

УДК 664.6

# Білково-протеїназний комплекс безглютенового тіста в присутності молочних білків



**І. ГАЛЯСНИЙ**, аспірант

**Т. ГАВРИШ**, канд.техн.наук

**О. ШАНИНА**, докт.техн.наук

Харківський національний технічний університет сільського господарства ім.Петра Василенка

**Анотація.** Вивчено взаємодію між білковими макромолекулами безглютенових видів борошна та їх суміші на основі експериментальних досліджень молекулярно-масового розподілу білкових речовин. Проведено порівняльний аналіз змін фракційного складу білків борошняного тіста з різними видами борошняної сировини та рідких фаз.

**Ключові слова:** безглютенове тісто, білковий комплекс, білкова фракція, міжмолекулярна взаємодія.

**Research the state of the protein complex gluten-free bread dough with milk proteins. Ivan V. Haliasnyi, Tetyana V. Gavrish, Olga M. Shanina (Petro Vasylenko Kharkiv National Technical University of Agriculture, Kharkiv).**

**Abstract.** The article describes the impact of possible interactions between the protein macromolecules of gluten-free flours and their mixtures. Based on experimental data, it was counted the molecular weight of various proteins. Also the comparative analysis of changes in the fractional composition of the flour dough proteins with a different liquid phase and different types of flour was carried out.

**Key words:** gluten-free dough, protein complex, protein fraction, intermolecular interaction.



Білкові речовини борошна та їх властивості мають вирішальне значення у формуванні структури тіста та випеченої продукції. Дослідженню гідратованих клейковинних білків присвячено роботи дуже багатьох авторів. У науковому суспільстві сформувалась думка, що окремі фракції клейковини певним чином зв'язані між собою, а не складають просту суміш [1]. Доведено, що фізичні властивості клейковини визначаються колоїдно-хімічним станом білків, хімічним складом, величиною співвідношення «гліадін/глютенін», ферментативною атакованістю білків, фізико-хімічними особливостями побудови макромолекул клейковинних білків та утворенням своєрідної просторової структури з білкових макромолекул.

Відомо, що середній хімічний склад клейковинних білків є сталим незалежно від реологічних властивостей клейковини, тому причину змінної якості клейковинних білків потрібно шукати у внутрішній структурі макромолекул білка, на різних рівнях його просторової організації, у щільності упакування поліпептидних ланцюгів, у міцності внутрішньо- та міжмолекулярних зв'язків [3].

Питання вивчення реологічних властивостей тіста з безглютенової борошняної сировини, а також можливості їх регулювання додаванням поліпшуючих добавок присвячено значно меншу кількість наукових робіт. Вони стосуються, зокрема, застосування ферментних препаратів разом з білковими добавками [2] або гідролоїдів [4], приготування борошняних сумішей [5].

Метою досліджень є вивчення стану білкового комплексу безглютенового тіста з використанням різних видів борошна у присутності молочних білків.

Узагальнення даних проводили, базуючись на експериментальних дослідженнях молекулярно-масового розподілу (ММР) білкових речовин.

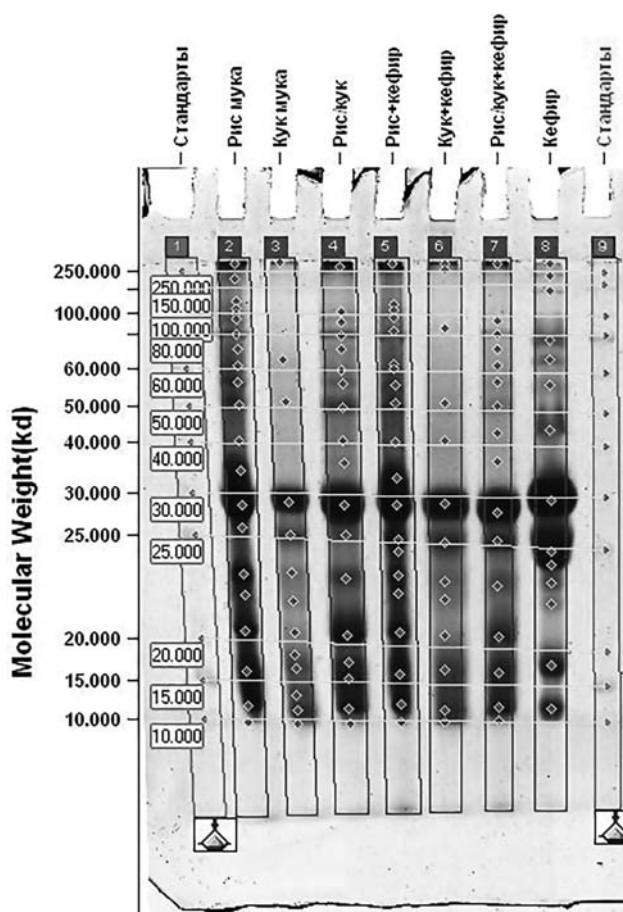
Молекулярно-масовий розподіл характеризує полімолекулярність або полідисперсність білків. Це виявляється в тому, що будь-який полімер може бути представлений низкою окремих фракцій, що складаються з макромолекул приблизно однакового розміру. За зміною числа таких фракцій можна одержати інформацію про можливі взаємодії між білковими макромолекулами сировини.

Дослідження зміни фракційного складу білків борошняного тіста проводили з різною рідкою фазою та різним видом борошняної сировини. За модельні системи розглядали борошно рисове (Б<sub>рис</sub>), кукурудзяне (Б<sub>кук</sub>) та їх суміш у співвідношенні 70/30 % (Б<sub>рис</sub>/Б<sub>кук</sub> 70/30) відповідно, як рідку фазу тіста обрали воду та кефір. Результати наведено на рис. 1-5, табл. 1-3.

На підставі зображення (рис. 1) визначено молекулярну масу кожної смуги індивідуальних білків. Результати представлено у табл. 1.

Аналіз диференційних кривих молекулярно-масового розподілу (рис. 2) свідчить про їх полімодальний характер та про наступні особливості у зразках двох різних видів борошна та їх суміші:

– Б<sub>рис</sub> має пік 18, який практично відсутній у Б<sub>кук</sub> (пік 8) та помітно зростає у суміші Б<sub>рис</sub>/Б<sub>кук</sub> 70/30 (пік



**Рис. 1. Електрофоретичний поділ білків (10–250 kDa) в безглютеновому тісті на воді (зразки 2–4) та кефірі (зразки 5–7):**  
2, 5 - Б<sub>рис</sub>; 3, 6 - Б<sub>кук</sub>; 4, 7 - Б<sub>рис</sub>/Б<sub>кук</sub> 70/30;  
8 - кефір; 1, 9 - стандарти

14). Це вказує на збільшення частки фракції з молекулярною масою близькою до 20 kDa;  
– аналогічна тенденція відмічається для піків

Таблиця 1

**Наявні піки на диференційних кривих ММР зразків тіста з різною борошняною сировиною та рідкою фазою**

Зразок	Піки на диференційних кривих ММР		
	До 30 kDa	вище 30 kDa до 100 kDa	вище 100 kDa
<b>Рідка фаза тіста – вода</b>			
Б <sub>рис</sub>	9,1; 16,1; 20,4; 22,1; 23,2; 26,0; 28,7	34,5; 40,5; 50,6; 56,7; 62,4; 71,6; 80,7; 94,4; 99,2	108,4; 122,6; 207,5; 296,2
Б <sub>кук</sub>	9,4; 11,2; 13,1; 16,6; 18,2; 20,4; 21,9; 23,3; 25,3; 29,1	51,5; 65,3	303,8
Б <sub>рис</sub> /Б <sub>кук</sub>	9,6; 11,5; 15,5; 17,6; 20,3; 23,2; 25,6; 28,8	36,3; 41,0; 50,2; 56,7; 60,1; 71,8; 79,1; 92,8	103,8; 283,7
<b>Рідка фаза тіста – кефір</b>			
Б <sub>рис</sub> +К	9,8; 12,2; 16,1; 20,6; 28,9	33,3; 40,7; 51,6; 56,5; 61,1; 63,6; 83,2; 96,7	106,7; 117,5; 301,4
Б <sub>кук</sub> +К	10,1; 11,9; 16,6; 20,5; 23,0; 25,5; 28,4	37,0; 43,8; 51,4; 57,4; 63,8; 72,4; 81,6; 94,9	304,6
Б <sub>рис</sub> /Б <sub>кук</sub> + К	11,9; 17,9; 22,2; 23,2; 24,1; 24,8; 29,6	44,6; 56,7; 67,2; 67,2; 77,4	139,5; 224,1; 314,5

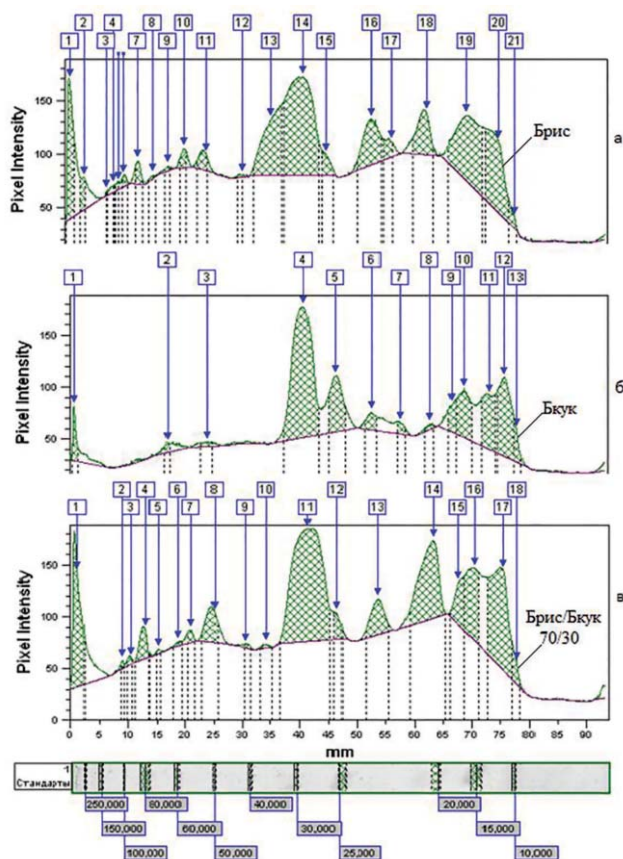
11 ( $B_{рис}$ ) та 8 ( $B_{рис}/B_{кук}$ ) для фракції близької до 50 kDa;

– дуже помітно збільшується висота піків 4 (79,1 kDa) у зразка суміші порівняно з піком 7 (80,7 kDa) у зразка  $B_{рис}$ , враховуючи, що у зразка  $B_{кук}$  він зовсім відсутній;

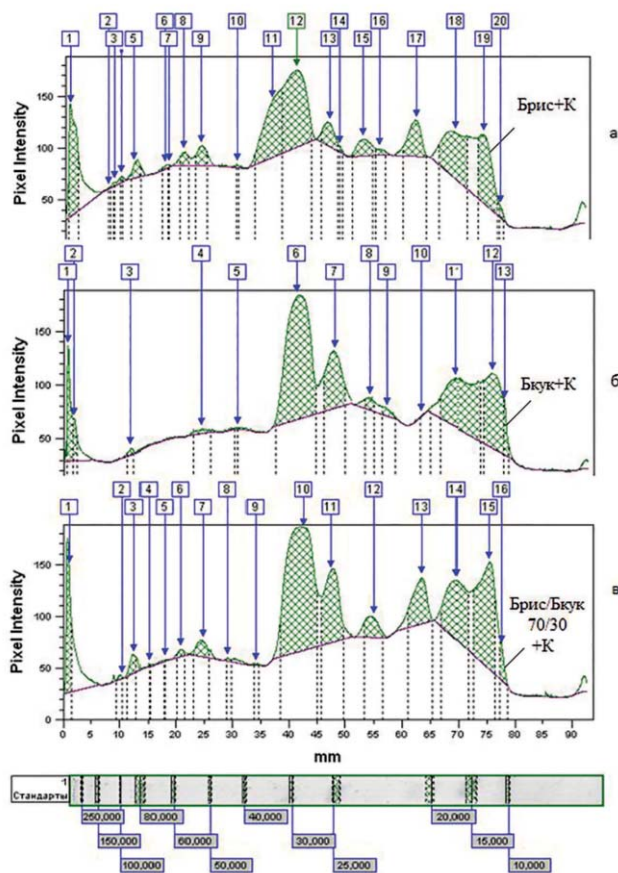
– зростає інтенсивність і ширина піку 1, а також відбувається зсув максимуму цього піку в бік меншої молекулярної маси у зразка  $B_{рис}/B_{кук}$  (283 kDa) порівняно з аналогічними піками  $B_{рис}$  (296 kDa) та  $B_{кук}$  (303 kDa);

– зменшується загальна площа піків 10-12 (суміш) порівняно з  $B_{рис}$  (піки 12-15) та  $B_{кук}$  (піки 4-5), що відповідає молекулярній масі 25-29 kDa.

У присутності кефіру (рис. 3) виявлено деякі відмінності, а саме: зростає інтенсивність піків 11, 12 та 13 (в інтервалі 20-25 kDa) у зразка тіста з борошняної суміші порівняно зі зразками з окремих видів борошна; крім того, зростає інтенсивність та відбувається зміщення максимуму піка 1 в бік більших молекулярних мас ( $B_{рис}/B_{кук}$  – 314 kDa,  $B_{рис}$  – 296 kDa,  $B_{кук}$  – 303 kDa).



**Рис. 2. Криві MMR зразків тіста на воді:**  
а - борошно рисове ( $B_{рис}$ ); б - борошно кукурудзяне ( $B_{кук}$ );  
в - суміш  $B_{рис}/B_{кук}$  70/30 %.



**Рис. 3. Криві MMR зразків тіста на кефірі:**  
а - борошно рисове ( $B_{рис}+К$ ); б - борошно кукурудзяне ( $B_{кук}+К$ ); в - суміш ( $B_{рис}/B_{кук}$  70/30%+К).

Для пояснення вказаних відмінностей порівнювали встановлені дані з результатами аналізу, проведеному в табл. 2.

Додатково розраховували кількість білкових фракцій для суміші (рядок «Суміш Брис/Бкук 70/30 розрахунок»), який ілюструє суму кожної з чотирьох білкових фракцій обох видів борошна, взята у відповідному співвідношенні (70/30), інакше кажучи, коли взаємодія між цими видами борошна виключена. Дані з цього рядка порівнювали з рядком «Суміш Брис/Бкук 70/30 – експеримент», коли така взаємодія між білками борошна в тісті з борошняної суміші є можливою.

Розходження даних з цих двох рядків свідчить про те, що міжмолекулярні білкові взаємодії відбуваються, тим більші, чим більшим є відхилення (що дає змогу оцінити відносне відхилення).

У зразка тіста з борошняної суміші на воді дуже істотно зменшується вміст водорозчинної фракції (майже вдвічі) з одночасним зростанням вмісту більш високомолекулярних фракцій, розчинних у спирті та лузі (більш, ніж на 25%). Інакше кажучи, між білковими макромолекулами (у першу чергу, з низькою мо-

Таблиця 2

**Фракційний склад білків тіста з різною борошняної сировиною та рідкою фазою**

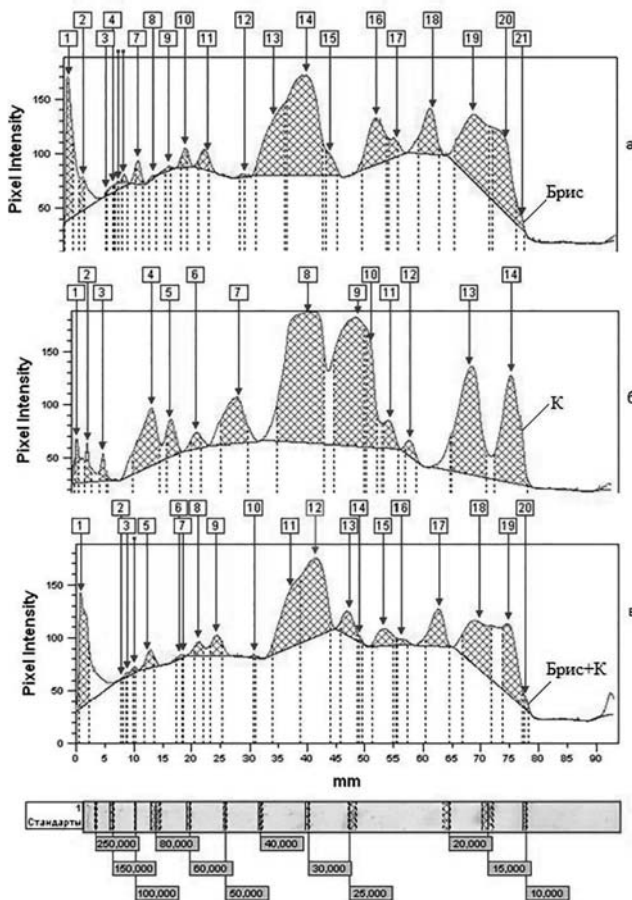
Особливості складу зразка	Білкові фракції (мг білка / г матеріалу) розчинні			
	у воді	у солі	у спирті	у лузі
<b>Рідка фаза тіста – вода</b>				
Борошно рисове	9,66	0,46	12,76	7,34
Борошно кукурудзяне	6,56	0,31	37,45	2,7
Суміш Б <sub>рис</sub> /Б <sub>кук</sub> 70/30- експеримент	5,77	0,38	24,24	6,54
Суміш Б <sub>рис</sub> /Б <sub>кук</sub> 70/30 розрахунок	8,73	0,42	20,17	5,95
Відхилення (експ.-розн.) абсолютне	-3,0	0,04	4,1	0,6
Відхилення (експ.-розн.) відносне, %	-51,3	-9,2	16,8	9,1
<b>Рідка фаза тіста – кефір</b>				
Борошно рисове	9,64	0,31	23,15	4,24
Борошно кукурудзяне	7,02	0,39	38,59	4,29
Суміш Б <sub>рис</sub> /Б <sub>кук</sub> 70/30 експеримент	8,69	0,30	29,10	4,16
Суміш Б <sub>рис</sub> /Б <sub>кук</sub> 70/30 – розрахунок	8,85	0,33	27,78	4,26
Відхилення (експ.-розн.) абсолютне	-0,2	0,0	1,3	-0,1
Відхилення (експ.-розн.) відносне, %	-1,9	-11,3	4,5	-2,3

лекулярною масою) різних видів борошна в тісті відбуваються взаємодії з утворенням високомолекулярних фракцій.

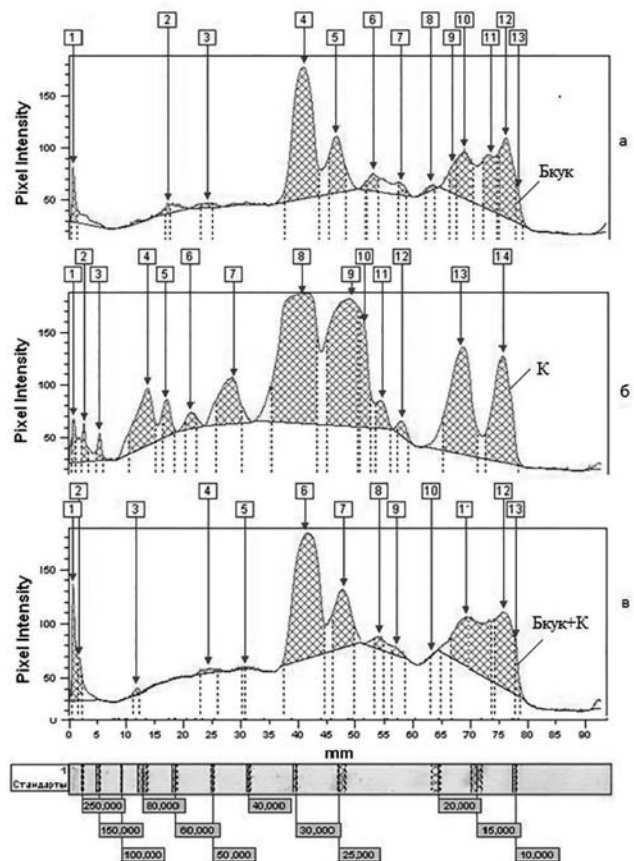
У разі додавання кефіру в тісто описані вище тенденції виражені слабше (зниження вмісту низькомолекулярних фракцій - альбумінової та глобулінової – сумарно дорівнює близько 13 %, а зростання високомолекулярних фракцій (стосується лише спирторозчинної фракції) – зростає на 4,5%.

Таку різницю можна пояснити, аналізуючи дані з рис. 4-5, на яких наведено криві ММР для тіста з окремого виду борошна на воді та на кефірі, а також крива ММР власне білків кефіру.

Як видно, за додавання кефіру в тісто з Брис пік 1 (рис. 4, в) помітно зменшується, а в тісто з Бкук, навпаки, зростає (піки 1 та 2 – рис. 5, в).

**Рис. 4. Криві ММР зразків:**

а - тісто з борошна рисового на воді (Б<sub>рис</sub>);  
б- кефір (К);  
в - тісто з борошна рисового на кефірі (Б<sub>рис</sub>+К).

**Рис. 5. Криві ММР зразків:**

а - тісто з борошна кукурудзяного на воді (Б<sub>кук</sub>);  
б- кефір (К);  
в - тісто з борошна кукурудзяного на кефірі (Б<sub>кук</sub>+К).

Таблиця 3

**Вміст азоту в зразках тіста з різною борошняною сировиною та рідкою фазою**

Зразок	Вміст азоту, мг/г матеріалу,		
	загального	білкового	залишкового
<b>Рідка фаза тіста – вода</b>			
Борошно рисове	12,77	12,28	0,49
Борошно кукурудзяне	11,79	11,05	0,74
Суміш Б <sub>рис</sub> /Б <sub>кук</sub> 70/30 (експеримент)	12,52	11,79	0,74
Суміш Б <sub>рис</sub> /Б <sub>кук</sub> 70/30 (розрахунок)	12,47	11,91	0,56
Відхилення (експ.-розн.) абсолютне	0,04	-0,12	0,17
Відхилення (експ.-розн.) відносне	0,35	-1,03	23,65
<b>Рідка фаза тіста – кефір</b>			
Борошно рисове	16,25	15,43	0,81
Борошно кукурудзяне	15,16	14,08	1,08
Суміш Б <sub>рис</sub> /Б <sub>кук</sub> 70/30 (експеримент)	15,43	14,62	0,81
Суміш Б <sub>рис</sub> /Б <sub>кук</sub> 70/30 (розрахунок)	15,92	15,02	0,89
Відхилення (експ.-розн.) абсолютне	-0,49	-0,40	-0,08
Відхилення (експ.-розн.) відносне	-3,1	-2,7	-9,1

Очевидно, більшою мірою відбувається взаємодія між білками борошна та кефіру (які знаходяться в добре гідратованому стані), ніж між білками різних видів борошна (які потрапляють в тісто в сухому вигляді і потребують певного часу для гідратації, що полегшує міжмолекулярні взаємодії у білкових макромолекулах).

Як підтверджують дані, наведені у табл. 3, загальний вміст азоту в тісті на кефірі є вищим, що пояснюється наявністю додаткової кількості молочних білків у тісті. При цьому відхилення щодо загальної кількості білкового азоту у зразках тіста з борошняної суміші практично не змінюється (знаходиться в межах допустимої похибки).

**Висновки**

Узагальнюючи вищевикладене, можна обґрунтовано стверджувати, що в тісті з безглютенової борошняної сировини відбуваються міжмолекулярні взаємодії між макромолекулами різних видів борошна. Якщо в якості рідкої фази тіста застосовувати кефір, який є джерелом добре гідратованих молочних білків, то взаємодії відбуваються в першу чергу між білками борошна та кефіру. Внаслідок таких взаємодій змінюється молекулярно-масовий розподіл між окремими фракціями білків у тісті з утворенням більш високомолекулярних фракцій.

Власне високомолекулярна фракція білків потребує додаткової уваги та пояснень. Деякі дослідники навіть вважають глютеніни найважливішим детермінантом

структури та еластичності тіста, а також якості пшеничного борошна [6].

Подальшими дослідженнями встановлено, що хлібопекарська якість борошна пшеничного має тісний взаємозв'язок із складом субодниць з молекулярною масою у діапазоні від 90 до 140 kDa, так званих високомолекулярних глютенінів [7]. Як свідчать результати наших досліджень, зростає пік близький до 80 kDa (пік 4 зразка Брис/Бкук 70/30 %).

Можна припустити, що збільшення частки фракції, подібної високомолекулярним глютенінам пшениці, сприятиме збалансуванню хлібопекарських властивостей безглютенової борошняної сировини у вигляді суміші дослідженого складу.

Якщо висунуті припущення щодо перетворень молекулярно-масового розподілу фракцій білкових макромолекул у присутності добавок є вірними, вони можуть супроводжуватись певними змінами конформаційного стану білків та мають бути підтвержені ІЧ-спектроскопічним аналізом.

**Література**

1. **Конарев В. Г.** Белки пшеницы – М. : Колос, 1980. – 351 с.
2. **Лобачова Н. Л.** Технологія безглютенових хлібобулочних виробів з використанням колагенвмісних білків та трансглютамінази : дис. канд. техн. наук : 05.18.01 / Лобачова Надія Леонідівна – Харків, 2015. – 163 с.
3. **Сафонова О. М.** Наукове обґрунтування та розроблення технологій борошняних кондитерських і хлібопекарських продуктів з використанням нетрадиційної борошняної сировини : дис. докт. техн. наук : 05.18.01 / Сафонова Ольга Миколаївна – Київ, 2007. – 302 с.
4. **Anton A. A., Artfield S. D.** Hydrocolloids in gluten-free breads: a review // *International Journal of Food Science and Nutrition*. – 2007. – Vol. 59. – P. 11–23.
5. **Brites C., Trigo M. J., Santos C. et al.** Maize-based gluten-free bread: influence of processing parameters on sensory and instrumental quality // *Food and Bioprocess Technology*. – 2010. – Vol. 3. – P. 707–715.
6. **Bietz J. A., Wall J. S.** Identity of high molecular weight gliadin and ethanol – soluble glutenin subunits of wheat: relation to gluten structure // *Cereal Chem.* – 1980. – Vol. 57, No 2. – P. 415–421.
7. **Payne P. J., Holt L. M., Jackson E. A. et al.** Wheat storage proteins their genetics and their potential for manipulation by plant breeding // *Philosophical Transactions of the Royal Society of London*. – 1984. – Vol. 304. – P. 359–371.