

**Results.** Using researched supplements results in an increase ability of gluten proteins to aggregate. Following series of supplements by the power of their impact on the ability of the protein aggregating was formed: water < milk < gelatin < skanpro < "Геліос-11". Degree of aggregation increased even more significantly in the presence of the enzyme TG. It was confirmed the expediency of applying enzyme transglutaminase for improving the structural and mechanical properties of wheat dough and gluten.

**Scientific novelty.** The new scientific evidence was obtained that aggregating ability of gluten with the addition of animal proteins can be improved in the presence of transglutaminase. Stability of proteins in solution decreases due to the formation of supermolecular protein structures of gluten through the ion electrostatic interactions and additional hydrogen bonds. The assumption of possible conformational transformations of protein macromolecules in the presence of additives is true, as it is evidenced by changes in the absorption bands of the infrared spectra of gluten.

**Practical value.** The results are aimed at improving the technology of high-quality pasta and formed flour products. Changing the rheological properties of gluten allows us to give a positive prediction for the improvement of the structural and mechanical properties of dough and cooking properties of finished products

**Key words:** gluten, aggregation, transglutaminase, gelatin, skanpro, gelios, pasta

Рекомендовано до публікації д-ром техн. наук,  
Перцевим Ф.В.

Дата надходження рукопису 06.11.2013 р.

УДК 664.65:664.38:664.644.5

Шаніна О.М., д-р техн. наук, проф.<sup>1</sup>,  
Лобачова Н.Л.<sup>2</sup>

1 – Харківський національний технічний університет сільського господарства імені Петра Василенка, м. Харків, Україна,  
e-mail: avgust23@ukr.net

2 – Сумський національний аграрний університет, м. Суми, Україна,  
e-mail: nadezhda.lobacheva.1985@mail.ru

## ДОСЛІДЖЕННЯ ІОНОВ'ЯЗУВАЛЬНОЇ ЗДАТНОСТІ БІЛКІВ БЕЗГЛЮТЕНОВОГО БОРОШНЯНОГО ТІСТА ЗА УМОВИ ДОДАВАННЯ ТРАНСГЛЮТАМІНАЗИ

Shanina O.M., Dr. Sc. (Tech.), Prof.<sup>1</sup>,  
Lobachova N.L.<sup>2</sup>

1 – Petro Vasilenko Kharkov National Technical University of Agriculture, Kharkiv, Ukraine,  
e-mail: avgust23@ukr.net

2 – Sumy National Agrarian University, Sumy, Ukraine, e-mail: nadezhda.lobacheva.1985@mail.ru

## ION BINDING CAPACITY OF PROTEINS IN GLUTEN-FREE FLOUR DOUGH IN THE PRESENCE OF TRANSGLUTAMINASE

**Мета.** Мета статті – визначення впливу ферменту трансглютамінази на іонозв'язувальну здатність білків безглютенового борошна в комбінації з білками тваринного походження.

**Методика.** У процесі досліджень використано метод пробного лабораторного випікання безглютенового хліба для оцінки його питомого об'єму, втрат під час випікання та кислотності хліба. Органолептично оцінювали зовнішній вигляд, смак і запах, а також стан м'якучки безглютенового хліба. Методом потенціометричного титрування вивчали взаємодію між основними компонентами у водно-борошняних суспензіях, вимірюючи іонозв'язувальну здатність.

**Результати.** Застосування TG помітно змінює буферні властивості борошна. Хід кривих титрування водно-борошняних суспензій не співпадає на етапі початкового титрування. Такі дані свідчать про можливі зміни поверхневого заряду білкових молекул. З використанням сироватки на заміну води спостерігається дуже виражена здатність зв'язувати іони водню, що, можливо, пояснюється наявністю значної кількості негативно заряджених груп білків сироватки. Додавання желатину виявляє іншу буферну ємність, особливо сумісно з кукурудзяним борошном. Цим можна пояснити вплив ферментного препарату TG разом із желатином на структурно-механічні властивості борошняного тіста з сумішею кукурудзяного, вівсяного, рисового, ячмінного борошна та випеченої продукції. На підставі проведених досліджень запропоновано застосовувати ферментний препарат трансглютаміназу для регулювання структурно-механічних властивостей безглютенових борошняних продуктів.

**Наукова новизна.** Отримано нові наукові дані про підвищення іонозв'язувальної здатності безглютенових видів борошна з додаванням білків тваринного походження та ферменту трансглютамінази.

**Практична значущість.** Отримані результати спрямовані на вдосконалення технології високоякісних продуктів з безглютенового дріжджового тіста.

**Ключові слова:** целиакія, безглютенове борошно, титрування, желатин, сироватка, фермент, трансглютаміназа.

**Постановка проблеми.** Всесвітнє поширення хвороби «целиакія» і відсутність гарної якості безглютенової продукції підвищили інтерес дослідників харчової промисловості до розробки технологій продукції, у тому числі борошняних кулінарних, кондитерських і хлібних виробів. Безглютенова продукція доступна на ринку, але зазвичай вона низької якості через відсутність клейковинної мережі в тісті та готовому продукті.

Функціонально-технологічні властивості білків безглютенового борошна можуть бути модифіковані дією трансглютамінази завдяки її унікальній здатності модифікувати функціональні групи білків і сприяти їх зшиванню. Інтерес становить пошук нових рецептурних компонентів на заміну глютену, відносно яких трансглютаміназа виявляє високу реакційну здатність.

**Аналіз останніх досліджень і публікацій.** Споживання глютену та споріднених протеїнів може викликати глютену ентеропатію у людей з певною генетичною схильністю. Це захворювання також відомо як целиакія, що є однією з найбільш частих форм непереносимості харчових продуктів. Якщо в організм хворого на целиакію потрапляють протеїни пшениці чи споріднені їм протеїни (наприклад, гордеїн ячменю або сакалін жита), у тонкій кишці виникає імунологічна реакція, за якої руйнуються клітини кишкового епітелію.

Єдиною можливою формою лікування целиакії на сьогодні є недопущення продуктів, які містять клейковину (жито, ячмінь [1], а також тверді сорти пшениці, полбу, камут, тритикале [2], іноді рекомендують відмовитися і від вівса). Пшениця є одним з основних компонентів у всьому світі щоденної дієти, а також основним інгредієнтом більшості хлібобулочних виробів. Одним з основних питань для CD-хворих є пошук продуктів гарної якості та без глютену [3; 4].

Глютен має унікальні технологічні властивості. Тому під час виробництва продуктів харчування без вмісту глютену наявні серйозні труднощі. Структура продуктів є, як правило, крихкою, дуже сухою. Більшість видів хліба пропонуються як напівфабрикати, які необхідно розігріти перед вживанням. Протеїн пшениці (глютен) виконує в процесі виробництва хліба різні завдання. Тому потрібна велика кількість інгредієнтів, здатних його замінити. TG має можливість створення нової ковалентного зв'язку між такими білками (які в нормальних умовах не зв'язуються), що, можливо, приведе до зниження алергенності [5].

Більшість видів безглютенового борошна та безглютенових продуктів, які є сьогодні на ринку, виробляються на основі пшеничного крохмалю. Вони становлять загрозу для хворих на целиацію, оскільки можуть містити незначну кількість глютену. Тому працюють, як правило, тільки з видами борошна та крохмалю, які вважаються безглютеновими (наприклад, кукурудзяним, картопляним, соєвим, гречаним і рисовим).

Сучасні тенденції щодо ферментативної модифікації клейковинного хліба спрямовані на застосування ферментів, які модифікують крохмаль, білок і некрохмальні полісахариди борошна. Слід зазначити, що використання ферментів для виробництва безклейковинного хліба досить довго було обмеженим, тому що багато комерційних ферментних препаратів містили пшеничне борошно або пшеничний крохмаль, які є небажаними в безклейковинному хлібі. Проте ферменти – це безпечна альтернатива хімічним сполукам, тому що вони є білками, які мають здатність каталізувати хімічні реакції, можуть бути визначені як GRAS (у цілому визнані безпечними), тобто без негативних наслідків для здоров'я, пов'язаних з їх надмірним споживанням, денатуровані під час випікання і такі, що не виявляються в кінцевому продукті [6].

У роботі авторів [7] вивчено ефективність застосування трансглютамінази (TG) для поліпшення хліба з безглютенового борошна з метою отримати більш повне уявлення про масштаби модифікації зернових білків і формування просторової білкової мережі безглютенового хліба. Як джерело зернових білків досліджено борошно гречане, з коричневого рису та кукурудзяне без додавання ферменту й оброблене TG. Поліпшується стан м'якушки та загальний об'єм хліба, проте вважати їх оптимальними складно. Дослідження за допомогою конфокальної мікроскопії свідчать, що додавання ферменту підвищує безперервність білкової фази. Таким чином, авторами підтверджено ефективність впливу TG на мікро- та макроструктуру безглютенового хліба. Тим не менше джерело білків є ключовим елементом визначення впливу ферменту.

Наступним кроком в удосконаленні технології безглютенового хліба є застосування в рецептурі, що базується на рисовому борошні, додаткових видів білкових ресурсів – глютену (для порівняння), білка молочної сироватки, соєвого ізоляту в кількості 3% від маси борошна з використанням TG [8]. Дані свідчать про певне (але не кардинальне) покращання в разі застосування додаткових білків, а також з TG.

Цікавими є результати дослідження білків композитного борошна, яке містить рисове борошно разом з ізолятами білків сої та гороху, представлені в роботі [9] із застосуванням методу електронної скануючої мікроскопії. Фермент TG

додавали для посилення білкової мережі. Білкові ізоляти сої показали найбільший вплив на функціональні властивості тіста. Зразок тіста на основі рисового борошна, який мав порушену структуру, де гранули крохмалю утримувалися білками, за умови додавання TG змінювався, а саме спостерігався більш рівномірний розподіл гранул крохмалю за рахунок більш компактної структури тіста.

**Постановка завдання.** Багато дослідників вивчали проблему ефективності застосування TG в різних технологічних напрямках: змінюючи склад білкового компонента, застосовуючи водоутримувальні добавки, найчастіше похідні целюлози. На сьогодні основним методом імітування властивостей клейковини є виготовлення виробів з безглютенового борошна з додаванням полімерних речовин, таких як ксантанова камедь і гідроксипропілметилцелюлоза (ГПМЦ), різних видів крохмалю в комбінації з загусниками та молочними інгредієнтами. Спроби поліпшити текстуру безклейковинного хліба зосереджені також на додаванні гідроколоїдів, емульгаторів, заквасок або ферментів у тісто. Інші інгредієнти, такі як молочні порошки, яєчний альбумін, пребіотичні речовини та соєві фракції мають подвійний ефект підвищення органолептичних і поживних властивостей хліба [7].

TG здатна зв'язувати протеїни різного походження: казеїни і альбуміни з молока, тваринний білок з яєць і м'яса, соєвий і пшеничний протеїн. Метою наших досліджень було створення комбінованих білок-білкових харчових систем (з використанням протеїнів рослинного та тваринного походження) для ефективної участі в них ферменту TG у технології безглютенової кулінарної та хлібобулочної продукції.

**Виклад основного матеріалу дослідження.** Нами застосовані рисове, кукурудзяне, гречане борошно разом із молочними білками та білками, отриманими з колагеновмісної сировини (желатин, Геліос-11, Gitpro D, Scanpro T91 і T95). За результатами пробних лабораторних випікань ми довели позитивний вплив ферментного препарату TG на органолептичні та структурно-механічні властивості безглютенового хліба (покращується смак, з'являється оригінальний колір, поліпшується стан м'якушки та скоринки).

Відомо, що TG каталізує утворення ковалентних зв'язків між вільними аміногрупами (вільних або бічних ланцюгів лізину) і гаммакарбоксамідними групами глутаміну. Таким чином, зміна кількості заряджених угруповань на поверхні білкової молекули свідчить на користь каталітичного впливу TG у тісті. Для доведення механізму взаємодії добавок з борошном застосовували метод потенціометричного титрування. На сьогодні цей метод є одним із найбільш точних та інформативних, за допомогою якого можна оцінити зміну поверхневого заряду білкової молекули. Поверхневий заряд молекули та водневі зв'язки, які стабілізують гідратну оболонку білків, відіграють найважливішу роль у збереженні рівноважного стану білків у розчинах. Зміну поверхневого заряду білкових молекул борошна та інших видів білкової сировини може викликати додавання трансглутамінази завдяки її унікальній здатності модифікувати функціональні групи білків і сприяти їх зшиванню. У процесі досліджень використано метод пробного лабораторного випікання безглютенового хліба для оцінки питомого об'єму хліба, втрат під час випікання та кислотності хліба.

Органолептично оцінювали зовнішній вигляд, смак і запах, а також стан м'якучки безглютенового хліба.

Досліджували водно-борошняні суспензії на основі безглютенового борошна – кукурудзяного та рисового з додаванням TG, що відображено на рисунках 1 і 2. На заміну водної фази застосовували також 3%-ий водний розчин желатину та сироватку.

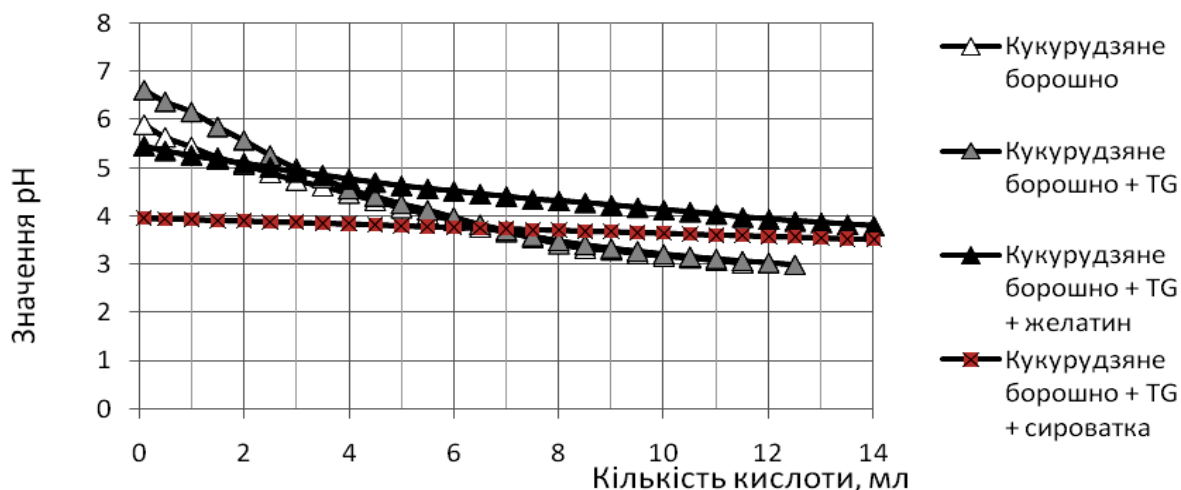


Рисунок 1 – Залежність рН від кількості кислоти, доданої до водно-борошняних суспензій з використанням кукурудзяного борошна, ферменту TG і білкових добавок

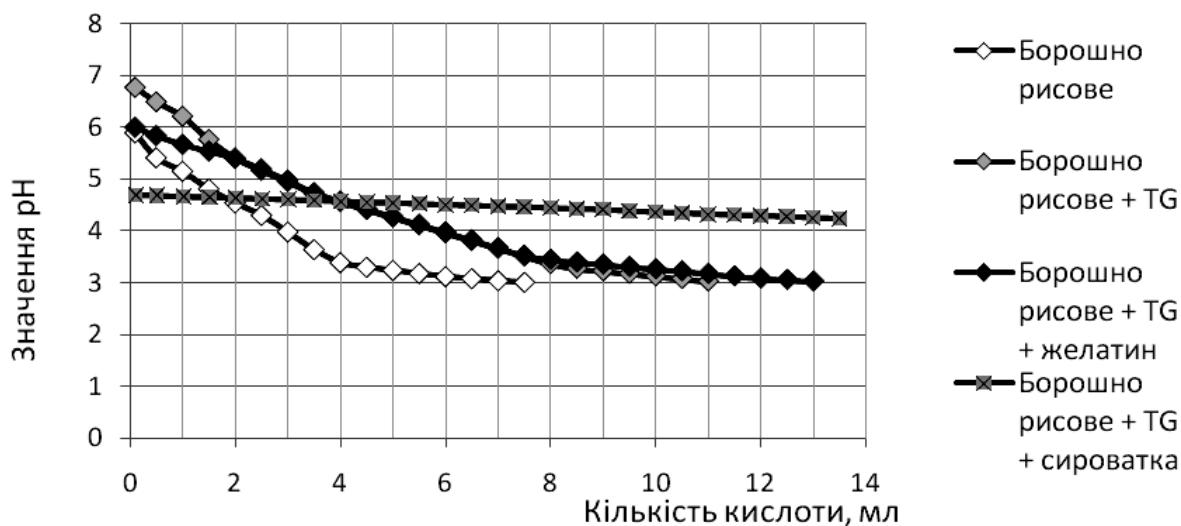


Рисунок 2 – Залежність рН від кількості кислоти, доданої до водно-борошняних суспензій з використанням рисового борошна, ферменту TG і білкових добавок

Експериментальними дослідженнями встановлено, що застосування TG помітно змінює буферні властивості борошна. Хід кривих цих водно-борошняних суспензій не співпадає на етапі початкового титрування в інтервалі рН вище 4 (кукурудзяне борошно) або вище 3 (рисове борошно). Такі дані підтверджують можливу зміну поверхневого заряду білкових молекул.

З використанням сироватки замість води спостерігається дуже виражена здатність зв'язувати іони водню, що, можливо, пояснюється наявністю значної кількості негативно заряджених груп білків сироватки.

Додавання желатину (в кількості 3% до води) помітно виявляє іншу буферну ємність, особливо сумісно з кукурудзяним борошном. За наявності значень рН нижче 5 система має найвищу іонозв'язувальну здатність, оскільки рН знижується найповільніше.

Можливо, саме цими обставинами можна пояснити вплив ферментного препарату TG із желатином на структурно-механічні властивості борошняного тіста з сумішшю кукурудзяного, вівсяного, рисового, ячмінного борошна та випеченої продукції. Результати пробних лабораторних випічок свідчать, що ці добавки досить ефективно діють на якість безглютенового хліба: помітно зростає об'єм хліба, його форма і зовнішній вигляд, поліпшується пористість. При цьому найбільший вплив здійснюють фермент TG сумісно з желатином.

**Висновки.** У кислому середовищі в інтервалі рН 1,5...6,0 відбувається пригнічення кислотної дисоціації кінцевих і бокових карбоксильних груп, які містяться в білках у вільному стані, та активне протонування  $\text{NH}_2$ -,  $\text{NH}$ - та імідазольних груп білків. Це викликає зміну поверхневого заряду білкової молекули. Застосування ферментного препарату TG разом з іншими білковими добавками помітно модифікує нативну конформацію макромолекул білків, що виявляється у зміні іонозв'язувальної здатності, у тому числі під час титрування кислотою.

Отримані результати спрямовані на вдосконалення технології високоякісних безглютенових продуктів.

#### Список літератури / References:

1. The pathogenesis of celiac disease / P.J. Ciclitira, M.W. Johnson, D.H. Dewar, H.J. Ellis // *Molecular Aspects of Medicine*. – 2005. – № 26. – P. 421-458.  
Ciclitira, P.J., Johnson, M.W., Dewar, D.H. and Ellis, H.J. (2005), "The pathogenesis of celiac disease", *Molecular Aspects of Medicine*, no. 26, pp. 421-458.
2. Kasarda D.D. Grains in relation to celiac disease / D.D. Kasarda // *Cereal Foods World*. – 2001. – № 46. – P. 209-210.  
Kasarda, D.D. (2001), "Grains in relation to celiac disease", *Cereal Foods World*, no. 46, pp. 209-210.
3. Kupper C. Dietary guidelines and implementation for celiac disease / C. Kupper // *Gastroenterology*. – 2005. – № 128 (4). – P. 121-127.  
Kupper, C. (2005), "Dietary guidelines and implementation for celiac disease", *Gastroenterology*, no. 128 (4), pp. 121-127.
4. Case S. The gluten free diet: How to provide effective education and resources / S. Case // *Gastroenterology*. – 2005. – № 128 (4). – P. 128-134.  
Case, S. (2005), "The gluten free diet: How to provide effective education and resources", *Gastroenterology*, no. 128 (4), pp. 128-134.
5. Takacs K. Effect of transglutaminase on the quality of wheat-based pasta products / K. Takacs, E. Gelencser, E.T. Kovacs // *Eur Food Res Technol*. – 2008. – № 226. – P. 603-611.

- Takacs, K., Gelencser, E. and Kovacs, E.T. (2008), "Effect of transglutaminase on the quality of wheat-based pasta products", *Eur Food Res Technol*, no. 226, pp. 603-611.
6. Rosell C.M. Enzymatic manipulation of gluten-free breads / C.M. Rosell // *Gluten-Free Food Science and Technology* / Ed. by E. Gallagher. – London: John Wiley & Sons, 2009. – P. 83-98.  
Rosell, C.M. (2009), "Enzymatic manipulation of gluten-free breads", in Gallagher, E. (Ed.), *Gluten-Free Food Science and Technology*, John Wiley & Sons, London, pp. 83-98.
7. Renzetti S. Microstructure, fundamental rheology and baking characteristics of batters and breads from different gluten-free flours treated with a microbial transglutaminase / S. Renzetti, F. Dal Bello, E.K. Arendt // *Journal of Cereal Science*. – 2008. – № 48. – P. 33-45.  
Renzetti, S., Dal Bello, F. and Arendt, E.K. (2008), "Microstructure, fundamental rheology and baking characteristics of batters and breads from different gluten-free flours treated with a microbial transglutaminase", *Journal of Cereal Science*, no. 48, pp. 33-45.
8. Shin M. Effects of Protein and Transglutaminase on the Preparation of Gluten-free Rice Bread / M. Shin, D.O. Gang, J.Yo. Song // *Food Sci. Biotechnol.* – 2010. – № 19(4). – P. 951-956.  
Shin, M., Gang, D.O. and Song, J.Yo. (2010), "Effects of Protein and Transglutaminase on the Preparation of Gluten-free Rice Bread", *Food Sci. Biotechnol.*, no. 19(4), pp. 951-956.
9. Marco C. Functional and rheological properties of protein enriched gluten free composite flours / C. Marco, C.M. Rosell // *Journal of Food Engineering*. – 2008. – № 88. – P. 94-103.  
Marco, C. and Rosell, C.M. (2008), "Functional and rheological properties of protein enriched gluten free composite flours", *Journal of Food Engineering*, no. 88, pp. 94-103.

**Цель.** Цель статьи – определение влияния фермента трансглутаминазы на ионо-связывающую способность белков безглютеновой муки в сочетании с белками животного происхождения.

**Методика.** В процессе исследований использован метод пробной лабораторной выпечки безглютенового хлеба для оценки его удельного объема, потерь при выпечке и кислотности хлеба. Органолептически оценивали внешний вид, вкус и запах, а также состояние мякиша безглютенового хлеба. Методом потенциометрического титрования изучали взаимодействие между основными компонентами в водно-мучных суспензиях, измеряя ионо-связывающую способность.

**Результаты.** Применение TG заметно меняет буферные свойства муки. Ход кривых титрования водно-мучных суспензий не совпадает на этапе начального титрования. Такие данные свидетельствуют о возможных изменениях поверхностного заряда белковых молекул. При использовании сыворотки взамен воды наблюдается очень выраженная способность связывать ионы водорода, что, возможно, объясняется наличием большого количества отрицательно заряженных групп белков сыворотки. Добавление желатина проявляет другую буферную емкость, особенно совместно с кукурузной мукой. Этими данными можно объяснить влияние ферментного препарата TG совместно с желатином на структурно-

саніческіе свойства мучного теста из смесей кукурузной, овсяной, рисовой, ячменной муки и выпеченной продукции. На основании проведенных исследований предложено применять ферментный препарат трансглутаминазы для регулирования структурно-механических свойств безглютеновых мучных продуктов.

**Научная новизна.** Получены новые научные данные о повышении ионосвязывающей способности безглютеновых видов муки с добавлением белков животного происхождения и фермента трансглутаминазы.

**Практическая значимость.** Полученные результаты направлены на совершенствование технологии высококачественных продуктов из безглютенового дрожжевого теста.

**Ключевые слова:** целиакия, безглютеновая мука, титрование, желатин, сыворотка, фермент, трансглутаминаза.

**Objective.** Purpose of the article is to determine the effect of the enzyme transglutaminase on the ability of gluten-free flour proteins to bind ions when they are combined with animal proteins.

**Methods.** In Methods part standard baking tests for gluten-free breads to evaluate specific loaf volume, bake loss, and bread acidity were used. Organoleptic tests were done to specify visual appearance, taste and smell, as well as crumb state of the gluten-free breads. Potentiometric titration was done to study the interactions between major components in our system by detecting ion binding capacity

**Results.** Application of TG significantly changed the buffering properties of flour. The titration curves of aqueous suspensions of flour did not coincidence on the initial stage of the titration. These data indicate possible changes in the surface charge of the protein molecules. When serum was used instead of water, very pronounced ability of flour proteins to bind hydrogen ions was observed. This can be explained by the presence of large amounts of negatively charged groups of serum proteins. When gelatin was added to the corn flour, the other buffer capacity of flour proteins was shown. Using these data influence TG enzyme together with gelatin on the structural and mechanical properties of dough from flour mixtures of corn, oat, rice, barley flour and baked products can be explained. Basing on the studies it was recommended to use a transglutaminase enzyme in order to regulate structural and mechanical properties of gluten-free flour products.

**Scientific novelty.** It is obtained new scientific data about increasing the ability of gluten-free flours to bind ions, when flour is combined with animal proteins.

**Practical value.** The results are aimed at improving the technology of high-quality products from gluten-free yeast dough.

**Key words:** celiac disease, gluten-free flour, titration, gelatin, whey, enzyme, transglutaminase

Рекомендовано до публікації д-ром техн. наук,  
Перцевим Ф.В.

Дата надходження рукопису 06.11.2013 р.