

ANNA DOBOSZ, MAREK SIKORA, MAGDALENA KRYSZYJAN

RETROGRADACJA SKROBI Z DODATKIEM I BEZ DODATKU NIESKROBIOWYCH HYDROKOLOIDÓW POLISACHARYDOWYCH – METODY POMIARU I ICH ZASTOSOWANIE

Streszczenie

W pracy przedstawiono podział metod pomiaru zjawiska retrogradacji skrobi z dodatkiem oraz bez dodatku nieskrobiowych hydrokolidów polisacharydowych (NHP), wśród których wyróżniono techniki makroskopowe oraz molekularne. Scharakteryzowano metody makroskopowe, takie jak: skaningowa kalorymetria różnicowa (DSC), pomiary tekstury, badania oscylacyjne, turbidymetria oraz pomiary synezy żeli, a także podano przykłady dotychczasowego ich zastosowania. W grupie molekularnych technik pomiaru retrogradacji szczególną uwagę zwrócono na najczęściej stosowane metody, tzn. jądrowy rezonans magnetyczny (NMR) oraz rentgenografię proszkową. Ponadto podano ograniczenia zastosowania innych metod badania procesu retrogradacji skrobi.

Słowa kluczowe: retrogradacja, skrobia, nieskrobiowe hydrokoloidy polisacharydowe, metody pomiaru retrogradacji skrobi, stabilność zeli skrobiowych

Wprowadzenie

Retrogradacja jest charakterystycznym procesem wodnych układów skrobi, polegającym na reorganizacji jej cząsteczek po skleikowaniu [8, 10, 24, 35, 38]. Uważa się ją za zjawisko krystalizacji, zarówno z udziałem amylozy, jak i amylopektyny obecnej w ziarenkach skrobiowych, w czasie którego zachodzi powrót do postaci częściowo uporządkowanej [40]. Wyróżnia się retrogradację krótko- i długoterminową [10]. Retrogradacja krótkoterminowa dotyczy cząsteczek amylozy i polega na przekształcaniu się ich formy spiralnej w liniową oraz porządkowaniu wyprostowanych łańcuchów amylozowych w zwarte micelle. Pozwala to na utworzenie między łańcuchami międzycząsteczkowych wiązań wodorowych, co prowadzi do krystalizacji amylozy [51]. Re-

Mgr inż. A. Dobosz, prof. dr hab. M. Sikora, dr inż. M. Krystyjan, Katedra Technologii Węglowodanów, Wydz. Technologii Żywności, Uniwersytet Rolniczy w Krakowie, ul. Balicka 122, 30-149 Kraków. Kontakt: anna.dobosz88@gmail.com

trogradacja amylozy kończy się zwykle po kilku godzinach od przygotowania próbki [10], a największym tempem retrogradacji odznaczają się cząsteczki amylozy o małej masie cząsteczkowej [16, 52]. Ze względu na wysoką temperaturę topnienia kryształów amylozy (powyżej 100 °C), w warunkach normalnych jest ona procesem nieodwracalnym [36]. Z kolei retrogradacja długoterminowa wiąże się z rekrytalizacją zewnętrznych odgałęzień amylopektyny. Zachodzi znacznie wolniej niż retrogradacja amylozy (nawet do kilku tygodni) [10, 21, 29] i jest zjawiskiem odwracalnym termicznie [36]. Cząsteczki amylopektyny o małej i średniej długości najbardziej zewnętrznych, końcowych rozgałęzień łańcuchów, biorących udział w tworzeniu kryształów podczas retrogradacji, ulegają temu procesowi wolniej niż te o większej długości [38].

Zwykle retrogradacja jest procesem niepożądanym, gdyż prowadzi do pogorszenia właściwości produktów zawierających skrobię, m.in. konsystencji czy stopnia zętnienia kleików i żeli. Ponadto tworzenie kryształów amylozy i amylopektyny przyczynia się do stopniowego zwiększania sztywności żeli oraz ich synerezy [25, 32, 40, 54]. Retrogradacja może być także zjawiskiem korzystnym, ponieważ prowadzi do powstania jednego z rodzajów tzw. skrobi odpornej (ang. *resistant starch*), zaliczanej do składników błonnika pokarmowego [9, 13]. W wyniku retrogradacji amylozy, zachodzącej w trakcie schładzania skleikowanej skrobi, tworzy się bowiem frakcja skrobi odpornej na działanie amylaz, nazywana skrobią oporną RS3 [9, 13].

Stabilność produktów spożywczych zawierających skrobię można zwiększyć, stosując skrobię modyfikowaną [51, 52]. Podejmuje się też próby poprawy trwałości układów poprzez dodatek nieskrobiowych hydrokoloidów polisacharydowych (NHP) [2, 3, 4, 6, 7, 10, 11, 12, 47, 48], gdyż zmieszanie skrobi z NHP wpływa na żelowanie oraz na lepkość wytworzonych żeli i ich podatność na retrogradację [1, 3, 6, 10, 11, 27, 46].

Ze względu na duże znaczenie retrogradacji skrobi, zarówno bez dodatku, jak i z dodatkiem NHP, opracowano wiele metod badania tego zjawiska, a wybór odpowiedniej techniki pomiaru ma decydujący wpływ na uzyskanie poprawnych wyników [8, 21].

Podział metod pomiaru retrogradacji skrobi

Zjawisko retrogradacji skrobi można badać przy użyciu wielu metod, których podstawę stanowią zmiany właściwości fizycznych i chemicznych układów skrobiowych lub produktów spożywczych na bazie skrobi, powstające w trakcie ich starzenia [21]. Według Karima i wsp. [21] metody badania retrogradacji skrobi dzielą się na dwie grupy – techniki makroskopowe, analizujące zmiany właściwości fizycznych skrobi świadczących o retrogradacji oraz techniki molekularne, które analizują zmiany zachodzące w konformacji skrobi, a także mobilność wody w utworzonych żelach skrobiowych na poziomie cząsteczkowym. Do technik makroskopowych Karim i wsp.

[21] zaliczyli: skaningową kalorymetrię różnicową (DSC), analizę tekstury, badania reologiczne, turbidymetrię i pomiary synerezy żeli. Z kolei wśród technik molekularnych wyróżnili: jądrowy rezonans magnetyczny (NMR), dyfrakcję rentgenowską, spektroskopię ramanowską oraz spektroskopię fourierowską (FTIR).

Skaningowa kalorymetria różnicowa (DSC)

W skaningowej kalorymetrii różnicowej (DSC) mierzy się różnicę energii wprowadzonej do próbki i materiału odniesienia, jako funkcję temperatury w czasie, podczas zaprogramowanego ogrzewania lub chłodzenia obu materiałów [20, 21]. Metodę tę wykorzystuje się głównie do badania retrogradacji amylopektyny [10, 19, 39, 49, 55], ale można ją stosować także w celu określenia retrogradacji krótkoterminowej [17, 24, 32, 35].

Do zalet DSC należą m.in. prosta procedura wykonywania pomiarów, brak zmian zawartości wody w trakcie przechowywania żeli (ze względu na stosowanie hermetycznych pojemników) oraz możliwość bezpośredniego wyznaczenia energii potrzebnej do stopienia zretrogradowanej skrobi. Wadami tej metody są jednak wysokie koszty i problemy z pobraniem do analizy reprezentatywnych próbek (z powodu ich małych rozmiarów) [21]. Ponadto, aby zbadać retrogradację, stężenie skrobi powinno być większe niż 15 % (m/m) [21, 32], co uniemożliwia zastosowanie DSC do pomiaru zjawiska retrogradacji typowych żeli skrobiowych, tzn. o mniejszej zawartości skrobi. Oznaczenie retrogradacji skrobi w żelach o mniejszym stężeniu jest jednak możliwe, gdy retrogradację prowadzi się poza urządzeniem DSC i do badań stosuje się skrobię retrogradowaną [18, 31].

Pomiary tekstury

Jednym z testów stosowanych do pomiaru retrogradacji żeli skrobi i ich mieszanin z NHP jest instrumentalna analiza profilu tekstury (*texture profile analysis* – TPA). Zaletą TPA jest możliwość doboru różnych warunków eksperymentalnych, takich jak: wielkość i kształt próbek, stopień deformacji próbki, prędkość głowicy czy liczba powtórzeń. Istnieje też możliwość utworzenia programu pomiarowego oraz automatycznego obliczania wyników, co pozwala zaoszczędzić czas i zmniejsza częstość występowania błędów. Wadą tej metody jest brak normalizacji procedur i warunków prowadzenia badań, co utrudnia porównywanie wyników otrzymanych przez różnych badaczy [21].

W literaturze nie ma zbyt wielu informacji na temat zastosowania analizy profilu tekstury do badania zjawiska retrogradacji żeli skrobiowych z dodatkiem, jak również bez dodatku NHP. Prowadzone dotychczas pomiary dotyczyły przede wszystkim właściwości teksturalnych żeli mierzonych najpóźniej 24 h po ich wytworzeniu. Przykładem mogą być badania Huanga i wsp. [15], Sandhu i Singh [45] oraz Coronato i wsp.

[7]. Huang i wsp. [15] analizowali teksturę żeli różnych odmian skrobi ryżowej (o stężeniu 35 % (m/m)) z dodatkiem gumy gellan, konjac albo karagenów po kilku godzinach przechowywania próbek w temp. 4 °C. Zaobserwowali dużą zależność wyników twardości, żujności i adhezyjności od odmiany ryżu i rodzaju dodanego hydrokoloidu. Sandhu i Singh [45] stwierdzili występowanie znacznych różnic pomiędzy parametrami teksturalnymi 6-procentowych (m/m) żeli skrobi różnych odmian kukurydzy. Z kolei Coronato i wsp. [7] na podstawie analizy profilu tekstury żeli zawierających skrobię manioku oraz gumę gellan, w których fazę rozpraszającą stanowiła woda lub mleko, zauważyli, że dodatek nieskrobiowego hydrokoloidu w dużo większym stopniu zmienił właściwości układów na bazie mleka niż na bazie wody, potwierdzając konieczność obecności kationów do wytworzenia żelu gumy gellan.

Badania retrogradacji długoterminowej żeli poprzez pomiar tekstury prowadziło tylko kilka grup badaczy [19, 29, 55]. Nie stosowali oni jednak metody TPA, ale tzw. test penetracji, na podstawie którego wyznaczali jedynie niektóre parametry teksturalne. Vandeputte i wsp. [55] badali wpływ struktury skrobi ryżowych (o określonej bezwzględnej zawartości amylozy, niezawierających amylozy, o znanej zawartości kompleksów amylozowo-lipidowych i rozkładzie długości łańcuchów amylopektyny) na retrogradację amylopektyny i właściwości teksturalne żeli. Stwierdzili, że żele skrobi woskowych po 2 dniach i po 2 tygodniach przechowywania charakteryzowały się podobnymi parametrami teksturalnymi. Z kolei żele z normalnych skrobi ryżowych przechowywane przez 2 tygodnie odznaczały się większą twardością (ang. *firmness*) i siłą po relaksacji (ang. *force after-relaxation*) niż żele przechowywane przez 2 dni. Nie zaobserwowano natomiast związku właściwości teksturalnych z zawartością kompleksów amylozowo-lipidowych i rozkładem długości łańcuchów amylopektyny. Karam i wsp. [19], badając retrogradację 6-procentowych (m/v) mieszanych żeli skrobi kukurydzianej, manioku i pochryznu skrzydlastego (łac. *Dioscorea alata*), nie stwierdzili istotnych zmian wartości parametrów tekstury żeli przechowywanych w temp. 4 °C przez 7 dni. Zasugerowali oni, że głównym czynnikiem wpływającym na właściwości żeli była retrogradacja amylozy, występująca przed rozpoczęciem pomiarów tekstury. Krystyjan i wsp. [29] prowadzili badania tekstury żeli skrobi ziemniaczanej oraz żeli tej skrobi z dodatkiem κ -karagenu oraz gum: guarowej lub ksantanowej, przechowywanych w temp. 5 °C przez 30 dni. Stwierdzili, że dodatek hydrokoloidów wpływał jedynie na siłę żelu (ang. *strength*) 3-procentowych (m/m) mieszanych układów. Ponadto zaobserwowali nieznaczny wpływ stężenia i rodzaju dodanego hydrokoloidu na kruchość żeli.

Pomiary reologiczne

Wśród pomiarów reologicznych, które można zastosować do opisu zjawiska retrogradacji skrobi wyróżnia się m.in. jednoosiowe ściskanie, badania oscylacyjne, test pełzania i powrotu oraz test relaksacji naprężeń [21, 40].

Z wymienionych wyżej metod najczęściej stosowane są badania oscylacyjne. Można je stosować do pomiaru retrogradacji, zarówno krótko-, jak i długoterminowej [21]. Polegają na poddaniu próbki żelu działaniu okresowego, sinusoidalnego momentu obrotowego (naprężenia) o małej amplitudzie. Przyłożone naprężenie zmienia się przy danej częstotliwości. Jeśli zachowanie materiału lepkosprężystego jest liniowe, w wyniku pomiarów otrzymuje się sinusoidalnie zmienne naprężenie, które jest przesunięte w fazie o kąt δ . W przypadku ciał doskonale lepkich, kąt przesunięcia fazowego jest równy 90° . Z kolei, jeśli kąt δ wynosi 0° , badaną substancją jest ciecz doskonale sprężysta. Natomiast gdy wartość kąta przesunięcia fazowego mieści się pomiędzy 0 a 90° , próbka wykazuje właściwości lepkosprężyste [21, 37, 40]. Na podstawie kąta przesunięcia fazowego można wyznaczyć również tzw. moduł zespolony przy ścinaniu. Ma on dwie składowe G' i G'' [37]. G' jest nazywany modułem sprężystości, określającym energię elastyczną, która jest zmagazynowana w próbce. Moduł ten jest wskaźnikiem stałego lub elastycznego charakteru materiału – gdy G' jest wysoki, materiał odznacza się wysokim stopniem sprężystości. Natomiast G'' jest to tzw. dynamiczny moduł lepkości, zwany także modułem strat. Określa on energię próbki zamienioną na ciepło i jest wskaźnikiem zachowania lepkiego lub ciekłego [21, 35, 37]. W czasie chłodzenia próbek i przechowywania żeli obserwuje się zwiększanie wartości obu modułów, przy czym wzrost modułu sprężystości jest znacznie większy [23, 29] i to właśnie wyniki pomiarów G' najczęściej wykorzystuje się w celu określenia tendencji żeli do retrogradacji [5, 10, 11, 23, 32, 33, 35]. Zaobserwowano, że moduł sprężystości zwiększa się gwałtownie w czasie chłodzenia układów i na początku okresu przechowywania próbek, co jest związane z tworzeniem żelu i retrogradacją amylozy [5, 10, 11, 23, 29, 32]. Natomiast podczas dłuższego przechowywania próbek obserwuje się powolny wzrost wartości G' , świadczący o retrogradacji amylopektyny [29, 32, 35].

Jedną z zalet pomiarów oscylacyjnych jest możliwość badania rozwoju struktury żelu w czasie jego tworzenia, a także podczas przechowywania. Badania te pozwalają bowiem na stałą ocenę modułów dynamicznych bez niszczenia struktury próbki wytworzonej w czasie starzenia. Ponadto uzyskiwane wyniki wyrażone są w jednostkach absolutnych, co umożliwi porównywanie danych otrzymanych przez różnych badaczy oraz przy użyciu różnych urządzeń pomiarowych [21]. Wadą badań oscylacyjnych jest konieczność wyznaczenia zakresu liniowej lepkosprężystości przed rozpoczęciem pomiarów, czyli obszaru, w którym odkształcenie jest mierzone bezpośrednio i jest ono

proporcjonalne do przyłożonego naprężenia (tj. zakresu, w którym moduły nie zależą od odkształcenia) [21, 32].

Prowadzone dotychczas badania oscylacyjne dotyczyły głównie właściwości lepkosprężystych układów skrobiowych bezpośrednio po przygotowaniu próbek lub po 24 h od ich sporządzenia. Pomiarów takie wykonywali m.in. Singh i Singh [50] oraz Kaur i wsp. [23], którzy badali właściwości lepkosprężyste kleików i żeli skrobi ziemniaczanej. Z kolei Sandhu i wsp. [44] analizowali właściwości żeli skrobi kukurydzianej, a Lu i wsp. [33] – skrobi różnych odmian ryżu. Closs i wsp. [6] badali właściwości żeli skrobi kukurydzianej (natywnej, woskowej i czystej amylopektyny) z dodatkiem gumy guarowej. Natomiast Chaisawang i Supphantharika [3, 4] zajmowali się badaniem właściwości mieszanych żeli natywnej, anionowej (fosforylowanej tripolifosforanem sodu) i kationowej skrobi tapiokowej z gumą guarową lub ksantanową. Właściwości mieszanych żeli skrobi tapiokowej badali też Pongsawatmanit i wsp. [42], a Choi i Yoo [5] wykonywali pomiary właściwości lepkosprężystych kleików i żeli skrobi batatów z dodatkiem gumy ksantanowej.

Badania krótkoterminowej retrogradacji skrobi (24 h od momentu przygotowania próbek) z zastosowaniem pomiarów oscylacyjnych prowadzili m.in. Funami i wsp. [10], którzy stwierdzili, że dodatek niejonowych polisacharydów (gumy guarowej, tara, konjac, mączki chleba świętojańskiego) zmienił podatność żeli skrobi pszennej na retrogradację we wczesnym etapie przechowywania i hamował proces retrogradacji amylozy. Z kolei Funami i wsp. [11] zauważyli, że wpływ dodatku gumy guarowej na retrogradację skrobi kukurydzianej zależał od masy cząsteczkowej NHP. Natomiast dodatek gumy arabskiej przyspieszał rozwój struktury mieszanego żelu skrobi ryżowej [12]. Badania retrogradacji mieszanych żeli skrobi w ciągu 24 h, przy użyciu pomiarów oscylacyjnych, prowadzili także Krystyjan i wsp. [30]. Stwierdzili, że dodatek gumy ksantanowej powodował zmniejszenie właściwości lepkosprężystych i opóźnienie procesu retrogradacji żeli skrobi zbożowych (kukurydzianej i owsianej), natomiast wpływał na zwiększenie lepkosprężystości i przyspieszenie retrogradacji układów skrobi z roślin bulwiastych (ziemniaczanej i tapiokowej). Lewen i wsp. [32] stosowali badania oscylacyjne w celu określenia retrogradacji żeli skrobi kukurydzianej o stężeniu 5, 10, 15 i 25 %, w ciągu 48 h od ich wytworzenia. Zaobserwowali dwuetapowy przebieg procesu retrogradacji skrobi jedynie w przypadku żeli o największej zawartości skrobi (25 %). Matalanis i wsp. [35], badając retrogradację żeli skrobi kukurydzianej, ryżowej i sorgo, po 0, 1, 3, 5 i 7 dniach przechowywania w temp. 4 °C, stwierdzili, że szybkość oraz stopień retrogradacji skrobi zależały od pochodzenia botanicznego skrobi, a retrogradacja przebiegała w dwóch etapach: retrogradacja amylozy (krótkoterminowa), obserwowana w świeżych żelach i retrogradacja długoterminowa, widoczna w czasie przechowywania. Natomiast Krystyjan i wsp. [29] zauważyli, że stabilność żeli skrobi ziemniaczanej z dodatkiem κ -karagenu, gumy guarowej lub gumy

ksantanowej, przechowywanych przez 30 dni, zależała od ich stężenia oraz rodzaju dodanego hydrokoloidu, a zmiany wartości modułów G' i G'' świadczyły o występowaniu krótko- i długoterminowej retrogradacji skrobi.

Pomiary turbidymetryczne

Pomiary turbidymetryczne to kolejna metoda, na podstawie której możliwe jest określenie retrogradacji żeli skrobiowych, zarówno krótko-, jak i długoterminowej. W metodzie tej wykorzystuje się zjawisko zwiększania zmętnienia żeli w czasie ich starzenia, spowodowane łączeniem się cząsteczek skrobi i zmianami w rozkładzie gęstości, wynikającymi z rozdzielania się faz [21, 40].

Badania retrogradacji skrobi z wykorzystaniem metod turbidymetrycznych prowadzili m.in. Perera i Hoover [39]. Autorzy ci badając zmętnienie żeli skrobi ziemniaczanej (natywnej, odtłuszczonej i modyfikowanej metodą hydrotermiczną), przechowywanych przez 35 dni, stwierdzili, że największym początkowym zmętnieniem charakteryzowały się żele skrobi poddanej modyfikacji hydrotermicznej, a najmniejszym – żele skrobi natywnej. Zmętnienie badanych żeli zwiększało się w trakcie przechowywania, przy czym największy wzrost zmętnienia zaobserwowano po jednym dniu, co sugerowało, że najbardziej intensywnym procesem była retrogradacja amylozy (krótkoterminowa). Singh i Singh [50], stosując pomiary turbidymetryczne w celu określenia retrogradacji żeli skrobi ziemniaczanej, przechowywanych w temp. 4 °C przez 5 dni, stwierdzili, że mniejsze zmętnienie wykazały żele skrobi o większych rozmiarach ziarenek, a tym samym charakteryzowały się one mniejszą podatnością na retrogradację. Kaur i wsp. [23], badając retrogradację żeli skrobi pochodzącej z różnych odmian ziemniaków zaobserwowali, że zarówno zmętnienie, jak i procent przepuszczalności światła poszczególnych układów skrobiowych różniły się w sposób istotny. Ponadto w przypadku wszystkich żeli odnotowali zmniejszanie się przepuszczalności światła i zwiększanie zmętnienia w trakcie ich przechowywania. Sandhu i wsp. [44] oraz Sandhu i Singh [45] zaobserwowali różnice zmętnienia żeli skrobi kukurydzianej z różnych odmian kukurydzy, a także powolne zachodzenie procesu retrogradacji skrobi podczas przechowywania żeli. Z kolei Jambrak i wsp. [17], badając retrogradację żeli skrobi kukurydzianej modyfikowanej działaniem ultradźwięków, nie stwierdzili istotnych różnic pomiędzy zmętnieniem świeżych żeli skrobi modyfikowanych i żelu skrobi natywnej. Zauważyli jednak zmniejszanie się zmętnienia żeli skrobi modyfikowanych w czasie przechowywania, przy czym spadek był tym większy, im większa była intensywność działania ultradźwięków. Natomiast Pietrzyk i Fortuna [41], badając zmętnienie żeli ze skrobi różnego pochodzenia botanicznego (natywnych i utlenionych przy użyciu różnych utleniaczy), przechowywanych przez 21 dni w temp. 8 °C, stwierdzili, że największą podatnością na retrogradację charakteryzowały się żele skrobi pszennej i kukurydzianej, a najmniejszą – układy skrobi kuku-

rydzianej woskowej. Podatność na retrogradację żeli skrobi modyfikowanych zależała od rodzaju zastosowanego czynnika utleniającego. Wyjątek stanowiły żele utlenionej skrobi kukurydzianej woskowej, które nie wykazywały retrogradacji w trakcie przechowywania. Zjawiska retrogradacji nie zaobserwowali także Krysińska i wsp. [28], którzy prowadzili pomiary zmętnienia żeli skrobi modyfikowanych (hydroksypropylowanego fosforanu diskrobiowego, acetylowanego adypinianu diskrobiowego oraz mieszanin tych skrobi), otrzymanych z kukurydzy woskowej, przechowywanych przez 21 dni, w temp. 6 °C. Podobne wyniki uzyskali Sitkiewicz i Denoch [51]. Badali oni retrogradację żeli ze skrobi kukurydzianych woskowych (natywnej i skrobi modyfikowanych), przechowywanych przez 9 dni w temp. 4 °C. Zauważyli, że żele skrobi modyfikowanych charakteryzowały się mniejszą przejrzystością niż żel skrobi natywnej. Ponadto nie wykazywały one zjawiska retrogradacji w trakcie przechowywania.

Pomiary synerezy

Pomiary synerezy żeli należą do makroskopowych technik opisu zjawiska retrogradacji skrobi, pozwalających na określenie krótko- i długoterminowej retrogradacji. Badania te stosowano przede wszystkim do określania stabilności żeli skrobiowych na zamrażanie i rozmrażanie [21, 35, 43].

Badania stabilności zamrażalniczej żeli skrobiowych poprzez pomiar synerezy polegają na poddaniu próbki wielokrotnemu zamrażaniu i rozmrażaniu do temperatury pokojowej, a następnie na oddzieleniu (zwykle przez odwirowanie) uwolnionej fazy ciekłej i jej zważeniu [21, 35, 43]. Pomiary te można stosować jako wskaźnik tendencji skrobi do retrogradacji, ponieważ po wymrożeniu wody zachodzi proces retrogradacji amylopektyny. Im większa jest liczba cykli zamrażanie – rozmrażanie, tym większa jest retrogradacja amylopektyny (większa synereza żeli). Zastosowanie tej metody może jednak prowadzić do otrzymania nieprawidłowych wyników, ponieważ pozostawienie kleików skrobiowych w temperaturze pokojowej przez 1 h powoduje, że reabsorbują one większość oddzielonej cieczy [21].

Pomiary synerezy stosowano także do badania retrogradacji żeli skrobiowych przechowywanych w warunkach chłodniczych, niepoddanych zamrażaniu. Pomiary takie wykonywali m.in. Kaur i wsp. [23]. Badali oni retrogradację żeli skrobi ziemniaczanej z różnych odmian ziemniaków, przechowywanych przez 24, 48 i 120 h w temp. 4 °C. Zaobserwowali, że podatność żeli miała związek z zawartością amylozy i strukturą ziarenek skrobiowych. Największą synerezę stwierdzili w przypadku żeli skrobi z odmian ziemniaków, z których skrobia charakteryzowała się mniejszą zawartością amylozy i większym udziałem małych ziarenek. Ponadto zaobserwowali, że większą podatnością na retrogradację odznaczały się żele skrobi wyizolowanej ze skrobiowych odmian ziemniaków. Podobne badania wykonywali Sandhu i wsp. [44]. Badali retrogradację żeli skrobi różnych odmian kukurydzy, przechowywanych przez 24, 48

i 120 h w temp. 4 °C. Stwierdzili, że retrogradacja wszystkich badanych żeli zwiększała się wraz ze wzrostem okresu przechowywania, a największą podatnością na retrogradację odznaczały się żele skrobi z odmian kukurydzy zawierających skrobię o dużych oraz podłużnych ziarenkach. Funami i wsp. [10, 11, 12] stosowali pomiary synerezy do badania stabilności mieszanych żeli przechowywanych w warunkach chłodniczych. Stwierdzili, że dodatek niejonowych polisacharydów (gumy guarowej, tara, konjac i mączki chleba świętojańskiego) zmniejszał podatność na retrogradację żeli skrobi pszennej, przechowywanych przez 7 i 14 dni w temp. 4 °C [10]. Zauważyli także, że wpływ dodatku gumy guarowej na retrogradację żeli skrobi kukurydzianej, przechowywanych przez 7 i 14 dni w temp. 4 °C, zależał od masy cząsteczkowej nieskrobiowego hydrokoloidu (im masa cząsteczkowa gumy guarowej była większa, tym wolniej zachodziła długoterminowa retrogradacja) [11]. Z kolei obecność gumy guarowej powodowała zwiększenie synerezy mieszanych żeli skrobi pszennej, przechowywanych przez 24 h w temp. 4 °C [12]. Natomiast Krysińska i wsp. [28] wykorzystywali pomiary synerezy do badania długoterminowej retrogradacji żeli skrobi modyfikowanych (hydroksypropylovanego fosforanu diskrobiowego, acetylowanego adypinianu diskrobiowego oraz mieszanin tych skrobi), z kukurydzy woskowej, przechowywanych przez 1 ÷ 9 dni, w temp. 6 °C. Nie zaobserwowali oni zjawiska synerezy żeli badanych skrobi, a odporność skrobi na retrogradację tłumaczyli wpływem obecności grup acetylowych i hydroksypropylowych na zatrzymywanie wody w cząsteczkach skrobi i opóźnianie krystalizacji amylopektyny.

Rentgenografia proszkowa

Dyfrakcja rentgenowska jest jedną z molekularnych technik pomiaru retrogradacji skrobi, którą można zastosować do badania właściwości żeli przechowywanych przez dłuższy czas. W metodzie tej wykorzystuje się zmianę stopnia krystaliczności skrobi w czasie kleikowania i żelowania. Skrobie natywne występują bowiem w formie ziarenek, które można traktować jako częściowo krystaliczne, a częściowo amorficzne układy. Obszary krystaliczne zbudowane są głównie z uporządkowanych promieniście w ziarenku skrobiowym liniowych fragmentów amylopektyny. Są one poprzedzielane warstwami amorficznymi, które składają się z cząsteczek amylozy i miejsc rozgałęzień amylopektyny [21, 24, 53]. W wyniku ogrzewania zawiesin, ziarenka skrobi pęcznieją lub nawet dochodzi do ich rozpadu (w zależności od stężenia skrobi i zastosowanej obróbki), na skutek czego tracą one swój semikrystaliczny charakter [21, 24, 35]. Częściowo uporządkowana struktura skrobi odtwarza się w czasie przechowywania żeli, tzn. w trakcie ich retrogradacji [21, 24]. Zastosowanie dyfrakcji rentgenowskiej, po uwzględnieniu wyników pomiaru retrogradacji przy użyciu innych technik, pozwala stwierdzić, że krystalizacja starzejących się żeli skrobiowych jest procesem dwufazowym [21].

W wyniku pomiarów krystaliczności skrobi za pomocą proszkowych widm rentgenowskich uzyskuje się dyfraktogramy, których wygląd jest charakterystyczny dla danej postaci skrobi. Na podstawie przebiegu widm rentgenograficznych skrobie dzieli się na typy: A, B, C oraz V [54]. Typ A wykazują natywne skrobie zbożowe (pszenna, ryżowa, kukurydziana). Typ B jest charakterystyczny dla skrobi z roślin bulwiastych, a także owoców, skrobi wysokoamylozowej i niektórych skrobi zretrogradowanych. Z kolei typ C jest typem pośrednim pomiędzy typem A i B, wykazywanym przez skrobie nasion roślin strączkowych, a typ V jest przypisany kompleksom amylozowo-lipidowym, występującym w starych żelach skrobi zbożowych o dużej zawartości tłuszczów [21, 38, 54].

Kim i wsp. [25] badali wpływ stężenia (10 i 50 % (m/m)) i temperatury (-18, 2 i 18 °C) na retrogradację żeli normalnej i woskowej skrobi ryżowej, przechowywanych przez 6 dni. Zauważyli, że stężone żele przechowywane w wyższych temperaturach (2 i 18 °C) odznaczały się występowaniem piku charakterystycznego dla skrobi typu B. Natomiast dyfraktogramy pozostałych żeli wskazywały na ich amorficzny charakter. Retrogradację żeli skrobiowych z zastosowaniem dyfrakcji rentgenograficznej badali też Perera i Hoover [39]. Stwierdzili, że świeże żele natywnej, odtłuszczonej oraz modyfikowanej metodą termiczną skrobi ziemniaczanej miały charakter amorficzny. Z kolei układy tych skrobi pod koniec okresu przechowywania (30 dni) charakteryzowały się występowaniem piku, obserwowanego w przypadku natywnych skrobi z roślin bulwiastych.

Krystyjan i wsp. [30] zaobserwowali, że kleiki skrobi ziemniaczanej i tapiokowej, bezpośrednio po skleikowaniu, a także żele skrobi tapiokowej (z dodatkiem i bez dodatku gumy ksantanowej) przechowywane przez 72 h nie wykazywały obecności struktur uporządkowanych. Niewielkim uporządkowaniem struktury charakteryzowały się natomiast mieszane żele skrobi ziemniaczanej po 12 h przechowywania, co sugerowało, że obecność NHP mogła przyspieszać retrogradację. Z kolei żele skrobi zbożowych odznaczały się występowaniem uporządkowanej struktury już bezpośrednio po ich wytworzeniu, a dodatek gumy ksantanowej miał znaczenie jedynie w odniesieniu do skrobi owsianej.

Jądrowy rezonans magnetyczny (NMR)

Inną molekularną techniką, którą można wykorzystać do pomiaru krótko- i długoterminowej retrogradacji skrobi, jest jądrowy rezonans magnetyczny (NMR) [2, 21]. W metodzie tej bada się struktury molekularne poprzez pomiary interakcji oscylującego pola elektromagnetycznego o częstotliwości radiowej ze zbiorem jąder atomowych, będących częścią atomów tworzących cząsteczki, zanurzonych w silnym zewnętrznym polu magnetycznym [34]. Najczęściej stosowaną techniką badania systemów żywnościowych, pozwalającą określić ich strukturę fizyczną poprzez analizę zaniku sygnału

NMR, jest technika niskiej rozdzielczości (^1H NMR) [21]. W badaniu retrogradacji skrobi przy użyciu ^1H NMR wykorzystuje się tendencję, że wraz z postępowaniem tego procesu zmniejsza się sygnał pochodzący od fazy płynnej i równocześnie zwiększa się sygnał przypisywany protonom fazy stałej [2]. Podstawę do rozróżnienia pomiędzy cząsteczkami skrobi w stanie ciekłym i w stanie stałym (zretrogradowanym) stanowi różnica czasu relaksacji spin-spin (T_2), która jest szczególnie wrażliwa na zmiany molekularnej mobilności [21].

Zastosowanie NMR do badania długoterminowej retrogradacji skrobi ma wiele zalet, m.in. nieinwazyjny i nieniszczący charakter metody, pozwalający na prowadzenie pomiarów przy użyciu tej samej próbki, przez cały czas trwania doświadczenia [2, 21]. Ponadto pomiary można prowadzić w szerokim zakresie temperatur i stężeń żeli skrobiowych [21].

Dotychczas pomiary z zastosowaniem niskiej rozdzielczości ^1H NMR stosowano głównie w celu określania stabilności żeli skrobiowych na zamrażanie i rozmrażanie [22, 26] lub pomiarów czasu relaksacji spin-sieć (T_1) oraz spin-spin (T_2) w trakcie kleikowania i żelowania układów skrobi pszennej [14] oraz ziemniaczanej z dodatkiem NHP [1].

Badania stabilności mieszanych żeli prowadzili Baranowska i wsp. [2]. Badali mobilność cząsteczek wody w trakcie 94 h przechowywania mieszanych żeli skrobi ziemniaczanej, manioku, kukurydzianej i owsianej z dodatkiem lub bez dodatku gumy ksantanowej, guarowej i κ -karagenu. Zaobserwowali, że skrobie zbożowe tworzyły sztywniejsze żele niż skrobie z roślin bulwiastych, a stabilność dwuskładnikowych żeli zależała od rodzaju dodanego NHP, rodzaju skrobi oraz temperatury przechowywania. Największą stabilnością odznaczały się żele skrobi ziemniaczanej z dodatkiem gumy ksantanowej, przechowywane w temperaturze pokojowej oraz mieszane żele skrobi manioku z gumą guarową, zarówno w trakcie przechowywania w temp. otoczenia, jak i w $4\text{ }^\circ\text{C}$.

Inne metody pomiaru zjawiska retrogradacji

W literaturze opisywane są także inne metody pomiaru retrogradacji skrobi. Należą do nich m.in. spektroskopia w podczerwieni, której odmianą jest spektroskopia fourierowska (FTIR) oraz spektroskopia ramanowska [8, 21, 40]. Choć ich użycie umożliwia ciągły pomiar retrogradacji na poziomie molekularnym, to jednak nie znalazły one powszechnego zastosowania do badania tego zjawiska [21].

Dużą grupę metod, które można stosować do pomiaru procesu retrogradacji skrobi, stanowią także techniki wykorzystujące barwną reakcję skrobi z jodem [21]. Zaobserwowano bowiem, że amyloza w czasie retrogradacji traci zdolność do tworzenia niebieskiego kompleksu z jodem, co jest spowodowane tworzeniem przez ten polimer podwójnych helis, które nie mogą pomieścić jonów polijodkowych [21, 24]. Zastoso-

wanie tych metod jest jednak ograniczone, gdyż odzwierciedlają one tylko retrogradację krótkoterminową (retrogradację amylozy) [21].

Retrogradację, a szczególnie jej szybkość we wczesnych etapach procesu, można określić także poprzez pomiar odporności skrobi na hydrolizę [21, 53]. W metodzie tej wykorzystuje się zjawisko, że retrogradacja w dużym stopniu ogranicza dostępność skrobi dla enzymów amylolitycznych, a tym samym zmniejsza stopień hydrolizy [53]. Nie znalazła ona jednak szerszego zastosowania z uwagi na konieczność zapewnienia odpowiednich warunków ogrzewania i przechowywania próbek, w celu wywołania krystalizacji amylozy lub amylopektyny, a jednocześnie optymalnych warunków działania enzymów. Wykorzystanie tej metody utrudnia również obecność innych składników żywności [21].

Podsumowanie

Z przedstawionego przeglądu literatury wynika, że retrogradację skrobi z dodatkiem i bez dodatku NHP bada się przede wszystkim poprzez zastosowanie makroskopowych metod pomiaru tego zjawiska. Natomiast wykorzystanie metod molekularnych jest niewielkie. Wyjątek stanowią rentgenografia proszkowa oraz jądrowy rezonans magnetyczny, przy czym jak dotąd NMR stosowano głównie do określenia stabilności żeli skrobiowych na zamrażanie oraz rozmrażanie.

Dotychczas prowadzono przeważnie badania retrogradacji krótkoterminowej żeli skrobiowych bez dodatków nieskrobiowych hydrokoloidów polisacharydowych lub do badań stosowano tylko jedną technikę pomiarów. Większość badań dotyczyła retrogradacji żeli skrobi ryżowej oraz mieszanych układów tej skrobi, z uwzględnieniem takich NHP, jak gumy: gellanowa, konjac i arabska oraz karageny. Dość często badano także krótkoterminową retrogradację naturalnej i modyfikowanej skrobi kukurydzianej, tapiokowej oraz batatów, z/lub bez dodatku gum: guarowej i ksantanowej. Badania te wykonywano do 24 h od momentu wytworzenia żeli, z zastosowaniem pomiarów oscylacyjnych oraz pomiarów tekstury. Natomiast długoterminową retrogradację badano przede wszystkim w odniesieniu do żeli skrobi: ryżowej – z zastosowaniem pomiarów tekstury, badań oscylacyjnych oraz rentgenografii proszkowej, kukurydzianej – poprzez pomiar zmętnienia żeli, pomiary synerozy, analizę tekstury i badania oscylacyjne, a także pomiar ^1H NMR, ziemniaczanej – przy użyciu badań turbidymetrycznych, pomiarów oscylacyjnych, analizy tekstury i rentgenografii proszkowej, pomiarów synerozy oraz ^1H NMR, pszennej – poprzez pomiar zmętnienia żeli, pomiary synerozy i dyfrakcję rentgenowską, owsianej – z wykorzystaniem techniki ^1H NMR i pomiarów rentgenograficznych, oraz maniokowej – z zastosowaniem analizy tekstury i ^1H NMR. Z kolei wpływ dodatku NHP na długoterminową retrogradację mieszanych układów dotyczył jedynie skrobi: ziemniaczanej z dodatkiem κ -karagenu, gumy guarowej lub gumy ksantanowej – poprzez pomiar tekstury i badania oscylacyjne,

¹H NMR oraz pomiary rentgenograficzne (tylko z gumą ksantanową); a także skrobi manioskowej, kukurydzianej i owsianej, zawierających wyżej wymienione hydrokoloidy – techniką ¹H NMR. Badano również długoterminową retrogradację poprzez pomiary synerezy żeli skrobi pszennej z dodatkiem gum: guarowej, konjac i tara, a także mączki chleba świętojańskiego.

Projekt zrealizowano ze środków Narodowego Centrum Nauki, umowa nr UMO-2013/11/B/NZ9/01951.

Literatura

- [1] Baranowska H.M., Sikora M., Kowalski S., Tomasik P.: Interactions of potato starch with selected polysaccharide hydrocolloids as measured by low-field NMR. *Food Hydrocoll.*, 2008, **22** (2), 336-345.
- [2] Baranowska H.M., Sikora M., Krystyan M., Tomasik P.: Evaluation of the time-dependent stability of starch-hydrocolloid binary gels involving NMR relaxation time measurements. *J. Food Eng.*, 2012, **109** (4), 685-690.
- [3] Chaisawang M., Supphantharika M.: Effects of guar gum and xanthan gum additions on physical and rheological properties of cationic tapioca starch. *Carbohydr. Polym.*, 2005, **61** (3), 288-295.
- [4] Chaisawang M., Supphantharika M.: Pasting and rheological properties of native and anionic tapioca starches as modified by guar gum and xanthan gum. *Food Hydrocoll.*, 2006, **20** (5), 641-649.
- [5] Choi H.M., Yoo B.: Steady and dynamic shear rheology of sweet potato starch-xanthan gum mixtures. *Food Chem.*, 2009, **116** (3), 638-643.
- [6] Closs C.B., Conde-Petit B., Roberts I.D., Tolstoguzov V.B., Escher F.: Phase separation and rheology of aqueous starch/galactomannan systems. *Carbohydr. Polym.*, 1999, **39** (1), 67-77.
- [7] Coronato R., Biasutti E.A.R., Carvalho C.W.P., Grossmann M.V.E.: Gellan gum/cassava starch mixtures in water systems and in milk systems. *Starch/Stärke*, 2012, **64** (5), 359-366.
- [8] Fechner P.M., Wartewig S., Kleinebudde P., Neubert R.H.: Studies of the retrogradation process for various starch gels using Raman spectroscopy. *Carbohydr. Res.*, 2005, **340** (16), 2563-2568.
- [9] Fuentes-Zaragoza E., Riquelme-Navarrete M.J., Sánchez-Zapata E., Pérez-Álvarez J.A.: Resistant starch as functional ingredient: A review. *Food Res. Int.*, 2010, **43** (4), 931-942.
- [10] Funami T., Kataoka Y., Omoto T., Goto Y., Asai I., Nishinari K.: Effects of non-ionic polysaccharides on the gelatinization and retrogradation behavior of wheat starch. *Food Hydrocoll.*, 2005, **19** (1), 1-13.
- [11] Funami T., Kataoka Y., Omoto T., Goto Y., Asai I., Nishinari K.: Food hydrocolloids control the gelatinization and retrogradation behavior of starch. 2b. Functions of guar gums with different molecular weights on the retrogradation behavior of corn starch. *Food Hydrocoll.*, 2005, **19** (1), 25-36.
- [12] Funami T., Nakauma M., Noda S., Ishihara S., Asai I., Inouchi N., Nishinari K.: Effects of some anionic polysaccharides on the gelatinization and retrogradation behaviors of wheat starch: Soybean-soluble polysaccharide and gum arabic. *Food Hydrocoll.*, 2008, **22** (8), 1528-1540.
- [13] Haralampu S.G.: Resistant starch – a review of the physical properties and biological impact of RS₃. *Carbohydr. Polym.*, **41** (3), 285-292.
- [14] Gonera A., Cornillon P.: Gelatinization of starch/gum/sugar systems studied by using DSC, NMR, and CSLM. *Starch/Stärke*, 2002, **54** (11), 508-516.

- [15] Huang M., Kennedy J. F., Li B., Xu X., Xie B. J.: Characters of rice starch gel modified by gellan, carrageenan, and glucomannan: A texture profile analysis study. *Carbohydr. Polym.*, 2007, **69** (3), 411-418.
- [16] Ishiguro K., Noda T., Kitahara K., Yamakawa O.: Retrogradation of Sweetpotato Starch. *Starch/Stärke*, 2000, **52** (1), 13-17.
- [17] Jambrak A.R., Hecceg Z., Šubarić D., Babić J., Brncić M., Brncić S.R., Bosiljkov T., Cvek D., Tripalo B., Gelo J.: Ultrasound effect on physical properties of corn starch. *Carbohydr. Polym.*, 2010, **79** (1), 91-100.
- [18] Kapelko M., Zięba T., Golachowski A., Gryszkin A.: Effect of production method on the properties of RS3/RS4 type resistant starch. Part 1. Properties of retrograded starch (RS3) produced under various conditions and its susceptibility to acetylation. *Food Chem.*, 2012, **135** (3), 1494-1504.
- [19] Karam L.B., Grossmann M.V.E., Silva R.S.S.F., Ferrero C., Zaritzky N.: Gel textural characteristics of corn, cassava and yam starch blends: a mixture surface response methodology approach. *Starch/Stärke*, 2005, **57** (2), 62-70.
- [20] Kardas M., Grochowska-Niedworok E.: Różnicowa kalorymetria skaningowa jako metoda termodynamiczna stosowana w farmacji i analizie żywności. *Bromat. Chem. Toksykol.*, 2009, **42** (2), 224-230.
- [21] Karim A.A., Norziah M.H., Seow C.C.: Methods for the study of starch retrogradation. *Food Chem.*, 2000, **71** (1), 9-36.
- [22] Karim A.A., Oo P.S., Seow C.C.: Pulsed NMR measurements of freeze/thaw-induced retrogradation of corn and wheat starch gels: Correlation with rheological measurements. *Food Hydrocoll.*, 2007, **21** (7), 1041-1045.
- [23] Kaur M., Singh N., Sodhi N.: Some properties of potatoes and their starches II. Morphological, thermal and rheological properties of starches. *Food Chem.*, 2002, **79** (2), 183-192.
- [24] Keetels C.J.A.M., Oostergetel G.T., van Vliet T.: Recrystallization of amylopectin in concentrated starch gels. *Carbohydr. Polym.*, 1996, **30** (1), 61-64.
- [25] Kim J.-O., Kim W.-S., Shin M.-S.: A comparative study on retrogradation of rice starch gels by DCS, X-ray and α -amylase methods. *Starch/Stärke*, 1997, **49** (2), 71-75.
- [26] Kim Y.-R., Yoo B.-S., Cornillon P., Lim S.-T.: Effect of sugars and sugar alcohols on freezing behavior of corn starch gel as monitored by time domain ^1H NMR spectroscopy. *Carbohydr. Polym.*, 2004, **55** (1), 27-36.
- [2] Kowalski S., Sikora M., Tomasik P., Krystijan M.: Starch polysaccharide hydrocolloid gels. *Poli-mery*, 2008, **53** (6), 457-464.
- [28] Krysińska P., Gałkowska D., Fortuna T.: Charakterystyka układów skrobi modyfikowanych uzyskanych z kukurydzy woskowej. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2008, **60** (5), 9-23.
- [29] Krystijan M., Adameczyk G., Sikora M., Tomasik P.: Long-term storage stability of selected potato starch – non-starchy hydrocolloid binary gels. *Food Hydrocoll.*, 2013, **31** (2), 270-276.
- [30] Krystijan M., Sikora M., Adameczyk G.: Retrogradacja żeli skrobiowych z dodatkiem gumy ksantanowej. *Zesz. Probl. Post. Nauk Roln.*, 2011, **z. 566**, 109-124.
- [31] Lewandowicz G., Soral-Śmietana M.: Starch modification by iterated syneresis. *Carbohydr. Polym.*, 2004, **56** (4), 403-413.
- [32] Lewen K.S., Paeschke T., Reid J., Molitor P., Schmidt S.J.: Analysis of the Retrogradation of Low Starch Concentration Gels Using Differential Scanning Calorimetry, Rheology, and Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy. *J. Agric. Food. Chem.*, 2003, **51** (8), 2348-2358.
- [33] Lu S., Chen J.-J., Chen J.-K., Lii C.-Y., Chen H.-H.: Water mobility, rheological and textural properties of rice starch gel. *J. Cereal Sci.*, 2011, **53** (1), 31 – 36.
- [34] Macomber R. S.: A complete introduction to modern NMR spectroscopy. A Wiley – Interscience Publication, USA, 2011, pp. 1-5.

- [35] Matalanis A.M., Campanella O.H., Hamaker B.R.: Storage retrogradation behavior of sorghum, maize and rice starch pastes related to amylopectin fine structure. *J. Cereal Sci.*, 2009, **51** (1), 74-81.
- [36] Morris V.J.: Weak and strong polysaccharide gels. In: *Food Polymers, gels and colloids*. Ed. Dickinson E., R. Soc. Chem., 1991, 310-321.
- [37] Pałacha Z., Sitkiewicz I. (Red.): *Właściwości fizyczne żywności*. WNT, Warszawa 2010, pp. 49-52.
- [38] Parker R. Ring S.G.: Aspects of the physical chemistry of starch. *J. Cereal Sci.*, 2001, **34** (1), 1-17.
- [39] Perera C., Hoover R.: Influence of hydroxypropylation on retrogradation properties of native, defatted and heat-moisture treated potato starches. *Food Chem.*, 1999, **64** (3), 361-375.
- [40] Pietrzyk S.: Retrogradacja skrobi i metody jej oznaczania. *Laboratorium*, 2010, (9-10), 40-43.
- [41] Pietrzyk S., Fortuna T.: Wpływ rodzaju skrobi i warunków jej utleniania na retrogradację. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2005, **43** (2), 23-32.
- [42] Pongsawatmanit R., Temsiripong T., Suwonsichon T.: Thermal and rheological properties of tapioca starch and xyloglucan mixtures in the presence of sucrose. *Food Res. Int.*, 2007, **40** (2), 239-248.
- [43] Sae-kang V., Suphantharika M.: Influence of pH and xanthan gum addition on freeze-thaw stability of tapioca starch pastes. *Carbohydr. Polym.*, 2006, **65** (3), 371-380.
- [44] Sandhu K.S., Singh N., Kaur M.: Characteristics of the different corn types and their grain fractions: physicochemical, thermal, morphological, and rheological properties of starches. *J. Food Eng.*, 2004, **64** (1), 119-127.
- [45] Sandhu K.S., Singh N.: Some properties of corn starches II: Physicochemical, gelatinization, retrogradation, pasting and gel textural properties. *Food Chem.*, 2007, **101** (4), 1499-1507.
- [46] Sikora M., Kowalski S.: Interakcje skrobi różnego pochodzenia botanicznego z hydrokoloidami polisacharydowymi. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2003, **10** (1), 40-55.
- [47] Sikora M., Kowalski S., Tomasik P.: Binary hydrocolloids from starches and xanthan gum. *Food Hydrocoll.*, 2008, **22** (5), 943-952.
- [48] Sikora M., Krystyjan M.: Interakcje skrobi różnego pochodzenia botanicznego z nieskrobiowymi hydrokoloidami polisacharydowymi. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2008, **15** (1), 23-40.
- [49] Silverio J., Fredriksson H., Andersson R., Eliasson A.-C., Aman P.: The effect of temperature cycling on the amylopectin retrogradation of starches with different amylopectin unit-chain length distribution. *Carbohydr. Polym.*, 2000, **42** (2), 175-184.
- [50] Singh J., Singh N.: Studies on the morphological, thermal and rheological properties of starch separated from some Indian potato cultivars. *Food Chem.*, 2001, **75** (1), 67-77.
- [51] Sitkiewicz I., Dnoch S.: Właściwości reologiczne oraz retrogradacja wybranych skrobi modyfikowanych kukurydzy woskowej. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2006, **46** (1), 143-151.
- [52] Swinkels J.J.M.: Composition and properties of commercial native starches. *Starch/Stärke*, 1985, **37** (1), 1-5.
- [53] Tegge G.: *Skrobia i jej pochodne*. Oddz. Małopolski PTTŻ. Kraków 2010, ss. 16-18, 51-53.
- [54] Tomasik P.: *Wybrane zagadnienia z chemii żywności*. Wyd. AR w Krakowie, Kraków 1997, 45-55.
- [55] Vandeputte G.E., Vermeylen R., Geeroms J., Delcour J.A.: Rice starches. III. Structural aspects provide insight in amylopectin retrogradation properties and gel texture. *J. Cereal Sci.*, 2003, **38** (1), 61-68.

**RETROGRADATION OF STARCH WITH AND WITHOUT NON-STARCH
POLYSACCHARIDE HYDROCOLLOIDS ADDED – MEASUREMENT METHODS
AND APPLICATION THEREOF**

S u m m a r y

In the paper, the classification of those measurement methods was presented, which were applied to measure a retrogradation phenomenon of starch with and without non-starch polysaccharide hydrocolloids (NHP) added; among those methods, some macroscopic and molecular techniques were highlighted. The following macroscopic methods were characterised: differential scanning calorimetry (DSC), texture profile analysis, oscillatory measurements, turbidimetry, and measurements of gel syneresis; also, some examples of their current applications were given. Of all the molecular techniques used to study the retrogradation, the most frequently used methods were specifically pointed out: a nuclear magnetic resonance (NMR) and an X-ray diffractometry. Furthermore, there were specified limitations of applying other methods to study the process of starch retrogradation.

Key words: retrogradation, starch, non-starch polysaccharide hydrocolloids, methods to study starch retrogradation, starch gel stability ☒