

А.А. Яцына, кандидат биологических наук;
В.В. Ковтунов, кандидат сельскохозяйственных наук,
*ФГБНУ Всероссийский научно-исследовательский институт
зерновых культур им.И.Г.Калиненко
(347740. г.Зерноград, Научный городок, д.3; vnizk30@mail.ru)*

АКТИВНОСТЬ ПОЛИФЕНОЛОКСИДАЗЫ В ЗЕРНЕ СОРГО (SORGHUM BICOLOR L.)

Зерно сорго зернового имеет различное целевое использование. Во многих странах мира зерно сорго применяется для приготовления разнообразных пищевых продуктов. В зависимости от целевого использования к зерну сорго предъявляют определенные требования. В статье приведены результаты изучения активности полифенолоксидазы (ПФО) в зерне 49 сортов и селекционных линий сорго зернового различного происхождения. В экспериментах использовали зерно, различающееся по массе 1000 семян и цвету. Масса 1000 семян варьировала от 10,9 до 48,5 г. Цвет зерна был представлен почти всем цветовым спектром. Установлено, что активность ПФО в зерне изученных образцов сорго значительно варьировала от 2,83 до 21,01 единицы/г зерна. Большинство образцов сорго селекции ВНИИЗК им. И.Г.Калиненко имеют невысокую активность ПФО. Показано, что активность ПФО отрицательно коррелирует с массой зерна ($r=-0,76$) и положительно с цветом зерна ($r=0,49$). Действие ПФО может приводить к потемнению конечных продуктов, снижая их качество. Для приготовления большинства пищевых продуктов из зерна сорго необходимо использовать зерно светлоокрашенных сортов сорго с низкой активностью ПФО.

Ключевые слова: сорго, полифенолоксидаза, масса 1000 семян, цвет зерна, качество продуктов.

A.A. Yatsyna, Candidate of Biological Sciences;
V.V. Kovtunov, Candidate of Agricultural Sciences,
*FSBSI All-Russian Research Institute of Grain Crops named after I.G. Kalinenko
(347740, Zernograd, Nauchny Gorodok, 3; vnizk30@mail.ru)*

ACTIVITY OF POLYPHENOL OXIDASE IN SORGHUM GRAIN (SORGHUM BICOLOR L.)

Grain of grain sorghum has different ways of use. In many countries of the world grain of sorghum is applied for cooking different food products. Thus grain of sorghum is imposed certain requirements in dependence of the purpose of its use. The article gives the results of study of activity of polyphenol oxidase in grain of 49 varieties and selective lines of grain sorghum of various origins. In the trials we

used grain with different 1000-grain weight and color. 1000-grain weight varied from 10,9 to 48,5 g. Grain color was presented with a total color spectrum. It has been determined that the activity of polyphenol oxidase (PPO) in grain of studied sorghum samples varied from 2,83 to 21.01 u/g. The majority of sorghum samples of I.G. Kalinenko ARRIGC possess low activity of PPO. It has been shown that the activity of PPO negatively correlates with grain weight ($r=-0,76$) and positively correlates with grain color ($r=0,49$). The activity of PPO can result in darkening of the product, reducing its quality. For cooking of the most food product from grain of sorghum it's necessary to use grain of light colored varieties of sorghum with the low activity of PPO.

Keywords: *sorghum, 1000-grain weight, grain color, polyphenol oxidase, quality of products.*

Введение. Сорго входит в пятерку основных зерновых культур в мире. Посевные площади сорго зернового в мире превышают 40 млн га. В связи с высокой засухоустойчивостью сорго выращивается в основном в регионах с недостаточным увлажнением: страны Африки, Китай, Индия. В этих странах зерно сорго используется на различные нужды, в том числе и на пищевые. В некоторых африканских странах из зерна сорго приготавливают пищевые продукты: каши, хлеб, местные сорта пива [1,2]. Следует подчеркнуть, что зерно сорго не содержит клейковины, которая вызывает серьезные заболевания (целиакия) у значительной части людей. К качеству зерна сорго предъявляются определенные требования. Каша, приготовленная из зерна сорго, должна иметь светлый цвет [3]. Важной особенностью зерна сорго является очень высокая антиоксидантная активность некоторых сортов (в основном красnozерные сорта), которая во много раз превышает аналогичную активность фруктов, других зерновых культур и даже знаменитой голубики [4]. Антиоксидантные свойства сорго связаны в основном с содержанием фенольных веществ и ферментами, участвующими в их превращениях. Среди зерновых культур сорго имеет самое высокое содержание фенольных веществ, которое у некоторых сортов может достигать 6% [5]. Показано, что антиоксидантная активность высоко коррелирует с содержанием фенольных соединений и антоцианов [5].

В России ведется селекция сорго зернового на пищевые цели [6,7]. Однако в настоящее время, к сожалению, полезные продукты из сорго еще не нашли применения в питании человека.

Цвет пищевых продуктов во многом связан с активностью определенных ферментов. Одним из основных ферментов, который вызывает потемнение пищевых продуктов, является полифенолоксидаза (Е.С. 1.14.18.1. и Е.С. 1.10.3.2, синонимы: тирозиназа, катехолаза). Этот фермент широко распространен в растительном мире [8]. Механизм действия фермента состоит в окислении моно- и дифенолов в хиноны, которые

неферментативным путем могут превращаться в окрашенные продукты (меланины) [9]. Установлено, что активность ПФО во многом определяет цвет макаронных изделий из зерна пшеницы [10]. Содержание фенольных соединений и танинов, а также уровень активности полифенолоксидазы и пероксидазы определяет пищевое использование зерна сорго [11].

Целью настоящей работы явилось выявление образцов сорго зернового, пригодных на пищевые цели, с помощью оценки активности полифенолоксидазы в зерне, определяющей окраску конечных продуктов.

Материалы и методы. В качестве экспериментального материала использовали зерно 49 сортов и коллекционных образцов сорго зернового урожая 2014 г. Образцы 1-10 были представлены сортами и селекционными линиями сорго зернового селекции ВНИИЗК им. И.Г.Калиненко.

Активность ПФО определяли в зерне различных образцов сорго, отличающихся по цвету и массе 1000 семян.

Определение активности ПФО проводили по методу Anderson и Morris [12]. Три зерна помещали в пробирку, содержащую 1,5 мл 50мМ MOPS (3-(N-morpholino) propane sulfonic acid) буфера (рН 6,5) и в качестве субстрата 10 мМ L-DOPA (3,4- dihydroxy-L-phenilalanine). Пробы инкубировали в течение 12 часов при 37⁰С. Оптическую плотность раствора определяли при 475 нм с помощью спектрофотометра Smart Spec (США). Активность фермента выражали в относительных единицах на 1 г зерна.

Классификацию изученных образцов сорго зернового по признаку «цвет зерна» проводили согласно Широкому унифицированному классификатору СЭВ и международному классификатору СЭВ возделываемых видов рода Sorghum Moench [13].

Результаты. В приготовлении пищевых продуктов для питания человека используются в основном белозерные сорта сорго. Однако установлено, что окрашенное зерно содержит повышенное количество антиоксидантных веществ, что может быть полезным для защиты организма человека от ряда заболеваний [4]. Установлено, что отруби некоторых сортов сорго обладают значительно более высокой антиоксидантной активностью, чем мука из целого зерна [5].

Активность ПФО в зерне сорго среди изученных образцов значительно варьировала. Максимальная активность была выявлена у образца к-1423 (21,01 ед/г), а минимальная – у Джугары белой (2,83 ед/г) (см. таблицу).

Активность полифенолоксидазы в зерне сорго

№ п/п	Название образца	Номер каталога	Масса 1000 семян, г	Окраска зерна (основной тон)	ПФО, ед/1 г зерна
-------	------------------	----------------	---------------------	------------------------------	-------------------

		ВИР			
1	6/14		27,1	жёлтый	5,83
2	5/14		27,7	белый	5,22
3	3/14		27,5	белый	4,32
4	431/14		25,7	желтый	5,58
5	Зерноградское 53		23,0	красный	6,45
6	Великан		17,0	белый	12,0
7	Хазине 28		18,6	белый	7,56
8	Орловское		17,7	бурый	8,21
9	Лучистое		29,4	розовый	5,39
10	Зерноградское 88		27,5	белый	4,51
11	Палестинское белое	К-1781	25,2	слоновой кости	4,07
12	Pop sorghum	К-2973	19,3	желтый	6,70
13	Pop sorghum	К-3045	17,0	желтый	8,71
14	Фетерита	К-46777	38,5	слоновой кости	3,52
15	Стрелец 68	-	48,5	желтый	3,00
16	Геническое 11 улучшенное	-	19,5	слоновой кости	5,79
17	Геническое 130	-	20,6	розовый	6,25
18	Геническое 209	-	17,0	бурый	11,41
19	Джугара Уч-Айлик	К-26	33,1	белый	5,18
20	Урус-Джугара	К-658	24,7	белый	7,56
21	Джугара прямостоячая «Уч- Айлик»	К-987	30,0	белый	4,32
22	Джугара	К-1124	32,7	белый	4,17
23	Джугара «Уч- Айлтык»	К-1167	25,7	белый	6,12
24	Без названия	К-1245	20,0	бурый	12,35
25	Без названия	К-1423	10,9	бурый	21,01
26	Джугара карликовая	К-1795	23,0	белый	6,94
27	Джугара белая	К-2315	38,2	белый	2,83
28	Местное	К-2736	25,7	желтый	5,99
29	Акгулум-оламское	К-4936	35,3	белый	3,53
30	Без названия	К-7295	29,9	желтый	4,23
31	М-63090 М-21	К-8861	22,4	желтый	8,71
32	М-60887	К-9001	24,5	слоновой кости	7,35
33	Геническое 9	К-9266	21,0	бурый	4,89
34	Майло карликовое 351	К-9365	21,4	красный	8,63
35	Скороспелое 30	К-9444	18,5	красный	9,09
36	Н.S. 21	К-9591	21,6	слоновой кости	9,61

37	Без названия	К-5604	29,4	бурый	6,51
38	CS-175	К-7555	20,0	розовый	8,95
39	Zine CPI62230IS	К-7681	28,3	желтый	5,65
40	Maldande B	К-8215	32,5	желтый	5,13
41	Абу-Себейн	К-8467	37,9	белый	5,67
42	М-60938	К-9021	18,9	слоновой кости	9,40
43	М-61134	К-9050	36,7	розовый	5,48
44	Уньчисусу	К-9553	12,5	бурый	15,25
45	IS23413SPV	К-10044	21,4	красный	10,81
46	СЛВ-2	К-10107	19,3	белый	12,82
47	С-168	К-10158	22,0	желтый	8,45
48	С-678	К-10257	24,0	белый	8,49
49	С-45	К-10341	22,4	желтый	8,30

Таким образом, отличия в активности ПФО между сортами могут различаться в 10 раз. Ранее было отмечено, что активность ПФО среди 50 сортов сорго, выращиваемых в Буркина-Фасо, также имела большие различия [11]. Это указывает, что уровень активности ПФО определяется в основном генотипом. Полученные результаты позволяют рекомендовать для приготовления каш и других сорговых пищевых продуктов зерно белозерных и желтозерных сортов с низкой активностью ПФО, что позволит избежать потемнения конечных продуктов. Предпочтение должно быть отдано сортам, районированным в России.

Для отбора образцов с различной активностью ПФО в зерне сорго желательно использовать морфологические показатели растений или зерна, что позволит избежать длительных биохимических анализов. Литературные данные связи активности ПФО и массы 1000 семян для зерна пшеницы имеют противоречивые показатели. В ряде работ указываются как положительная корреляция между активностью ПФО и массой 1000 семян ($r=0,699$) [15], ($r=0,492$) [16], так и отрицательная ($r=-0,39$) [17].

Масса 1000 семян образцов сорго зернового в наших исследованиях значительно варьировала от 10,9 до 48,5 г. Полученные данные указывают, что с возрастанием массы семян активность ПФО уменьшается. Корреляция между этими показателями была отрицательной и составила $r=-0,76$ (рис.1). Это указывает, что мелкое зерно сорго, как правило, имеет более высокую активность ПФО.

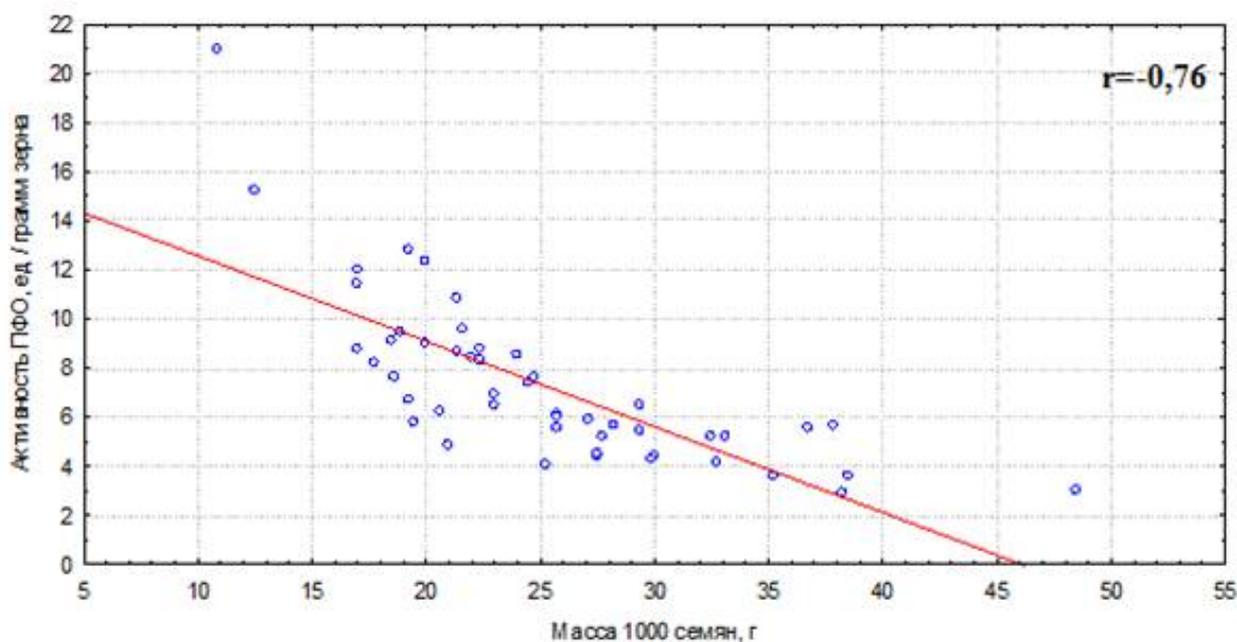


Рис. 1. Связь активности ПФО и массы 1000 семян

Однако для оценки качества конечных продуктов сорго кроме зависимости массы 1000 семян и активности ПФО следует учитывать и цвет зерна, так как окрашенное зерно содержит большое количество фенольных соединений, что может ухудшать питательные свойства.

Цвет зерна сорго может варьировать в широких пределах: от белого до черного. У других зерновых культур не наблюдается такого разнообразия цвета зерна. Цвет зерна сорго связан с содержанием вторичных метаболитов и, в частности, с содержанием таннинов [4]. В наших исследованиях было использовано зерно сорго почти всего цветового спектра. Полученные результаты указывают, что между активностью ПФО и цветом зерна сорго имеется средняя положительная корреляция ($r=0,49$) (рис.2). Таким образом, цвет зерна может быть в некоторой степени показателем активности ПФО.

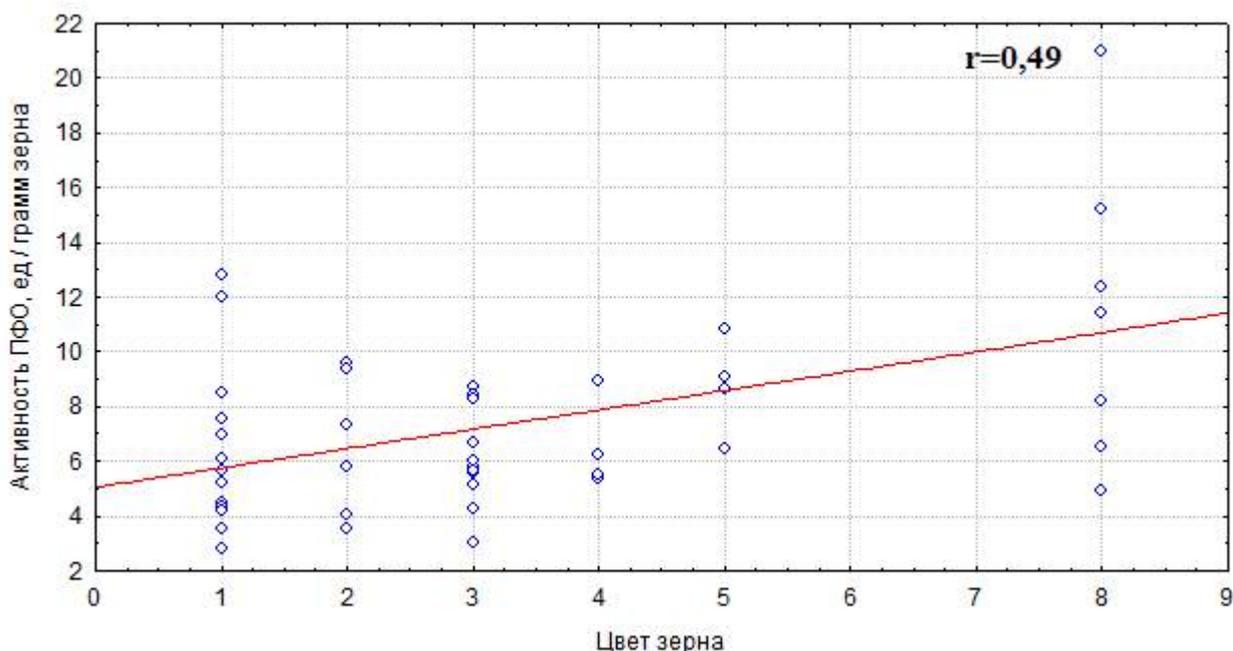


Рис. 2. Связь активности ПФО и цвета зерна сорго
 Цвет зерна: 1 – белый, 2 – слоновой кости, 3 – желтый, 4 – розовый, 5 – красный, 8 – бурый

Однако в ряде работ было установлено, что не имеется значительных различий в активности ПФО между красными и белыми зёрнами [11]. Следует отметить, что среди светлозерных сортов в наших исследованиях отмечена значительная вариабильность активности ПФО. Поэтому для пищевых целей следует вести селекцию светлозерных сортов сорго с учетом активности ПФО, что будет в значительной степени гарантировать светлый цвет сорговых продуктов.

С другой стороны, окрашенное зерно обладает повышенной антиоксидантной активностью по сравнению с белозерным зерном [11]. Содержащиеся в окрашенном зерне вторичные метаболиты могут благотворно влиять на здоровье человека.

В связи с этим как активность ПФО, так и цвет зерна должны учитываться при целевом использовании сорго зернового.

Выводы

1. Активность полифенолоксидазы в зерне различных образцов сорго значительно варьирует, и величина этого показателя зависит от генотипа растения.
2. Активность ПФО отрицательно коррелирует с массой 1000 семян ($r=-0,76$) и положительно с цветом зерна ($r=0,49$).
3. На пищевые цели следует использовать светлозерные сорта с низкой активностью ПФО.

Литература

1. *Taylor, J.R.N.* Novel food and non-food uses for sorghum and millets / J.R.N.Taylor, T.J.Schober, S.R.Bean // *J.Cereal Sci.* – 2006. – V. 44. – P. 252-271.
2. *Lyumugabe, F.* Characteristics of African traditional beers brewed with sorghum malt: a review / F.Lyumugabe, J.Gros, Nzungize, E.Bajyana, P.Thonart // *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* –2012. – V. 16. – P. 509-530.
3. *Hikeezi, D.M.* Polyphenol oxidase activity in white tan-plant-type sorghum: an important determinant of the relatively dark colour of their porridges / D.M.Hikeezi, K.G.Duodu, M.Chisi, L.W.Rooney, J.R.N.Taylor // *Intern. J. Food Sci. Technology*, 2013. –V. 48. – P. 941-946.
4. *Dykes L., Rooney L.W.* Sorghum and millet phenols and antioxidants // *J. Cereal Sci.* 2006. – V. 44. – P. 236-251.
5. *Awika, J.M., Rooney L.W.* Sorghum phytochemicals and their potential impact on human health // *Phytochemistry*. 2004. – V. 65. – P. 1199-1221.
6. *Шепель, Н.А.* Сорго / Н.А. Шепель. – Волгоград: Комитет по печати, 1994. – 448 с.
7. *Хуснетдинова, Т.Г.* Создание исходного материала для селекции сорго на пищевые цели / Т.Г. Хуснетдинова: Автореф. диссертации кандидата сельскохозяйственных наук. –Саратов, 1997.
8. *Mayer, A.M.* Polyphenol oxidases in plants and fungi: Going places? A review // *Phytochemistry*. –2006. – V. 67. – P. 2318-2331.
9. *Queiroz, C.* Polyphenol oxidase: characteristics and mechanism of browning control / C.Queiroz, M.L.M. Lopes, E.Fialho, V.L.Valente-Mesquita // *Food Rev. Intern.* – 2008. – V. 24. – P. 361-375.
10. *Feillet, P.* Pasta brownness: an assessment / P.Feillet, J.Autran, C.Icard-Verniere // *J. Cereal Sci.* 2000. – V. 32. – P. 215-233.
11. *Dicko, M.H.* Phenolic compounds and related enzymes as determinants of sorghum for food use / M.H.Dicko, H.Gruppen, A.S.Traore, A.G.J.Voragen, W.J.H.van Berkel // *Biotechnology and Molecular Biology Review*. 2006. – V. 1. – P. 21-38.
12. *Anderson, J.V., Morris, C.F.* An improved whole-seed assay for screening wheat germplasm for polyphenol oxidase activity / J.V. Anderson, C.F. Morris // *Crop Sci.* – 2001. – V. 41. – P. 1697-1705.
13. *Якушевский, Е.С.* Широкий унифицированный классификатор СЭВ и международный классификатор СЭВ возделываемых видов рода *Sorghum* Moench / Е.С. Якушевский, С.Г. Варадинов, В.А. Корнейчук, Л. Баняи. – Л.: ВИР, 1982. – 34 с.

14. *Dicko, M.H.* Comparison of content in phenolic compounds, polyphenol oxidase, and peroxidase in grains of fifty sorghum varieties from Burkina Faso / M.H.Dicko, R.Hilhorst, H.Gruppen, A.S.Traore, C.Laane, W.J.H.van Berkel, A.G.J.Voragen // *J.Agric.Food Chem.* – 2002. – V. 50. – P.3780-3788.
15. *Kang, C.S.* Effect of polyphenol oxidase activity on discoloration of voodle dough sheet prepared from Korean wheats / C.S.Kang, Y.K.Cheong, S.L.Kim, D.K.Kim, J.G.Kim, C.S.Park // *Korean J. Crop Sci.* – 2008. – V. 53. – P. 187-195.
16. *Park, Y.H.* Genotype and environment effects on gliadin content and poly phenol oxidase activity in wheat / Y.H.Park, B.H. Hong, M.W. Park, J.H. Nam, Y.W. Seo // *Korean J. Crop Sci.* – 2000. – V. 45. – P. 38-43.
17. *Sayaslan, A.* Some quality characteristics of durum wheat (*Triticum durum*) landraces / A.Sayaslan, M. Koyuncu, A. Yildirim, T. Eserkaya Gulec, O.Ates Sonmezoglu, N. Kandemir // *Turk.J.Agric.For.* – 2012. – V. 36. – P. 749-756.

Literature

1. *Taylor, J.R.N.* Novel food and non-food uses for sorghum and millets/ J.R.N.Taylor, T.J.Schober, S.R.Bean// *J.Cereal Sci.* – 2006. – V. 44. – P. 252-271.
2. *Lyumugabe, F.* Characteristics of African traditional beers brewed with sorghum malt: a review/ F. Lyumugabe, J. Gros, Nzungize, E. Bajyana, P. Thonart// *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* -2012. – V. 16. – P. 509-530.
3. *Hikeezi, D.M.* Polyphenol oxidase activity in white tan-plant-type sorghum: an important determinant of the relatively dark color of their porridges/ D.M. Hikeezi, K.G. Duodu, M. Chisi, L.W. Rooney, J.R.N. Taylor// *Intern. J. Food Sci. Technology.* 2013. V. 48. – P. 941-946.
4. *Dykes L., Rooney L.W.* Sorghum and millet phenols and antioxidants// *J. Cereal Sci.* 2006. – V. 44. – P. 236-251.
5. *Awika, J.M., Rooney L.W.* Sorghum phytochemicals and their potential impact on human health// *Phytochemistry.* 2004. – V. 65. – P. 1199-1221.
6. *Shepel, N.A.* Sorghum / N.A. Shepel. – Volgograd: Committee on printing, 1994. – 448p.
7. *Khusnetdinova T.G.* Creating of initial material for sorghum breeding for food. Synopsis of Cand. of Agric.Sc.. Saratov, 1997.
8. Mayer, A.M. Polyphenol oxidases in plants and fungi: Going places? A review // *Phytochemistry.* - 2006. – V. 67. – P. 2318-2331.
9. *Queiroz, C.* Polyphenol oxidase: characteristics and mechanism of browning control / C.Queiroz, M.L.M. Lopes, E. Fialho, V.L. Valente-Mesquita // *Food Rew. Intern.* – 2008. – V. 24. – P. 361-375.
10. *Feillet, P.* Pasta brownness: an assessment / P. Feillet, J. Autran, C. Icard-Verniere // *J. Cereal Sci.* 2000. – V. 32. – P. 215-233.

11. *Dicko, M.H.* Phenolic compounds and related enzymes as determinants of sorghum for food use / M.H. Dicko, H. Gruppen, A.S. Traore, A.G.J. Voragen, W.J.H.van Berkel // *Biotechnology and Molecular Biology Review*. 2006. – V. 1. – P. 21-38.
12. *Anderson, J.V., Morris, C.F.* An improved whole-seed assay for screening wheat germplasm for polyphenol oxidase activity / J.V. Anderson, C.F. Morris // *Crop Sci.* – 2001. – V. 41. – P. 1697-1705.
13. *Yakushevsky, E.S.* The broad unified comecon and international comecon list of descriptors for the species 'Sorghum Moench' / E.S. Yakushevsky, S.G. Varadinov, V.A. Korneychuk, L. Banyai. – L.: VIR, 1982. – 34p.
14. *Dicko, M.H.* Comparison of content in phenolic compounds, polyphenol oxidase, and peroxidase in grains of fifty sorghum varieties from Burkina Faso / M.H.Dicko, R.Hilhorst, H.Gruppen, A.S.Traore, C.Laane, W.J.H.van Berkel, A.G.J.Voragen // *J.Agric.Food Chem.* – 2002. – V. 50. – P.3780-3788.
15. *Kang, C.S.* Effect of polyphenol oxidase activity on discoloration of noodle dough sheet prepared from Korean wheat / C.S.Kang, Y.K.Cheong, S.L.Kim, D.K.Kim, J.G.Kim, C.S.Park // *Korean J. Crop Sci.* – 2008. – V. 53. – P. 187-195.
16. *Park, Y.H.* Genotype and environment effects on gliadin content and poly phenol oxidase activity in wheat/ Y.H.Park, B.H. Hong, M.W. Park, J.H. Nam, Y.W. Seo // *Korean J. Crop Sci.* – 2000. – V. 45. – P. 38-43.
17. *Sayaslan, A.* Some quality characteristics of durum wheat (*Triticum durum*) landraces / A.Sayaslan, M. Koyuncu, A. Yildirim, T. Eserkaya Gulec, O.Ates Sonmezoglu, N. Kandemir // *Turk.J.Agric.For.* – 2012. – V. 36. – P. 749-756.