

DOROTA KUCHARCZAK, ŁUKASZ MASEWICZ,
JOANNA LE THANH-BLICHAZ, HANNA M. BARANOWSKA

WŁAŚCIWOŚCI MOLEKULARNE WODY HYDRATACYJNEJ W ŻELACH ACETYLOWANEJ SKROBI ZIEMNIACZANEJ

Streszczenie

Celem pracy było określenie wpływu stopnia acetylacji skrobi ziemniaczanej na wiązanie wody w sporządzonych żelach skrobiowych. Przeprowadzono pomiary czasów relaksacji spin-sieć T_1 i spin-spin T_2 metodą niskopolewego magnetycznego rezonansu jądrowego (NMR) oraz oznaczono aktywność wody a_w w żelach skrobi ziemniaczanej acetylowanej. W badaniach użyto polimeru o znanym stopniu podstawienia. Pomiary przeprowadzono w układach o zawartości skrobi w zakresie $0,02 \div 0,10$ g/g. Wyniki pomiarów aktywności wody posłużyły do określenia współczynnika hydratacji skrobi, definiowanego jako masa wody związanej z 1 g biopolimeru. Stwierdzono, że zastosowana modyfikacja skrobi wpłynęła na zmniejszenie wartości jej hydratacji. Najmniejszym współczynnikiem hydratacji charakteryzowała się skrobia o stopniu podstawienia wynoszącym 0,06. Na podstawie wartości czasów relaksacji określono parametry charakteryzujące dynamikę molekularną frakcji wody hydratującej polimer. Określona szybkość relaksacji spin-spin molekuł wody hydratacyjnej malała wraz ze wzrostem ilości grup acetylowych wymieniających grupy hydroksylowe. Oznacza to ograniczenie ilości molekuł wody związanej w sieci polimerowej na skutek przewagi oddziaływań polimer-polimer nad oddziaływaniami polimer-woda.

Słowa kluczowe: hydratacja, czasy relaksacji, woda hydratacyjna, aktywność wody, skrobia acetylowana

Wprowadzenie

Skrobia natywna cechuje się ograniczonymi możliwościami stosowania w przemyśle z uwagi na swoje cechy fizykochemiczne, dlatego częściej używa się skrobi modyfikowanych. W praktyce prowadzi się modyfikacje mające na celu pozyskanie produktu o zaprogramowanych, pożądanym właściwościach [8, 11]. Skutkiem tego

*Inż. D. Kucharczak, mgr inż. Ł. Masewicz, dr hab. H. M. Baranowska, Katedra Fizyki, Wydz. Nauk o Żywności i Żywieniu, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, ul. Wojska Polskiego 38/42, 60-637 Poznań, dr inż. J. Le Thanh-Blicharz, Instytut Biotechnologii Przemysłu Rolno-Spożywczego, Oddział Koncentratów Spożywczych i Produktów Skrobiowych, ul. Starołęcka 40, 61-361 Poznań
Kontakt: hmba@up.poznan.pl*

jest otrzymywanie wciąż nowych modyfikatów skrobiowych. Kleiki natywnej skrobi (niepoddanej modyfikacji) wykazują skłonność do retrogradacji i w konsekwencji do synerezy. Modyfikacje zapobiegają tym zjawiskom, a dodatkowo polepszają właściwości utworzonych żeli.

Najczęściej wyznaczane są parametry określające właściwości lepkie kleików lub żeli skrobiowych [1, 6], wodochłonność i rozpuszczalność skrobi [8], podatność na retrogradację. Parametry te charakteryzują właściwości żeli biopolimerowych, które zależą od utworzonej sieci polimerowej. Nie opisują jednak właściwości fazy ciągłej żelu (wody) oraz wzajemnych oddziaływań woda-polimer na poziomie molekularnym. W wodnych zawiesinach skrobi w niskiej temperaturze następuje hydratacja skrobi zarówno na powierzchni granul [3], jak i w ich wnętrzu [10]. Wzrost temperatury skutkuje trwałymi zmianami konformacji [3]. Na tym etapie następują zmiany wiązania wody ze skrobią. Zmiany te determinują wiązanie wody w układzie po utworzeniu żelu.

Celem pracy było określenie wpływu stopnia acetylacji skrobi ziemniaczanej na wiązanie wody w sporządzonych żelach skrobiowych.

Material i metody badań

Materiałem doświadczalnym była skrobia ziemniaczana Superior Standard (PPZ Trzemeszno, Polska).

Acetylowanie skrobi wykonywano przy użyciu bezwodnika kwasu octowego. Reakcję acetylowania prowadzono w temp. 20 ± 2 °C przy pH = 8,5 ÷ 9,5. Po zakończeniu reakcji zawiesinę doprowadzano do pH = 7 i dwukrotnie przemywano w celu wypłukania nieprzereagowanego bezwodnika octowego. Skrobię odfiltrowywano przy użyciu próżniowego zestawu filtracyjnego i suszono w temp. 20 ± 2 °C przez 48 h.

Zawartość grup acetylowych oznaczano zgodnie z metodą zalecaną przez JECFA [9]. W tym celu grupy acetylowe obecne w skrobi hydrolizowano za pomocą wodorotlenku sodu, a nadmiar użytego ługu miareczkowano alkacymetrycznie za pomocą kwasu solnego. Pomiar wykonywano w czterech powtórzeniach, a wyniki podano jako wartości średnie. Próbą obniesienia była skrobia ziemniaczana natywna.

W tab. 1. przedstawiono wybrane właściwości skrobi użytych do badań.

Przygotowano układy modelowe o zawartości skrobi [g/g]: 0,02, 0,04, 0,06, 0,08 i 0,10. Zawiesiny skrobi w wodzie przygotowywano w pojemnikach o objętości 120 ml. Ogrzewano je w temp. 90 °C, kontrolowanej za pomocą termostatu, przez 45 min. Po przygotowaniu próbki umieszczano w naczyniach pomiarowych zabezpieczonych parafilmem. Tak przygotowane próbki stabilizowano w temp. 20 ± 2 °C. Po 24 h od sporządzenia oznaczano aktywność wody i wykonywano pomiary NMR.

Tabela 1. Wybrane właściwości skrobi

Table 1. Selected properties of starch

Próba Sample	Zawartość suchej masy Dry mass content [%]	Zawartość grup acetylowych Acetyl group content [%]
Skrobia natywna / Native starch	83,3	-
Skrobia acetylowana DS 0,02 DS 0.03 acetylated starch	89,5	0,43
Skrobia acetylowana DS 0,04 DS 0.07 acetylated starch	89,7	0,97
Skrobia acetylowana DS 0,06 DS 0.10 acetylated starch	89,3	1,45
Skrobia acetylowana DS 0,08 DS 0.13 acetylated starch	88,2	2,01
Skrobia acetylowana DS 0,10 DS 0.16 acetylated starch	86,7	2,38

Pomiar aktywności wody wykonywano przy użyciu analizatora dyfuzji i aktywności wody ADA-7 (CORABID, Polska), z systemem automatycznej rejestracji przebiegów czasowych utraty wody z badanych żeli. Przed pomiarem temperaturę stabilizowano z dokładnością do $\pm 0,1$ °C do wartości 20 °C i komorę osuszano do aktywności wody $a_w = 0,06$. Czas trwania pomiaru ustalono na 600 s. Badania wykonywano w 3 powtórzeniach, a wyniki podano jako wartości średnie.

W wodnych roztworach związków niskocząsteczkowych aktywność wody (a_w) zmienia się wraz ze zmianą stężenia substancji rozpuszczonej (X) [12]. Zgodnie z termodynamiczną teorią Flory'ego-Hugginsa dotyczącą roztworów polimerów, parametr X można zastąpić objętością (V) [5]. Opisu zależności pomiędzy rosnącymi stężeniami a aktywnością wody dokonano za pomocą równania (1), biorąc pod uwagę obecność wody hydratacyjnej w układzie. Zmiana potencjału chemicznego wody w odniesieniu do wody wolnej jest determinowana wyłącznie przez zawartość wody hydratacyjnej (n_h/n). Frakcja wody hydratacyjnej jest funkcją stężenia substancji rozpuszczonej (c):

$$\frac{n_h}{n} = H \frac{c^2}{(1-c)^2} \quad (1)$$

gdzie n_h oznacza liczbę moli wody hydratacyjnej obecnej w badanym układzie, a H – hydratację wyrażającą masę wody bezpośrednio związanej z 1 g polimeru.

Stąd aktywność wody, biorąc pod uwagę obecność dynamicznej frakcji wody hydratacyjnej, można opisać równaniem:

$$a_w = a_{w0} \exp\left(\kappa H \frac{c^2}{(1-c)^2}\right) \quad (2)$$

gdzie: a_{w0} jest aktywnością wody przy zerowym stężeniu polimeru, κ jest parametrem oddziaływania wynikającym z teorii Flory'ego-Hugginsa, H jest hydratacją wyrażoną w g wody przypadających na 1g skrobi (współczynnik hydratacji), c jest stężeniem skrobi wyrażonym w g/g.

Badania metodą NMR przeprowadzono przy użyciu impulsowego spektrometru pracującego przy częstotliwości 15 MHz (ELLAB, Poznań) w kontrolowanej temp. 20 °C. Objętość próbki wynosiła 0,14 ml. Badania wykonywano w 3 powtórzeniach, a wyniki podano jako wartości średnie.

W układach biologicznych zamiast przedstawiania wyników w postaci wartości czasu relaksacji (T_1 lub T_2) wykorzystuje się szybkość relaksacji (R_1 lub R_2). Szybkość relaksacji, z jaką molekuly wody w żelu wracają do stanu równowagi termodynamicznej, jest odwrotnością mierzonego w doświadczeniu czasu relaksacji.

W celu określenia parametrów charakteryzujących badane układy, analizowano zmiany szybkości relaksacji w funkcji stężenia skrobi. Wykorzystano do tego znane wcześniej zależności szybkości relaksacji od stężenia biopolimerów [2]. Stężeniowe zależności szybkości relaksacji dopasowano do równania Zimmermana i Brittina [4]:

$$R_1 = p_w R_w + p_H R_H \quad (3)$$

gdzie: R_w – szybkość relaksacji wody wolnej, R_H – szybkość relaksacji wody hydratacyjnej, p_w , p_H – frakcje protonów w obu podukładach wody $p_w + p_H = 1$

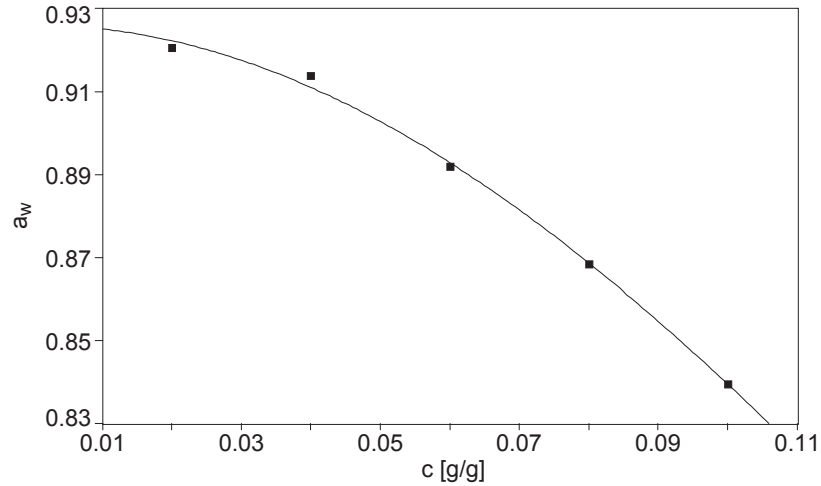
Frakcja wody hydratacyjnej p_H zależy od stężenia polimeru (c) w żelu:

$$p_H = H \frac{c}{1-c} \quad (4)$$

Lepkość maksymalną 3,3-procentowych zawiesin skrobiowych wyznaczano przy użyciu aparatu Brabendera (Brabender® GmbH & Co. KG, Niemcy). Zastosowano puszkę pomiarową – 700 Nm. Temperatura początkowa układów wynosiła 25 °C. Zawiesiny ogrzewano z szybkością 1,5 °C/min do temp. 92,5 °C. Badania wykonywano w 3 powtórzeniach, a wyniki podano jako wartości średnie.

Wyniki i dyskusja

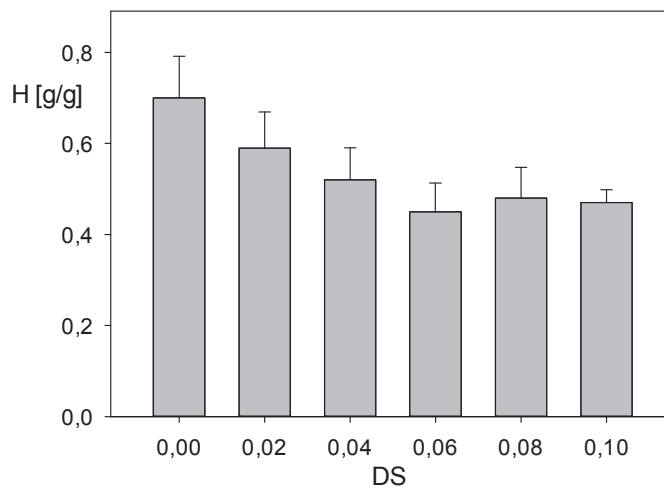
Na rys. 1. przedstawiono wybraną zależność aktywności wody w badanych układach w funkcji stężenia skrobi. Linia ciągła przedstawia dopasowanie równania (2) do danych doświadczalnych. We wszystkich analizowanych układach uzyskano zgodność wyników doświadczenia z przebiegiem teoretycznym określoną współczynnikiem determinacji $R^2 = 0,99 \div 0,98$.



Rys. 1. Zależność aktywności wody od stężenia skrobi w żelu skrobi acetylowanej DS = 0,06

Fig. 1. Dependence of water activity on starch concentration in acetylated starch gel DS = 0,06

Wyniki pomiarów aktywności wody w żelach skrobiowych wykorzystano do określenia hydratacji H skrobi. Na rys. 2. przedstawiono zmiany wartości tego parametru w zależności od stopnia podstawienia skrobi.



Objaśnienie: / Explanatory note:

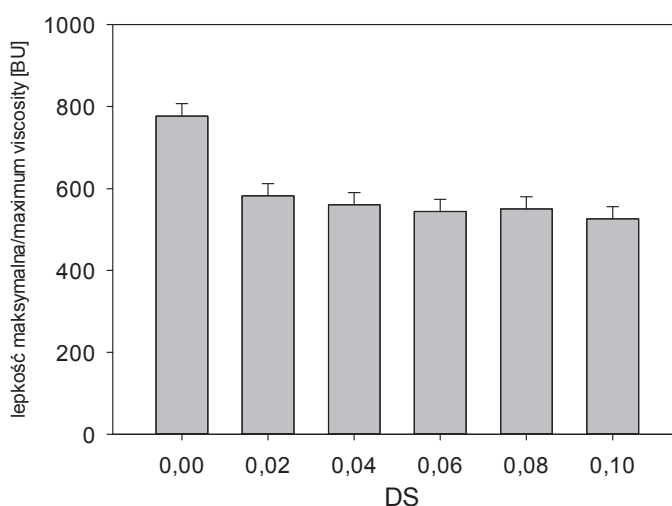
Na rysunku zamieszczono wartości średnie \pm odchylenie standardowe / On the figure shown the mean values \pm standard deviation.

Rys. 2. Zmiany współczynnika hydratacji (H) skrobi ziemniaczanej acetylowanej w zależności od stopnia acetylacji (DS)

Fig. 2. Changes in hydration coefficients (H) of acetylated starch depending on acetylation degree (DS)

Stwierdzono, że w porównaniu ze skrobią natywną, hydratacja polimeru modyfikowanego była mniejsza. Zaobserwowano, że przy stopniu podstawienia wynoszącym 0,06 ze skrobią związana była najmniejsza ilość molekuł wody.

Na podstawie zmian wartości lepkości maksymalnej w zależności od stopnia podstawienia (rys. 3) stwierdzono, że kleiki skrobi modyfikowanej odznaczały się mniejszą lepkością niż kleiki skrobi natywnej. Pietrzyk i wsp. [11] dyskutując lepkość graniczną w kleikach skrobi modyfikowanych wiążą zmniejszenie wartości tego parametru ze zmianami masy cząsteczkowej. Fortuna i wsp. [7] wskazują, że zmniejszenie lepkości maksymalnej skrobi modyfikowanej w porównaniu z natywną wynika z ograniczenia pęcznienia granул skrobiowych.



Objaśnienie jak pod rys. 2. / Explanatory note as in Fig. 2.

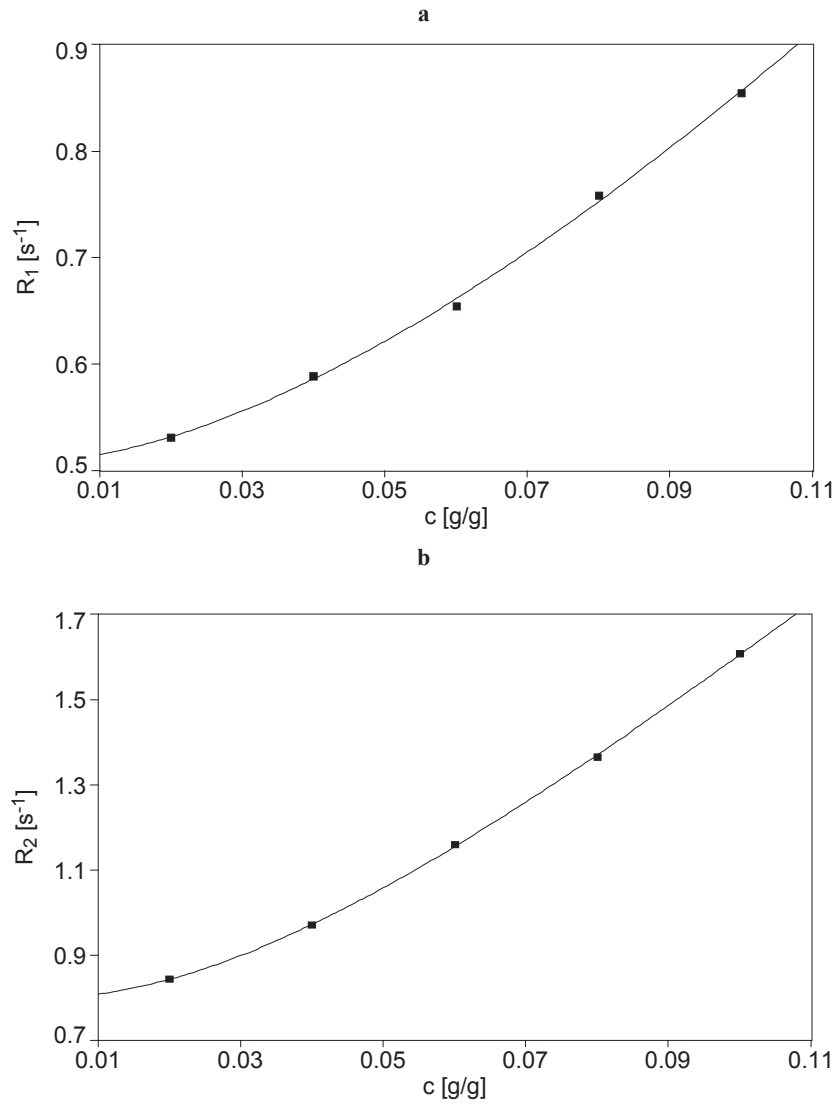
Rys. 3. Zmiany lepkości maksymalnej w zawiesinach skrobiowych, analizowanych wiskografem Brabendera

Fig. 3. Changes in maximum viscosity of starch suspensions analyzed using Brabender viscosograph

Uzyskane wyniki mogą wskazywać, że zastosowanie modyfikacji chemicznej skrobi ziemniaczanej ograniczyło wiązanie wody z polimerem, co skutkowało mniejszą lepkością zawiesin cząstek skrobi.

Żele skrobiowe charakteryzują się jednym czasem relaksacji spin-sieć T_1 i jednym czasem relaksacji spin-spin T_2 . Oznacza to szybką wymianę chemiczną pomiędzy frakcjami protonów. Wartości obu czasów relaksacji maleją ze wzrostem stężenia skrobi. Nie stwierdzono żadnych zależności pomiędzy stopniem podstawienia a wartościami czasów relaksacji.

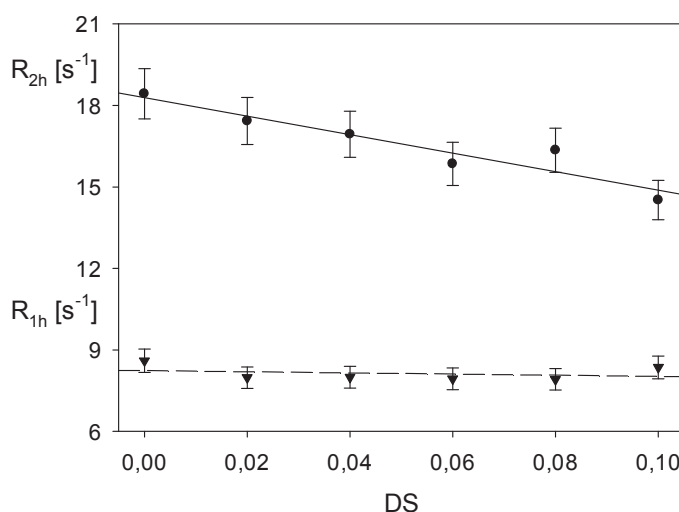
Na rys. 4. przedstawiono zmiany szybkości relaksacji spin-sieć R_1 i spin-spin R_2 w zależności od stężenia skrobi w wybranych badanych żelach skrobiowych.



Rys. 4. Zależności szybkości relaksacji spin-sieć R_1 (a) i spin-spin R_2 (b) od stężenia skrobi w żelach skrobi acetylowanej DS = 0,08

Fig. 4. Dependencies of spin-lattice R_1 (a) and spin-spin R_2 (b) relaxation rates on starch concentration in DS 0.08 starch gels

Wraz ze wzrostem stężenia skrobi zwiększała się szybkość relaksacji spin-sieć R_1 oraz spin-spin R_2 [14]. Zauważono, że szybkość relaksacji spin-spin była znacznie większa niż spin-sieć. Spowodowane to było faktem, że szybkość, z jaką przebiegały procesy relaksacyjne związane z przekazywaniem energii między spinami, była większa niż ta związana z procesami, w których przekazywanie energii odbywa się na drodze spin – otoczenie zwane siatką. Ma to związek z ograniczoną reorientacją cząsteczek wody stanowiących rozpuszczalnik sieci polimerowej.



Objaśnienie jak pod rys. 2. / Explanatory note as in Fig. 2.

Rys. 5. Zmiany szybkości relaksacji spin-sieć R_1 i spin-spin R_2 frakcji wody hydratujucej skrobię w zależności od stopnia podstawienia

Fig. 5. Changes in spin-lattice R_{1h} and spin-spin R_{2h} relaxation rates of starch hydrating water fractions depending on degree of substitution

Obserwowano wzrost obu szybkości relaksacji wraz ze wzrostem stężenia polimeru. Ma to związek z ograniczeniem mobilności molekuł wody proporcjonalne do stężenia biopolimeru [2]. Na poziomie molekularnym podstawienie grup hydroksylowych grupami acetylowymi zmniejszyło ilość molekuł wody przyłączonych do polimeru. Rezultaty te znajdują potwierdzenie w wynikach pomiarów niskopolewego NMR. Na rys. 5. przedstawiono zależności szybkości relaksacji spin-sieć R_{1h} i spin-spin R_{2h} od stopnia podstawienia. Wraz ze wzrostem stopnia podstawienia grup funkcyjnych w skrobi ziemniaczanej malała szybkość relaksacji spin-spin. Relaksacja spin-sieć molekuł wody hydratacyjnej nie zmienia się istotnie. Molekuły wody zawarte w sieci biopolimerowej, tworząc klastry wody niezwiązanej z polimerem, powodują

znaczące zmniejszenie lepkości maksymalnej oznaczanej metodą makroskopową. Wyjaśnia to również obserwowany wcześniej [7] wzrost parametru określającego zdolność wiązania wody przez modyfikowany polimer. Zawartość niepolarnych grup acetylowych blokuje dostęp wody do polimeru. Ograniczenie ilości molekuł wody związanej w sieci polimerowej na skutek wprowadzenia grup acetylowych spowodowało wzrost konkurencyjności oddziaływań polimer-polimer nad oddziaływaniami polimer-woda. Przejawia się to zmniejszeniem wartości szybkości relaksacji spin-spin molekuł wody hydratacyjnej.

Powyższe wyniki uzyskane metodą niskopolowego NMR poszerzają wiedzę na temat interakcji skrobi acetylowanych z wodą [13]. Ma to szczególnie istotne znaczenie w układach spożywczych, w których woda jest nieodzownym składnikiem.

Wnioski

1. Estryfikacja skrobi bezwodnikiem kwasu octowego zmienia makroskopowe właściwości fizykochemiczne żelu, takie jak lepkość maksymalna czy wiązanie wody w sieci żelu.
2. Wykorzystanie metody pomiaru aktywności wody pozwala na wyznaczenie hydratacji skrobi określonej jako ilość wody związanej bezpośrednio z biopolimerem. Jest to poszerzenie aplikacji metody analitycznej, powszechnie stosowanej w przemyśle.
3. Stwierdzono, że modyfikacja skrobi obniża wartość jej hydratacji. Skrobia o stopniu podstawienia wynoszącym 0,06 charakteryzuje się najniższą wartością hydratacji.
4. Zastosowanie metody niskopolowego magnetycznego rezonansu jądrowego do analizy wiązania wody w żelu poszerza wiedzę o właściwościach badanego biopolimeru. Określona, na podstawie wyników badań, szybkość relaksacji spin-spin maleje wraz ze wzrostem ilości grup acetylowych wymieniających grupy hydroksylowe.

Literatura

- [1] Adamczyk G., Krystyan M., Dobosz A., Sikora M.: Tiksotropowe właściwości skrobi. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2013, **6 (91)**, 16-31.
- [2] Baranowska H.M.: Charakterystyka żeli skrobiowych określona metodą niskopolowego magnetycznego rezonansu jądrowego. Wyd. UP w Poznaniu, Poznań 2012.
- [3] Baranowska H.M., Sikora M., Krystyan M., Tomasik P.: Contribution to understanding gelatinization of granular starch. In: *Starch recent advances in biopolymer science and technology*. Ed. by M. Fiedorowicz, E. Bertoff. Wyd. Oddział Małopolski PTTŻ, Kraków 2010.
- [4] Colsenet R., Mariette F., Cambert M.: NMR relaxation and water self-diffusion studies in whey protein solutions and gels. *J. Agric. Food Chem.*, 2005, **53**, 6784-6790.

- [5] Flory P.J.: Principles of Polymer Chemistry. Cornell Univ. Press, Ithaca, London 1983.
- [6] Fortuna T., Przetaczek I.: Wpływ sacharozy i jej zamienników na wybrane reologiczne właściwości handlowych skrobi modyfikowanych. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2008, **4** (59), 111-123.
- [7] Fortuna T., Gałkowska D., Juszczak L.: Porównanie właściwości reologicznych wybranych preparatów skrobi modyfikowanej. *Acta Sci. Pol., Technol. Aliment.* 2004, **1** (3), 21-32.
- [8] Krysińska P., Gałkowska D., Fortuna T.: Charakterystyka układów skrobi modyfikowanych uzyskanych z kukurydzy woskowej. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2008, **5** (60), 9-23.
- [9] Modified starches, Food Additives (uses other than as flavouring agents), Database of Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA). Dostęp w Internecie [20.03.2015]: <http://apps3.fao.org/jecfa/additive specs/docs/9/additive-0840.htm>.
- [10] Parker R., Ring S.G.: Aspects of the physical chemistry of starch. *J. Cereal Sci.*, 2001 **34**, 1-17.
- [11] Pietrzyk S., Fortuna T., Wojtanowska O.: Wpływ stopnia utlenienia skrobii ziemniaczanej na jej acetylację i właściwości fizykochemiczne. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2012, **6** (85), 54-65.
- [12] Poliszko S.: Właściwości wody w produktach spożywczych. Wyd. SGGW, Warszawa 1989, ss. 26-34.
- [13] Prochaska K., Kedziora P., Le Thanh J., Lewandowicz G.: Surface activity of commercial food grade modified starches. *Colloids Surfaces B* 2007, **60**, 187-194.
- [14] Raphaelides S.N., Georgiadis N.: Effect of fatty acids on the rheological behaviour of maize starch dispersions during heating. *Carbohydr. Polym.*, 2006, **65**, 81-92.

MOLECULAR PROPERTIES OF HYDRATION WATER IN GELS OF ACETYLATED STARCH

S u m m a r y

The objective of the research study was to determine the effect of acetylation of potato starch on binding water in starch gels produced. There were taken measurements of the spin-lattice T_1 and spin-spin T_2 relaxation times with the use of a low-field nuclear magnetic resonance (NMR); also, the water activity in acetylated starch gels was determined. A polymer with a known degree of substitution (DS) was utilized in the study. Those systems were measured where the content of starch ranged from 0.02 g/g to 0.10 g/g. The results of the water activity measured were used to determine the hydration coefficient of the starch defined as the weight of water associated with 1 g of biopolymer. It was found that the applied modification of starch caused the value of its hydration to decrease. The acetylated starch with a 0.06 degree of substitution was characterized by the lowest coefficient of hydration. On the basis of the relaxation time values, there were determined those parameters, which characterized the molecular dynamics of polymer hydrating water fraction. The determined spin-spin relaxation rate of hydration water molecules decreased with the increasing quantity of acetyl groups that exchanged hydroxyl groups. That fact means that the quantity of water molecules bound in the polymer network is reduced owing to the predominance of polymer-polymer interactions over the polymer-water interactions.

Key words: hydration, relaxation times, hydration water, water activity, acetylated starch 