

УДК 633.112.9«324»:581.19

АМИЛОГРАФИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ МУКИ ОЗИМОГО ТРИТИКАЛЕ

Н.П. ШИШЛОВА, Е.В. ЛАПУТЬКО, Т.П. ШЕМПЕЛЬ

*Научно-практический центр Национальной академии наук Беларуси по земледелию
222160 Минская обл., Жодино, ул. Тимирязева, 1
e-mail: triticale@tut.by*

Проведен амилографический анализ муки 10 образцов озимого тритикале, зерно которого формировалось и созревало под воздействием высоких температур (2010—2011 гг.) и повышенного количества осадков (2010 г.). Для сравнительного изучения углеводно-амилазных комплексов тритикале, ржи и пшеницы использовали ингибитор эндогенных ферментов, экзогенную α -амилазу и предварительное замачивание семян. Оценены степень воздействия абиотических факторов среды на амилографические показатели и норму реакции генотипов. Корреляционным анализом установлены достоверные прямые зависимости между высотой амилограммы, температурой максимальной клейстеризации и числом падения, обратная зависимость между начальной температурой клейстеризации и вязкостью водного экстракта.

Ключевые слова: *Triticosecale* Wittm. & A. Camus, углеводно-амилазный комплекс, амилографические показатели, корреляционный анализ.

Морфофизиологические и биохимические особенности тритикале, такие как низкая плотность и гигроскопичность зерновки, повышенная активность гидролитических ферментов на завершающем этапе созревания, разрушение крахмальных гранул, неглубокий покой, склонность к предуборочному прорастанию и полеганию обуславливают специфические реологические свойства культуры. Вязкость, предельное напряжение сдвига и время разрушения структуры замесов из муки тритикале значительно ниже, чем из муки пшеницы и ржи [2, 3].

В климатических условиях Республики Беларусь для культуры в целом характерны невысокие значения реологических показателей. Однако широкий диапазон их генетической и модификационной изменчивости дает возможность проводить дифференциацию и отбор в зависимости от направления использования зерна. Амилографический анализ, базирующийся на клейстеризации крахмала при нагревании водно-мучной суспензии с последующим его гидролизом эндогенными ферментами, широко используется в пищевой индустрии. Он позволяет оценить состояние углеводно-амилазного комплекса, исходя из температуры клейстеризации, вязкости и стабильности клейстера, скорости его разжижения [4, 5].

Заметное влияние на реологические свойства, наряду с генетическим фактором, оказывает окружающая среда. Высокая температура во время созревания зерна способствует образованию в крахмальных гранулах сегментов с кристаллической структурой, повышающих устойчивость к амилолизу [6]. Обильные осадки одновременно провоцируют

усиление активности амилолитических ферментов и накопление некрахмальных полисахаридов, тормозящих гидролиз крахмала [1].

Целью исследования было изучение амилографических показателей озимого тритикале в сравнении с рожью и пшеницей для выявления специфических особенностей углеводно-амилазного комплекса культуры, оценки влияния абиотических факторов на его свойства и норму реакции генотипов.

Методика

Основным объектом исследований были семена 10 сортов и сортообразцов озимого гексаплоидного тритикале (*X Triticosecale* Wittm. & A. Camus, $2n = 42$) отечественной селекции, выращенные на опытных полях Научно-практического центра НАН Беларуси по земледелию в 2010–2011 гг. Сравнительному анализу подвергали семена трех сортов и сортообразцов ярового тритикале — Узор, Садко и Лотас ($2n = 42$), двух сортов озимой ржи (*Secale cereale* L.) — Спадчына ($2n = 28$), Алькора ($2n = 14$), одного сорта озимой пшеницы — Капылянка (*Triticum aestivum* L., $2n = 42$). Норма высева составила 4,5 млн всхожих семян на гектар. Фосфорно-калийные удобрения в дозе $P_{80}K_{120}$ вносили осенью под основную обработку почвы, азотные (карбамид) в дозе N_{120} — весной в несколько приемов в зависимости от типа развития растения. Для ярового типа: N_{90} — под предпосевную культивацию и N_{30} — в начале фазы выхода в трубку; для озимого: N_{60} — при возобновлении вегетации, N_{30} — в начале фазы выхода в трубку, N_{30} — при появлении флагового листа.

Амилографический анализ водно-мучных суспензий проводили на приборе Amylograph-E Brabender (Германия). Навеску несеемной муки (90 г при влажности 14 %) суспендировали в 450 мл воды (раствора) в следующих вариантах опыта:

- 1) контроль — дистиллированная вода;
- 2) ингибирование эндогенных ферментов — 0,4 мМ раствор $AgNO_3$ («Унидрагмет БГУ», Беларусь);
- 3) активация гидролиза крахмала — α -амилаза поджелудочной железы свиньи («Sigma», Швейцария), 55,6 ед/г муки, инкубация 60 мин, 53 °С, pH 6,9;
- 4) активация эндогенных ферментов — замачивание семян в водопроводной воде (6 ч, 21 °С), высушивание, размол и далее — как в контрольном варианте.

Между изученными для озимого тритикале показателями рассчитывали коэффициенты парной корреляции.

Результаты и обсуждение

Амилографическим анализом выявлены различия между культурами (тритикале, рожь, пшеница), видами (диплоидная и тетраплоидная рожь), формами (яровое и озимое тритикале) и генотипами. Степень различий определялась свойствами углеводно-амилазного комплекса и влиянием абиотических факторов среды. Для обоих лет наблюдений отмечался температурный стресс во время формирования и созревания зерна. В 2010 г. превышение температурной нормы летних месяцев колебалось по декадам от 1,3 до 6,5 °С при максимальной температуре воздуха 36 °С. Количество осадков, выпавших за этот период, превысило норму в 1,59 раза: июнь — 45,1 мм (162 %); июль — 43,8 мм (150 %), ав-

густ — 41,9 мм (165 %). В следующем году напряженность температурного фактора уменьшилась: превышение нормы колебалось от 0,4 до 5,6 °С при температурном максимуме 31 °С. Количество осадков в летние месяцы, в отличие от 2010 г., было близким к норме.

Погодные условия негативно сказались на реализации потенциала продуктивности озимого тритикале в конкурсном сортоиспытании, средняя урожайность которого при ослаблении абиотического стресса в 2011 г. заметно выросла: 59,7 против 50,6 ц/га в 2010 г. При этом уровень крахмала в зерне исследуемых образцов и культур практически не изменился. Так, в 2010 г. среднее значение показателя для образцов озимого тритикале составило 67,9, в 2011 г. — 67,1 %. Разница между значениями, сопоставимая с ошибкой выборки, и низкие коэффициенты вариации свидетельствуют о генетической и экологической стабильности озимого тритикале по содержанию крахмала в зерне.

Начальная температура клейстеризации крахмала в составе водно-мучных суспензий также характеризовалась незначительной вариабельностью и слабой восприимчивостью к воздействию абиотических факторов (табл. 1). Первым в процесс клейстеризации вовлекался нативный крахмал ржи (53,6—56,8 °С), затем практически одновременно — крахмал озимого тритикале (57,0—61,1 °С) и пшеницы (57,9—60,1 °С), позже всех — крахмал ярового тритикале (59,3—61,4 °С). Полная клейстеризация крахмала, которой соответствует максимальная вязкость, наступала сначала для тритикале, затем для ржи и гораздо позже — для пшеницы при температуре, превышающей 80 °С. К этому моменту у всех образцов тритикале (за исключением сорта Мара) фиксировали минимальную вязкость, свидетельствующую о завершении гидролиза крахмала.

Показатель «максимальная температура клейстеризации» в 2010 г. превышал показатель 2011 г., что было вызвано влиянием температурного фактора. Высокая температура (>25 °С) во время созревания зерна способствовала увеличению количества длинных боковых *L*-цепей в молекулах амилопектина. Образование *in vivo* в крахмальных гранулах компактных участков с кристаллической структурой — эндотермический процесс, поэтому повышение температуры благоприятствовало его протеканию. Обычно при этом возрастают энтальпия и максимальная температура клейстеризации крахмала. Например у сорта пшеницы Norin 3 при температуре созревания 15 °С значения указанных показателей составили 7,8 Дж/г и 49,8 °С, при 30 °С — 10,2 Дж/кг и 60,2 °С [6].

Наибольшие изменения максимальной температуры клейстеризации отмечались для сортов озимого тритикале Дубрава, Кастусь, ярового тритикале Узор, сорта ржи Спадчына; наименьшие — для сортов озимого тритикале Прометей, Жниво, Лето, ярового тритикале Садко.

Показатель «высота амилограммы» характеризовался высокой генотипической вариацией, особенно в 2010 г. В этом году структурные преобразования крахмала способствовали стабилизации клейстера, что положительным образом сказалось на высоте амилограмм всех проанализированных образцов. Исключение составили сорт ярового тритикале Садко и сорт озимой ржи Алькора, для которых отмечалось существенное повышение пика в 2011 г. Судя по резкому скачку вязкости водного экстракта (с 9,1 до 35,3 мПа · с), это связано с повышенным содержанием некрахмальных полисахаридов, затруднивших гидролиз крахмала [1]. Средняя высота амилограммы озимого тритикале значительно уступала высоте амилограмм пшеницы и ржи. Однако в

ТАБЛИЦА 1. Амилографический анализ водно-мучных суспензий тритикале, ржи и пшеницы (контроль)

Культура, образец (год включения в Государственный реестр РБ)	Температура клейстеризации, °С				Высота амилограммы, с.а.	
	начальная		максимальная		2010 г.	2011 г.
	2010 г.	2011 г.	2010 г.	2011 г.	2010 г.	2011 г.
Михась—St* (1998)	60,1	58,8	67,8	65,5	257	167
Идея (1998)	59,0	57,0	68,9	65,4	310	186
Мара (1998)	58,8	57,4	72,9	69,4	704	398
Дубрава (1999)	59,1	57,5	73,0	65,0	494	204
Кастусь (2006)	61,1	59,4	71,5	66,9	400	197
Антось (2008)	60,1	58,0	67,4	64,9	207	139
Импulse (2009)	60,0	57,8	68,6	64,8	288	165
Прометей (2009)	59,8	57,9	65,9	64,6	162	153
Жниво	59,4	57,4	67,8	66,3	264	198
Лето	60,3	58,9	69,5	68,3	334	250
Среднее	59,8±0,2	58,0±0,2	69,3±0,8	66,1±0,5	342±50	206±24
Границы изменчивости	58,8—61,1	57,0—59,4	65,9—73,0	64,6—69,4	162—704	139—398
Коэффициент вариации, %	1,18	1,34	3,46	2,46	46,28	36,18
Узор—St (2008)	61,4	59,5	71,0	66,4	496	205
Садко (2011)	61,4	60,1	66,0	65,5	95	113
Лотас	60,3	59,3	67,9	65,5	292	197
Спадчына (2000)	56,1	53,6	Озимая рожь	67,0	615	455
Алькора (2008)	56,8	54,0	73,8	72,4	429	662
Капьянка—St (1995)	60,1	57,9	Озимая пшеница	83,6	897	656

*Здесь и в табл. 2—4: St — стандарт; с.а. — единицы амилографа.

2010 г. сорта озимого тритикале Мара, Дубрава и сорт ярового тритикале Узор показали значения, сравнимые с высотой амилограмм ржи. Они также характеризовались высокой максимальной температурой клейстеризации.

По ингибированию эндогенных ферментов зерна оценены вискозиметрические свойства крахмала в отсутствие амилолитической активности [3, 7]. Высота амилограммы относительно контрольного варианта увеличилась для всех проанализированных образцов независимо от культуры и года наблюдения (табл. 2). Выросла также вариация показателя, что свидетельствовало об усилении дифференциации образцов озимого тритикале при блокировании ферментов. В ответ на введение ингибитора высота амилограммы озимого тритикале в 2010 г. увеличилась в среднем в 2,4 раза, а температура максимальной клейстеризации сместилась с 69,3 к 75,3 °С. Изменения не затронули начальную температуру клейстеризации. Минимальную реакцию на блокирование ферментов проявил сорт Михась, высота амилограммы которого составила 155,3 % относительно контроля, максимальную — сорт Дубрава (299,2 %).

В 2011 г. использование ингибитора привело к более ощутимому эффекту — пик озимого тритикале повысился в 2,7 раза. Это связано с тем, что амилолитическая активность в этом году была выше, чем в предыдущем, о чем свидетельствуют низкие значения высоты амилограммы в контрольном варианте. Сорта Михась и Дубрава определили границы изменчивости показателя для образцов озимого тритикале. Для выборки в целом минимальной отзывчивостью на ингибитор характеризовался сорт ярового тритикале Лотас — 211,2 %, максимальной — пшеница сорта Капылянка — 372,6 %. Как установлено корреляционным анализом, норма реакции генотипа на введение ингибитора определялась исходными амилографическими показателями. Между высотой амилограмм этих вариантов отмечалась тесная положительная взаимосвязь для обоих лет наблюдений — $r = 0,97$.

Введение экзогенной α -амилазы привело к снижению высоты пика всех исследуемых образцов (табл. 3). Усиление гидролиза крахмала сказалось главным образом на этом показателе, практически не повлияв на начальную и максимальную температуры клейстеризации. Для образцов озимого тритикале в 2010 г. отмечалось снижение высоты амилограммы в среднем на 45,1, в 2011 г. — на 24,1 %. Активность эндогенных амилолитических ферментов зерна в этом году была выше, чем в предыдущем, вследствие чего реакция оказалась слабее. Наибольшей отзывчивостью на ферментную добавку характеризовалась пшеница, наименьшей — сорт ярового тритикале Садко (2010) и сорт озимого тритикале Прометей (2011).

Предварительное замачивание семян в воде проводилось для изучения генотипической специфики активации эндогенных ферментов. В 2010 г. наблюдалось снижение высоты амилограммы у всех анализируемых образцов за исключением сорта озимой ржи Спадчына (табл. 4). В следующем году произошло разделение выборки на две группы. Снижение высоты пика отмечалось для семи сортов озимого тритикале и сорта пшеницы, повышение — для трех сортов озимого тритикале и всех сортов ярового тритикале и ржи. По результатам обоих лет наблюдений наименьшее влияние замачивание оказало на сорта озимого тритикале Кастусь, Прометей и сортообразец ярового тритикале Лотас; наибольшее — на пшеницу, высота пика которой уменьшилась в 1,5 раза. Пред-

ТАБЛИЦА 2. Влияние ингибитора эндогенных ферментов на высоту амиллограммы

Культура, образец	Высота амиллограммы, с.а.					
	2010 г.			2011 г.		
	Контроль	Ингибитор	% контроля	Контроль	Ингибитор	% контроля
Михась—St	257	399	155,3	167	390	233,5
Идея	310	767	247,4	186	538	289,2
Мара	704	1649	234,2	398	1122	281,9
Дубрава	494	1478	299,2	204	617	302,4
Кастусь	400	874	218,5	197	475	241,1
Антось	207	480	231,9	139	336	241,7
Импульс	288	752	261,1	165	473	286,7
Прометей	162	359	221,6	153	383	250,3
Живое	264	567	214,8	198	568	286,9
Лето	334	936	280,2	250	683	273,2
Среднее	342±50	826±138	241,5±12,6	206±24	559±71	271,4±7,8
Границы изменчивости	162—704	359—1649	155,3—299,2	139—398	336—1122	233,5—302,4
Коэффициент вариации, %	46,28	52,81	16,80	36,18	40,48	9,18
Узор—St	496	1023	206,3	205	491	239,5
Садко	95	172	181,1	113	260	230,1
Лотас	292	614	210,3	197	416	211,2
Спадчына	615	1489	242,1	455	1234	271,2
Алькора	429	1269	295,8	662	1830	276,4
Капылянка—St	897	2343	261,2	656	2444	372,6

ТАБЛИЦА 3. Влияние экзогенной α -амилазы на высоту амилограммы

Культура, образец	Высота амилограммы, с.а.					
	2010 г.			2011 г.		
	Контроль*	α -Амилаза	% контроля	Контроль*	α -Амилаза	% контроля
			Озимое тритикале			
Михась—St	301	209	69,4	208	166	79,8
Идея	395	215	54,4	220	175	79,5
Мара	820	372	45,4	481	300	62,4
Дубрава	624	301	48,2	229	190	83,0
Кастусь	503	207	41,2	248	162	65,3
Антось	301	188	62,5	176	159	90,3
Импульс	374	262	70,1	195	176	90,3
Прометей	230	164	71,3	173	157	90,8
Живое	348	232	66,7	238	211	88,7
Лето	422	221	52,4	323	196	60,7
Среднее	432±56	237±19	54,9±3,5	249±29	189±13	75,9±3,8
Границы изменчивости	230—820	164—372	41,2—71,3	173—481	157—300	60,7—90,8
Коэффициент вариации, %	40,81	25,59	19,27	36,98	22,56	15,22
			Яровое тритикале			
Узор—St	579	272	47,0	247	167	67,6
Садко	115	89	77,4	126	104	82,5
Логас	385	266	69,1	220	160	72,7
			Озимая рожь			
Сладчина	587	270	46,0	359	239	66,6
Алькора	430	223	51,9	587	345	58,8
Капылянка—St	1074	230	21,4	816	313	38,4

*Инкубация водно-мучной суспензии без фермента (60 мин, 53 °С, рН 6,9).

ТАБЛИЦА 4. Влияние предварительного замачивания (ПЗ) семян на высоту амилограммы

Культура, образец	Высота амилограммы, е.а.					
	2010 г.			2011 г.		
	Контроль	ПЗ	% контроля	Контроль	ПЗ	% контроля
Михась—St	257	205	Озимое тритикале 79,8	167	171	102,4
Идея	310	307	99,0	186	168	90,3
Мара	704	579	82,2	398	371	93,2
Дубрава	494	402	81,4	204	238	116,7
Кастусь	400	398	99,5	197	193	98,0
Ангось	207	182	87,9	139	137	98,6
Импульс	288	269	93,4	165	142	86,1
Прометей	162	157	96,9	153	149	97,4
Живьо	264	236	89,4	198	196	99,0
Лето	334	296	88,6	250	261	104,4
Среднее	342±50	303±40	88,6±2,3	206±24	203±23	98,5±2,6
Границы изменчивости	162—704	157—579	79,8—99,5	139—398	137—371	86,1—116,7
Коэффициент вариации, %	46,28	42,06	8,09	36,18	35,36	8,50
Узор—St	496	390	Яровое тритикале 78,6	205	215	104,9
Садко	95	85	89,5	113	122	108,0
Лотас	292	283	96,9	197	201	102,0
Сладчына	615	720	Озимая рожь 117,1	455	499	109,7
Алькора	429	411	95,8	662	727	109,8
Капылянка—St	897	545	Озимая пшеница 60,8	656	442	67,4

варительное замачивание незначительно снизило температуру клейстеризации водно-мучных суспензий тритикале и ржи. Для пшеницы изменение было существенным: температурный максимум снизился более чем на 7 °С.

Корреляционным анализом взаимосвязей между амилографическими показателями контрольного варианта, содержанием крахмала, числом падения и вязкостью водного экстракта озимого тритикале выявлено наличие десяти достоверных зависимостей, шесть из которых приходились на более благоприятный 2011 г. По результатам обоих лет наблюдений тесная положительная взаимосвязь отмечалась между числом падения и высотой амилограммы ($r = 0,92$), а также максимальной температурой клейстеризации (0,88). Вышеуказанные амилографические показатели были тесно сопряжены друг с другом (0,91). Начальная температура клейстеризации достоверно отрицательно коррелировала с вязкостью водного экстракта (-0,70) и содержанием крахмала в зерне (-0,59), что согласуется с литературными данными [4, 5]. Корреляционный анализ вариантов с использованием ингибитора, α -амилазы и предварительного замачивания семян дал аналогичные контрольным вариантам результаты при незначительных отличиях коэффициентов корреляции.

Таким образом, посредством амилографического анализа водно-мучных суспензий озимого тритикале выявлена широкая генотипическая и модификационная изменчивость показателя «высота амилограммы». Температура клейстеризации крахмала характеризовалась незначительной вариабельностью и устойчивостью к абиотическому стрессу. Использование ингибитора эндогенных ферментов усилило дифференциацию генотипов. Сорта озимого тритикале Мара, Дубрава и сорт ярового тритикале Узор сочетали хорошие амилографические свойства с восприимчивостью к воздействию абиотических факторов. Сорта озимого тритикале Прометей, Михась, ярового тритикале Садко и Лотас, напротив, характеризовались невысокими амилографическими показателями и устойчивостью к внешним воздействиям. Корреляционным анализом установлены достоверные прямые зависимости между высотой амилограммы, максимальной температурой клейстеризации, числом падения и обратная зависимость между начальной температурой клейстеризации и вязкостью водного экстракта.

1. Гончаренко А.А., Беркутова Н.С., Тимошенко А.С. Сравнительная оценка сортов озимой ржи по различным показателям качества зерна // Докл. РАСХН. — 2002. — № 5. — С. 3—9.
2. Громковская Л.К., Копылова В.В. Оценка реологических показателей зерна тритикале. — Воронеж, 1993. — 9 с. — Депонировано в АгроНИИТЭИПищепроме 05.08.93, № 2535.
3. Д'Апполониа Б.Л. Обзор данных о крахмале тритикале // Тритикале — первая зерновая культура, созданная человеком / Под ред. Ю.Л. Гужова. — М.: Колос, 1978. — 285 с.
4. Козьмина Н.П. Биохимия зерна и продуктов его переработки. — М.: Колос, 1976. — 376 с.
5. Lineback D.R., Rasper V.F. Wheat carbohydrates // Wheat: Chemistry and Technology / Ed. Y. Pomeranz. — St. Paul, Minnesota, USA, 1988. — 1. — P. 277—372.
6. Matsuki J., Yasui T., Kohyama K., Sasaki T. Effect of environmental temperature on structure and gelatinization properties of wheat starch // Cereal Chem. — 2003. — 80, N 4. — P. 476—480.
7. Meuser F. Wheat utilization for the production of starch, gluten and extruded products // Wheat. Production, properties and quality / Ed. W. Bushuk, V.F. Rasper. — London, 1994. — P. 179—204.

Получено 01.03.2013

АМИЛОГРАФІЧНИЙ АНАЛІЗ БОРОШНА ОЗИМОГО ТРИТИКАЛЕ

Н.П. Шишлова, О.В. Лапутько, Т.П. Шемпель

Науково-практичний центр Національної академії наук Білорусі по землеробству,
Мінська обл., Жодино

Проведено амілографічний аналіз борошна 10 зразків озимого тритикале, зерно якого формувалось і дозрівало під впливом високих температур (2010—2011 рр.) і підвищеної кількості опадів (2010 р.). Для порівняльного вивчення вуглеводно-амілазних комплексів тритикале, жита і пшениці використовували інгібітор ендогенних ферментів, екзогенну α -амілазу і попереднє замочування насіння. Оцінено ступінь впливу абіотичних чинників середовища на амілографічні показники та норму реакції генотипів. Кореляційним аналізом встановлено вірогідні прямі залежності між висотою амілограми, температурою максимальної клейстеризації і числом падіння, обернену залежність між початковою температурою клейстеризації та в'язкістю водного екстракту.

AMYLOGRAPH ANALYSIS OF WINTER TRITICALE FLOUR

N.P. Shishlova, E.V. Laputko, T.P. Shempel

Research and Practical Centre of the National Academy of Sciences of Belarus for Arable Farming
1 Timiryazev St., Zhodino, Minsk region, 222160, Belarus

Amylograph analysis of flour of 10 winter triticales samples formed and matured under the conditions of high temperatures (2010—2011) and exceeded precipitation (2010) was conducted. An inhibitor of endogenous enzymes, exogenous α -amylase and presoaking of seeds were used for the comparison of carbohydrate-amylase complexes of triticales, rye and wheat. The degree of the influence of abiotic factors on amylograph parameters and genotype reaction norm were evaluated. The correlation analysis showed significant direct correlations between amylogram height, the temperature of maximum gelatinization and falling number, and the inverse relationship between the initial gelatinization temperature and the viscosity of the aqueous extract.

Key words: *Triticosecale* Wittm. & A. Camus, carbohydrate-amylase complex, amylograph parameters, correlation analysis.