

ОПРЕДЕЛЕНИЕ АМИЛОЛИТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ α - И β -АМИЛАЗ

Гумеров Т.Ю., Федотов С.А., Фахразиева З.Р.

ФГБОУ ВПО Казанский национальный исследовательский технический университет
им. А.Н. Туполева-КАИ, Казань, e-mail: tt-timofei@mail.ru

Рациональным считается питание, которое обеспечивает нормальную жизнедеятельность организма, высокий уровень работоспособности и сопротивляемости воздействию неблагоприятных факторов окружающей среды, максимальную продолжительность активной жизни. Белки являются необходимым и наиболее ценным компонентом любого сыра. В сырах, в зависимости от количества сухих веществ и технологии, содержится от 11 до 33% белка. Рациональное питание обеспечивает нормальную жизнедеятельность организма, высокий уровень работоспособности и сопротивляемости воздействию неблагоприятных факторов окружающей среды, максимальную продолжительность активной жизни. Основным показателем натуральности и зрелости мёда – это диастазное число. Чем выше этот показатель, тем лучше мёд.

Ключевые слова: амилазная активность, α - и β -амилазы, диастазное число мёда

THE DETERMINATION AMYLOLYTIC ACTIVITY α - AND β -AMYLASE

Gymerov T.U., Fedotov S.A., Fahrazieva Z.R.

FSGFEI HPE Federal State Government-Funded Educational Institution
of Higher Professional Education, Kazan national research technical university
named after A.N. Tupolev – KAI, Kazan, e-mail: tt-timofei@mail.ru

The rational is considered a food that provides the normal functioning of the organism, the high level of efficiency and resistance to adverse environmental factors, the maximum duration of an active life. Proteins are essential and most valuable component of any cheese. In cheese, depending on the amount of dry matter and technology, there are between 11 to 33% protein. The rational is considered a food that provides the normal functioning of the organism, the high level of efficiency and resistance to adverse environmental factors, the maximum duration of an active life. The main indicator of naturalness and maturity of honey – it diastase number. The higher the score, the better the honey.

Keywords: amylolytic activity, α - and β -amylase, the diastase number of honey

Натуральный мед, который хранится с соблюдением необходимых условий, содержит ферменты. Одним из важнейших ферментов является амилаза, так как по ее количеству можно контролировать качество меда. Диастаза (амилаза) является наиболее стойкой из всех ферментов меда, поэтому ее присутствие даже в незначительных количествах указывает на нарушение условий переработки и хранения меда.

Ценность мёда различается по диастазному числу – количеству ферментов диастазы (амилазы) на единицу объема. По величине диастазного числа судят о биологической активности меда как лечебного продукта, способствующего обменным процессам в организме.

В работе проведено исследование ферментативной активности меда на примере суммы α - и β -амилаз. В задачи входило:

– определение амилазной активности ферментов меда на основе изменения диастазного числа;

– количественное определение массовой доли редуцирующих сахаров и сахарозы в образцах.

В качестве образцов были выбраны самые распространенные сорта меда: *гречишный, цветочный, липовый*. Эксперимент проводился при различных условиях хранения на протяжении 90 суток исследования. Обозначение образцов представлено в табл. 1.

Таблица 1

Наименование исследуемых образцов

Режимы хранения	Сорта меда		
	Гречишный	Цветочный	Липовый
Комнатная температура (22 °C)	Образец-1	Образец-2	Образец-3
Охлаждение (8–10 °C)	Образец-4	Образец-5	Образец-6
Комнатная температура в темноте (22 °C)	Образец-7	Образец-8	Образец-9

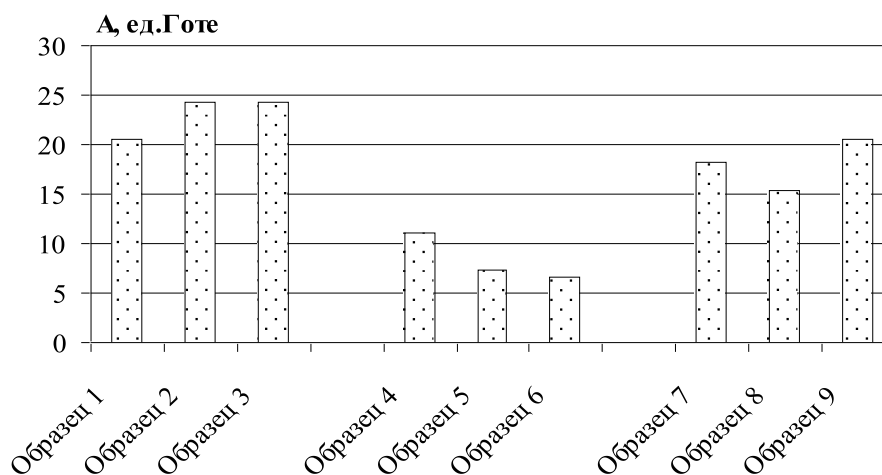


Рис. 1 – Показатели диастазной активности в образцах

На первом этапе работы была определена амилолитическая активность ферментов меда на примере суммы α - и β -амилаз, которая характеризуется диастазным числом.

Диастазное число колеблется в широких пределах – от 0 до 50 ед. Готе. Диастазная активность – показатель перегрева меда (разрушение ферментов и других, биологически активных веществ), а также длительности его хранения (хранение меда больше года приводит к снижению активности диастазы до 35 %) [2].

На рис. 1 представлены данные о значениях диастазной активности в пересчете на единицу Готе в исследуемых образцах при различных условиях хранения.

Из данных рисунка видно, что наибольшей диастазной активностью обладают образцы 1, 2 и 3, которые хранились при комнатной температуре на свету. Для образцов 7, 8 и 9 наблюдается средняя активность фермента диастазы, то есть это все сорта меда, которые хранились в темноте при комнатной температуре. Образцы 4, 5 и 6 характеризуются самыми низкими значениями диастазной активности, хранившиеся в условиях охлаждения. В табл. 2 представлены данные по диастазной активности образцов. Результаты эксперимента свидетельствуют о том, что активность фермента диастазы проявляется для каждого вида меда по-разному и зависит от условий хранения. Максимальное значение диастазной активности проявляется для образцов 3 и 8 находящегося в условиях хранения при комнатной температуре и для цветочного меда находящегося в темноте при комнатной температуре.

Минимальное значение диастазной активности характерно для образцов 5 и 6

в условиях охлаждения. Это объясняется тем, что ферменты, проявляющие свою активность при разложении крахмала, чувствительно относятся к температуре и условиям хранения исследуемых образцов [9].

Таблица 2

Диастазная активность в образцах меда

Образцы	Активность, единицы Готе
Образец-1	20,539
Образец-2	15,404
Образец-3	24,206
Образец-4	11,003
Образец-5	7,33
Образец-6	20,539
Образец-7	18,203
Образец-8	24,206
Образец-9	6,569

Также, уменьшение значений диастазной активности связано с возможными процессами нагревания меда при первоначальном его извлечении или же длительном хранением меда, что могло повлечь к частичному разрушению фермента или прекращению своей активности. Необходимо отметить что, согласно существующему стандарту, в натуральном меде диастазное число должно быть не менее 5 ед. Готе [3]. Для исследуемых образцов данные условия существующего стандарта выполнимы, следовательно, мед по активности амилолитических ферментов обладает выраженными качественными характеристиками.

Известно, что активность амилолитических ферментов зависит от вида породы пчел и нектароносов, условий существования насекомых, места сбора нектара, от

силы семьи и вида, с которых был собран нектар. Например, в гречишном меде, полученном от сильной семьи, показатель диастазного числа составляет 48,2 ед. Готе, от средней семьи – 36,8, от слабой семьи – 9,3. Показатель диастазного числа в подсолнечниковом меде также существенно отличается и составляет 39,6, 27,5 и 6,5 ед. Готе соответственно. Такая разница численного значения диастазной активности предположительно объясняется тем, что при переработке нектара в медовых зобиках пчел из сильных и средних семей выделяется больше амилолитических ферментов, чем при переработке пчелами из слабых семей [4].

Изменение диастазной активности в исследуемых образцах так же может объясняться факторами, влияющими на погодные условия, при которых происходили сбор и переработка нектара пчелами, интенсивность взятка, степень зрелости откачиваемого меда, условия и длительность его хранения, способы переработки [1].

Таким образом, показателем качества натурального меда не всегда является диастазное число, оно всего лишь определяет активность ферментов, участвующих в сложных процессах ферментативного гидролиза сахаров.

Как известно, характерную составную часть различных сортов меда представляют свободные α -аминокислоты. Определение количественного содержания аминокислот в образцах меда, при разных условиях хранения, представлены в работе [10]. Среднее содержание свободных аминокислот составляет 980 мг/кг. Набор аминокислот зависит от региона и типа взятка. Фенилаланин является одним из основных компонентов меда. Содержание фенилаланина и образованные с ним ароматические вещества, являются важным критерием для определения качества натурального меда. Количество фенилаланина является показателем зрелости меда. Если мед отобран незрелым или содержит сахарную подкормку, то содержание фенилаланина в нем резко уменьшается. В работах [6, 8] было установлено, что в качестве границы между сахаросодержащими продуктами и натуральным медом минимальное содержание фенилаланина должно составлять 1,4-1,5 %.

Аминокислоты, содержащиеся в меде, вступают в сложные комплексные соединения с сахарами и образуют при этом, темнокрашенные соединения – меланоидины. Образование этих соединений идет гораздо быстрее при значительно повышенной температуре. Следовательно, при длительном хранении или нагревании возможно потем-

нение меда наряду с другими причинами в результате наличия в нем аминокислот.

Было установлено, что содержание аминокислот в образцах имеет тенденцию к накоплению, а затем к незначительному их снижению в период хранения. Образцы, находящиеся в течение 60 суток при разных условиях хранения накапливают в своем составе аминокислоты. Это объясняется активным действием ферментов меда, которые в благоприятных условиях осуществляют ферментативное разрушение белковых компонентов до α -аминокислот.

Далее, при хранении образцов меда в течение 90 суток наблюдалось незначительное уменьшение аминокислот. Данное явление связано с замедлением активности ферментов и взаимодействием каждой аминокислоты с сахарами, что привело к процессам меланоидинообразования [9].

Активное образование комплексных соединений аминокислот с сахарами – меланоидинов, представлено на диаграммах в виде пиков. На завершающем этапе хранения, в течение 90 дней, интенсивность процессов меланоидинообразования уменьшается, вследствие накопления оптимального количества продуктов взаимодействия аминокислот с сахарами.

На завершающем этапе работы, была проведена количественная оценка редуцирующих сахаров, при различных условиях хранения. Данные представлены в табл. 3.

Сравнивая экспериментальные значения с данными ГОСТ Р 53883-2010 «Мед. Метод определения сахаров», можно отметить, что в исследуемых образцах количественное содержание редуцирующих сахаров в 3,7-4 раза меньше, чем указано в стандарте. Было определено, что наибольшее количество редуцирующих сахаров содержится в образцах 1, 3, 6 и 9. Таким образом, мед сортов гречишный и липовый, характеризуется значительным количеством редуцирующих сахаров, причем в последнем, количественные показатели не зависят от условия хранения. В образцах 2, 5, 7 и 8 количество редуцирующих сахаров значительно уменьшается, по сравнению с образцами 1, 3, 6 и 9. Образец 4 характеризуется наименьшее содержание редуцирующих сахаров при условии хранения меда в холоде.

Содержание редуцирующих сахаров зависит от вида и сорта меда, а также существенным образом влияют температурные режимы и условия хранения образцов. В гречишном и цветочном меде накопление редуцирующих сахаров оптимально в условиях хранения при комнатной температуре, среднее значение редуцирующих сахаров наблюдается при хранении образ-

цов в темноте и самое низкое значение редуцирующих сахаров характерно для меда, хранившегося в условиях охлаждения. Для липового меда наблюдаются незначительные изменения редуцирующих сахаров. Установлено, что уменьшение редуцирующих сахаров происходит на 5, 10 и 15 % при условии хранения в темноте, на свету при комнатной температуре и при охлаждении соответственно.

Редуцирующие сахара участвуют в химической реакции восстановления при действии соответствующих реагентов. Количественное соотношение сахаров, а именно содержание глюкозы и фруктозы, зависит от количества выделенных пчелами энзимов и от продолжительности хранения. В меде, не подвергавшемся тепловой обработке, энзимы не утрачивают свою активность, и во время хранения образуются новые молекулы сахара. Продолжительное действие энзимов на сахарные составляющие меда приводит к «расслаиванию» меда. Кристаллизовавшаяся глюкоза выпадает в осадок, а над ней собирается жидкая фруктоза [5].

Определив содержание редуцирующих сахаров, необходимо отметить, что их количество в меде меньше 80 % (ГОСТ Р 53883-2010), а это позволяет предположить, что либо мед подвергся сильной термической обработке при откачке, либо пчел интенсивно кормили сахарным сиропом.

Далее, в работе было определено количественное содержание редуцирующих сахаров при добавлении в образцы ингредиентов растительного происхождения. В качестве растительных ингредиентов были выбраны морковь измельченная, семена подсолнуха и грецкого ореха. Результаты эксперимента представлены в табл. 4 и на рис. 2. Количественное содержание редуцирующих сахаров проводили также при различных условиях хранения меда.

Установлено, что добавление компонентов растительного происхождения приводит к увеличению количественного содержания редуцирующих сахаров, однако процесс накопления прямым образом зависит от температуры и условий хранения образцов, а также от вносимых добавок.

Таблица 3

Количественное содержание редуцирующих сахаров в образцах, %

Исследуемые сорта меда	Массовая доля редуцирующих сахаров (к безводному остатку)	
	в образцах, не менее	по ГОСТ Р 53883-2010 [10]
Образец-1	24,197	87
Образец-2	17,736	80
Образец-3	24,38	83
Образец-4	4,87	—
Образец-5	12,19	—
Образец-6	23,16	—
Образец-7	11,89	—
Образец-8	15,84	—
Образец-9	27,42	—

Таблица 4

Содержание редуцирующих сахаров в образцах с добавлением компонентов растительного происхождения, %

Условия хранения образцов	Обозначение образцов и наименование ингредиентов					
	Семена подсолнуха		Грецкие орехи		Морковь измельченная	
на свету при комнатной температуре	1.1	28,83	1.2	25,98	1.3	29,51
	2.1	19,14	2.2	17,92	2.3	21,76
	3.1	39,61	3.2	30,90	3.3	44,46
в темноте при охлаждение	4.1	10,36	4.2	5,43	4.3	17,06
	5.1	19,02	5.2	17,06	5.3	21,58
	6.1	28,28	6.2	27,42	6.3	32,30
в темноте при комнатной температуре	7.1	12,2	7.2	12,0	7.3	16,09
	8.1	19,2	8.2	18,0	8.3	19,30
	9.1	34,11	9.2	32,11	9.3	36,50

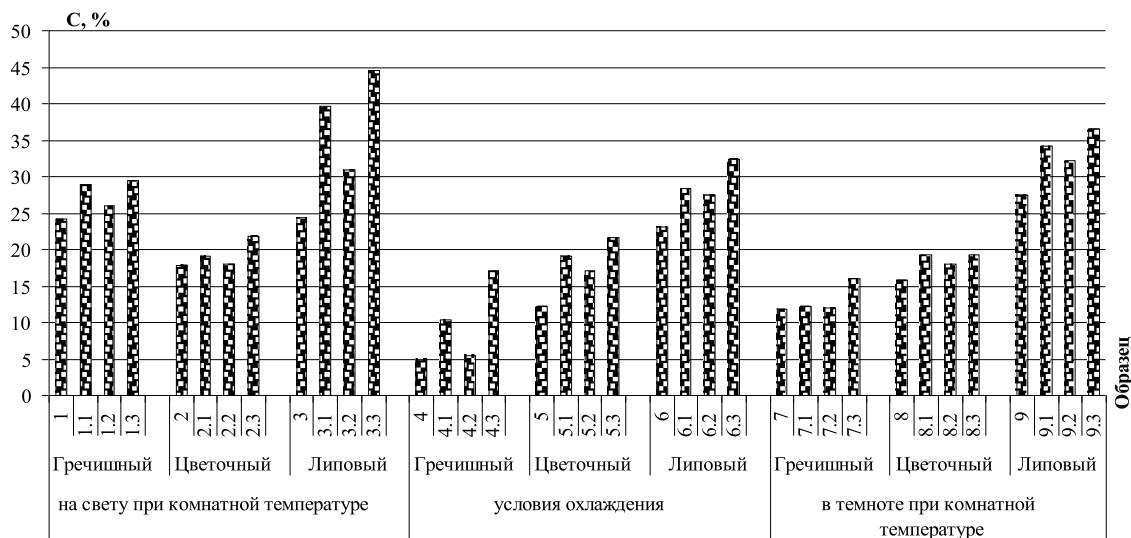


Рис. 2. Количественное содержание редуцирующих сахаров

По результатам проведенного эксперимента, внесение растительных ингредиентов приводит к явному положительному влиянию на качественные и количественные характеристики исследуемого меда. Наблюдается существенное увеличение редуцирующих сахаров в образцах, что позволяет приблизить показатели качества меда к значениям, установленным стандартом (ГОСТ Р 53883-2010).

Добавление измельченной моркови в образцы меда, приводит к максимальному увеличению редуцирующих сахаров. Таким образом, при добавлении моркови и хранении образцов меда в условиях комнатной температуры, происходит увеличение редуцирующих сахаров в образцах 1 и 2 на 17,8%, а в образце 3 на 44,5%. При хранении в условиях охлаждения наблюдается увеличение сахаров в образце 4 на 27,6%; в образце 5 на 42,7%; в образце 6 на 27,7%. В условиях хранения в темноте, сахара увеличиваются в образце 7 на 25,5%; в образце 8 на 17,9% и в образце 9 на 24,6%.

При добавлении семян подсолнуха в образцы меда, наблюдается увеличение редуцирующих сахаров таким образом: в условиях комнатной температуры в образце 1 на 15,8%; в образце 2 на 6,9%; в образце 3 на 34,4%. При хранении в условиях охлаждения – в образце 4 на 46,5%; в образце 5 на 34,8%; в образце 6 на 17,8%. В условиях хранения в темноте, сахара увеличиваются в образце 7 на 3,2%; в образце 8 на 17,7% и в образце 9 на 20,2%. При хранении образцов в темноте, наблюдается незначительное замедление накопления редуцирующих сахаров, относительно других условий хранения.

При добавлении грецких орехов в образцы, увеличение редуцирующих сахаров замедляется: так при хранении в условиях комнатной температуры в образце 1 на 5,8%; в образце 2 на 1,1%; в образце 3 на 22,2%; в условиях охлаждения – в образце 4 на 9,8%; в образце 5 на 24,7%; в образце 6 на 14,8%; при хранении в темноте, сахара увеличиваются в образце 7 на 0,8%; в образце 8 на 11,5% и в образце 9 на 15%.

Незначительное увеличение сахаров может быть связано с начальными процессами брожения при благоприятных для этого условиях хранения. Микроорганизмы начинают потреблять сахара меда, выделять этиловый спирт, воду, углекислый газ и сивушные масла. Это приводит к уменьшению содержания сахаров и накоплению веществ, ухудшающих аромат и вкус меда. Для образцов с добавлением грецких орехов, были отмечены незначительные процессы брожения в виде выделения углекислого газа и изменения цвета меда. Данное явление объясняет изменение количества редуцирующих сахаров.

Далее, установлено, что при хранении образцов в условиях охлаждения, количество редуцирующих сахаров во всех сортах меда ниже, чем в условиях хранения при комнатной температуре. Это свидетельствует о том, что процесс инверсии сахаров замедляется при пониженных температурах.

На завершающем этапе была проведена оценка процессов кристаллизации образцов меда. По окончании 90 суток эксперимента, было отмечено, что в некоторых образцах меда наблюдались про-

цессы кристаллизации. При этом выпадал осадок в виде глюкозы и мелецитозы. При комнатной температуре хранения процессы кристаллизация и образование первичных кристаллов происходили быстрее, чем при хранении в условия охлаждения. Это объясняется особым составом меда и влиянием вносимых компонентов. Исходя из полученных данных, все образцы можно отнести к группе медленно кристаллизующихся. Размеры кристаллов являлись мелкокристаллическими, а процесс кристаллизации неполный. При комнатной температуре над кристаллической массой меда наблюдалось образование жидкой части слоя с повышенным содержанием воды, при этом товарный вид меда не ухудшился [9, 11].

Список литературы

1. Борисова М.И. Лекарственные свойства сельскохозяйственных растений / М.И. Борисова. – Минск: Ураджай, 1974. – С. 174. – 336 с.
2. Ватолин Д. О мёде и не только о нём / Д. Ватолин // Наука и жизнь. – 2008. – № 11. – С. 56–59.
3. Виноградов В.Ю. Анализ воздействия загрязненной окружающей среды на здоровье населения / В.Ю. Виноградов, А.А. Сайфуллин, А. Назиманов // Молодой ученый – № 12. – 1(92) – 2015. – 20 с.
4. ГОСТ 19792-2001 Мед натуральный. Технические условия. Москва стандартинформ. – 2002.
5. ГОСТ Р 53883-2010 Мед. Определение сахаров. Москва стандартинформ. – 2011.
6. Гумеров Т.Ю. Влияние компонентов растительного происхождения на показатели качества товарной продукции на основе меда. // Вестник КГТУ. – № 15. – 2011. – 195 с.
7. Гумеров Т.Ю. Особенности функциональных компонентов пищи при вредных условиях труда / Гумеров Т.Ю., Мустафин Р.Р., Решетник О.А. // Вестник КГТУ. № 22. – Т. 17. – 2014. – С. 246–250.
8. Ruoff K. Quantitative determination of physical and chemical measurands in honey by near-infrared spectrometry / Kaspar Ruoff, Werner Luginbühl, Stefan Bogdanov, Jacques-Olivier Bosset // European Food Research and Technology. – 2007. – Volume 225, № 4. – P. 415–423.
9. Синяков А.Б. Мед натуральный: полная энциклопедия / А.Б. Синяков. – М.: Мир, 1990 – 225 с.
10. Чепурина И.П. Заготовка и переработка меда / И.П. Чепурина, В.А. Рубен. – М.: Агропромиздат, 2004. – 73 с.
11. Wahdan H.A.L. Causes of the antimicrobial activity of honey/ H.A.L. Wahdan. // Infection. – 1998. – Volume 26, № 1. – P. 26–31.