

ROMUALDA DOLIŃSKA, JERZY R. WARCHALEWSKI

WPLYW PROMIENIOWANIA GAMMA I OGRZEWANIA MIKROFALOWEGO ZASTOSOWANEGO PRZED WYSIEWEM NA STRAWNOŚĆ *IN VITRO* BIAŁEK ALBUMINOWYCH ZIARNA PSZENICY I I II POKOLENIA

Streszczenie

W pracy badano wpływ przedsięwziętego zastosowania promieniowania gamma i ogrzewania mikrofalowego na zmiany w strawności rzeczywistej i pozornej albumin wyizolowanych z ziarna pszenicy I i II pokolenia. Napromienienie przed wysianiem w zakresie dawek 0,05 kGy i 0,1 kGy spowodowało istotny statystycznie wzrost zawartości białka całkowitego tylko w I pokoleniu. Także tylko w I pokoleniu odnotowano mniejszą strawność rzeczywistą i pozorną białek albuminowych wyekstrahowanych z ziarna napromienionego przed wysianiem, w porównaniu z próbą kontrolną. Potraktowanie ziarna mikrofalami przed wysiewem przez 15 s (28°C) do 180 s (98°C), spowodowało istotne statystycznie zmiany w ilości białka całkowitego tylko w I pokoleniu. Natomiast białka albuminowe wyekstrahowane z ziarna zarówno I jak i II pokolenia, wyhodowanego z nasion pszenicy potraktowanej mikrofalami przed wysiewem, charakteryzowały się niższą strawnością w stosunku do prób kontrolnych.

Słowa kluczowe: pszenica, promieniowanie gamma, ogrzewanie mikrofalowe, strawność białek.

Wprowadzenie

Podstawowym surowcem w produkcji artykułów konsumpcyjnych są zboża. Pokrywają one wraz z nasionami roślin strączkowych około 80% zapotrzebowania kalorycznego ludzi i zwierząt [20]. W światowej produkcji dominują trzy zboża: pszenica, ryż i kukurydza. Szybkie osiąganie przez wiele państw coraz wyższego poziomu rozwoju cywilizacyjnego i gospodarczego wpływa również na tempo wzrostu produkcji zbóż. Zwiększanie produkcji zbóż następuje głównie w wyniku podnoszenia wydajności z jednostki powierzchni uprawy. Wydajność roślin niekiedy tak znacznie, że

umożliwia przyrost produkcji mimo obniżenia areалу zasiewów [11, 15]. Niezmiernie istotna jest też jakość ziarna oraz jej przydatność do produkcji określonego wyrobu.

Przechowywanie zbóż stało się wyższą koniecznością znaną już od czasów antycznych. Niska wilgotność ziarna i naturalna ochrona wynikająca z występowania kilku zewnętrznych warstw okrywy owocowo-nasiennej umożliwia długookresowe przechowywanie ziarna [3]. Około połowy rocznej produkcji zbóż wymaga magazynowania. Zanieczyszczenie ziarna, jego półproduktów i produktów finalnych owadami, powoduje nie tylko poważne pogorszenie jakości technologicznej surowca i wyrobów gotowych, ale również straty ekonomiczne [20]. Dodatkowo, podczas przechowywania ziarno może zostać skażone przez pleśnie, drożdże i inne mikroorganizmy, które mogą zmienić niekorzystnie zapach ziarna, jak i jego skład chemiczny [3].

W zwalczaniu szkodników magazynowych integracja różnych metod może okazać się bardzo skuteczna. Obejmuje ona metodę biologiczną, czyli uprawę odmian zbóż o wysokiej jakości technologicznej i podwyższonej odporności na szkodniki, w połączeniu z metodą fizyczną, polegającą m. in. na stosowaniu promieniowania gamma i mikrofal oraz z metodą chemiczną, w której stosowanie środków chemicznych ograniczono do niezbędnego minimum [20].

W metodzie biologicznej zastosowanie mogą znaleźć odmiany z wysoką aktywnością hamującą enzymy trawienne owadów, która zlokalizowana jest głównie we frakcji albuminowej ziarna zbóż [21]. Frakcja albuminowa pełni także ważną rolę w jakości wypiekowej mąki [3]. Wśród albumin występują również białka o aktywności enzymatycznej, które znacząco wpływają na właściwości technologiczne i wypiekowe mąki. Istotna jest także wartość odżywcza frakcji albuminowej, wynikająca z wyższej zawartości lizyny w porównaniu z glutenem.

Promieniowanie jonizujące gamma i ogrzewanie mikrofalowe, w zależności od zastosowanej dawki, są skutecznymi, fizycznymi metodami zwalczającymi owady, roztocza czy też gryzonie, zabijając je natychmiast albo powodując ich sterylizację [2, 12, 13, 14, 20]. Ponadto ogrzewanie mikrofalowe można zastosować do suszenia ziarna. Jakkolwiek metody te wydają się być interesujące i konkurencyjne w stosunku do chemicznej fumigacji, nie wiadomo jak wpłyną na jakość ziarna przechowywanego, a później wysianego. Dotychczasowe badania skupiały się głównie na bezpośrednim wpływie tych czynników na właściwości ziarna. Nie wiadomo, czy zmiany, jakie zaszły w napromienionym ziarnie pszenicy, są trwałe? Czy zostaną utrzymane w następnych pokoleniach, tzn. w plonach otrzymanych z ziarna napromienionego przed wysianiem? Wcześniejsze badania, dotyczące ziarna bezpośrednio poddanego tym czynnikom fizycznym, dowiodły, że promieniowanie gamma zastosowane w zakresie dawek dopuszczonych przez FAO, nie wpłynęło na strawność białek albuminowych [19], natomiast traktowanie mikrofalami przez 180 s zwiększyło strawność enzymatyczną tych białek [5].

Znane jest stosowanie promieniowania jonizującego typu gamma jako czynnika powodującego genetyczną różnorodność w wybranym materiale roślinnym. Dawki promieni gamma, które pozwalają na rozwój nowych odmian, wynoszą od 50 do 350 Gy. Jedynym niezbędnym czynnikiem przed radiacją jest doprowadzenie wilgotności ziarna do 12–14%. Zawartość wody w ziarnie jest głównym czynnikiem wpływającym na radiowrażliwość ziarna siewnego [8].

W dostępnej literaturze, poza własnymi publikacjami [4, 10], nie znaleziono informacji dotyczących zmian we właściwościach ziarna pszenicy wywołanych przedsięwzięciem zastosowaniem ogrzewania mikrofalowego.

Praca ta jest częścią kompleksowych badań obejmujących ocenę pośredniego wpływu promieniowania gamma i ogrzewania mikrofalowego, któremu poddano ziarno pszenicy przed wysiewem, na ewentualne, być może trwałe, genetyczne modyfikacje ziarna pszenicy zebranego w I i II pokoleniu [4, 10].

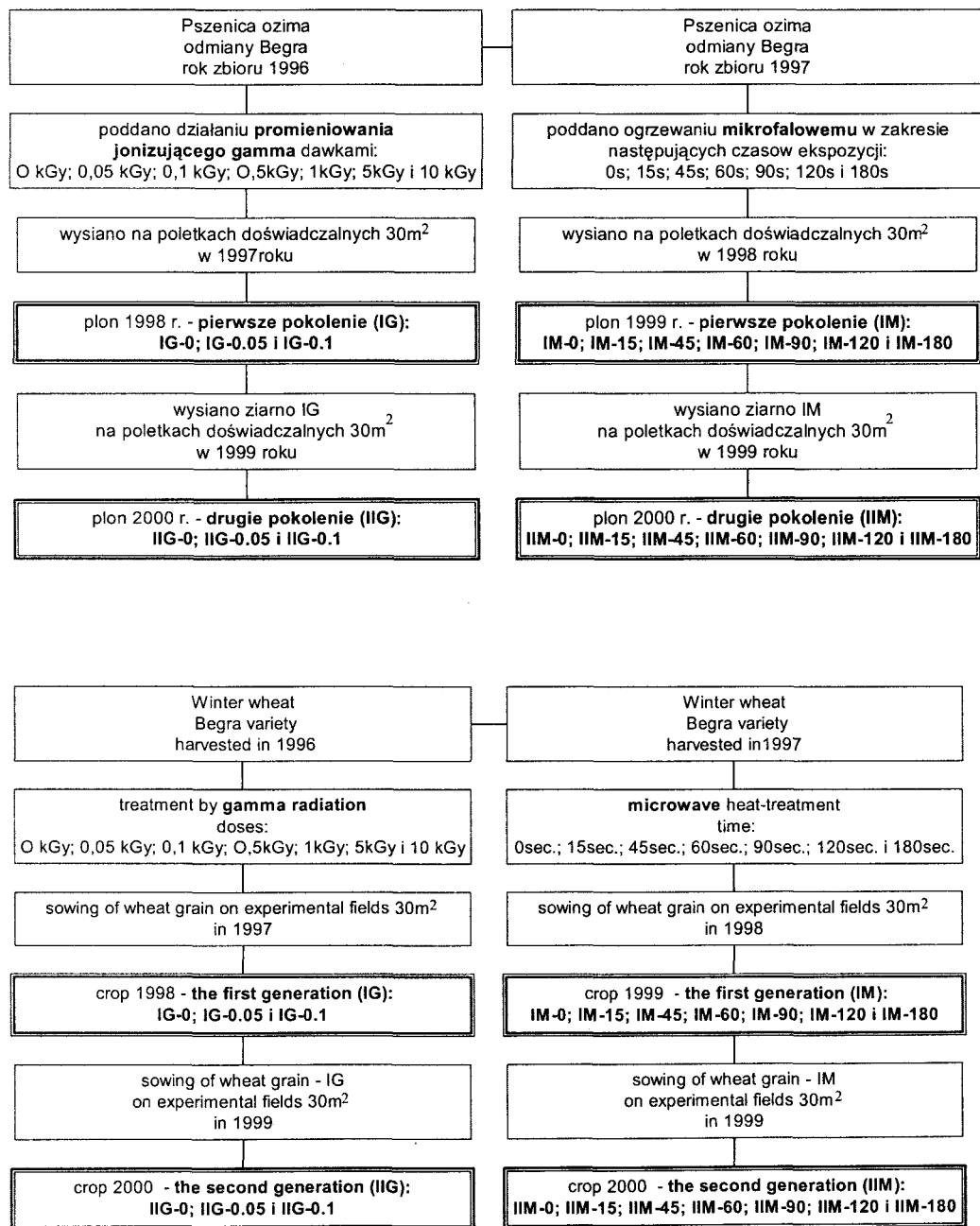
Celem tej części badań była ocena pośredniego wpływu promieniowania gamma i ogrzewania mikrofalowego na strawność *in vitro* białek albuminowych, wyizolowanych z ziarna pszenicy I i II pokolenia.

Material i metody badań

Materiał badawczy stanowiło ziarno pierwszego (I) i drugiego (II) pokolenia pszenicy ozimej odmiany Begra, wysianej po uprzednim poddaniu ziarna siewnego promieniowaniu jonizującemu gamma lub potraktowanemu mikrofalami. Na rys. 1. pokazano schemat otrzymania ziarna I i II pokolenia. Natomiast w tab. 1. i 4. zamieszczono parametry zastosowanych czynników fizycznych, kody prób oraz wielkość plonu.

Celem ograniczenia wpływu dodatkowych czynników na właściwości analizowanego ziarna, pszenicę I i II pokolenia uprawiano dokładnie w tych samych warunkach agrotechnicznych. W tym celu założono polećka doświadczalne, każde o wielkości 30 m², na które wysiewano każdorazowo 750 g ziarna siewnego. Hodowla ziarna była prowadzona pod kontrolą hodowców z Zakładu Hodowli Roślin Danko w Choryni. Jednym z czynników zmiennych, który mógł mieć wpływ na badane właściwości ziarna były opady, nieporównywalne w stosunku do ziarna zebranego w pierwszym pokoleniu z ziarniaków poddanych działaniu promieni gamma (561 cm³ – rok zbioru 1998) i mikrofal (617cm³ – rok zbioru 1999). W przypadku ziarna zebranego w II pokoleniu warunki klimatyczne były dokładnie takie same, bowiem ziarno I pokolenia ze zbioru 1998 potraktowane przedsięwzięciem promieniami gamma oraz ziarno I pokolenia ogrzane przedsięwzięciem mikrofalami, pochodzące ze zbioru w 1999, roku wysiano w jednakowym czasie, a plon uzyskano w 2000 roku.

Wilgotność ziarna oznaczano w temperaturze 135°C, wg metody standardowej AACC Method 44-19/1982 [1].



Rys. 1. Schemat otrzymania ziarna pszenicy pierwszego i drugiego pokolenia z ziarna poddanego działaniu promieni gamma i mikrofal przed wysianiem.

Fig. 1. The scheme for obtaining the first and second generation of wheat grain from kernels exposed to gamma and microwave rays before sowing.

Tabela 1

Parametry napromienienia promieniami gamma, kody prób oraz wielkość plonu.
Condition of gamma radiation, sample's code and grain yield.

| Promieniowanie gamma Gamma radiation | | | | |
|---|-------|----------|---------|---|
| Dawka Dose [kGy] | 0 | 0,05 | 0,1 | 0,5 1 5 10 |
| Kody prób I pokolenia Sample code of I generation | | | | |
| I pokolenie I generation | IG-0 | IG-0.05 | IG-0.1 | nie uzyskano plonu crop was not obtained |
| Uzyskany plon ziarna [kg/30m ²] Grain yield [kg/30m ²] | | | | |
| Przed oczyszczeniem ziarna Before grain cleaning | 23 | 22 | 18 | - |
| Po oczyszczeniu ziarna After grain cleaning | 21 | 19 | 16 | - |
| Kody prób II pokolenia Sample code of II generation | | | | |
| II pokolenie II generation | IIG-0 | IIG-0.05 | IIG-0.1 | - |
| Uzyskany plon ziarna [kg/30m ²] Grain yield [kg/30m ²] | | | | |
| Przed oczyszczeniem ziarna Before grain cleaning | 17 | 20 | 20 | - |
| Po oczyszczeniu ziarna After grain cleaning | 16 | 17 | 18 | - |

Zawartość białka całkowitego oznaczano w ziarnie metodą Kjeldahla – ICC Standard No 105/2:1994, stosując przeliczenie azotu na białko $N_{og} \times 5,7$. Mineralizację, destylację oraz miareczkowanie przeprowadzono w aparacie Foss Tecator. Wyniki podano w procentach w przeliczeniu na suchą masę ziarna.

W celu otrzymania z badanych pszenic ekstraktów białek albuminowych, zastosowano ekstrakcję wodą, ograniczając ją jedynie do pierwszego etapu, tak jak opisano to wcześniej [22]. Próby otrzymane po ekstrakcji zamrażano, a następnie liofilizowano¹, zgodnie z metodyką podaną przez Warchalewskiego i wsp. [19].

Zawartość białka w liofilizatach albumin oznaczano metodą Lowry'ego i wsp. [7], przy długości fali $\lambda = 750$ nm. Wyniki podano w mg białka na 100 g suchej masy ziarna.

¹ Liofilizację przeprowadzono w KTŻCz Akademii Rolniczej w Poznaniu, przy użyciu liofilizatora firmy Heto Lab Equipment zakupionego w ramach programu Nutris'95, sponsorowanego przez Fundację na Rzecz Nauki Polskiej

Tabela 2

Zawartość białka i wilgotność ziarna I i II pokolenia zebranego po napromienieniu promieniami gamma przed wysianiem.

Moisture and protein content of the first and second generation of wheat grain which was gamma irradiated before sowing.

| Próba Sample | Wilgotność ziarna Grain moisture [%] | Białko całkowite [% s.m.] Total protein [% d.w.] | Zawartość białka rozpuszczalnego w liofilizacie [mg/100 g s.m. ziarna] Amount of soluble protein content in the lyophilizat [mg/100 g d.w. grain] |
|-----------------|--|---|--|
| IG-0 | 12,51 a*c** | 14,54 a c | 2179 a d |
| IG-0,05 | 12,42 a c | 14,90 a d | 2057 a c |
| IG-0,1 | 12,77 a d | 14,86 a d | 2276 a f |
| IIG-0 | 12,52 a c | 14,89 a d | 2230 b e |
| IIG-0,05 | 12,69 a d | 14,74 a d | 2327 b g |
| IIG-0,1 | 12,50 a c | 14,76 a d | 2158 b d |

* a,b – statystycznie istotne różnice między średnimi wartościami w kolumnach w odniesieniu do roku zbiorów

** c,d,e,f – statystycznie istotne różnice między średnimi wartościami w kolumnach w odniesieniu do zastosowanych dawek i roku zbioru

* a,b – statistically significant differences between the average values in column in relation to the year of harvest

** c,d,e,f – statistically significant differences between the average values in column in relation to the applied doses and year of harvest n=3

Tabela 3

Strawność pozorna i rzeczywista liofilizatu uzyskanego z ziarna I i II pokolenia pszenicy poddanej promieniowaniu gamma przed wysianiem.

Apparent and true digestibility of wheat grain albumin's obtained from the first and second generation of wheat grains which was treated by gamma rays before sowing.

| Próba Sample | Strawność pozorna Apparent digestibility [%] | Strawność rzeczywista True digestibility [%] |
|-----------------|--|--|
| IG-0 | 51,88 a d | 63,87 a *d** |
| IG-0,05 | 50,38 a c | 62,29 a c |
| IG-0,1 | 49,78 a c | 61,65 a c |
| IIG-0 | 53,07 b e | 65,15 b e |
| IIG-0,05 | 53,97 b f | 66,10 b f |
| IIG-0,1 | 52,47 b de | 64,51 b de |

* a,b – statystycznie istotne różnice między średnimi wartościami w kolumnach w odniesieniu do roku zbiorów

** c,d,e,f – statystycznie istotne różnice między średnimi wartościami w kolumnach w odniesieniu do zastosowanych dawek i roku zbioru

* a,b – statistically significant differences between the average values in column in relation to the year of harvest

** c,d,e,f – statistically significant differences between the average values in column in relation to the applied doses and year of harvest n=3

Tabela 4

Parametry ogrzewania mikrofalowego, kody prób oraz wielkość plonu.
Condition of microwave heating, sample's code and grain yield.

| Parametry ogrzewania mikrofalowego Parameters of microwave heating | | | | | | | |
|---|-------|--------|--------|--------|--------|---------|---------|
| Czas Time [s] | 0 | 15 | 45 | 60 | 90 | 120 | 180 |
| Moc Microwave output [kJ] | 0 | 8,55 | 25,65 | 34,20 | 51,30 | 68,40 | 102,60 |
| Temperatura* Temperature [°C] | 20 | 28 | 43 | 48 | 64 | 79 | 98 |
| Kody prób I pokolenia Samples code of I generation | | | | | | | |
| I pokolenie I generation | IM-0 | IM-15 | IM-45 | IM-60 | IM-90 | IM-120 | IM-180 |
| Uzyskany plon ziarna [kg/30m ²] Grain yield [kg/30m ²] | | | | | | | |
| Przed oczyszczeniem ziarna Before grain cleaning | 18 | 18 | 19 | 19 | 19 | 17 | 8 |
| Po oczyszczeniu ziarna After grain cleaning | 14 | 14 | 15 | 14 | 14 | 12 | 4 |
| Kody prób II pokolenia Samples code of II generation | | | | | | | |
| II pokolenie II generation | IIM-0 | IIM-15 | IIM-45 | IIM-60 | IIM-90 | IIM-120 | IIM-180 |
| Uzyskany plon ziarna [kg/30m ²] Grain yield [kg/30m ²] | | | | | | | |
| Przed oczyszczeniem ziarna Before grain cleaning | 22 | 22 | 22 | 21 | 21 | 22 | 23 |
| Po oczyszczeniu ziarna After grain cleaning | 18 | 19 | 21 | 20 | 20 | 18 | 20 |

* średnia z trzech pomiarów temperatury, mierzona bezpośrednio po zakończeniu ogrzewania mikrofalowego

* mean value of temperature of a triple, measurement, done immediately after microwave heating

Strawność pozorną i rzeczywistą liofilizowanych preparatów albumin oznaczano *in vitro*, zgodnie z metodą podaną przez Salgo i wsp. [17]. Do trawienia enzymatycznego zastosowano dwa enzymy: trypsynę z trzustki wołowej (Calbiochem) oraz pankreatynę z trzustki wieprzowej (Sigma), które zawierały: amylazę, trypsynę, lipazę, rybonukleazę i proteazę. W 25 cm³ wody destylowanej rozpuszczano naważkę liofilizowaną

zatu adekwatną 200 mg białka. Roztwór doprowadzano za pomocą 1M NaOH do pH = 8,0 w 37°C, a następnie trawiono w tej samej temperaturze. Po 10 minutach mierzono spadek pH. Strawność pozorną i rzeczywistą obliczano ze wzorów podanych niżej:

- strawność pozorną (SP) = $392,51 - 44,84 \cdot \text{pH}_{10}$ w [%],
- strawność rzeczywistą (SR) = $425,78 - 47,64 \cdot \text{pH}_{10}$ w [%],

gdzie: pH_{10} – wartość pH mierzona po 10 min trawienia.

Uzyskane wyniki analizowano statystycznie stosując dwuczynnikową analizę wariancji i przyjmując poziom istotności $\alpha = 0,05$, a następnie obliczano istotnie różnice statystycznie.

Wyniki i dyskusja

Promieniowanie gamma

Zastosowanie przedsięwzięcie promieniowania gamma w zasadniczy sposób wpłynęło na zdolność kiełkowania ziarna, a także na ilość zebranego plonu. Z ziarna pszenicy napromienionego dawkami dopuszczonymi przez FAO/WHO, tak jak opisano wcześniej [19], uzyskano plon tylko z ziarna potraktowanego dwiema najniższymi dawkami. Potwierdza to fakt destrukcyjnego wpływu promieniowania gamma, począwszy od dawki 0,5 kGy, na zdolność replikacyjną organizmów, jak i zakłócenie normalnego przebiegu procesów metabolicznych [6, 9]. Niewielkie dawki tego promieniowania znalazły natomiast zastosowanie jako czynnik mutagenny w hodowli nowych odmian roślin [8]. Uzyskany plon IG-0,1 był niższy w stosunku do próby kontrolnej przed oczyszczeniem o około 22%, a także próby IG-0,05 o około 4%, co sugeruje, że mogło nastąpić osłabienie zdolności kiełkowania ziaren napromienionych zwłaszcza dawką 0,1 kGy, ale tylko w pierwszym pokoleniu (tab. 1.). W II pokoleniu próby IIG-0,05 i IIG-0,1 charakteryzowały się wyższym o 15% uzyskanym plonem w porównaniu z próbą kontrolną, co z kolei może sugerować mutagenny wpływ zastosowanych dawek promieniowania gamma na ziarno pszenicy.

Wilgotność ziarna I i II pokolenia była nieznacznie zróżnicowana (tab. 2.). Statystycznie istotne różnice zauważono w pierwszym pokoleniu IG, jak i drugim pokoleniu IIG ($p \leq 0,01$). Z kolei dwuczynnikowa analiza wariancji wykazała brak różnic w wilgotności ziarna napromienionego promieniami gamma przed wysianiem w odniesieniu do roku zbiorów ($p \leq 0,892$). Należy zaznaczyć, że opady w latach zbiorów 1998 (561 cm^3) i 2000 (525 cm^3) kształtowały się na podobnym poziomie.

Zawartość białka całkowitego w ziarnie również uległa zmianom w I i II pokoleniu – $p \leq 0,01$ (tab. 2.). Ziarno potraktowane przed wysianiem promieniami gamma miało większą zawartość białka w pierwszym pokoleniu w porównaniu z próbą kontrolną. W drugim pokoleniu nie odnotowano już tej właściwości. Zatem można sądzić, że wpływ promieniowania gamma zastosowanego na ziarno bezpośrednio

że wpływ promieniowania gamma zastosowanego na ziarno bezpośrednio przed wysianiem, został zniwelowany już w drugim pokoleniu. Ziarno próby kontrolnej IIG-0 odznaczało się największą zawartością białka, jednakże różnica ta była statystycznie nieistotna. Również rok zbioru nie miał wpływu na statystycznie istotną różnicę w zawartości białka całkowitego ($p \leq 0,423$). Podobnie Warchalewski i wsp. [19] nie stwierdzili zmian zarówno w wilgotności, jak i zawartości białka całkowitego, w ziarnie pszenicy bezpośrednio po napromienieniu promieniami gamma w zakresie dawek od 0,05 kGy do 10 kGy.

W uzyskanych liofilizatach z obu pokoleń oznaczono zawartość białka rozpuszczalnego. Kształtowała się ona na poziomie od 2057 mg/100 g s.m. do 2327 mg/100 g s.m ziarna. Rok zbioru wywarł statystycznie istotny wpływ na ilość białka w liofilizacie ($p \leq 0,01$). Zastosowane dawki promieniowania jonizującego gamma w istotny sposób zmieniły zawartość tego białka w liofilizatach pierwszego i drugiego pokolenia ($p \leq 0,01$). Próby, które miały największą zawartość białka w liofilizacie, równocześnie charakteryzowały się największą wilgotnością ziarna. Sugeruje to stymulujący wpływ promieniowania gamma na biosyntezę frakcji albuminowej ziarna pszenicy z równocześnie wyższą wilgotnością ziarna zebranego.

W tab. 3. przedstawiono wyniki strawności pozornej i rzeczywistej liofilizatów prób IG i IIG. Odnotowano statystycznie istotne obniżenie strawności pozornej ($p \leq 0,01$) i rzeczywistej ($p \leq 0,01$) liofilizatów białek otrzymanych z ziarna prób IG-0,05 i IG-0,1, w oparciu o dwuczynnikową analizę wariancji. Frakcje albuminowe ziarna pszenicy pierwszego pokolenia uzyskane z ziarniaków napromienionych dawkami 0,05 kGy i 0,1 kGy wykazywały statystycznie istotne zmiany w strawności pozornej i rzeczywistej, które charakteryzowały się ich łącznym spadkiem średnio o 2,7 i 3,8% w odniesieniu do próby kontrolnej. Zależności tej nie potwierdzono w II pokoleniu, gdzie strawność pozorna i rzeczywista ziarna próby IIG-0,05 była istotnie statystycznie wyższa, co korelowało z istotnie statystycznie większą ekstrakcyjnością frakcji albuminowej przy tej dawce w drugim pokoleniu (tab. 2.). Natomiast strawność frakcji albuminowej próby ziarna IIG-0,1 nie różniła się statystycznie od próby kontrolnej. W oparciu o uzyskane wyniki można przypuszczać, że zastosowana dawka 0,05 kGy promieniowania jonizującego miała niewielki, aczkolwiek istotny statystycznie wpływ na oceniane strawności frakcji albuminowych wyodrębnionych z ziarna pierwszego i drugiego pokolenia. Warchalewski i wsp. [19] nie stwierdzili istotnych statystycznie różnic w strawnościach białek albuminowych wyosobnionych z ziarna pszenicy bezpośrednio po napromienieniu dawkami od 0,05 kGy do 10 kGy. Dopiero ziarno zebrane w kolejnych pokoleniach wykazało występowanie pewnych istotnych statystycznie różnic.

Ogrzewanie mikrofalowe

Ogrzewanie mikrofalowe także wpłynęło na zmniejszenie zdolności kiełkowania ziarna pszenicy (tab. 4.). Potraktowane mikrofalami ziarno, o średniej wilgotności początkowej wynoszącej 12,24%, przez 120 s (79°C) i 180 s (98°C) obniżyło w znaczącym stopniu zdolność kiełkowania, szczególnie w przypadku najdłuższego czasu ekspozycji. Zasadnicze znaczenie odegrała tutaj osiągnięta temperatura podczas tego procesu. Znalazło to odbicie w ilości zebranego plonu w I pokoleniu, który był niższy przed oczyszczeniem o 9% w przypadku próby ziarna IM-120 i o 57% w odniesieniu do próby ziarna IM-180 w porównaniu do średniego plonu ziarna zebranego z pozostałych prób (tab 4.). Dodatkowo plon ziarna IM-180 charakteryzował się dużą ilością pośladu, który stanowił 50% ilości zebranego ziarna po oczyszczeniu. Stephenson i wsp. [18] zastosowali energię mikrofal jako czynnik mający na celu ograniczenie inwazji *Ustilago nuda* na ziarnie jęczmienia i stwierdzili, że tylko w przypadku zaabsorbowanej energii mikrofal na poziomie 0,5 W/g, w czasie ekspozycji 50 s, podczas 1 min cyklu pulsacyjnego, nastąpiło istotne obniżenie zdolności kiełkowania ziarna. Natomiast Reddy i wsp. [16], badając wpływ traktowania mikrofalami ziarna pszenicy na rozwój *Fusarium graminearum*, zaobserwowali zmniejszenie stopnia porażenia jak i obniżenie zdolności kiełkowania ziarna pszenicy zależne od wilgotności początkowej ziarna. O 90% spadła zdolność kiełkowania ziarna przy zaabsorbowaniu łącznej energii mikrofal na poziomie 0,6 W/g i czasie mikrofalowania wynoszącym 50 s w każdej minucie cyklu, oraz początkowej 20% wilgotności ziarna. Natomiast przy początkowej wilgotności ziarna wynoszącej 8% oraz w tych samych warunkach traktowania mikrofalami, zdolność kiełkowania spadła tylko o 65%.

W tab. 5. przedstawiono charakterystykę białka i wilgotności ziarna I i II pokolenia potraktowanego mikrofalami przed wysianiem. Przedśiewne traktowanie tym czynnikiem spowodowało wystąpienie istotnych statystycznie zmian między dawkami w wilgotności ziarna pierwszego pokolenia IM, jak i pomiędzy dawkami w ziarnie drugiego pokolenia IIM ($p \leq 0,01$). Największe różnice odnotowano w próbach ziarna pierwszego pokolenia, gdzie wilgotność ziarna próby IM-180 była znacznie niższa w porównaniu z pozostałymi próbami. Odnotowano także istotne statystycznie różnice w wilgotności ziarna prób kontrolnych ($p \leq 0,01$) pomiędzy pokoleniami IM i IIM, co związane jest z różnicami w warunkach klimatycznych, a szczególnie z opadami, które w 1999 roku wynosiły 617 cm³ i w 2000 roku 525 cm³. Statystycznie istotne różnice w wilgotności ziarna I pokolenia prób IM-90, IM-120 i IM-180 oraz prób ziarna IIM-15, IIM-45, IIM-60 i IIM-180 ze zbioru w II pokoleniu, w porównaniu z ich próbami kontrolnymi, sugerują zmiany we właściwościach ziarna I i II pokolenia, jako następstwo wpływu ogrzewania mikrofalowego na ziarno siewne, przy identycznych warunkach glebowo-klimatycznych danego roku zbioru.

Tabela 5

Zawartość białka i wilgotność ziarna I i II pokolenia, zebranego po potraktowaniu ziarna siewnego mikrofalami.

Moisture and protein content of the first and second generation of wheat grain which was microwave treated before sowing.

| Próba Sample | Wilgotność ziarna Grain moisture [%] | Białko całkowite | Zawartość białka rozpuszczalnego w liofilizacie |
|-----------------|--|---------------------------------------|---|
| | | [% s.m.] Total protein [% d.w.] | [mg/100 g s.m. ziarna] Amount of soluble protein content in the lyophilizate [mg/100 g d.w. grain] |
| IM-0 | 12,79 a *i** | 13,74 a d | 2022 a e |
| IM-15 | 12,77 a hi | 13,60 a cd | 2035 a ef |
| IM-45 | 12,76 a hi | 13,64 a cd | 2138 a h |
| IM-60 | 12,82 a i | 13,56 a cd | 2023 a e |
| IM-90 | 12,39 a efg | 13,56 a cd | 2168 a h |
| IM-120 | 12,57 a gh | 13,52 a c | 2057 a ef |
| IM-180 | 12,02 a c | 14,66 a e | 2295 a i |
| IIM-0 | 12,21 b cde | 14,53 b e | 2148 b h |
| IIM-15 | 12,46 b fg | 14,49 b e | 1828 b e |
| IIM-45 | 12,50 b fg | 14,52 b e | 2073 b g |
| IIM-60 | 12,46 b fg | 14,50 b e | 1953 b d |
| IIM-90 | 12,16 b cd | 14,62 b e | 2151 b h |
| IIM-120 | 12,33 b def | 14,57 b e | 2141 b h |
| IIM-180 | 12,47 b fg | 14,60 b e | 2150 b h |

* a,b – statystycznie istotne różnice między średnimi wartościami w kolumnach w odniesieniu do roku zbiorów

** c,d,e,f – statystycznie istotne różnice między średnimi wartościami w kolumnach w odniesieniu do zastosowanych dawek i roku zbioru

* a,b – statistically significant differences between the average values in column in relation to the year of harvest

** c,d,e,f – statistically significant differences between the average values in column in relation to the applied doses and year of harvest n=3

Potraktowanie przed wysianiem ziarna mikrofalami także wpłynęło na zróżnicowanie poziomu białka całkowitego w ziarnie I pokolenia ($p \leq 0,01$). Największą zawartość białka oznaczono w ziarnie IM-180. Na ten wzrost mogły wpłynąć rzadsze wschody oraz większa dostępność nawozów azotowych w porównaniu z pozostałymi próbami zebranego ziarna, uprawianego w tych samych warunkach, które były spowodowane destrukcyjnym działaniem ogrzewania mikrofalowego na zdolność kiełkowania ziarna tej próby. Duży wpływ na poziom białka w ziarnie pszenicy zebranej w latach 1999 (I pokolenie) i 2000 (II pokolenie) miały opady panujące w okresie wege-

tacji. Ziarno wszystkich prób, za wyjątkiem IM-180, zebrane w 1999 roku charakteryzowało się średnio o ok. 1% mniejszą zawartością białka całkowitego w porównaniu z próbami ziarna zebranego w II pokoleniu. Może to być rezultatem różnicy w opadach oraz niskich temperatur odnotowanych w okresie kształtowania ziarna, podobnie jak sugeruje to Pomeranz [11]. Znalazło to także odzwierciedlenie w ilości uzyskanego plonu, średnio niższego od ilości zebranego plonu w 2000 roku (tab. 4.).

Tabela 6

Strawność pozorna i rzeczywista liofilizatu uzyskanego z ziarna I i II pokolenia pszenicy potraktowanej mikrofalami przed wysianiem.

Apparent and true digestibility of wheat grain albumins obtained from the first and second generation of wheat grains which was treated by microwave before sowing.

| Próba Sample | Strawność pozorna Apparent digestibility [%] | Strawność rzeczywista True digestibility [%] |
|-----------------|--|--|
| IM-0 | 52,02 a g | 64,03 a* g** |
| IM-15 | 47,39 a ef | 59,11 a ef |
| IM-45 | 48,74 a f | 60,54 a f |
| IM-60 | 48,89 a f | 60,70 a f |
| IM-90 | 45,00 a cd | 56,57 a cd |
| IM-120 | 46,49 a de | 58,16 a de |
| IM-180 | 45,15 a cd | 56,73 a cd |
| IIM-0 | 47,84 b ef | 59,59 b ef |
| IIM-15 | 43,51 b c | 54,98 b c |
| IIM-45 | 43,36 b c | 54,82 b c |
| IIM-60 | 43,36 b c | 54,82 b c |
| IIM-90 | 44,70 b cd | 56,25 b cd |
| IIM-120 | 44,25 b c | 55,78 b c |
| IIM-180 | 44,10 b c | 55,62 b c |

* a,b – statystycznie istotne różnice między średnimi wartościami w kolumnach w odniesieniu do roku zbiorów

** c,d,e,f – statystycznie istotne różnice między średnimi wartościami w kolumnach w odniesieniu do zastosowanych dawek i roku zbioru

* a,b – statistically significant differences between the average values in column in relation to the year of harvest

** c,d,e,f – statistically significant differences between the average values in column in relation to the applied doses and year of harvest n=3

Zawartość białka w liofilizatach w przeliczeniu na 100 g s.m., otrzymanych z ziarna prób IM i IIM, była istotnie statystycznie różna w obu pokoleniach ($p \leq 0,01$). Odnotowano także wpływ poszczególnych lat zbioru na zmienność tej cechy. Największą ilość białka rozpuszczalnego oznaczono w liofilizacie uzyskanym z ziarna

IM-180, co równocześnie znalazło odzwierciedlenie w największej ilości białka całkowitego oznaczonego w tej próbie. Natomiast w liofilizatach białek otrzymanych z ziarna II pokolenia zauważono istotnie statystycznie mniejszą zawartość białka rozpuszczalnego w próbach IIM-15, IIM-45 i IIM-60 w porównaniu z ich próbą kontrolną.

W tab. 6. zostały przedstawione wyniki strawności pozornej i rzeczywistej prób ziarna IM i IIM. Odnotowano w obu pokoleniach istotne obniżenie strawności pozornej i rzeczywistej białek rozpuszczalnych otrzymanych z prób potraktowanych mikrofalami przed wysianiem w porównaniu z próbą kontrolną ($p \leq 0,01$). Jednocześnie rok zbioru miał istotny wpływ na zmianę strawności zarówno pozornej jak i rzeczywistej ($p \leq 0,01$). Badanie ziarna bezpośrednio po działaniu mikrofalami wykazały, że czas ogrzewania przez 180 s, podczas którego ziarno osiągnęło temperaturę końcową 98°C , spowodował zasadniczy wzrost strawności przy jednoczesnym zmniejszeniu zawartości białka rozpuszczalnego w liofilizacie [5]. Sugerowano, że to obniżenie zawartości białka rozpuszczalnego w liofilizacie mogło być wynikiem częściowej, termicznej denaturacji białek albuminowych.

Zarówno rezultaty prac dotyczących charakterystyki technologicznej [4], jak i immunochemicznego pomiaru ilości glutenu [10], uwidaczniają zmienność właściwości ziarna I i II pokolenia wywołane działaniem promieni gamma i mikrofal. Wskazuje to na spontaniczność zachodzących mutacji, niektórych o charakterze trwałym, pod wpływem badanych czynników. Jednakże wymaga to jeszcze dalszych, kompleksowych badań nad charakterystyką właściwości otrzymanego ziarna w kolejnych pokoleniach.

Wnioski

1. Przewidywane zastosowanie promieniowania gamma wpłynęło w sposób istotny statystycznie na zmniejszenie strawności rzeczywistej i pozornej liofilizatu albuminowego uzyskanego z ziarna pierwszego pokolenia. Tej zależności nie stwierdzono w ziarnie zebranym w drugim pokoleniu.
2. Liofilizaty albuminowe otrzymane z ziarna I i II pokolenia, potraktowanego przewidzianymi dawkami mikrofal, charakteryzowały się niższą, statystycznie istotną strawnością rzeczywistą i pozorną, która miała charakter trwały w dwóch kolejnych pokoleniach zebranego ziarna, w stosunku do ziarna kontrolnego.

Podziękowanie

Pani mgr Zofii Banaszak – dyrektorowi Zakładu Hodowli Roślin DANKO-Choryń, składamy serdeczne podziękowania za prowadzenie hodowli napromienionego ziarna zbóż na specjalnie założonych poletkach doświadczalnych oraz dostarczenie zebranego ziarna do badań.

Literatura

- [1] AACC Approved Methods –method 19/1982.
- [2] Aldryhim Y. N., Adam E. E.: Efficacy of gamma irradiation against *Sitophilus granarius* (L.) (Coleoptera: Curculionidae). J. Stored Products Research, 1999, **35**, 225-232.
- [3] Cornell H. J., Hoveling A. W.: Wheat. Chemistry and Utilization. Technomic Publishing Company, Inc, Basel, Switzerland, 1998, p. 1-427.
- [4] Dolińska R., Klockiewicz-Kamińska E., Zabielski J., Warchalewski J. R.: Charakterystyka technologiczna pierwszego pokolenia pszenicy poddanego promieniowaniu gamma przed wysianiem. Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 2001, **4(29)**, 23-35.
- [5] Gralik J., Warchalewski J. R.: Ocena strawności enzymatycznej białek albuminowych ziarna pszenicy poddanego działaniu mikrofal. Materiały 18 Naukowego Zjazdu Polskiego Towarzystwa Farmaceutycznego, Sekcja Bromatologia, Poznań 2001, s. 264.
- [6] Grzesiuk S., Kulka K.: Fizjologia i biochemia nasion. PWRiL, Warszawa 1981, s. 430-435.
- [7] Lowry O., Rosenbrough A., Farr A., Randal R.: Protein measurement with the Folin phenol reagent. J. Biol. Chem., 1951, **193**, 265-275.
- [8] Maluszynski M., Szarejko I., Maluszynska J. : Induced mutations in wheat. In: The World Wheat Book. Ed. A.P. Bonjean i W.J. Angus. Lavoisier Publishing, Londres 2001, p. 939-977.
- [9] Napromienianie żywności. Tłum. Włodzimierz Fiszer, PWRiL, Poznań 1991, s. 1-119.
- [10] Piasecka-Kwiatkowska D., Dolińska R., Warchalewski J. R.: Ocena zmian glutenu w ziarnie pszenicy pierwszego i drugiego pokolenia przy pomocy Gluten Assay Kit. Materiały 18 Naukowego Zjazdu Polskiego Towarzystwa Farmaceutycznego, Sekcja Bromatologia, Poznań, 2001, s. 263.
- [11] Pomeranz Y. (Ed): Wheat: Chemistry and Technology. AACC, St. Paul, Minnesota USA, 1988, p. 1-514.
- [12] Prądyńska A., Warchalewski J. R.: Rozwój owadów w magazynowanym ziarnie pszenicy napromienionym mikrofalami. Ochrona Roślin, 1999, **43**, 33.
- [13] Prądyńska A., Warchalewski J.R.: Rozwój owadów w magazynowanym ziarnie napromienionym promieniowaniem gamma. Ochrona Roślin, 1999, **43**, 34.
- [14] Rao V. S., Gholap A. S., Adhikari H., Nair P. M.: Disinfestation of Basmati rice by the use of γ -radiation. Int. J. Food Sci. Technol., 2000, **35**, 533-540.
- [15] Ratajczak R.: Produkcja jęczmienia w Polsce i na świecie. W: Jęczmień. Chemia i Technologia. pod red. Henryka Gąsiorowskiego. PWRiL, Poznań 1997, s. 11-15.
- [16] Reddy M.V.B., Raghavan G. S. V., Kushalappa A. C., Paulitz T. C.: Effect of microwave treatment on quality of wheat seed infected with *Fusarium graminearum*. J. Agric. Engng. Res., 1998, **71**, 113-117.

- [17] Salgo A., Ganzler K., Jecsei J.: Simple enzymatic methods for predication of plant protein digestibility. W: Amino acid composition and biological value of cereal proteins. Ed. R. Lasztity, M. Hidvegi. Reidal Publishing Co., Dordrecht: 1985, p. 311-323.
- [18] Stephenson M. M. P., Kushalappa A. C., Raghavan G. S. V.: Effect of selected combinations of microwave treatment factors on inactivation of *Ustilago nuda* from barley seed. Seed Sci. Technol., 1996, **24**, 557-570.
- [19] Warchalewski J. R., Gralik J., Kuśnierz R.: The estimation of enzymatic digestibility of albumin proteins from wheat grain exposed to gamma irradiation ^{60}Co . Sci. Pap. Agric. Univ. Pozn. Food Sci. Technol., 1998, **2**, 3-8.
- [20] Warchalewski J.R., Gralik J., Nawrot J.: Możliwości zmniejszania powodowanych przez szkodniki owadzie strat magazynowanego ziarna zbóż. Post. Nauk Roln., 2000, **47**, 85-96.
- [21] Warchalewski J. R., Madaj D., Skupin J.: The varietal differences in some biological activities of proteins extracted from flours of wheat seeds harvested in 1986. Die Nahrung, 1989, **33(9)**, 805-821.
- [22] Warchalewski J. R., Piasecka-Kwiatkowska D., Madaj D.: Extraction from cereal grain soluble proteins with the high inhibitory activities against insect α -amylase. Sci. Pap. Agric. Univ. Pozn. Food Sci. Technol., 1997, **1**, 69-75.

**EFFECT OF GAMMA RADIATION AND MICROWAVE HEATING APPLIED
BEFORE SOWING ON *IN VITRO* DIGESTIBILITY OF ALBUMIN PROTEINS
FROM THE FIRST AND SECOND GENERATIONS OF WHEAT GRAIN**

S u m m a r y

The influence of gamma radiation as well as microwave heating of wheat grain before sowing, on some changes in the true and apparent digestibility of albumins extracted from the first and second generation of wheat grains were studied. Gamma radiation doses 0,05 kGy and 0,1 kGy applied before sowing caused the statistically significant increase in the total protein content only in case of the first generation. Also in the first generation of wheat grains irradiated before sowing, the lower apparent and true digestibility were observed compared with control grain sample.

Microwave heating applied before sowing through 15 sec. (28°C) to 180 sec. (98°C) caused some changes in total protein content only in case of the first generation of wheat grains. However albumins extracted from the first and second generation of wheat grain, bred from wheat kernels, which were treated by microwave heating, had statistically significant lower apparent and true digestibility in comparison to the control grain sample.

Key words: wheat, gamma radiation, microwave heating, digestibility of proteins. ☒