ВЛИЯНИЕ ЭКСТРУЗИОННОЙ ОБРАБОТКИ НА ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ЗЕРНОВЫХ КУЛЬТУР И ПЕРЕВАРИМОСТЬ КРАХМАЛА *IN VITRO*

ВВЕДЕНИЕ

Крахмал, являющийся основным компонентом зерновых культур, играет важную роль в обеспечении человека и животных необходимой энергией. На его роль в поддержании здоровья в целом существенно влияет кинетика его переваривания и прохождение по желудочно-кишечному тракту. Таким образом, в зависимости от скорости переваривания и объема ферментов крахмал может быть разделен на быстро перевариваемый (RDS), медленно перевариваемый (SDS) и устойчивый/резистентный (RS). От степени переваривания крахмала может зависеть распределение энергии, а также метаболизм белков и липидов.

По данным ряда исследований, глюкоза, высвобождающаяся при гидролизе быстро перевариваемого крахмала, всасывается в проксимальной части тонкой кишки, что приводит к недостаточному снабжению глюкозой дистальной части. Поэтому клетки слизистой, расположенные в нижнем отделе тонкой кишки, вынуждены перерабатывать аминокислоты для удовлетворения своих энергетических потребностей. Напротив, при гидролизе медленно перевариваемого крахмала в дистальную часть тонкой кишки поступает большее количество глюкозы, что приводит к ослаблению распада аминокислот в слизистой оболочке кишечника. Помимо прочего, RDS потенциально может привести к быстрому гликемическому ответу и значительным постпрандиальным колебаниям уровня глюкозы, в то время как SDS способен поддерживать умеренный постпрандиальный уровень глюкозы в крови. Устойчивый крахмал трудно переваривается в верхних отделах пищеварительной системы и, направляясь в толстую кишку, подвергается ферментации бактериями кишечника, в результате чего образуются короткоцепочечные жирные кислоты (short-chain fatty acids), способствующие поддержанию здоровья кишечника.

На кинетику переваривания крахмала могут оказывать влияние структурные свойства пищевой матрицы и самого крахмала, включая ближний порядок, кристаллическую и молекулярную структуру (размер и количество амилозы и амилопектина, тонкую структуру амилопектина), морфологию и особенности поверхности (размер и форму, наличие пор и каналов). Медленный и ограниченный процесс амилолиза объясняется плотной зернистой структурой и высокой кристалличностью частиц нативного крахмала. Это затрудняет своевременное высвобождение питательных веществ из сырого крахмала в организме человека и животных, что приводит к замедленному гликемическому ответу и проблемам в поддержании уровня необходимых для организма питательных веществ.

Различные физические, химические и ферментативные методы могут быть использованы для того, чтобы преодолеть перечисленные выше негативные моменты и привнести изменения в структуру крахмала. Экструзия — широко применяемый механический процесс в пищевой и кормовой промышленности, направленный на повышение скорости переваривания крахмала. Исследования показали, что включение в рацион экструдированных зерновых культур, таких как кукуруза и дробленый рис, значительно повышает переваримость питательных веществ и потребление корма поросятами. Однако полная замена в рационе растущих свиней кукурузы на экструдированную увеличивает уровень обменной энергии, одновременно снижая усвоение протеина на 17,9% и эффективность использования энергии на 1%. Это указывает на наличие порогового значения потребления глюкозы, за которым нарушается баланс между обеспечением питательными веществами и потребностью в них. Хотя процесс экструзии повышает переваримость крахмала и скорость высвобождения питательных веществ, чрезмерное использование экструдированного зерна может нарушить баланс углерода и азота на уровне высвобождения питательных веществ, а также баланс между аминокислотами и глюкозой на уровне их до-

По материалам www.researchgate.net/publication/385530924: «Understanding the Impact of Extrusion Treatment on Cereals: Insights from Alterations in Starch Physicochemical Properties and In Vitro Digestion Kinetics», авторы: Yufei Zhao, Xiuquan Dang, Honglin Du, Dapeng Wang, Jiaxuan Zhang, Rujie Liu, Zhenying Ge, Zewei Sun and Qingzhen Zhong.

ставки и всасывания. И наоборот, излишнее переваривание крахмала в желудке и тонком кишечнике может затруднять доставку достаточного количества растворимых углеводов в толстый кишечник, тем самым нанося ущерб здоровью и препятствуя оптимальному использованию энергии за счет изменений в составе и среде обитания микробиоты толстого кишечника. Также установлено, что регулированием динамики высвобождения глюкозы из рациона возможно улучшить показатели роста, эффективность использования азота (5,3%) и усвоение белка (8,4%) у свиней. Получены доказательства того, что оптимальная схема высвобождения глюкозы из рациона может оптимизировать распределение аминокислот в воротной вене поросят, тем самым значительно улучшая усвоение ими белка из рациона.

Таким образом, основываясь на результатах предыдущего исследования динамики переваривания крахмала различных зерновых культур, для данного исследования были выбраны кукуруза, пшеница и дробленый рис, широко используемые в кормлении животных. Эти культуры имеют различные показатели динамики переваривания крахмала, что позволяет объективнее изучить влияние обработки зерна методом экструзии на физико-химические свойства, кинетику переваривания крахмала и прогнозируемый гликемический индекс. Кроме того, была проанализирована взаимосвязь между динамикой переваривания крахмала и физико-химическими свойствами зерна, что может создать предпосылки для оптимизации процесса экструзии зерна и научно обоснованного применения этого зерна в рационах домашнего скота и птицы.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалы

Кукуруза была приобретена у Yufeng Feed Co. (Acheng, Китай) и экструдирована с помощью двухшнекового экструдера (Daze, EXT200, Chengdu, Китай) с диаметром шнека 197 мм и длиной 212 мм. Скорость подачи сырья и скорость вращения шнека были установлены на уровне 2000 кг/ч$^{-1}$ и 500 об/мин, соответственно. Температура экструзии составляла 140°C, влажность сырья — 15%.

Пшеница и дробленый рис были приобретены у компании Henan Shennong Extrude Feed Technology Co. (Чжэнчжоу, Китай). Использовался двухшнековый экструдер (Duole, EXP160, Чжэнчжоу, Китай) с диаметром шнека 160 мм и длиной 1200 мм, скорость вращения шнека составляла 550 об/мин. Скорость подачи пшеницы — 1161 кг/ч$^{-1}$, температура экструзии — 130°C, влажность сырья — 15%. Скорость подачи дробленого риса — 1338,6 кг/ч$^{-1}$, температура экструзии — 140°C, влажность сырья — 16%. После экструзии зерно сушили на воздухе при температуре 25°C в течение 24 ч.

Из экструдированного и неэкструдированного зерна методом случайной выборки отбирали три образца и измельчали с применением сита №60,0 для последующего анализа (тесты были проведены трижды). Чтобы исключить влияние происхождения зерна на результаты теста, его использовали из одной партии одного происхождения. В то же время, чтобы повысить репрезентативность образцов, в качестве объекта исследования было выбрано зерно нового урожая 2023 г., закупленное оптом на типовых экструзионных предприятиях.

Сканирующая электронная микроскопия (СЭМ)

Образцы хлопьев были закреплены на круглой пластине с помощью двусторонней армированной клейкой ленты, а затем покрыты золотым напылением. Это позволило провести исследования микроструктуры на сканирующем электронном микроскопе (Zeiss Gemini SEM500, Оберкохен, Германия) при напряжении 2 кВ.

ИК-спектроскопия с преобразованием Фурье (ИК-Фурье)

Для получения ИК-спектра частиц образцов зерна применяли ИК-спектрометр с преобразованием Фурье (ALPHA II, Bruker, Германия). Измерения проводили в диапазоне длин волн от 400 до 4000 см$^{-1}$. Для анализа данных использовали специализированное программное обеспечение OMNIC 8.2 (Thermo Electron Corporation, Madison, WI, США). Спектры подвергались коррекции базовой линии при 1200 и 800 см$^{-1}$ с помощью прямой линии, после чего проводилась их деконволюция. Для деконволюционных спектров было получено значение интегральных показателей спектров поглощения при 1047/1022 см$^{-1}$.

Химический состав и степень желатинизации крахмала

Методы, разработанные AOAC International (Ассоциацией официальных сельскохозяйственных химиков) в 1990 г., включая 930.15, 942.05, 976.05 и 954.02, использовались для определения содержания сухого вещества, зольности, сырого протеина и сырых липидов. Общее содержание крахмала определяли антроновым методом с помощью набора Starch Assay Kit (G0507W, Suzhou Grace Bio-technology Co., Suzhou, Китай). Содержание амилозы определяли йод-колориметрическим методом с помощью набора Amylose Assay Kit (G0508W, Suzhou Grace Biotechnology Co., Suzhou, Китай). Манипуляции проводили в соответствии с инструкцией к набору. Содержание амилопектина рассчитывали по следующей формуле:

$$\text{Амилопектин}\ (\%) = (1 - \text{амилоза}) \times 100.$$

Степень желатинизации крахмала в зерне оценивали по методу, разработанному Бирчем и соавторами. Образец массой 50 мг взвешивали и растворяли в 50 мл 0,05 моль/л раствора гидроксида калия и перемешивали на магнитной мешалке в течение 20 мин для обеспечения полного растворения желатинизированного крахмала. После центрифугирования при 3400 × g (где g — величина центробежной силы) в течение 20 мин 1 мл супернатанта нейтрализовали

1 мл HCL (0,05 моль/л). Затем добавляли йодный реагент (0,1 моль/л) и дистиллированную воду в количестве 1 мл и 8 мл, соответственно, после чего измеряли поглощение при длине волны 600 нм *(A1)*. На перечисленных выше этапах раствор гидроксида калия (0,05 моль/л) и HCL (0,05 моль/л) заменяли на гидроксид калия (0,5 моль/л) и HCL (0,5 моль/л) в качестве контрольного образца, и соответствующую величину поглощения регистрировали как *A2*. Значение степени желатинизации определяли по формуле:

$$\text{Значение желатинизации} = A1/A2 \times 100\%,$$

где A1 — величина поглощения испытуемым образцом при 600 nm;
A2 — эта же величина для контрольного образца.

Оценка переваривания крахмала *in vitro*

Для оценки переваривания зерна *in vitro* использовали пепсин и ферменты поджелудочной железы свиней, опыт проводили при температуре 39°C. Около 1 г образцов, просеянных через сито с отверстиями диаметром 1 мм, помещали в 10 мл раствора пепсина с pH 2,0. Этот раствор состоял из 0,05 г пепсина (P-7000; Sigma Aldrich, Darmstadt, Германия) и 0,05 г гуаровой камеди (P-9000-30-0; Sigma Aldrich, Darmstadt, Германия), растворенных в 0,05 моль/л HCL. Смесь выдерживали при температуре 37°C в течение 30 мин при постоянном перемешивании. Затем добавляли 5 мл ферментной смеси, содержащей 0,7 г панкреатина (Sigma P-7545; Sigma Aldrich, Darmstadt, Германия), 0,05 мл амилоглюкозидазы (A-7095; Sigma Aldrich, Milan, Италия) и 3 мг инвертазы (Sigma I-4504; Sigma Aldrich, Darmstadt, Германия) к 10 мл 0,25 моль/л раствора ацетата натрия ($C_2H_3NaO_2$). Данная смесь имела pH на уровне 6,86. После того, как дозы раствора выдержали в течение разных сроков: 0, 15, 30, 60, 90, 120, 180 или 240 мин, образцы объемом 0,5 мл были извлечены и обработаны абсолютным этиловым спиртом, чтобы остановить процесс переваривания крахмала. Затем их центрифугировали при скорости 3000 × g в течение 10 мин, чтобы собрать супернатант. Для измерения содержания глюкозы в супернатанте использовали тестовый набор для определения глюкозооксидазы (Megazyme, Bray, Ирландия). Фракцию переваренного крахмала для каждого временного интервала (DC_t) определяли по формуле:

$$DC_t = (\text{Количество высвобождаемой глюкозы в момент времени } t \times 0{,}9)/TS,$$

где TS — общий вес крахмала в образце, мг;
0,9 — коэффициент преобразования крахмала в глюкозу (162 / 180 w / w).

Средний абсолютный коэффициент переваривания крахмала *in vitro*, представленный в виде дробного значения переваривания общего крахмала за одну минуту, рассчитывался путем вычитания доли переваренного крахмала в каждой временной точке из значения в следующей временной точке для каждого вида корма.

Формулы, приведенные ниже, применялись для получения значений быстро перевариваемого (RDS), медленно перевариваемого (SDS) и устойчивого крахмала (RS) для различных его фракций:

$$RDS\,(\%) = (G_{20} - G_0) \times 0{,}9 / TS \times 100;$$
$$SDS\,(\%) = (G_{120} - G_{20}) \times 0{,}9 / TS \times 100;$$
$$RS\,(\%) = 100 \times RDS\,(\%) - SDS\,(\%),$$

где G_0, G_{20} и G_{120} — количество высвобожденной глюкозы (мг) в течение 0, 2 и 120 мин, соответственно.

Чтобы проиллюстрировать динамику переваривания крахмала *in vitro*, мы использовали экспоненциальную модель первого порядка для исходного набора данных. Уравнение первого порядка имеет следующий вид:

$$C_t = C_0 + C_\infty \times (1 - e^{-kt}),$$

где C_t — количество крахмала, переваренного в момент времени t;
C_0 — количество, переваренное в начальный момент времени 0 мин;
C_∞ — максимальный потенциал переваривания крахмала;
k — скорость переваривания;
t — продолжительность инкубационного периода.

Прогнозируемый гликемический индекс (ПГИ)

ПГИ для каждого вида зерна определяли путем расчета площади под кривыми гидролиза (AUC) от 0 до 180 мин, следуя существующей методологии. Индекс гидролиза (HI) каждого образца рассчитывался путем деления его AUC на AUC соответствующего референтного продукта, в данном случае белого хлеба. Для определения pGI использовали формулу:

$$pGI = 1{,}013 \times HI.$$

Статистический анализ

Анализ данных проводили с помощью пакета программ IBM SPSS 26 (IBM Corp., Armonk, NY, США). Нормальность распределения и однородность дисперсии всех данных оценивали с помощью процедуры теста Левене. Для анализа экспериментальных данных проводили односторонний дисперсионный анализ (ANOVA) с последующим тестом Тьюки. Для изучения взаимосвязи между физико-химическими свойствами, пищеварительными свойствами и прогнозируемыми показателями гликемического индекса злаков использовали корреляционный анализ; для создания тепловой карты — программу Origin 2022 Pro (OriginLab, Northampton, MA, США); для представления данных — среднее значение и значение стандартного отклонения, значимость определялась при $P \leqslant 0{,}05$. ■

Перевод: Елена Четверова, компания ALB Group.

Продолжение в следующих номерах.