

URSZULA KRUPA-KOZAK, NATALIA BĄCZEK, JUSTYNA ADAMOWICZ

## WPLYW KAZEINIANU I CYTRYNIANU WAPNIA NA JAKOŚĆ I WŁAŚCIWOŚCI TECHNOLOGICZNE CHLEBA BEZGLUTENOWEGO

### Streszczenie

Celiakia jest jedną z najczęściej występujących nietolerancji pokarmowych. Wzbogacanie produktów bezglutenowych składnikami odżywczymi stanowi istotny aspekt zapobiegania i leczenia niedoborów związanych z chorobą. Celem pracy było określenie wpływu dodatku organicznych soli wapnia na jakość i cechy technologiczne chleba bezglutenowego. Zastosowano 10-procentowy dodatek soli wapnia (kazeinianu i/lub cytrynianu wapnia). Sole wapniowe istotnie ( $p < 0,05$ ) zwiększały objętość właściwą doświadczalnego chleba bezglutenowego oraz wpływały na pociemnienie skórki pieczywa. W porównaniu z chlebem kontrolnym, pieczywo doświadczone wzbogacone głównie kazeinianem wapnia charakteryzowało się istotnie większą zawartością białka, natomiast zawartość związków mineralnych i wapnia wzrosła istotnie w chlebie wzbogaconym głównie cytrynianem wapnia. Najwyższą jakością ogólną wyróżniał się chleb wzbogacony mieszanką obu soli wapnia (z przeważającym udziałem kazeinianu wapnia w mieszance). Badane organiczne sole wapnia mogą być stosowane jako dodatek wzbogacający do chleba bezglutenowego, a uzyskany produkt bezglutenowy mógłby stanowić cenne uzupełnienie diety bezglutenowej.

**Słowa kluczowe:** chleb bezglutenowy, suplementy wapniowe, właściwości technologiczne, celiakia

### Wprowadzenie

Celiakia (CD), nazywana także enteropatią glutenową, jest jedną z najczęściej występujących nietolerancji pokarmowych [23]. Egzogenym czynnikiem środowiskowym wywołującym nadmierną odpowiedź układu immunologicznego w CD jest gluten, który jest mieszanką białek znajdujących się w ziarnach pszenicy (gliadyna), żyta (sekalina), jęczmienia (hordeina) i prawdopodobnie owsa (awenina).

Gluten ma właściwości lepko-elastyczne, wykorzystywane w produkcji pieczywa. Tworzy "siatkę", która zatrzymuje powstający w cieście w czasie fermentacji dwutlenek węgla, co powoduje wzrost objętości ciasta i umożliwia tworzenie porowatej struktury miększu pieczywa. Spożycie glutenu może prowadzić do stanu zapalnego błony śluzowej jelita i zaniku kosmków jelitowych, a w konsekwencji do zaburzeń wchłaniania ważnych składników odżywczych, takich jak: żelazo, kwas foliowy, wapń oraz witaminy rozpuszczalne w tłuszczach [22].

Wapń (Ca) jest podstawowym makroelementem pełniącym w organizmie szereg funkcji budulcowych i regulacyjnych. Na jego brak szczególnie narażone są dzieci i młodzież, u których mogą wystąpić zaburzenia wzrostu oraz osoby z upośledzeniem procesu trawienia i wchłaniania jelitowego (gruźlica jelit, mukowiscydoza, celiakia, choroba Crohna) [19]. U osób chorych na CD często wymagane jest uzupełnienie diety witaminą D i związkami wapnia.

Badania dotyczące podwyższenia jakości pieczywa bezglutenowego koncentrują się na uzyskaniu produktu charakteryzującego się cechami zbliżonymi do klasycznego pieczywa pszennego lub pszenno-żytniego. Poprawę właściwości technologicznych uzyskano po zastosowaniu naturalnie bezglutenowych mąk z pseudozbóż [1], mieszanek skrobiowych [5] lub żurków ze zbóż bezglutenowych [32] oraz różnych dodatków, np. hydrokoloidów [6] lub enzymów [11]. Wiele handlowych bezglutenowych produktów wypiekowych nadal charakteryzuje się niską jakością sensoryczną i wartością odżywczą [8]. Przeprowadzono szereg badań dotyczących wzbogacenia produktów bezglutenowych w składniki odżywcze oraz składniki pełniące ważne funkcje fizjologiczne, tj. w błonnik pokarmowy [4] i prebiotyki [18]. Generalnie produkty bezglutenowe są ubogie w białko, związki mineralne i witaminy. W porównaniu z produktami konwencjonalnymi niewiele jest produktów bezglutenowych wzbogaconych w wapń. Dodatki związków wapnia mogą jednak korzystnie wpływać na właściwości wypiekowe i jakość sensoryczną chleba bezglutenowego. Krupa-Kozak i wsp. [20] wykazali, że zastosowanie mieszanki cytrynianu i kazeinianu wapnia, jako składników ciasta bezglutenowego, wpływa korzystnie na barwę skórki i objętość właściwą uzyskanego chleba. Wzbogacenie wapniem produktów bezglutenowych mogłoby spowodować wymierne korzyści i stanowić sposób zapobiegania jego niedoborom.

Spośród dodatków wapniowych najczęściej stosowane są węglan i cytrynian wapnia. Wapń w postaci cytrynianu charakteryzuje się większą przyswajalnością niż w postaci węglanu, tym samym korzystniej oddziałuje na wzrost stężenia wapnia w surowicy i obniżenie poziomu parathormonu (PTH) [12]. Cytrynian wapnia hamuje resorpcję kości u kobiet po menopauzie równie skutecznie jak węglan wapnia [28]. Dodatkowo, wapń w postaci cytrynianu jest wchłaniany niezależnie od pH soku żołądkowego, co ma istotne znaczenie w przypadku osób z zaburzeniami wydzielania kwasów żołądkowych lub biorących leki obniżające kwasowość żołądka [25]. Dobrym

źródłem łatwo przyswajanego wapnia są produkty mleczne. Zastosowane jako dodatki do chleba bezglutenowego korzystnie wpływają na wartość odżywczą produktu, wzbogacając go w wartościowe białka i wapń, jednocześnie poprawiając właściwości sensoryczne i technologiczne [8, 24].

Celem pracy było określenie wpływu dodatku kazeinianu i cytrynianu wapnia oraz ich mieszanek na cechy technologiczne i jakość chleba bezglutenowego.

### **Material i metody badań**

Materiałem doświadczalnym był chleb bezglutenowy, którego głównymi składnikami były: skrobia kukurydziana (AgroTrade, Warszawa, Polska), skrobia ziemniaczana (Przedsiębiorstwo Przemysłu Ziemniaczanego S.A., Niechlów, Polska), pektyna (E 440(i), ZPOW Pektowin, Jasło, Polska), olej słonecznikowy (ZPT Warszawa, Polska), świeże drożdże (Drożdże Babuni, Lesaffre Polska S.A., Wołczyn, Polska), handlowy cukier i sól oraz woda dejonizowana.

Doświadczalny chleb bezglutenowy wzbogacono 10-procentowym dodatkiem organicznych soli wapnia: kazeinianem wapnia (PHZ SM Lacpol, Murowana Goślina, Polska; zawartość wapnia oznaczona doświadczalnie 1,40 %) i cytrynianem wapnia (E 333(iii), Hortimex, Konin, Polska; zawartość wapnia według producenta 21,98 %). Cytrynian wapnia zastosowano ze względu na dużą zawartość wapnia – stanowił on główne źródło tego pierwiastka. Dodatek kazeinianu wapnia uwarunkowany był dużą zawartością białka (92,8 % według producenta), małą zawartością laktozy (0,5 % według producenta) oraz jego korzystnym wpływem na właściwości technologiczne i sensoryczne chleba [20].

#### *Wypiek laboratoryjny*

Suche składniki, stanowiące bazę do wypieku chleba bezglutenowego, zestawiono w tab. 1. Wypiek laboratoryjny prowadzono w warunkach opisanych we wcześniejszej publikacji [20]. Uzyskano 9 bochenków każdego rodzaju bezglutenowego chleba doświadczalnego.

Bezpośrednio po ostygnięciu określano masę (przy użyciu wagi elektronicznej z dokładnością 0,01 g) i objętość [26] bochenków oraz wilgotność miękiszu [15]. Obliczano objętość właściwą, wyrażoną jako stosunek objętości do masy, oraz stratę wypiekową całkowitą z równania:

$$\text{Strata wypiekowa całkowita} = ((a - b) \cdot 100) / a [\%]$$

gdzie:

a – masa ciasta uformowanego do wypieku [g],

b – masa pieczywa ochłodzonego [g].

Analizę barwy skórki (górnej powierzchni bochenka) i miękiszu chleba (kromka środkowa o grubości 10 mm) przeprowadzano 2 h po wypieku przy użyciu spektrofotometrycznym.

tometru ColorFlex (Hunter Associates Laboratory, Inc, Virginia, USA). Pomiaru dokonywano przy użyciu nakładki ze szkłem optycznym o średnicy 30 mm, stosując typ obserwatora 10° oraz iluminat D65. Wyniki wyrażano w systemie CIE L\*a\*b\*. Parametrami określanymi były: jasność L\* (L = 0 – czerń, L = 100 – biel), która jest wektorem przestrzennym oraz a\* (-a = zielony, +a = czerwony) i b\* (-b = niebieski, +b = żółty), które są współrzędnymi trójchromatyczności.

Tabela 1. Skład doświadczalnego chleba bezglutenowego.  
Table 1. Composition of experimental gluten-free bread.

Składniki Ingredients		[%]	K [g]	CIT [g]	CAS [g]	CIT1/ CAS1 [g]	CIT1/ CAS3 [g]	CIT1/ CAS6 [g]
Skrobia kukurydziana Corn starch		33	660	660	660	660	660	660
Skrobia ziemniaczana Potato starch		8	160	160	160	160	160	160
Pektyna Pectin		2	40	40	40	40	40	40
Cukier Sugar		2,5	50	50	50	50	50	50
Sól Salt		0,7	14	14	14	14	14	14
Drożdże Yeast		2,5	50	50	50	50	50	50
Olej Oil		1,3	26	26	26	26	26	26
Woda Water		50	1000	1000	1000	1000	1000	1000
Sole Salts	cytrynian wapnia calcium citrate	10	-	200	-	100	50	25
	kazeinian wapnia calcium caseinate		-	-	200	100	150	175

Objaśnienia: / Explanatory notes:

K – bezglutenowy chleb kontrolny bez dodatku soli wapnia / control gluten-free bread without calcium salts added; CIT – chleb bezglutenowy z dodatkiem cytrynianu wapnia / gluten-free bread with calcium citrate added; CAS – chleb bezglutenowy z dodatkiem kazeinianu wapnia / gluten-free bread with calcium caseinate added; CIT/CAS – chleb bezglutenowy z dodatkiem cytrynianu i kazeinianu wapnia w stosunku 1 : 1 / gluten-free bread with calcium citrate and calcium caseinate added in 1 : 1 ratio; CIT1/CAS3 – chleb bezglutenowy z dodatkiem cytrynianu i kazeinianu wapnia w stosunku 1 : 3 / gluten-free bread with calcium citrate and calcium caseinate added in 1 : 3 ratio; CIT1/CAS6 – chleb bezglutenowy z dodatkiem cytrynianu i kazeinianu wapnia w stosunku 1 : 6 / gluten-free bread with calcium citrate and calcium added in 1 : 6 ratio.

Próbki doświadczalnego chleba bezglutenowego liofilizowano, a następnie oznaczano w nich zawartość związków mineralnych (w postaci popiołu) [13], białka ogółem ( $N \times 6,25$ ) [14] oraz skrobi ogółem [16].

Zawartość wapnia w liofilizowanych próbkach chleba bezglutenowego oznaczano metodą spektroskopii absorpcji atomowej (AAS) poprzedzonej mineralizacją [31].

Ocenie semi-konsumenckiej poddawano próbki chleba bezglutenowego przechowywanego w woreczkach foliowych zamykanych klipssem, przez 24 h, w temp.  $20 \pm 2$  °C, bez dostępu światła. Trzydziestu nieprzeszkolonych ochotników w wieku od 24 do 58 lat przeprowadzało ocenę hedonistyczną chleba doświadczalnego i wyraziło swoje preferencje w dziewięciopunktowej skali (1 = niepożądany, 9 = bardzo pożądanym) [2].

W celu przeprowadzenia analizy obrazu wykonywano odwzorowanie przekrojów poprzecznych przykładowych kromek środkowych (10 mm) doświadczalnego chleba bezglutenowego przy użyciu skanera (90 pikseli/cm<sup>2</sup>, Epson Perfection V200 Photo, Seiko Epson Corporation, Nagano, Japonia) zarządzanego oprogramowaniem Epson Creativity Suite Software. Zastosowano domyślne ustawienia jasności i kontrastu, a uzyskane obrazy zapisywano w formacie jpg, celem dalszej analizy przy użyciu oprogramowania ImageJ (National Institutes of Health, Bethesda, MD, USA). Uzyskane wyniki obejmowały pole powierzchni kromki, obwód, grubość skórki oraz stosunek wysokości do szerokości kromki. W celu analizy porów miękiszu obrazy konwertowano do 8-bitowej wersji w skali szarości i zastosowano manualną metodę wyznaczania progów binaryzacji do segmentacji obiektów [9]. Z każdego obrazu wybierano prostokątny obszar zainteresowania (ROI) w taki sposób, aby pokrywał możliwie największą część powierzchni miękiszu. Uzyskane wyniki obejmowały liczbę porów przypadającą na 1 cm<sup>2</sup> oraz pole powierzchni porów na 1 cm<sup>2</sup>. Obliczano kolistość porów z równania:

$$\text{Kolistość} = 4 \times \pi \times \text{średnia powierzchnia porów} / (\text{średni obwód porów})^2$$

Wartość 1 wskazuje na idealny okrąg [21].

Uzyskane wyniki stanowią średnią arytmetyczną z przynajmniej trzech powtórzeń, natomiast wyniki analizy barwy są średnią arytmetyczną z 9 powtórzeń. Analizę statystyczną wyników przeprowadzono przy użyciu programu Statistica 7.1 (StatSoft, Tulsa, OK, USA), stosując jednoczynnikową analizę wariancji. Istotność różnic między wartościami średnimi weryfikowano testem Fishera na poziomie istotności  $p < 0,05$ .

## Wyniki i dyskusja

Dodatek wybranych soli wapnia: cytrynianu i kazeinianu miał istotny wpływ na jakość technologiczną badanych prób chleba bezglutenowego (tab. 2). Najmniejszą objętością właściwą cechował się chleb kontrolny (bez dodatków), co było zgodne

z wynikami badań Krupy-Kozak i wsp. [20]. Dodatek soli wapnia do doświadczalnych mieszanek spowodował wzrost objętości właściwej uzyskanego pieczywa. W porównaniu z chlebem kontrolnym ( $1,90 \text{ g/cm}^3$ ) objętość właściwa chlebów CAS i CIT1/CAS6, wzbogaconych głównie kazeinianem wapnia, wzrosła o blisko 40 %. Cytrynian wapnia wpływał na objętość właściwą eksperymentalnego pieczywa w mniejszym zakresie. Objętość właściwa chleba CIT i CIT1/CAS1 (odpowiednio z: 10- i 5-procentowym dodatkiem cytrynianu wapnia) była istotnie większa ( $p < 0,05$ ) w porównaniu z chlebem kontrolnym, jednak znacząco mniejsza ( $p < 0,05$ ) w stosunku do chleba o dużej zawartości kazeinianu wapnia. Gallagher i wsp. [8] wykazali istotny wpływ dodatku produktów mlecznych na wzrost objętości chleba bezglutenowego. Natomiast Krupa-Kozak i wsp. [20] uzyskały porównywalną objętość właściwą chleba wzbogaconego wyłącznie kazeinianem wapnia, jednak znacznie większą – chleba z cytrynianem wapnia. Mała objętość właściwa chleba CIT uzyskanego w tym doświadczeniu może być skutkiem zbyt wysokiego dodatku cytrynianu wapnia, który jest stosowany w przemyśle spożywczym jako regulator kwasowości. Jego nadmiar mógł wpłynąć niekorzystnie na aktywność drożdży piekarniczych, zbyt mocno zakwaszając środowisko.

Generalnie, wzbogacane wapniem pieczywo doświadczalne charakteryzowało się zbliżoną stratą wypiekową całkowitą, bliską 15 %, porównywalną z próbką kontrolną. Jedynie w chlebie CIT (wyłącznie z cytrynianem wapnia) strata wypiekowa była istotnie mniejsza ( $p < 0,05$ ). Transport wody oraz rozpuszczonych w niej składników zależy od struktury mięksizu chleba, wielkości porów oraz liczby połączeń pomiędzy komórkami gazowymi [27, 29]. Różnice straty wypiekowej obserwowane pomiędzy doświadczalnymi próbkami pieczywa bezglutenowego mogą wynikać z wielkości porów mięksizu (fot.1, tab. 4).

Ocena barwy skórki doświadczalnego chleba bezglutenowego wykazała, że najwyższą wartością parametru  $L^*$  charakteryzował się chleb kontrolny (tab. 2), który był bladej i postrzegany jako nieatrakcyjny (fot. 1). Chleby bezglutenowe wzbogacone kazeinianem wapnia charakteryzowały się istotnie niższą ( $p < 0,05$ ) wartością  $L^*$  i ciemniejszą barwą skórki. Jednak najniższą wartość parametru  $L^*$  zmierzono w chlebie bezglutenowym CIT1/CAS1, w którym dodatek cytrynianu i kazeinianu wapnia był równy 5 %. Obserwowane pociemnienie skórki było prawdopodobnie skutkiem zachodzących na powierzchni chleba reakcji Maillarda i karmelizacji. Obie reakcje nieenzymatycznego brązowienia są wykorzystywane w piekarnictwie i wpływają pozytywnie na barwę, smak i charakterystyczny zapach pieczywa. Wartości parametrów  $a^*$  i  $b^*$  były dodatnie we wszystkich analizowanych próbkach skórki chleba doświadczalnego, uzyskując najniższe wartości w chlebie kontrolnym (odpowiednio: 0,81 i 12,61). Wzbogacenie wypiekowych mieszanek bezglutenowych solami wapnia, szczególnie kazeinianem wapnia, znacząco podwyższyło ( $p < 0,05$ ) wartości obu parametrów.



Chleb CAS, wzbogacony wyłącznie kazeinianem wapnia, wyróżniał się najwyższymi wartościami  $a^*$  (barwa czerwona) i  $b^*$  (barwa żółta).

Miękisz eksperymentalnych chlebów bezglutenowych istotnie różnił się ( $p < 0,05$ ) barwą (fot. 1, tab. 2). Chleb z dodatkiem kazeinianu i cytrynianu wapnia w równych ilościach (5 %) charakteryzował się najjaśniejszym miękiszem ( $L^* = 77,29$ ). Dodatek wyłącznie cytrynianu wapnia (CIT) nie powodował istotnych ( $p < 0,05$ ) zmian w jasności barwy miękiszu w stosunku do próbki kontrolnej, natomiast próbki chleba z dodatkiem wyłącznie kazeinianu wapnia (CAS) charakteryzowały się istotnie niższą ( $p < 0,05$ ) wartością parametru  $L^*$ . Te próbki miękiszu były tym ciemniejsze, im wyższy był dodatek tej soli (tab. 2). Podobnie, jak w przypadku barwy skórki, stwierdzono dodatnie wartości parametrów  $a^*$  i  $b^*$  we wszystkich analizowanych próbkach miękiszu chleba doświadczalnego. Chleby wzbogacone mieszanką soli wapnia charakteryzowały się istotnie wyższymi wartościami ( $p < 0,05$ ) parametrów  $a^*$  i  $b^*$ , przy czym wartości parametrów wzrastały wraz ze wzrastającym udziałem kazeinianu wapnia w mieszance. Gallagher i wsp. [8] zastosowali dodatek proszków mlecznych o wysokiej zawartości białka i uzyskali pieczywo bezglutenowe charakteryzujące się brązową barwą skórki i jasnym miękiszem, wysoko ocenione w testach sensorycznych ze względu na wygląd. Podobnie Nunes i wsp. [24] wykazali, że dodatek proszków mlecznych do kompozycji bezglutenowej korzystnie wpłynie na barwę chleba.

Skład chemiczny eksperymentalnego chleba bezglutenowego przedstawiono w tab. 3. Największą wilgotnością miękiszu charakteryzował się chleb kontrolny (51,94 %). Dodatek badanych soli wapnia powodował istotne ( $p < 0,05$ ) zmniejszenie wilgotność miękiszu. Jedynie wilgotność chleba CIT była porównywalna z chlebem kontrolnym (tab. 3). Mała wilgotność miękiszu wpływała ujemnie na jakość chleba bezglutenowego, który był kruchy i mało elastyczny. Handlowe mieszanki bezglutenowe [33], jak również chleb bezglutenowy [8] cechuje niewielka zawartość białka. Wzbogacenie eksperymentalnej mieszanki bezglutenowej zasobnym w białko kazeinianem wapnia skutkowało wzrostem zawartości białka ogółem w badanych próbkach chleba. Chleb CAS był ponad trzynastokrotnie zasobniejszy w białko (20,94 % s.m.) w porównaniu z niewzbogaconym chlebem kontrolnym (1,52 % s.m.). Zawartość białka we wzbogaconych mieszanką obu badanych soli wapnia chlebach bezglutenowych była proporcjonalna do wzrastającej ilości kazeinianu wapnia. Białka mleka cechują się wysoką wartością odżywczą, dlatego pieczywo z ich dodatkiem jest zasobne w białko, a przez to w ważne aminokwasy, tj. lizynę, metioninę i tryptofan. Pochodne mleka mogą być z powodzeniem dodawane do produktów bezglutenowych, jako suplementy białkowe oraz źródło wapnia [17]. Jednak stosując takie dodatki w produkcji żywności bezglutenowej, należy zwrócić szczególną uwagę na zawartą w nich laktozę. Osoby chore na celiakię często cierpią na nietolerancję laktozy z powodu zaburzeń w wydzielaniu laktazy na skutek atrofii kosmków jelitowych [22].

Tabela 2. Właściwości technologiczne doświadczalnego chleba bezglutenowego.

Table 2. Technological parameters of experimental gluten-free bread.

Rodzaj pieczywa Type of bread	Objętość właściwa Specific volume [g/cm <sup>3</sup> ]	Strata wypiekowa Bake loss [%]	Barwa skórki Crust colour			Barwa mięszku Crumb colour		
			L*	a*	b*	L*	a*	b*
K	1,90 <sup>d</sup> ± 0,07	15,14 <sup>a</sup> ± 0,64	73,38 <sup>a</sup> ± 3,41	0,81 <sup>f</sup> ± 0,07	12,61 <sup>e</sup> ± 0,44	75,71 <sup>b</sup> ± 1,18	1,00 <sup>c</sup> ± 0,05	13,59 <sup>d</sup> ± 0,44
CIT	2,29 <sup>c</sup> ± 0,13	12,78 <sup>b</sup> ± 0,64	69,06 <sup>b</sup> ± 3,02	4,19 <sup>c</sup> ± 0,50	21,54 <sup>d</sup> ± 2,01	76,11 <sup>b</sup> ± 0,90	0,74 <sup>d</sup> ± 0,09	12,27 <sup>e</sup> ± 0,59
CAS	2,65 <sup>a</sup> ± 0,01	14,58 <sup>a</sup> ± 0,72	46,00 <sup>c</sup> ± 0,99	18,74 <sup>a</sup> ± 0,75	27,70 <sup>a</sup> ± 1,58	71,08 <sup>c</sup> ± 1,56	1,66 <sup>a</sup> ± 0,17	15,99 <sup>a</sup> ± 0,57
CIT1/CAS1	2,18 <sup>c</sup> ± 0,16	14,58 <sup>a</sup> ± 0,83	40,67 <sup>d</sup> ± 3,21	14,28 <sup>d</sup> ± 0,70	24,85 <sup>c</sup> ± 1,24	77,29 <sup>a</sup> ± 0,77	1,46 <sup>b</sup> ± 0,12	14,51 <sup>c</sup> ± 0,60
CIT1/CAS3	2,47 <sup>bc</sup> ± 0,11	14,44 <sup>a</sup> ± 0,64	43,12 <sup>d</sup> ± 6,08	16,86 <sup>c</sup> ± 1,25	26,57 <sup>ab</sup> ± 2,44	71,69 <sup>c</sup> ± 1,73	1,50 <sup>b</sup> ± 0,23	15,09 <sup>b</sup> ± 0,87
CIT1/CAS6	2,62 <sup>ab</sup> ± 0,25	15,00 <sup>a</sup> ± 1,50	42,63 <sup>d</sup> ± 3,71	17,58 <sup>b</sup> ± 0,85	26,23 <sup>b</sup> ± 2,21	71,37 <sup>c</sup> ± 1,98	1,56 <sup>ab</sup> ± 0,14	15,35 <sup>b</sup> ± 0,44

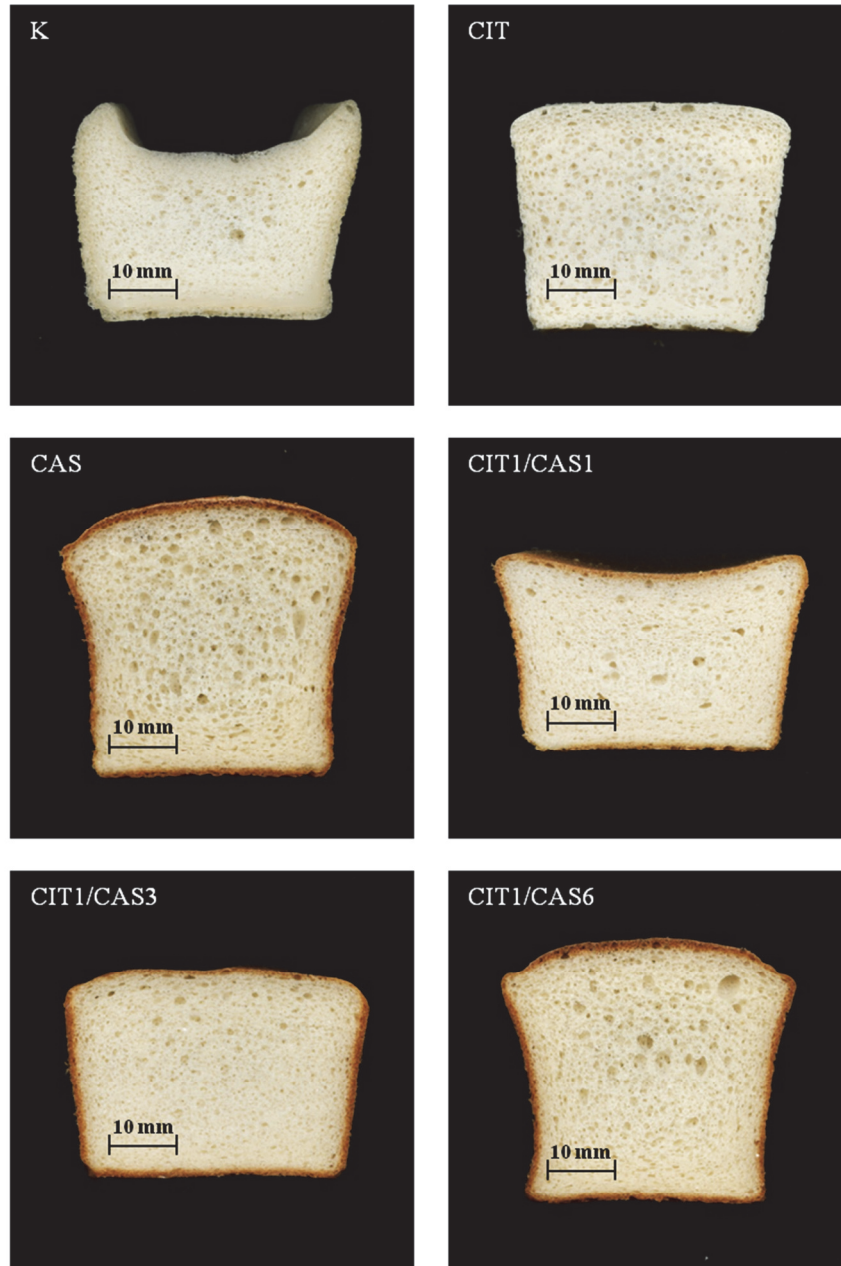
Objaśnienia: / Explanatory notes:

wartość średnia ± odchylenie standardowe; n = 9 / mean value ± standard deviation; n = 9; a, b, c – wartości średnie w kolumnach oznaczone różnymi literami różnią się statystycznie istotnie (p < 0,05) / mean values in columns and denoted by different letters vary statistically significantly (p < 0.05); Pozostałe objaśnienia jak pod tab. 1. / Other explanatory notes as in Tab. 1.

Chleb kontrolny oraz chleb CIT charakteryzowały się największą zawartością skrobi (odpowiednio: 79,47 i 78,82 % s.m.). W przeciwieństwie do zawartości białka, ilość skrobi zmniejszała się stopniowo wraz ze wzrastającą ilością kazeinianu wapnia w mieszance wypiekowej. Chleb CAS zawierał blisko 20 % mniej skrobi w porównaniu z próbką kontrolną.

Dodatek cytrynianu wapnia miał istotny wpływ zarówno na zawartość składników mineralnych, jak i samego wapnia w próbkach chleba bezglutenowego (tab. 3). Dziesięciokrotnie większą zawartością popiołu w porównaniu z próbką kontrolną (0,48 % s.m.) charakteryzował się chleb CIT (4,82 % s.m.). Ponadto, chleb ten wyróżniał się zawartością wapnia, która w porównaniu z chlebem kontrolnym (0,22 % s.m.) była o ponad 30 mg/g większa. Dodatek ubogiego w wapń kazeinianu wapnia (1,4 %) wpływał istotnie na wzrost zawartość wapnia jedynie w chlebie CAS. Uzyskane doświadczalnie pieczywo bezglutenowe było bogate w składniki mineralne, a szczególnie w wapń. Zalecana dzienna podaż wapnia rekomendowana przez WHO wynosi: dla





Objaśnienia jak pod tab. 1 / Explanatory notes as in Tab. 1.

Fot. 1. Widok eksperymentalnego chleba bezglutenowego wzbogaconego solami wapnia  
Photo 1. Images of the gluten-free bread containing calcium supplements

dzieci do 9. roku życia od 300 ÷ 700 mg, w wieku dojrzewania – do 1300 mg, dla osób dorosłych: 1000 ÷ 1300 mg, a osób powyżej 65 roku życia – 1300 mg [30]. Zastosowane sole wapnia korzystnie wpływały na właściwości odżywcze doświadczalnych chlebów bezglutenowych.

Tabela 3. Skład chemiczny doświadczalnego chleba bezglutenowego.

Table 3. Chemical composition of experimental gluten-free bread.

Rodzaj pieczywa Type of bread	Wilgotność miękiszu Crumb moisture [%]	Białko ogółem [% s.m.] Total protein [% d.m.]	Skrobia ogółem [% s.m.] Total starch [% d.m.]	Popiół [% s.m.] Ash [% d.m.]	Wapń Calcium [mg/g]
K	51,94 <sup>a</sup> ± 0,19	1,52 <sup>e</sup> ± 0,05	79,47 <sup>a</sup> ± 1,20	0,48 <sup>f</sup> ± 0,01	0,22 <sup>f</sup> ± 0,01
CIT	47,94 <sup>ab</sup> ± 0,02	1,36 <sup>e</sup> ± 0,04	78,82 <sup>a</sup> ± 2,04	4,82 <sup>a</sup> ± 0,01	31,29 <sup>a</sup> ± 0,34
CAS	45,04 <sup>b</sup> ± 0,00	20,94 <sup>a</sup> ± 0,13	60,44 <sup>c</sup> ± 1,96	1,03 <sup>e</sup> ± 0,20	1,45 <sup>e</sup> ± 0,02
CIT1/CAS1	45,19 <sup>b</sup> ± 0,04	12,05 <sup>d</sup> ± 0,13	69,23 <sup>b</sup> ± 0,44	3,28 <sup>b</sup> ± 0,03	19,33 <sup>b</sup> ± 0,46
CIT1/CAS3	44,05 <sup>b</sup> ± 0,03	18,96 <sup>c</sup> ± 0,05	63,51 <sup>c</sup> ± 1,04	2,21 <sup>c</sup> ± 0,02	10,98 <sup>c</sup> ± 0,50
CIT1/CAS6	44,69 <sup>b</sup> ± 0,10	20,45 <sup>b</sup> ± 0,13	61,77 <sup>c</sup> ± 2,39	1,73 <sup>d</sup> ± 0,01	6,77 <sup>d</sup> ± 0,05

Objaśnienia jak pod tab. 2. / Explanatory notes as in Tab. 2.

W analizie obrazu poprzecznego przekroju chleba bezglutenowego (tab. 4.) wykazano, że dodatek badanych soli wapnia wpływał istotnie ( $p < 0,05$ ) na pole powierzchni i obwód badanych próbek chleba w stosunku do próbki kontrolnej. Największym polem powierzchni i obwodem kromki charakteryzował się chleb wzbogacony kazeinianem wapnia (CAS). W przypadku próbek z dodatkiem dwóch soli wapnia wartość obu parametrów wzrastała proporcjonalnie do zwiększającej się ilości kazeinianu wapnia w mieszance wypiekowej. Dodatek cytrynianu wapnia spowodował 25-procentowy wzrost pola powierzchni chleba CIT, nie wpływając istotnie na jego obwód. Zastosowane dodatki wapnia, a szczególnie kazeinian wapnia, wpływały na grubość skórki badanych chlebów doświadczalnych (tab. 4). W porównaniu z chlebem kontrolnym, chleb CAS charakteryzował się istotnie ( $p < 0,05$ ) grubszą skórką. Chleby z dodatkiem obu soli wapnia miały tym grubszą skórkę, im wyższy był udział kazeinianu wapnia w mieszance. Wielkość kromki środkowej chlebów bezglutenowych, wyrażona jako stosunek wysokości do szerokości, pozostaje w ścisłej relacji z objętością właściwą chleba. W porównaniu z chlebem kontrolnym, próbki chleba wzbogaconego wapniem cechowały się istotnie ( $p < 0,05$ ) wyższą wartością tego wskaźnika. Wielkość kromki środkowej wzrastała proporcjonalnie do zwiększającej się zawartości kazeinianu wapnia w mieszance wypiekowej (tab. 4). Uzyskane wyniki były zgodne

z wynikami poprzednich badań [20]. Hager i wsp. [10] oceniali jakość chleba bezglutenowego uzyskanego z komercyjnych mąk bezglutenowych i stwierdzili, że chleb z mąki kukurydzianej charakteryzował się najmniejszą powierzchnią kromki, największą zaś – chleb uzyskany z mąki ryżowej. Autorzy podkreślili decydujący wpływ surowca użytego do wypieku na jakość i strukturę uzyskanego pieczywa. W przeprowadzonym doświadczeniu sole wapnia, a szczególnie kazeinian wapnia, korzystnie wpływały na parametry wielkości kromki, a uzyskane wyniki były zbliżone do wyników odnoszących się do chleba pszennego [10].

Analiza parametrów porów miękiszu chleba obejmowała liczbę, powierzchnię i kolistość porów (tab. 4). Liczba porów przypadająca na 1 cm<sup>2</sup> miękiszu we wzbogaconych chlebach bezglutenowych była wyższa w porównaniu z próbką kontrolną. Ponadto, pory miękiszu chlebów wzbogaconych kazeinianem wapnia (CAS) lub mieszkanką obu soli z przeważającym udziałem kazeinianu wapnia (CIT1/CAS3 i CIT1/CAS6) charakteryzowały się istotnie większym ( $p < 0,05$ ) polem powierzchni. Powstający podczas fermentacji ciasta CO<sub>2</sub> dyfunduje szybciej do większych porów, ze względu na niższe ciśnienie w nich panujące [3], powodując powiększanie się porów. Różnice pod względem liczby i powierzchni porów pomiędzy badanymi próbkami chleba doświadczalnego mogą wynikać z różnic w konsystencji ciasta oraz intensywności procesu fermentacji [7]. Po przeanalizowaniu kolistości porów miękiszu nie stwierdzono istotnych różnic ( $p < 0,05$ ) pomiędzy próbkami chlebów wzbogaconych a chlebem kontrolnym, z wyjątkiem chleba CIT. Zaobserwowane różnice w charakterystyce miękiszu doświadczalnych chlebów bezglutenowych (powierzchnia i liczba porów) wynikają prawdopodobnie z różnic w zawartości białka (tab. 3) oraz konsystencji uzyskanych ciast bezglutenowych [7]. Gallagher i wsp. [8] dowiedli, że pory chleba bezglutenowego wzbogaconego 6-procentowym dodatkiem kazeinianu sodu zajmowały 28 % całkowitej powierzchni kromki, podczas gdy w chlebie kontrolnym – aż 43 %. Autorzy wskazują, że zawartość białka w preparacie wzbogacającym wpływa na wymiary i liczbę porów miękiszu chleba bezglutenowego – im mniej białka zawiera dodatek wzbogacający, tym pory są większe. Nunes i wsp. [24] stwierdzili, że 10-procentowy dodatek kazeinianu w postaci soli sodowej do chleba bezglutenowego znacząco wpływa na zwiększenie średniej powierzchni porów miękiszu oraz na ich liczbę w stosunku do próbki kontrolnej, co wskazuje na bardziej otwartą strukturę miękiszu chleba wzbogaconego.

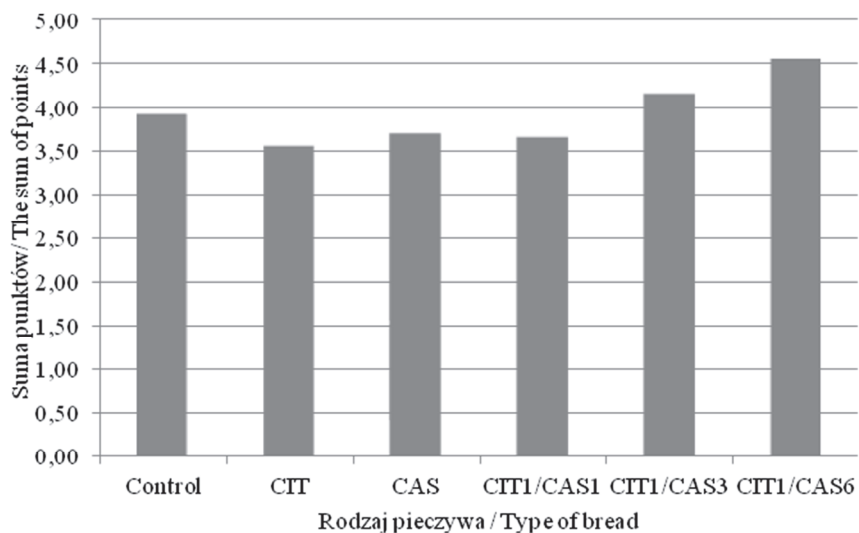
W analizie semi-konsumenckiej (rys. 1) kontrolny chleb bezglutenowy oceniono nisko (3,9 pkt). Chleb postrzegany był jako blade i nieatrakcyjny (fot. 1). W porównaniu z chlebem kontrolnym próbki chleba z dodatkiem jednego rodzaju soli wapnia, cytrynianem (CIT) lub kazeinianem (CAS), oceniono jeszcze niżej (odpowiednio: 3,6 i 3,7 pkt), podczas gdy zastosowana mieszanka obu soli wpłynęła na podwyższenie not

Tabela 4. Parametry kromki i porów miększu doświadczalnego chleba bezglutenowego.

Table 4. Parameters of slice and crumb cells of experimental gluten-free bread.

Rodzaj pieczywa Type of bread	Parametry kromki Parameters of slice				Parametry porów miększu Parameters of crumb cells		
	Powierzchnia Area [cm <sup>2</sup> ]	Obwód Perimeter [cm]	Grubość skórki Crust thickness [mm]	Stosunek wysokości do szerokości Height/width ratio [-]	Liczba porów [Nr/cm <sup>2</sup> ] Number of cells [No/1 cm <sup>2</sup> ]	Powierzchnia Area [mm <sup>2</sup> /cm <sup>2</sup> ]	Kolistość Circularity [-]
K	40,67 <sup>c</sup> ± 2,75	28,53 <sup>c</sup> ± 1,30	1,10 <sup>c</sup> ± 0,10	0,60 <sup>d</sup> ± 0,05	5 <sup>b</sup> ± 1	29,77 <sup>c</sup> ± 2,96	0,24 <sup>b</sup> ± 0,05
CIT	50,96 <sup>b</sup> ± 4,08	29,00 <sup>c</sup> ± 0,14	1,32 <sup>c</sup> ± 0,15	0,81 <sup>b</sup> ± 0,09	7 <sup>a</sup> ± 1	31,82 <sup>bc</sup> ± 5,28	0,37 <sup>a</sup> ± 0,03
CAS	62,00 <sup>a</sup> ± 1,82	31,70 <sup>a</sup> ± 0,17	3,49 <sup>a</sup> ± 0,08	1,13 <sup>a</sup> ± 0,02	7 <sup>a</sup> ± 1	36,09 <sup>b</sup> ± 2,18	0,28 <sup>b</sup> ± 0,01
CIT/CAS	53,07 <sup>b</sup> ± 5,52	30,14 <sup>b</sup> ± 1,31	2,39 <sup>b</sup> ± 0,32	0,79 <sup>c</sup> ± 0,09	7 <sup>a</sup> ± 1	30,38 <sup>bc</sup> ± 3,23	0,24 <sup>b</sup> ± 0,01
CIT1/CAS3	56,05 <sup>ab</sup> ± 6,09	30,59 <sup>ab</sup> ± 1,58	2,44 <sup>b</sup> ± 0,36	0,82 <sup>b</sup> ± 0,12	6 <sup>ab</sup> ± 1	38,51 <sup>a</sup> ± 3,44	0,28 <sup>b</sup> ± 0,02
CIT1/CAS6	59,86 <sup>a</sup> ± 5,06	31,38 <sup>a</sup> ± 0,92	2,88 <sup>b</sup> ± 0,05	1,01 <sup>ab</sup> ± 0,07b	6 <sup>ab</sup> ± 1	39,39 <sup>a</sup> ± 5,06	0,25 <sup>b</sup> ± 0,04

Objaśnienia jak pod tab. 2. / Explanatory notes as in Tab. 2.



Rys. 1. Wyniki oceny semi-konsumenckiej doświadczalnego chleba bezglutenowego.

Fig. 1. Results of semi-consumer evaluation of experimental gluten-free bread.

w ocenie ogólnej pieczywa. W ocenie konsumentów najlepszy był chleb bezglutenowy CIT1/CAS6, któremu przyznano 4,6 pkt. Podobnie, we wcześniejszych badaniach Krupy-Kozak i wsp. [20] wykazano, że zastosowanie mieszanki kazeinianu i cytrynianu wapnia, jako dodatku do chleba bezglutenowego, korzystnie wpływało na parametry sensoryczne uzyskanego pieczywa.

### Wnioski

1. Zastosowanie do produkcji chleba bezglutenowego dodatku organicznych soli wapnia, szczególnie kazeinianu wapnia, miało pozytywny wpływ na jakość technologiczną uzyskanego pieczywa, skutkowało wzrostem objętości właściwej oraz korzystnym zabarwieniem skórki chlebów doświadczalnych.
2. Dodatek organicznych soli wapnia wpłynął na podwyższenie wartości odżywczej chleba bezglutenowego, zwiększając istotnie ( $p < 0,05$ ) zawartość białka (kazeinian wapnia) oraz związków mineralnych, w tym wapnia (cytrynian wapnia) w pieczywie.
3. Wyróżniającą jakością ogólną w ocenie konsumentów charakteryzował się chleb CIT1/CAS6 wzbogacony mieszanką obu soli, z przeważającym udziałem kazeinianu wapnia.
4. Organiczne sole wapnia, kazeinian i cytrynian, mogą być stosowane jako dodatek wzbogacający do chleba bezglutenowego, a uzyskany produkt mógłby stanowić cenny składnik diety bezglutenowej.

*Badania finansowane przez Narodowe Centrum Nauki w ramach projektu DEC-2011/01/D/NZ9/02692, Fundację na Rzecz Nauki Polskiej w ramach programu Pomost – wsparcie dla kobiet w ciąży /1/NQC/2011 oraz z budżetu na badania statutowe Zakładu Chemii i Biodynamiki Żywności IRZiBŻ PAN w Olsztynie.*

### Literatura

- [1] Alvarez-Jubete L., Auty M., Arendt E.K., Gallagher E.: Baking properties and microstructure of pseudocereal flours in gluten-free bread formulations. *Eur. Food Res. Technol.*, 2011, **230** (3), 437-445.
- [2] Baryłko-Pikielna N., Matuszewska I.: *Sensoryczne badania żywności. Podstawy. Metody. Zastosowania.* Wyd. II. Wyd. Nauk. PTTŻ, Kraków 2014.
- [3] Bloksma A.H.: Dough structure, rheology, and baking quality. *Cereal Foods World*, 1990, **35**, 237-244.
- [4] Diowksz A., Sucharzewska D., Ambroziak W.: Rola błonnika pokarmowego w kształtowaniu cech funkcjonalnych ciasta i chleba bezglutenowego. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2009, **2** (63), 83-93.
- [5] Diowksz A., Sucharzewska D., Ambroziak W.: Wpływ składu mieszanek skrobiowych na właściwości chleba bezglutenowego. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2008, **2** (57), 40-50.

- [6] Dłużewska E., Marciniak K., Dojczew D.: Koncentraty chleba bezglutenowego z dodatkiem wybranych hydrokoloidów. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2001, **8** (2), 56-67.
- [7] Dobraszczyk B.J., Smewing J., Albertini M., Maesmans G., Schofield J.D.: Extensional rheology and stability of gas cell walls in bread doughs at elevated temperatures in relation to bread making performance. *Cereal Chem.* 2003, **80**, 218-224.
- [8] Gallagher E., Gormley T.R., Arendt E.K.: Crust and crumb characteristics of gluten free breads. *J. Food. Eng.*, 2003, **56** (2-3), 153-161.
- [9] Gonzales-Barron U., Butler F.: A comparison of seven thresholding techniques with the k-means clustering algorithm for measurement of breadcrumb features by digital image analysis. *J. Food Eng.*, 2006, **74** (2), 268-278.
- [10] Hager A.S., Wolter A., Czerny M., Bez J., Zannini E., Arendt E.K., Czerny M.: Investigation of product quality, sensory profile and ultrastructure of breads made from a range of commercial gluten-free flours compared to their wheat counterparts. *Eur. Food Res. Technol.*, 2012, **235** (2), 333-344.
- [11] Hamada S., Suzuki K., Aoki N., Suzuki Y.: Improvements in the qualities of gluten-free bread after using a protease obtained from *Aspergillus oryzae*. *J. Cereal Sci.*, 2013, **57** (1), 91-97.
- [12] Heller H.J., Greer L.G., Haynes S.D., Poindexter J.R., Pak C.Y.: Pharmacokinetic and pharmacodynamic comparison of two calcium supplements in postmenopausal women. *J. Clin. Pharmacol.*, 2002, **40** (11), 1237-1244.
- [13] ICC – Approved methods of analysis. Method 104/1 Determination of Ash in Cereals and Cereal Products. Approved 1960, revised 1990. International Association of Food Science and Technology. Vienna, Austria, 1994.
- [14] ICC – Approved methods of analysis. Method 105/2 Determination of Crude Protein in Cereals and Cereal Products for Food and for Feed. Approved 1980, revised 1994. International Association of Food Science and Technology. Vienna, Austria, 1994.
- [15] ICC – Approved methods of analysis. Method 110/1 Determination of the Moisture Content of Cereals and Cereal Products (Practical method). Approved 1960, revised 1976. International Association of Food Science and Technology. Vienna, Austria, 1994.
- [16] ICC – Approved methods of analysis. Method 123/1 Determination of Starch Content by Hydrochloric Acid Dissolution. Approved 1976, revised 1994. International Association of Food Science and Technology. Vienna, Austria, 1994.
- [17] Kenny S., Wehrle K., Stanton C., Arendt E.K.: Incorporation of dairy ingredients into wheat bread: effects on dough rheology and bread quality. *Eur. Food Res. Technol.*, 2000, **210** (6), 391-396.
- [18] Korus J., Grzelak K., Achremowicz B., Sabat R.: Influence of prebiotic additions on the quality of gluten-free bread and on the content of inulin and fructooligosaccharides. *Food Sci. Technol. Int.*, 2006, **12** (6), 489-495.
- [19] Krupa-Kozak U. Pathologic bone alterations in celiac disease: Etiology, epidemiology, and treatment. *Nutrition*, 2014, **30**, 16-24.
- [20] Krupa-Kozak U., Troszyńska A., Bączek N., Soral-Śmietana M.: Effect of organic calcium supplements on the technological characteristic and sensory properties of gluten-free bread. *Eur. Food Res. Technol.*, 2011, **232** (3), 497-508.
- [21] Matos M.E., Rosell C.M.: Relationship between instrumental parameters and sensory characteristics in gluten-free breads. *Eur. Food Res. Technol.*, 2012, **235** (1), 107-117
- [22] Murray J.A.: The widening spectrum of celiac disease. *Am. J. Clin. Nutr.*, 1999, **69** (3), 354-365.
- [23] Mustalahti K., Catassi C., Reunanen A., Fabiani E., Heier M., McMillan S., Murray L., Metzger M.H., Gasparin M., Bravi E., Mäki M. and the members of the Coeliac EU Cluster, Epidemiology: The prevalence of celiac disease in Europe: Results of a centralized, international mass screening project. *Annal Med.*, 2010, **42**, 587-595.



- [24] Nunes M.H.B., Ryan L.A.M., Arendt E.K.: Effect of low lactose dairy powder addition on the properties of gluten-free batters and bread quality. *Eur. Food Res. Technol.*, 2009, **229** (1), 31-41.
- [25] O'Connell M.B., Madden D.M., Murray A.M., Heaney R.P., Kerzner L.J.: Effects of proton pump inhibitors on calcium carbonate absorption in women: a randomized crossover trial. *Am. J. Med.*, 2005, **118** (7), 778-781.
- [26] PN-A-74108:1996. Pieczywo. Metody badań.
- [27] Roca E., Guillard V., Guilbert S., Gontard N.: Moisture migration in a cereal composite food at high water activity: Effects of initial porosity and fat content. *J. Cereal Sci.*, 2006, **43** (2), 144-151.
- [28] Thomas S.D.C., Need A.G., Tucker G., Slobodian P., O'Loughlin P.D., Nordin B.E.: Suppression of parathyroid hormone and bone resorption by calcium carbonate and calcium citrate in postmenopausal women. *Calcified. Tissue Int.*, 2008, **83** (2), 81-84.
- [29] Van Dalen G, Nootenboom P., van Vliet L.J., Voortman L., Esveld E.: 3-D imaging, analysis and modelling of porous cereal products using x-ray microtomography. *Image Anal. Stereol.*, 2007, **26** (3), 169-177.
- [30] Vitamin and mineral requirements in human nutrition : report of a joint FAO/WHO expert consultation, Bangkok, Thailand 1998, September 21-30, p. 69.
- [31] Whiteside P., Miner B.: Pye Unicam Atomic Absorption Data Book. Pye Unicam LTD. Cambridge, UK, 1984.
- [32] Wolska P., Ceglińska A., Dubicka A.: Produkcja pieczywa na żurkach ze zbóż bezglutenowych. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2010, **5** (72), 104-111.
- [33] Wronkowska M.; Soral-Śmietana M.: Buckwheat flour - a valuable component of gluten-free formulations. *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, 2008, **58**, 59-63.

## EFFECT OF CALCIUM CASEINATE AND CALCIUM CITRATE ON QUALITY AND TECHNOLOGICAL PARAMETERS OF GLUTEN-FREE BREAD

### S u m m a r y

Celiac disease is one of the most common food intolerances. Nutrient supplementation of gluten-free products is a significant aspect of prevention and treatment of deficiencies associated with that disease. The objective of the research study was to determine the effect of organic calcium salts additive on the quality and technological parameters of gluten-free bread. A 10 % additive of calcium salts (calcium caseinate and/or calcium citrate) was added. The calcium salts added caused the specific volume of the experimental gluten-free bread to increase significantly ( $p < 0.05$ ) and the crust thereof to darken. Compared to the control bread sample, the experimental gluten-free bread enriched mainly with calcium caseinate was characterized by a significantly ( $p < 0.05$ ) higher protein content, while the content of minerals and calcium increased substantially in the bread enriched with calcium citrate. The highest overall quality had the gluten-free bread supplemented with the mixture of two calcium salts (with the predominant content of calcium caseinate). The organic calcium salts studied can be used as a food additive to enrich the gluten-free bread, and the gluten-free product produced could be a valuable complement to the gluten-free diet.

**Key words:** gluten-free bread, calcium supplements, technological parameters, celiac disease ☒