

ANNA DIOWKSZ, BEATA PĘCZKOWSKA, WOJCIECH AMBROZIAK,
MAGDALENA WŁODARCZYK

WZBOGACONE W SELEN PIECZYWO NA ZAKWASACH

Streszczenie

Bakterie mlekowe i drożdże wchodzące w skład piekarskiej kultury starterowej oraz kiełkujące nasiona zbóż posiadają zdolność do akumulacji z podłoża nieorganicznych form selenu. Ideą prezentowanej pracy było wykorzystanie tych uzdolnień w celu wzbogacenia pieczywa w ten mikroelement. Badano wpływ zastosowanych dodatków na proces fermentacji, jakość uzyskanego pieczywa i stopień wzbogacenia w selen. Proces fermentacji zakwasów przebiegał bez zakłóceń. Otrzymane pieczywo charakteryzowało się dobrymi parametrami technologicznymi i uzyskiwało wysoką ocenę organoleptyczną. Proponowana metoda suplementacji pozwoliła zwiększyć zawartość selenu o 46% w chlebie mieszanym (pszenno-żytnim) i o 44% w chlebie razowym.

Wstęp

Fermentacja żywności należy do najskuteczniejszych naturalnych metod zabezpieczających jej trwałość i nadających jej nowe, unikalne właściwości. Produkty fermentowane z udziałem bakterii mlekowych stanowią stały element naszej diety, bowiem cechują się bogatym, pełnym smakiem i aromatem, bezpieczeństwem pod względem higienicznym oraz wysokimi wartościami odżywczymi.

Proces fermentacji zakwasów piekarskich inicjowany przez kultury starterowe stwarza możliwości nie tylko uzyskania produktu o wysokiej zawartości kwasu L(+) mlekowego, ale także eliminacji z chleba składników antyżywnościowych, a tym samym otrzymywania pieczywa o walorach żywności funkcjonalnej [5, 6, 15].

Rosnąca świadomość konsumentów, a co za tym idzie zainteresowanie żywnością funkcjonalną sprawia, że sam powrót do naturalnych metod przetwarzania żywności nie jest już wystarczający. Wychodząc naprzeciw takim zapotrzebowaniom społecznym można wzbogacać produkty fermentowane, w tym pieczywo z natury cechujące

się wysoką wartością odżywczą, w mikroelementy niezbędne dla prawidłowego rozwoju organizmu ludzkiego, a które występują w niewystarczających ilościach w codziennej diecie.

Takim pierwiastkiem śladowym, którego niedobór może powodować liczne stany chorobowe, jest selen. Fizjologiczna funkcja selenu w organizmach żywych jest złożona i jeszcze nie do końca poznana. Wiąże się ona przede wszystkim z procesami oksydacyjno-redukcyjnymi zachodzącymi głównie na poziomie komórkowym. Selen w postaci selenocysteiny tworzy centrum aktywne m.in. peroksydazy glutationowej, odpowiedzialnej za reakcje rozkładu nadtlenków lipidowych do mniej toksycznych alkoholi, a nadtlenku wodoru do wody. Badania epidemiologiczne, a także eksperymenty z guzami przerzutowymi wykazują, że ze stanami niedoboru selenu w organizmie ludzi i zwierząt można wiązać wzrost zachorowań na niektóre nowotwory złośliwe, a także występowanie zmian nekrotycznych w wątrobie, nerkach i w mięśniach. Deficyt tego pierwiastka w organizmie prowadzi do zaburzeń w funkcji tarczycy, występuje także korelacja z częstością występowania chorób układu krążenia i niewydolnością mięśnia sercowego. Podkreślana jest też rola selenu w procesach immunologicznych i jego ochronna, profilaktyczna rola w zapobieganiu tym schorzeniom [9, 11, 13].

Efektywność procesu przyswajania selenu, czyli bioprzyswajalność, zależy w dużym stopniu od indywidualnych cech osobniczych każdego organizmu, ale również i od formy chemicznej, w jakiej ten pierwiastek został wprowadzony. Dostępność organicznych form selenu obecnych w produktach żywnościowych zależy w dużej mierze od strawności białek zawierających ten pierwiastek. Uważa się, że organizm ludzki jest w stanie przyswoić około 70% ogólnego selenu występującego w żywności, ale należy pamiętać, że nie cała pula tego selenu jest fizjologicznie aktywna. Związki organiczne zawierające grupy tiolowe, w których siarka została zastąpiona selenem, głównie aminokwasy selenowe: selenocysteina i selenometionina, są dużo łatwiej przyswajalne niż sole nieorganiczne: seleniny i seleniany [9, 16].

Szereg roślin wykazuje zdolność pobierania i akumulowania nawet znacznych ilości selenu z jego nieorganicznych źródeł występujących w glebie lub w podłożach hodowlanych [12]. Również drobnoustroje, w tym bakterie mlekowe i drożdże, wykazują zdolność pobierania i metabolizowania niektórych związków zawierających selen [2, 8]. Reakcje tego pierwiastka zachodzące w układach biologicznych przebiegają ze zmianą stopnia utlenienia i tworzeniem połączeń seleno-organicznych. Może to prowadzić do zmiany dostępności i stopnia toksyczności tego pierwiastka dla organizmów żywych [16].

Jak wykazały nasze wcześniejsze badania [3, 4] bakterie mlekowe i drożdże wchodzące w skład opracowanej piekarskiej kultury starterowej oraz kiełkujące nasiona wybranych zbóż posiadają zdolność do akumulacji z podłoża nieorganicznych form selenu. Stąd też ideą niniejszej pracy było wykorzystanie tych uzdolnień w procesach

technologicznych, mających na celu kontrolowane wzbogacenie pieczywa w ten mikroelement.

Material i metody badań

W badaniach wykorzystano szczepy bakterii mlekowych (*Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus sanfrancisco*) i drożdży (*Saccharomyces cerevisiae*) pochodzące z Kolekcji Czystych Kultur Instytutu Technologii Fermentacji i Mikrobiologii Politechniki Łódzkiej.

Źródłem selenu były stosowane w procesie fermentacji zakwasów chlebowych dodatki bakteryjno-drożdżowej kultury starterowej lub biomasy kielków roślinnych wzbogacone w selen na drodze biokonwersji.

Wzbogaconą w selen kulturę starterową otrzymywano prowadząc 24-godzinne hodowle skojarzonej populacji w temperaturze 28°C na podłożu MRS [10] z dodatkiem SeO₂ w stężeniu odpowiadającym 5 ~ g Se/cm³ podłoża. Uzyskaną biomasę oddzielano przez wirowanie stosując czterokrotne przemywanie roztworem buforu fosforanowego o pH=7.4. Kulturę starterową utrwalano na drodze liofilizacji. Uzyskana w ten sposób biomasa drobnoustrojów zawierała 280 ~ g Se/g s.s.

Jako alternatywne źródło selenu wykorzystano również wzbogacone w selen kielki pszenicy, żyta i soi. Nasiona tych roślin, po uprzednim namoczeniu w wodzie zawierającej 10 ~,g Se/cm³ (SeO₂), umieszczano w kielkownikach na piętrowo ułożonych tackach i przemywano 3 razy dziennie wodą zawierającą 10 ~ g Se/cm³ (SeO₂). Proces kielkowania prowadzono w temperaturze pokojowej w ciągu kolejnych 5 dni w normalnym cyklu zmian dobowych noc-dzień. Otrzymane kielki poddawano suszeniu do stałej masy w temperaturze nie przekraczającej 50°C, a następnie mielono. Zawartość selenu w wysuszonych kielkach mieściła się w granicach 40–60 ~g Se/g s.s.

W próbach technologicznych produkcji pieczywa stosowano jednofazową metodę przygotowywania zakwasów z wykorzystaniem dwóch rodzajów mąki żytniej: z drobnego przemiału (typ 720) i razowej. Inokulum stanowiła 24-godzinna populacja mieszana stosowanych szczepów prowadzona na płynnym podłożu DBH [1]. W żurach z dodatkiem kielków, 3% masy mąki zastępowano uzyskaną biomasą roślinną. W próbach z zastosowaniem biomasy bakteryjno-drożdżowej wzbogacona w selen kultura starterowa zastępowała płynne inokulum. Kulturę starterową dozowano bezpośrednio do mąki, bez wstępnej rehydratacji preparatu. Fermentację prowadzono w temperaturze 30°C przez 22 godziny.

Na bazie dojrzałych zakwasów przygotowywano ciasto na chleb mieszany (pszenno-żytni) i razowy przy założonej wydajności ciasta 154%, z 20% udziałem żurów. Wypiek prowadzono przez 40 minut w temperaturze 180°C.

Oznaczenia parametrów technologicznych pieczywa oraz ocenę sensoryczną wykonywano zgodnie z zaleceniami odnośnych norm i metodyką przyjętą w piekarstwie [7].

Zawartość selenu w chlebie oznaczano metodą fluorymetryczną [14] po uprzedniej mineralizacji metodą mokrą (HN03 + HC104), używając 2,3-diaminonaftalenu (DAN) jako czynnika kompleksującego. Fluorescencję mierzono w spektrofotometrze Hitachi F 2000 (Ex = 377 nm, Em = 516 nm).

Walidację metody prowadzono w oparciu o analizę wzorca Bovine Liver CRM no. 185 (Community Bureau of Reference, Brussels) o deklarowanej zawartości selenu.

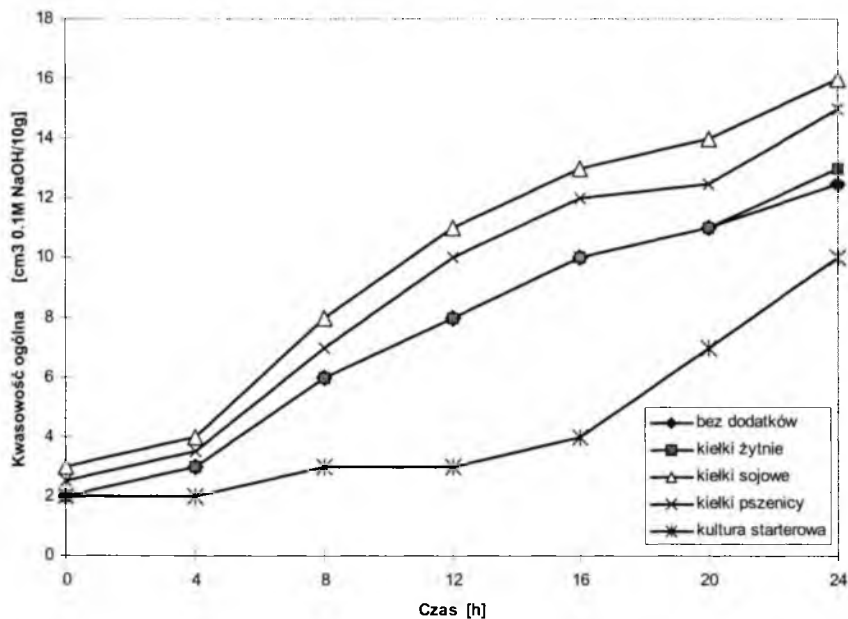
Wyniki i dyskusja

Zasadniczym etapem pracy było sprawdzenie wpływu wzbogacenia zakwasu w selen na przebieg fermentacji. Sprawdzano przy tym dwa warianty suplementacji. Pierwszy – poprzez dodatek do żuru kielków roślinnych wzbogaconych w selen i drugi – poprzez zastąpienie płynnego inokulum kulturą starterową wzbogaconą w selen. Wyniki badań oceniano w stosunku do kontrolnych fermentacji zakwasów prowadzonych bez dodatku biomasy wzbogaconej w selen.

Dodatek kielków żytnich, pszennych i sojowych wpływał stymulująco na plon bakterii mlekowych, a jednocześnie nie obserwowano zakłóceń w rozwoju drożdży. Przebieg krzywych wzrostu obu grup fizjologicznych w środowisku żurów kontrolnych i suplementowanych dodatkiem kielków, był zbliżony. Jedynie w przypadku zakwasów sporządzonych z udziałem bakteryjno-drożdżowej kultury starterowej wzbogaconej w selen, osiągany plon bakterii mlekowych i drożdży był nieco niższy, co wynikało z różnic w poziomie początkowej inokulacji i wydłużenia fazy adaptacyjnej.

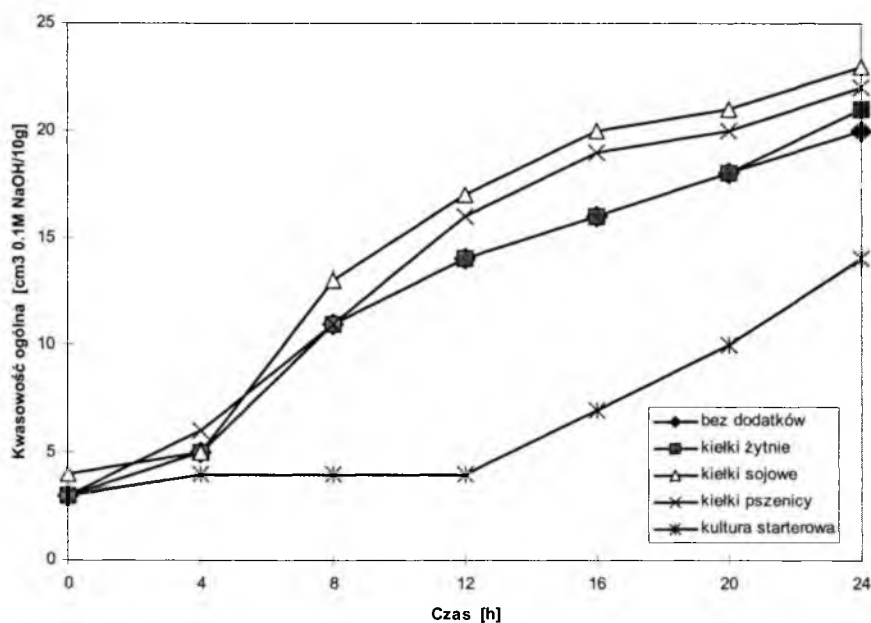
Przebieg zmian kwasowości ogólnej badanych żurów zachodził równolegle z krzywą wzrostu bakterii mlekowych. Pozwoliło to na uzyskanie dojrzałych, dobrze ukwaszonych żurów już po 22–24 godzinach fermentacji (Rys. 1, 2). Najlepsze efekty obserwowano w przypadku stosowania kielków sojowych. Żur przeznaczony na pieczywo mieszane (pszenno-żytnię) i żur razowy miały po 24 godzinach kwasowość ogólną odpowiednio 16,0 i 23,2 cm³ 0,1 M NaOH/10 g. Najniższą kwasowość (10,1 i 14,3 cm³ 0,1 M NaOH/10 g) uzyskano w przypadku stosowania kultury starterowej wzbogaconej w selen.

Dojrzałe zakwasy posłużyły do przeprowadzenia prób wypiekowych. Otrzymane pieczywo charakteryzowało się dobrymi parametrami technologicznymi (Tab. 1, 2). Wydajność pieczywa, zarówno mieszanego jak i razowego, osiągała zbliżone wartości we wszystkich wariantach. Jedynie w przypadku użycia kultury starterowej wzbogaconej w selen w pieczywie razowym osiągnięto znaczące polepszenie tego parametru.



Rys. 1. Dynamika ukwaszania żurów żytnich z dodatkiem biomasy wzbogaconej w selen.

Fig. 1. Dynamics of acidification of rye sour dough with Se-enriched biomass supplement.



Rys. 2. Dynamika ukwaszania żurów razowych z dodatkiem biomasy wzbogaconej w selen.

Fig. 2. Dynamics of acidification of whole-meal sour dough with Se-enriched biomass supplement.

Tabela 1

Ocena jakości pieczywa mieszanego (pszenno-żytniego).

Evaluation of mixed (wheat-rye) bread quality.

Badany parametr Parameter tested	Dodatek biomasy wzbogaconej w selen Supplement of Se-enriched biomass				
	Bez dodatków No supplement	Kiełki pszenne Wheat sprouts	Kiełki żytnie Rye sprouts	Kiełki sojowe Soya sprouts	Kultura starterowa Starter culture
Zawartość Se [$\mu\text{g Se}/250\text{g}^*$] Se content [$\mu\text{g Se}/250\text{g}^*$]	23,9	27,5	32,0	28,6	34,9
Wydajność pieczywa [%] Bread yield [%]	140,6	139,0	141,5	140,0	138,6
Objętość chleba [$\text{cm}^3/100\text{g}^*$] Bread volume [$\text{cm}^3/100\text{g}^*$]	257	273	264	282	259
Porowatość miękiszu [%] Crumb porosity [%]	69,8	70,1	71,2	73,4	68,0
Wilgotność miękiszu [%] Water content [%]	43,4	42,7	41,0	44,5	39,6
Smak i zapach Taste and aroma	b. dobry Very good	b. dobry Very good	b. dobry Very good	b. dobry Very good	b. dobry Very good

* w odniesieniu do powietrznie suchej masy chleba,

* in reference to air-dried mass of bread.

Także dodatek kiełków żytnich powodował nieznaczną poprawę wydajności pieczywa. Objętość pieczywa, będąca ważnym wskaźnikiem pozwalającym na ocenę prawidłowości przebiegu procesu technologicznego, w przypadku pieczywa mieszanego po zastosowaniu suplementów selenowych wyraźnie się zwiększyła, natomiast w odniesieniu do pieczywa razowego wskaźnik ten uległ pogorszeniu, przy jednoczesnym zmniejszeniu się porowatości miękiszu. Wilgotność miękiszu wszystkich typów chleba pozostawała w zgodzie z wymogami normy. W ocenie sensorycznej wszystkie rodzaje pieczywa uzyskały bardzo wysokie noty. Cechowały się one bardzo atrakcyjnym smakiem i aromatem charakterystycznym dla danego typu chleba. Użyte suplementy selenowe nie powodowały zauważalnych zmian wrażeń smakowo-zapachowych ocenianego pieczywa.

Kontrola zawartości selenu wykazała, że w przypadku chleba mieszanego dodatek kiełków soi i pszenicy w stopniu nieznacznym wpłynął na zwiększenie poziomu selenu, natomiast zdecydowanie (o 34%) poziom tego mikroelementu zwiększył się po zastosowaniu kiełków żyta. W pieczywie razowym stwierdzono niewielki wpływ dodatku biomasy roślinnej wzbogaconej w selen na ogólny poziom selenu. Po użyciu

Tabela 2

Ocena jakości pieczywa razowego.
Evaluation of whole-meal bread quality.

Badany parametr Parameter tested	Dodatek biomasy wzbogaconej w selen Supplement of Se-enriched biomass				
	Bez dodatków No supplement	Kiełki pszenne Wheat sprouts	Kiełki żytnie Rye sprouts	Kiełki sojowe Soya sprouts	Kultura starterowa Starter culture
Zawartość Se [$\mu\text{g Se}/250\text{g}^*$] Se content [$\mu\text{g Se}/250\text{g}^*$]	37,2	44,1	36,0	35,4	53,5
Wydajność pieczywa [%] Bread yield [%]	143,4	142,6	145,2	143,5	148,0
Objętość chleba [$\text{cm}^3/100\text{g}^*$] Bread volume [$\text{cm}^3/100\text{g}^*$]	240	220	226	216	209
Porowatość miększu [%] Crumb porosity [%]	63,7	53,6	56,1	51,2	50,7
Wilgotność miększu [%] Water content [%]	43,6	44,1	44,7	46,5	49,8
Smak i zapach Taste and aroma	b. dobry Very good	b. dobry Very good	b. dobry Very good	b. dobry Very good	b. dobry Very good

* w odniesieniu do powietrznie suchej masy chleba,

* in reference to air-dried mass of bread.

kiełków żyta i soi poziom selenu był porównywalny z próbą kontrolną. W przypadku kiełków pszenicy podniósł się on jedynie o około 20%. Zarówno w przypadku pieczywa pszenno-żytniego, jak i razowego najskuteczniejsza była suplementacja z wykorzystaniem kultury starterowej wzbogaconej w selen. Zapewniła ona zwiększenie zawartości tego pierwiastka o 46% w chlebie mieszanym i o 44% w chlebie razowym.

Próby bilansu selenu podczas cyklu technologicznego wyraźnie wykazały, że podczas wypieku następują znaczne ubytki tego pierwiastka. Sugeruje to możliwość występowania strat w wyniku ulatniania się lotnych związków selenu w wysokiej temperaturze. Można przypuszczać, że w procesie fermentacji zakwasów może występować zjawisko wtórnej biokonwersji selenu, szczególnie w przypadku biomasy roślinnej wzbogaconej w selen. Wielkość tych strat bowiem uzależniona jest od źródła pochodzenia selenu. W przypadku zastosowania biomasy bakteryjno-drożdżowej wzbogaconej w selen, notowano znacznie mniejsze straty niż miało to miejsce w przypadku użycia kiełków roślinnych. Nie można również wykluczyć możliwości, że w przypadku biomasy roślinnej część akumulowanego selenu występuje w postaci związków lot-

nych lub związków ulegających konwersji w wysokich temperaturach. Będzie to celem dalszych badań. Uwzględnienie strat selenu powstałych podczas wypieku pozwala precyzyjnie dobrać wielkość dawki suplementu.

Podsumowanie

Wyniki badań wskazują na przydatność stosowanej metody suplementacji selenu do wzbogacania fermentowanych produktów żywnościowych, szczególnie w przypadku potrzeby uzupełniania diety niedoborowej w selen. Chleb będący podstawowym składnikiem codziennych posiłków wydaje się być doskonałym nośnikiem biopierwiastków występujących w produktach spożywczych w niewystarczających ilościach. Zaletą proponowanej metody suplementacji jest jej prostota, niskie koszty, ścisła kontrola ilościowa wprowadzanego mikroelementu oraz wykorzystanie naturalnych procesów i surowców stosowanych w produkcji żywności.

LITERATURA

- [1] Burbianka M., Pliszka A.: Mikrobiologia żywności, PZWL, 1983.
- [2] Calomme M.R., Van den Branden K., Vanden Berghe D.A.: Selenium and *Lactobacillus* species. J. Appl. Bacteriol., **79**, 1995, 331.
- [3] Diowksz A., Pakowski P., Ambroziak W., Włodarczyk M.: Se-enriched plant and bacteria-yeast biomass as the potential source of selenium supplementation in food processing. Materiały Konferencji "Bioavailability'97", Wageningen (Holandia), 1997.
- [4] Diowksz A., Ambroziak W., Włodarczyk M.: Investigation of the ability of selenium accumulation by lactic acid bacteria of *Lactobacillus* species and yeast *Saccharomyces cerevisiae*. Pol. J. Food Nutr., **8** (49), 1999, 17.
- [5] Fretzdorff B., Brummer J.-M.: Reduction of phytic acid during breadmaking of whole-meal breads. Cer. Chem., **3** (69), 1992, 266.
- [6] Hammes W.P., Tichaczek P.S.: The potential of lactic acid bacteria for the production of safe and wholesome food. Z.Lebensm. Unters.-Forsch., **198**, 1994, 193.
- [7] Horubałowa A., Haber T.: Analiza techniczna w piekarstwie. WSiP, 1985.
- [8] Korhola M., Vainio A., Edelmann K.: Selenium yeast. Ann. Clin. Res., **18**, 1986, 65.
- [9] Litov R.E., Combs G.F.: Selenium in pediatric nutrition. Pediatrics, **3** (87), 1991, 339.
- [10] Man de J.C., Rogosa M., Sharpe M.E.: A medium for cultivation of lactobacilli. J. Appl. Bact., **23**, 1960, 130.
- [11] Neve J., Physiological and nutritional importance of selenium. Experimentia, **47**, 1991, 187.
- [12] Seńczuk W.: Toksykologia. PZWL, 1990.
- [13] Stadtman T.C.: Selenium biochemistry. Annu. Rev. Biochem., **59**, 1990, 111.
- [14] Watkinson J.H.: Fluorometric determination of selenium in biological material with 2,3-diaminonaphthalene. Anal. Chem., **38**, 1966, 92.
- [15] Wood B.J.B.: The lactic acid bacteria, vol.1. The lactic acid bacteria in health and disease. Elsevier Applied Science, 1992.

- [16] Young V.R., Nahapetian A., Janghorbani M.: Selenium bioavailability with reference to human nutrition. *Am. J. Clin. Nutr.*, **35**, 1982, 1076.

SOUR DOUGH BREAD ENRICHED WITH SELENIUM

S u m m a r y

Lactic acid bacteria and yeast associated into a bakery starter culture and germinated grain seeds have proved to be able to accumulate inorganic selenium from the culture medium. The aim of the study was to evaluate the possibility of using selenium-enriched biomass in fermented bread production. An influence of Se-enriched supplements on fermentation process, bread quality and effectiveness of supplementation were examined. No influence of selenium supplements on fermentation process was noted. Technological parameters of Se-enriched bread were good and in sensory analysis all notes were very high. The proposed method of supplementation enabled to elevate the selenium content by 46% in mixed wheat-rye bread and by 44% in whole-meal rye bread. ✕