

Rozprawa doktorska pt.

**„Profil substancji fenolowych i struktury arabinoksylianów ziarna żyta
(*Secale cereale* L.) oraz ich związek z potencjałem prozdrowotnym chleba”**

mgr Wioletta Monika DYNKOWSKA

*Instytut Hodowli i Aklimatyzacji Roślin - Państwowy Instytut Badawczy w Radzikowie
Zakład Biochemii i Fizjologii Roślin, Pracownia Stresów Środowiskowych*

o nadanie stopnia doktora nauk rolniczych w dziedzinie nauk rolniczych, dyscyplinie agronomia

Promotor dr hab. Małgorzata Cyran

Promotor pomocniczy dr Krystyna Rybka (dr hab. od 26.09.2019 r.)

STRESZCZENIE

Substancje fenolowe i arabinoksyliany ziarna zbóż wchodzą w skład błonnika (włókna) pokarmowego, zarówno rozpuszczalnego, jak i nierozpuszczalnego. Żyto jako cenny surowiec do produkcji chleba zawiera frakcję fenoli o bardzo zróżnicowanej strukturze. Dominuje w niej kwas ferulowy, głównie związany z arabinoksylianami. W literaturze właściwości antyoksydacyjne ziarna zbóż i produktów zbożowych najczęściej odnoszone są do fenoli w formie wolnej i skoniugowanej (ekstrahowanych etanolem). Mąka żytnia jest również ważnym źródłem wysokocząsteczkowych arabinoksylianów, których frakcja ekstrahowalna wodą determinuje lepkość treści pokarmowej, a w konsekwencji szereg zmian metabolicznych korzystnych w profilaktyce i leczeniu cukrzycy, chorób serca i otyłości.

Celem przeprowadzonych badań było sprawdzenie, czy poprzez dobór odpowiedniej metody przygotowania ciasta można podnieść potencjał prozdrowotny chleba? Zbadano również wpływ rodzaju mąki oraz odmiany żyta na biodostępność substancji fenolowych, potencjał antyoksydacyjny i lepki chleba. Utylitarnym celem pracy było wskazanie parametrów technologicznych, które maksymalizowałyby potencjał prozdrowotny chleba.

Materiał do badań stanowiły 84 próby: mąk i chlebów całościarnowych i wymiałowanych otrzymanych z 7 odmian żyta wg 5 eksperymentalnych procedur przygotowania ciasta: metodą bezpośrednią bez dodatku kwasu (metoda A) oraz z dodatkiem kwasu mlekowego (metoda B) a także metodą trójfazową (metody C, D, E) w której czasy fermentacji natywnych starterów wynosiły odpowiednio: 12, 24 i 48 godzin. Zarówno mąki jak i chleby poddano frakcjonowaniu w celu oznaczenia potencjału lepkiego frakcji ekstrahowalnych wodą oraz upłynnianych w procesie trawienia *in vitro* a także analizie ilościowej i strukturalnej zawartości substancji fenolowych i arabinoksylianów. Zastosowano zaawansowane techniki analityczne, m.in.: wysokosprawną chromatografię wykluczania (HP-SEC), dwuwymiarową chromatografię gazową (GC × GC × ToF MS), magnetyczny rezonans jądrowy protonów (¹H-NMR). Nowoczesne detektory umożliwiły nie tylko analizy ilościowe lecz również oznaczenie absolutnych mas cząsteczkowych i struktury łańcucha. Uzyskane wyniki analizowano w oparciu o analizę wariancji ANOVA.

Wyniki uzyskane w niniejszej pracy wskazują na udział rozpuszczalnych w wodzie kwasów fenolowych i dehydrodimerów kwasu ferulowego, związanych z arabinoksylianami rozpuszczalnymi, w kształtowaniu potencjału antyoksydacyjnego przez wzrost ich biodostępności wskutek działania esteraż hydrolizujących wiązania estrowe. Wskazano na arabinoksyliany frakcji rozpuszczalnej włókna jako na biopolimery wpływające nie tylko na wartość potencjału lepkiego lecz także na wartość potencjału antyoksydacyjnego chleba. Stwierdzono również, że: • zastosowanie procedury bezpośredniej z dodatkiem kwasu mlekowego maksymalizuje potencjał lepki chleba oraz biodostępność substancji fenolowych a przez to i potencjał antyoksydacyjny; • metoda ta warunkuje uzyskanie najwyższych: kwasowości otrzymanego chleba, koncentracji fenoli związanych z arabinoksylianami rozpuszczalnymi oraz (w chlebie całościarnowym) frakcji fenoli skoniugowanych a także

rozpuszczalnych arabinoksylianów o najwyższym stopniu ferulacji i usieciowania oraz najniższym stopniu arabinozylacji łańcucha głównego. Stwierdzono również, że: • związki fenolowe związane estrowo z arabinoksylianami ekstrahowalnymi wodą oraz upłynnianymi w procesach hydrolizy enzymatycznej/kwasowej, a nie w formie wolnej i skoniugowanej (ekstrahowalne etanolem) determinują potencjał antyoksydacyjny chleba; • kwasy fenolowe i dehydrodimery kwasu ferulowego związane estrowo z arabinoksylianem stanowią dominującą grupę biodostępnych substancji fenolowych; • odmiana żyta ma istotny wpływ na właściwości antyoksydacyjne chleba, w badanym materiale odmiana Stanko charakteryzowała się szczególnie wysoką koncentracją antyoksydanów fenolowych, determinujących istotnie wyższy potencjał antyoksydacyjny chleba; • odmiana żyta ma również istotny wpływ na wysoki potencjał lepki chleba wymiałowego, w badanym materiale odmiana Amilo charakteryzowała się najwyższą masą cząsteczkową arabinoksylianów rozpuszczalnych oraz najwyższą koncentracją wysokocząsteczkowej dominującej subfrakcji AX-I; • stopień wymiału mąki żytniej jest odwrotnie proporcjonalny do lepkości ekstraktu otrzymanego chleba, co warunkowane jest głównie znacznie większą masą cząsteczkową arabinoksylianów rozpuszczalnych mąki wymiałowej w porównaniu do analogicznej frakcji mąki całościarnowej; • stopień wymiału mąki jest wprost proporcjonalny do potencjału antyoksydacyjnego chleba, co warunkowane jest stopniem ferulacji i usieciowania arabinoksylianów rozpuszczalnych; • kwasowość ciasta żytniego pozytywnie wpływa na stopień hydrolizy arabinoksylianów nierozpuszczalnych oraz stopień ich upłynnienia, który warunkuje koncentrację arabinoksylianów w chlebie. Uzyskane wyniki zawierają elementy nowej wiedzy, która pozwala na lepsze zrozumienie związku pomiędzy technologią przygotowania ciasta do wypieku chleba żytniego a potencjałem lepkim i antyoksydacyjnym otrzymanego pieczywa.

Doctoral thesis entitled

“The profile of phenolic compounds and structure of arabinoxylans of rye grain (*Secale cereale* L.) and their impact on bread health properties”

SUMMARY

Phenolic compounds and arabinoxylans of cereal grains are part of both soluble and insoluble dietary fiber. As a valuable raw material for bread, rye contains a phenol fraction with a very diverse structure. Ferulic acid, mainly associated with arabinoxylans is dominating. In the literature, the antioxidant properties of cereal grains and cereal products are most often referred to phenols in free and conjugated forms (extracted with ethanol). Rye flour is also an important source of high-molecular arabinoxylans especially of water-extractable fraction, which determines the viscosity of the chyme, influencing numerous metabolic processes and resulting in prevention and treatment of diabetes, heart disease and obesity.

The aim of present research was to check whether the health potential of bread could be increased by dough preparation method. The effect of flour type and rye cultivar on the bioavailability of phenolic substances, antioxidant potential and viscous potential of the bread were also examined. The practical goal of the work was to point on technological factors that would maximize the health-promoting potential of bread.

The research material consisted of 84 samples: flours and breads – whole-meal and endosperm breads, made from 7 varieties of rye according to 5 experimental dough preparation procedures: direct method without the addition of acid (method A) and with the addition of lactic acid (method B), as well as the three-phase method (methods C, D, E) in which the fermentation time of the native primers were 12, 24 and 48 hours, respectively. Flours and breads were fractionated to determine the viscous potential of both water extracts and fractions solubilized by in vitro digestion as well as to quantitative and structural characterization of phenolic compounds and arabinoxylans. Advanced analytical techniques

were used, including: high performance exclusion chromatography (HP-SEC), two-dimensional gas chromatography (GC x GC x ToF MS), proton nuclear magnetic resonance (¹H-NMR). Modern detectors enabled not only quantitative analyzes but also the determination of absolute molecular weights and arabinoxylan chain structure. The obtained results were evaluated basing on ANOVA analysis of variance.

The results obtained in this study indicate that water-soluble phenolic acids and ferulic acid dehydromers associated with soluble arabinoxylans influence the antioxidant potential due to increased bioavailability as result of hydrolytic action of esterases. Arabinoxylans of the soluble fiber fraction are pointed out as the biopolymers that are affecting not only the viscous potential but also values of antioxidant potential of breads. Also, it was found that:

- the use of a direct procedure with the addition of lactic acid maximizes both the viscous potential of bread and the bioavailability of phenolic compounds and thus the antioxidant potential;
- this method results also with the highest acidity of the bread as well as the highest concentrations of phenolic compounds associated with water-soluble arabinoxylans and conjugated phenols in whole meal bread and the highest concentration of water-soluble arabinoxylans most strongly ferulated and cross-linked and with the lowest degree of arabinosylation. It was also found that:
- phenolic compounds associated with water-extractable arabinoxylans and those released in enzymatic/acid hydrolyses but not present in ethanol extractable free and conjugated forms, determine the antioxidant potential of bread;
- phenolic acids and ferulic acid dehydromers esterifically bound to the water-soluble arabinoxylan are the dominant group of bioavailable phenolic substances;
- rye cultivar has a significant impact on the antioxidant properties of bread, in the tested material the Stanko variety was characterized by a particularly high concentration of phenolic antioxidants, determining a significantly higher antioxidant potential of bread;
- rye variety also has a significant impact on the high viscous potential of endosperm bread, in the tested material the Amilo variety was characterized by the highest molecular weight of water-soluble arabinoxylans and the highest concentration of dominant high molecular AX-I subfraction;
- the degree of flour extraction is inversely proportional to bread extract viscosity, which is signed mainly by the much higher molecular weight of soluble arabinoxylans of endosperm flour compared to the corresponding whole-grain flour fraction;
- the degree of flour extraction is directly proportional to the antioxidant potential of bread, which is linked with the degree of ferulation and crosslinking of soluble arabinoxylans;
- the acidity of rye dough has a positive effect on the degree of hydrolysis of insoluble arabinoxylans and the degree of their solubilization and by that by the concentration of arabinoxylans in bread.

The obtained results contain elements of new knowledge that allows better understanding of the relationship between the technology of rye dough preparation and the viscous and antioxidant potential of the obtained bread.

Radzików, 2019-09-26

(-) mgr W. M. Dynkowska