

УДК 664.8.022.6

К.В.ЗУБКОВА

Херсонський національний технічний університет

ВИЗНАЧЕННЯ КОНСТАНТИ ДЕСТРУКЦІЇ γ -АМІНОМАСЛЯНОЇ КИСЛОТИ В ПРОЦЕСІ ТЕПЛОВОЇ ОБРОБКИ ОВОЧЕВИХ КОНСЕРВІВ

Наведено результати досліджень параметрів теплової обробки овочевих консервів при різних показниках рН у сталому температурному полі з метою визначення константи деструкції γ -аміномасляної кислоти (ГАМК).

За отриманими даними встановлена залежність константи деструкції γ -аміномасляної кислоти від величини рН.

Ключові слова: константа деструкції, період напіврозпаду, γ -аміномасляна кислота, глутамінова кислота, глутаматдекарбоксилаза, гарбуз, напої.

Е.В.ЗУБКОВА

Херсонский национальный технический университет

ОПРЕДЕЛЕНИЕ КОНСТАНТЫ ДЕСТРУКЦИИ γ -АМИНОМАСЛЯННОЙ КИСЛОТЫ В ПРОЦЕССЕ ТЕПЛОВОЙ ОБРАБОТКИ ОВОЩНЫХ КОНСЕРВОВ

Приведены результаты исследований параметров тепловой обработки овощных консервов при разных показателях рН в постоянном температурном поле с целью определения константы деструкции γ -аминомасляной кислоты (ГАМК). По полученным данным установлена зависимость константы деструкции γ -аминомасляной кислоты от величины рН.

Ключевые слова: константа деструкции, период полураспада, γ -аминомасляная кислота, глутаминовая кислота, глутаматдекарбоксилаза, тыква, напиток.

K.V.ZUBKOVA

Kherson National Technical University

DETERMINATION OF CONSTANT DESTRUCTION OF γ -AMINOBUTYRIC ACID DURING THERMAL TREATMENT CANNED VEGETABLES

The results of researches of parameters of thermal treatment canned vegetables by different index pH of stable temperature with the aim of determination of constant of destruction of γ -aminobutyric acid (GABA). According to information received set dependence of constant of destruction of γ -aminobutyric acid from index pH.

Keywords: constant of destruction, period of half-disintegration, gamma aminobutyric acid, glutamic acid, glutamatedecarboxylase, pumpkin, beverages.

Постановка проблеми

Світова тенденція здорового способу життя росте з кожним роком, і диктує її саме життя. Загрозливий стан навколишнього середовища, стреси, неправильне харчування – ці фактори змушують споживача робити вибір у бік корисного [1, 2]. Продукти харчування, які завдяки добавкам або певним технологіям виробництва володіють лікувально-профілактичними властивостями, сьогодні у всьому світі користуються підвищеним попитом. Оскільки, харчування в Україні носить в основному вуглеводно-жировий характер, існує дефіцит по ряду біогенних речовин, тому його структура, за оцінкою фахівців, потребує істотної корекції. Використання ж натуральних продуктів має ряд переваг, оскільки компоненти цих продуктів знаходяться у вигляді природних сполук, у тій формі, яка краще засвоюється організмом. Медики багатьох країн, у тому числі і України, визначають напої як оптимальну форму харчового продукту, що використовується для збагачення організму людини біологічно-активними речовинами. Вітчизняний ринок збагачених соків та напоїв є досить молодим і розвивається динамічно. Наразі, якщо у країнах зі сталими ринками рівень росту даного сегменту близько 6 %, то в Україні цей показник збільшується на 25...30 % кожний рік [3]. Отримання біологічно активних речовин з природних джерел саме рослинного походження є однією з актуальних задач сучасної біотехнології. Аналіз біохімічного складу фруктів та овочів показує, що вони можуть бути джерелом збагачення харчових продуктів такими біологічно активними речовинами, як харчові волокна, вітаміни, антиоксиданти, органічні кислоти, мінеральні речовини. Серед таких функціональних нутрієнтів є γ -аміномасляна кислота (ГАМК), що є амінокислотою та нейромедіатором центральної нервової системи

людини і свавців [1]. ГАМК приймає участь у багатьох метаболічних перетвореннях, із яких найбільше значення мають пов'язані з обміном дикарбонових амінокислот і глюкози, в регулюванні фізіологічного стану нервової системи, впливаючи на активність нейронів і синаптичну передачу в них, обумовлює гальмівний ефект, тобто відіграє роль нейромедіатора. В дозах 0,5...2 г на добу ГАМК допомагає покращувати мову і відновлювати втрачену пам'ять у людей, що пережили інсульт. Крім того, було виявлено, що в тих же кількостях вона зменшує вміст цукру в крові, а в дозах 3 г на добу, здатна знижувати кров'яний тиск і підтримувати серцеву діяльність [4]. Для зниження тривожності і дратівливості зазвичай добре допомагають дози від 1 г до 2 г ГАМК на добу. У хворих шизофренією і хворобою Альцгеймера також виявляється дефіцит γ -аміноасляної кислоти.

Згідно досліджень мелатонін підвищує вміст γ -аміноасляної кислоти і серотину в середньому мозку і гіпоталамусі [4]. Глутамін і ефірні олії валеріани також впливають на збільшення концентрації γ -аміноасляної кислоти [5]. Основним джерелом ГАМК може бути рослинна сировина в якій дана амінокислота знаходиться у вільному стані. Збільшити кількість її у рослинних тканинах можна шляхом змінювання обміну речовин в сировині. Таким чином можна отримати продукти з підвищеним вмістом γ -аміноасляної кислоти, без внесення її ззовні.

Оскільки кінцевим етапом у виробництві будь-якого виду консервів є теплова стерилізація (пастеризація), то для досягнення заданого вмісту ГАМК у готовому продукті необхідно визначити константу деструкції ГАМК (K), яка є зворотною величиною від D_t - час необхідний для зниження вмісту ГАМК на 90 % або у 10 разів.

Аналіз останніх досліджень і публікацій

Існує багато способів отримання ГАМК. Відомі хімічні методи синтезу ГАМК та способи отримання ГАМК мікробіологічним синтезом [6,7]. Після 90 год вирощування штамів *Bact. cadaveris* ATCC 9760 і *E. coli* ATCC 9637 в культивованій рідині накопичується до 4 г/л ГАМК. Продукт з відсепарованої при рН 2,0 культуральної рідини виділяють методом іонообмінної хроматограми на установці Diaion SK1 (тип Н⁺). Вихід кристалічного продукту з культуральної рідини складає 35 %. Недолік даного способу – низький вихід ГАМК і довготривалість процесу [8, 9, 10].

Відомі способи отримання ГАМК шляхом ензиматичного декарбоксілювання L-глутамінової кислоти, де в якості каталізатора реакції застосовують клітини мікроорганізмів, що містять L-глутаматдекарбоксілазу [11], а також іммобілізована GAD [12].

Недоліком способів є низька глутаматдекарбоксілазна активність клітин і додаткова процедура виділення і очищення GAD для іммобілізації.

Також існує спосіб отримання ГАМК декарбоксілюванням L-глутамінової кислоти клітинами бактерій *Arthrobacter simplex* [12]. Недоліком даного способу є невелике накопичення біомаси, довгий період росту і високі витрати біомаси на отримання ГАМК (0,43 г сухої біомаси на 1 г продукту) внаслідок низької глутаматдекарбоксілазної активності штаму, що використовується.

З лікувально-профілактичною метою також може бути використана їжа, що збагачена ГАМК. Відомі різні продукти, що отримані з рослин, збагачених ГАМК. До них відносяться листя чаю [13], листя кави [14], нитковидні гриби [15], порошок та сік рослин виду *Brassicaceous* [16]. ГАМК знайдена у багатьох рослинах у вільному стані. Прикладом може служити ГАБА-чай. Це чорний по європейській класифікації чай, при виробництві якого, на етапі ферментації, різко обмежується доступ кисню. В результаті цього повністю змінюється характер біохімічних перетворень, що відбуваються в чайному листі, і після такої «безкисневої» ферментації в них накопичується значна кількість γ -аміноасляної кислоти.

Задачею даних досліджень, є розробка способу виробництва овочевих соків та напоїв, що містять більш високі концентрації ГАМК, ніж початкова сировина за відносно простими технологічними схемами без використання зовнішніх добавок глутамінової кислоти та визначення константи деструкції ГАМК для досягнення заданого вмісту ГАМК у готовому продукті [17].

Формулювання мети дослідження

Метою дослідження є визначення константи деструкції та періоду напівпропаду ГАМК в овочевих соках і напоях з підвищеним вмістом γ -аміноасляної кислоти з метою встановлення часу стерилізації досліджуваних консервів при заданій температурі для досягнення заданого вмісту ГАМК у готовому продукті.

Викладання основного матеріалу дослідження

На основі аналітичних та експериментальних досліджень згідно програми проведення досліджень (рис.1) розроблена технологія овочевих соків і напоїв з підвищеним вмістом γ -аміноасляної кислоти, проведена промислова апробація розроблених технологій соків і напоїв, розроблено проект нормативних і технологічних документів та проведено розрахунок економічної ефективності від провадження розробленої технології.

Кінцевим етапом у виробництві будь-якого виду консервів є теплова стерилізація (пастеризація), що здійснюється при різному температурному режимі і різній тривалості процесу. Оскільки рецептури

розроблених соків і напоїв з підвищеним вмістом ГАМК за величиною рН та вмістом сухих речовин для мікробіологічного контролю відносяться до групи А (гарбузовий напій, морквяний та буряковий соки) з величиною рН $4,4 \pm 0,2$ і групи Б (томатний сік), то стерилізацію цих продуктів здійснюють при температурі 120°C . Тому нами було проведено дослідження впливу теплової обробки модельних розчинів ГАМК у температурному полі 120°C на ступінь деструкції ГАМК.



Рис. 1. Програма проведення досліджень

Відомо, що більшість амінокислот стабільні в умовах кислотного гідролізу білків (20 % розчин HCl, температура 105°C). Такими амінокислотами є серин, треонін, тирозин, фенілаланін. При лужному гідролізі руйнується майже повністю такі амінокислоти як цистеїн, цистин, метіонін, триптофан. Інформаційні відомості про руйнування ГАМК при різних показниках рН середовища відсутні [18-20].

Для вивчення кінетики руйнування ГАМК у якості модельного розчину обраний розчин з масовою часткою ГАМК 0,2 %, при рН = 3,0...7,0. Термічна деструкція досліджена (по аналогії з реальними умовами стерилізації овочевих консервів) при температурі 120°C і тривалості 20..40 хв [21-22].

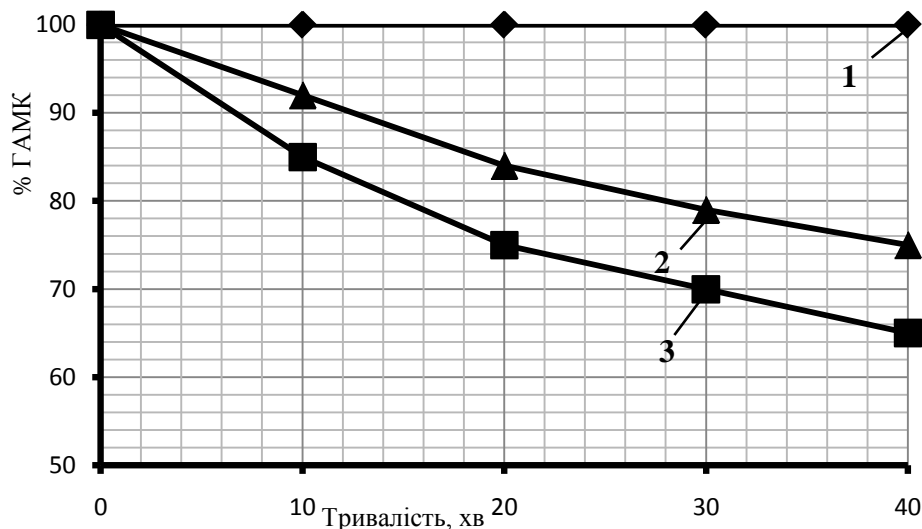


Рис. 2. Зміна вмісту ГАМК у в стаціонарному температурному полі (120°C)
1 – рН = 3,0; 2 – рН = 4,0; 3 – рН = 6,5

Для досягнення заданого вмісту ГАМК у готовому продукті необхідно визначити константу швидкості руйнування ГАМК (K), яка є зворотною величиною від Dt - час необхідний для зниження вмісту ГАМК на 90 % або у 10 разів.

Руйнування ГАМК в стаціонарному температурному полі ($120\text{ }^{\circ}\text{C}$) при значенні рН 3,0, 4,0 та 6,5 наведено на рис.2.

Крива зміни вмісту ГАМК має експоненціальний характер (окрім кривої з рН = 3,0), тобто відповідає кінетиці хімічної реакції першого порядку.

Для визначення константи швидкості руйнування ГАМК (K) будували у напівлогарифмічній системі координат відповідний графік: на осі абсцис - тривалість проведення процесу, на осі ординат – $\lg \gamma$ (% вміст ГАМК), рис. 3.

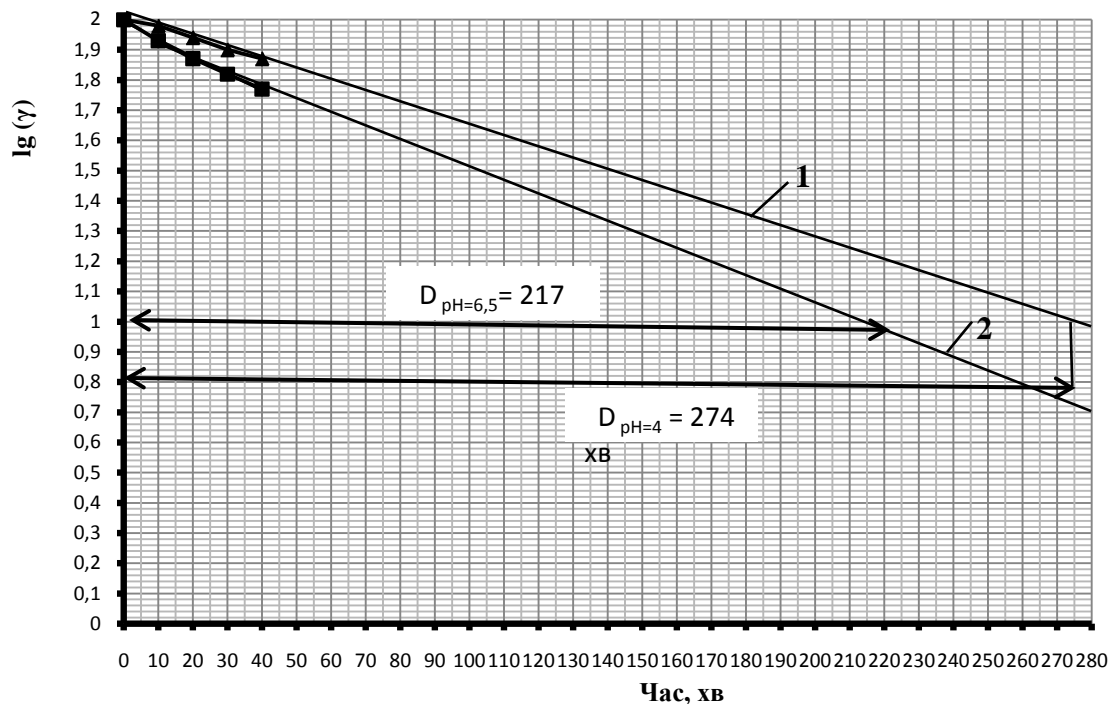


Рис. 3. Крива зміни вмісту ГАМК при температурі $120\text{ }^{\circ}\text{C}$ і значенні рН = 4,0, рН = 6,5

Вихідні та розрахункові дані для визначення константи D для температури $120\text{ }^{\circ}\text{C}$ і значенні рН = 6,5 та рН = 4,0 наведено у табл. 1-2.

Таблиця 1

Вихідні та розрахункові дані визначення константи D для температури $120\text{ }^{\circ}\text{C}$ і значенні рН = 6,5

п/п	Вихідні данні		Розрахункові данні		Уточнені координати
	x	Y	xy	x ²	
1	0	2,00	0	0	$y_1 = 1,99$
2	10	1,93	19,3	100	
3	20	1,87	37,4	400	
4	30	1,85	55,5	900	
5	40	1,81	72,4	1600	$Y_5 = 1,8$
n= 5	$\Sigma x = 100$	$\Sigma y = 9,46$	$\Sigma xy = 184,6$	$\Sigma x^2 = 3000$	

Константу $D_{pH=6,5}$ визначали графічно, як час проходження випрямленої кривої одного логарифмічного циклу: $D_{pH=6,5} = 217$ хв, відповідно період напіврозпаду ГАМК становить $D_{\tau/2} = 108,5$ хв (рис.3).

Константу швидкості руйнування ГАМК (К) визначали розрахунковим шляхом, як $K = \frac{1}{D}$,

$$K = 4,6 \cdot 10^{-3} \text{ хв}^{-1}.$$

Відповідні розрахунки проводили і при $pH=4,0$.

Таблиця 2

**Вихідні та розрахункові дані визначення константи D
для температури 120 °С і значенні pH = 4,0**

п/п	Вихідні данні		Розрахункові данні		Уточнені координати
	x	Y	xу	x ²	
1	0	2,00	0	0	$y_1 = 2,00$
2	10	1,98	19,8	100	
3	20	1,93	38,6	400	
4	30	1,9	57	900	
5	40	1,87	74,8	1600	$y_5 = 1,87$
n= 5	$\Sigma x = 100$	$\Sigma y = 9,68$	$\Sigma xy = 190,2$	$\Sigma x^2 = 3000$	

Константу $D_{pH=4,0}$ визначаємо графічно як час проходження випрямленої кривої одного логарифмічного циклу: $D_{pH=4,0} = 274$ хв, відповідно період напіврозпаду ГАМК становить $D_{\tau/2} = 137$ хв (рис.3).

Константу швидкості руйнування ГАМК (К) визначали розрахунковим шляхом, як $K = \frac{1}{D}$,

$$K = 3,7 \cdot 10^{-3} \text{ хв}^{-1} [114-115].$$

З рис. 2 і 3 та проведених розрахунків видно, що чим нижча величина pH, тим вища стійкість ГАМК. Це свідчить про те, що при pH розроблених соків і напоїв з підвищеним вмістом ГАМК у межах 4,0..4,5, втрати ГАМК протягом 40 хв (час власне стерилізації соків за чинними режимами) – не більше 30 %.

Висновки

1. На основі аналітичних та експериментальних досліджень розроблена технологія овочевих соків і напоїв з підвищеним вмістом γ -аміноасляної кислоти.

2. Встановлено, що константа швидкості руйнування γ -аміноасляної кислоти (К) найменша при температурі 120 ± 2 °С, $pH = 6,5$ ($K = 4,6 \cdot 10^{-3} \text{ хв}^{-1}$), тобто γ -аміноасляна кислота є досить стійкою амінокислотою в умовах промислової стерилізації при різних показниках pH, що дозволяє отримати необхідний вміст γ -аміноасляної кислоти у готовому продукті без додаткових витрат та без змін режиму теплової обробки досліджуваних соків і напоїв.

Список використаної літератури

- Преснякова, О. П. Проблемы производства и потребления соков [Текст] / О. П. Преснякова // Пиво и напитки. – 2004. – №6. – С. 4–5.
- Осипова, Л. А. Функциональные напитки [Текст] / Л.А. Осипова, Л.В. Капрельянц, О.Г. Бурдо. – О.: Друк, 2007. – 288 с.
- Ермолаева, Г. А. Сырьё для сокосодержащих напитков [Текст] / Г. А. Ермолаева // Пиво и напитки. – 2003. – № 4. – С. 44– 45.
- Варпаховская, И.В. Лекарства от всех болезней цивилизации [Текст] / И.В. Варпаховская, В.А. Сергеев // Ремедиум. – 2001. – № 7. – С.3 – 16.

12. Зубкова, К.В. Функціональні напої в концепції здорового харчування [Текст] / А.Т.Безусов, К.В.Зубкова // Харч. наука і технологія. – 2012. – № 4(13). – С.11-14.
13. Пат. 2241036 Российская Федерация, МПК 7 C12P 7/52, C12N 1/21, C12N 1/21, C12R1:19. Способ получения гамма-аминомасляной кислоты (ГАМК) [Текст] / Фомина С.А., Новикова А.Е., Лунц М.Г., Гусятинер М.М.; патентообладатель ЗАО «НИИ Аджиномото-Генетика». – № 2002116774/13; заявл. 25.06.2002; опубл. 27.11.2004.
14. 7. Глутаматдекарбоксилаза из *Escherichia coli*: экспрессия гена *gad A*, очистка и свойства GADa [Текст] / А.А. Шульга, Е.Л. Дарий, Ф.Т. Курбанов и др. // Молекуляр. биология. – 1999. – №4. – С.560—566
15. Сухарева, Б.С. Глутаматдекарбоксилаза: макромолекулярная структура и каталитические свойства [Текст] / Б.С.Сухарева // Физико-химические проблемы ферментативного катализа / ред. Ю.М. Торчинский. – М., 1984. – С. 185–210.
16. 9. Христофоров, Р.Р. Реакции декарбоксилирования и побочного трансминирования при взаимодействии глутаматдекарбоксилазы из *Escherichia coli* с аналогами субстрата, модифицированными по атомам С3 и С4 [Текст] / Р.Р. Христофоров, Б.С. Сухарева, Х.Б. Диксон // Биохимия. – 1996. – Т.61. – С.464—471.
17. 10. Preparation of γ -aminobutyric acid using *E. coli* cells with high activity of glutamate decarboxylase [Text] / R.R. Khristoforov, B.S. Sukhareva, H.B. Dixon et al. // Bioch. Molec.Biol. Intern. – 1995. – Vol. 36. – P. 77– 85.
18. 11. Губарев, Е.М. Способ получения γ -аминомасляной кислоты [Текст] / Е.М. Губарев // Биохимия. – 1960. – Т. 25, № 2. – С. 261–263.
19. Chessler, S.D. Alternative splicing of GAD67 results in the synthesis of a third form of glutamic-acid decarboxylase in human islets and other non-neural tissues [Text] / S. Chessler, A. Lernmark // J. Biol.Chem. – 2000. – Vol. 7. – P. 5188—5192.
20. СССР, МКИ C07C 99/00, C07C N 799318 101/04, Ф61К31/195. Способ получения γ -аминомасляной кислоты [Текст] / Р.П. Янушевичуте, А.-А.Б.Паулюконис, Б.С. Сухарева; ВНИИ приклад. энзимологии, ин-т молекул.биологии АН СССР. – №2819151/23-04; заявл. 17.09.79; опубл. 30.09.82, Бюл. №12.
21. Ершова, А.Н. Роль углекислого газа в регуляции состава жирных кислот фосфолипидных компонентов мембран растений в условиях дефицита кислорода [Текст] / А.Н. Ершова // Цитология. – 2001. – Т. 43, № 4. – С. 346–347.
22. Investigation of the enzymatic digestion of plant cell walls using reflectance Fourier Transform Infrared spectroscopy [Text] / J. Hopkinson [et al.] // Plant Cell Reports. – 1985. – Vol. 4. – P. 321-324.
23. Schwacke, D. Specific proline transporters in *Arabidopsis* and tomato [Text] / D. Schwacke, R. Frommer, V. Wolf // Plant Cell. – 1995. – No. 5. – P. 1099–1111.
24. Зубкова, К.В. Гипоксия как способ повышения концентрации γ -аминомасляной кислоты [Текст] / К.В. Зубкова // Тезисы докладов VIII Международной научно-практической конференции «Техника и технология пищевых производств», 26-27 апреля 2012 г. –Могилев: УО «МГУП», 2012. – Ч.1. – С.75.
25. 18. Сухарева, Б.С. Глутаматдекарбоксилаза: структура и каталитические свойства [Текст] / Б.С. Сухарева, Е.Л. Дарий, Р.Р. Христофоров.// Успехи биол. химии. – 2001. – Т.41. – С.131–162.
26. Кретович, В.М. Техническая биохимия [Текст] / В.М. Кретович. – М.: Высш. шк., 1973. –456 с.
27. 20. Вартапетян, Б.Б. Учение об анаэробном стрессе растений – новое направление в экологической физиологии, биохимии и молекулярной биологии растений [Текст] / Б.Б. Вартапетян // Физиология растений. – 2005. – Т. 52. – С.931–953.
28. 21. Методичні вказівки з розробки режимів стерилізації та пастеризації консервів і консервованих напівфабрикатів, які виробляються підприємствами України: затв. заст. Міністра АПК України 17.09.1998 р. – К., 1998. – 117 с.
29. Плешков, Б.П. Практикум по биохимии растений [Текст] / Б.П. Плешков – М.: Колос, 1976. – 256 с.