

## **GOTOWANIE NASION ŁĘDŹWIANU SIEWNEGO I KONCEPCJA ZASTOSOWANIA NOWEGO SPOSOBU DO OCENY SKUTKÓW OBRÓBKI CIEPLNEJ**

Marek Szmigielski, Małgorzata Szczepanik

Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie

**Streszczenie.** Zweryfikowano koncepcję zastosowania wskaźnika purpury bromokrezolowej (BCPI) jako nowego sposobu oceny aktywności neurotoksyn lędźwianu siewnego (oznaczanych jako  $\beta$ -N-oxalyl-L alanina – BOAA) w gotowanych nasionach lędźwianu siewnego. Obiektem badań były nasiona lędźwianu siewnego polskiej odmiany Krab gotowane w warunkach jednego z dziesięciu wariantów intensywności tego procesu. Każdą z prób różniących się intensywnością gotowania poddano badaniom metodą BCPI oraz BOAA. Statystyczne opracowanie danych doświadczalnych wskazuje, że metody BCPI i BOAA są współzależne w badaniu gotowanych nasion lędźwianu siewnego (współczynnik korelacji –  $r$  wynosi 86,34%), a ponadto, że obie te cechy można powiązać hipotetycznymi funkcjami matematycznymi  $BOAA = f(BCPI)$ . Przydatność tych funkcji w analizach potwierdzono statystycznie, uzyskując wysokie współczynniki determinacji ich równań do rzeczywistych danych doświadczalnych ( $R^2 =$  od 74,94% – dla równania potęgowego do 98,41% – dla równania wielomianowego IV°).

**Słowa kluczowe:** lędźwian siewny, nasiona, gotowanie, neurotoksyna, wskaźnik purpury bromokrezolowej, równanie regresji

### **WPROWADZENIE**

Gotowanie jest jedną z typowych, tradycyjnych form obróbki termicznej nasion lędźwianu siewnego, stosowaną w celu przygotowania ich jako pożywienia lub paszy. Obróbka termiczna tego typu sprzyja korzystnym przemianom surowca, który poddany takim zabiegom uzyskuje odpowiednie cechy reologiczno-organoleptyczne, zwiększa się przyswajalność jego składników pokarmowych, a równocześnie redukcji ulega aktywność większości czynników przeciwżywnościowych (w tym neurotoksyn) [Rotter i in. 1990, Grela i in. 1997].

---

Adres do korespondencji – Corresponding author: Marek Szmigielski, Katedra Biologicznych Podstaw Technologii Żywności i Pasz, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, ul. Akademicka 13, 20-950 Lublin, e mail: marek.szmigielski@up.lublin.pl

Aktywność czynników przeciwżywnieniowych, szczególnie zaś modelowanie dynamiki ich zmian w miarę postępu procesu przetwarzania nasion roślin strączkowych, od dawna stanowi przedmiot licznych opracowań [Petres i Czukor 1989, Petres i in. 1990, Rajko i in. 1997].

Opracowane empiryczne modele, w opisie cechy – wyróżnika jakości produktu, posługują się najczęściej pewną skończoną liczbą parametrów, od których ta cecha jest zależna (np. temperatury, ciśnienia, mocy promieniowania itp.), a rezultatem takiego postępowania jest najczęściej skomplikowane (trudne w interpretacji) równanie regresji wielokrotnej o ograniczonym zakresie przydatności (dotyczące pewnego konkretnego rodzaju obróbki termicznej, np. ogrzewania mikrofalowego, oraz ściśle określonego typu zastosowanego w przetwórstwie urządzenia – z geometrią jego komory roboczej i indywidualnymi właściwościami włącznie). Modele tego typu są najczęściej w ograniczonym zakresie przydatne do opisu zmian właściwości produktu powstałych podczas przemysłowego przetwórstwa (ze względu na wielorakość i złożoność czynników w takich procesach, jak np. ekstruzja, granulowanie lub ekspandowanie).

Do opisu zmian właściwości produktu w procesie przemysłowego przetwórstwa przydatna może być jedynie matematyczna formuła wiążąca poziom wartości wybranej cechy (np. aktywności neurotoksyny BOAA) z inną jego właściwością, przy czym zależność ta powinna zachodzić analogicznie bez względu na formę i sposób zastosowanej w przetwórstwie obróbki termicznej.

Celem podjętych badań było sprawdzenie przydatności nowej metody analitycznej, nazwanej wskaźnikiem purpury bromokrezolowej (BCPI) do oceny zmian aktywności neurotoksyn (BOAA) w gotowanych nasionach lędźwianu siewnego, oraz opracowanie stosownej formuły matematycznej umożliwiającej odczytanie poziomu aktywności BOAA na podstawie oznaczonej wartości BCPI.

## MATERIAŁY I METODY

Badania przeprowadzono na nasionach lędźwianu siewnego polskiej odmiany Krab o masie tysiąca nasion (MTN) równej 180,40 g (zawierających średnio 87,91% suchej masy oraz w przeliczeniu na nią, 26,9% białka ogólnego i 1,32% tłuszczu surowego). Masę tysiąca nasion, zawartość białka ogólnego, tłuszczu surowego oraz suchą masę oznaczono zgodnie z zalecanymi w Polsce normami, przeprowadzając dla każdego z tych badań trzy niezależne powtórzenia. Próby tych nasion (o masie 25 g każda) przenoszono do azurowego, drucianego pojemnika i umieszczano (oddzielnie, niezależnie od siebie) w naczyniu zawierającym wrzącą wodę destylowaną oraz gotowano odpowiednio przez okres: 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45 i 50 min, natomiast część nasion pozostawiono w pierwotnej, niepoddanej obróbce termicznej formie – nazywając ją surowymi nasionami.

Dla każdej z wyżej opisanych prób przeprowadzono (w trzech niezależnych powtórzeniach) badania: aktywności neurotoksyn (BOAA –  $\beta$ ODAP) wg Briggsa i in. [1983] oraz wskaźnika purpury bromokrezolowej (BCPI) wg Szmigielskiego i Matyki [2004].

Wyniki tych analiz (BCPI oraz BOAA) poddano opracowaniu metodami statystyki matematycznej, obliczając dla nich współczynnik korelacji ( $r$ ) i weryfikując w ten spo-

sób hipotezę o współzależności wyników tych analiz [Oktaba 1986]. Gdy ten współczynnik okazał się wysoki, opracowano cały szereg hipotetycznych funkcji postaci  $BOAA = f(BCPI)$  umożliwiających powiązanie i wzajemne przeliczenie wyników tych oznaczeń.

Dokładność wiarygodności tych hipotetycznych formuł matematycznych przeprowadzono poprzez obliczenie współczynników determinacji ( $R^2$ ) określających stopień dopasowania proponowanych funkcji do rzeczywistych danych doświadczalnych [Oktaba 1986].

Dokładność oznaczeń ( $\pi$ ) wykonanych metodami BCPI oraz BOAA określono poprzez obliczenie współczynnika zmienności ( $CV$ ), tj. procentowego udziału odchyleń standardowych (SD) w wartości średniej każdej z tych cech dla każdej z badanych prób.

Czasochłonność oznaczeń  $\tau$  (h) oszacowano jako czas niezbędny na wykonanie jednego powtórzenia każdej z analiz (BCPI, BOAA) dla jednej próby nasion.

## WYNIKI I DISKUSJA

Surowe nasiona lędzwanu siewnego polskiej odmiany Krab charakteryzowały się niskim poziomem aktywności neurotoksyn ( $2,59 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}_{\text{s.m.}}$ ), co prawdopodobnie jest wynikiem poprawnej selekcji na etapie hodowli tej odmiany oraz korzystnego oddziaływania czynników klimatycznych podczas wegetacji roślin i dojrzewania nasion. Podobną, lub nawet mniejszą, aktywnością neurotoksyn charakteryzowały się nasiona badane przez Briggsa i in. ( $0,64\text{--}2,01 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}_{\text{s.m.}}$ ) [1983] oraz nasiona odmian kanadyjskich badane przez Desphande'a i Campbella (śr.  $2,95 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}_{\text{s.m.}}$ ) [1992], a także polska odmiana drobnoziarnista analizowana przez Grelę i in. ( $0,90 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}_{\text{s.m.}}$ ) [1997], jak również nasiona odmiany Krab ( $2,59 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}_{\text{s.m.}}$ ) przebadane przez Szmigielskiego i in. [2005].

Decydującym dla poziomu aktywności neurotoksyn w nasionach lędzwanu siewnego wydaje się być czynnik odmianowy oraz klimatyczny, w trakcie wegetacji roślin, albowiem nasiona pochodzące z upraw syryjskich charakteryzują się ponaddwukrotnie większym poziomem aktywności BOAA, nawet  $5,89 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}_{\text{s.m.}}$  w badaniach Aletora i in. [1994].

Gotowanie nasion okazało się skutecznym sposobem obniżenia poziomu aktywności neurotoksyn (oznaczanych w przeliczeniu na  $\beta$  – ODAP /BOAA/). Wariant ogrzewania o największej intensywności (tj. 50-minutowe ogrzewanie we wrzącej wodzie) spowodowało obniżenie aktywności BOAA do ok. 29% pierwotnej jej wartości (w nasionach niepoddanych obróbce termicznej).

Podobną skutecznością w redukcji aktywności BOAA charakteryzował się wariant ogrzewania mikrofalowego (650 W przez 180 s) uzyskany w badaniach Szmigielskiego i in. [2005].

Wynik ten wskazuje na dużą skuteczność gotowania w redukcji aktywności neurotoksyny  $\beta$  – ODAP, w porównaniu do 36% redukcji na drodze ekstruzji [Grela i in. 1997] lub ok. 55% w wyniku autoklawowania [Rotter i in. 1990].

Tabela 1. Aktywność neurotoksyn (BOAA) w funkcji gotowania nasion lędźwianu siewnego  
 Table 1. Neurotoxin activity (BOAA) in function of cooking the chickling vetch seeds

Parametry obróbki termicznej Thermal processing parameters		Aktywność neurotoksyn (BOAA), $\text{mgx g}^{-1}_{\text{s.m.}}$ Neurotoxin activity (BOAA), $\text{mgx g}^{-1}_{\text{d.m.}}$
temperatura obróbki termicznej temperature of thermal processing $^{\circ}\text{C}$	czas obróbki termicznej time of thermal processing min	
	5	1,90 ± 0,11 (5,79)
	10	1,89 ± 0,10 (5,29)
	15	1,75 ± 0,15 (8,57)
	20	1,70 ± 0,19 (11,18)
Zależna od ciśnienia atmosferycznego, ok. 100 Depend on atmospheric pressure, about 100	25	1,62 ± 0,17 (10,49)
	30	1,56 ± 0,20 (12,82)
	35	1,44 ± 0,12 (8,33)
	40	1,30 ± 0,11 (8,46)
	45	1,00 ± 0,19 (19,00)
	50	0,76 ± 0,28 (36,84)
Kontrola (surowe nasiona lędźwianu siewnego) Control (raw chickling vetch seeds)	Brak obróbki termicznej No thermal processing	2,60 ± 0,12 (4,62)

W nawiasach – ( ), współczynniki zmienności uzyskanych wyników (% wartości średniej)  
 In brackets – ( ), variability coefficients for achieved results (% of mean value)

Wysoka skuteczność gotowania jako sposobu redukcji aktywności  $\beta$  – ODAP w nasionach lędźwianu siewnego nie idzie jednak w parze z precyzją tych oznaczeń, co powoduje duży, zauważalny wzrost współczynnika zmienności pomiarów w miarę zwiększania intensywności ogrzewania (od 4,62% dla oznaczeń dotyczących próby surowej do 36,84% w badaniu nasion o maksymalnej długości obróbki termicznej – tabela 1).

Tabela 2. Wskaźnik purpury bromokrezolowej (BCPI) w funkcji ogrzewania nasion łądzwianu siewnego

Table 2. Bromocresole purple index (BCPI) in function of cooking the chickling vetch seeds

Parametry obróbki termicznej Thermal processing parameters		Wskaźnik Purpury Bromokrezolowej (BCPI), $\text{mgx g}^{-1}$ (b.s.m.) Bromocresole Purple Index (BCPI), $\text{mgx g}^{-1}$ (b.s.m.)
temperatura obróbki termicznej temperature of thermal processing $^{\circ}\text{C}$	czas obróbki termicznej time of thermal processing min	
	5	60,25 $\pm$ 2,84 (4,71)
	10	63,25 $\pm$ 2,63 (4,16)
	15	67,40 $\pm$ 2,35 (3,50)
	20	71,01 $\pm$ 2,12 (2,99)
Zależna od ciśnienia atmosferycznego ok. 100	25	76,46 $\pm$ 2,81 (3,68)
Depend on atmospheric pressure, about 100	30	83,87 $\pm$ 1,78 (2,12)
	35	88,47 $\pm$ 1,80 (2,03)
	40	94,26 $\pm$ 4,05 (4,30)
	45	105,28 $\pm$ 4,13 (3,92)
	50	111,28 $\pm$ 3,62 (3,25)
Kontrola (surowe nasiona łądzwianu siewnego) Control (raw chickling vetch seeds)	brak obróbki termicznej no thermal processing	49,84 $\pm$ 1,42 (2,85)

W nawiasach – ( ), współczynniki zmienności uzyskanych wyników (% wartości średniej)  
In brackets – ( ), variability coefficients for achieved results (% of mean value)

Gotowanie nasion spowodowało znaczny wzrost poziomu BCPI w miarę wzrostu intensywności obróbki termicznej (od 49,84  $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$  BSM dla nasion surowych, do 111,28  $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$  BSM dla gotowanych przez 50 min, co stanowi ok. 120% poziomu BCPI surowych nasion – tab. 2). Podobnie wysoką dynamikę wzrostu BCPI uzyskano w badaniu nasion ogrzewanych mikrofalowo [Szmigielski i in. 2005]. W odróżnieniu od oznaczeń BOAA precyzja wyników badań BCPI, przeprowadzonych dla gotowanych prób nasion łądzwianu siewnego (tab. 2), kształtowała się na zbliżonym wysokim poziomie (współczynniki zmienności, zarówno w odniesieniu do próby surowej, jak i prób intensywnie ogrzewanych nie przekraczają 5%) i była podobna lub większa w porównaniu do badań dotyczących ogrzewania mikrofalowego [Szmigielski i in. 2005]. Dane doświadczalne uzyskane metodami BCPI i BOAA są w dużej mierze współzależne, o czym świadczą wysoki współczynnik korelacji dla tych oznaczeń (-0,96), stanowiąc równocześnie uzasadnienie koncepcji wzajemnej zastępowalności tych badań dla nasion łądzwianu siewnego oraz przeliczania uzyskanych wyników, poprzez skonstruowanie odpowiednich równań regresji  $\text{BOAA} = f(\text{BCPI})$  – (tab. 3 i 4).

Table 3. Aktywność neurotoksyny BOAA w funkcji wskaźnika purpurę bromokrezolowej BCPI (dla gotowanych nasion łądzwianu siewnego)  
 Table 3. Neurotoxin activity BOAA in function of bromocresole purple index BCPI (for cooked chickling vetch seeds)

Zmienna zależna Dependent variable	Zmienna niezależna Independent variable	Współczynnik korelacji Correlation coefficient $r$	Typ równania Type of equation	Postać równania Equation	Współczynnik determinacji Determination coefficient $R^2$ %
			wielomianowe polynomial	$BOAA = -0,0054(BCPI)^3 + 0,0969(BCPI)^2 - 0,6243(BCPI) + 3,015$	96,92
			IV <sup>o</sup> logarytmiczne logarithmic	$BOAA = 0,0009(BCPI)^4 - 0,0277(BCPI)^3 + 0,2744(BCPI)^2 - 1,1485(BCPI) + 3,45$	98,41
			potęgowe power	$BOAA = -0,6137 \text{ Ln}(BCPI) + 2,5691$	87,51
BOAA	BCPI	-0,9646	wykładnicze exponential	$BOAA = 2,8101(BCPI)^{0,3863}$	74,94
			liniowe linear	$BOAA = 2,6677 e^{-0,00938(BCPI)}$	87,94
				$BOAA = -0,11394(BCPI) + 2,4289$	89,42

Table 4. Czasochłonność i dokładność metod analitycznych zastosowanych do oceny skuteczności gotowania nasion łądzwianu siewnego

Table 4. Time-consumption and accuracy of analytical methods applied for evaluation of chickling vetch seeds cooking.

Porównywany parametr Compared parameter	Metoda analityczna – Analytical method	
	BCPI <sub>B.S.M.</sub> mg/g białka w s.m.	BOAA mg/g <sub>s.m.</sub>
$\tau$ , h	1,5	12,0
$\pi$ (CV), %	2,16–6,81	2,79–14,30

## WNIOSKI

1. Opracowane równania regresji charakteryzują się wysokimi lub bardzo wysokimi współczynnikami determinacji ( $R^2$ ), co wskazuje na dużą ich wiarygodność w opisie zmian aktywności neurotoksyny BOAA dla gotowanych nasion łądzwianu siewnego. Na szczególną uwagę zasługuje równanie liniowe, które charakteryzuje się równocześnie dużą wiarygodnością (wysokim współczynnikiem determinacji  $R^2 = 89,42\%$ ) oraz prostotą zapisu, co świadczy o jego dużej przydatności w odniesieniu do oznaczeń realizowanych w laboratorium przemysłowym (do bieżącej kontroli jakości produktu przemysłowego przetwórstwa).

2. Duża różnica czasochłonności porównywanych oznaczeń przemawia na rzecz zastąpienia pracochłonnych, czasochłonnych i skomplikowanych analitycznie oznaczeń BOAA przez prostą, szybką i precyzyjną metodę BCPI.

3. Uzyskane równania regresji  $BOAA = f(BCPI)$  wykazują duże podobieństwo do analogicznych algorytmów przeliczeniowych opracowanych na podstawie przeprowadzonych wcześniej badań dotyczących mikrofalowego ogrzewania nasion łądzwianu siewnego. Podobieństwo tych formuł matematycznych może wskazywać na uniwersalność zależności  $BOAA = f(BCPI)$  (tj. niezależność równania regresji od sposobu ogrzewania nasion). Potwierdzenie poprawności tych funkcji matematycznych wiąże się z możliwością zastosowania ich do sterowania procesami przemysłowego przetwórstwa nasion łądzwianu siewnego (np. ekstruzji lub granulacji) i sprzyja sprawnemu sterowaniu tymi procesami oraz usprawnieniu kontroli jakości produktu, choć wymaga weryfikacji w dalszych badaniach.

## PIŚMIENNICTWO

- Aletor V.A., El-Moneim A.A., Goodchild A.V., 1994. Evaluation of the seeds of selected lines of three *Lathyrus* spp  $\beta$ -N-Oxalylamino-L-alanine (BOAA), tannins, trypsin inhibitor activity and certain in – vitro characteristics. J. Sci. Food Agric. 65, 143.
- Briggs C. J., Parreno N., Campbell C. G., 1983. Phytochemical assessment of *Lathyrus* species for the neurotoxic agent  $\beta$ -N-oxalyl-L- $\alpha$ - $\beta$ diaminopropionic acid. Planta Med. 47, 188.
- Desphande S.S., Campbell C.G. 1992. Genotype variation in BOAA, condensed tannins, phenolics and enzyme inhibitors of grass pea (*Lathyrus sativus*). Can. J. Plant Sci. 72, 1037.

- Grela E. R., Truchliński J., Rzedzicki Z., Pallauf J., Winiarska A., 1997. Influence of extrusion on contents of anti-nutritive agents in chickling vetch seeds. Proc. Of Intern. Sci. Symp. Lublin-Radom 9–10.06.1997 – *Lathyrus sativus* – cultivation and nutritive value in animals and humans, 80.
- Oktaba W., 1986. Metody statystyki matematycznej w doświadczalnictwie. PWN Warszawa.
- Petres J., Czukur B., 1989. Investigation of the effects of extrusion cooking on antinutritional factors in soybeans employing response surface analysis. Part 2. Effect of extrusion cooking on urease and hemagglutinin activity. Die Nahrung 33(8), 729.
- Petres J., Markus Z., Gelencser E., Bogar Z., Gajzago I., Czukur B., 1990. Effect of dielectric heat treatment on protein nutritional values and some antinutritional factors in soybean. J. Sci. Food Agric. 53, 35.
- Rajko R., Szabo G., Vidal-Valverde C., Kovacs E., 1997. Designed experiments for reducing antinutritive agents in soybean by microwave energy. J. Agric. Food Chem. 45, 3565.
- Rotter R.G., Marquardt R.R., Low R.K-C., Briggs C.J., 1990. Influence of autoclaving on the effects of *Lathyrus sativus* fed to chicks. Can. J. Anim. Sci. 70, 739.
- Szmigielski M., Matyka S., 2004. Comparison of selected methods applied for the evaluation of thermal processing efficiency of chickling vetch seed. Pol. J. Food Nutr. Sci. 13/54(3), 243.
- Szmigielski M., Matyka S., Masłowski A., 2005. Influence of micronization on neurotoxin activity at chickling vetch determined using bromocresole purple index (BCPI)., Inż. Rol. 11(71), 455–462.

#### COOKING OF CHICKLING VETCH SEEDS AND CONCEPT FOR APPLICATION NEW EVALUATION PROCEDURE TO ASSESS OF HEAT TREATMENT EFFECTS

**Abstract.** The concept to apply the bromocresole purple index (BCPI) as a new way for evaluation of neurotoxins activity in cooked chickling vetch seeds (determined as  $\beta$ -N-oxalyl-L-alanine – BOAA) was verified. Seeds of chickling vetch (Krab cv.) cooked under conditions of one of 10 intensity variants (heated independently in boiled distilled water for 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, and 50 min.) in reference to untreated sample, were study objects. Every sample was subjected to determination using BCPI and BOAA methods. Statistical processing of data revealed that BCPI and BOAA methods correspond to each other in testing of cooked chickling vetch seeds (correlation coefficient  $r = 86.34\%$ ), and both features may be associated with hypothetical functions of the form  $BOAA = f(BCPI)$ . Their usefulness in analyses was statistically confirmed by achieving high fitting coefficients of the formulae to the real experimental data ( $R^2 = 74.94\%$  for power equation to 98.41% for 4<sup>th</sup> order polynomial equation).

**Key words:** chickling vetch, seeds, cooking, neurotoxin, bromocresole purple index, regression equation

Zaakceptowano do druku – Accepted for print: 27.10.2008