

TERESA JAŚKIEWICZ, AGNIESZKA SAGAN, ANDRZEJ MASŁOWSKI

WPLYW CZASU AUTOKLAWOWANIA NASION KRAJOWYCH ODMIAN SOI NA ZAWARTOŚĆ LIZYNY REAKTYWNEJ

Streszczenie

Spośród wskaźników oceny wpływu różnych warunków procesów termicznych na wartość odżywczą niewiele wyników badań dotyczy zawartości lizyny reaktywnej (z wolną grupą ϵ -aminową). W nasionach trzech krajowych odmian soi (Augusta, Aldana, Progres) oznaczono zawartość składników podstawowych, aminokwasów, lizyny reaktywnej, skład kwasów tłuszczowych, składników mineralnych oraz aktywność ureazy. Nasiona poddano procesowi autoklawowania w ciągu: 0, 10, 20, 30, 2×30 min i oznaczono w nich zawartość lizyny reaktywnej. Statystycznie istotne straty lizyny reaktywnej odnotowano w efekcie 20-minutowej ekspozycji na warunki przetwarzania nasion odmiany Progres, w przypadku odmian Augusta i Aldana straty odnotowano po 30 minutach. Stwierdzono, że autoklawowanie nasion soi wpłynęło na istotne obniżenie aktywności ureazy.

Słowa kluczowe: nasiona soi, odmiany, lizyna reaktywna, autoklawowanie

Wprowadzenie

Nasiona soi zawierają dużo białka o wysokiej wartości odżywczej, dzięki czemu śruta poekstrakcyjna czy też nasiona należą do podstawowych źródeł białka. Obecność termolabilnych związków o charakterze przeciwożywnym, a zwłaszcza inhibitorów enzymów proteolitycznych, lektyn i ureazy obliguje do stosowania hydrotermicznych procesów dezaktywacji materiałów sojowych. Procesy te powinny prowadzić do obniżenia aktywności inhibitorów i ureazy do akceptowanych poziomów, przy czym parametry procesu ogranicza ryzyko obniżenia jakości białka. W przypadku pełnych nasion wykorzystywanych w produkcji pasz dezaktywacja czynników przeciwżywnych ma miejsce w procesie przetwórczym surowych nasion czyli podczas ekstruzji bądź też ogrzewaniu połączonym z płatkowaniem.

W wytwarzaniu żywności i mieszanek paszowych proces technologiczny może obejmować kondycjonowanie, ekspandowanie, ekstruzję czy granulowanie. Tak więc materiał sojowy poddany wcześniej np. toastowaniu bywa ponownie ogrzewany przy podwyższonej wilgotności. Stwarza to ryzyko zmniejszenia dostępności i strawności aminokwasów, głównie lizyny [4]. Lizyna, szczególnie w wyższej temperaturze, może wchodzić w reakcje z innymi natywnymi związkami np. redukującymi [1, 10]. W efekcie po zablokowaniu wolnej grupy ϵ -aminowej staje się niedostępna dla procesów trawiennych. Spośród wskaźników oceny wpływu różnych warunków obróbki technologicznej na wartość pokarmową niewiele wyników badań dotyczy zawartości lizyny reaktywnej (z wolną grupą ϵ -aminową). Podatność nasion różnych odmian soi na procesy termicznego przetwarzania stwierdzili Qin i wsp. [19] oraz Žilić i wsp. [26].

Celem badań było określenie wpływu czasu autoklawowania oraz autoklawowania dwukrotnego krajowych odmian nasion soi na zawartość lizyny reaktywnej.

Material i metody badań

Do badań użyto prób 3 krajowych odmian soi: Progres (1981), Aldana (1992) i Augusta (2002) pochodzących z upraw IHAR w Radzikowie k. Warszawy. W nawiasach podano rok wpisania odmian do Krajowego Rejestru. Próby pochodziły ze zbiorów 2007 r. Po usunięciu zanieczyszczeń przechowywano je w zamkniętych szklanych pojemnikach w temp. 18 - 23 °C.

Z każdej odmiany przygotowano po 5 prób nasion, które autoklawowano w ciągu: 0, 10, 20, 30, 2×30 min. Autoklawowanie prowadzono w pionowym sterylizatorze parowym, typ ASVE produkcji SPM w Warszawie. Temperatura procesu wynosiła 121 °C, a ciśnienie 0,25 MPa.

W próbkach nasion oznaczano białko ogólne metodą Kjeldahla zgodnie z PN-ISO 5983 [14], tłuszcz surowy metodą Soxleta zgodnie z PN-EN ISO 659 [13], popiół całkowity wg PN-ISO 749 [16]. Aminokwasy oznaczano metodą chromatografii jonowymiennej w automatycznym analizatorze aminokwasów Beckman model 119Cl; przed analizą próby poddano kwaśnej hydrolizie w obecności 6 M HCl, w temp. 105 °C w ciągu 24 h. Aminokwasy siarkowe oznaczano oddzielnie po utlenieniu [2, 23]. Tryptofan oznaczano zgodnie z metodą AOAC [11]. Skład kwasów tłuszczowych oznaczano zgodnie z metodą opisaną przez Matykę [7], jako estry metylowe w chromatografii gazowym UNICAM 610 Series. Zawartość składników mineralnych, za wyjątkiem fosforu, oznaczano w spektrofotometrze płomieniowym ASA SOLAR 939 UNICAM wg PN-EN ISO 6869 [17], zawartość fosforu metodą spektrometryczną wg PN-ISO 6491 [15]. Lizynę reaktywną oznaczano techniką HPLC według Ramírez-Jiméneza i wsp. [20]. Zasada metody polegała na utworzeniu barwnego kompleksu ϵ -DNP-lizyny w reakcji z dinitrofluorobenzenem (DNFB), a następnie zhydrolizowaniu próby i oznaczeniu zawartości ϵ -DNP-lizyny w chromatografii cieczowym z detekto-

rem UV VIS – Spectroflow 773. Aktywność ureazy oznaczano metodą PN ISO 5506 [18].

Istotność różnic pomiędzy średnimi wartościami zawartości lizyny reaktywnej zweryfikowano używając analizy wariancji i testu Tukey'a przy $p \leq 0,05$. Obliczano współczynniki korelacji liniowej i równania regresji liniowej określające zmiany zawartości lizyny reaktywnej w nasionach soi w zależności od czasu autoklawowania. Obliczenia wykonano korzystając z programu Statistica 8.0.

Wyniki i dyskusja

Nasiona soi odmiany Augusta zawierały najwięcej białka ogólnego (34,25 %) oraz najmniej tłuszczu surowego (17,20 %), zaś w nasionach odmiany Progres było najmniej białka ogólnego (31,14 %) oraz najwięcej tłuszczu surowego (18,10 %) (tab. 1). Skład podstawowy nasion odpowiadał wynikom 5 krajowych odmian soi badanych przez Klebaniuk [6]. Jednocześnie oznaczona zawartość białka była mniejsza od wartości podanych przez Monari [9] (35,5 do 38,0 %), dotyczących nasion soi pochodzących z 6 źródeł zagranicznych. W odniesieniu do cytowanego zestawienia zawartość tłuszczu w nasionach soi odmiany Augusta i Aldana była mniejsza, jednocześnie mieściła się w granicy wyników stwierdzonych w analizie 66 odmian soi [21].

Zawartość aminokwasów w próbach poszczególnych odmian okazała się zróżnicowana, przy czym największe wahania wystąpiły w przypadku metioniny i lizyny. Najmniejsza zawartość tych aminokwasów była w nasionach odmiany Aldana i wyniosła w przeliczeniu na kg nasion – 17,0 g lizyny i 4,7 g metioniny, w nasionach odmiany Progres była większa odpowiednio o 13,5 i 14,9 %, a w nasionach odmiany Augusta o 17,1 i 23,4 %. Zawartość lizyny w nasionach odmiany Aldana odbiega od danych krajowych [8, 24]. Zawartość metioniny, tryptofanu mieściła się w granicach wahań odmian zagranicznych natomiast lizyny, cystyny, treoniny, izoleucyny, leucyny, waliny oraz argininy była mniejsza od wartości podanych przez Monari [9].

Profil kwasów tłuszczowych w analizowanych nasionach był bardziej wyrównany niż skład aminokwasowy. Stosunek udziałów kwasu oleinowego do linolowego w tłuszczu krajowych odmian wyniósł ok. 1 : 2 i okazał się podobny do stosunku tych kwasów w odmianach indyjskich analizowanych przez Rani i wsp. [21] oraz mniejszy niż w odmianach amerykańskich analizowanych przez Panthee i wsp. [12]. W badanych próbach na uwagę zasługuje korzystny, wysoki udział kwasu linolenowego.

Oznaczone składniki mineralne znajdowały się w nasionach w ilościach zbliżonych do danych krajowych i zagranicznych [8, 9, 24].

Tabela 1

Skład chemiczny nasion soi.
Chemical composition of soybean seeds.

Wyszczególnienie Items	Odmiana soi / Soybean variety		
	Augusta	Aldana	Progres
Sucha masa / Dry mass [g/kg]	915,0	929,0	921,0
Białko ogólne / Total protein [g/kg]	342,5	327,0	311,4
Tłuszcz surowy / Crude fat [g/kg]	172,0	176,2	181,0
Popiół / Ash [g/kg]	50,4	60,1	55,6
Lys [g/kg]	19,9	17,0	19,3
Met [g/kg]	5,8	4,7	5,4
Cys [g/kg]	4,9	4,1	4,8
Trp [g/kg]	4,3	4,2	4,1
Thr [g/kg]	10,7	11,7	10,3
Ile [g/kg]	14,8	12,7	14,1
Leu [g/kg]	17,9	20,5	17,0
Val [g/kg]	13,3	11,1	10,7
His [g/kg]	7,5	7,4	7,4
Arg [g/kg]	20,8	20,3	19,5
Phe [g/kg]	12,5	15,6	11,5
Tyr [g/kg]	8,9	10,8	8,4
Ca [g/kg]	2,55	2,64	2,47
P [g/kg]	6,40	5,90	6,80
Mg [g/kg]	2,83	2,64	2,58
K [g/kg]	16,61	17,12	15,67
Fe [g/kg]	94,96	81,31	78,09
Kwasy tłuszczowe / Fatty acids [% sumy FA] / [% of total FA]			
Kwas palmitynowy / Palmitic acid	11,90	12,00	12,05
Kwas stearynowy / Stearic acid	4,63	4,40	4,73
Kwas oleinowy / Oleic acid	25,43	24,99	22,90
Kwas linolowy / Linoleic acid	48,69	48,11	48,40
Kwas linolenowy / Linolenic acid	8,67	9,86	10,05

Nasiona odmian Augusta i Progres zawierały zbliżoną ilość lizyny reaktywnej, wyniosła ona odpowiednio 19,7 i 19,0 g/kg s.m., uboższe o ten składnik były nasiona

odmiany Aldana – 16,6 g/kg (tab. 2). Statystycznie istotne straty lizyny reaktywnej odnotowano w efekcie 20-minutowej ekspozycji na warunki przetwarzania nasion odmiany Progres, w nasionach odmian Augusta i Aldana wystąpiły one po 30 min. Dwukrotne autoklawowanie w ciągu 30 min spowodowało dalszy ubytek lizyny reaktywnej, w przypadku nasion odmiany Aldana i Progres zawartość tego składnika była statystycznie istotnie mniejsza w porównaniu z zawartością w nasionach przetwarzanych 20 min. Lizyna reaktywna w nasionach odmiany Augusta okazała się najbardziej odporna na obróbkę termiczną. Jej straty nawet po dwukrotnym 30-minutowym autoklawowaniu wyniosły 8 %, natomiast w nasionach odmian Aldana i Progres straty odnotowano już po 20 min obróbki i wyniosły odpowiednio 8 i 12 %. Najmniejsza końcowa zawartość lizyny reaktywnej była w nasionach odmiany Progres i wyniosła 76 %, w nasionach odmiany Aldana było to 81 % zawartości początkowej. W porównaniu z wynikami uzyskanymi przez Žilić i wsp. [26] w przypadku odmian serbskich, nasiona krajowych odmian soi okazały się bardziej wrażliwe na autoklawowanie niż odmiana Bosa, w której nie zaszły istotne zmiany zawartości lizyny reaktywnej nawet po 30 min procesu oraz odporniejsze od odmiany ZPS 015, w nasionach której znaczące straty lizyny reaktywnej odnotowano już po 10 min procesu. Qin i wsp. [19] stwierdzili, że toastowanie nasion soi (temp. 136 °C, czas 10 min) w podwyższonej wilgotności spowodowało degradację od 7 do 16 % omawianego składnika. W przypadku nasion Inianki wyższa temperatura przetwarzania (165 °C) w ekstruderze nie wpłynęła na obniżenie reaktywności lizyny [5].

Tabela 2

Zawartość lizyny reaktywnej w nasionach soi [g/kg s.m.].
Content of reactive lysine in soybean seeds [g/kg of d.m.].

Czas procesu [min] Processing time [min]	Odmiana soi / Soybean variety					
	Augusta		Aldana		Progres	
	\bar{x} SD	Ubytek Decrease [%]	\bar{x} SD	Ubytek Decrease [%]	\bar{x} SD	Ubytek Decrease [%]
0	19,7 a 0,35	0	16,6 a 0,85	0	19,0 a 0,64	0
10	19,4 ab 0,15	2	15,9 a 0,15	4	19,0 a 0,21	0
20	18,7 ab 0,81	5	15,2 ab 0,56	8	16,7 b 0,20	12
30	18,7 b 0,30	6	14,4 bc 0,20	13	14,2 c 0,71	25
2×30	18,2 b 0,45	8	13,4 c 0,55	19	14,4 c 0,35	24

a, b, c - różnice statystycznie istotne w kolumnach przy $p \leq 0,05$ / significant differences in columns, with $p \leq 0.05$

Analiza współczynników regresji liniowej (tab. 3) w równaniach opisujących zależność zawartości lizyny reaktywnej w badanym materiale od czasu procesu pozwala stwierdzić, że wydłużenie czasu autoklawowania nasion soi o 10 min może powodować spadek zawartości tego biologicznie czynnego związku średnio o 0,9 g/kg s.m. nasion.

Tabela 3

Zależność zawartości lizyny reaktywnej (Lr) [g/kg s.m.] od czasu procesu autoklawowania (t) [min].
Relationship between the content of reactive lysine (Lr) [g/kg d.m.] and the time of autoclaving process (t) [min].

Odmiana soi Soybean variety	Współczynnik korelacji Correlation coefficient (r)	Równanie regresji Regression equation
Augusta	-0,94	$Lr = -0,04 \cdot t + 19,68$
Aldana	-0,99	$Lr = -0,07 \cdot t + 16,62$
Progres	-0,93	$Lr = -0,17 \cdot t + 19,73$

Tabela 4

Aktywność ureazy w nasionach soi [mgN/ g·min].
Ureasic activity in soybean seeds [mgN/ g·min].

Czas procesu Processing time [min]	Odmiana soi / Soybean variety					
	Augusta		Aldana		Progres	
	\bar{x} SD	Ubytek Loss [%]	\bar{x} SD	Ubytek Loss [%]	\bar{x} SD	Ubytek Loss [%]
0	6,62 a 0,07	0	8,09 a 0,03	0	8,04 a 0,02	0
10	2,15 b 0,03	67,5	5,02 b 0,03	38,0	4,97 b 0,05	37,2
20	0,25 c 0,05	96,2	0,31 c 0,07	96,2	0,20 c 0,10	97,5
30	-	100	-	100	-	100
2 x 30	-	100	-	100	-	100

a, b, c - różnice statystycznie istotne w kolumnach przy $p \leq 0,05$ / statistically significant differences in the columns at $p \leq 0.05$

Tempo spadku aktywności ureazy było podobne w nasionach odmian Aldana i Progres (tab. 4). Aktywność enzymu zmniejszyła się po 10 min o ok. 38 %, a po 20 min ok. 96 %. W nasionach odmiany Augusta straty aktywności wyniosły odpo-

wiednio ok. 67 i 96 %. Dezaktywację ureazy stwierdzono we wszystkich próbach po 30 min przetwarzania. Zalecany dla materiałów paszowych poziom (<0,4 mgN/g·min) [22] uzyskano więc po 20 min autoklawowania. Podobne zmiany aktywności ureazy, przy tej samej temperaturze procesu, odnotowali Herkelman i wsp. [3]. W przypadku poddania nasion soi autoklawowaniu w temp. 125 °C Yin i wsp. [25] stwierdzili dezaktywację ureazy po 5 min.

Wnioski

1. Autoklawowanie nasion soi wpłynęło na istotne zmniejszenie zawartości lizyny reaktywnej w nasionach odmiany Progres po 20 min procesu, a w nasionach odmian Augusta i Aldana po 30 min.
2. Aktywność ureazy uległa obniżeniu po 10 min procesu w przypadku każdej badanej odmiany nasion soi.
3. Zastosowany proces przetwarzania w temp. 121 °C przez 20 min pozwolił na uzyskanie akceptowanego poziomu aktywności ureazy we wszystkich badanych odmianach nasion soi, a przedłużanie procesu prowadziło do spadku zawartości lizyny reaktywnej i w konsekwencji obniżało wartość odżywczą białka uzyskanego produktu.

Literatura

- [1] Ajandouz E.H., Tchiakpe L.S., Dalle Ore F., Benajiba A., Puigserver A.: Effects of pH on caramelization and Maillard reaction kinetics in fructose-lysine model system. *J. Food Sci.*, 2001, **66** (7), 926-931.
- [2] Davies M.G., Thomas A.J.: An investigation of hydrolytic techniques for the amino acid of food-stuffs. *J. Sci. Food Agric.*, 1973, **24** (12), 1525-1540.
- [3] Herkelman K.L., Cromwell G.L., Stahly T.: Effects of heating time and sodium metabisulfite on the nutritional value of full-fat soybeans for chicks. *J. Anim. Sci.*, 1991, **69**, 4477-4486.
- [4] Gujska E., Khan K.: Effect of extrusion variables on amino acids, available lysine and in vitro protein of the extrudates from pinto bean (*Phaseolus vulgaris*). *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, 2002, **11/52** (1), 39-43.
- [5] Jaśkiewicz T., Matyka S., Sagan A.: The influence of extrusion on the content of chosen nutrients in false flax materials. *Pol. J. Nat. Sci.*, 2006, **Suppl. 3**, 67-72.
- [6] Klebaniuk R.: Nutritional and mineral values of different types of soya bean. *Pol. J. Environ. Stud.*, 2007, **16** (3A), 120-123.
- [7] Matyka S.: Rutynowa metoda oznaczania składu i zawartości kwasów tłuszczowych w mieszankach i komponentach paszowych. *Biul. Inf. Przem. Pasz.*, 1976, **15**, 38-46.
- [8] Matyka S.: Towaroznawstwo materiałów paszowych i dodatków paszowych. Wyd. WIP AR, Lublin 2007.
- [9] Monari S.: Fullfat soya handbook.. American Soybean Association, Brussels, Belgium, 1993, pp. 11-12.
- [10] Naranjo G.B., Malec L.S., Vigo M.S.: Reducing sugars effect on available lysine loss of casein by moderate heat treatment. *Food Chem.*, 1998, **62** (3), 309-313.

- [11] Official Methods of Analysis of the Association of Analytical Chemists. Kenneth Helrich (Ed.) 15 th ed., Arlington, Virginia, USA, 1990.
- [12] Panthee D.R., Pantalone V.R., Saxton A.M.: Modifier QTL for fatty acid composition in soybean oil. *Euphytica*, 2006, **152**, 67-73.
- [13] PN-EN ISO 659: 1999. Nasiona oleiste. Oznaczanie zawartości oleju. (Metoda odwoławcza).
- [14] PN-ISO 5983:2000. Pasze. Oznaczanie zawartości azotu i obliczanie zawartości białka ogólnego.
- [15] PN-ISO 6491:2000. Pasze. Oznaczanie zawartości fosforu – metoda spektrometryczna.
- [16] PN-ISO 749:2001. Śruta nasion oleistych. Oznaczanie popiołu całkowitego.
- [17] PN-EN ISO 6869:2002. Pasze. Oznaczanie zawartości wapnia, miedzi, żelaza, magnezu, manganu, potasu, sodu i cynku metodą absorpcyjnej spektrometrii atomowej.
- [18] PN-ISO 5506:2002. Produkty sojowe. Oznaczanie aktywności ureazy.
- [19] Qin G.X., Verstegen M.W.A., van der Poel A.F.B.: Effect of temperature and time during steam treatment on the protein quality of full-fat soybeans from different origins. *J. Sci. Food Agr.*, 1998, **77**, 393-398.
- [20] Ramírez-Jiménez A., García-Villanova B., Guerra-Hernández E.: Effect of storage conditions and inclusion of milk on available lysine in infant cereals. *Food Chem.*, 2004, **85**, 239-244.
- [21] Rani A., Kumar V., Verma S.K., Shakya A.K., Chauhan G.S.: Tocopherol content and profile of soybean: genotypic variability and correlation studies. *J. Amer. Oil Chem. Soc.*, 2007, **84**, 377-383.
- [22] Rozporządzenie MRiRW z dn. 19.01.2005 r. w sprawie materiałów paszowych wprowadzonych do obrotu. *Dz. U.* 2005 r. Nr 16, poz. 137.
- [23] Schram E., Moore S., Bigwood E.J.: Chromatographic determination of cystine as cytic acid. *Biochem. J.*, **57**, 33-37.
- [24] Smulikowska S., Rutkowski A.: Zalecenia żywieniowe i wartość pokarmowa pasz – Normy Żywnienia Drobiu. Instytut Fizjologii i Żywnienia Zwierząt im. Jana Kielanowskiego. PAN, Jabłonna 2005.
- [25] Yin Y.L., Zhong H.Y., Huang R.L., Cheng X.S.: Effects of autoclaving on urease activity, trypsin inhibitors and ileal digestibility of crude protein in jack bean, field bean, and soybean for growing-finishing pigs. *J. Anim. Physiol. An. N.*, 1993, **1(2)**, 65-75.
- [26] Žilić S.M., Božović I.N., Savić S., Šobajić S.: Heat processing of soybean kernel and its effect on lysine availability and protein solubility. *Cent. Eur. J. Biol.*, 2006, **1(4)**, 572-583.

EFFECT OF AUTOCLAVING TIME ON THE CONTENT OF REACTIVE LYSINE IN AUTOCLAVED SEEDS OF LOCAL SOYBEAN VARIETIES

S u m m a r y

There are various indices used to assess the effect of thermal processing conditions on nutritional value, however, there are only little analyses the results of which refer to the content of reactive lysine (with a free ϵ -amine group). The following was determined in seeds of 3 soybean types (Augusta, Aldana, and Progres): content of basic components, amino acids, and reactive lysine; composition of fatty acids and mineral components; and ureasic activity. The seeds were autoclaved at a temperature of 121 °C during 10, 20, 30, and 2×30 minute periods and the content of reactive lysine was determined therein. After the seeds of the Progres variety have been exposed to the processing conditions for 20 minutes, statistically significant losses of reactive lysine were found in those seeds, whereas in the seeds of the Augusta and Aldana varieties showed such losses after having been autoclaved for 30 minutes. It was found that the autoclaving process of soybean seeds resulted in a significant decrease in the ureasic activity.

Key words: soybean seeds, varieties, reactive lysine, autoclaving 