

**Arabinoksylany skrobi pszennych i ich wpływ na
kształtowanie właściwości hydrolizatów**

mgr inż. Bartłomiej Makowski

Promotor:

**dr hab. inż. Justyna Rosicka-
Kaczmarek, prof. PŁ**

W odróżnieniu od skrobi ziemniaczanej i kukurydzianej, skład chemiczny skrobi pszennej charakteryzuje obecność nieskrobiowych polisacharydów. Należą do nich głównie pentozany – polimery β -1,4 ksylozy z rozgałęzieniami β -1,3 arabinozy. W procesie wymywania skrobi pszennej z mąki część pentozanów (arabinoksylianów) może być adsorbowana na powierzchni jej granul i podczas ich enzymatycznej hydrolizy może ujemnie wpływać na wydajność i jakość uzyskiwanych hydrolizatów glukozy. Obserwować to można, między innymi przez obniżenie stopnia ich scukrzenia i szybkości filtracji. W literaturze naukowej znajdują się doniesienia wskazujące na negatywny wpływ obecności pentozanów na ograniczanie prędkości filtracji hydrolizatów otrzymywanych ze skrobi pszennej. Za zdolności filtracyjne hydrolizatów głównie odpowiedzialna jest frakcja pentozanów rozpuszczalnych w wodzie WEAX. Frakcja WEAX posiada większą zdolność absorbowania wody, niż frakcja nierozpuszczalna w wodzie WUAX. Dlatego jej wodne roztwory wykazują większą lepkość i tendencję do tworzenia galaretowatych osadów, nawet przy małym stężeniu, zapychających pory filtrów w procesie oczyszczania hydrolizatów glukozy. Ponadto frakcja ta jest bardziej reaktywna i może tworzyć kompleksy z rozpuszczalną frakcją skrobi i białkami. Związki te stają się wówczas niedostępne dla enzymów amylolitycznych, co negatywnie wpływa na kleikowanie skrobi i obniża jakość uzyskiwanych produktów enzymatycznej hydrolizy skrobi.

Dlatego też za cel pracy postawiono sobie określenie wpływu obecnych na powierzchni granul skrobi arabinoksylianów na kształtowanie właściwości fizykochemicznych skrobi i enzymatycznych hydrolizatów, w zależności od twardości ziarna pszenicy i czasu jego wegetacji. Zakres pracy obejmował zbadanie, w jakim stopniu obecność arabinoksylianów adsorbowanych na powierzchni granul skrobi w procesie ich izolowania z mąki, otrzymanej z ziarna pszenicy o różnej twardości i czasie wegetacji, determinuje właściwości fizykochemiczne skrobi naturalnej. Ponadto podjęto próbę wyjaśnienia siły oddziaływania arabinoksylianów na powierzchni granul skrobi pszennej z pozostałymi składnikami niewęglowodanowymi obecnymi na powierzchni granul skrobi, tj. z lipidami i białkami i ich wpływu na właściwości skrobi. Bardzo istotnym zagadnieniem, którego badania podjęto się w pracy było zbadanie wpływu obecności arabinoksylianów w skrobi pszennej na termodynamikę jej kleikowania i przemian kompleksu amylozowo-lipidowego AML w skrobi naturalnej, skrobi pozbawionej arabinoksylianów metodą chemiczną oraz skrobi zawierającej arabinoksyliany o zmodyfikowanej ilości oraz strukturze, w zależności od czasu procesu ich modyfikacji preparatem typu endoksylianazy w temperaturze poniżej temperatury kleikowania skrobi, bez udziału oraz w obecności α -amylazy. Badano również wpływ struktury (stopnia rozgałęzienia i profilu podstawienia cząsteczki ksylozy arabinozą: niepodstawiona, mono- i dipodstawiona), różnej masy molekularnej i koncentracji nieskrobiowych polisacharydów w skrobi pszennej, w zależności od jej twardości i czasu wegetacji ziarna, na właściwości fizykochemiczne enzymatycznych hydrolizatów glukozy, tj. głównie na zdolność do filtracji i ściślizwość ich osadów pofiltracyjnych oraz na ich stopień scukrzenia i barwę. Ważnym elementem pracy była próba sprawdzenia, czy za kształtowanie zdolności

arabinoksylianów adsorbowanych na powierzchni granul skrobi pszennej do tworzenia struktur o charakterze żelowym odpowiedzialny jest kwas ferulowy, decydujący o ich zdolności do sieciowania. Z technologicznego punktu widzenia, tj. zdolności do filtracji hydrolizatów wykazano, iż większy udział we frakcji ogółem AX-ów frakcji rozpuszczalnej WEAX, korzystniej wpływa na poprawę tego parametru. Wykazano wyraźną wprost proporcjonalną zależność ściśliwości osadu pofiltracyjnego od twardości ziarna pszenicy, z którego izolowano skrobię. Wraz ze wzrostem twardości pszenicy wzrasta ściśliwość osadu ($r^2=0,95$). Ta zależność miała miejsce, gdy w etapie scukrzania wykorzystano tylko preparat glukoamylazy. Istnieje wyraźny związek szybkości filtracji hydrolizatów z charakterem osadów (ściśliwością). Dla tych parametrów zależność była odwrotnie proporcjonalna $r^2=-0,95$, ze wzrostem ściśliwości osadu zdolność filtracyjna hydrolizatów wzrastała, tj. skracał się czas filtracji. W zależności od twardości ziarna pszenicy w odmienny sposób przebiega degradacja arabinoksylianów w procesie hydrolizy skrobi, co ma swoje odzwierciedlenie w ściśliwości osadów pofiltracyjnych, a to z kolei w zdolnościach filtracyjnych hydrolizatów glukozowych.

Wykazano ponadto, że pozbawienie skrobi pszennej frakcji polisacharydów nieskrobiowych AX wpływa znacząco na zmianę jej właściwości fizykochemicznych. Występowała również silna korelacja zmian tych właściwości w zależności od twardości ziarna pszenicy.

Ogólnie stwierdzono, iż skrobie izolowane z twardych odmian pszenicy kleikują trudniej w porównaniu do skrobi z miękkich odmian pszenicy, na co wskazywały wyższe wartości temperatury kleikowania. Zauważono, że frakcja AX na powierzchni ziaren skrobi znacząco wpływa na zmianę termodynamiki ich kleikowania. W odróżnieniu od danych literaturowych, wykazano, że skrobie pozbawione uprzednio AX, maksimum kleikowania osiągają w wyższych temperaturach, niż skrobie naturalne. Natomiast biorąc pod uwagę temperaturę początku procesu kleikowania, to proces kleikowania zaczyna się w niższej temperaturze, w porównaniu do skrobi naturalnych. Istotną różnicę zauważono również w ilości kompleksu AML, jego formie polimorficznej i zdolności odbudowy w skrobiach pozbawionych AX w stosunku do naturalnych. Wraz z frakcją AX-ów usuwała się ze skrobi jednocześnie duża część kompleksu AML, który w procesie chłodzenia wykazywał nadzwyczaj dużą tendencję do odbudowy, w porównaniu ze skrobiami natywnymi.

Stopień twardości pszenicy wpływa na siłę oddziaływania białka z frakcją arabinoksylianów (AX) na powierzchni ziaren skrobi. Odmiany miękkie pszenicy charakteryzują się większą siłą oddziaływań niż odmiany twarde. Siła oddziaływań arabinoksylianów z białkiem jest uzależniona od stopnia rozgałęzienia polisacharydów nieskrobiowych. Oddziaływanie to jest tym wyższe im występuje więcej di podstawionych reszt ksylozy arabinozą w łańcuchu polisacharydowym. W przypadku preparatów AX izolowanych ze skrobi miękkich odmian pszenicy wartości stosunku M/D były większe w porównaniu do odmian twardych, co wskazuje na to, że cząsteczki ksylozy w tych preparatach są w większym stopniu di podstawione.

Stosunek arabinozy do ksylozy (A/X) w preparatach izolowanych ze skrobi, zarówno dla frakcji rozpuszczalnych (WEAX) i nierozpuszczalnych (WUAX) osiąga wysokie wartości (około 0,8-1), tj. wyższe niż dla preparatów AX izolowanych z mąki pszennej. Jest on wyższy dla frakcji arabinoksylianów nierozpuszczalnych w wodzie. Ponadto zależy od okresu wegetacji ziarna pszenicy. Skrobie z pszenic odmian ozimych posiadają wartości tego stosunku większe, w porównaniu do skrobi z pszenic odmian jarych. Prawidłowość ta jest zachowana dla frakcji WEAX, jak i dla WUAX. Wykazano, że stosunek podstawienia ksylozy arabinozą (M/D mono do di podstawionych) osiąga wyższe wartości w skrobiach pszenic odmian ozimych oraz dla frakcji arabinoksylianów nierozpuszczalnych w wodzie (WUAX). Ponadto wyższe wartości tego stosunku można zaobserwować dla arabinoksylianów wyizolowanych z pszenic o większej twardości ziarna. Przeprowadzone badania wykazały, że stosunek ksylozy podstawionej do niepodstawionej (sub/un-sub) osiąga wyższe wartości we frakcji arabinoksylianów nierozpuszczalnych w wodzie (WUAX), niż we frakcji rozpuszczalnej w wodzie (WEAX). W obu tych frakcjach wraz ze wzrostem twardości ziarna pszenicy występuje tendencja wzrostowa wartości tego stosunku. Skrobie wyizolowane z odmian pszenic ozimych posiadają wyższe wartości stosunku ksylozy podstawionej do niepodstawionej. Dotyczy to zarówno frakcji WUAX, jak i WEAX.

Wykazano również, że stopień krystaliczności skrobi wyraźnie zmienia się kiedy usuniemy ze skrobi frakcję polisacharydów nieskrobiowych, tj. arabinoksylianów. Dla skrobi naturalnych stopień ten osiąga niższe wartości.

Na podstawie uzyskanych wyników badań stwierdzono, że okres wegetacji pszenicy, z której jest izolowana skrobia ma wpływ na siły oddziaływania białka z arabinoksylianami na powierzchni ziaren skrobi. Silniejsze oddziaływania mają miejsce w przypadku skrobi z jarych odmian pszenicy. Ponadto stopień rozgałęzienia AX-ów (szczególnie rozpuszczalnych w wodzie) wpływa na siłę ich oddziaływania z białkiem. Można stwierdzić, że im wyższy stopień rozgałęzienia AX-ów, tym silniejsze oddziaływania z białkiem na powierzchni skrobi.

Stwierdzono również, że okres wegetacji pszenicy może wpływać na siłę oddziaływania AX-ów z lipidami na powierzchni skrobi, w przypadku odmian ozimych to oddziaływanie jest silniejsze. Wykazano, że frakcja polisacharydów nieskrobiowych ma silniejsze powinowactwo do oddziaływania z białkami niż z lipidami na powierzchni skrobi.

Z badań wynika, że brak frakcji polisacharydów nieskrobiowych na powierzchni skrobi pszennej w dużym stopniu wpływa na poprawę parametrów fizycznych produktów jej enzymatycznej hydrolizy, tj. poprawia się znacząco szczególnie ich zdolność filtracji i przezroczystość w stosunku do tych otrzymanywanych ze skrobi naturalnych (poddanych zarówno działaniu glukoamylazy, jak i ksyłanazy).

Wykazano również, że arabinoksyliany mają bardzo duży udział w kształtowaniu właściwości osadów pofiltracyjnych, jakim jest ich ściśliwość. Ich brak powoduje, że osady stają się mniej „galaretowate”,

a tym samym bardziej ściśliwe, co ma swoje odzwierciedlenie w poprawie zdolności filtracyjnych hydrolizatów.

W przypadku skrobi pozbawionych AX-ów, ze wzrostem twardości ma miejsce wydłużenie czasu filtracji hydrolizatów, natomiast dla skrobi naturalnych ta tendencja jest odwrotna.

Kolejnym ważnym wnioskiem jest to, że pozbawienie skrobi AX-ów znacznie zmienia jej postać polimorficzną. Staje się ona bardziej krystaliczna. Ale mimo tego równie dobrze ulega procesowi hydrolizy przy zastosowaniu tych samych warunków, tj. stężenia mlecza skrobiowego, pH, temperatury, czasu i ilości preparatów enzymatycznych. Kompleks AML w przypadku skrobi pozbawionych AX-ów w obecności α -amylazy nie wykazuje tendencji do zmiany postaci amorficznej w krystaliczną, jak ma to miejsce w przypadku skrobi naturalnych. W przypadku suchych pozostałości pofiltracyjnych otrzymanych ze skrobi pozbawionych AX-ów pod wpływem glukoamylazy charakteryzują się one przewagą obszarów o charakterze amorficznym, gdzie dla skrobi naturalnych przeważają obszary o charakterze bardziej krystalicznym.

Ponadto usunięcie AX-ów z powierzchni skrobi pszennej wpływa dodatnio na poprawę jej termodynamiki kleikowania. Stosując analizę termiczną wykazano, że w wyższym stopniu skrobie takie są podatne na działanie α -amylazy w etapie ich upłynniania. Analiza termiczna wykazała, że kompleks AML w przypadku skrobi pozbawionych AX-ów w obecności α -amylazy ma postać amorficzną, gdzie w natywnych skrobiach w tych samych warunkach raczej jest to postać krystaliczna mniej podatna na rozpad w warunkach hydrolizy.

Podsumowując powyższe, można jednoznacznie stwierdzić, że obecność polisacharydów nieskrobiowych na powierzchni skrobi pszennej w istotny sposób wpływa na pogorszenie jakości hydrolizatów glukozy. Usuwanie te związki ze skrobi, szczególnie ich frakcję rozpuszczalną nawet o 50% jesteśmy w stanie poprawić jakość hydrolizatów glukozy, tj. szczególnie ich zdolności filtracyjne, barwę i stopień scukrzenia. Istotnym osiągnięciem w pracy było wykazanie, że zdolność do żelowania arabinoksylianów i nadawania w wyniku tego galaretowatego charakteru osadom pofiltracyjnym hydrolizatów glukozy otrzymywanych ze skrobi pszennej nie jest determinowana przez obecność kwasu ferulowego w ich strukturze, który sieciuje łańcuchy AX-ów, a przez stopień rozgałęzienia AX-ów (wielkość stosunku M/D, sub/un-sub i A/X), jak również przez samą ilość arabinoksylianów pozostających w osadach pofiltracyjnych.