

АМИЛОЛИТИЧЕСКИЕ ФЕРМЕНТЫ В КОМПЛЕКСНОЙ ОЦЕНКЕ КАЧЕСТВА ЗЕРНА ТРИТИКАЛЕ СОРТА ТИМИРЯЗЕВСКАЯ 150 И ИХ АКТИВАЦИЯ УВЛАЖНЕНИЕМ И ПОДСУШИВАНИЕМ

AMYLOLYTIC ENZYMES IN THE COMPLEX GRAIN QUALITY EVALUATION OF TRITICALE VARIETY "TIMIRYAZEVSAYA 150" AND THEIR ACTIVATION BY MOISTENING AND DRYING

Ключевые слова: зерно тритикале, увлажнение, подсушивание, активность амилаз, реологические свойства.

Keywords: triticale grain, moistening, drying, amylase activity, rheological properties.

Показано, что амилазы в зерне тритикале распределены неравномерно: в зародыше сосредоточена основная часть ферментов – их активность в 2,2-3,4 раз превосходит активность в целом зерне. Установлено, что, в отличие от нейтральных протеаз, активность которых изменяется уже при увеличении влажности на 2-3%, активность амилаз начинает увеличиваться только при влажности выше 28%, оставаясь до этого стабильной на исходном уровне. В целой зерновке она увеличивается на 15-25% с влажностью 27,5 до 30%. В зародыше она превосходит исходную в 4,0-4,5 раз. В зерновке без зародыша активность амилаз при влажности 30% возрастает незначительно – на 6-8%. Подсушивание сопровождается снижением активности амилаз, но остается более высокой (примерно на 15%) по сравнению с зерном исходной влажности. Реологические свойства зерна тритикале сорта Тимирязевская-150, полученные с использованием системы миксолоба фирмы Chopin Technologies (Франция) и представляющие собой интегральные показатели, которые описывают состояние теста при замесе в течение всего технологического процесса, позволяют с высокой долей достоверности оценить свойства зернового сырья и свидетельствуют о том, что исследуемые образцы зерна имеют достаточно высокий технологический потенциал для использования в продовольственных целях, особенно в технологиях, где высокая амилолитическая активность не является отрицательным фактором.

It is shown that amylases in triticale grains are unevenly distributed: the main part of enzymes is concentrated in the embryo; their activity is 2.2-3.4 times higher than that in the whole kernel. It has been found that, in contrast to neutral proteases, the activity of which changes already with an increase in moisture content by 2-3%, the activity of amylases begins to increase only at moisture content above 28%, remaining up to that stable at the initial level. In the whole kernel, it increases by 15-25% from the moisture content of 27.5% to 30%. In the embryo, it exceeds the original activity 4.0...4.5 times. In a kernel without embryo, amylase activity at a moisture content of 30% increases slightly by 6-8%. Drying is accompanied by decreased activity of amylases, but it remains higher (by 15%) as compared to the grain of the initial moisture content. The rheological properties of the grain of the "Timiryazevskaya-150" triticale variety obtained by using the Mixolab system (by Chopin Technologies, France) are represented by integral indices that describe dough condition during kneading throughout the entire process; they make it possible to evaluate the grain properties with a high degree of certainty and prove that the grain samples have a sufficiently high technological potential for food use especially in the technologies where high amylolytic activity is not a negative factor.

Витол Ирина Сергеевна, к.б.н., доцент, с.н.с. лаб. «Биохимия и микробиология зерна и зернопродуктов», Всероссийский НИИ зерна и продуктов его переработки – филиал ФГБНУ «ФНЦ пищевых систем им. В.М. Горбатова» РАН, г. Москва. E-mail: vitolis@yandex.ru.

Герасина Анна Юрьевна, аспирант, м.н.с. сектора «Стандартизация зерна и зернопродуктов», Всероссийский НИИ зерна и продуктов его переработки – филиал ФГБНУ «ФНЦ пищевых систем им. В.М. Горбатова» РАН, г. Москва. E-mail: gerasina_ay@mail.ru.

Мелешкина Елена Павловна, д.т.н., директор, Всероссийский НИИ зерна и продуктов его переработки – филиал ФГБНУ «ФНЦ пищевых систем им. В.М. Горбатова» РАН, г. Москва. E-mail: mep5@yandex.ru.

Vitol Irina Sergeevna, Cand. Bio. Sci., Assoc. Prof., Senior Staff Scientist, All-Russian Research Institute of Grain and Grain Processed Products, Branch, V.M. Gorbatov Federal Scientific Center of Food Systems of Rus. Acad. Sci., Moscow. E-mail: vitolis@yandex.ru.

Gerasina Anna Yuryevna, post-graduate student, Junior Staff Scientist, All-Russian Research Institute of Grain and Grain Processed Products, Branch, V.M. Gorbatov Federal Scientific Center of Food Systems of Rus. Acad. Sci., Moscow. E-mail: gerasina_ay@mail.ru.

Meleshkina Yelena Pavlovna, Dr. Tech. Sci., Director, All-Russian Research Institute of Grain and Grain Processed Products, Branch, V.M. Gorbatov Federal Scientific Center of Food Systems of Rus. Acad. Sci., Moscow. E-mail: mep5@yandex.ru.

Введение

Тритикале – это первая зерновая культура, полученная скрещиванием пшеницы (*Triticum*) с рожью (*Secale*), обладающая высоким биологическим потенциалом и пищевой ценностью. Биопотенциал зерна тритикале, как и всех сельскохозяйственных культур зависит от сортовых особенностей (генотипа) и условий выращивания (фенотипа). Пищевая ценность связана с высоким содержанием белка, незаменимых аминокислот, а также сбалансированностью аминокислотного состава. Биологическая ценность зерна тритикале обусловлена преобладанием водо- и солерастворимых фракций над нерастворимыми фракциями белка и, как следствие, более высокой степенью усвоения белков тритикале по сравнению с пшеницей, а также наличием витаминов, макро- и микроэлементов [1, 2]. Использование тритикале как продовольственной культуры в нашей стране остается до сих пор крайне ограниченным, тем не менее это интересное, перспективное направление расширения сырьевой базы и ассортимента выпускаемой продукции для перерабатывающих отраслей пищевой индустрии [1-3].

Качество зернового сырья определяется не только его химическим составом, но и состоянием ферментного комплекса. Известно, что повышение влажности зерна сопровождается интенсивным нарастанием активности ферментов. Зерно выходит из состояния покоя, в нем получают развитие пусковые механизмы прорастания.

Прорастание семян – сложный биологический процесс, включающий комплекс морфологических, физиологических и биохимических изменений зародыша, в результате которых зародыш превращается в активно растущий и развивающийся организм. До сих пор нет полной ясности в том, какие молекулярные процессы и в какой последовательности должны произойти, чтобы началось и успешно завершилось прорастание [4, 5]. Глубина развития этих процессов зависит прежде всего от количества поглощенной воды. Дальнейшее подсушивание зерна приводит к снижению его физиологической активности, при этом ферментные системы не возвращаются в исходное состояние. Изучение важнейших ферментных систем зерна при увлажнении и подсушивании имеет большое значение не только для оценки семенных достоинств зерна, но и оценки его технологических показателей.

Цель исследований заключалась в оценке амилолитической активности зерна тритикале

сорта Тимирязевская 150 как одного из показателей качества зерна, в том числе с использованием системы миксолаб, а также ее изменении при увлажнении и подсушивании.

Объекты и методы исследования

В качестве объекта исследования использовали зерно тритикале сорта Тимирязевская 150, урожая 2015, 2016, 2017 гг., предоставленное Селекционной станцией им. П.И. Лисицына РГАУ-МСХА им. К.А. Тимирязева. Оценку технологических показателей качества проводили в соответствии с действующими ГОСТами, принятыми в отрасли хлебопродуктов. Число падения (ЧП) определяли по ГОСТ 27676-88.

Оценку реологических свойств осуществляли на приборе миксолаб фирмы Chopin Technologies (Франция). Прибор позволяет обеспечить комплексный подход к оценке качества муки на основе изучения реологических свойств теста [6].

Для анализа цельносмолотого зерна тритикале сорта Тимирязевская-150 использовали протокол Chopin Wheat+, который предполагает 5 интервалов температур, при которых идет исследование. Измеряемый крутящий момент в анализируемых точках графика, с точки зрения биохимии, характеризует различные процессы.

Первый этап (точка С1) характеризует время замеса, образования теста, его устойчивость. Продолжительность 1-й фазы 8 мин., при этом оптимальная консистенция обеспечивается путем подбора количества добавляемой воды. Также на этом этапе определяются водопоглощение и оптимальный крутящий момент для дальнейшего эксперимента. В течение второй фазы (точка С2) регистрируется разжижение теста при его нагреве до 90°C, которое, как считается, связано с изменениями в белковом комплексе зерна, вызванными механическим воздействием и температурой. Общая продолжительность 2-й фазы составляет 15 мин. (скорость нагрева 4°C/мин.). Третья фаза (точка С3) характеризует максимальную скорость клейстеризации крахмала. Продолжительность 3-й фазы 7 мин. Во время этой фазы в тестомесилке поддерживается постоянная температура в 90°C. На 4- и 5-й фазах измеряют консистенцию теста при его охлаждении до 50°C и выдерживании при этой температуре в течение 5 мин. (точки С4, С5 – начало и окончание ретроградации крахмала). Продолжительность фаз составляет 10 и 5 мин. соответственно. Скорость охлаждения

на 4-й фазе – 4°С/мин. Расчетные величины: α , β , γ – скорости биохимических реакций.

Для изучения изменения ферментативной активности в зерне на разных этапах увлажнения и подсушивания опытные образцы готовили по следующей схеме: навески зерна по 10 г увлажняли до влажности 15, 18, 20, 22, 25, 28 и 30% путем добавления расчетного количества воды. Отволаживание проводили в течение одних суток в плотно закрытых сосудах. Подсушивание осуществляли в тонком слое на фильтровальной бумаге при комнатной температуре в течение одних суток.

Содержание водорастворимого белка проводили по методу Лоури. Определение активности протеаз – модифицированным методом Ансона, амилаз – колориметрическим методом А.П. Рухлядьевой и М.Г. Горячевой [7].

Результаты исследования и их обсуждение

Технологические показатели качества зерна тритикале сорта Тимирязевская-150 урожаев 2015-2017 гг. представлены в таблице 1.

Активность амилолитических ферментов зерна и муки – еще одна важная технологическая и био-

химическая характеристика, которая определяет наряду с другими показателями хлебопекарные достоинства муки. Ее оценка проводилась с помощью метода определения числа падения (ЧП). Для зерна тритикале урожая 2016 г. этот показатель составил 96 с, урожая 2017 г. – 169 с, свидетельствует о повышенной активности амилолитических ферментов в данных образцах зерна тритикале.

Анализ реологических свойств теста из зерна тритикале сорта Тимирязевская-150 урожая 2017 г. с использованием системы миксолаб выявил следующие основные параметры реологического профиля и расчетные показатели скоростей реакций (табл. 2, рис. 1).

1-я фаза (точка С1) характеризует время замеса (время от добавления воды до достижения оптимального крутящего момента). При анализе цельносмолотого зерна тритикале оно составило 3,27 с. Следует отметить, что для зерна тритикале, как и для тритикалевой муки, время, характеризующее устойчивость теста и степень его разжижения, примерно в 5 раз меньше, чем для пшеницы и пшеничной муки, и составляет 1,25 и 5,02 мин. соответственно [8, 9].

Таблица 1

Показатели качества зерна тритикале сорта Тимирязевская-150

Год урожая	Влажность, %	Масса 1000 зерен, г	Натура, г/дм ³	Стекловидность, %		Зольность, %
				общая	полная	
2015	9,9	41,26	785	53	7	1,94
2016	9,6	40,76	766	55	10	2,04
2017	9,2	37,06	792	52	12	1,96

Таблица 2

Основные параметры реологического профиля зерна тритикале сорта Тимирязевская 150 (протокол ChopinWheat[®]) и расчетные показатели скоростей реакций

Параметры	Время,	Крутящий момент, Н·м	Температура теста, °С
С1	3,27	1,090	26,8
С5	8,00	0,857	27,3
С2	18,50	0,363	53,6
С3	22,90	1,472	70,6
С4	32,27	0,706	78,5
С5	45,00	1,173	48,3
Угловые коэффициенты, Н·м/мин.			
$a^* = -0,050$	$\beta^{**} = 0,486$		$\gamma^{***} = -0,094$

Примечание. * α – характеристика скорости реакции разжижения, выражаемая углом наклона касательной к миксолабограмме от момента достижения температуры 30°С до точки С2; ** β – характеристика скорости реакции клейстеризации крахмала, выражаемая углом наклона касательной к миксолабограмме на участке С2-С3; *** γ – характеристика скорости амилолиза, выражаемая углом наклона касательной к миксолабограмме на участке С3-С4.

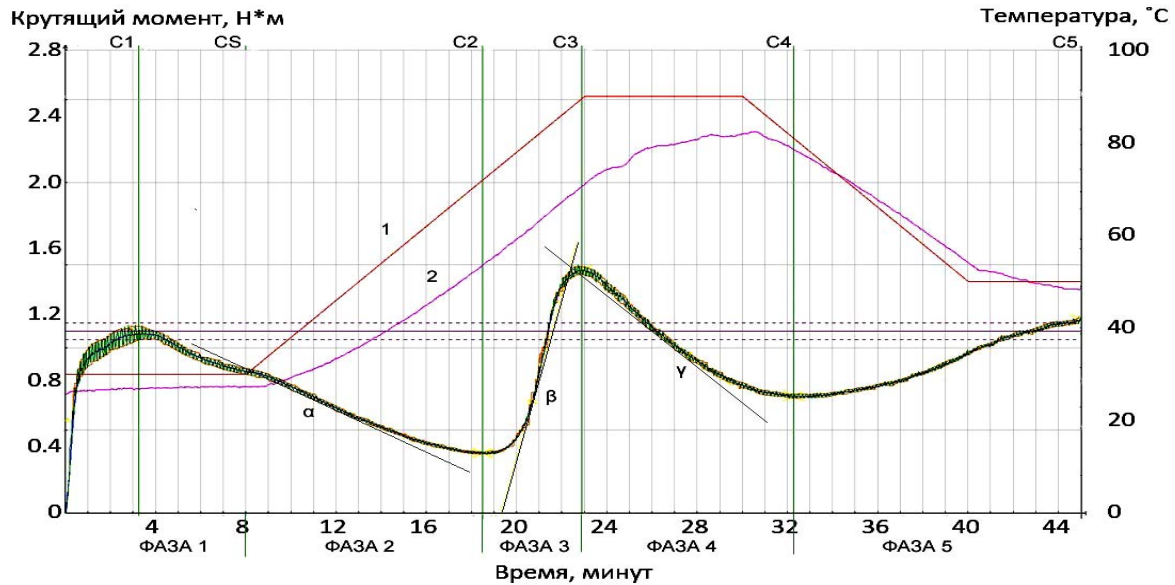


Рис. 1. Миксолабограмма зерна тритикале сорта Тимирязевская 150:
 1 – температура тестомесилки; 2 – температура теста,
 C1, C2, C3, C4, C5 – анализируемые точки графика, в которых измеряют момент силы

2-я фаза (точка C2) – разжижение теста, связанное с механическим и температурным воздействием. При этом высокое значение C2 указывает на хорошее качество белка. Крутящий момент на втором этапе составил 0,363 Н·м. Дополнительным параметром, характеризующим скорость изменений в белковом комплексе зерна при нагревании, к которым следует отнести, как указывалось выше, денатурационные процессы и частичный протеолиз под действием собственных протеиназ зерна, является угловой коэффициент альфа (α), связанный со скоростью разжижения теста при нагреве (табл. 5).

Крутящий момент на 3-й фазе (точка C3) составил 1,472 Н·м, что является самой высокой точкой на графике и характеризует максимальную вязкость и процесс набухания гранул крахмала. Отмечен и крутой подъем кривой на графике, что свидетельствует о высокой скорости клейстеризации крахмала.

На 4-й фазе температура месильной камеры выходит на свой максимум (90°C) и в течение 7 мин. эта температура поддерживается. В это время наблюдается снижение вязкости за счёт разрыва водородных связей, обеспечивающих более плотную упаковку амилозы и амилопектина. Образец размолотого зерна Тимирязевская 150 характеризуется низкой стабильностью крахмального клейстера, что может быть связано с структурными особенностями крахмала тритикале и высокой долей поврежденных крахмальных зерен. Крутящий момент составил 0,706 Н·м.

На 5-й фазе при постепенном охлаждении с 90 до 50°C происходит ретроградация крахмала, суть которой сводится к тому, что молекулы амилозы и амилопектина вновь выстраивают кристаллические цепочки за счёт водородных связей. Чем выше крутящий момент, тем быстрее идёт процесс ретроградации. Можно прогнозировать, что продукты из данного зерна будут относительно устойчивыми к черствлению после выпечки, т.к. крутящий момент на этом этапе невысокий – 1,173 Н·м.

Данные интегральной оценки реологических свойств теста визуализируются на графике в виде круговой диаграммы (так называемый профайлер миксолаба) (рис. 2).

Анализируя данные интегральной оценки реологических свойств по 6 основным индексам: ВПС ...8, Замес ...2, Клейковина+ ...6, Вязкость ...1, Амилаза ...4, Ретроградация крахмала ...4, можно констатировать, что исследуемый образец зерна характеризуется высокой водопоглотительной способностью, так как в отличие от муки содержит большее количество белков и некрахмальных полисахаридов из-за присутствия периферийных частей зерновки.

Низкий индекс замеса свидетельствует о недостаточной стабильности теста во время замешивания и соответствует слабой или средней муке (в соответствии с классификацией по фариногафу), которая может быть рекомендована для видов хлеба с невысоким подъемом, а также для изделий из слоеного теста, крекеров и лапши [6, 9].



Рис. 2. Круговая диаграмма (профайлер миксолаба) зерна тритикале сорта Тимирязевская 150

Индекс клейковины отражает два очень важных явления, которые происходят во время нагревания теста от 30 до 40°C: крахмальные гранулы набухают, но их структура остается неизменной, при этом действие α-амилазы совсем незначительное. При этом структура клейковинных белков изменяется, что связано с особенностями белковых комплексов, разрывом водородных связей и другими факторами, оказывающими влияние на структуру и свойства клейковины, а именно липидов, углеводов, ферментов (протеаз и их белковых ингибиторов, амилаз, липоксигеназы). Исследуемый образец зерна тритикале имеет индекс клейковины, равный 6, группа качества по показаниям ИДК соответствует II удовлетворительной крепкой (40 ед. ИДК).

Активность амилолитических ферментов зерна и муки – еще одна важная технологическая и биохимическая характеристика, которая определяет наряду с другими показателями, хлебопекарные достоинства муки. Ее оценка проводилась с помощью определения числа падения (ЧП). Для зерна тритикале урожая 2015 г. ЧП составило 133 с, для зерна тритикале урожая 2016 г. – 96 с, урожая 2017 г. – 169 с. Это косвенно свидетель-

ствует о повышенной амилолитической активности в данных образцах зерна тритикале.

В отличие от нейтральных протеаз, активность которых изменяется уже при увеличении влажности на 2-3% [4], активность амилаз начинает увеличиваться только при влажности выше 27,5%, оставаясь до этого стабильной на исходном уровне. В целой зерновке активность амилаз увеличивается на 15-25% с влажности 27,5 до 30% (рис. 3). Изменение амилолитической активности зерновки без зародыша незначительно и составляет 6-8% при влажности 30%.

Подсушивание сопровождается снижением активности амилаз, которая остается более высокой (на 2,5-15%) по сравнению с зерном исходной влажности для зерновки без зародыша и целого зерна соответственно.

Особенно интенсивно активность амилаз изменяется в зародыше. Установлено, что при увлажнении до 30% она превосходит исходную в 4,0-4,5 раза (рис. 4). Подсушивание снижает активность амилаз зародыша, но она остается на более высоком уровне и превосходит исходную в 2,2 раза.

Таблица 3

Распределение амилаз по анатомическим частям зерновки

Образец	Часть зерновки	Активность амилаз	
		ед. АС	% от целого зерна
Тимирязевская 150, урожай 2016 г.	Целое зерно	0,35	100
	Зародыш	0,76	217
	Зерновка без зародыша	0,30	86
Тимирязевская 150, урожай 2017 г.	Целое зерно	0,42	100
	Зародыш	1,42	338
	Зерновка без зародыша	0,37	88



Рис. 3. Изменение активности амилаз целой зерновки тритикале сорта Тимирязевская 150 (урожай 2017 г.) при увлажнении и подсушивании

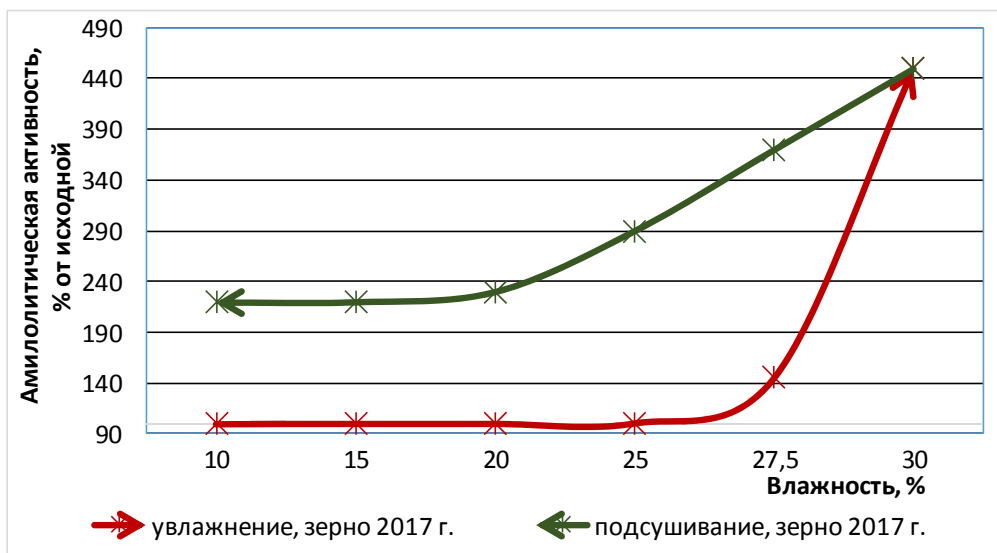


Рис. 4. Изменение активности амилаз зародыша зерна тритикале сорта Тимирязевская 150 (урожай 2017 г.) при увлажнении и подсушивании

Заключение

Оценка углеводно-амилазного комплекса с помощью числа падения (ЧП) свидетельствует о повышенной амилолитической активности в данных образцах зерна тритикале (2016 г. – 96 с, 2017 г. – 169 с). Реологические свойства зерна тритикале сорта Тимирязевская 150, полученные с использованием системы миксолаб фирмы Chopin Technologies (Франция) и представляющие собой интегральные показатели, которые описывают состояние теста при замесе в течение всего технологического процесса, свидетельствуют о

том, что исследуемые образцы зерна имеют достаточно высокий технологический потенциал для использования в продовольственных целях, особенно в технологиях, где высокая амилолитическая активность не является отрицательным фактором.

Показано, что зерно тритикале, прошедшее увлажнение и подсушивание, существенно отличается от исходного зерна как по активности протеолитических ферментов, так и по активности амилаз по сравнению с исходным зерном той же влажности. Полученные данные позволят

направленно воздействовать на биологические системы зерна, получать зерно с более высоким, по сравнению с исходным, уровнем активности различных ферментных систем. Активированное таким образом зерно тритикале может служить сырьем для получения продуктов (разные типы муки и крупы) с заданными свойствами.

Библиографический список

1. Витол И.С., Герасина А.Ю. Протеолитические ферменты зерна тритикале, прошедшие увлажнение и подсушивание // Аграрный научный журнал. – 2018. – № 10. – С. 16-19.

2. Витол И.С., Герасина А.Ю., Панкратьева И.А., Политуха О.В. Технологические и биохимические показатели в оценке качества зерна тритикале сорта Тимирязевская-150 // Вестник Алтайского государственного университета. – 2017. – № 8 (154). – С. 43-48.

3. Кобелев К.В., Гернет М.В., Грибкова И.Н., Бойков А.В. Свойства тритикале и перспективы ее использования в бродильных напитках // Хранение и переработка сельхозсырья. – 2013. – № 5. – С. 51-53.

4. Козьмина Н.П. Биохимия зерна и продуктов его переработки. – М.: Колос, 1976. – 375 с.

5. Мелешкина Е.П., Панкратов Г.Н., Панкратьева И.А., Чиркова Л.В., Кандроков Р.Х., Витол И.С., Игорянова Н.А., Политуха О.В., Туляков Д.Г. Тритикале (технологии переработки): монография / под ред. Е.П. Мелешкиной. – М.: Изд-во ФЛИНТА, 2018. – 188 с.

6. Нечаев А.П., Траубенберг С.Е., Кочеткова А.А., Колпакова В.В., Витол И.С., Кобелева И.Б. Пищевая химия: лабораторный практикум. – СПб.: ГИОРД, 2006. – 304 с.

7. ICC № 173. Whole meal and flour from T. aestivum – Determination of rheological behavior as a function of mixing and temperature increase. – 2008. ICC. Standard. Vienna.

8. Antanas S., Alexa E., Negrea M., Guran E., Lazureanu A. (2013). Studies regarding rheological properties of triticale, wheat and rye flours. *Journal of Horticulture, Forestry and Biotechnology*. Vol. 17 (1): 345-349.

9. Dubat A. (2009). Le mixolab Profiler: un outil complet pour le controle qualite des bles et des farines. *Industries des Cereales*. Vol. 161: 11-26.

References

1. Vitol I.S., Gerasina A.Yu. Proteolitichestkie fermenty zerna tritikale, proshedshie uvlazhnenie i podsushivanie // *Agrarnyy nauchnyy zhurnal*. – 2018. – No. 10. – С. 16-19.

2. Vitol I.S., Gerasina A.Yu., Pankrateva I.A., Politukha O.V. Tekhnologicheskie i biokhimicheskie pokazateli v otsenke kachestva zerna tritikale sorta Timiryazevskaya-150 // *Vestnik Altayskogo gosudarstvennogo universiteta*. – 2017. – No. 8 (154). – С. 43-48.

3. Kobelev K.V., Gernet M.V., Gribkova I.N., Boykov A.V. Svoystva tritikale i perspektivy ee ispolzovaniya v brodilnykh napitkakh // *Khranenie i pererabotka selkhozsyrya*. – 2013. – No. 5. – С. 51-53.

4. Kozmina N.P. Biokhimiya zerna i produktov ego pererabotki. – М.: Kolos, 1976. – 375 s.

5. Meleshkina Ye.P., Pankratov G.N., Pankrateva I.A., Chirkova L.V., Kandrov R.Kh., Vitol I.S., Igoryanova N.A., Politukha O.V., Tulyakov D.G. Triticale (tekhnologii pererabotki): monografiya / pod red. Ye.P. Meleshkinoy. – М.: Izd-vo FLINTA, 2018. – 188 s.

6. Nechaev A.P., Traubenberg S.Ye., Kochetkova A.A., Kolpakova V.V., Vitol I.S., Kobleva I.B. Pishchevaya khimiya. Laboratornyy praktikum. – SPb.: GIORД, 2006. – 304 s.

7. ICC No. 173. Whole meal and flour from T. aestivum – Determination of rheological behavior as a function of mixing and temperature increase. – 2008. ICC. Standard. Vienna.

8. Antanas S., Alexa E., Negrea M., Guran E., Lazureanu A. (2013). Studies regarding rheological properties of triticale, wheat and rye flours. *Journal of Horticulture, Forestry and Biotechnology*. Vol. 17 (1): 345-349.

9. Dubat A. (2009). Le mixolab Profiler: un outil complet pour le controle qualite des bles et des farines. *Industries des Cereales*. Vol. 161: 11-26.

