

HALINA GAMBUŚ, DOROTA GUMUL

RETROGRADACJA SKROBI WYIZOLOWANEJ Z NIEDOJRZAŁYCH ZIARNIAKÓW ZBÓŻ

Streszczenie

Retrogradacja jest niekorzystnym procesem zachodzącym podczas przechowywania żywności, wpływającym na ograniczenie przydatności konsumpcyjnej produktów utworzonych na bazie surowców skrobiowych. Dlatego też celem podjętych badań było wskazanie możliwości pozyskania skrobi zbożowej o znacznie mniejszej skłonności do retrogradacji, bez konieczności poddania jej wcześniejszej modyfikacji.

Z ziarna pszenicy, żyta i jęczmienia, zebranego z pola w różnych fazach dojrzałości, wyizolowano skrobię metodą laboratoryjną. Oznaczono zawartość suchej substancji i skrobi w ziarnie zbóż oraz zawartość amylozy w skrobi. Wyznaczono również stosunek amylozy do amylopektyny i wagowo średnią masę cząsteczkową obu tych polimerów skrobiowych, przy zastosowaniu chromatografii żelowej (GPC) oraz stopień retrogradacji 1% wodnych kleików skrobiowych.

Na podstawie przeprowadzonych badań stwierdzono znacznie niższą skłonność do retrogradacji skrobi ze zbóż niedojrzałych, w porównaniu ze skrobią zbóż dojrzałych, zarówno w temperaturze 8°C, 20°C jak i -20°C. W przypadku wszystkich badanych zbóż, najmniejszy stopień retrogradacji oznaczono w skrobiach wyodrębnionych z ziaren zebranych we wczesno-woskowej fazie dojrzałości. Ziarno pszenicy i jęczmienia zebrane we wczesno-woskowej fazie dojrzałości można uznać za naturalne źródło skrobi zbożowej o niewielkiej skłonności do retrogradacji.

Słowa kluczowe: skrobia, retrogradacja, niedojrzałe zboża.

Wstęp

Retrogradacja opisywana jest zazwyczaj jako rekryształizacja w czasie przechowywania po kleikowaniu skrobi.

Podczas schładzania kleiku skrobiowego zmniejsza się rozpuszczalność cząsteczek skrobi, które wykazują wówczas tendencję do tworzenia agregatów czyli rejonów krystalicznych. Przy znacznych rozcieńczeniach kleików następuje wytrącanie się cząsteczek krystalicznych z roztworu, natomiast w przypadku wyższych koncentracji tworzą się siatki żelowe z cząsteczek polisacharydów.

Formowanie żelu zapoczątkowane jest tworzeniem się krystalicznych micelli zbudowanych z cząsteczek zarówno amylozy jak i amylopektyny, które łączą się ze sobą poprzez wiązania wodorowe. Ze względu na rozbudowaną strukturę amylopektyny, krystalizacja jej cząsteczek jest częściowo hamowana i ograniczona do zewnętrznych rozgałęzień [16, 24]. Amyloza retrograduје łatwo już we wczesnym stadium przechowywania, po czym w sposób ciągły i dużo wolniej retrograduје amylopektyna [16, 32].

Właściwości powstałego żelu zależą między innymi od koncentracji kleiku, sposobu jego przygotowania oraz stosowanych dodatków [22]. Powstałe żele zawierają rejony krystaliczne, o czym świadczą widma dyfrakcji promieni X oraz obserwacje w mikroskopie polaryzacyjnym [23]. Podczas przechowywania kleików skrobiowych lub żeli, wykazują one coraz większą tendencję do asocjacji molekuł, poprzez krzyżowe usieciowanie za pomocą wiązań wodorowych. W miarę postępowania tego procesu można zauważyć wyraźne zmętnienie roztworów o małym stężeniu i coraz większe wytrącanie się skrobi z roztworu. Rozcieńczone dyspersje pozwalają bowiem molekułom na częściową orientację, co ułatwia tworzenie wiązań wodorowych. Wytrącona skrobia powraca do swoich pierwotnych właściwości tzn. staje się nierozpuszczalna w zimnej wodzie. Natomiast podczas przechowywania – starzenia się żelu, ruch cząsteczek jest ograniczony, a połączenie ich za pomocą wiązań wodorowych następuje jedynie w punktach kontaktu. W miarę postępowania tego procesu tworzą się w żelu coraz większe rejony krystaliczne, żel kurczy się, twardnieje i wydziela się woda. Całą tę grupę zjawisk zachodzących podczas przechowywania kleiku czy żelu, a polegających na tworzeniu wiązań między cząsteczkami skrobi i prowadzących do wzrostu krystaliczności – nazywamy retrogradacją [16].

Proces retrogradacji można badać za pomocą różnych wskaźników, do których należy między innymi: postępujący wzrost twardości żelu podczas jego starzenia się [11, 12], utrata zdolności do tworzenia kompleksu z jodem [13, 14, 16] oraz wzrost entalpii procesu rekrystalizacji kleiku (ΔH [J/g]), przechowywanego przez określony czas, podczas ogrzewania go w zamkniętym naczyniu różnicowego kalorymetru skaningowego (DSC) [5, 30, 32].

Retrogradacja skrobi jest zjawiskiem występującym podczas przechowywania produktów skrobiowych i jednym z głównych czynników powodujących pogorszenie jakości żywności m.in. jest w znacznej mierze odpowiedzialna za starzenie się pieczywa. Nie trzeba więc uzasadniać, że znajomość możliwości zapobiegania lub hamowania retrogradacji skrobi jest ważna, nie tylko dla przemysłu piekarskiego, ale również dla wszystkich czynników włączonych w rozwiązywanie problemów żywnościowych na świecie. Dlatego też celem podjętych badań było wskazanie możliwości pozyskania skrobi zbożowej o znacznie mniejszej skłonności do retrogradacji, bez konieczności poddania jej wcześniejszej modyfikacji.

Material i metody badań

Materiałem do badań były skrobie wyodrębnione z ziarna pszenicy (odmiany Almari), żyta (odmiany Dańkowskie Żłote) i jęczmienia (z mieszanki bezodmianowej), które zbierano z pól Rolniczego Zakładu Doświadczalnego SGGW w Wilanowie, w latach 1997 i 1998. Zbioru ziarna dokonywano w różnych fazach jego dojrzałości (tab. 1).

Tabela 1

Zestawienie dat zbioru zbóż, z których wyodrębniano skrobie.

List of harvesting date of cereals, used for starch separations.

| Faza dojrzałości ziarna Stage of kernel maturity | Rodzaj zboża i data zbioru / Cereals and dates of harvest | | |
|---|---|---------------------------|---------------------------|
| | Pszenica / Wheat | Żyto / Rye | Jęczmień / Barley |
| wczesno-woskowa early-waxy | 10.07.1997, 29.06.1998 | 03.07.1997, 29.06.1998 | 10.07.1997, 06.07.1998 |
| późno-woskowa late-waxy | 17.07.1997, 06.07.1998 | 17.07.1997, 06.07.1998 | 17.07.1997, 13.07.1998 |

W celu porównania te same zboża zebrano w fazie dojrzałości pełnej.

The same cereals were harvested at the stage of full maturity.

Pora zbioru następowała po około 30–40 dniach po kwitnieniu i była dobrana na podstawie oględzin sensorycznych tak, aby pierwszą próbkę pobrać w okresie dojrzałości wczesno-woskowej, a drugą w 7–10 dni później, czyli w okresie dojrzałości późno-woskowej. Kłosa żyto ręcznie, sierpem albo nożem, wraz z 20–40 cm łodygą żdźbła i młócono w młocarce laboratoryjnej. W celu uzyskania homogeniczności masy ziarnowej, ziarno było rozdrabniane w kutrze do rozdrabniania mięsa, w Instytucie Przemysłu Mięsnego i Tłuszczowego w Warszawie i natychmiast zamrażane do temperatury $-20 \pm 2^\circ\text{C}$. Ziarno niedojrzałe przechowywano w opakowaniach próżniowych w stanie zamrożenia, aż do momentu wyodrębnienia z niego skrobi metodą laboratoryjną [7].

Ziarno dojrzałe poddawano mieleniu w młynku laboratoryjnym typu Quadrumat Junior i z uzyskanej mąki wyodrębniano skrobie [7].

W ziarnie zbóż niedojrzałych i dojrzałych oznaczano zawartość suchej masy metodą suszarkową oraz zawartość skrobi metodą Clendenninga z chlorkiem wapnia [10].

W uzyskanych powietrznie suchych próbkach skrobi oznaczano:

1. Zawartość amylozy w skrobi metodą spektrofotometryczną z jodem [20]. Pomiar ekstynkcji wykonywano przy długości fali $\lambda = 635 \text{ nm}$, używając spektrofotometru Specord M42 firmy Carl Zeiss.

2. Przeprowadzono analizę chromatograficzną skrobi przy użyciu chromatografii żelowej GPC. Zestaw do badań składał się z 4 kolumn o różnych wymiarach i wypełnieniach:

- kolumna 16 mm średnicy i 35 cm długości wypełniona żelem Sephacryl / Pharmacia / S-200
- kolumna 16 mm średnicy i 88 cm długości wypełniona żelem Sephacryl / Pharmacia / S-200
- kolumna 16 mm średnicy i 88 cm długości wypełniona żelem Sephacryl / Pharmacia / S-500
- kolumna 16 mm średnicy i 86 cm długości wypełniona żelem Sephacryl / Pharmacia / S-1000

Standardem były pullulany (P) (Shodex Standard, Macherey – Nagel) w ilości po 5 mg P-10, 50, 200 i 800, o masach cząsteczkowych: $12,2 \cdot 10^3$, $48 \cdot 10^3$, $186 \cdot 10^3$ i $853 \cdot 10^3$ Da. Wymienione standardy rozpuszczano w $2,5 \text{ cm}^3$ wody destylowanej i наносzono na kolumny [25, 27]. Analizę chromatograficzną wykonywano w temperaturze pokojowej przy użyciu 0,003 M roztworu Na_2CO_3 jako eluentu (przy szybkości przepływu średnio $16,5 \text{ cm}^3/\text{h}$), oraz refraktometru (RI) jako detektora. Z kolumn eluent przepływał przez detektor do kolektora frakcji, gdzie był rozdzielany na 130 frakcji o objętości średnio 5 cm^3 każda. Przy każdym pomiarze uwzględniano inną objętość frakcji w stosunku do średniej.

Analiza frakcji uzyskanych po rozdziale chromatograficznym obejmowała:

- oznaczenie zawartości sumy węglowodanów metodą antronową, mierząc ekstynkcję przy długości fali $\lambda = 540 \text{ nm}$ [18];
- pomiar ekstynkcji kompleksu jodowo-skrobiowego, przy dwóch długościach fal: $\lambda = 525 \text{ nm}$ i 640 nm [27];
- oznaczenie zawartości amylozy i amylopektyny w każdej frakcji uzyskanej z rozdziału chromatograficznego badanej próbki skrobi. Jako wskaźnik zawartości amylozy przyjmowano „wartość niebieską”, która jest definiowana jako absorpcja jodu rozcieńczonego w 100 cm^3 wody przez 10 mg s.s. skrobi. Oblicza się ją z równania:

$$W_n = \frac{E \cdot 10 \text{ mg}}{s.s.}$$

gdzie:

E – ekstynkcja odczytana przy długości fali $\lambda = 640 \text{ nm}$,

s.s. – zawartość suchej substancji w 100 cm^3 roztworu pomiarowego [mg].

Jako suchą substancję przyjmowano zawartość sumy węglowodanów w każdej frakcji, oznaczoną metodą z antronem [18], uwzględniając różną od $5,0 \text{ cm}^3$ objętość frakcji;

- obliczenie wagowo średniej masy cząsteczkowej. Poprzez użycie standardów przyporządkowano odpowiednią masę cząsteczkową każdej frakcji uzyskanej z chromatografu żelowego. W oparciu o tę zależność, jak również o zawartość sumy węglowodanów w każdej frakcji danej próbki skrobi, obliczano wagowo średnią masę cząsteczkową (\overline{M}_w).
3. Stopień retrogradacji 1% wodnych kleików skrobiowych w temp. 20, 8 i -20°C metodą Whistlera [31] z modyfikacją Gambuś [6], polegającą na pomiarze ekstynkcji kompleksu jodowo-skrobiowego utworzonego przez amylozę zawartą w supernatancie, po odwirowaniu kleików w dniu zerowym oraz po 24, 48 i 72 godzinach przechowywania. Ekstynkcję roztworu z jodem mierzono w spektrofotometrze Specord M42 firmy Carl Zeiss przy długości fali $\lambda = 635$ nm. Stopień retrogradacji wyrażony w [%] liczono z równania:

$$100\% - \frac{\text{Ekstynkcja z jodem w kolejnym dniu}}{\text{Ekstynkcja z jodem w dniu zerowym}^*} \times 100\%$$

* dzień zerowy – dzień sporządzenia kleiku.

Wyniki i dyskusja

Wyniki badań zaprezentowane w tej pracy dotyczą skrobi trzech podstawowych gatunków zbóż uprawianych w Polsce, czyli pszenicy, żyta i jęczmienia, zbieranych z pola w latach 1997–1998 w różnych fazach dojrzałości.

Analizując dane zawarte w tab. 2. stwierdzono, że zgodnie z przewidywaniami, zawartość suchej substancji oraz zawartość skrobi wzrastała sukcesywnie w miarę dojrzewania ziarniaków pszenicy, żyta i jęczmienia. Interesujący jest fakt, że nawet przy najwcześniejszym terminie zbioru ziarna, zawartość skrobi wahała się na poziomie około 55% suchej substancji ziarna. Wyniki te pozostają w zgodzie z danymi uzyskanymi przez Abou – Guendię i D’Appolonię [1] oraz D’Egidio i wsp. [4]. Wykazali oni bowiem, że zawartość skrobi już w fazie mlecznej, poprzedzającej fazę wczesnowoskową, może być znaczna i osiągać wartość nawet 66% suchej masy ziarna pszenicy.

Wydajność skrobi z ziarniaków niedojrzałych niejednokrotnie dorównywała uzyskowi skrobi z ziarna dojrzałego, a czasem nawet ją przewyższała, jak to stwierdzono w przypadku jęczmienia uprawianego w 1998 r. (tab. 2). Tak mały uzysk skrobi z jęczmienia dojrzałego spowodowany był niedostatecznym zmieleniem nieobłuszczonego ziarna jęczmienia w młynku laboratoryjnym.

Wielu autorów podkreśla, że zawartość amylozy w skrobi endospermy pszenicy wzrasta podczas rozwoju i dojrzewania ziarniaków [1, 3, 4, 19, 29]. Wyniki zestawione w tab. 2. potwierdzają te spostrzeżenia. Zawartość amylozy w skrobi wszystkich analizowanych zbóż systematycznie wzrastała w miarę dojrzewania ziarniaków. Wyją-

tek pod tym względem stanowiła skrobia jęczmienna pochodząca ze zbiorów w 1997 roku, w której zawartość amylozy charakteryzowała się stałą wartością, zarówno w fazie dojrzałości wczesno- i późno-woskowej jak i w fazie dojrzałości pełnej.

Prawdopodobnie efekt ten jest spowodowany innym nasłonecznieniem i temperaturą powietrza podczas wczesnych stadiów wypełniania ziarna i syntezy skrobi, co może mieć wpływ zarówno na zawartość amylozy jak i lizofosfolipidów w skrobi [21, 29].

Tabela 2

Charakterystyka źródeł pochodzenia skrobi oraz zawartość amylozy w analizowanych skrobiach.
Characteristic of source of starch origin and content of amylose in analyzed starches.

| Pochodzenie skrobi Source of starch | Faza dojrzałości Stage of kernel maturity | Zawartość suchej substancji ziarna zbożowego/Content of dry substance of kernels [%] | Zawartość skrobi w ziarnie/ Content of starch of kernels [% s.s.] | Wydajność skrobi/Yield of starch [% s.s.] | Zawartość amylozy Content of amylose [% s.s.] |
|--|--|---|--|---|--|
| 1997 r. | | | | | |
| Pszennica Wheat | wczesno-woskowa early -waxy | 59,38 | 51,20 | 40 | 13,56 |
| | późno-woskowa late-waxy | 62,99 | 59,85 | 48 | 16,98 |
| | pełna full | 89,54 | 68,06 | 65 | 22,05 |
| Żyto Rye | wczesno-woskowa early-waxy | 57,09 | 55,47 | 44 | 19,72 |
| | późno-woskowa late-waxy | 60,95 | 56,67 | 40 | 21,14 |
| | pełna full | 88,39 | 59,50 | 45 | 22,57 |
| Jęczmień Barley | wczesno-woskowa early-waxy | 59,43 | 55,71 | 40 | 20,46 |
| | późno-woskowa late-waxy | 65,00 | 57,22 | 35 | 20,36 |
| | pełna full | 89,02 | 59,17 | 33 | 20,61 |

c.d. tab. 2

| 1998 r. | | | | | |
|--------------------|-------------------------------|-------|-------|----|-------|
| Pszenica Wheat | wczesno-woskowa early-waxy | 58,11 | 58,59 | 40 | 15,50 |
| | późno-woskowa late-waxy | 62,33 | 62,06 | 45 | 22,32 |
| | pełna full | 86,56 | 65,38 | 50 | 23,01 |
| Żyto Rye | wczesno-woskowa early-waxy | 58,28 | 56,59 | 30 | 21,88 |
| | późno-woskowa late-waxy | 62,67 | 58,92 | 32 | 23,32 |
| | pełna full | 88,07 | 62,25 | 35 | 25,07 |
| Jęczmień Barley | wczesno-woskowa early-waxy | 56,04 | 55,08 | 43 | 15,65 |
| | późno-woskowa late-waxy | 63,89 | 57,82 | 40 | 20,08 |
| | pełna full | 86,99 | 58,21 | 6 | 23,44 |

Ponieważ szybkość retrogradacji determinowana jest głównie długością łańcuchów skrobiowych [24], oznaczono wagowo średnią masę cząsteczkową amylozy i amylopektyny wszystkich badanych skrobi. Analizując wagowo średnie masy cząsteczkowe amylopektyny skrobi pszennej z obu lat badań, przedstawione w tab. 3., zauważa się sukcesywny wzrost ich wartości podczas rozwoju ziarniaków. Jest to zgodne ze spostrzeżeniami innych autorów [2, 26].

Natomiast amyloza w skrobi pszennej, pochodzącej z późno-woskowej fazy dojrzałości ziarna zebranego w 1997 roku, odznaczała się nieco mniejszą wagowo średnią masą cząsteczkową, w porównaniu z amylozą z fazy wczesno-woskowej.

W przypadku skrobi pszennej pochodzącej z sezonu wegetacyjnego w 1998 roku zanotowano wzrost wartości \bar{M}_w amylozy w późno-woskowej fazie dojrzałości, a jej obniżenie w dojrzałości pełnej (tab.3).

Wagowo średnia masa cząsteczkowa amylopektyny skrobi żytniej pochodzącej z ziarna zebranego w 1997 roku sukcesywnie zmniejszała się w miarę przechodzenia od wczesno-woskowej do pełnej fazy dojrzałości (tab. 3). Prawdopodobnie spowodowane to było hydrolizą enzymatyczną tej skrobi, na skutek niekorzystnych warunków atmosferycznych podczas dojrzewania, o czym świadczy **bardzo niska** lepkość kleików

Tabela 3

Wartości wagowo średniej (M_w) masy cząsteczkowej oraz stosunek amylozy do amylopektyny w skrobiach wyodrębnionych ze zbóż w różnych fazach dojrzałości.

Values of weight-average molecular weight and ratio of amylose to amylopectin in starches from kernels at the different stages of maturity.

| Pochodzenie skrobi Source of starch | Faza dojrzałości Stage of kernel maturity | Amyloza Amylose [%] | Amylopektyna Amylopectin [%] | AM- \bar{M}_w weight-average molecular weight of amylose [g/mol] | AP- \bar{M}_w weight-average molecular weight of amylopectin [g/mol] |
|--|--|------------------------|---------------------------------|---|--|
| 1997 r. | | | | | |
| Pszennica Wheat | wczesno-woskowa early-waxy | 24 | 76 | $1,3 \cdot 10^6$ | $4,0 \cdot 10^6$ |
| | późno-woskowa late-waxy | 26 | 74 | $1,1 \cdot 10^6$ | $4,8 \cdot 10^6$ |
| | pełna full | 27 | 73 | $1,7 \cdot 10^6$ | $6,6 \cdot 10^6$ |
| Żyto Rye | wczesno-woskowa early-waxy | 17 | 83 | $4,6 \cdot 10^5$ | $6,6 \cdot 10^6$ |
| | późno-woskowa late-waxy | 16 | 84 | $2,8 \cdot 10^5$ | $6,3 \cdot 10^6$ |
| | pełna full | 16 | 84 | $4,3 \cdot 10^5$ | $5,1 \cdot 10^6$ |
| Jęczmień Barley | wczesno-woskowa early-waxy | 17 | 83 | $4,4 \cdot 10^6$ | $1,2 \cdot 10^7$ |
| | późno-woskowa late-waxy | 19 | 81 | $3,7 \cdot 10^6$ | $9,6 \cdot 10^6$ |
| | pełna full | 20 | 80 | $3,9 \cdot 10^6$ | $1,2 \cdot 10^7$ |
| 1998 r. | | | | | |
| Pszennica Wheat | wczesno-woskowa early-waxy | 8 | 92 | $2,6 \cdot 10^5$ | $5,4 \cdot 10^6$ |
| | późno-woskowa late-waxy | 15 | 85 | $2,0 \cdot 10^6$ | $6,2 \cdot 10^6$ |
| | pełna full | 20 | 80 | $1,4 \cdot 10^6$ | $6,7 \cdot 10^6$ |

c.d. tab. 3

| | | | | | |
|--------------------|-------------------------------|----|----|------------------|------------------|
| Żyto Rye | wczesno-woskowa early-waxy | 16 | 84 | $4,1 \cdot 10^5$ | $8,2 \cdot 10^6$ |
| | późno-woskowa late-waxy | 18 | 82 | $1,0 \cdot 10^6$ | $8,2 \cdot 10^6$ |
| | pełna full | 18 | 82 | $7,6 \cdot 10^5$ | $8,3 \cdot 10^6$ |
| Jęczmień Barley | wczesno-woskowa early-waxy | 18 | 82 | $2,4 \cdot 10^6$ | $1,0 \cdot 10^7$ |
| | późno-woskowa late-waxy | 18 | 82 | $2,0 \cdot 10^6$ | $9,7 \cdot 10^6$ |
| | pełna full | 20 | 80 | $2,2 \cdot 10^6$ | $1,0 \cdot 10^7$ |

tej skrobi [9]. Masa cząsteczkowa \bar{M}_w amylozy, po zmniejszeniu się jej w fazie dojrzałości późno-woskowej ziarna zebranego w 1997 roku, w porównaniu z wczesno-woskową, wykazała niewielki wzrost w fazie dojrzałości pełnej.

W sezonie wegetacyjnym 1998 roku wagowo średnia masa cząsteczkowa amylopektyny skrobi żytniej utrzymywała się na stałym poziomie, niezależnie od fazy dojrzałości, podczas gdy największą wartość \bar{M}_w amylozy oznaczono w fazie dojrzałości późno-woskowej.

Wagowo średnia masa cząsteczkowa amylopektyny skrobi jęczmiennej, w obu sezonach wegetacyjnych, począwszy od fazy wczesno-woskowej ustaliła się na stałym poziomie. Potwierdza to wcześniejsze doniesienia [2], że masa cząsteczkowa amylopektyny jęczmiennej osiąga swoją stałą wartość już 27 dni po kwitnieniu (tab. 3).

Natomiast największą \bar{M}_w amylozy, w obu sezonach wegetacyjnych, oznaczono we wczesno-woskowej fazie dojrzałości. W fazie późno-woskowej nastąpiło widoczne obniżenie się wagowo średniej masy cząsteczkowej tego polimeru, a w fazie dojrzałości pełnej niewielkie zwiększenie \bar{M}_w , ale niedorównujące masie cząsteczkowej z najwcześniejszego terminu zbioru (tab. 3).

Wartości stopnia retrogradacji 1% wodnych kleików badanych skrobi, oznaczonego na podstawie pomiarów ekstynkcji kompleksu jodowo-skrobiowego [6, 31] przedstawiono w tab. 4.

Podczas przechowywania 1% wodnych kleików skrobiowych, we wszystkich zachodziła rekrytalizacja skrobi, o czym świadczą zwiększające się wskaźniki stopnia retrogradacji. Stopień rekrytalizacji 1% wodnych kleików sporządzonych ze skrobi wyodrębnionych ze zbóż niedojrzałych był zdecydowanie mniejszy w porównaniu z kleikami ze zbóż dojrzałych (tab. 4). Tendencję tę obserwowano podczas

przechowywania kleików zarówno w temp. powyżej 0°C (8 i 20°C) jak i w kleikach poddanych zamrożeniu (-20°C).

Najmniejszą wartością tego wskaźnika charakteryzowały się skrobie pochodzące z ziarniaków z najwcześniejszego terminu zbioru, czyli z wczesno-woskowej fazy dojrzałości, niezależnie od temperatury przechowywania (tab. 4).

Wydaje się, że na niższą tendencję do rekrytalizacji kleików skrobi „nie-dojrzałych” wpłynęła zarówno mała zawartość amylozy w ziarenkach skrobiowych (tab. 2), jak i jej silniejsza asocjacja z amylopektyną, spowodowana mniejszą zawartością substancji tłuszczowych w ziarenkach skrobiowych [33], a także zmiany w długości łańcuchów obu polimerów skrobiowych (tab. 3). Zwiększenie się długości

Tabela 4

Stopień retrogradacji* [%] 1% wodnych kleików skrobi pszennej, żytniej i jęczmiennej, wyizolowanych z niedojrzałych ziarniaków.

Degree of retrogradation [%] 1% pastes of wheat, rye, barley starches derived from immature kernels.

| Pochodzenie skrobi Source of starch | Faza dojrzałości Stage of kernel maturity | 20°C | | | 8°C | | | -20°C |
|--|--|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|
| | | Po 24 h | Po 48 h | Po 72 h | Po 24 h | Po 48 h | Po 72 h | Po 24 h |
| 1997 r. | | | | | | | | |
| Pszenica Wheat | wczesno-woskowa early-waxy | 2,48 | 3,52 | 4,47 | 2,9 | 4,42 | 6,68 | 52,55 |
| | późno-woskowa late-waxy | 6,53 | 8,53 | 8,53 | 8,91 | 9,25 | 9,25 | 71,31 |
| | pełna full | 17,25 | 23,88 | 25,23 | 27,85 | 48,43 | 59,68 | 85,3 |
| Żyto Rye | wczesno-woskowa early-waxy | 3,66 | 5,77 | 7,59 | 17,83 | 18,93 | 18,93 | 56,44 |
| | późno-woskowa late-waxy | 14,68 | 16,52 | 16,52 | 32,58 | 45,10 | 45,10 | 61,9 |
| | pełna full | 14,81 | 29,86 | 33,47 | 42,27 | 56,03 | 56,43 | 95,32 |
| Jęczmień Barley | wczesno-woskowa early-waxy | 0,9 | 1,4 | 1,53 | 2,21 | 10,79 | 10,79 | 81,41 |
| | późno-woskowa late-waxy | 9,55 | 10,32 | 17,71 | 10,91 | 18,29 | 26,6 | 92,43 |
| | pełna full | 10,53 | 11,46 | 25,6 | 20,43 | 30,17 | 42,7 | 94,83 |

c.d. tab. 4

| 1998 r. | | | | | | | | |
|--------------------|-------------------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| Pszenica Wheat | wczesno-woskowa early-waxy | 0,22 | 0,67 | 5,48 | 1,12 | 2,35 | 7,18 | 71,00 |
| | późno-woskowa late-waxy | 2,21 | 3,00 | 5,02 | 11,82 | 12,45 | 15,47 | 81,00 |
| | pełna full | 8,11 | 11,22 | 30,00 | 26,50 | 36,70 | 44,70 | 83,23 |
| Żyto Rye | wczesno-woskowa early-waxy | 0,15 | 0,57 | 11,57 | 38,73 | 41,17 | 41,36 | 84,24 |
| | późno-woskowa late-waxy | 1,57 | 6,06 | 14,16 | 30,18 | 39,99 | 41,23 | 84,33 |
| | pełna full | 22,93 | 28,32 | 35,47 | 49,69 | 56,57 | 57,86 | 96,18 |
| Jęczmień Barley | wczesno-woskowa early-waxy | 0,17 | 1,01 | 1,61 | 0,71 | 2,40 | 9,69 | 70,44 |
| | późno-woskowa late-waxy | 1,68 | 3,53 | 9,56 | 3,92 | 4,06 | 9,76 | 56,68 |
| | pełna full | 12,28 | 18,33 | 28,15 | 16,91 | 20,81 | 30,76 | 85,29 |

łańcucha amylozy oraz wzrost masy cząsteczkowej amylopektyny podczas dojrzewania ziarniaków (tab. 3) stwarza możliwość współkryształizacji obu tych polimerów skrobiowych [28], a tym samym sukcesywny wzrost stopnia retrogradacji.

W temp. 8°C wszystkie kleiki wykazały większy stopień retrogradacji w porównaniu z temp. pokojową (20°C), co jest związane z mniejszą energią kinetyczną cząsteczek skrobi [24]. Zaobserwować to można szczególnie w kleikach skrobi żytniej, które wykazały największy stopień retrogradacji w temp 8°C, zarówno w przypadku skrobi z ziarniaków niedojrzałych jak i dojrzałych (tab. 4).

Najmniejszy stopień retrogradacji w temp. powyżej 0°C wykazały kleiki sporządzone ze skrobi jęczmiennej pochodzącej z najwcześniejszego terminu zbioru, czyli wczesno-woskowej fazy dojrzałości (tab. 4). Przyczyny tego faktu nie można w tym przypadku upatrywać jedynie w mniejszej zawartości amylozy, ponieważ począwszy już od wczesno-woskowej fazy dojrzałości, w skrobi jęczmiennej z 1997 r. oznaczono dużą zawartość amylozy (około 20%) utrzymującą się na stałym poziomie i taką samą jak w ziarniakach dojrzałych (tab. 2). Prawdopodobnie niewielki stopień retrogradacji spowodowany był w tym przypadku zbyt długimi łańcuchami liniowej frakcji, co oznaczono badając rozkład mas cząsteczkowych przy użyciu GPC (tab. 3). Po upływie

1 tygodnia wegetacji, czyli po wyodrębnieniu skrobi z ziarniaków jęczmienia zebranych w fazie dojrzałości późno-woskowej, oznaczono wyraźnie mniejszą długość łańcuchów amylozy (przy stałej wielkości cząsteczek amylopektyny – tab. 3.), co znalazło odbicie w znacznie większym stopniu retrogradacji 1% kleików sporządzonych z tej skrobi (tab. 4).

Spośród skrobi z ziarna dojrzałego rozpatrywanych w dwu kolejnych latach badań, największą skłonność do retrogradacji wykazały kleiki skrobi żytniej, które w temp. 8°C już w pierwszej dobie przechowywania zretrogradowały w znacznym stopniu. Natomiast najmniejszym stopniem retrogradacji w tej grupie skrobi charakteryzowała się skrobia jęczmienna (tab. 4). Nie potwierdza to rezultatów badań prezentowanych przez Gudmundssona i Eliassona [8], którzy stwierdzili, że skrobia jęczmienna retrograduje podobnie do żytniej.

Generalnie wszystkie badane kleiki skrobi żytniej odznaczały się większym stopniem retrogradacji, natomiast skrobie pszenne i jęczmienne okazały się zbliżone pod względem skłonności do tego procesu.

We wcześniejszych badaniach wykazano, że znaczny wzrost lepkości kleików po ochłodzeniu świadczy zawsze o większej skłonności takich skrobi do retrogradacji [15, 17], jednakże przeczą temu stwierdzeniu wyniki badań zaprezentowane w tej pracy. Przyczyny dużej lepkości kleików skrobiowych ze zbóż niedojrzałych, zebranych w fazie dojrzałości wczesno-woskowej [9] nie można upatrywać w ich większej skłonności do retrogradacji, bowiem jak wykazano powyżej, skrobie pochodzące z tej właśnie fazy charakteryzowały się najmniejszym stopniem retrogradacji. Wydaje się to bardzo ważnym wnioskiem z przeprowadzonych badań, w kontekście niekorzystnej roli retrogradacji w oddziaływaniu na teksturę i smak skrobiowych produktów.

Połączenie dwóch bardzo cennych funkcjonalnych cech skrobi, a mianowicie dużej lepkości kleików skrobiowych, zarówno gorących jak i po ochłodzeniu [9] oraz małej ich skłonności do retrogradacji (tab. 4), może znaleźć w przyszłości wiele zastosowań praktycznych. Skrobię o takich właściwościach można stosować jako różnego rodzaju zagęstniki oraz nadzienia cukiernicze, a nawet jako substancje ograniczające proces starzenia się pieczywa [6].

Wydaje się to prawdopodobne tym bardziej, że zboża te można traktować jako realne źródło skrobi zbożowych o wyżej wymienionych, unikatowych właściwościach, bowiem zawartość skrobi we wczesno-woskowej fazie dojrzałości jest na tyle duża, że uzasadnione jest jej wyodrębnienie z punktu widzenia ekonomicznego, a wydajność skrobi jest porównywalna do uzysku skrobi ze zbóż dojrzałych.

Do pozyskiwania skrobi do wyżej wymienionych celów polecać można szczególnie ziarno pszenicy i jęczmienia zebrane we wczesno-woskowej fazie dojrzałości.

Wnioski

1. Stwierdzono znacznie niższą skłonność do retrogradacji skrobi ze zbóż niedojrzałych, w porównaniu ze skrobią zbóż dojrzałych, zarówno w temp. 8 i 20°C jak i -20°C.
2. W przypadku wszystkich badanych zbóż, najmniejszy stopień retrogradacji oznaczono w skrobiach wyodrębnionych z ziaren zebranych we wczesno-woskowej fazie dojrzałości.
3. Największą skłonność do retrogradacji wykazała skrobia żytnia, niezależnie od fazy dojrzałości ziarna.
4. Na mniejszy stopień retrogradacji skrobi ze zbóż niedojrzałych wpłynęła zarówno mniejsza zawartość amylozy w tych skrobiach we wczesnych fazach dojrzałości, jak również masa cząsteczkowa obu polimerów skrobiowych: amylozy i amylopektyny.
5. Ziarno pszenicy i jęczmienia zebrane we wczesno-woskowej fazie dojrzałości można uznać za naturalne źródło skrobi zbożowej o niewielkiej skłonności do retrogradacji.

Literatura

- [1] Abou-Guendia M., D'Appolonia B.L.: Changes in carbohydrate components during wheat maturation. II. Changes in sugars, pentosans and starch. *Cereal Chem.*, 1973, **50**, 723-734.
- [2] Banks W., Muir D.D.: Structure and chemistry of starch granule. *Carbohydrate: structure and function* (Preiss J., ed.) vol. 3, 321-366, In: *The biochemistry of plants* (Strumf P. K. and Conn E. E., eds). Academic Press, N. Y. 1980.
- [3] D'Egidio M.G., Cecchini C., Chienese L., Pugliano G., Laezze P., Cappucio U., Pagani M.A.: Physicochemical characterization of protein and starch in durum wheat immature grains, In: *Proceedings Conference "The Role of Cereals in future Nutrition"*. Vienna 1995.
- [4] D'Egidio M.G., Cecchini C., Pagani M.A., Lusicano M.: Caratterizzazione chimico-fisica di cariossidi di grano duro immature. *Tecnica Molitoria*, 1996, 641-655.
- [5] Eberstein K., Höpcke R., Konieczny-Janda G.: DSC – Untersuchungen und Stärken. *Starch/Stärke*, 1980, **32**, 397-405.
- [6] Gambuś H.: Wpływ fizyczno-chemicznych właściwości skrobi na jakość i starzenie się pieczywa (badania modelowe). *Zesz. Nauk. AR, Kraków*, 1997, *Rozprawy*, **226**.
- [7] Gambuś H., Fortuna T., Nowotna A.: Zależność fizyko-chemicznych właściwości skrobi pszenżytniej od sposobu jej wyodrębniania. *Zesz. Nauk. AR w Krakowie, Technologia Żywności*, 1994, **6**, 97-105.
- [8] Gudmundsson M., Eliasson A.-C.: Some physical properties of barley starches from cultivars differing in amylose content. *J. Cereal Sci.*, 1992, **16**, 95-105.
- [9] Gumul D.: Charakterystyka pęcznienia i kleikowania skrobi pochodzącej z niedojrzałych zbóż. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*. 2002, **3 (32)**, 88-100.
- [10] ICC – Standards. *Standards Methods of the International Association for Cereal Science and Technology (ICC)*. Printed by ICC-Vienna. 1995.

- [11] Inagaki T., Seib P.A.: Firming of bread crumb with cross-linked waxy barley starch substituted for wheat starch. *Cereal Chem.*, 1992, **69**, 321-325.
- [12] Krog N., Olesen S.K., Toernaes H., Joensson T.: Retrogradation of the starch fraction in wheat bread. *Cereal Foods World*, 1989, **34**, 282-285.
- [13] Leloup V.M., Colonna P., Ring S. G., Roberts K., Wells B.: Microstructure of amylose gels. *Carbohydr. Polym.*, 1992, **18**, 189-197.
- [14] Liu H., Arntfield S.D., Holley R.A., Aime D.B.: Amylose – lipid complex formation in acetylated pea starch – lipid systems. *Cereal Chem.*, 1997, **74**, 159-162.
- [15] Mac Arthur L.A., D'Appolonia B.L.: Gamma radiation of wheat. Effects of low-dosage radiations on starch properties. *Cereal Chem.*, 1984, **61**, 321-326
- [16] Matsukura V., Matsunaga A., Kainuma K.: Structural studies on retrograded normal and waxy corn starches. *J. Jpn. Soc. Starch Sci.*, 1983, **30**, 106-111.
- [17] Mazurs E.G., Schoch T. J., Kite F.E.: Graphical analysis of Brabender viscosity curves of various starches. *Cereal Chem.*, 1957, **34**, 141-152.
- [18] Morris D.L.: Quantitative determination of carbohydrates with dreywoods anthrone reagent. *Science*, 1948, **107**, 254-255.
- [19] Morrison W. R., Gadan H.: The amylose and lipid contents of starch granules in developing wheat endosperm. *J. Cereal Sci.*, 1987, **5**, 263-375.
- [20] Morrison W.R., Laignelet B.: An improved colorimetric procedure for determining apparent and total amylose in cereal and other starches. *J. Cereal Sci.*, 1983, **1**, 9-20.
- [21] Morrison W.R., Scott D.S., Karkalas J.: Variation in the composition and physical properties of barley starches. *Starch/Stärke*, 1986, **38**, 374-379.
- [22] Nowotna A.: Wpływ sposobu przygotowania skrobi pszenżytniej na jej właściwości oraz na charakterystykę frakcji rozpuszczalnej kleików skrobiowych. *Zesz. Nauk. AR, Kraków*, 1996, *Rozprawy*, **214**.
- [23] Nowotny F.: *Skrobia*, WNT, Warszawa 1969.
- [24] Pfnannemüller B.: Struktura i właściwości skrobi, *Materiały IV Letniej Szkoły Skrobiowej – Problemy modyfikacji skrobi*. Zawoja 1992, s. 63-78.
- [25] Praznik W., Beck R.H.F., Eigner W.: New high-performance gel permeation chromatographic system the determination of low-molecular-weight amyloses. *J. Chrom.*, **387**, 1987, 467-472.
- [26] Praznik W., Schillinger H., Beck R. H. F.: Changes in the molecular composition of maize starch during kernel development. *Starch/Stärke*, 1987, **39**, 183-187.
- [27] Praznik W., Smidt S., Ebermann R.: Gelchromatographische Untersuchungen an hydrolytisch abgebauten Amylosen. *Starch/Stärke*, 1983, **35**, 58-61.
- [28] Russel P.L.: A kinetic study of bread staling by differential scanning calorimetry and compressibility measurements. The effect of added monoglyceride. *J. Cereal Sci.*, 1983, **1**, 297-303.
- [29] Tester R.F., Morrison W.R.: Swelling and gelatinization of cereal starches. VI. Starches from waxy Hector and Hector Barleys at four stages of grain development. *J. Cereal Sci.*, 1993, **17**, 11-18.
- [30] Ward K.E.J., Hosney R.C., Seib P.A.: Retrogradation of amylopectin from maize and wheat starches. *Cereal Chem.*, 1994, **71**, 150-155.
- [31] Whistler R.L.: *Methods in carbohydrate chemistry*. Academic Press, New York 1964, pp. 150-152.
- [32] Zhang W., Jackson D.S.: Retrogradation behavior of wheat starch gels with differing molecular profiles. *J. Food Sci.*, 1992, **57**, 1428-1432.
- [33] Zobel H.F.: Molecules to granules: comprehensive starch review. *Starch/Stärke*, 1988, **40**, 44-50.

RETROGRADATION OF STARCHES DERIVED FROM IMMATURE KERNELS**S u m m a r y**

Retrogradation is unfavourable process occurring during food storage, causing limitations in consumption of products based on starch. For that reason, the aim of undertaken researches was to indicate the possibility of obtaining of cereal starch with much lower tendency to retrogradation, without necessity of previous modification of it.

Starches were extracted by laboratory method from: wheat, rye, barley harvested at different stages of maturity. Dry matter and starch content in kernels as well as amylose content in starches were analysed. Amylose and amylopectin ratio was established and weight-average molecular weight of the both starch polymers by means of gel chromatography (GPC) and degree of retrogradation of 1% of water – starch pastes were determined. It was stated, that starches from immature kernels had lower tendency towards retrogradation in comparison to mature ones, at 8° C, 20° C and -20° C. For the all investigated kernels the lowest retrogradation was revealed at starches separated from kernels harvested at early-waxy stage of maturity.

Kernels of wheat and barley harvested at early-waxy stage of maturity may be recognized as natural source of cereal kernels starches with low tendency towards retrogradation.

Key words: starch, retrogradation, immature cereal kernels. ☒