

DANUTA DOJCZEW, ANNA PIETRYCH, TADEUSZ HABER

## WPLYW AKTYWNOŚCI WYBRANYCH HYDROLAZ NA WARTOŚĆ WYPIEKOWĄ MĄK PSZENNYCH Z ZIARNA POROŚNIĘTEGO

### Streszczenie

Celem pracy było zbadanie wpływu porostu ziarna na zmiany aktywności enzymów amylolitycznych i proteolitycznych oraz określenie możliwości wykorzystania mąki z ziarna porośniętego w piekarstwie, po zastosowaniu witaminy C i glutenu witalnego jako polepszaczy. W próbach mąk wzorcowych i z ziarna porośniętego oznaczono: liczbę opadania, poziom azotu niebiałkowego, ogólną aktywność amylaz i proteaz oraz przeprowadzono analizę farinograficzną. Badania zakończono próbnym wypiekami laboratoryjnymi. Aktywność enzymów hydrolitycznych wzrosła w każdej próbie mąki z ziarna porośniętego. W mące z ziarna odmiany Korweta aktywność amylaz zwiększyła się o 80%, a z odmian Alba i Sakwa odpowiednio o 42 i 31%. Poziom aktywności proteaz również wzrósł znacząco, największy przyrost o 78% odnotowano w mące z ziarna odmiany Korweta. Stwierdzono zależność pomiędzy cechami fizycznymi ciasta i wielkością aktywności hydrolaz. Próba mąki z porośniętego ziarna Korweta charakteryzowała się najwyższym przyrostem aktywności amylaz i proteaz, jednocześnie jej parametry farinograficzne w największym stopniu uległy pogorszeniu. Odnotowano korzystny wpływ preparatów polepszających na pieczywo uzyskane z mąki z ziarna porośniętego.

**Słowa kluczowe:** pszenica, porastanie, aktywność amylolityczna, aktywność proteolityczna.

### Wstęp

Porastanie zbóż jest zjawiskiem dość częstym w naszym klimacie. W okresie dużej wilgotności niektóre gatunki zbóż mogą kielkować nawet w kłosie. Ubytek masy ziarna oraz pogorszenie jego jakości stanowi znaczący problem w produkcji zbóż. Szczególnie wrażliwe na porastanie są ziarniaki form nieoplewionych żyta, pszenicy i pszenżyta. Przepuszczalność wody przez ściany komórkowe okrywy owoconasiennej jest uwarunkowana nie tylko budową anatomiczną, ale również metabolizmem. Wykazano związek między szybkością pobierania wody przez ziarniaki pszen-

żyta a aktywnością  $\beta$ -endoglukanazy (EC 3.2.8. 73) [5, 10], enzymem katalizującym rozkład  $\beta$ -glukanów, związków inkrustujących szkielety ścian komórkowych. Perforacja ścian komórkowych ułatwia migrację wody i metabolitów w głąb ziarniaka, co intensyfikuje przemiany anaboliczne i kataboliczne. Do ważniejszych enzymów uczestniczących w degradacji związków zapasowych do niskocząsteczkowych metabolitów należą:  $\alpha$ - i  $\beta$ -amylaza ( E.C. 3.2.1.1 i 3.2.1.2 ) rozkładające skrobię oraz endo- i egzopeptydazy hydrolizujące białka zapasowe do peptydów i aminokwasów. Naruszenie struktury substancji zapasowych ziarniaków prowadzi do znacznego pogorszenia ich wartości technologicznej [9]. Zjawisko to rzutuje na jakość mąki i w konsekwencji na cechy fizyczne pieczywa. Wielkość aktywności amylaz i peptydaz może stanowić jeden ze wskaźników wartości wypiekowej mąki pszennej.

Celem niniejszej pracy było określenie związku między ogólną aktywnością amylaz i proteaz a wartością wypiekową mąk pszennych z ziarna porośniętego.

### **Materiał i metody badań**

Materiał badawczy stanowiły trzy odmiany pszenicy ozimej: Alba, Korweta i Salkwa, wyhodowane w Zakładzie Doświadczalnym SGGW w Oborach.

Próbki ziarna poddano procesowi porastania przez 72 h w kontrolowanych warunkach laboratoryjnych. Wysuszone, porośnięte i zdrowe ziarno przemielono w młynie laboratoryjnym Quadrumat Senior.

W mące z ziarna porośniętego i nieporośniętego oznaczano zawartość azotu niebiałkowego (N-niebiałkowego) metodą Kjeldahla, liczbę opadania metodą Hagberga-Pertena, ogólną aktywność amylolityczną metodą Bernfelda [7], ogólną aktywność proteolityczną zmodyfikowaną metodą Ansona [3] oraz przeprowadzono analizę farinograficzną przy użyciu farinografu Brabendera. Interpretację farinogramów przeprowadzono metodą AACC [1]. Badania zakończono próbnym wypiekiem laboratoryjnym, prowadzonym metodą bezpośrednią, zalecaną przez Instytut Piekarnictwa w Berlinie. Do mąki z ziarna porośniętego zastosowano dwa preparaty polepszające: 0,5% kwasu askorbinowego i 3% glutenu witalnego w stosunku do masy mąki.

### *Oznaczenie aktywności amylolitycznej*

Ekstrakcję mąki prowadzono 0,1 M buforem octanowym o pH 5,3 (1:10 m/v) we wstrząsarce przez 1 h, następnie zawiesinę wirowano przy 8 000 obr./min przez 15 min. Supernatant stanowił wyciąg enzymów amylolitycznych. Ogólną aktywność amylolityczną oznaczano kolorymetrycznie wobec 1% roztworu skrobi jako substratu przy pH 5,3. Inkubacja trwała 15 min, po czym reakcję przerywano 1% DNS (kwas 3,5-dinitrosalicylowy). Wartość absorbancji odczytywano w spektrofotometrze firmy Minolta przy długości fali 540 nm wobec prób kontrolnych. Aktywność wyrażano w mi-

ligramach maltozy uwolnionej z substratu przez enzym wyekstrahowany z 1 g mąki w ciągu 1 min.

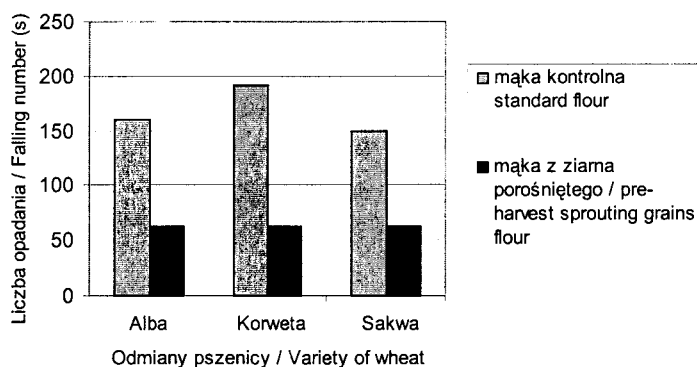
### Oznaczenie aktywności proteolitycznej

Modyfikacja metody Ansona [3] polegała na zastosowaniu jako substratu ekstraktów mąki w 0,1 M buforze octanowym o pH 5,3. Rodzime proteazy w substracie inaktywowano umieszczając próby na 8 min w temp. 100°C. Ekstrakcję prowadzono analogicznie jak w przypadku amylaz. Reakcję prowadzono w 0,1 M buforze octanowym przy pH 5,3 przez 30 min, w temp. 37°C, po czym przerywano 12% TCA (kwasem trichlorooctowym). Wartość absorbancji odczytywano w spektrofotetrze przy długości fali 670 nm wobec próby kontrolnej. Aktywność wyrażano w  $\mu$ molach tyrozyny zawartej w peptydach uwolnionych z substratu przez enzym wyekstrahowany z 1g mąki w ciągu 1 min.

### Wyniki i dyskusja

Jednym z powszechnie stosowanych wskaźników aktywności amylolitycznej mąki jest liczba opadania. Metoda ta daje również pośrednią informację o stopniu uszkodzenia skrobi.

Wartości liczby opadania oraz poziom aktywności amylaz przedstawiono na rys. 1. i 2.



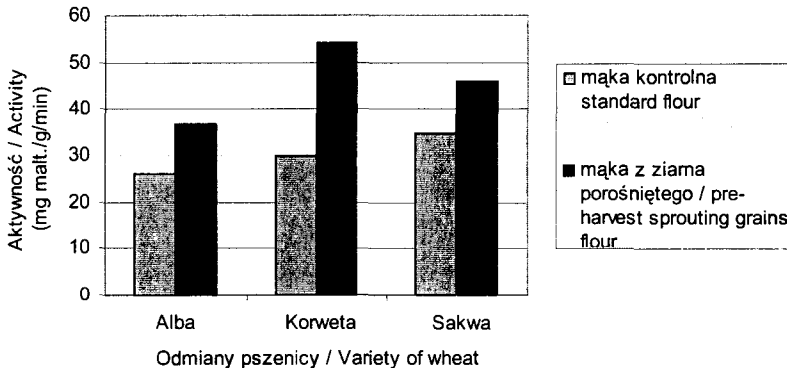
Rys. 1. Wpływ porostu ziarna na liczbę opadania.

Fig. 1. The effect of the pre-harvest sprouting of grain on the falling number.

Liczba opadania w próbach wzorcowych była stosunkowo niska i nieznacznie zróżnicowana w obrębie odmian, co świadczy o ich podwyższonej aktywności amylolitycznej. Porost spowodował obniżenie wartości tego parametru, jednak wartość liczby opadania utrzymana była na tym samym poziomie we wszystkich próbach. Stosując bezpośrednią metodę Bernfelda [7] można było prześledzić różnice poziomu aktywno-

ści amylaz między odmianami. W mąkach z ziarna porośniętego wystąpił znaczny i zróżnicowany wzrost aktywności. Największy przyrost cukrów redukujących (o 80%) obserwowano w mące Korweta<sup>1</sup>, ale w próbach porośniętych Sakwa i Alba aktywność amylaz również wzrosła, odpowiednio o 31 i 42%. Uzyskane wyniki wskazują na zróżnicowane tempo metabolizmu polisacharydów w badanych odmianach. Prabucka i wsp. [11] wykazali interesującą zależność między aktywnością  $\alpha$ -amylazy w pszenzyście a odpornością na porastanie; odmiany wrażliwe charakteryzowały się znacznie większą aktywnością niż odmiany odporne.

Proteazy ziarniaków w stanie spoczynku i kiełkujących były przedmiotem badań wielu autorów [2, 6, 8, 10]. Ich aktywność decyduje o strukturze białek, m.in. glutenowych. W ziarniakach porośniętych białka glutenowe pod wpływem proteaz rozpadają się na niskocząsteczkowe peptydy i aminokwasy, które wykorzystywane są do syntezy białek strukturalnych i enzymatycznych kiełka. Naruszenie struktury wtórnej białek glutenowych powoduje niekorzystne zmiany ich właściwości reologicznych [9], co ma bezpośrednie przełożenie na wartość technologiczną mąki.



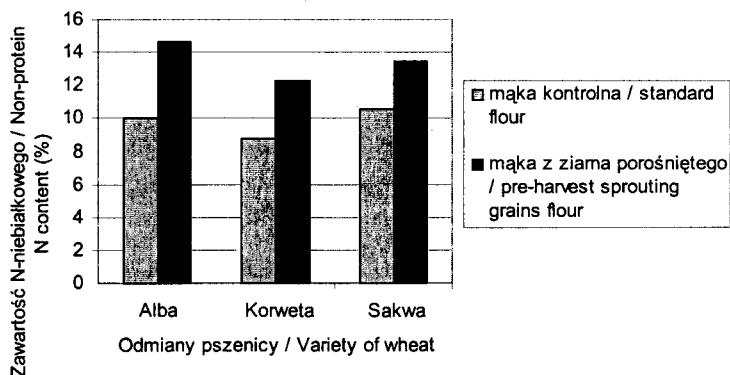
Rys. 2. Wpływ porostu ziarna na aktywność amylolityczną mąki.

Fig. 2. The effect of the pre-harvest sprouting of grains on the amylolytic activity of flour.

Wskaźnikiem działania enzymów proteolitycznych w ziarniakach jest zawartość azotu niebiałkowego. Na rys. 3. przedstawiono wyniki zawartości N-niebiałkowego oraz ogólny poziom aktywności proteolitycznej w badanych mąkach. Udział N-niebiałkowego w stosunku do azotu ogółem w próbach wzorcowych był w niewielkim stopniu zróżnicowany i zgodny z danymi literaturowymi [8]. W odmianach porośniętych obserwowano wzrost wartości tego wskaźnika, wywołany wzmożoną aktywnością proteaz zarówno w obrębie białek aleuronowych, jak i endospermu. W mące Sa-

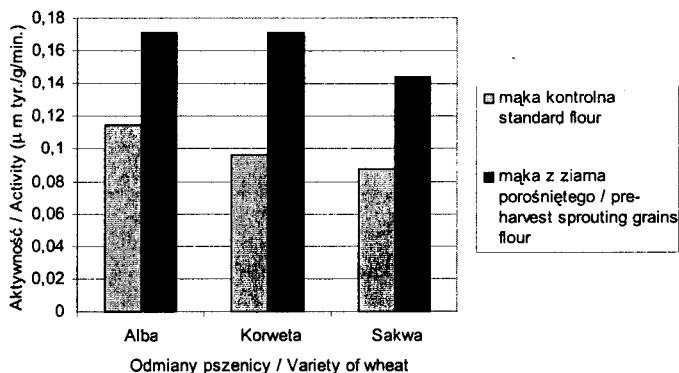
<sup>1</sup> W tekście, w celu uproszczenia stosowano skróty „mąka Alba”, „mąka Korweta” i „mąka Sakwa” jako określenia mąk otrzymanych z ziarna pszenicy odmian Alba, Korweta i Sakwa.

kwa i Korweta zawartość azotu niebiałkowego wzrosła odpowiednio o 33 i 35%, ale najwięcej (o 46%) w mące Alba.



Rys.3. Wpływ porostu ziarna na zawartość azotu niebiałkowego.

Fig. 3. The effect of the pre-harvest sprouting of grains on the non-protein nitrogen content.



Rys. 4. Wpływ porostu ziarna na aktywność proteolityczną mąki.

Fig. 4. The effect of the pre-harvest sprouting of grains on the proteolytic activity of flour.

Niska ogólna aktywność proteolityczna w próbach wzorcowych wyraźnie wzrosła w mąkach z ziarna porośniętego (rys. 4). W mące Alba odnotowano wzrost tej aktywności o 48%, w mące Sakwa o 63%, a największy, o 78%, w mące Korweta. Uzyskane wyniki wskazują na zróżnicowaną szybkość przemian azotowych w badanych odmianach, co może być związane z ich odpornością na porastanie. Bielawski i wsp. [8] badając kiełkujące ziarna pszenicy stwierdzili wyższy wzrost endopeptydaz w odmianach zakwalifikowanych jako skłonne do porastania [4] niż w odmianach odpornych.

Przy określeniu wartości wypiekowej mąki pszennej duże znaczenie przywiązuje się do oceny właściwości reologicznych ciasta. Zmiany w strukturze białek

glutenowych i skrobi, spowodowane nadmierną aktywnością hydrolaz, potwierdziła analiza farinograficzna ciast uzyskanych z mąk porośniętych (tab. 1). Pogorszenie wskaźników reologicznych wyrażało się: spadkiem wodochłonności, skróceniem czasu stałości, rozwoju i oporności na mieszenie oraz wzrostem rozmiękczenia. Parametry fizyczne ciasta z mąki Korweta w największym stopniu uległy pogorszeniu, jednocześnie mąka ta charakteryzowała się największym przyrostem badanych hydrolaz.

Badania zakończono próbnym wypiekiem laboratoryjnym, a wyniki przedstawiono w tab. 2.

Tabela 1

Analiza farinograficzna mąki pszennej.  
Farinograph analysis of wheat flour.

Odmiana pszenicy Variety of wheat	Wodochłonność Water absorption [%]	Rozwój ciasta Development time of dough [min]	Stażność ciasta Stability of dough [min]	Rozmiękczenie ciasta Degree of softening of dough [jB]
Alba	52,7	1	5	50
Alba*	48,2	0,5	2,5	150
Korweta	54,9	2	16	30
Korweta*	49,6	1	5	95
Sakwa	54,3	1	12	35
Sakwa*	49,2	1	4,5	150

\* – mąka z ziarna porośniętego

\* – flour of pre-harvest sprouting grain

Tabela 2

Charakterystyka jakości pieczywa pszennego.  
Quality characteristics of wheat bread.

Odmiana pszenicy Variety of wheat	Dodatki Additions [%]	Wydajność pieczywa Yield of bread [%]	Objętość 100g Volume of bread [cm <sup>3</sup> ]	Porowatość miększu Structure of crumb [%]
Alba	0	103	289	89
Alba*	0	105	250	89
Alba*	gluten witalny 3% vital gluten 3%	104	287	92
Alba*	witamina C 0,5% ascorbic acid 0,5%	100	285	94
Korweta	0	105	272	92
Korweta*	0	101	304	92

c.d. tabeli 2

Korweta*	gluten witalny 3% vital gluten 3%	100	355	94
Korweta*	witamina C 0,5% ascorbic acid 0,5%	100	337	90
Sakwa	0	104	281	91
Sakwa*	0	101	243	89
Sakwa*	gluten witalny 3% vital gluten 3%	101	272	86
Sakwa*	witamina C 0,5% ascorbic acid 0,5%	101	272	91

\* – mąka z ziarna porośniętego

\* – flour of pre-harvest sprouting grain

Chleby otrzymane z mąk kontrolnych wykazywały właściwe cechy sensoryczne, charakteryzowały się równomierną porowatością i bardzo dobrą elastycznością miększu, były także dobrze wyrośnięte. Pieczywo z mąki z ziarna porośniętego było mało wyrośnięte, o nieregularnym kształcie, niedostatecznie elastyczne oraz miało obniżoną objętość i nierównomierną porowatość. Po zastosowaniu preparatów polepszających (0,5% witaminy C, 3% glutenu witalnego) na ogół obserwowano poprawę cech fizycznych pieczywa, wyrażającą się przede wszystkim wzrostem objętości bochenków.

## Wnioski

1. Mąka z porośniętego ziarna pszenicy odmiany Korweta charakteryzowała się największym przyrostem badanych hydrolaz, co świadczy o jej mniejszej odporności na porastanie.
2. Porost ziarna spowodował pogorszenie właściwości reologicznych ciasta we wszystkich badanych próbach. W największym stopniu obniżyła się wodochłonność (o 10%), skróceniu uległ czas rozwoju ciasta (o 50%) i czas stałości ciasta (o 68%) oraz zmniejszyła się oporność na mieszenie w przypadku mąki z ziarna pszenicy odmiany Korweta.
3. Chleby wypieczone z mąki z ziarna porośniętego charakteryzowały się złą jakością. Zastosowanie witaminy C i glutenu witalnego, jako polepszaczy, wywarło korzystny wpływ na cechy fizyczne pieczywa, przejawiający się przede wszystkim wzrostem objętości bochenków.

## Literatura

- [1] AACC: The farinograph handbook. St. Paul MN. 1972.
- [2] Andrzejczuk-Hybel J., Bartoszewicz K., Bielawski W., Kączkowski J.: Changes of activity of some

- hydrolases during triticale development differentiated in pre-harvest sprouting resistance. *Acta Physiol. Plant.*, 1994, **16**, 279-284.
- [3] Anson M. L., Gen J.: *Methods of Enzymatic Analysis*, Ed: H. U. Bergmeyer Verlag-Chemie –Acad. Press. New York 1963, p. 807.
- [4] Bartoszewicz K., Bielawski W., Kączkowski J.: Physiological indexes of Triticale grains which can differentiate their pre-harvest sprouting resistance. *Acta Physiol. Plant.*, 1993, **15**, 185-191.
- [5] Bartoszewicz K., Bielawski W., Garbaczewska G., Kączkowski J.: Possible role of  $\beta$ -endoglucanase in the degradation of the cell wall polysaccharides in more and less resistant to pre-harvest sprouting triticale varieties. *Acta Physiol. Plant.*, 1997, **19**, 295-302.
- [6] Belozerski M.A., Sarbakanova Sh., Dunayevsky Y.,E.: Aspartic proteinase from wheat seeds: properties and action on gliadin. *Planta*, 1989, **177**, 321-326.
- [7] Bernfeld P.: Amylases  $\alpha$  and  $\beta$ . In: *Methods in Enzymology*. Eds: S.P. Colowick, N.O. Kaplan, 1953, Vol 1 Chapter17, 149-151.
- [8] Bielawski W., Dojczew D., Kączkowski J., Kolbuszewska-Podres W.: Enzymes of protein breakdown in germinating Triticale grains resistant and susceptible to pre-harvest sprouting. *Acta Physiol. Plant.*, 1994, **16**, 19-26.
- [9] Dojczew D., Cacak-Pietrzak G., Ceglińska A.: Ocena wpływu wybranych preparatów polepszających na wartość wypiekową mąki otrzymanej z ziarna porośniętego. *Przegl. Piek. Cuk.*, 1999, **14**, 9-11.
- [10] Nguyen Cam V., Bielawski W., Kączkowski J.: Distribution of endopeptidases in germinating Triticale grains susceptible and resistant to pre-harvest sprouting. *Acta Physiol. Plant.*, 1995, **17**, 9-16.
- [11] Prabucka B., Bartoszewicz K., Bielawski W., Kączkowski J.: Dynamics of activity changes of  $\alpha$ -amylase and 1-3,1-4- $\beta$  endoglucanase in the milling fractions of grains of Malno and Lasko Triticale cultivars during germination. *Acta Physiol. Plant.*, 1995, **17**, 255-260.
- [12] Shewry P.R., Napier J.A., Tatham A.S.: Seed storage proteins: structures and biosynthesis. *Plant Cell*, 1995, **7**, 945-956.
- [13] Shutov A.D., Beltei N.K., Waintraub I.,A.: Cysteine proteinase from germinating wheat seeds; partial purification and hydrolysis of gluten. *Biochimija*, 1984, **49**, 1171-1177.

## THE INFLUENCE OF THE ACTIVITY OF SOME HYDROLASES ON THE BREADMAKING OF PRE-HARVEST SPROUTING GRAINS WHEAT FLOUR

### S u m m a r y

The influence of pre-harvest sprouting of grains on the level of proteolytic and amylolytic activity and the use of pre-harvest sprouting grain flour in baking with ascorbic acid and vital gluten addition were investigated. The content of non-protein nitrogen, proteolytic and amylolytic activity and farinography properties were analyzed. After the investigation there was a laboratory baking. The activity of the hydrolytic enzymes increased in every pre-harvest sprouting grains flour's investigated samples. In Korweta variety the amylolytic activity increased by 80%, in varieties Alba and Sakwa adequately, 42 and 31%. The level of proteolytic activity also increased, the biggest increase by 78% was also noticed in Korweta variety. The relationship between rheologic properties of dough and level of hydrolytic activity was estimated. The additions favourably influenced the quality of bread.

**Key words:** wheat, pre-harvest sprouting, proteolytic activity, amylolytic activity. ☒