



Л.БАЛЬ-ПРИЛИПКО,
 докт. техн. наук, академік АН ВШ України
 декан факультету харчових технологій
 та управління якістю продукції АПК
**Національний університет біоресурсів
 і природокористування України**

**Чи повноцінні продукти
 з включенням заміників?**

Багатьом відомо, що продовольчі вироби масового асортименту саме тому нижчої вартості, бо виготовлені з дешевої сировини. Але чи поступають вони за споживчими характеристиками дорогим харчовим продуктам? За смаковими уподобаннями оцінка може бути різною. Втім, чи можемо ми, наприклад, стверджувати, що делікатесні копчені ковбаси корисніші та бажаніші у нашому повсякденному раціоні? Звісно ж, ні в дитячому харчуванні, ні для людей з проблемами травлення жоден дієтолог не порадить постійного вживання продуктів цього сегменту. Лише для епізодичного частування в обмеженій кількості такі вироби доречні.

Водночас спеціально розроблені для конкретної аудиторії, збагачені компонентами з оздоровчими властивостями вироби дійсно покликані задовольнити потребу населення в тій чи іншій категорії продуктів.

Наскільки ж переконливі аргументи наших авторів-технологів – судити вам - читачам і споживачам.

Свідомого вам вибору та реакції на опубліковані поради та рекомендації!



Несмотря на постоянный рост объемов производства продовольствия, проблема недостатка пищевого белка животного происхождения остается актуальной. Это связано с высоким ростом численности населения и большими потерями сырья при его переработке и хранении. В то же время значительная часть пищевых отходов в виде фаршей, фрагментов тканей рыбы или теплокровных животных могут быть использованы для производства различных видов реструктурированных продуктов. Перспективным направлением в их технологии являются процессы ферментативной сшивки (cross – links) макромолекул, которая с успехом может быть реализована как на белковых, так и на углеводных субстратах. Этот процесс может происходить с участием ароматических групп, присутствующих в белках и углеводах или с участием ряда аминокислот, входящих в состав белка. Наиболее изученным способом ферментативного реструктурирования рыбного и мясного сырья является применение трансглутаминазы (ЕС 2.3.2.13) [1].

Присутствие в препаратах трансглутаминазы балластных веществ и наполнителей требует оценки их ферментативной активности, т.е. определения эффективности образования изопептидных связей. Наиболее распространенный метод определения активности трансглутаминазы основан на спектрофотометрической оценке количества продуктов катализа. Он требует высокого уровня технической оснащенности лаборатории и дорогих реактивов высокой степени очистки [6].

В то же время представляется возможным оценить эффективность образования изопептидных связей по изменению реологических характеристик

Эффективность катализа образования изопептидных связей препаратами трансглутаминазы

Л.БАЛЬ –ПРИЛИПКО, докт. техн. наук

А.ВИННОВ, канд. техн. наук,

Б.ЛЕОНОВА, А.ГАРМАШ, Р. АЛЕКСАНДРОВ, аспиранты

Национальный университет биоресурсов и природопользования

Аннотация. Исследована способность промышленных препаратов трансглутаминазы к катализу образования изопептидных связей в белковых системах. Предложен количественный показатель и условия его определения по величине пенетрации стандартизованного геля 10%-ного раствора пищевого желатина с рН 7,4.

Ключевые слова: трансглутаминаза, изопептидные связи, величина пенетрации, гель, желатин.

Анотація. Розглянуто можливість оцінювання здатності промислових препаратів трансглутаминази до каталізу утворення ізопептидних зв'язків у білкових системах. Запропоновано кількісний показник та умови його визначення за величиною пенетрації гелю стандартизованого 10%-вого розчину харчового желатину з рН 7,4.

Ключеві слова: трансглутаминаза, ізопептидні зв'язки, величина пенетрації, гель, желатин

Abstract. The possibility of assessing the ability of industrial transglutaminase enzyme drugs to catalyze formation of isopeptide bonds in protein systems is considered. Quantitative indicator and the conditions of its determining by standardized gel at the base of 10% gelatine solution with pH 7.4 penetration value are proposed.

Key words: transglutaminase, isopeptide bonds, penetration value, gel, gelatine

стандартизованного белкового геля. В качестве гелеобразователя целесообразно использовать желатин, в связи с его высокой способностью создавать изопептидные связи под каталитическим действием трансглутаминазы [5].

Таким образом, цель настоящей работы состояла в количественной оценке способности промышленных препаратов трансглутаминазы к катализу cross – links взаимодействия (образованию изопептидных связей) по значению показателя ЭКТ.

Для выполнения поставленной задачи с учетом известных значений рН и температурного оптимумов действия трансглутаминазы [5] и характеристик белка – субстрата (желатина) было изучено следующее:

- концентрацию желатина при формировании

стандартного геля, необходимую для достоверных измерений прочности;

- влияние дозы введенного в раствор желатина ферментного препарата на величину пенетрации стандартного геля.

- продолжительность инкубации фермент-субстратной системы, требующейся для развития катализа и формирования геля.

- основные параметры определения количественной оценки эффективности препарата трансглутаминазы - ЭКТ.

В исследованиях для формирования образцов белкового субстрата был использован желатин по ГОСТ 1293 «Желатин. Технические условия», марки П-9, с массовой долей влаги 16,2% и препараты трансглутаминазы Activa® GS (Ajinomoto foods Europe SAS, Hamburg Branch). Для приготовления растворов желатина и препаратов трансглутаминазы, с целью сравнения, применяли фосфатно-

боратный (универсальный), фосфатный и трис-буферный растворы с pH 7,4. Для контроля pH на всех этапах исследований был применен pH-метр - pH-150МИ. Пенетрацию гелей определяли пенетрометром Ulab 3-31М с конусным индентором (угол конуса 60°). Для термостатирования образцов и инактивации фермента применяли ультратермостат Ultratherm BWT-U BIOSAN.

Экспериментальные растворы на различных этапах исследований готовили с учетом массовой доли влаги в желатине и препарате транглутаминазы. Навески взвешивали с точностью до 0,01г. Желатин растворяли в 75% массы необходимого для приготовления буферного раствора, предварительно разогретого до 50°C с интенсивным перемешиванием. Препарат транглутаминазы растворяли в 10 - 15% буферного раствора той же температуры. Полученные растворы смешивали и доводили буферным раствором до необходимой массы. Для всех экспериментов в качестве образцов сравнения использовали растворы желатина без введения препарата транглутаминазы. Полученные растворы дозировали до полного заполнения в бюксы алюминиевые (весовой стаканчик ВС-1) размером 50 x 38 мм. Подготовленные образцы для развития реакции термостатировали при температуре 50°C. Каждые 2 часа часть образцов направляли на определение пенетрации. Эти образцы разогревали до температуры 90°C и выдерживали при этой температуре 30 минут для инактивации транглутаминазы. Полученные инактивированные растворы помещали в эксикатор и термостатировали при температуре 25°C для формирования геля.

Все эксперименты выполнялись в пятикратной повторности с пятикратным повторением каждого измерения. Таким образом, каждой экспериментальной точке соответствовало 25 измерений значения величины пенетрации.

Точность полученных значений величины пенетрации на всех этапах исследования оценивали с помощью статистического критерия Стьюдента. Грубые ошибки измерений отсеивали по значению критерия допустимого отклонения.

Исследования прочности гелей желатина марки П-9, в зависимости от продолжительности их формирования и массовой доли белка в буферном растворе при температуре 25°C (рис. 1.) показали, что 10%-ные системы достигают максимальной постоянной прочности уже после 10-12 часов термостатирования.



Растворы желатина с концентрацией 6 и 8% для достижения максимальной прочности требуют более продолжительной экспозиции. Вид использованного для создания геля желатина буферного раствора не оказывает влияния на величину его пенетрации.

Исходя из полученных экспериментальных данных, в дальнейших исследованиях применяли 10% раствор желатина в фосфатном буферном растворе с pH 7,4. Продолжительность термостатирования при температуре 25°C для формирования стабильных прочных гелей составляла 12 часов.

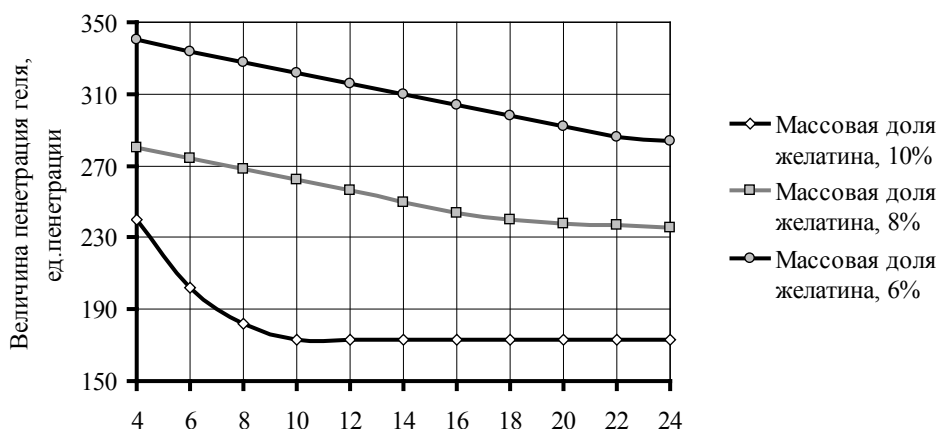


Рис. 1. Динамика формирования гелей при различной концентрации желатина

Экспериментальные кривые описывающие величину пенетрации геля, полученного из 10% раствора желатина с добавлением различного количества ферментного препарата транглутаминазы Activa® GS после термостатирования при температуре 50°C, инактивации и выдерживания для отверждения в течение 12 часов при 25°C представлены на рис.2.

Из полученных данных следует, что выведение в раствор желатина ферментного препарата транглутаминазы приводит к эффективному снижению величины пенетрации геля, при этом его максимальная прочность для диапазона концентраций ферментного препарата 0,1-1% развивается в течение 12-24 часов каталитического процесса. Преобразование данных графика, приведенного на рис.2, в координаты «Величина пенетрации геля – количество введенного в систему препарата транглутаминазы» после 24 часов инкубирования (рис.3),

позволяет получить линейную зависимость, характерную для полностью сформированного геля.

Из полученного графика следует, что для полностью сформированного геля желатина в рассмотренном интервале концентраций ферментного препарата каждому значению количества транглутаминазы в системе соответствует статистически достоверное, определенное и однозначное значение величины пенетрации. Таким образом, величина пенетрации данного геля является объективным индикаторным показателем, характеризующим процесс образования изопептидных связей под каталитическим действием ферментного препарата транглутаминазы и может быть использована для оценки эффективности коммерческих препаратов этого фермента (ЭКТ).

На основании результатов проведенных исследований можно рекомендовать следующие основные параметры количественной оценки эффективности катализа препарата транглутаминазы (ЭКТ):

Вид белкового гелеобразователя	Желатин по ГОСТ 1293, марки П-9
Дисперсионная среда	Фосфатно – боратный, фосфатный или трис буферный раствор с pH 7,4.
Концентрация гелеобразователя	10% с учетом массовой доли влаги
Массовая доля препарата транглутаминазы	0,5% с учетом массовой доли влаги
Продолжительность ферментации	24 часа
Температура ферментации	50°C
Температура инактивации фермента	90°C
Продолжительность инактивации фермента	30 минут
Продолжительность формирования ферментированного геля	12 часов
Температура формирования ферментированного геля	25°C

Значение эффективности катализа препарата транглутаминазы (ЭКТ), для устранения влияния технических особенностей измерительного прибо-

ра (пенетromетра), целесообразно рассчитывать по уравнению:

$$\text{ЭКТ} = \frac{P_c - P_\phi}{P_\phi} \cdot m, \text{ г}^{-1}$$

где P_c - величина пенетрации 10% геля желатина без добавления препарата транглутаминазы (образец сравнения), ед. пенетрации; P_ϕ - величина пенетрации 10% геля ферментированного желатина, ед. пенетрации; m - масса препарата транглутаминазы принятого для ферментации 100 г 10% раствора желатина.

Заключение

1. Разработана методика количественной оценки способности коммерческих препаратов транглутаминазы к катализу образования изопептидных связей по изменению величины пенетрации стандартизованного белкового геля.

2. Выявлено, что для определения эффективности катализа препарата транглутаминазы целесообразно использовать в качестве «стандарт-

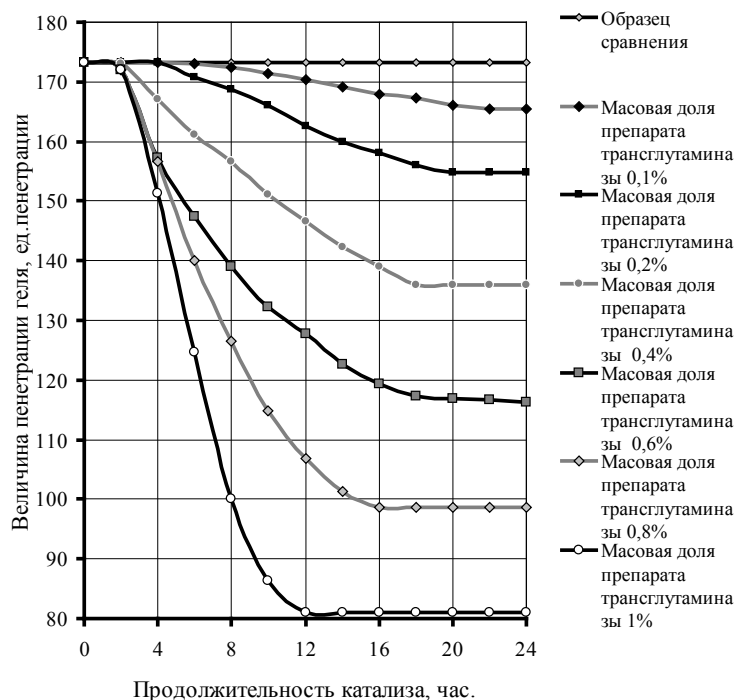


Рис.2. Динамика пенетрации геля желатина, сформированного с участием препарата транглутаминазы Activa® GS

ного» 10%-ный раствор желатина пищевого марки П-9. Гель из этого раствора достигает максимальной постоянной прочности после 10-12 часов инкубирования при температуре 25°C.

3. Установлено, что прочность «стандартных» гелей желатина изменяется по линейному закону в зависимости от массовой доли введенного в систему препарата транглутаминазы в диапазоне

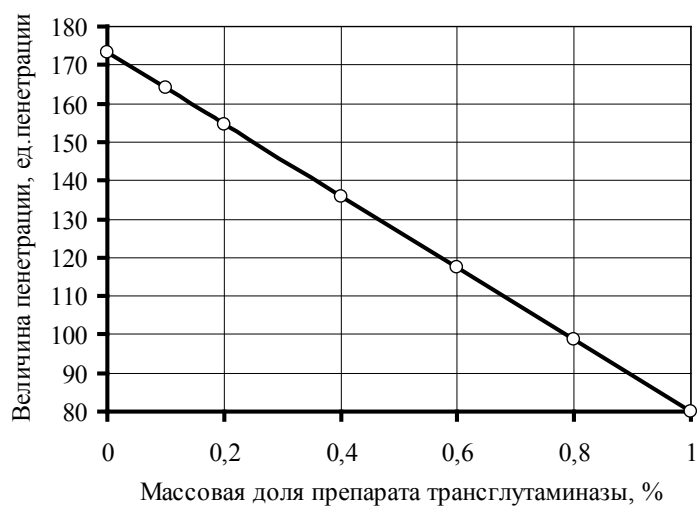


Рис.3. Зависимость величины пенетрации геля желатина от массовой доли ферментного препарата

его концентраций до 1%. Величина пенетрации полученных гелей обратно пропорциональна количеству введенного ферментного препарата.

4. С целью количественной оценки эффективности препарата транsgлутамінази в широком диапазоне значений массовая доля ферментного препарата должна составлять 0,5%

5. Показано, что для развития каталитического процесса формирования изопептидных связей в 10% растворах желатина и с концентрацией ферментного препарата транsgлутамінази до 1% достаточная продолжительность термостатирования при 50°C составляет 24 часа. Для полного формирования геля при температуре 25°C необходимо инкубирование образцов в течение 12 часов.

ЛИТЕРАТУРА

1. **Yokoyama K, Nio N and Kikuchi Y.** Properties and applications of microbial transglutaminase // Appl. Microbiol. Biotechnol.– 2004.– 64.– P. 447–454.
2. **Zhu Y., Rinzema A., Tramper J. and Bol J.** Microbial transglutaminase – a review of its production and application in food processing // Appl Microbiol Biotechnol.– 1995.– 44.– P. 277–282
3. **Motoki M. and Seguro K.** Transglutaminase and its use for food processing // Trends Food Sci Technol.– 1998.– 9.– P. 204–210.
4. **Nielsen G. S., Petersen B. R. and Miller A. J.** Impact of salt, phosphate and temperature on the effect of a transglutaminase (F XIIIa) on the texture of restructured meat // Meat Sci.– 1995.– 41.– P. 293–299.
5. <http://www.ajinomotoeurope.com/en/apfoods.html>
6. <http://www.revadainter.ru/food/bdfnatura/tsglutamin/>



Щорічно сільське господарство, переробні та харчові виробництва АПК споживають 4,7-5,5 млн. тонн дизельного палива. Підвищення енергозабезпечення цих підприємств можливе за рахунок більш широкого використання доступних поновлюваних сировинних джерел, зокрема перетворюючи біомасу в рідке і газоподібне паливо.[1]. Повне або часткове заміщення традиційного палива дизельним біопаливом, виготовленим із жирової сировини тваринного походження, могло б сприяти істотному зниженню собівартості продукції харчових і переробних підприємств [3].

Загострюються і екологічні проблеми, пов'язані з використанням традиційних моторних палив. У загальному балансі забруднень навколишнього середовища частка двигунів внутрішнього згорання перевищує 70% [4].

Для виробництва дизельного біопалива переважно використовують очищені рослинні олії, які містять тригліцериди з малим вмістом вільних жирних кислот (ВЖК). Такі олії, наприклад, соєва і ріпакова, дорогі і, як правило, частка вартості сировини становить 60 - 80% від загальної собівартості біопалива. У зв'язку з цим дизельне біопаливо, вироблене з таких олій, комерційно неконкурентоспроможне порівняно з мінеральним дизельним паливом.

На відміну від рослинних олій тваринні жири з більшою кількістю ненасичених жирних кислот дають змогу одержувати якісне паливо з високим цетновим числом.

Водночас зараз існує проблема утилізації жирових відходів, що накопичуються на пе-