

ВИЗНАЧЕННЯ β -ГЛЮКАНІВ МЕТОДОМ БІЧ-СПЕКТРОСКОПІЇ

Капрельянц Л.В., д-р техн. наук, проф., Шпирко Т.В., канд. техн. наук, доц., Шунько Г.С., асп.,
Труфкаті Л.В., канд. техн. наук, доц., Шапіна О.Ф., м.н.с.
Одеська національна академія харчових технологій, м. Одеса

У статті наведено результати використання БІЧ-спектроскопії для кількісної оцінки вмісту β -глюканів ячменю, інтродукованого на півдні України без деструкції.

The results of the use of NIR spectroscopy to quantify the content of β -glucans of barley, introduced in southern Ukraine without degradation.

Ключові слова: β -глюкани, полісахариди, БІЧ-спектроскопія, злакові, ферменти, фізіологічний ефект.

Постановка проблеми. Одним із завдань сучасної харчової технології є пошук функціональних інгредієнтів харчування, які могли б не тільки допомогти людині позбутися різного роду захворювань, але також сприяли б підвищенню його працездатності, зробили б організм більш стійким до зовнішніх несприятливих факторів, і, що найголовніше, не нанесли б шкоди організму. До такого найважливішого функціонального компонента харчування можна віднести β -глюкани [1].

β -глюкани відносяться до полісахаридів, які є найпоширенішими в природі біополімерами – вони різноманітні за структурою і фізико-хімічними властивостями, можуть бути малорозчинними і нерозчинними у воді. У більшості своїй вони нетоксичні, на відміну від ліпополісахаридів та інших комплексних вуглеводів. β -глюкани біологічно активні речовини, що мають імунотонізувальні, протипухлинні, радіопротекторні та протизапальні властивості. Вони наявні в клітинних стінках деяких зернових, водоростей і грибів, продукуються рядом бактерій у вигляді екзополісахаридів [2].

Визначення β -глюканів – це довготривалий процес із використанням хімічних реагентів, ферментних препаратів і різних приладів, на відміну від використання ближньої інфрачервоної спектроскопії. ІЧ-спектроскопія являє собою метод кількісного та якісного аналізу об'єктів, заснований на комбінації спектроскопії і статистичних методів дослідження багатфакторних залежностей. ІЧ-спектроскопія є молекулярною, і на відміну від хімічного аналізу, використовується для визначення складу об'єктів без їхньої деструкції. Це фізичний метод, що дозволяє здійснювати визначення різних показників у продуктах зі складною хімічною будовою. На сьогодні розроблено багато приладів, які засновані на методі ІЧ-спектроскопії і які є спектрометрами нового покоління, екологічно безпечними експрес-аналізаторами.

Аналіз останніх досліджень

У літературі описано методи визначення вмісту бета-глюкану в ячмені, солоді, суслі і в пиві, які засновані на різних принципах: осадження, ферментативний метод, флуориметричний метод і флуориметричний метод із застосуванням ПІА (проточно-інжекційний аналіз).

Аналіз сучасних методів визначення бета-глюкану належить Йоргенсену і Аструпу [3]. У їхній монографії увага приділяється калькофлуорному методу із застосуванням автоматизованої системи (так званого методу ПІА), в якому порівнюють результати, отримані за його допомогою, з даними інших методів насамперед ферментативним.

Оригінальний флуоресцентний метод Йенсена і Ааструпа [3] полягає у фарбуванні солодового ячмінного борошна, суспендованого в гліцерині барвником калькофлуором. Принцип методу був прийнятним, але неточність і трудомісткість зумовили необхідність його модифікації.

Вдосконаленням методу стало використання проточно-інжекційного аналізу (ПІА). Вперше принцип методу ПІА описано в роботі Ружичка і Хансена [4]. Автори запропонували вприскувати зразки бета-глюкану в потік носія, що містить буферний розчин і реагент. Кількість продукту реакції вимірюється проточним детектором, сигнал якого фіксує самописець. Для детекції використовували спектральні методи.

Посилання на використання ПІА для визначення вмісту бета-глюкану в пивоварінні містяться в роботі Йоргенсена та ін., Меткіса та ін [5], Ааструпа і Ердал [6], Вагнера та ін [7], Сендри і Карбонелл [8]. Прилади для визначення бета-глюкану за методом ПІА сьогодні виробляють фірми "Текатор" і "Скалар".

Зовсім на іншому принципі заснований метод компанії "Біокон". Він належить до групи ферментативних методів і заснований на використанні бактеріального ферменту (1-3) (1-4)- β -0-глюкан-4-глюканогідролаза, КС 3.2.1.78, який продукується *Vacillus subtilis*. Цей фермент розщеплює зв'язок тільки $\beta(1-4)$ -0-глюкопіранозних залишків і тому дуже специфічний для ячмінного бета-глюкану. Після екст-

ракції і гідролізу β -глюкану під дією β -глюканази на олігомери ці фрагменти розщеплюються β -глюкозидазами на глюкозу, яка визначається ензиматично. Комплект реагентів, необхідних для визначення β -глюкану цим ферментативним методом, пропонується фірмою "Біокон ЛТД".

Методика визначення β -глюкану за допомогою ПІА і ензиматичних методів були схвалені також Аналітичною комісією ЕВС [9]. Аналіз вищеперелічених методів показав, що всі вони довготривалі і потребують специфічних ферментативних реагентів.

Метою даної роботи є вивчення можливості використання спектроскопії в ближній інфрачервоній області для визначення вмісту β -глюканів у сортах ячменю, інтродукованого на півдні України без розщеплення їхньої полімерної структури.

Виклад основного матеріалу досліджень.

У якості об'єкта дослідження вибрані сорти ячменю «Вакула» і «Водограй», які характеризуються високим вмістом β -глюкану. Ідентифікацію β -глюканів ячменю сортів «Вакула» і «Водограй» здійснювали з використанням ІК-спектроскопії [10].

Ближній інфрачервоний діапазон (БІЧ) електромагнітного спектра простягається від 780 нм до 2500 нм (від 12500 до 4000 см^{-1}) і перебуває між середньою ІЧ областю з більшою довжиною хвиль і видимою зоною з більш короткими довжинами хвиль. Середній і ближній діапазони можуть використовуватися для коливальної спектроскопії. Тоді як спектри, отримані в середньому ІК реєструють головним чином атомні коливання в індивідуальних хімічних зв'язках більшості молекул, відповідні спектри БІЧ показують так звані обертони і комбінаційні смуги. На шкалі хвильових чисел (нм або см^{-1}) ці обертони мають менші значення, ніж частоти основних коливань [12].

Завдяки різкому зменшенню інтенсивності вищих обертонів БІЧ спектри зазвичай пригнічуються та перекриваються обертонами і комбінаційними смугами структурно більш легких груп (наприклад, СН, NH і ОН). У межах цих ІЧ спектрів міститься значна інформація про молекулярну структуру досліджуваного зразка, і що інформацію можна отримати сучасними методами обробки даних.

Наприклад, основне коливання С-Н зв'язку (n) молекули трихлорметан (CHCl_3) відбувається на 3040 см^{-1} , перші три обертони (2n, 3n і 4n) – спостерігаються на 5907 см^{-1} , 8666 см^{-1} і 11338 см^{-1} відповідно. Разом з тим поглинальна здатність зменшується зі збільшенням номера обертона, наприклад, серія цих значень для CHCl_3 становить 2500, 1620, 48, 1,7 см^{-1} / моль відповідно [13].

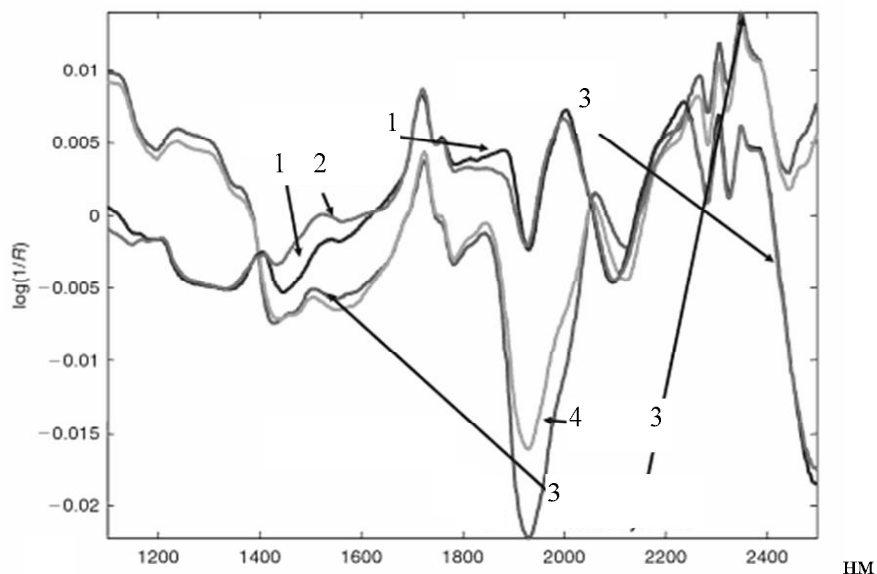
Поглиняльна здібність у БІЧ у порівнянні з СІЧ (середнього ІЧ-діапазону) на один-два порядки менша; тому це явище усуває необхідність серйозної підготовки зразка. Смуги поглинання в ближній інфрачервоній зоні (БІЧ) є слабкими, тому що вони виникають із коливальних обертонів і складених смуг. Комбінація смуг відбувається, коли декілька молекулярних коливань збуджуються одночасно. Переходи, що виникають із ближнього ІЧ-поглинання є слабкими, але ці переходи є актуальними, коли потрібні вимірювання незруйнованого твердого зразка.

Це явище і було покладено в основу БІЧ-спектроскопії і тому зразки різного походження можуть бути проаналізовані без механічного подрібнення, дії хімічних або біологічних реагентів, тобто без попередньої підготовки зразка. БІЧ спектроскопія особливо корисна для виконання швидких досліджень, проведення неруйнівного аналізу відомих матеріалів.

Вміст β -глюкану характеризували смугами поглинання, які представлено на рис. 1.

Відомо, що максимальне поглинання зв'язків β -(1 \rightarrow 3) β -глюкану пшениці відповідає 894 см^{-1} , вівса – 892 см^{-1} , гречки – 895 см^{-1} , ячменю – 897 см^{-1} [23]. Частоти поглинання β -(1 \rightarrow 3)-зв'язків β -глюканів різних видів сировини незначно відрізняються. На представлених ІЧ-спектрах досліджуваних концентратів β -глюканів, ідентифікована характеристична смуга поглинання β -(1 \rightarrow 3)-зв'язку при 897 см^{-1} , що свідчить про наявність β -(1 \rightarrow 3)-полісахаридів у складі досліджуваного комплексу (табл. 1).

Результати, наведені в табл. 1, отримані Баркером зі співробітниками для D-глюкопіраноз в зоні «відбитків пальців». За допомогою смуг типу 2a та 2b можна розрізнити α і β серії D-гексапіраноз. Однак смуга в зоні 890 см^{-1} не обов'язково означає наявність β -цукру, оскільки деякі смуги типу 1 для α -ряду з'являються в зоні смуг типу 2b. Закономірності, що спостерігаються в даних табл. 1, справедливі і для інших гекса-і пентапіраноз таких, як галактоза, маноза, арабіноза і відповідних їхніх ацетатів. Смуги типу 2a та 2b для ді-, оліго-і полісахаридів також з'являються в зазначених зонах, і, отже, можуть бути використані для ідентифікації α - і β -глікозидних зв'язків [14].



1 – «Вакула» 2011, 2 – «Вакула» 2010, 3 – «Водограй» 2011, 4 – «Водограй» 2010

Рис. 1 – БІЧ – спектри β-глюкану ячменю сортів:

Таблиця 1 – Характеристичні смуги поглинання α- і β-гексапіраноз

Піраноза	Смуга		
	Тип 1	Тип 2 (а і б)	Тип 3
	Відношення		
	Коливання кільця, аналогічні коливанням джойстика	Деформаційні коливання C ₁ -H (екваторіальні в α-цукрах, аксиальні в β-цукрах)	Пулсаційні коливання кільця піранози
α	917 ± 13	844 ± (тип 2а)	766 ± 10
β	920 ± 5	891 ± 7 (тип 2б)	744 ± 9

Хімічний склад ячменю сортів «Вакула» і «Водограй», представлений у таблиці 2.

Таблиця 2 – Хімічний склад зерна ячменю сортів «Вакула» і «Водограй», %

Сорт	Вологість	Зола	Ліпіди	Білок	Вуглеводи			
					Монодисахариди	Крохмаль	Клітковина	β-глюкани
«Вакула», 2011	14,0	2,7	3,5	11,9	2,33	50,5	4,0	11,07
«Вакула», 2010	12,5	3,2	3,5	11,9	2,55	51,3	3,8	10,25
«Водограй», 2011	13,0	2,3	3,1	10,4	2,88	49,6	4,1	11,32
«Водограй», 2010	12,1	2,9	3,1	10,4	2,45	51,7	3,9	9,85

Для перевірки результатів в якості стандартного біохімічного методу використовували методику визначення β-глюкану, яка включає екстракцію водорозчинних полісахаридів ячменю з наступним кислотним гідролізом їх до моносахаридів і визначенням останніх спектрофотометричним методом (табл. 3).

Таблиця 3 – Порівняльна характеристика методів визначення β-глюканів зерна ячменю сортів «Вакула» і «Водограй», %

Сорт, рік вирощування	β-глюкани	
	Хімічний метод	БІЧ-спектроскопія
«Вакула», 2011	10,23	11,07
«Вакула», 2010	9,34	10,25
«Водограй», 2011	9,56	11,32
«Водограй», 2010	9,06	9,85

Коефіцієнт кореляції за вмістом β -глюканів, визначений хімічним методом та визначений БІЧ методом становив 0,90.

Висновок

Згідно з отриманими даними можна зробити висновок, що БІЧ-спектроскопія є дуже сучасним методом, який дозволяє швидко, без витрат реактивів та часу проводити визначення хімічного складу зразків зернових культур, що було наведено на прикладі ячменю.

Література

1. Bhatti RS. 1995. Laboratory and pilot plant extraction and purification of β -glucans from hull-less barley and oats brans. *J. Cereal Sci* 22:163-170
2. Carr JM, Glatter S, Jeraci JL, Lewis, BA. 1990. Enzymic determination of β -glucan in cereal-based food products. *Cereal Chem* 67:226-229.
3. Cui W, Wood PJ, Blackwell B, Nikiforuk J. 2000. Physicochemical properties and Structural characterization by two-dimensional NMR spectroscopy of wheat β -D glucan—comparison with other cereal β -D-glucans *Carbohydr Pol* 41:249-25.
4. Bhatti RS. 1992. Total and extractable β -glucan contents of oats and their relation-ship to viscosity. *J Cereal Sci* 15:185–192.
5. Aman P, Graham H. 1987. Analysis of total and insoluble mixed-linked (1 \rightarrow 3),(1 \rightarrow 4)- β -D-glucans in barley and oats. *J Agric Food Chem* 35: 704-709.
6. Rimsten L, Stenberg T, Andersson R, Andersson A, Aman P. 2003. Determination of β -glucan molecular weight using SEC with Calcofluor detection in cereal extracts. *Cereal Chem* 80:485-490.
7. Beer MU, Wood PJ, Weisz J. 1997a Molecular weight distribution and (1 \rightarrow 3),(1 \rightarrow 4)-D- β -glucan content of consecutive extracts of various oat and barley cultivars. *Cereal Chem* 74:476-480.
8. Costas G. Biliaderis., Marta S. Izydorczyk. *Functional Food Carbohydrates*. – 2007, CRS Press, N-Y, - p. 7-11.
9. Westerlund E, Andersson R, Aman P. 1993. Isolation and chemical characterization of water-soluble mixed-linked β -glucans and arabinoxylans in oat milling fractions. *Carbohydr Pol* 20:115-123.
10. Методы биохимического исследования растений / А. И. Ермаков, В. В. Арасимович, Н. П. Ярош и др. – Л.: Агропромиздат, 1987. – 430 с.
11. Flemming M., Manners D. The estimation of β -glucan in barley. // *J. Inst. Brew.* – 1974 – p. 399.
12. Жбанков Р.Г. Инфракрасные спектры целлюлозы и ее производные. – Минск, 1964. – 339с.
13. Никаниси К. Инфракрасные спектры и строение органических соединений. – М: Мир, 1965. 220с.
14. Wood J. Paton D. 1977. Determination of β -glucan in oat and barley. *Cereal Chem* 54(3): 524-533.

УДК [664.661+664.662] : [664.64+664-027.38]

ВИКОРИСТАННЯ НЕТРАДИЦІЙНОЇ СИРОВИНИ ТА НАПІВФАБРИКАТІВ В ТЕХНОЛОГІЇ ЖИТНЬО-ПШЕНИЧНОГО ХЛІБА

Пшенишнюк Г. Ф., канд. техн. наук, доцент, Чабан А.Б., пошукач
Одеська національна академія харчових технологій, м. Одеса

У даній статті стисло описана характеристика житньо-пшеничних виробів, зазначено особливості приготування заквасок спонтанного бродіння, представлено результати дослідження титрованої кислотності і підйомної сили закваски, органолептичні та фізико-хімічні показники якості готових виробів, хімічний склад та харчову цінність виробів.

This paper briefly describes characteristics of rye-wheat products mentioned features making spontaneous sourdough fermentation, presenting findings titrated acidity and lift starter, organoleptic and physico-chemical parameters of quality finished products, chemical composition and nutritional value of products.

Ключові слова: закваска, спонтанне бродіння, кислотність, підйомна сила, тісто, харчова цінність, нетрадиційні види борошна.