



Маркер-контролируемое получение и производство форм пшеницы с повышенным уровнем биофлавоноидов: оценка продукции для обоснования значимости направления

Е.К. Хлесткина^{1, 2}✉, Н.И. Усенко², Е.И. Гордеева¹, О.И. Стабровская³, И.Б. Шарфунова³, Ю.С. Отмахова^{2, 4}

¹ Федеральное исследовательское учреждение Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия

² Новосибирский национальный исследовательский государственный университет, Новосибирск, Россия

³ Кемеровский технологический институт пищевой промышленности (университет), Кемерово, Россия

⁴ Институт экономики и организации промышленного производства Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия

В современных условиях в структуре мирового товарного предложения на продовольственном рынке необходимо отметить появление широкой группы новых высокотехнологичных продуктов специализированного и функционального питания с высокой долей добавленной стоимости. На создание функциональных пищевых продуктов ориентировано одно из актуальных направлений селекции растений – создание сортов с повышенным содержанием флавоноидов (растительных соединений, способных оказывать положительное действие на здоровье человека). Однако в настоящее время существует значительный разрыв между фундаментальными исследованиями роли флавоноидов и генетического контроля их синтеза, с одной стороны, и собственно разработкой продукции из пшеницы с новыми свойствами и изучением пищевой ценности готовой для потребления хлебобулочной продукции, с другой. В настоящей работе были получены и исследованы изделия из пшеницы, синтезирующей биофлавоноидные пигменты антоцианы в перикарпе зерновки. Зерно такой пшеницы имеет темно-фиолетовый цвет. Контролем служила краснозерная пшеница. Две изученные линии имеют практически полное сходство, за исключением небольшого участка хромосомы 2A, в котором содержится ген-регулятор биосинтеза антоцианов *Pp3/TaMyc1*. Использование такой точной модели позволило связать наблюдаемые различия именно с уровнем синтеза антоцианов. Важной задачей была оценка устойчивости антоцианов к технологической обработке, поэтому содержание антоцианов исследовалось не только в готовых изделиях, но и в смесях муки и отрубей, используемых для выпечки, и отдельно в отрубях. В результате выявлены значительные отличия образцов, полученных из фиолетового зерна, по сравнению с контролем, включая образцы изделий, прошедших полный цикл технологической обработки, в том числе выпечку при повышенной температуре. Для экстракции антоцианов были смоделированы условия, наиболее близкие к условиям в процессе усвоения пищи в организме человека, с тем чтобы оценить количество доступных при употреблении в пищу антоцианов. Показано, что при приеме в пищу 100 г хлебцев докторских, изготовленных из муки с добавлением отрубей фиолетового зерна пшеницы, употребление антоцианов достигает 1.03 мг. В составе 100 г отрубей организм получит до 3.32 г антоцианов. Параллельно с оценкой содержания антоцианов во всех образцах с помощью амперометрического метода была измерена массовая доля антиоксидантов. Анализ показал, что наиболее высокой антиоксидантной активностью отличаются отруби,

Evaluation of wheat products with high flavonoid content: justification of importance of marker-assisted development and production of flavonoid-rich wheat cultivars

E.K. Khlestkina^{1, 2}✉, N.I. Usenko², E.I. Gordeeva¹, O.I. Stabrovskaya³, I.B. Sharfunova³, Y.S. Otmakhova^{2, 4}

¹ Institute of Cytology and Genetics SB RAS, Novosibirsk, Russia

² Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia

³ Kemerovo Institute of Food Science and Technology, Kemerovo, Russia

⁴ Institute of Economics and Industrial Engineering SB RAS, Novosibirsk, Russia

In the structure of the global commodity supply in the food market in modern conditions it is necessary to note the emergence of a broad group of new high-tech products, and specialized functional food with high value added. The creation of varieties with a high content of flavonoids (plant compounds that can have a positive effect on human health) is one of the important directions of plant breeding oriented on the functional foods development. Currently, however, there is a significant gap between the well-studied role of flavonoids and the genetic control of their synthesis, on the one hand, and development of the actual product of wheat with new properties, evaluation of the nutritional value of the end-use bakery products for consumption, on the other hand. In the present study we produced and investigated bakery products from wheat synthesizing bioflavonoid pigments anthocyanins in the grain pericarp. The grains of this wheat have dark purple color. Red-grained bread wheat was a control. These two wheat lines have almost similar genomes with the exception of a small part of chromosome 2A, which contains the *Pp3/TaMyc1* gene regulating anthocyanin biosynthesis. The use of such an accurate model has allowed relating the observed differences precisely with anthocyanin biosynthesis. The important task was to evaluate the resistance of anthocyanins to the baking process. Therefore anthocyanin content was evaluated not only in the end-use product, but also in mixtures of flour and bran used for baking and separately in the bran. As a result, significant differences were detected in samples obtained from purple grains, compared with the control including

самой низкой – мука. Добавление отрубей к муке повышает антиоксидантную активность, процесс технологической обработки также увеличивает антиоксидантную активность. Вклад антоцианов в повышение антиоксидантной активности не отмечен. По хлебопекарным и органолептическим свойствам продукции фиолетовая пшеница не уступала, а в отдельных случаях была лучше контрольной линии. Установлено, что присутствие антоцианов увеличивает срок хранения хлебобулочных изделий и устойчивость их в провокационных условиях, способствующих развитию плесневых грибов. Полученные результаты в сочетании с известными данными о благотворном влиянии антоцианов на здоровье могут служить основанием для предложения включить продукцию из зерна пшеницы, окрашенного антоцианами, в перечень продуктов для диетического питания. Маркер-контролируемое создание и производство форм пшеницы с повышенным уровнем биофлавоноидов в зерне можно предложить как новое направление для расширения внутреннего и экспортного потенциала рынка зерна в связи с новыми возможностями получения продукции повышенной пищевой ценности.

Ключевые слова: антоцианы; биофлавоноиды; внутренний и экспортный потенциал; гены; ДНК-маркеры; зерно; маркер-ориентированная селекция; мягкая пшеница; хлеб; хлебопекарные свойства; пищевая ценность; функциональные продукты питания.

КАК ЦИТИРОВАТЬ ЭТУ СТАТЬЮ:

Хлесткина Е.К., Усенко Н.И., Гордеева Е.И., Стабровская О.И., Шарфунова И.Б., Отмахова Ю.С. Маркер-контролируемое получение и производство форм пшеницы с повышенным уровнем биофлавоноидов: оценка продукции для обоснования значимости направления. Вавиловский журнал генетики и селекции. 2017;21(5):545-553. DOI 10.18699/VJ17.25-o

HOW TO CITE THIS ARTICLE:

Khlestkina E.K., Usenko N.I., Gordeeva E.I., Stabrovskaya O.I., Sharfunova I.B., Otmakhova Y.S. Evaluation of wheat products with high flavonoid content: justification of importance of marker-assisted development and production of flavonoid-rich wheat cultivars. Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Seleksii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding. 2017;21(5):545-553. DOI 10.18699/VJ17.25-o (in Russian)

the products that had passed a full processing cycle, including baking at elevated temperature. For the extraction of anthocyanins conditions were simulated most similar to those in the process of digestion in the stomach, in order to assess the amount of assimilable anthocyanins. By our estimates one can get up to 1.03 mg of assimilable anthocyanins with 100 g of whole-grained bread produced from anthocyanin-colored grains. With 100 g of bran, the body will get up to 3.32 g of anthocyanins. In parallel with the evaluation of the anthocyanins content in all samples, the mass fraction of antioxidants was measured by using the amperometric method. The highest antioxidant capacity was shown for bran, while the least one was demonstrated for flour. Adding bran to the flour as well as the backing process increased the antioxidant capacity of wheat products. The contribution of anthocyanins to increased antioxidant capacity is not significant. It was shown that bread-making quality and organoleptic properties of bakery products made from anthocyanin-colored grains did not concede, or in some cases were higher than the corresponding properties of products obtained from control NIL grains. It was found that the presence of anthocyanin increases the shelf life of bakery products and their resistance to molding in provocative conditions. These results, combined with the known data about the beneficial health effects of anthocyanins, suggest that wheat bakery products made from anthocyanin-rich grains can be included to the list for dietary food. Marker-assisted selection accelerating the creation of new forms of crops with a high level of flavonoids can be proposed as a new direction for the expansion of domestic and export grain market potential due to the new possibilities of obtaining products of increased nutritional value and making a good profit.

Key words: anthocyanins; bioflavonoids; domestic and export potential; genes; DNA markers; grain; marker-assisted selection; common wheat; bread; baking properties; nutritional value; functional food.

В структуре мирового товарного предложения продовольственных товаров в современных условиях необходимо отметить появление широкой группы новых высокотехнологичных продуктов специализированного и функционального питания¹ с высокой долей добавленной стоимости. Мировой рынок функциональных продуктов интенсивно развивается, ежегодно увеличиваясь на 15–20 %, что отражает современный тренд – стремление населения к полезному и сбалансированному питанию. Составы продуктов функционального питания содержат повышенное (или резко сниженное) по сравнению с обычными пищевыми компонентами количество основных

питательных веществ, витаминов, энергодающих субстратов, антиоксидантов, адаптогенов. Их форма выпуска ориентирована на замену (или дополнение) традиционных продуктов или готовых блюд (Рынок функциональных продуктов питания, 2014). Одним из важнейших факторов, во многом определяющим возникновение новых точек роста в сфере функциональных продуктов питания, является наличие научно-технологических заделов.

На создание функциональных пищевых продуктов ориентировано такое актуальное направление селекции растений, как получение сортов с повышенным содержанием каротиноидов и флавоноидов (Ficco et al., 2014; Adzhieva et al., 2016).

Биофлавоноиды – растительные соединения фенольной природы, которые синтезируются в различных частях растений, в том числе в зерне злаков – в эндосперме, алевроновом слое, семенной коже и перикарпе (Ficco et al., 2014; Khlestkina et al., 2015). При употреблении в составе растительной пищи флавоноидные соединения

¹ Функциональный пищевой продукт – это продукт, предназначенный для систематического употребления в составе пищевых рационов всеми возрастными группами здорового населения, обладающий научно обоснованными и подтвержденными свойствами, снижающий риск развития заболеваний, связанных с питанием, предотвращающий или восполняющий имеющийся в организме человека дефицит пищевых веществ, сохраняющий и улучшающий здоровье за счет наличия в его составе функциональных пищевых ингредиентов (ГОСТ Р 52349-2005).

способны оказывать положительное действие на здоровье человека. Например, флавоноидные пигменты антоцианы благодаря супрессии генов, вовлеченных в синтез жирных кислот и триацилглицерола, а также ингибированию ферментов панкреатической амилазы и кишечной α -глюкозидазы, оказывают гипогликемический эффект (Tsuda et al., 2003; Tadera et al., 2006; Shobana et al., 2009). Антоцианы и другие флавоноиды могут быть полезны для профилактики целого ряда заболеваний, в том числе сердечно-сосудистых (Howard, Kritchevsky, 1997; Lila, 2004; Cassidy et al., 2011). Исследования показывают, что опрошенные лица, получившие информацию о положительном влиянии антоцианов на здоровье, проявляют заинтересованность в приобретении зерновых продуктов, содержащих антоцианы, по цене, превышающей таковую на аналогичные продукты, не имеющих в своем составе данных соединений (Bruschi et al., 2015).

В настоящее время в Государственном реестре не зарегистрированы сорта мягкой пшеницы, из зерна которых могут производиться продукты, содержащие антоцианы (<http://reestr.gossort.com/>; доступ 30.12.2016). Для ускоренного введения в современные сорта пшеницы генов, контролирующих антоциановую окраску перикарпа зерновки, известны диагностические ДНК-маркеры, с использованием которых можно вдвое ускорить процесс отбора по сравнению с отбором на основе оценки окраски зерна (Gordeeva et al., 2015). Тем не менее для обоснования значимости данного направления селекции мягкой пшеницы необходимы дополнительные исследования. Такая необходимость обусловлена тем, что наблюдается значительный разрыв между фундаментальными исследованиями роли флавоноидов и генетического контроля их синтеза у зерновых, с одной стороны, и собственно разработкой продукции из пшеницы с новыми свойствами и анализом пищевой ценности готовых для потребления хлебобулочных изделий, с другой. Это последнее звено всей исследовательской цепочки крайне важно для обоснования ценности получения и производства новых форм пшеницы, в частности сортов, в зерне которых содержатся антоцианы, как новой точки роста для расширения внутреннего и экспортного потенциала. Важной задачей являются разработка рецептур для расширения разнообразия пищевых продуктов, содержащих пигментированные отруби пшеницы, а также анализ устойчивости антоцианов к факторам технологической обработки, таким как длительность и температура выпечки.

Цель настоящего исследования – обоснование значимости маркер-контролируемого создания и производства форм пшеницы с повышенным уровнем биофлавоноидов для повышения пищевой ценности продукции, полученной из пшеницы с новыми свойствами, расширяющих возможности формирования внутреннего и экспортного потенциала российского рынка зерна.

В связи с этим в работе поставлены задачи: получение продукции из пшеницы, синтезирующей биофлавоноидные пигменты антоцианы; исследование хлебопекарных и органолептических свойств данной продукции; изучение устойчивости антоцианов к технологической обработке; анализ антиоксидантной активности в образцах, тестируемых на содержание антоцианов.

Материалы и методы

Растительный материал. Для точной сравнительной оценки использовали почти изогенные линии пшеницы с неокрашенным (*i:S29Pp-A1Pp-D1Pp3^P*) и окрашенным (фиолетовым) (*i:S29Pp-A1Pp-D1Pp3^P*) перикарпом зерновки, различающиеся небольшим участком хромосомы 2A (между маркерами *Xgwm339* и *Xgwm817*), содержащим ген-регулятор биосинтеза антоцианов *Pp3/TaMyc1* (Tereshchenko et al., 2012; Shoeva et al., 2014; Gordeeva et al., 2015). Следует отметить, что обе линии созданы на основе красnozерного сорта мягкой пшеницы Саратовская 29, т.е. содержат проантоцианидины в семенной коже. Далее в тексте статьи линии обозначены как красnozерная, КЗ (*i:S29Pp-A1Pp-D1Pp3^P*) и линия с фиолетовым зерном, ФЗ (*i:S29Pp-A1Pp-D1Pp3^P*). Линии яровой мягкой пшеницы КЗ и ФЗ выращивали в Новосибирской области на опытном участке селекционно-генетического комплекса ИЦиГ СО РАН (55°02' с. ш., 82°56' в. д.) летом 2016 г.

Оценка технологических свойств муки и качества конечных продуктов. При разработке продукции из пшеницы, синтезирующей биофлавоноидные пигменты антоцианы, была использована мука из зерна линий КЗ и ФЗ, а также отруби, полученные при помоле этих образцов зерна. Для сравнения в качестве контроля использовали пробу муки пшеничной хлебопекарной высшего сорта (ГОСТ Р 52189-2003).

Для оценки качества муки применяли стандартные методы (ГОСТ 27676-88; ГОСТ 27839-2013): влажность определяли ускоренным методом высушивания в сушильном шкафу, кислотность – методом кислотно-основного титрования водно-мучной болтушки; белизну – на приборе белизномере РЗ-ТБМС-М; число падения – на приборе ЧП-1; массовую долю сырой клейковины получали отмытием водой с последующим взвешиванием; качество сырой клейковины характеризовали по цвету, растяжимости, упруго-эластичным свойствам (на приборе ИДК-3М), и по ее гидратационной способности; газообразующую способность муки – волюмометрическим методом на приборе Яго-Островского.

Оценку свойств проводили как для свежесмолотой муки, полученной помолотом зерна линий КЗ и ФЗ, так и муки, подвергшейся созреванию в течение одного месяца, а также муки пшеничной хлебопекарной высшего сорта (ГОСТ Р 52189-2003).

Для оценки технологических свойств используемой муки и качества хлеба из нее применяли метод пробной лабораторной выпечки по методике (Пучкова, 2004). Тесто было приготовлено безопарным способом по рецептурам, разработанным в соответствии с целями исследований. Нормативные рецептуры продукции массового ассортимента и диетических изделий модифицировали путем использования муки, полученной помолотом зерна линий ФЗ и КЗ. В качестве диетического изделия выбраны пользующиеся спросом у потребителей хлебцы докторские с отрубями. Согласно рецептуре изготовления хлеба пшеничного, на 100 г муки использовали: дрожжей прессованных хлебопекарных – 3 г, соли поваренной пищевой – 1.5 г. Технологические параметры приготовления проб предусматривали продолжительность: брожения – 190 мин,

Table 1. Bakery products produced and examined in the current study

Product name	Flour			Bran	
	High quality flour, GOST 52189-2003	Flour from the control (red-grained) wheat line	Flour from the purple-grained line	Bran from the control (red-grained) wheat line	Bran from the purple-grained line
Bread I	–	+	–	–	–
Bread II	–	–	+	–	–
Bread III (Crispbread)	+	–	–	+	–
Bread IV (Crispbread)	+	–	–	–	+
Bread V (Crispbread)	–	+	–	+	–
Bread VI (Crispbread)	–	–	+	–	+

расстойки – 45 мин, выпечки формового хлеба – 25 мин, подового – 15 мин.

Хлебцы докторские изготавливали по рецептуре: мука пшеничная – 83 г; дрожжи прессованные хлебопекарные – 2.5 г; соль поваренная пищевая – 1.3 г; отруби – 17 г; сахар-песок – 5 г. Технологические параметры: продолжительность брожения – 190 мин, расстойки – 40 мин, выпечки – 20 мин. Варианты изделий перечислены в табл. 1.

Для объективной оценки органолептических показателей качества полученных изделий использован метод 20-балльной оценки (Романов и др., 2014), включающий оценку таких показателей, как состояние поверхности, цвет корки, состояние мякиша, цвет мякиша, характер пористости, вкус, запах, разжевываемость.

Анализ содержания антоцианов и массовой доли антиоксидантов проводили в муке, отрубях, смесях муки и отрубей (в такой же пропорции, как для приготовления теста) и готовых изделий (в подсушенном виде). При интерпретации результатов в расчет брали соотношения массы муки с отрубями, готового изделия и подсушенного изделия (для хлеба – 1 : 1.45 : 0.95; хлебцев докторских – 1 : 1.4 : 1.04 соответственно). Для приготовления экстрактов каждый образец изделий был приготовлен в трех повторностях, а для каждой повторности проведено три последовательных измерения. Для анализа использовали среднее значение из трех последовательных измерений. Значимость различий между образцами по изученным параметрам оценивали с помощью критерия Манна–Уитни.

Экстракты получали путем добавления к 1 г измельченного образца 10 мл 1 % водного раствора HCl, перемешивания и инкубации в течение одного часа при 37 °C (для моделирования условий, приближенных к таковым при усвоении пищи в желудочно-кишечном тракте (ЖКТ)). Для анализа использовали супернатант, полученный путем центрифугирования в течение 15 мин при 4 °C на скорости 5000 об/мин. Содержание антоцианов оценивали при использовании спектрофотометра SmartSpec™ Plus (BioRad, www.bio-rad.com). Перерасчет из OD530-700 в массовую концентрацию осуществляли по методу, описанному ранее (Abdel-Aal, Hucl, 1999) с использованием цианидин-3-глюкозида в качестве стандарта. Оценку антиоксидантной активности проводили с использованием анализатора антиоксидантной активности Близар (Интерлаб, Россия), согласно инструкции производителя. В качестве стандартного вещества использовали галловую кислоту (мг/л).

Результаты

Анализ показателей, характеризующих технологические и хлебопекарные свойства муки, позволил установить, что основные свойства муки в процессе хранения существенно не изменились. Результаты определения показателей качества муки представлены в табл. 2.

Массовая доля сырой клейковины муки из зерна линий КЗ и ФЗ практически была одинаковой и очень высокой, что считается определяющим фактором в оценке хлебопекарных свойств исследуемой муки.

В то же время клейковина по качеству была слабой и длинной по растяжимости, но имела хорошую гидратационную способность.

На основании показателя «число падения» выявлены низкая автолитическая активность муки из зерна линий КЗ и ФЗ и пониженная газообразующая способность, что может быть обусловлено низкой активностью ее собственных ферментов и/или состоянием крахмала.

Комплексный анализ свойств муки позволил прогнозировать хорошее качество хлебобулочных изделий, но окончательное подтверждение было получено на основе показателей качества изделий после проведения пробных выпечек и подбора рецептов. Для отрубей из зерна линий КЗ и ФЗ были определены их влажность и кислотность. Влажность отрубей составляла в среднем 15.5 % для обеих проб и снизилась при хранении в течение месяца на 2 %. Кислотность пробы отрубей из зерна линии КЗ составляла в среднем 10 градусов, а из зерна линии ФЗ – 15.5 градусов. В процессе хранения (один месяц) кислотность отрубей из зерна обеих линий практически не менялась.

В процессе пробной выпечки изготовлено и проанализировано два варианта хлеба пшеничного и четыре варианта хлебцев докторских (см. табл. 1).

Результаты определения показателей качества теста и готовых изделий приведены в табл. 3. Органолептический анализ выполнен по методу 20-балльной оценки на основе следующих показателей: форма и состояние поверхности, цвет корки, характер пористости, цвет мякиша, состояние мякиша, запах, разжевываемость.

Окраска мякиша изделий из зерна линии ФЗ имела фиолетовый оттенок. В мякише наблюдались темные вкрапления частиц отрубей (рис. 1). Используемый метод 20-балльной оценки предназначен для изделий из пшеничной муки высшего и первого сорта, которая не содержит окрашенных частиц, полученная балльная оценка проб из зерна линии ФЗ с отрубями была меньше таковой для зер-

Table 2. Quality parameters of flour samples assessed by standard methods (GOST 27676-88, GOST 27839-2013)

Parameters	High quality flour, GOST 52189-2003	Flour from the control (red-grained) wheat line		Flour from the purple-grained line	
		fresh	1-month old	fresh	1-month old
Moisture, %	13.0	15.4	13.6	14.9	12.0
Acidity, degree	3.0	4.3	4.4	4.7	4.9
Whiteness, scale units	56	33	33	27	27
Falling Number, seconds	185	402	400	386	408
Wet gluten content, %	33	48	48	47	51
Wet gluten indices:					
Color of wet gluten	light	light	light beige	light beige	light beige
Extensibility, cm	15	21	21	25	26
Gluten deformation, scale units	85	110	105	106	100
Group	2 (satisfactory, weak)	3 (poor, weak)	3 (poor, weak)	3 (poor, weak)	2 (satisfactory, weak)
Hydration capacity, %	179	186	175	171	186
Gas-producing power, mL/100g	1360	980	970	–	–

Table 3. Quality indices of dough and bakery products

Parameters	Bread without bran		Bread with bran (BB)			
	Bread I	Bread II	Bread III	Bread IV	Bread V	Bread VI****
Dough humidity, %	45.2	45.2	40.4	41.8	41.2	40.4
Final acidity, degree	3.2	3.4	4.6	5.0	4.6	4.8
Fermentation, min	6	5	3	2	3	2
Shape stability, H:D*	0.32	0.33	0.40	0.41	0.35	0.48
Score**	15.5	16.0	18.0	17.5	18.5	17.5
Score***	15.1	15.7	16.4	16.7	16.4	16.9

* H:D, loaf height to diameter ratio.

** 20-point scale.

*** 20-point scale without considering the crumb color.

**** For description of Bread I...VI, see Table 1.

на линии КЗ в связи с влиянием отрубей на цвет мякиша. Поэтому была выполнена оценка качества продукции без учета цвета мякиша. В результате балльная оценка проб изделий без учета цвета мякиша у проб из зерна линии ФЗ была выше, чем у проб из зерна линии КЗ (см. табл. 3).

Важным потребительским свойством изделий является их устойчивость к заболеваниям в процессе хранения. Изделия после выпечки и охлаждения помещали в провокационные условия, способствующие развитию плесневых грибов и прорастанию спор картофельной палочки. Первые признаки плесневения у пробы из изделия «Хлеб/КЗ-мука» выявлены через 48 ч хранения, а у пробы из изделия «Хлеб/ФЗ-мука» они не появились в течение всего срока годности (72 ч). Через 168 ч хранения у пробы из изделия «Хлеб/КЗ-мука» появились признаки картофельной болезни, которых у изделия «Хлеб/ФЗ-мука» обнару-

жено не было. Признаки заболеваний у проб продукции с отрубями (хлебцы докторские из муки и отрубей обеих линий КЗ и ФЗ) в течение срока годности (48 ч) не выявлены.

Результаты оценки содержания антоцианов в муке, отрубях, смесях муки и отрубей и готовых изделиях представлены на рис. 2.

Наиболее высокое содержание антоцианов, как и следовало ожидать, наблюдается в отрубях линии ФЗ – 33.2 мг/кг. В отрубях линии КЗ их примерно в 4 раза меньше. Наименьшее содержание наблюдается в муке высшего сорта (ГОСТ 52189-2003) – 0.86 мг/кг. Доля антоцианов в муке, полученной из зерна линий КЗ и ФЗ, в 4 и 5 раз выше, чем в муке высшего сорта (видимо, за счет попадания частиц отрубей при помол). Добавление отрубей из зерна линии ФЗ в муку (в такой же пропорции, как для

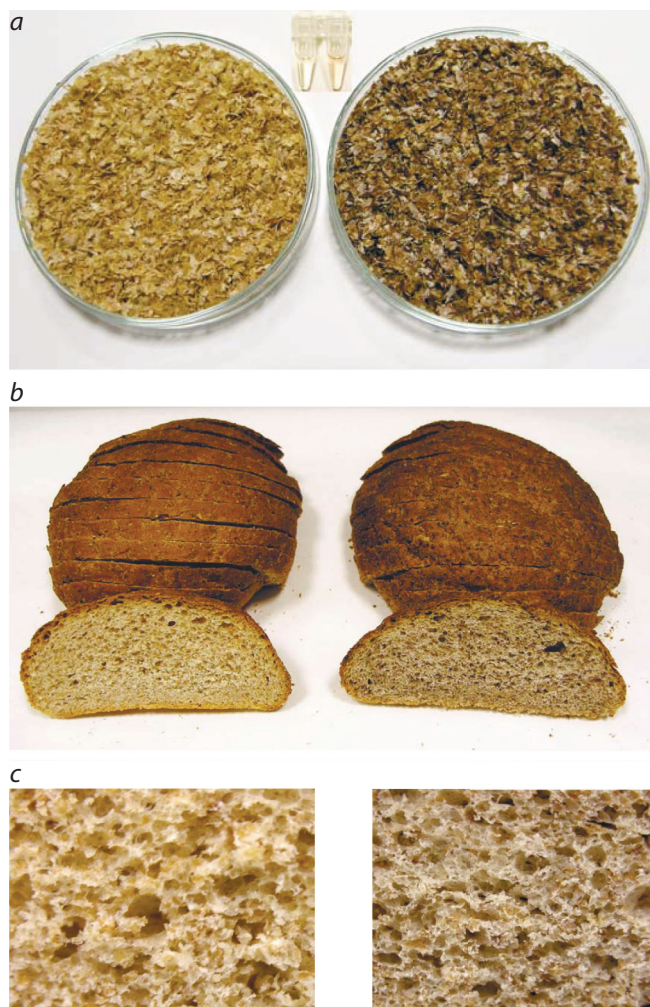


Fig. 1. (a) Bran and samples of extracts from bran, (b) bakery products "Bread III" (left) and "Bread IV" (right), (c) crumbs of these products.

Left column: bran and products from the control (red-grained) wheat line; right column, from the purple-grained line.

приготовления теста) существенно повышает содержание антоцианов: в 9 раз при добавлении отрубей линии ФЗ к муке высшего сорта и в 2.5 раза при добавлении отрубей ФЗ к муке этой же линии. Добавление отрубей линии КЗ к муке высшего сорта повышает содержание антоцианов в 4 раза, а при добавлении их к муке этой же линии увеличивается содержание антоцианов в 1.3 раза.

Исходя из соотношения массы муки с отрубями и подсушенного готового изделия 1 : 0.95 ожидалось, что содержание антоцианов в подсушенном изделии «Хлеб/ФЗ-мука» составит 3.94 мг/кг. Наблюдаемая величина 3.86 сходна с ожидаемой, что говорит о незначительном влиянии технологического процесса приготовления хлеба из зерна линии ФЗ на сохранность антоцианов. В случае линии КЗ наблюдалось разрушение антоцианов до 1.33 мг/кг против ожидаемых 3.23 мг/кг.

С учетом соотношения массы муки с отрубями и подсушенного готового изделия 1 : 1.04 (в случае хлебцев докторских) выявлено, что в изделиях «Хлебцы/ГОСТ-мука + КЗ-отр», «Хлебцы/ГОСТ-мука + ФЗ-отр» и «Хлебцы/КЗ-мука + КЗ-отр» технологическая обработка не имеет отрицательного действия на сохранность антоцианов, в одном варианте хлебцев докторских («Хлебцы/ФЗ-мука + ФЗ-отр») наблюдалось снижение до 7.67 мг/кг против ожидаемых 10.67 мг/кг. В целом установлено, что во всех изделиях из отрубей и муки линии ФЗ содержание антоцианов существенно превышало таковое для соответствующих изделий из зерна линии КЗ, это свидетельствует об устойчивости антоцианов к факторам технологической обработки.

Результаты оценки содержания антиоксидантов в муке, отрубях, смесях муки и отрубей и готовых изделиях представлены на рис. 3. Наиболее высокой массовой долей антиоксидантных соединений отличаются отруби, наименьшей – мука. Добавление отрубей к муке, а также процесс технологической обработки повышают антиоксидантную активность. Вклад антоцианов в увеличение антиоксидантной активности не отмечен.

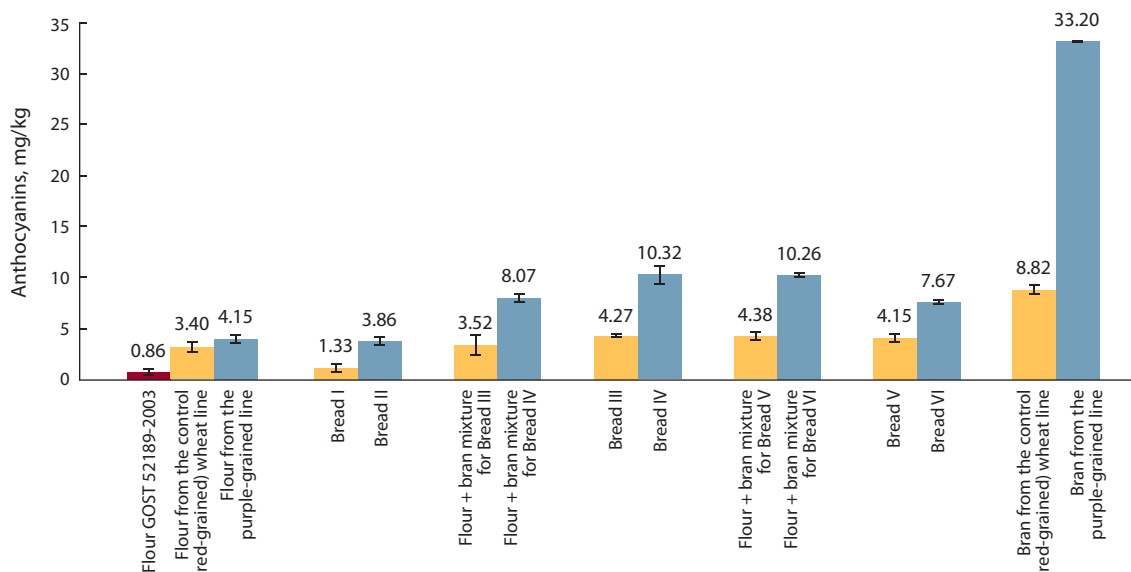


Fig. 2. Anthocyanin contents (expressed as mg cyanidin-3-glucoside/kg) in flour, bran, mixtures of flour and bran, and dried bakery products. For description of Bread I...VI, see Table 1.

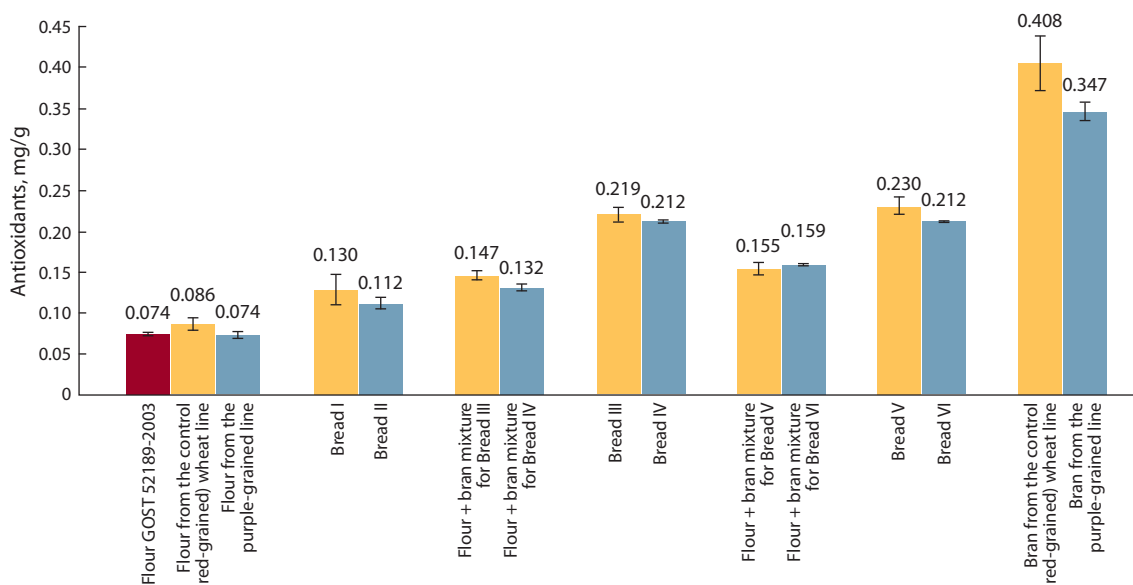


Fig. 3. Antioxidant contents expressed as mg gallic acid/g in flour, bran, mixtures of flour and bran, and bakery products. For description of Bread I...VI, see Table 1.

Обсуждение

В работе проведены изготовление и оценка продукции из зерна, содержащего биофлавоноидные пигменты антоцианы. Для исследования вклада именно этой биохимической компоненты зерна в свойства конечной продукции была существенна информация о генетических различиях исследуемых линий, и важно, чтобы эти различия были минимизированы и включали только разные варианты генов, контролирующих синтез антоцианов. У пшеницы в эндосперме накапливаются неокрашенные флавоноидные соединения, тогда как в алейроновом слое, семенной кожуре и перикарпе встречаются флавоноидные пигменты – антоцианы и проантоцианидины (Adzhieva et al., 2016). Краснозерные сорта пшеницы – результат отбора генотипов, несущих гены *R-1*, контролирующие синтез проантоцианидинов в семенной кожуре. Синтез антоцианов в алейроновом слое (ген *Ba*) и перикарпе (гены *Pp3* и *Pp-1*) обеспечивает голубую и фиолетовую окраску зерна соответственно (Khlestkina et al., 2015).

В нашем исследовании для сравнительной оценки использованы почти изогенные линии пшеницы, различающиеся лишь небольшим участком хромосомы 2A, содержащим ген-регулятор биосинтеза антоцианов *Pp3/TaMycl* (Tereshchenko et al., 2012; Shoeva et al., 2014; Gordееva et al., 2015). Известно, что комплекс технологических свойств зерна, муки, теста и конечных продуктов контролируется десятками генетических локусов на различных хромосомах пшеницы, из них только два относятся к хромосоме 2A (Хлесткина и др., 2016), но по своей локализации они не совпадают с участком, по которому отличаются тестируемые нами линии (Gordееva et al., 2015), поэтому можно полагать, что наблюдаемые в настоящей работе различия между двумя линиями пшеницы связаны именно с последствиями действия гена *Pp3* и синтезом антоцианов.

Специфика локализации пигментов в зерновке (Adzhieva et al., 2016) подразумевает, что обогащенные биофла-

воноидами функциональные пищевые продукты из зерна пшеницы – это, в первую очередь, продукты, полученные из отрубей или с добавлением отрубей. При выборе рецептуры изделий из пшеницы, зерно которой содержит антоцианы, нужно учитывать, что они синтезируются в оболочках, т.е. остаются в отрубях при помоле зерна. Следовательно, отруби, содержащие антоцианы, потенциально влияют на потребительские свойства изделий, их биологическую и пищевую ценность и рекомендуются к использованию для производства изделий специального и диетического назначения. С учетом хлебопекарных свойств исследуемой муки для обеспечения более высоких потребительских свойств предпочтительно применять ее для изготовления булочных изделий, в рецептуру которых включен сахар.

В результате проведенного исследования выявлены значительные отличия продуктов, произведенных из двух линий пшеницы, по содержанию антоцианов. При этом отличия были как в продуктах, подвергшихся минимальной обработке (отруби) (см. рис. 2), так и в готовых изделиях, которые прошли цикл технологической обработки, включая выпечку при повышенной температуре. Во всех случаях продукты из фиолетового зерна (линия ФЗ) давали значительно более высокие показатели, чем соответствующие изделия из красного зерна (линия КЗ) (см. рис. 2). При этом важно отметить, что по остальным критериям, предъявляемым к хлебу и хлебопродуктам при оценке качества, продукция из зерна линии ФЗ не уступала, а в отдельных случаях превышала соответствующие параметры изделий из зерна линии КЗ (см. табл. 2).

Выявленная нами массовая доля антоцианов в отрубях линии ФЗ (см. рис. 2) ниже в 2–7.5 раза, чем показано в работах E.S. Abdel-Aal, P. Hucl (1999) и E. Ivanišová с коллегами (2014), которые использовали спиртовые растворители для экстракции антоцианов из отрубей фиолетового зерна. Применяемый нами способ экстракции антоцианов менее эффективен, но он моделирует условия, наиболее

близкие к таковым в процессе усвоения пищи в ЖКТ. Проведенная таким образом оценка количества доступных при употреблении в пищу антоцианов показала, что при приеме 100 г хлебцев докторских, изготовленных из муки с добавлением отрубей фиолетового зерна пшеницы, употребление антоцианов достигает 1.03 мг. В составе 100 г отрубей организм получит до 3.32 г антоцианов (см. рис. 2).

Повышенное содержание доступных антоцианов, их устойчивость к технологической обработке в сочетании с известными данными об их благотворном влиянии на здоровье могут служить основанием для включения продукции из зерна пшеницы, окрашенного антоцианами, в перечень продуктов для диетического питания. Выявленная нами устойчивость изделий из окрашенного зерна к хранению также повышает привлекательность развития данного направления.

Роль биофлавоноидов для профилактики ряда заболеваний связывают с тем, что данные соединения способны участвовать в регуляции генов и передаче клеточных сигналов, могут воздействовать на клеточные рецепторы и белки острой фазы, ингибировать действие ферментов, оказывать гипогликемический эффект, укреплять кровеносные сосуды (Tsuda et al., 2003; Lila, 2004; Williams et al., 2004; Aggarwal, Shishodia, 2006; Tadera et al., 2006; Virgili, Marino, 2008; Shobana et al., 2009; Nile, Park, 2014). Среди свойств антоцианов нередко упоминается и антиоксидантная активность, однако в настоящей работе вклад антоцианов в повышение антиоксидантной активности не отмечен (см. рис. 3).

Несмотря на то что содержание антоцианов в фиолетовом зерне ниже, чем в темно-окрашенных плодах и ягодах (de Pascual-Teresa et al., 2010), использование именно зерновых как источника этих соединений привлекательно в связи с возможностью продолжительного хранения зерна, большей доступностью и повседневным употреблением в пищу зерновых продуктов по сравнению с плодами и ягодами.

Маркер-контролируемое получение и производство форм пшеницы с повышенным уровнем биофлавоноидов в зерне можно предложить как новое направление для расширения внутреннего и экспортного потенциала рынка зерна в связи с новыми возможностями получения продукции повышенной пищевой ценности. На внутреннем рынке России в условиях увеличения доли зерна с более низкими качественными показателями отмечается тенденция роста применения пищевых добавок и улучшителей в качестве корректоров хлебопекарных свойств муки, что зачастую приводит к потере традиционного вкуса хлеба и снижению его пищевой ценности (Усенко и др., 2016). Как показывают результаты данного исследования, расшифровка геномов растений и современные биотехнологические подходы открывают новые перспективы получения традиционных и новых продуктов повышенной ценности с высокими сроками хранения без применения химических добавок и улучшителей. Использование данных разработок сельхозпредприятиями и агрохолдингами может способствовать позитивным структурным изменениям на рынке продовольственного зерна. С точки зрения экспортного потенциала расширение экспортной номенклатуры

имеет особую значимость в условиях реализации задачи по повышению доходности от российского экспорта зерна. Россия в основном поставляет в другие страны пшеницу четвертого класса, представляющую собой продовольственную пшеницу средних кондиций (Россия продает больше зерна..., 2015), обеспечивая посредством экспорта пшеницы снабжение в массовых объемах по приемлемой цене развивающиеся страны Северной Африки и Ближнего Востока. Однако высокие урожаи, большие запасы и высокая конкуренция среди экспортеров на мировом рынке зерна пшеницы влияют на движение цен в сторону их понижения, обуславливают уменьшение относительного дохода от экспорта пшеницы. При этом конъюнктура мирового рынка сельскохозяйственного сырья отличается нестабильностью и непредсказуемостью кратко- и среднесрочных изменений. Кроме того, изменение образа жизни и структуры питания в развивающихся странах, и прежде всего переход от режима питания с преобладанием зерновых к более разнообразному рациону, приводит к изменению номенклатуры торговли, поскольку мировое потребление тяготеет к продукции с добавленной стоимостью, включая продукты, прошедшие технологическую обработку, а доля развивающихся стран в мировом потреблении растет. Поэтому в интересах обеспечения роста доходов от экспорта и формирования новых конкурентных преимуществ перспективно развитие и внедрение новых научно-технических решений, позволяющих осуществить изменение структуры экспорта в сторону продуктов переработки зерна пшеницы с новыми свойствами, позволяющими создавать продукцию, имеющую повышенную пищевую ценность и более высокий уровень добавленной стоимости.

Acknowledgments

This study was supported by the Russian Foundation for Basic Research, project 16-29-12877. Acquisition of the plant material was supported by State Budgeted Project 0324-2016-0001.

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

References

- Abdel-Aal E.S., Hucl P. A rapid method for quantifying total anthocyanins in blue aleurone and purple pericarp wheats. *Cereal Chem.* 1999;76(3):350-354. DOI 10.1094/CCHEM.1999.76.3.350.
- Adzhieva V.F., Babak O.G., Shoeva O.Y., Kilchevsky A.V., Khlestkina E.K. Molecular genetic mechanisms of the development of fruit and seed coloration in plants. *Russ. J. Genet. Appl. Res.* 2016;6(5): 537-552. DOI 10.1134/S2079059716050026.
- Aggarwal B.B., Shishodia S. Molecular targets of dietary agents for prevention and therapy of cancer. *Biochem. Pharmacol.* 2006;71(10): 1397-1421. DOI 10.1016/j.bcp.2006.02.009.
- Bruschi V., Teuber R., Dolgoplova I. Acceptance and willingness to pay for health-enhancing bakery products – Empirical evidence for young urban Russian consumers. *Food Quality and Preference.* 2015;46:79-91. DOI 10.1016/j.foodqual.2015.07.008.
- Cassidy A., O'Reilly E.J., Kay C., Sampson L., Franz M., Forman J.P., Curhan G., Rimm E.B. Habitual intake of flavonoid subclasses and incident hypertension in adults. *Am. J. Clin. Nutr.* 2011;93(2):338-347. DOI 10.3945/ajcn.110.006783.
- de Pascual-Teresa S., Moreno D.A., Garcia-Viguera C. Flavonols and anthocyanins in cardiovascular health: a review of current evidence. *Int. J. Mol. Sci.* 2010;11(4):1679-1703. DOI 10.3390/ijms11041679.

- Ficco D.B.M., de Simone V., Colecchia S.A., Pecorella I., Platani C., Nigro F., Finocchiaro F., Papa R., de Vita P. Genetic variability in anthocyanin composition and nutritional properties of blue, purple, and red bread (*Triticum aestivum* L.) and durum (*Triticum turgidum* L. ssp. *turgidum* convar. *durum*) wheats. J. Agric. Food Chem. 2014;62(34):8686-8695. DOI 10.1021/jf5003683.
- Gordeeva E.I., Shoeva O.Y., Khlestkina E.K. Marker-assisted development of bread wheat near-isogenic lines carrying various combinations of *Pp* (purple pericarp) alleles. Euphytica. 2015;203:469-476. DOI 10.1007/s10681-014-1317-8.
- GOST R 52189-2003. Muka pshenichnaya. Obshchie tekhnicheskie usloviya [State Standard R 52189-2003. Flour. General specifications]. Moscow: Standartinform Publ., 2008. (in Russian)
- GOST R 52349-2005. Produkty pishchevye. Produkty pishchevye funktsionalnye. Terminy i opredeleniya [State Standart R 52349-2005. Foodstuffs. Functional foods. Terms and definitions]. Moscow: Standartinform Publ., 2008. (in Russian)
- GOST 27676-88. Zerno i produkty ego pererabotki. Metod opredeleniya chisla padeniya [State Standart 27676-88. Cereals and cereal milled products. Method for determination of falling number]. Moscow: Standartinform Publ., 2009. (in Russian)
- GOST 27839-2013. Muka pshenichnaya. Metody opredeleniya kolichestva i kachestva kleykoviny [State Standart 27839-2013. Wheat flour. Methods of determination of gluten quantity and quality]. Moscow: Standartinform Publ., 2014. (in Russian)
- Howard B.V., Kritchevsky D. Phytochemicals and cardiovascular disease a statement for healthcare professionals from the American heart association. Circulation. 1997;95(11):2591-2593. DOI 10.1161/01.CIR.95.11.2591.
- Ivanišová E., Ondrejovič M., Chmelova D., Maliar T., Havrlentova M., Rückschloss L. Antioxidant activity and polyphenol content in milling fractions of purple wheat. Cereal Res. Commun. 2014;42(4):578-588. DOI 10.1556/CRC.2014.0008.
- Khlestkina E.K., Pshenichnikova T.A., Usenko N.I., Otmakhova Yu.S. Prospective applications of molecular genetic approaches to control technological properties of wheat grain in the context of the "grain-flour-bread" chain. Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selekcii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding. 2016;20(4):511-527. DOI 10.18699/VJ15.140. (in Russian)
- Khlestkina E.K., Shoeva O.Y., Gordeeva E.I. Flavonoid biosynthesis genes in wheat. Russ. J. Genet. Appl. Res. 2015;5(3):268-278. DOI 10.1134/S2079059715030077.
- Lila M.A. Anthocyanins and human health: an in vitro investigative approach. J. Biomed. Biotechnol. 2004;2004(5):306-313. DOI 10.1155/S111072430440401X.
- Nile S.H., Park S.W. Edible berries: Bioactive components and their effect on human health. Nutrition. 2014;30(2):134-144. DOI 10.1016/j.nut.2013.04.007.
- Puchkova L.I. Laboratornyy praktikum po tekhnologii khlebopekarnogo proizvodstva [Laboratory manual on baking technology]. St. Petersburg: GIOR Publ., 2004. (in Russian)
- Romanov A.S., Davydenko N.A., Shatnyuk L.N., Matveeva I.V., Poznyakovskiy V.M. Ekspertiza khleba i khlebobulochnykh izdeliy. Kachestvo i bezopasnost: uchebnoe posobie [Examination of bread and bakery products: quality and safety, a textbook]. Ed. by V.M. Poznyakovskiy. Saratov: Vuzovskoe obrazovanie Publ., 2014. (in Russian)
- Rossiya prodada bolshe zerna, chem oruzhiya (2015) [Russia sells more grains than weapons (2015)]. Available at: <http://www.pravda.ru/economics/agriculture/farming/14-10-2015/1277717-grain-0/> (in Russian)
- Rynok funktsional'nykh produktov pitaniya (2014) [The functional food market (2014)]. Available at <http://sfera.fm/articles/rynok-funktsionalnykh-produktov-pitaniya> (in Russian)
- Shobana S., Sreerama Y.N., Malleshi N.G. Composition and enzyme inhibitory properties of finger millet (*Eleusine coracana* L.) seed coat phenolics: Mode of inhibition of α -glucosidase and pancreatic amylase. Food Chem. 2009;115(4):1268-1273. DOI 10.1016/j.foodchem.2009.01.042.
- Shoeva O.Y., Khlestkina E.K., Berges H., Salina E.A. The homoeologous genes encoding chalcone-flavanone isomerase in *Triticum aestivum* L.: Structural characterization and expression in different parts of wheat plant. Gene. 2014;538(2):334-341.
- Tadera K., Minami Y., Takamatsu K., Matsuoka T. Inhibition of α -glucosidase and α -amylase by flavonoids. J. Nutr. Sci. Vitaminol. 2006;52(2):149-153. DOI 10.3177/jnsv.52.149.
- Tereshchenko O., Gordeeva E., Arbuzova V., Börner A., Khlestkina E. The D genome carries a gene determining purple grain colour in wheat. Cereal Res. Commun. 2012;40(3):334-341. DOI 10.1556/CRC.40.2012.3.2.
- Tsuda T., Horio F., Uchida K., Aoki H., Osawa T. Dietary cyanidin 3-O- β -D-glucoside-rich purple corn color prevents obesity and ameliorates hyperglycemia in mice. J. Nutr. 2003;133(7):2125-2130.
- Usenko N.I., Poznyakovskiy V.M., Otmakhova Y.S. Structural and qualitative transformations in the bread market (analysis of the current state and development problems). EKO (Vserossiyskiy ekonomicheskii zhurnal) = ECO Journal (Novosibirsk). 2016;1:109-124. (in Russian)
- Virgili F., Marino M. Regulation of cellular signals from nutritional molecules: a specific role for phytochemicals, beyond antioxidant activity. Free Radic. Biol. Med. 2008;45(9):1205-1216. DOI 10.1016/j.freeradbiomed.2008.08.001.
- Williams R.J., Spencer J.P., Rice-Evans C. Flavonoids: antioxidants or signalling molecules? Free Radic. Biol. Med. 2004;36(7):838-849. DOI 10.1016/j.freeradbiomed.2004.01.001.