

## Gluténmentes tészta minőségének javítása hemicellulóz hálózat kialakításával

Időszak: 2015. január 1. – 2018. június 30.

A célkitűzéseknek megfelelően elvégeztük hazai és külföldi köles, cirok, amaránt és quinoa és hajdina minták laboratóriumi hántolási és őrlési kísérleteit, az őrlemények frakcionálását, tápösszetéti adataik és technológiai tulajdonságainak jellemzését. A kiindulási problémát az jelentette, hogy a nagygabonákkal ellentétben a kis- és álgabonáknak nincs általánosan elfogadott laboratóriumi léptéki mintaelőkészítési módszertana, illetve technológiai minősítési eljárása. Ezért laboratóriumi rizshántoló és csiszoló berendezés segítségével kidolgoztuk a különböző szemméretű és morfológiájú alapanyagok hántolási és őrlési protokollját, meghatároztuk a különböző héj/magbelső arányhoz tartozó beállítási paramétereket. Meghatároztuk a különböző módon előállított őrlemények kémiai összetételét és vizsgáltuk antinutritív összetevők jelenlétének alakulását. A cirok és a köles esetében a fajthatások vizsgálata is megtörtént. A kísérlettervtől egyedül a hajdina esetében tértünk el. Itt ugyanis az alkalmazott kísérleti berendezés nem volt alkalmas laboratóriumi hántolás/őrlés elvégzésére. Ezt a bécsi partnerintézetünk közreműködésével, az ottani őrlőberendezések segítségével sikerült megoldani és a további kísérlete számára alkalmas teljes őrlemény és fehér lisztfrakciót előállítani.

Az egyes őrleményfrakciók táplálkozási szempontból fontos összetevői (fehérje, rost, ásványi anyag, lipid, stb.) értelemszerűen a magbelsőtől a héjdús frakciókig jellemzően, a nagygabonákhoz hasonlóan változtak minden esetben (1. táblázat). Természetesen a fajok, azon belül a fajták között is tapasztaltunk eltéréseket az összetételben, ami és szemtulajdonságokra (pl. szemkeménység) is visszavezethető. Az összetételt azonban ennél lényegesen nagyobb mértékben befolyásolta a laboratóriumi hántolási műveletek paramétereinek beállítása. Ezért kétféle eljárást (őrlés +szitálás, illetve a hántolás+őrlés+szitálás) is kidolgoztunk, illetve összehasonlítottunk. A kutatások szempontjából meghatározó cél, a gluténmentes modelltermékek szempontjából kívánatos, hogy a héjközeli frakciókban található bioaktív anyagok minél nagyobb hányadát az őrleményekben hagyjuk, ugyanakkor az ezzel járó kedvezőtlen táplálkozási és technológiai hatásokat minimalizáljuk.

1. táblázat: Köles és cirok fajták laboratóriumi őrlési és szeparálási eljárással kapott őrleményeinek összetétele

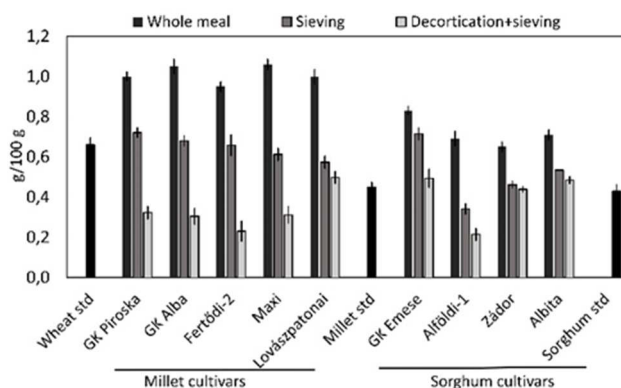
	Nyersfehérje (%)			Nyerszsír (%)			Hamu (%)		
	WM	S	D+S	WM	S	D+S	WM	S	D+S
Millet									
GK Piroska	12.7±0.4 <sup>a</sup>	11.2±0.3 <sup>a</sup>	11.6±0.2 <sup>a</sup>	3.87±0.02 <sup>a</sup>	0.60±0.09 <sup>a</sup>	1.28±0.20 <sup>a</sup>	2.93±0.05 <sup>b</sup>	0.42±0.03 <sup>ab</sup>	0.61±0.02 <sup>b</sup>
GK Alba	15.9±0.3 <sup>c</sup>	12.1±0.1 <sup>b</sup>	14.0±0.4 <sup>c</sup>	4.26±0.11 <sup>a</sup>	0.55±0.10 <sup>a</sup>	1.60±0.13 <sup>ab</sup>	2.50±0.12 <sup>a</sup>	0.41±0.01 <sup>ab</sup>	0.81±0.05 <sup>c</sup>
Fertődi-2	13.8±0.3 <sup>b</sup>	11.5±0.2 <sup>ab</sup>	12.8±0.1 <sup>b</sup>	4.10±0.19 <sup>a</sup>	1.14±0.12 <sup>bc</sup>	1.74±0.10 <sup>b</sup>	3.01±0.08 <sup>b</sup>	0.40±0.04 <sup>a</sup>	0.40±0.01 <sup>a</sup>
Maxi	15.2±0.5 <sup>c</sup>	13.1±0.3 <sup>c</sup>	14.6±0.3 <sup>c</sup>	3.89±0.24 <sup>a</sup>	0.87±0.12 <sup>ab</sup>	1.26±0.22 <sup>a</sup>	2.89±0.07 <sup>b</sup>	0.49±0.02 <sup>bc</sup>	0.38±0.04 <sup>a</sup>
Lovászpatonai	13.4±0.1 <sup>ab</sup>	11.4±0.2 <sup>a</sup>	12.6±0.1 <sup>b</sup>	4.10±0.22 <sup>a</sup>	1.44±0.11 <sup>c</sup>	1.77±0.14 <sup>b</sup>	2.93±0.03 <sup>b</sup>	0.51±0.04 <sup>c</sup>	0.55±0.07 <sup>b</sup>
Millet std		10.7±0.4			1.97±0.09			0.92±0.05	
Sorghum									
GK Emese	11.9±0.0 <sup>a</sup>	10.0±0.1 <sup>b</sup>	10.4±0.2 <sup>b</sup>	3.25±0.31 <sup>a</sup>	1.77±0.20 <sup>b</sup>	1.48±0.10 <sup>a</sup>	1.18±0.02 <sup>ab</sup>	0.64±0.03 <sup>b</sup>	0.43±0.02 <sup>ab</sup>
Alföldi-1	11.8±0.2 <sup>a</sup>	10.3±0.3 <sup>b</sup>	10.4±0.2 <sup>b</sup>	3.17±0.29 <sup>a</sup>	1.29±0.14 <sup>a</sup>	1.16±0.13 <sup>a</sup>	1.22±0.02 <sup>b</sup>	0.79±0.03 <sup>c</sup>	0.39±0.06 <sup>a</sup>
Zádor	12.7±0.3 <sup>b</sup>	10.2±0.1 <sup>b</sup>	11.2±0.1 <sup>c</sup>	3.59±0.11 <sup>a</sup>	1.94±0.19 <sup>bc</sup>	1.94±0.22 <sup>b</sup>	1.02±0.08 <sup>a</sup>	0.63±0.04 <sup>b</sup>	0.60±0.04 <sup>c</sup>
Albita	11.8±0.4 <sup>a</sup>	8.9±0.3 <sup>a</sup>	10.0±0.2 <sup>a</sup>	3.70±0.15 <sup>a</sup>	2.35±0.23 <sup>c</sup>	1.38±0.17 <sup>a</sup>	1.07±0.10 <sup>ab</sup>	0.58±0.03 <sup>a</sup>	0.51±0.00 <sup>bc</sup>
Sorghum std		11.2±0.3			2.02±0.13			0.67±0.04	
Wheat std		15.7±0.2			0.89±0.08			0.46±0.02	

WM: teljes őrlemény, S: őrlés+szitálás, D+S: hántolás+őrlés+szitálás

	Élelmi rost (%)			Keményítő (%)		
	WM	S	D+S	WM	S	D+S
Millet						
GK Piroska	15.8±0.6 <sup>b</sup>	5.6±0.3 <sup>bc</sup>	5.6±0.2 <sup>b</sup>	52.1±0.2 <sup>c</sup>	69.6±0.1 <sup>bc</sup>	67.3±0.2 <sup>d</sup>
GK Alba	14.2±0.3 <sup>a</sup>	4.6±0.4 <sup>a</sup>	5.0±0.2 <sup>a</sup>	51.9±0.2 <sup>c</sup>	71.1±0.6 <sup>c</sup>	66.3±0.4 <sup>c</sup>
Fertődi-2	17.6±0.4 <sup>c</sup>	6.6±0.2 <sup>cd</sup>	6.8±0.1 <sup>c</sup>	49.8±0.4 <sup>b</sup>	68.7±0.1 <sup>b</sup>	65.8±0.1 <sup>bc</sup>
Maxi	16.7±0.5 <sup>bc</sup>	4.6±0.5 <sup>a</sup>	4.9±0.3 <sup>a</sup>	48.9±0.3 <sup>b</sup>	69.0±0.6 <sup>b</sup>	65.2±0.3 <sup>b</sup>
Lováspatonai	19.9±0.5 <sup>d</sup>	7.2±0.7 <sup>d</sup>	7.6±0.1 <sup>d</sup>	46.9±0.4 <sup>a</sup>	66.6±1.0 <sup>a</sup>	65.5±0.2 <sup>a</sup>
Millet std	5.23±0.6			68.7±0.9		
Sorghum						
GK Emese	14.5±0.4 <sup>a</sup>	10.2±0.3 <sup>a</sup>	9.4±0.0 <sup>a</sup>	57.2±0.7 <sup>b</sup>	65.6±0.2 <sup>b</sup>	68.1±0.1 <sup>c</sup>
Alföldi-1	13.9±0.2 <sup>a</sup>	9.8±0.1 <sup>a</sup>	9.4±0.2 <sup>a</sup>	57.8±0.3 <sup>b</sup>	66.0±0.3 <sup>b</sup>	68.0±0.1 <sup>c</sup>
Zádor	17.4±0.5 <sup>b</sup>	11.0±0.4 <sup>b</sup>	11.2±0.1 <sup>c</sup>	52.9±0.8 <sup>a</sup>	64.1±0.7 <sup>a</sup>	62.7±0.1 <sup>a</sup>
Albita	13.8±0.6 <sup>a</sup>	9.6±0.3 <sup>a</sup>	9.9±0.0 <sup>b</sup>	57.1±0.1 <sup>b</sup>	66.1±0.8 <sup>b</sup>	65.9±0.0 <sup>b</sup>
Sorghum std	10.6±0.3			63.4±0.6		
Wheat std	4.5±0.4			66.5±0.5		

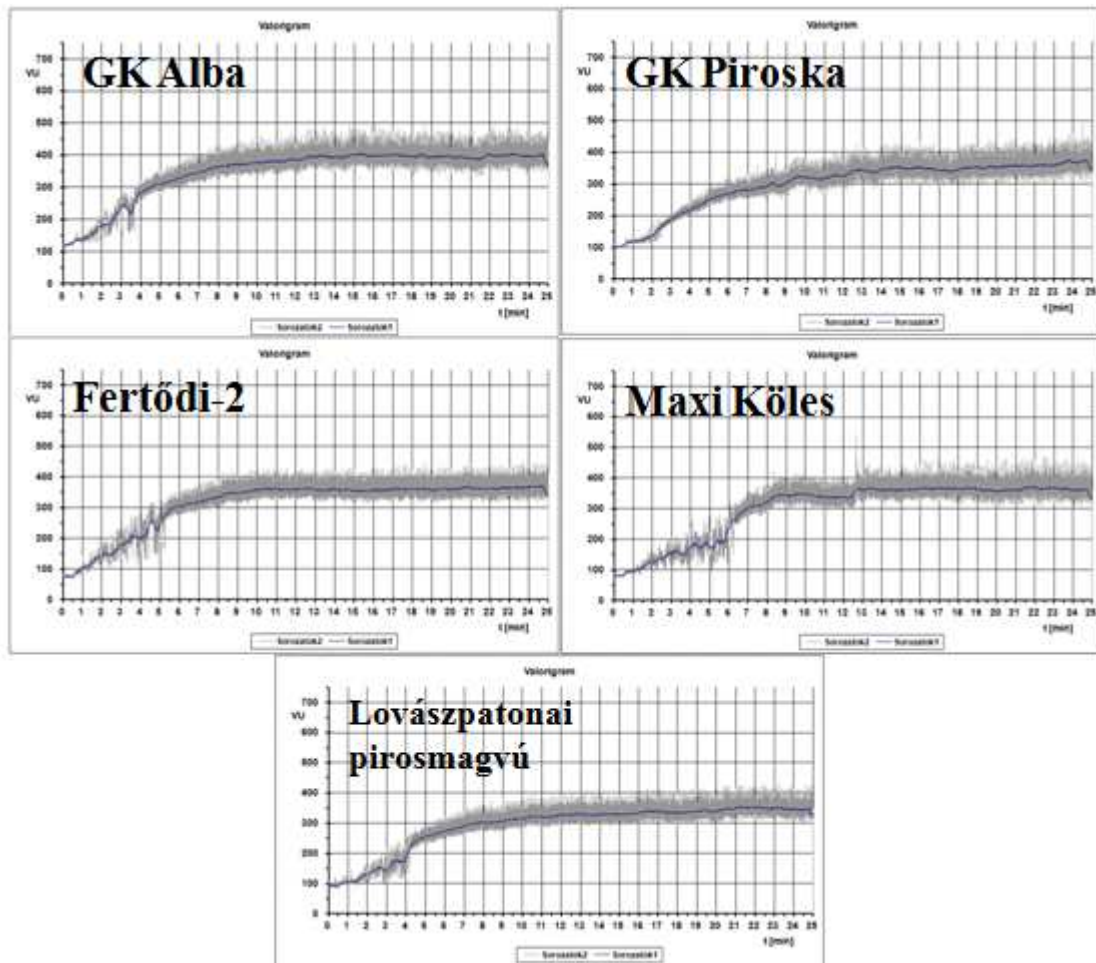
WM: teljes őrlemény, S: őrlés+szitálás, D+S: hántolás+őrlés+szitálás

Negatív táplálkozástani hatásként az antinutritív faktorok jelenlétét azonosíthatjuk a vizsgált fajoknál. Ennek monitorozására a fitinsav mérését választottuk. A fitinsav nem meglepő módon jól követhető jelzője a héj/magbelső arány változásának, és így a hántolás hatékonyságának is. Mérésével optimálható a hántolás mértéke, illetve őrlés esetén a kiörlési arány (1.ábra). Eredményeink alapján megállapítható, hogy a hajdina kivételével az egyszerűbb, az őrlést és a szitagéppel történő hántolást tartalmazó mintaelőkészítés elegendő lehet a vizsgálatokhoz szükséges őrleménytípusok előállításához.

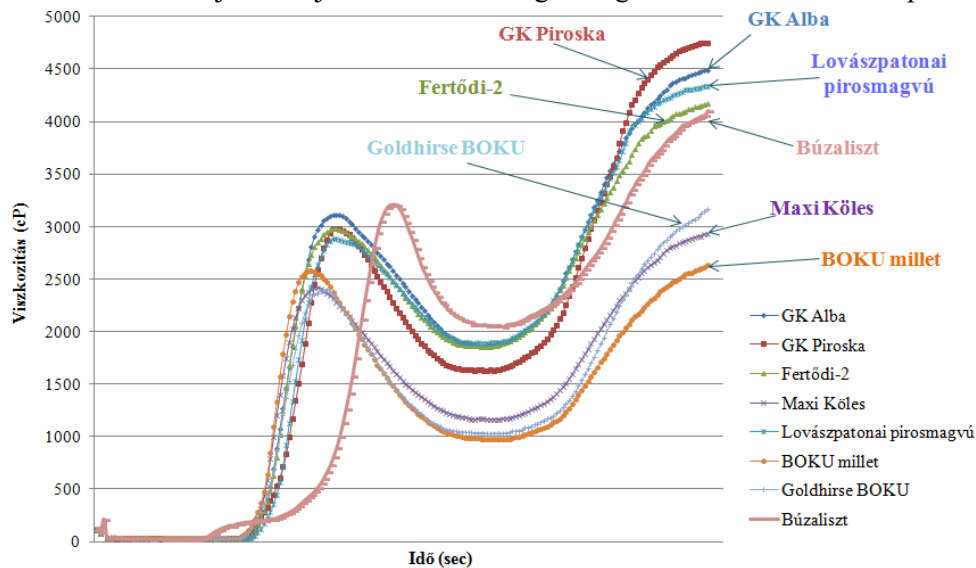


1.ábra: Köles és cirok kísérleti őrlemények fitinsavtartalmának változása a különböző őrlési eljárások függvényében (WM: teljes őrlemény; S: őrlés+szitálás, DS: hántolás+őrlés+szitálás)

A mintaelőkészítéshez hasonló kihívást jelent a kis- és álgabonaőrlemények technológiai szempontból fontos tulajdonságainak (pl. vízfelvétel, tésztaképzés, tészta reológiai tulajdonságai, végtermékteszték, stb.) jellemzése. Ugyanis ezen alapanyagok esetében nincs általánosan elfogadott eljárás és módszertan. Mivel a laboratóriumainkban a gabonaminősítésben, ezen belül elsősorban a búzaminősítésben jelenleg alkalmazott, többségében szabványosított módszerek és berendezések állnak rendelkezésre, feltételeztük, hogy ezek alkalmasak lehetnek a kisgabonaminták technológiai tulajdonságainak vizsgálatára. Elvégeztük valamennyi kísérleti őrlemény dagasztási és a viszkózus tulajdonságainak meghatározását micro-Doughlab, Rapid Visco Analyser (RVA) és Mixolab műszerek alkalmazásával. Vizsgálatainkban a fajok mellett az egyes fajták összehasonlítását is elvégeztük. Azt láttuk, hogy a kiválasztott reológiai vizsgálatokkal, megfelelő, de különböző fajok esetében eltérő kísérleti paraméterek megválasztása mellett a fajok, és ezen belül a fajták között jelentős eltérés mérhető a hidratációs folyamatokban, a liszt-víz rendszer állagában és viszkozitásban (2. és 3. ábra). Összességében tehát a kiválasztott módszerekkel a tésztarendszerek viselkedése jellemezhető, amely ad esélyt arra, hogy a kutatásunk fókuszában álló rostadagolás és enzimkezelés hatásai is követhetők ezekkel a módszerekkel.



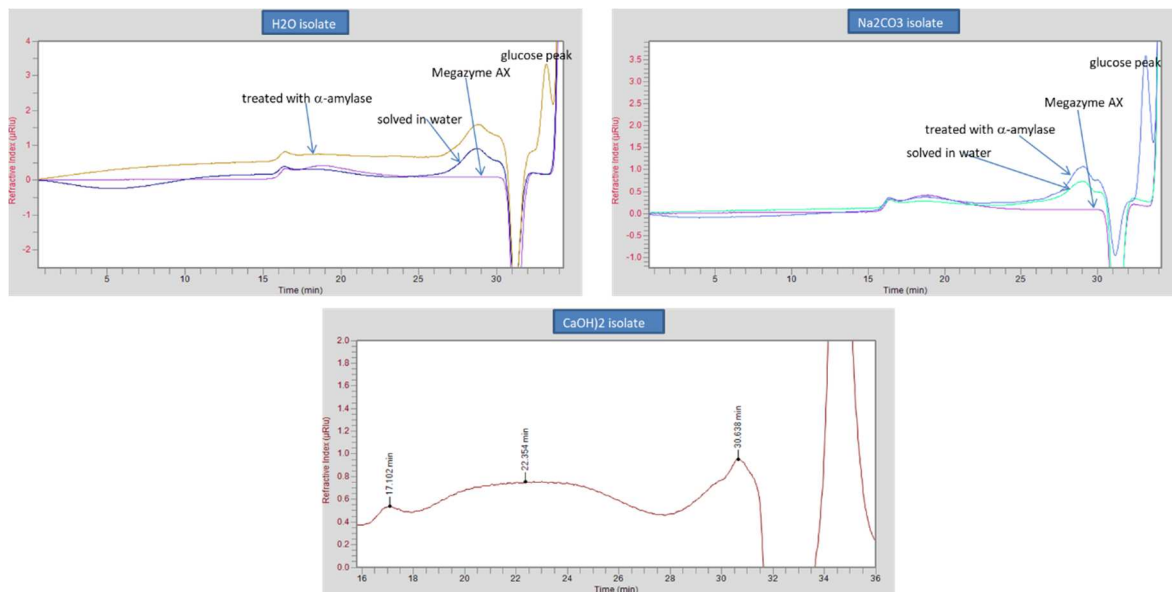
2. ábra: A köles fajták lisztjeinek mikrovalorigráfus görbéi 55%-os vízabszorpcióval



3. ábra: A köleslisztek és egy búzaliszt RVA görbéi

Kutatómunkánk végső célja annak eldöntése, hogy gluténmentes termékek esetében lehetséges-e a síkérhálózat részleges helyettesítése szénhidrát összetevők (arabinoxilánok) között nem kémiai eszközökkel (enzimkezeléssel) kialakított molekuláris hálózat segítségével. Ennek eldöntéséhez megfelelő kísérleti modellrendszer kialakítása szükséges. Ehhez szükséges a modellrendszer kutatásunk szempontjából meghatározó jelentőségű alkotóinak (alaplisztek, arabinoxilán (AX) izolátum és enzimek) kiválasztása és jellemzése.

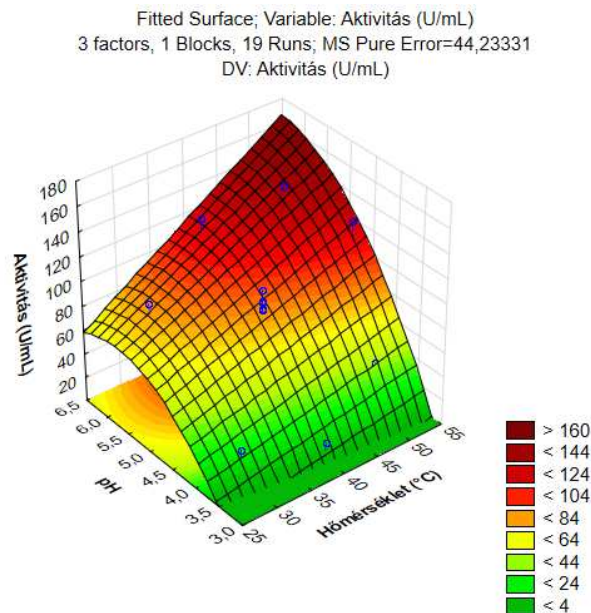
Értelemszerűen a tervezett kísérletek valamennyi vizsgált alapanyaggal nem végezhetőek el. A fent leírt őrlési, összetételi és reológiai vizsgálatok eredményei alapján egy gabona (köles, GK-Piroska) és egy álgabona (hajdina) teljes őrleményét és fehér lisztjét választottuk ki, a továbbiakban ezeket használtuk a tézsa modellrendszerek felépítéséhez és jellemzéséhez. Kutatási partnerünk a bécsi BOKU egyetem kutatócsoportja különféle eljárásokkal rozs pentozán izolátumokat állított elő. A BME feladata volt ezen izolátumok szénhidrát összetételének és AX tartalmának és gluténmentességének vizsgálata. Az osztrák kollégák tevékenységének köszönhetően többféle vizes,  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ -os és  $\text{Ca}(\text{OH})_2$ -os izolálással és különböző kísérleti beállításokkal előállított izolátumok álltak rendelkezésre (4.ábra). Az itt nem részletezett összetételi és alapreológiai részeredmények alapján a választás a  $\text{Ca}(\text{OH})_2$ -os AX izolátum használatára esett, melyből a kutatás második évében az osztrák kollégák a tervezett kísérletekhez megfelelő mennyiséget (150-200g) tudtak előállítani. Ennek gluténmentességét ELISA mérésekkel ellenőriztük. Ennek eredményei azt mutatják, hogy a fehérjebontó enzimek alkalmazásával sikerült osztrák munkatársainknak a gluténtartalmat 20 ppm alá szorítani.



4.ábra: Különböző kísérleti arabinoxilán izolátumok összetételének jellemzése méretkizárásos kromatográfiás módszerrel

A harmadik kulcsszereplő az oxidatív környezet kialakításáért felelős enzim. Az osztrák kutatócsoport feladata volt rekombináns törzsek alkalmazásával, különböző, a célnak megfelelő enzimek kiválasztása és laboratóriumi léptékű izolálása. Az irodalmi adatok és az előkísérletek alapján három enzimmel (*Lakkáz*, *Glükóz-oxidáz* és *Piranóz-oxidáz*) végeztek előkísérleteket. Az előállítás, a stabilitás és –a későbbiekben részletezett- reológiai összehasonlító vizsgálatok alapján a *Piranóz-oxidáz* (*POx*) enzimre esett a választásunk, később, a modellrendszerek részletes vizsgálatánál már csak ezt alkalmaztuk. Az eredeti kutatási tervben ugyan nem szerepelt célkitűzésként, de elvégeztük a *POx* enzim stabilitás- és aktivitásvizsgálatát is. Szembesültünk ugyanis azzal a ténnyel, hogy szinte semmilyen információ, publikált eredmény nem áll rendelkezésre a *POx* enzim működéséről, aktivitásának változásáról a kovászos kenyérgélesztési technológiánál alkalmazott környezeti tényezők (pH, ionerősség, hőmérséklet) mellett. Ezért kísérlettervet állítottunk össze ennek vizsgálatára. Megállapítható, hogy a kísérletben alkalmazott, a felhasználásig mélyhűtőben tárolt, majd kisebb mennyiségekben a használathoz felolvasztott enzimmérszítvény aktivitása sajnos változik. A felolvasztott enzim órákon belül felhasználandó, de a hosszútávú mélyhűtött állapotban történő tárolás során is tapasztaltunk aktivitáscsökkenést. A konkrét adatokat a későbbi addíciós kísérleteink összeállításánál figyelembe vettük. Ugyanakkor további cél kell legyen, hogy az izolált enzimek hosszútávú stabilitását is meg tudjuk oldani. A környezeti tényezők hatásának vizsgálatánál megállapítható, hogy a kovászra jellemző pH tartományon belül a piranóz-oxidáz aktív marad, de ezek a körülmények messze esnek az optimális tartománytól (5.ábra). A gluténmentes lisztekből készült kovászos tézsa pH értéke 5,26-5,41

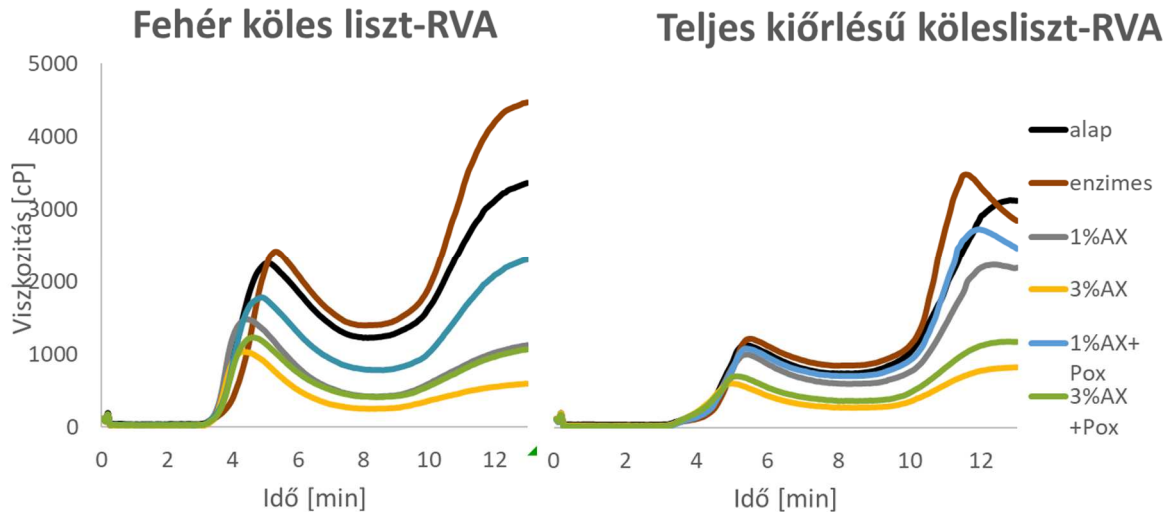
tartományban mozog. Méréseink alapján az 5,0-5,5 pH között 30 °C-on maximálisan 88 U/ml aktivitás érhető el, mely alátámasztja, hogy a POx alkalmasságát a kovászos tésztában történő felhasználásra.



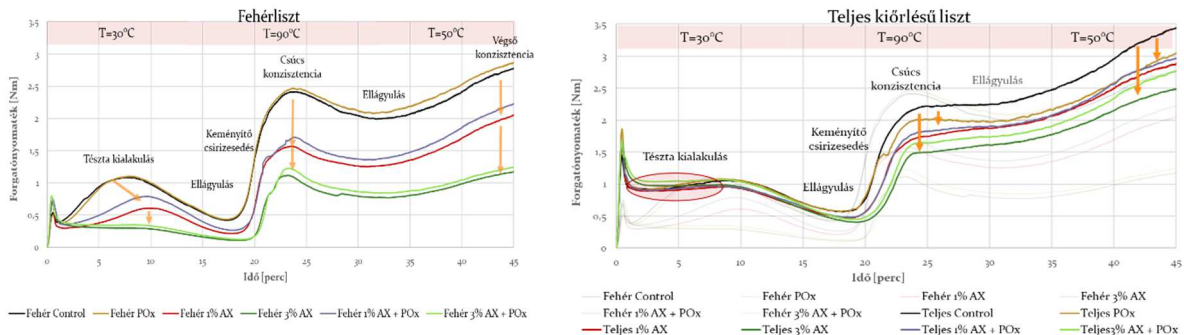
5. ábra: POx enzim aktivitásának változása a környezeti tényezők (pH, Hőmérséklet) függvényében

Az alapanyagok (örlemények) kiválasztása és a bécsi partnerintézmény kutatói által előállított adalékanyagok (AX izolátum és POx enzim) jellemzését követően a BME Kutatócsoportjának meghatározó feladata a pentozán-hálózat kialakítás lehetőségének vizsgálata volt tésztarendszerekben. Előkísérletekben tanulmányoztuk a sikért nem tartalmazó víz-liszt (teljes örlemény és fehérlist) modellteszta rendszer reológiai tulajdonságainak alakulását dagasztós (microDough Lab), viszkoziméteres (Rapid Visco Analyzer) és komplex reológiai mérés technika (Mixolab) alkalmazásával. Megállapítottuk, hogy bár az örlemények értelemszerűen nem tartalmaznak sikér vázat, vizsgálatuk mégis lehetséges búza minősítésére alkalmas műszerekkel, a tészták reológiai profilja a búzáéhoz hasonlóan alakul. Szintén bebizonyosodott, hogy a vizsgált örleményekből előállítható tésztarendszerek és az alkalmazott módszerek alkalmasak addíciós hatások és enzimikus kezelések hatásának követésére. Kidolgoztuk az AX izolátumok és az oldat formájában rendelkezésre álló enzimek (Lakkáz, Glükóz-oxidáz és Piranóz-oxidáz) adagolásának módszertanát. A nagyszámú kísérleti változó nehezítette értékelhető kísérleti terv összeállítását, ezért célszerűnek tűnt a faktorok számának csökkentése. A két partnernél tiszta reológiai és reális modellrendszerekben végzett előkísérletek alapján a  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  extrakcióval kinyert AX izolátum 1 és 3 %-os adagolásával és a fagyasztott POx enzim-oldatok kísérletek előtti felolvasztását követő 0,89 unit/g liszt arányú adagolásával végeztük a részletes vizsgálatokat.

A vázolt kísérlettervet alkalmaztuk mind köles, mind hajdina teljes örleményekből és fehérlistekből előállított teszta modellrendszerek addíciós vizsgálata során. Az eredményekből (6. és 7. ábrák) látható, hogy a fehérlistek és a teljes kiőrlésű lisztek dagasztási görbéi részben eltérnek: a fehérlist hidratáció hosszabb, lassabb tésztakialakulási idő mellett stabilabb termék képződik. Az örlemények közötti különbségek jól értelmezhetők az összetételben tapasztalható eltérésekkel, elsősorban a rostkomponensek és részben a lipidek módosító hatása érvényesül a teljes örleményekben. Megállapítható továbbá, hogy mindkét örleménytípus esetében az enzimkezelésnek egyértelműen pozitív hatása volt a tésztaminőségre, a teszta dagasztással szembeni ellenállása minden esetben nőtt. Az AX izolátum nagyobb mennyiségű adagolása -valószínűsíthetően a hidratációs folyamatok és a viszkózus viselkedés befolyásolása révén - egyértelműen csökkentette a tésztakonzisztenciát. A teszta ellágyulás folyamatát a POx enzim adagolása részben kompenzálja.



6. ábra: Arabinoxilán izolátum adagolás és piranóz-oxidáz enzimmel történő kezelés hatásának vizsgálata kísérleti köleslisztek viszkózus tulajdonságainak alakulására (RVA: gyors viszkoziméter)

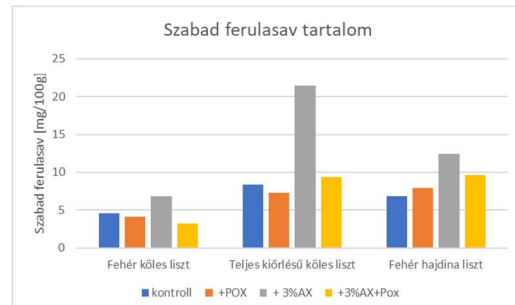
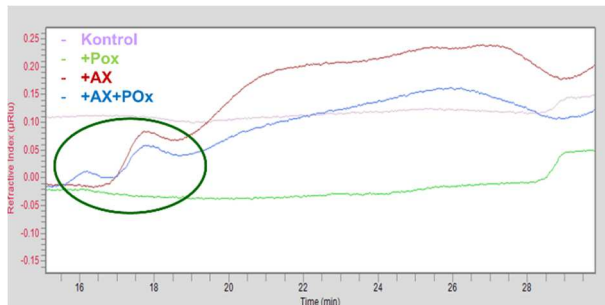


7. ábra: Arabinoxilán izolátum adagolás és piranóz-oxidáz enzimmel történő kezelés hatásának vizsgálata kísérleti hajdinalisztekből készült tészta-rendszerek komplex reológiai viselkedésének (Mixolab profil) alakulására

A reológiai vizsgálatok eredményei -első közelítésben- alátámasztják kiindulási hipotézisünket: a táplálkozástani szempontból előnyös rost, illetve egyes rostkomponensek jelenléte a teljes őrleményekben, illetve a rostkomponens (AX) dúsítása a fehér lisztekben lényegesen megváltoztatja a tészták reológiai viselkedését, nagyobb mértékű adagolások a viszkózus tulajdonság csökkentésével rontja a tésztakonzisztenciát. Ezt a kedvezőtlen folyamatot az enzimkezelés -véltetően a katalizált oxidáció során keletkező hidrogénperoxid másodlagos reakciójából adódóan kialakuló AX keresztkötések útján- részben javítja. A kétféle modellrendszer közül, a viszonylag gyenge technológiai tulajdonságokat mutató köles esetén tapasztaltunk jelentősebb javulást mind a konzisztencia, mind pedig a viszkózus tulajdonságok tekintetében az AX adagolás és az enzimes kezelés együttes alkalmazásával. A hatások kisebb mértékben, de a hajdina rendszerekben is megfigyelhetők, köszönhetően a hajdina tészta-mátrixok egyébként is kedvező tulajdonságainak. Az enzimkezelés az előkísérletekhez hasonlóan önmagában is javulást okozott az egyes tulajdonságokban, mely a teljes őrleményeknél volt a legmeghatározóbb, ami magyarázható azok saját AX illetve egyéb rostkomponens tartalmával. Az említett jelenségek tehát mind a hajdina, mint a köles alapú modellrendszerekben jelentkeznek. Noha az alapanyagok és a mérések száma nem teszi lehetővé az állítások általánosítását, eredményeinkkel alátámasztható, hogy nem egyedi jelenségről, hanem jól mérhető és részben jól értelmezhető folyamatokról van szó.

A reológiai vizsgálatokban tapasztalt jelenségek mögött álló molekuláris kölcsönhatások értelmezése céljából többféle, számunkra hozzáférhető, többségében közvetett információkat, mérési eredményeket szolgáltató analitikai módszertant alkalmaztunk. Ehhez a reológiai vizsgálatokban használt tészta-rendszereket lefagyasztottuk, liofilizáltuk és ezen minták további vizsgálatát végeztük el.

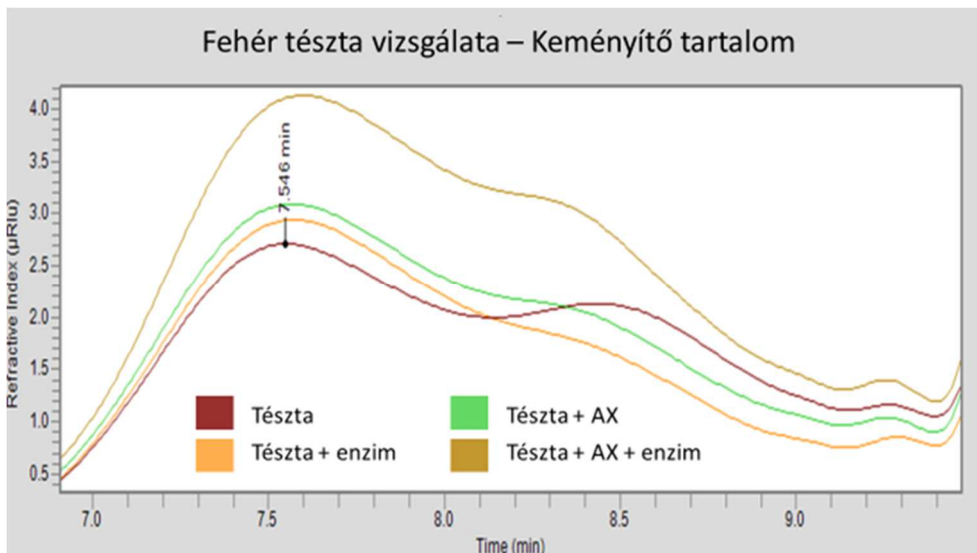
Első körben természetesen az AX-hálózat kialakulását próbáltuk igazolni részben méretkizárások kromatográfiai vizsgálatokkal, részben a szabad ferulasav-oldallánc mennyiségének mérésével. Mindkét vizsgálat eredményei (8.ábra) azt mutatják, hogy valóban kialakulnak AX-kereszt-kötések, hiszen az enzimkezelt tézstarendszerekben az AX molekulák méreteloszlása megváltozik, illetve a kereszt-kötések kialakításában kulcsszerepet játszó szabad ferulasav oldalláncok mennyisége szignifikánsan csökken.



8.ábra: Az arabinoxilán molekulák méreteloszlásának (8a.ábra) és szabad ferulasavtartalmának (8b.ábra) változása addicionált és enzimkezelt, köles fehér liszt alapú tézstarendszerben

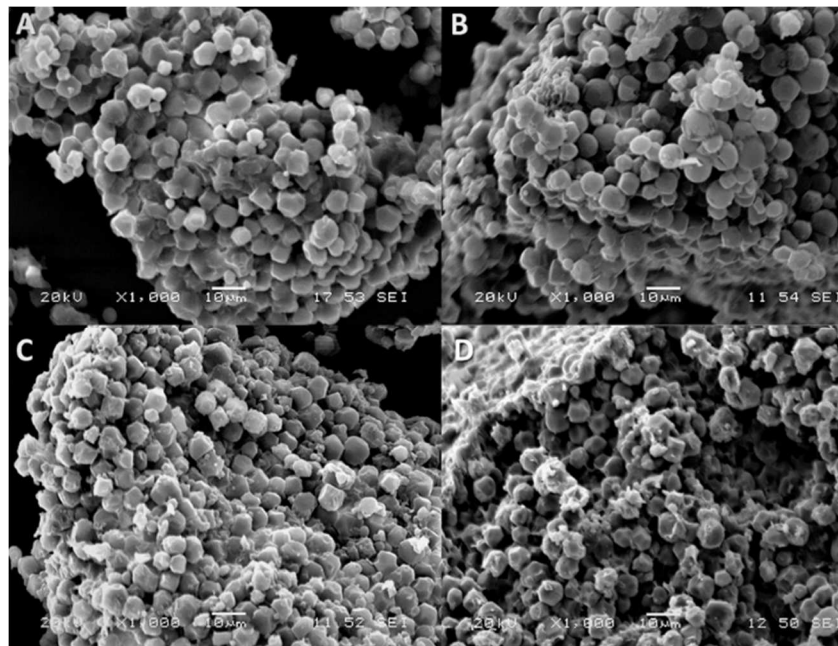
A fehér liszt vizsgálat során nyert tapasztalatok azonban az előbbieken vázolt képet jelentősen árnyalják. Ugyanis a fehér liszt konzisztenciája akkor is nőtt – vagyis a tézstaszervezet abban az esetben is erősödött-, amikor AX adagolás nélküli enzimkezelést alkalmaztunk. A fehér lisztet eredetileg azért illesztettük be a kísérletbe, hogy az AX adagolásának hatását egyszerűsített, saját rostkomponenseket nem, vagy alig tartalmazó modellrendszerekben is tanulmányozni tudjuk. Ha pedig a jelenlévő AX mennyiség minimális – amit saját méréseink is alátámasztanak-, akkor minek köszönhető a POX kezelés hatására tapasztalható konzisztencia erősödés? Első kézenfekvő magyarázat, hogy a fehérjealegységek összetételében, méretében játszódtott le változás, hiszen ez az irodalomból szintén ismert folyamat. Azonban a jelenleg rendelkezésre álló eszközeinkkel, elektroforézises és méretkizárásos folyadék-kromatográfiai vizsgálatokkal, a feltételezést nem sikerült egyértelműen igazolnunk.

Következő kézenfekvő lépésként a harmadik, jelenlévő makromolekulatípus, a keményítő összetételében bekövetkező változásokat igyekeztünk tisztázni, hiszen a vizsgált körülmények között mind a részleges hidrolízis, mind az oxidatív közegben lejátszódó kereszt-kötések kialakulás (aldol reakció) elképzelhető. A keményítőösszetétel méretkizárásos kromatográfiai módszerrel történő vizsgálata során látható (9.ábra), hogy míg az adagolás és kezelés nélküli tézstában jól elkülöníthetők az amilóz és amilopektin molekulák, a kezelt tézstarendszerekben ezek –véltetően látszólagos- aránya megváltozik, és a molekulaméret egyértelműen a magasabb tartomány felé tolódik el. Ez természetesen nem magyaráz meg mindent a tapasztalt jelenségekkel kapcsolatban. Azt azonban jelzi, hogy a kezelésekre hatására a keményítő szerkezetben is következnek be egyértelmű változások, melyekkel részben jól értelmezhető a reológiai, különösképpen a viszkózus tulajdonságok módosulásának iránya és jellege.



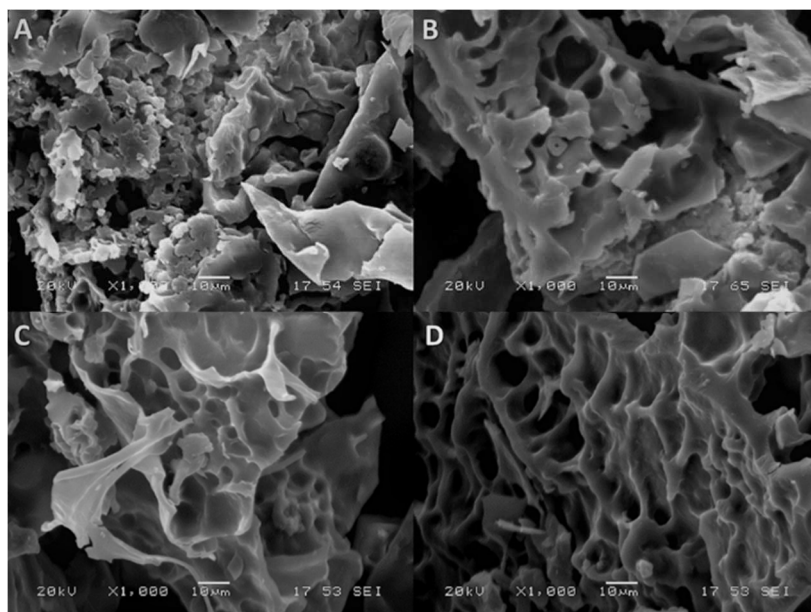
9.ábra: Hajdina fehér lisztből készült tésztamodell keményítőmolekuláinak méret szerinti változása AX adagolás és enzimkezelés hatására

A jelenségek molekuláris hátterének értelmezésében további segítséget nyújthat a tészta és gélrendszerek szerkezetének elektronmikroszkópos (SEM) vizsgálata is. A fehér kölesliszt alapú tésztarendszereknél (10.ábra) például a kezelés nélküli (kontroll) és az enzimes kezelésen átesett tészták morfológiája nagyon hasonlóknak tűnik. Az AX jelenléte a keményítőszemcsék közötti térben jól látható, de úgy tűnik, az AX molekulák nem épülnek be a tésztarendszerbe. Azonban AX adagolás és enzimkezelés együttes alkalmazásánál egyértelmű változás azonosítható: úgy tűnik a keményítőrészek részlegesen beágyazódnak az AX hálózatba és feltételezhető, hogy a fehérjemolekulákkal is ez történik. Még jelentősebb változás azonosítható a hígabb gélrendszerekben, melynek előállítása a fent említett RVA készülékkel történt: enzimkezelés hatására lényegesen rendezettebb gélstruktúra alakul ki (11.ábra).



10.ábra: Fehér köleslisztből készült tésztarendszer szerkezetének vizsgálata elektronmikroszkóppal (A: kezelés nélküli tészta, B:enzimkezelt tészta, C: 3% AX adagolással készült tészta, D: 3% AX adagolással és enzimkezeléssel készült tészta)





11.ábra: Fehér köleslisztből készült gélrendszer szerkezetének vizsgálata elektronmikroszkóppal (A: kezelés nélküli gél, B:enzimkezelt gél, C: 3% AX adagolással készült gél, D: 3% AX adagolással és enzimkezeléssel készült gél

A kísérlettervünk utolsó lépése a végtermékesztek -gluténmentes próbapipó előállítás és minősítésmódszertanának kidolgozása és alkalmazása volt. Az eredeti kutatási tervben a kovászos technológiával készülő tésztakészítési és sütési tesztek szerepeltették. Ennek előnye, hogy a tervezett adagolási és enzimesen indukált pentozán keresztlinkelési folyamatok ilyen fermentációs rendszerekben jól működhetnek. Alternatív megoldás lehet azonban hagyományos (élesztős) sütési tesztek kialakítása is. Erre jó lehetőséget biztosít a Tanszékünkön más projekt keretében búzaminősítésre fejlesztett sütőkészülék alkalmazása, melyre makro és mikro módszer is adaptálható. Esetünkben a mikromódszer óriási előnyt jelentett a laboratóriumi kísérletekhez rendelkezésre álló kis mennyiségű izolátumok, enzimkészítmények és őrlemények miatt. Munkánknak ebben a szakaszában alapvető célunk volt az új fejlesztésű műszeren rutinszerűen alkalmazható, kis mennyiségű őrlemények felhasználásával kivitelezhető sütési tesztek kidolgozása, valamint egyes adalékanyagok hatásának vizsgálata a végtermékekre (modellcipókra). A gluténmentes próbatermék előállítás során használt alapanyagok vízkötő képességének és gyors viszkoanalizátoros és vizsgálatának eredményeiből is látszik az alkalmazott anyagok különbsége, ezáltal a termékminőséget is jelentősen befolyásolják. A sikérhálójuk hiányában egy hasonlóan erős hálózat kialakítása a termékekben nehezen biztosítható, ennek megfelelően csak néhány recept alkalmazásával kaptunk értékelhető eredményt. Pl. hajdinalisztból készült kenyerek esetében (a végtermékek bélzete csak kis mértékben alakult ki, a sikérhálózat hiánya a gázvisszatartó képességet is jelentősen csökkentette. A fehér és a teljes kiőrlésű hajdinalisztek között is mutatkoztak különbségek a dagasztás során, azonban mindkét esetben elfogadható minőségű cipókat tudtunk előállítani. A dagasztásos kísérletekben alkalmazott arányban adagolt AX és POX enzim valamilyen mértékben javította a próbapipók minőségét, leginkább a bélzet szerkezetében fedezhetők fel pozitív irányú változások (12.ábra).

A kovászos technológia kialakításánál is értelemszerűen a megfelelő recept összeállítását és a rendelkezésre álló műszeres lehetőség kihasználásával a módszertan kidolgozását kellett megoldanunk. Ez a bécsi kutatócsoport makro (félüzemi) kísérletekben szerzett tapasztalatának felhasználásával, velük együttműködésben sikerült. A recept kialakítása és a tésztadagasztási művelet standardizálása itt is mikrovalorigráfus eljárás alkalmazásával történt. Az élesztős és a kovászos technológiával kapott dagasztási diagramokon (13.ábra) is látható, hogy a két eljárás során kapott tészták konzisztenciája ugyan eltérő, de mindkét esetben jól kezelhető és sütésre fermentációra, formázásra alkalmas tésztarendszerek állíthatók elő. A kovászos technológiával elkészült próbapipók (14.ábra) méret-, bélzet- és állományvizsgálatát is elvégeztük és összehasonlítottuk az élesztős technológiai eredményeivel.



Fehér hajdina

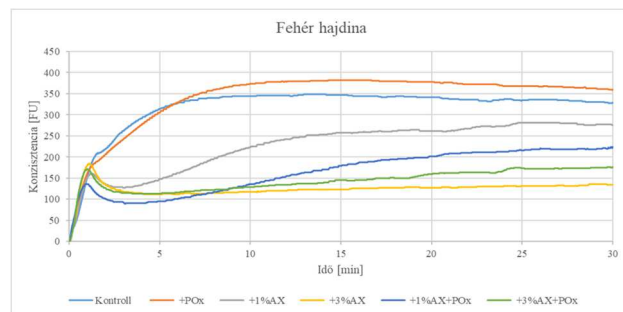
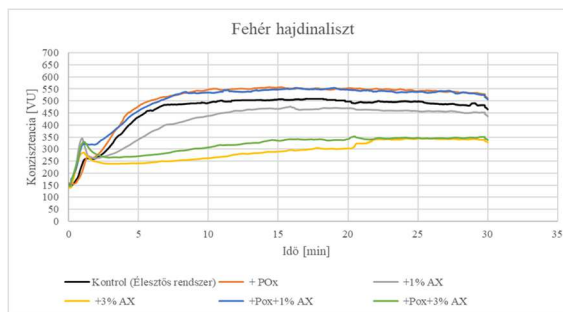


Fehér hajdina+ 3%  
AX



Fehér hajdina+  
3%AX+POX

12. ábra: Fehér hajdinalisztes élesztős mikrocipók



1. ábra: Fehér hajdinalisztes élesztős (A) és kovászos (B) tézstarendszerek mikrovalorigráfos profiljai

Az eredmények alapján megállapítható, hogy bár a hajdina alapú tézstarendszerek sikérvázat nem tartalmaznak, reológiai vizsgálatokra mégis lehetséges alternatívaként szolgálnak a búza minősítésére alkalmas műszerek használata. A dagasztási, sütési és termékminősítő lépések lényegében az elvégzett munka újdonságtartalmát is jelentik, hiszen ilyen gluténmentes termékeket vizsgáló módszerfejlesztési kísérletek az irodalomban még nem írtak le. Értelemszerűen a fehér liszt és a teljes kiőrlésű lisztből készült tézstarendszerek mind az élesztős, mind a kovászos rendszerekben dagasztási görbék szempontjából eltérnek. A fehér liszt alapú rendszerekben a hidratáció hosszabb, lassabb tézstakialakulási idő, míg a teljes őrleményeknél jelentősebb kezdeti kiugrás a jellemző. Ezt okozhatja a rostkomponensek és részben a lipidek módosító hatása a teljeskiőrlésű lisztetek esetében. Megállapítható, hogy az élesztős és kovászos rendszerekben az enzimekkel való egyértelműen pozitív

hatása volt a tésztaminóségre, a tészta dagasztással szembeni ellenállása minden esetben nőtt. Az AX izolátum nagyobb mennyiségű adagolása – valószínűsíthetően a hidratációs folyamatok és a viszkózus viselkedés befolyásolása révén - egyértelműen csökkentette a téstakonzisztenciát, enzim hozzáadásával azonban ez részben javítható volt, ezen megfigyeléseket a statisztikai elemzés is alátámasztotta. A kovászos rendszerekben mutatkozó eltérések az élesztős rendszerekhez képest jelentősek voltak, a pH hatása, a molekuláris elrendeződések további vizsgálata a különbségek magyarázatául szolgálhatnak. Az élesztős rendszerekből a sütési tesztek során előállított modelltermékekben is megjelentek a reológianál már megmutatkozó hatásbeli különbségek, a fehér hajdinacipók bélzetén ez jelentősen meglátszott. Ugyan a bélzet szakadása mindenütt jellemző probléma volt, a sütési tesztek és a termékminősítési módszerek is alkalmasnak bizonyultak olyan termékek előállítására és értékelésére, melyben az adagolás hatásaiból adódó különbségek megmutakoztak.

Összességében megállapítható, hogy kutatási munkánk alapjául szolgáló feltételezés, a sikérváz részleges helyettesítése gluténmentes termékekben élelmi rostkomponensek, pentozán molekuláris hálózat kialakítása útján, megvalósítható. A kísérleteinkben alkalmazott gluténmentes mátrixok (köles és hajdina fehér lisztből és teljes őrleményekből kialakított téstarendszerek) viszkózus és dagasztási tulajdonságai, illetve ezeket leíró paraméterei arabinoxilán (AX) izolátum adagolásával és oxidatív enzimkezelés (piranóz oxidáz, POx) alkalmazásával befolyásolhatók. Jól ismert hatás, hogy bármely téstarendszerekben a rostösszetevők adagolása rontja a fizikai-kémiai tulajdonságokat, hiszen a különböző összetételű és szerkezetű rostmolekulák nem, vagy csak kevéssé képesek beépülni a téstamátrixokba, búzaalapú termékek esetében részlegesen megbontva a síkérhálózatot is. Esetünkben is az AX adagolás önmagában az említett tulajdonságok romlását okozza, azonban az enzimkezelés szignifikánsan javította a mért jellemzőket. A legjelentősebb hatást a dagasztási tulajdonságok változásában azonosítottuk, ahol a vizsgált téstarendszerek konzisztenciájában a rostadagolás kedvezőtlen hatását az enzimkezelés kompenzálta, sőt egyes esetekben az adagolás nélküli tészta állagánál is kedvezőbb tulajdonságú mátrixok kialakítására nyílt lehetőség. A téstatulajdonságokban bekövetkező változásokat a kutatómunka során kidolgozott, kis mintamennyiség vizsgálatára alkalmas végtermékesztek eredményeiben is azonosítani tudtuk. Mind az élesztős, mind a kovászos tésztákból készített próbacipók méretében, érzékszervi és bélzet-tulajdonságaiban a téstavizsgálatokban tapasztalt irányú és jellegű változást mértünk. A molekuláris szerkezet változására irányuló vizsgálataink (gélelektroforézis, fehérjék, arabinoxilánok és keményítő méretkizárásos kromatográfiás (SE-HPLC) vizsgálata, téstaszerkezet elektronmikroszkópos (SEM) tanulmányozása, szabad ferulasav tartalom mérése) eredményei azonban azt mutatják, hogy a jelenségek háttérben nem csak az AX molekulák között ferulasav-kereszt-kötésekkel létrejövő hálózat kialakulása áll. A keményítő összetétele és a molekulaméret eloszlása is változott, emellett nem zárható ki a különböző makromolekulákból (fehérje, keményítő-rostkomponensek) álló komplex molekuláris rendszerek kialakulása sem.