

АНАЛІЗ ІЧ-СПЕКТРІВ КЛЕЙКОВИНИ ТА ТІСТА З ПШЕНИЧНОГО ХЛІБОПЕКАРСЬКОГО БОРОШНА З ВИКОРИСТАННЯМ БІЛКОВИХ ДОБАВОК

Зверєв В.О., аспірант, Шаніна О.М., д.т.н., проф.

(Харківський національний технічний університет сільського господарства ім. Петра Василенка)

В статті розглянуто технологічні та наукові аспекти застосування ферменту трансглютаміназа (ТГ) як структуроутворювача борошняного тіста для макаронних виробів. Встановлено конфірмаційні перетворення білків в бік упорядкування просторової мережі через утворення додаткових водневих зв'язків.

Постановка проблеми.

Макаронні вироби обґрунтовано займають одне з провідних місць у харчуванні населення України та інших країн світу. Кліматичні умови та якість ґрунту сприяють успішному культивуванню більшості зернових культур та, як наслідок, отриманню з них борошна та крупів високої якості. Однак, не тільки в Україні, а й у всьому світі останнім часом спостерігається недолік виробництва твердої пшениці. Попри відчутну потребу світового ринку її виробництво становить лише 5% загального світового обсягу вирощування пшениць, що пояснюється виключно нижчою врожайністю твердої пшениці [1].

Для макаронного виробництва запропонована значна кількість наукових розробок з поліпшення якості виробів шляхом використання харчових добавок структуроутворюючої дії (пектинових речовин, модифікованого крохмалю, похідних целюлози та ін.), а також низки поверхнево-активних речовин. Використання ферментних препаратів (ФП) як харчових добавок при виготовленні макаронних виробів є вкрай рідким, оскільки ферментативні процеси даної технології не мають принципового значення.

Слід зазначити, що сьогодні в Україні та на світовому ринку реалізуються ФП різної спрямованої дії для застосування у різних харчових технологіях, в тому числі в макаронному виробництві.

Трансглютамінази - сімейство ферментів, що каталізують утворення ковалентних зв'язків між вільними аміногрупами (вільних,

або з бічних ланцюгів лізину) і гамма-карбоксамідними групами глутаміну. Ковалентні зв'язки, утворені трансглютаміназою (ТГ), стійкі до протеолізу. Ензим ТГ використовують у виробництві багатьох продуктів харчування, в тому числі на основі борошна. Ензим ТГ підходить для вирішення низки технологічних завдань і може (без порушення вимог до харчової безпеки) бути ефективним покращувачем фізичних властивостей і структури тістових мас і готової продукції.

Щодо будови клейковини та сил, які стабілізують її специфічну структуру, на сьогодні існують уявлення, що різниця між клейковиною різної сили зумовлено різницею внутрішньої структури макромолекул білка на вторинному, третинному та четвертинному рівнях його організації. Вона також залежить від щільності „упакування” поліпептидних ланцюгів і міцності внутрішньо- та міжмолекулярних зв'язків [2,3].

Численні дослідження просторової структури білків і поліпептидів свідчать, що критерієм ступеня впорядкованості та стабільності білкової молекули є сукупність α -спіралей і β -структур [4].

Однак питання про зв'язок конформаційної структури запасних білків з проявом пружно-еластичних і зв'язко-пластичних властивостей клейковини вивчено недостатньо. Не відпрацьовано єдиної думки про субмікроскопічну структуру білкових утворень клейковини. Встановленню причин, від яких залежать структурно-механічні властивості клейковинних білків (пружність, розтяжність, еластичність, зв'язаність), присвячено значну кількість фундаментальних і науково-практичних досліджень.

Білки пшениці можуть бути представлені у вигляді гранулярних, сферичних, дископодібних або пластинчастих утворень, сполучених між собою ниткоподібними фібрилами закручених молекул. Проламінові білки містять більше α -спіралей, ніж білки глютеніну. Гліадин сильних сортів пшениці має в два рази більше α -спіральних ділянок порівняно з глютеніном.

Результати досліджень білкових молекул методом ІЧ-спектроскопії для оцінки просторової структури наочно продемонстровані в роботах багатьох авторів, в тому числі [5,6]. Так, коливання реологічних властивостей клейковини пов'язують з зі зміною умов середовища (рН розчину, природи розчинника та ін.), співвідношенням проламінової та глютелінової фракцій, на

розділення α -спіральних ділянок регулярними β -структурами у глутелінових поліпептидах.

Загалом інфрачервона спектроскопія є одним із важливих сучасних методів ідентифікації хімічних сполук і вивчення будови молекул. У випадку ІЧ-спектрів білків найбільш інформативними є три ділянки: смуга валентних коливань групи $C=O$ пептидних зв'язків (Амід I) - карбонільне поглинання з максимумом в області $1700-1600\text{ см}^{-1}$; смуга складного коливання, в якому взаємодіють деформаційні (NH) і валентні (CN); максимум поглинання цієї смуги знаходиться в області $1600-1500\text{ см}^{-1}$ (Амід - II); смуга валентних коливань групи NH має максимум поглинання в області хвильових чисел 3300 см^{-1} (Амід A). Положення смуги Амід A дуже чутливі до утворення водневих зв'язків, тому їх широко застосовують для їх дослідження.

Метою дослідження було встановлення можливих змін у просторовій структурі білкових речовин борошняного тіста та клейковини із застосуванням ферментного препарату трансглютаміназа.

Матеріали і методи дослідження.

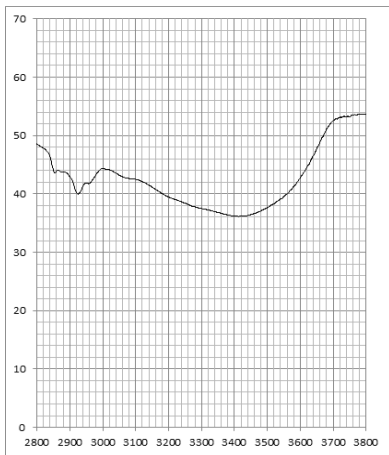
Об'єктами дослідження було обрано наступні види досліджуваної сировини: борошно пшеничне хлібопекарське, вода питна; фермент трансглютаміназа Revada TG; молоко коров'яче; функціональний тваринний білок Геліос-11 (ТУ У 15.8 – 13848909-001-2008). А також зразки борошняного тіста (вологість 31%) та клейковини.

Застосовували стандартну методіку відмивання клейковини. Для ІЧ-спектроскопічних досліджень застосовували аналізатор UR-20 (Німеччина) та FT-IR Spectrometer (Великобританія) в інтервалі коливань від см^{-1} до 4000 см^{-1} .

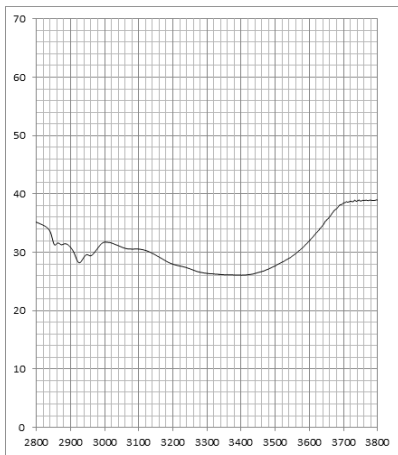
Результати дослідження.

На першому етапі досліджували такі зразки тіста борошняного з борошна пшеничного: на воді; на молоці; на воді з додаванням 0,5% Геліос-11; на воді з додаванням 0,5% Геліос-11 та 0,05% TG.

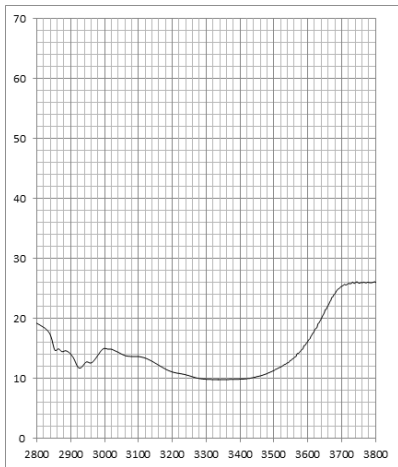
Результати наведені на рис.1 (в інтервалі поглинання $4000-3000\text{ см}^{-1}$) та на рис.2 (в інтервалі поглинання $2000-1000\text{ см}^{-1}$).



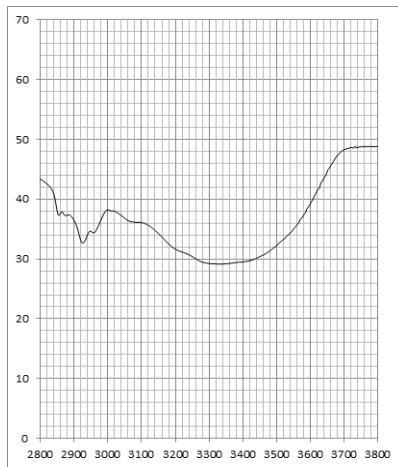
а



б



в



г

Рис.1. ІЧ-спектр поглинання зразків тіста з борошна пшеничного (а – вода; б – молоко; в – вода, 0,5% Геліос-11; г – вода, 0,5% Геліос-11, 0,05% ТГ) в інтервалі поглинання 4000-3000см⁻¹

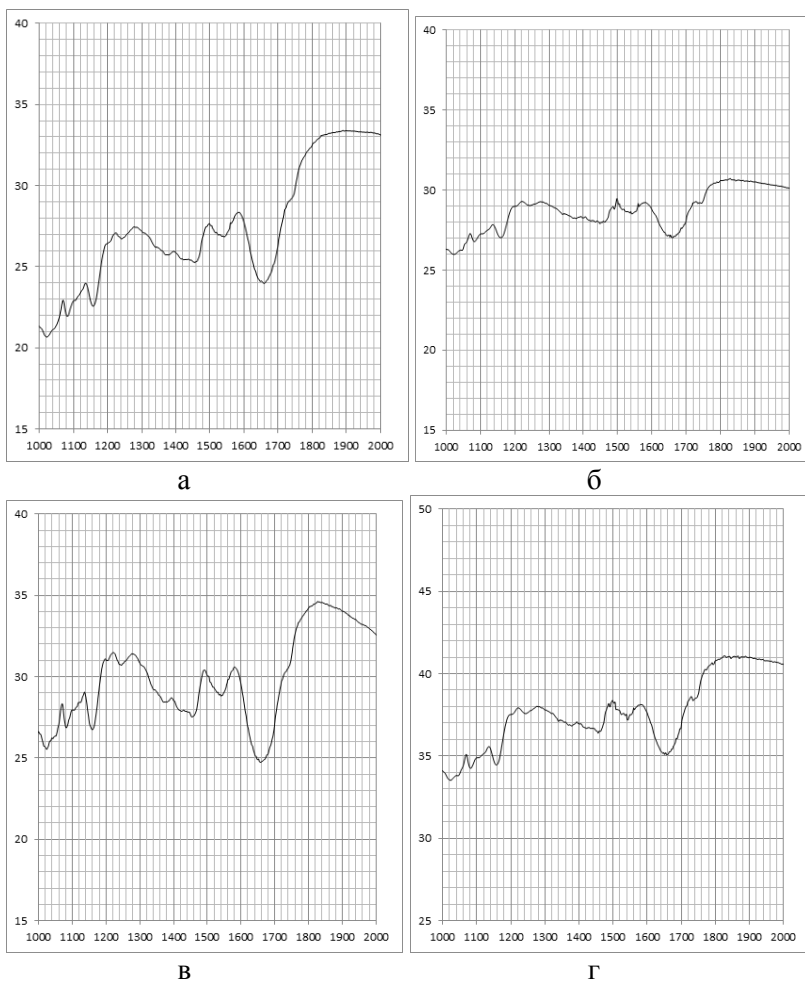


Рис.2. ІЧ-спектр поглинання зразків тіста з борошна пшеничного (а – вода; б – молоко; в – вода, 0,5% Геліос-11; г – вода, 0,5% Геліос-11, 0,05% ТГ) в інтервалі поглинання 2000-1000 cm^{-1}

Аналіз спектрів свідчить, що у даних зразків присутня широка смуга поглинання в інтервалі 3040-3700 cm^{-1} , що вказує на значний внесок у структурну організацію міжмолекулярних водневих зв'язків.

Мала доступність молекул води до зарядженим і полярним груп амінокислот обумовлена насиченням зв'язків COO^- і NH_3^+ за рахунок внутрішньо- і міжмолекулярних утворень в їх структурі. Взаємодія $\text{NH}_3^+ \dots \text{H}_2\text{O}$ і $\text{COO}^- \dots \text{H}_2\text{O}$ для всіх амінокислот

відповідають смуги поглинання в інтервалі частот 3390-3360 і 2760 - 2530 см^{-1} .

За використання молока на заміну води інтенсивність цієї смуги поглинання дещо слабшає, тобто незв'язаних груп ОН- стає менше. Мабуть, доступність молекул води до заряджених і полярних груп амінокислот (що зумовлено насиченням зв'язків COO^- і NH_3^+) зростає. Чим більша спорідненість амінокислоти до молекул води тим меншим, мабуть, є взаємовплив COO^- і NH_3^+ груп у її структурі.

Очевидно, внутрішньо- і міжмолекулярних утворень в їх структурі стає менше, чим і можна пояснити послаблення структури тіста на молоці.

Взаємодія $\text{NH}_3^+ \dots \text{H}_2\text{O}$ і $\text{COO}^- \dots \text{H}_2\text{O}$ для амінокислот відповідають смуги поглинання в інтервалі частот 3390-3360 і 2760 – 2530 см^{-1} . Відсутність останньої (2760 - 2530 см^{-1}) вказує на більш важливу роль взаємодій $\text{NH}_3^+ \dots \text{H}_2\text{O}$.

Смуга поглинання при 1649 см^{-1} відноситься до деформаційних коливань ОН-групи води. Додавання молока (рис.2 б) замість води (рис.2 а) призводить до зменшення інтенсивності вказаної смуги поглинання, додавання Геліос-11 (рис.2 в) сприяє значному збільшенню інтенсивності цієї смуги, навіть більше, ніж за сумісного використання ФТБ з ферментом (рис.2 г). На відміну від коливань СН-групи (близько 3000 см^{-1}), коливання С-С в області перебувають в області 1100-900 см^{-1} . На спектрах досліджуваних зразків відмічаються дві смуги 1090 см^{-1} та 1160 см^{-1} , які вказують на наявність таких коливань. Ці смуги посилюються за додавання ФТБ Геліос (рис.2 в) та слабшають за використання молока (рис.2 б) або ферменту ТГ (рис.2 г). Поглинання в області 1460 см^{-1} також обумовлено деформаційними коливаннями СН-зв'язків і їх зміни на досліджуваних спектрах зазнають змін, аналогічних вказаним вище.

На другому етапі досліджували такі зразки клейковини борошна пшеничного: на воді; на молоці; на воді з додаванням 0,5% Геліос-11; на воді з додаванням 0,03% та 0,1% ТГ. Результати наведені на рис.3, 4. Слід зазначити, що змінюється інтенсивність піків поглинання в інтервалі коливань 2960-2840 см^{-1} . Зазвичай пік поглинання в області 2900...2850 см^{-1} відповідає валентним коливанням С-Н у $-\text{CH}_3$ та $-\text{CH}_2-$, які притаманні напевне боковим радикалам різної природи. Ми можемо зазначити, що наявність ТГ посилює такі коливання прямо пропорційно кількості ферменту.

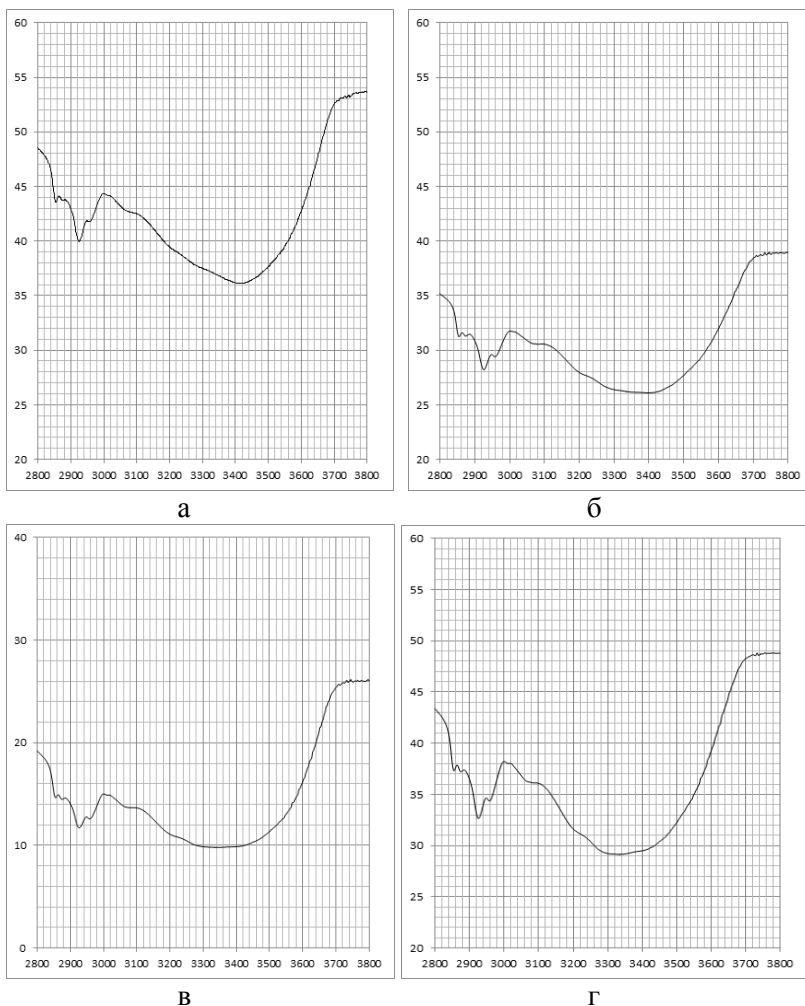


Рис.3. ІЧ-спектр поглинання зразків клейковини з борошна пшеничного (а – вода; б – молоко; в – вода, 0,03% ТГ; г – вода, 0,05% ТГ) в інтервалі поглинання 3800-2800 cm^{-1}

Смуга Амід А поєднує декілька видів просторової структури - структури з водневими зв'язками мають поглинання 3300-3290 cm^{-1} (α - спіраль) та 3300-3280 cm^{-1} (β - шар), структури без водневих зв'язків - близька 3400 cm^{-1} .

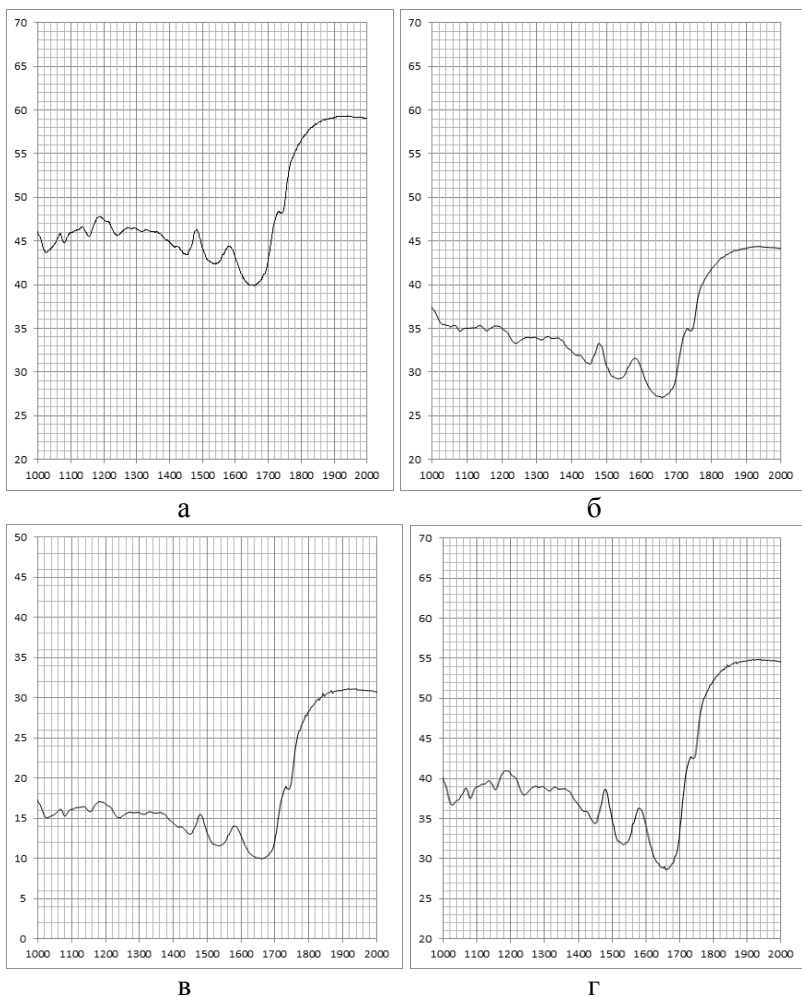


Рис.4. ІЧ-спектр поглинання зразків клейковини з борошна пшеничного (а – вода; б – молоко; в – вода, 0,03% ТГ; г – вода, 0,05% ТГ) в інтервалі поглинання $2000\text{-}1000\text{cm}^{-1}$

Тобто, частоту основного максимуму в інтервалі від 3280 до 3310 cm^{-1} мають α - і β -форми поліпептидів, а також конформація неупорядкованого клубку.

Бачимо, що в широкій смузі $3500\text{-}3200\text{ cm}^{-1}$ частота основного максимуму зміщується в бік менших хвильових чисел – від 3425 cm^{-1} для клейковини (контрольний зразок) до 3400 cm^{-1} (на молоці та з

Геліос-11), 3350-3300 cm^{-1} (з додаванням ТГ відповідно 0,03 та 0,1%).

Це може свідчити про певні конфірмаційні перетворення в бік упорядкування просторової мережі через утворення додаткових водневих зв'язків.

Смуга поглинання при 1649 cm^{-1} значно посилюється внаслідок застосування будь-яких білкових добавок (найбільшою мірою – ТГ), що вказує на посилення деформаційних коливань ОН-групи води, а також на можливість формування додаткових α -спіральної структур Амід I.

Подібні зміни спостерігаються на смугі поглинання Амід II - 1550-1540 cm^{-1} (α -спіраль), 1525-1520 cm^{-1} (β -шар), менш 1520 cm^{-1} (структури без водневих зв'язків), а також поглинання в області 1450 cm^{-1} (деформаційні коливання СН-зв'язків). Найбільш помітні перетворення відмічаються в разі застосування ферментного препарату, що непрямо свідчить про можливість укріплення просторової структури та посилення коливань, що її створюють.

Висновки.

Проведені дослідження показують вплив ферментного препарату трансглутаминаза окремо та в композиції з тваринним білком (молока, Геліос-11) на структурно-механічні властивості тіста, клейковини та закономірності утворення їх просторової структури.

Список літератури

1. Тверда пшениця в Україні: О. Шевченко//The Ukrainian farmer - 2012. - №12
2. Конарев В.Г. Белки пшеницы. –М.: Колос, 1980. – 351 с.
3. Луцишина Е.Г. Изменчивость клейковинного комплекса в связи с качеством зерна пшеницы. Дис...докт.биол.наук. – К., 1992. – 344 с.
4. Рогов И.А. Химия пици. Белки: структура, функции, роль в питании / Рогов И.А., Антипова Л.В., Дунченко Н.И. и др. – В 2 кн. Кн.1. – М.: Колос, 2000. – 384 с.
5. Луцишина Е.Г. Изменчивость клейковинного комплекса в связи с качеством зерна пшеницы. Дис...докт.биол.наук. – К., 1992. – 344 с.
6. Сафонова О.М. Дослідження просторової організації клейковинних білків у присутності поліпшуючих добавок. Вісник

Аннотация

АНАЛИЗ ИК-СПЕКТРОВ КЛЕЙКОВИНЫ И ТЕСТА ИЗ ПШЕНИЧНОЙ МУКИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ БЕЛКОВЫХ ДОБАВОК

В статье рассмотрены технологические и научные аспекты использования фермента трансглутаминаза (ТГ) как структурообразователя мучного теста для макаронных изделий. Установлены конформационные превращения белков и упорядочение их пространственной сетки в результате образования дополнительных водородных связей

Abstract

IR SPECTRA ANALYSIS OF GLUTEN AND DOUGH MADE OF WHEAT FLOUR BAKING WITH THE ADDITION OF PROTEIN SUPPLEMENTS

The technological and scientific aspects of usage of transglutaminase (TG) enzyme as texturizer of dough for noodles were considered in the article.

It is established conformational conversion of proteins toward organizing spatial networks through the formation of additional hydrogen bonds.