ze środków Komitetu Badań Naukowych w latach 2003-2005 (projekt badawczy nr 3 P06T 041 25).*

## Literatura

- [1] Abdullah E.C., Geldart D.: The use of bulk density measurements as flowability indicators. *Powder Technol.*, 1999, **102**, 151-165.
- [2] DIN ISO 3953: 1995. Metallic powders - Determination of tap density
- [3] Domian E., Grzegorzczak K.: Wybrane właściwości fizyczne modelowego napoju sojowego w proszku w aspekcie aglomeracji preparatami lecytynowymi. *Inż. i Ap. Chem.*, 2004, **43 (3s)**, 31-32.
- [4] Domian E.: Aglomeracja w przemyśle spożywczym. *Przem. Spoż.*, 2002, **8 (56)**, 80-86, 88.
- [5] Faure A., York P., Rowe R.C.: Process control and scale-up of pharmaceutical wet granulation processes: a review. *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, 2001, **52**, 269-277.
- [6] Peleg M.: Flowability of food powders and methods for its evaluation – a review. *J. Food Proc. Eng.*, 1978, **1**, 303-328.
- [7] Pietsch W.: An interdisciplinary approach to size enlargement by agglomeration. *Powder Technol.*, 2003, **130**, 8-13.
- [8] Pisecky J.: *Handbook of Milk Powder Manufacture* Copenhagen Niro A/S, 1997.
- [9] Rambali B., Baert L., Massart D.L.: Using experimental design to optimize the process parameters in fluidized bed granulation on semi – full scale. *Int. J. Pharm.*, 2001, **220**, 149-160.
- [10] Schubert H.: Food Particle Technology. Part I: Properties of particles and particulate food systems. *J. Food Eng.*, 1987, **6 (1)**, 1-32.
- [11] Schubert H.: Instantization of powdered foods. *Int. Chem. Eng.*, 1993, **33 (1)**, 28-45.
- [12] Schubert H., Ax K., Behrend O.: Product engineering of dispersed systems. *Trends Food Sci. Technol.*, 2003, **14**, 9-16.
- [13] Soerensen J.H., Krag J., Pisecky J., Westergaard V.: *Analytical methods for dry milk products.* A/S Niro Atomizer Copenhagen, Denmark, 1978.



**PHYSICAL PROPERTIES OF MODEL FOOD POWDERS FROM THE POINT OF VIEW OF THE AGGLOMERATION METHOD****S u m m a r y**

The objective of the paper was to determine the effect of wet agglomeration performed through mixing in a fluidized bed on some selected physical properties of agglomerates produced; an example of a model food powders was used to exemplify this effect. The agglomeration process was performed using two methods: in a pneumatic and in a mechanically generated fluidized bed. The analysis of physical properties included: size of particles, granulometric composition, loose and tapped bulk density, porosity, flowability, and wettability. The model food powders were mixtures composed of such food powders as: whey, soy protein isolate, whey protein isolate, glucose, milk powder, and vegetable fat. Non-agglomerated mixtures were fine-grained and sparingly water-soluble powders showing a high loose and tapped bulk density, and a poor flowability. The wet agglomeration process, if carried out by mixing the model food powders, and if performed both in the pneumatically and the mechanically generated fluidized bed, makes it possible to produce a final product containing less dust, showing good flowability, and quickly dissolving in liquids. The higher bulk and apparent density rates, as well as the lower porosity of the bed with powders agglomerated by mechanical mixing show the occurrence of a closer packed structure of those agglomerates. If, during the agglomeration, wetting by carbohydrate is applied, in particular in the case of the pneumatic mixing and wetting by maltodextrin, then, it is possible to produce an agglomerate of a higher bulk density and a lower porosity compared to the agglomerate produced using water. The raw materials composition of model food powders is a factor deciding on whether or not model food powders are provided with instant wettability feature.

**Key words:** agglomeration, food powders, fluid bed ☒