

Т. Ю. Гумеров, О. А. Решетник

ОПРЕДЕЛЕНИЕ АМИЛОЛИТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ФЕРМЕНТОВ МЕДА НА ПРИМЕРЕ СУММЫ α - И β -АМИЛАЗ

Ключевые слова: пчелиный мед, способы хранения меда, амилолитическая активность.

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.

Keywords: honey, honey storage methods, amylolytic activity.

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.

Введение

В настоящее время актуальной становится проблема повышения культуры питания. Рацион питания должен соответствовать энергетическим затратам и физиологическим потребностям организма человека.

Рациональное питание является неотъемлемым компонентом здорового образа жизни. Питание обеспечивает важнейшую функцию организма человека, поставляя ему энергию, необходимую для покрытия затрат на процессы жизнедеятельности.

Работа посвящена изучению влияния амилолитической активности ферментов меда на примере суммы α - и β -амилаз. Основные задачи:

- определение активности амилолитических ферментов меда на основе количественного изменения диастазного числа;

- изучение особенностей изменения массовой доли редуцирующих сахаров и сахарозы в исследуемых образцах меда.

В качестве образцов были подобраны несколько распространенных сортов меда: *гречишный, цветочный, липовый*. Эксперимент проводился при различных условиях хранения образцов в период 3 месяцев исследования. Обозначение образцов представлено в таблице 1.

Таблица 1 - Наименование исследуемых образцов

Температурные режимы хранения, °C	Вид меда		
	Гречишный	Цветочный	Липовый
Комнатная температура	Образец-1	Образец-2	Образец-3
В условиях охлаждения	Образец-4	Образец-5	Образец-6
В темноте при комнатной температуре	Образец-7	Образец-8	Образец-9

Экспериментальная часть

На первом этапе работы была определена активность амилолитических ферментов меда на

примере суммы α - и β -амилаз, характеризующихся диастазным числом.

Диастазное число колеблется в широких пределах – от 0 до 50 ед. Готе. Диастазная активность – это показатель перегрева меда (когда разрушаются ферменты и другие, биологически активные вещества), а также длительности его хранения (при хранении меда больше года активность диастазы снижается до 35 %) [1].

На рисунке 1 представлены данные о значениях диастазного числа в исследуемых образцах при различных условиях хранения.

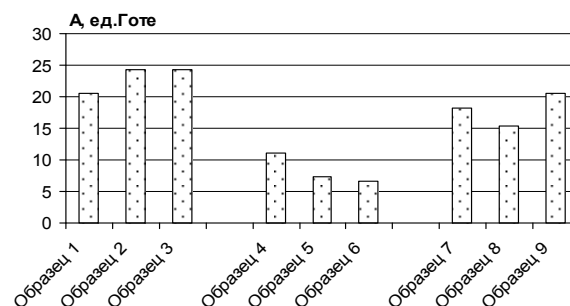


Рис. 1 – Показатели диастазной активности в образцах

Из данных рис. 1 видно, что наибольшей диастазной активностью обладают образцы 1, 2 и 3, то есть в условиях хранения при комнатной температуре на свету гречишный, цветочный и липовый мед. Средняя активность фермента диастазы наблюдается для образцов 7, 8 и 9, то есть это все сорта меда при условиях хранения в темноте при комнатной температуре. Наиболее низкими значениями диастазной активности обладают образцы меда, хранившиеся в условиях охлаждения, это образцы 4, 5 и 6. В таблице 2 представлены данные диастазной активности образцов в зависимости от режимов и условий хранения меда.

По результатам проведенного эксперимента следует, что активность фермента диастазы проявляется для каждого вида меда по-разному.

Таблица 2 – Диастазная активность в образцах меда

Образец	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

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

Известно, что диастазное число зависит от вида нектароносов и породы пчел, места сбора нектара, условий существования насекомых, 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 соответственно силе семьи 39,6, 27,5 и 6,5 ед. Готе. Такая разница числового значения диастазного числа предположительно объясняется тем, что при переработке нектара в медовых зобиках пчел из сильных и средних семей выделяется больше диастазы, 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 [5].

Таким образом, диастазное число не является показателем качества натурального меда, а всего лишь определяет активность ферментов, участвующих

в сложных процессах ферментативного гидролиза сахаров.

Определение количественного содержания аминокислот в образцах меда, при разных условиях хранения, представлены в работе [6,7]. Как известно, свободные аминокислоты представляют характерную составную часть различных сортов меда. Среднее содержание свободных аминокислот равно 980 мг/кг. Набор аминокислот зависит от региона и типа взятка. Одним из основных компонентов является фенилаланин. Содержание фенилаланина наряду со связанным с ним образованием ароматических веществ является важным критерием для определения качества меда. Количество фенилаланина является показателем зрелости меда. Если мед отобран незрелым или содержит сахарную подкормку, то содержание фенилаланина в нем очень низкое. В работах [8, 9] было установлено, что в качестве границы между медом и сахаросодержащими продуктами минимальное содержание фенилаланина 1,4-1,5 %.

Аминокислоты, содержащиеся в меде, вступают в сложные соединения с сахарами меда, образуя при этом, темноокрашенные соединения – меланоидины. Образование этих соединений идет гораздо быстрее при высокой температуре. Следовательно, при длительном хранении или нагревании возможно потемнение 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 снижению в период хранения. Образцы, находящиеся в течение 2 месяцев 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 3 месяцев (90 дней), наблюдается незначительное уменьшение аминокислот, что связано с замедлением активности ферментов и взаимодействием конкретной аминокислоты с сахарами, что приводит к процессам меланоидинообразования.

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 заключительном этапе работы, была проведена количественная оценка редуцирующих сахаров в образцах, при различных условиях хранения. Данные представлены в таблице 3.

Сравнивая экспериментальные значения с данными ГОСТ Р 53883-2010 Мед. Метод определения сахаров, можно отметить, что, в опытных образцах количественное содержание редуцирующих сахаров в 3,5-4 раза меньше. По данным эксперимента 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 наименьшим содержанием редуцирующих сахаров при условии хранения меда в холоде.

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	–

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 в темноте и самое низкое значение редуцирующих сахаров характерно при хранении меда в условиях охлаждения. Для липового меда наблюдаются незначительные изменения редуцирующих сахаров. Уменьшение редуцирующих сахаров наблюдается на 5, 10 и 15 % при условиях хранения в темноте, на свету при комнатной температуре и в условиях охлаждения.

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 [10, 11].

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

В связи с этим, было принято решение определить редуцирующие сахара в образцах меда при добавлении к ним ингредиентов растительного про-

исхождения, а именно семена подсолнуха, ядра грецкого ореха и морковь измельченную. Результаты эксперимента представлены в таблице 4 и на рисунке 2. Количественное содержание редуцирующих сахаров проводили также при различных условиях хранения меда.

Таблица 4 – Количественное содержание редуцирующих сахаров в образцах меда с добавлением компонентов растительного происхождения, %

Условия хранения образцов	Образцы					
	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
условия охлаждения	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

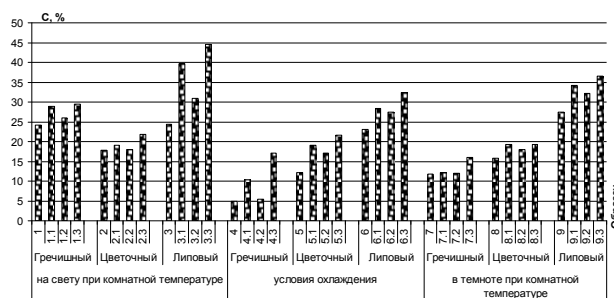


Рис. 2 – Содержание редуцирующих сахаров в образцах меда

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.

По результатам проведенного эксперимента, следует, что внесение в образцы меда компонентов растительного происхождения положительно влияет на качественные и количественные характеристики продукции на основе меда. Наблюдается существенное увеличение редуцирующих сахаров в исследуемых образцах, что позволяет приблизить показатели меда к значениям, предъявляемым стандартом ГОСТ Р 53883-2010.

При добавлении измельченной моркови в образцы меда, наблюдается максимальное увеличение редуцирующих сахаров из всех исследуемых. Таким образом, при добавлении моркови и хранении образцов меда в условиях комнатной температуры, происходит увеличение редуцирующих сахаров в образце 1 на 18%; в образце 2 на 18%; в образце 3 на 45%. При хранении в условиях охлаждения наблюдается увеличение сахаров в образце 4 на 28%; в образце 5 на 43%; в образце 6 на 28%. В ус-

ловиях хранения в темноте, сахара увеличиваются в образце 7 на 26%; в образце 8 на 18% и в образце 9 на 25%.

При добавлении семян подсолнуха в образцы меда, наблюдается увеличение редуцирующих сахаров таким образом: в условиях комнатной температуры в образце 1 на 16%; в образце 2 на 7%; в образце 3 на 35%. При хранении в условиях охлаждения – в образце 4 на 47%; в образце 5 на 35%; в образце 6 на 18%. В условиях хранения в темноте, сахара увеличиваются в образце 7 на 3%; в образце 8 на 17,5% и в образце 9 на 19,5%.

В условиях хранения в темноте наблюдается незначительное замедление увеличения редуцирующих сахаров, относительно условий хранения на свету.

При добавлении грецких орехов в мед, увеличение редуцирующих сахаров замедляется: в условиях комнатной температуры в образце 1 на 6%; в образце 2 на 1%; в образце 3 на 21%; при хранении в условиях охлаждения – в образце 4 на 10%; в образце 5 на 25%; в образце 6 на 15%; в условиях хранения в темноте, сахара увеличиваются в образце 7 на 1%; в образце 8 на 12% и в образце 9 на 14%.

Незначительное увеличение сахаров объясняется началом процессов брожения при благоприятных 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, извращающих аромат и вкус меда. Для образцов с добавлением грецких орехов, на завершающем этапе эксперимента наблюдались незначительные процессы брожения, выделения углекислого газа и изменения цвета меда, что позволяет объяснить данные изменения редуцирующих сахаров.

Кроме всего, в условиях хранения образцов при температуре охлаждения, количество редуцирующих сахаров во всех сортах меда и добавляемых компонентов 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 истечению 90 дней исследования, отмечено, что в некоторых образцах меда наблюдалась кристалли-

зация. При этом выпадал осадок в виде глюкозы и мелецитозы. При комнатной температуре хранения процесс кристаллизации и образование первичных кристаллов происходило быстрее, чем при хранении в условия охлаждения. Это объясняется особым составом меда и влиянием вносимых компонентов. Исходя из этих данных, можно определить, что все исследуемые образцы меда относятся к группе медленно кристаллизующихся, так как размеры кристаллов являлись мелкокристаллическими и процесс кристаллизации можно отнести к неполному. Так как при комнатной температуре 25-28 °С над кристаллической массой меда наблюдали образование жидкой части слоя с повышенным содержанием воды. При этом товарный вид меда ухудшился.

Литература

1. Ватолин, Д. О мёде и не только о нём / Д. Ватолин // Наука и жизнь.-2008. – №11. –С. 56 – 59.
2. Синяков, А.Б. Мед натуральный: полная энциклопедия / А. Б. Синяков.- М.: Мир, 1990 – 225 с.
3. ГОСТ 19792-2001 Мед натуральный. Технические условия. Москва стандартинформ. – 2002.
4. Борисова, М.И. Лекарственные свойства сельскохозяйственных растений / М. И. Борисова. – Минск: Ураджай, 1974. – С. 174. – 336 с.
5. Чепурина, И.П. Заготовка и переработка меда / И.П.Чепурина, В.А. Рубен. М.: Агропромиздат, 2004. – 73 с.
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 приготовления и оценка качества продукции функционального назначения / Т.Ю. Гумеров, О.А. Решетник // Вестник КГТУ. – №16. – 2012 – 195 с.
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. Wahdan, H.A.L. Causes of the antimicrobial activity of honey/ H.A.L.Wahdan. // Infection. 1998.Volume 26, № 1. P. 26-31.
10. ГОСТ Р 53883-2010 Мед. Определение сахаров. Москва стандартинформ. – 2011.
11. Ferjani, E. Sunflower / E.Ferjani// Biotechnology in Agriculture and Forestry. 2005.№6. P. 39-58.