

ДОСЛІДЖЕННЯ ФРАКЦІЙНОГО БІЛКОВОГО СКЛАДУ І НАДМОЛЕКУЛЯРНОЇ СТРУКТУРИ МОДЕЛЬНИХ РОЗЧИНІВ, ЩО МІСТЯТЬ ЖЕЛАТИН І КАЗЕІН

Жукова Я.Ф., к.біол.н.,

(Технологічний інститут м'яса і молока, Київ)

Перцевий М.Ф., м.н.с., Обозна М.В., м.н.с.,

Кузнєцова Т.О., к.хім.н., доц.

(Харківський державний університет харчування та торгівлі)

Гурський П.В., к.т.н., доц.

(Харківський національний технічний університет сільського господарства імені Петра Василенка)

Розроблена технологія комбінованого молочно-рослинного продукту, де в якості структуроутворювача використаний желатин. Виявлена синергетична дія казеїну та желатину під час вивчення фракційного білкового складу та надмолекулярної структури їх модельних розчинів, практична реалізація якої полягає в появі можливості керувати технологічним режимом процесу структуроутворення.

Постановка проблеми у загальному вигляді. На сьогоднішній день в усьому світі склалася проблема, пов'язана з дефіцитом харчового білка. В зв'язку з цим виникає потреба у розширенні асортименту харчових продуктів із вмістом білка та підвищенні якості, біологічної цінності цих продуктів [1; 2]. За даними ФАО/ВООЗ, за рік у світі виробляється приблизно 75 млн т харчового білка, що становить близько 60 г на людину в день, коли середня норма споживання коливається в межах 85...100 г. За найскромнішими підрахунками, щорічний дефіцит білка оцінюється в 15 млн т [3; 4].

Перспективним напрямком подолання білкового дефіциту та забезпечення населення високоякісним харчуванням виявляється розробка ресурсозберігаючих технологій якісно нових харчових продуктів з направленою зміною хімічного складу таким чином, щоб максимально відповідати певним потребам організму людини. До цієї категорії можуть бути віднесені продукти, в яких молочна основа комбінується з різними білковими добавками рослинного походження [2].

Сучасні технології виробництва комбінованих молочно-

рослинних продуктів спрямовані, переважно, на одержання продуктів із невисокою собівартістю та зниженою енергетичною цінністю [1]. Разом з цим, комбіновані молочно-рослинні продукти відіграють виняткову роль в раціональному харчуванні людини: виступають важливим чинником профілактики та лікування різних шлунково-кишкових захворювань [2]; позитивно впливають на імунітет людини. При додаванні до молочної основи натуральних компонентів, наприклад, овочів, фруктів, злаків, поліпшується харчова та біологічна цінність молочного продукту завдяки введенню рослинних білків, амінокислот, вітамінів, макро- і мікроелементів та ін. [1; 2].

Аналіз останніх досліджень і публікацій.

За останні роки споживання знежирених молочних продуктів із вмістом різних рослинних компонентів значно підвищилося майже в усіх країнах світу [3]. В зв'язку з цим нами був розроблений новий продукт структурований на основі напівфабрикату – сиру кисломолочного нежирного – з використанням концентрату ядра соняшникового насіння; його рецептурний склад наведено в табл. 1.

Таблиця 1

Рецептурний склад продукту структурованого на основі сиру кисломолочного нежирного з використанням концентрату ядра соняшникового насіння

Сировина	Масова частка сухих речовин, %	Загальні витрати сировини з урахуванням втрат в технологічному процесі, кг	
		В натурі	В сухих речовинах
Сир кисломолочний нежирний	20.00	54.90	10.98
Олія рафінована дезодорована	99.90	15.40	15.39
Жир рослинний тугоплавкий	89.10	15.40	13.72
Концентрат ядра соняшникового насіння	93.40	5.10	4.76
Желатин швидкорозчинний	89.10	3.10	2.76

Цитрат натрію	96.00	2.00	1.92
Сіль кухонна «Екстра»	96.50	1.00	0.97
Сорбат калію *	0.95	0.10	0.10
Вода		5.78	-
Всього		102.78	50.60
Вихід		100.00	49.23

* Використовується для продукції тривалого терміну зберігання

Варто зазначити, що віст казеїну в сирі кисломолочному нежирному коливається в межах 14...18% [5]. В запропонованому продукті структурованому від 7,7 до 8,2% казеїну.

До складу розробленого продукту структурованого входять білки, які відрізняються просторовою структурною організацією – глобулярний нерозчинний в воді казеїн та фібрилярний гідрофільний желатин.

Казеїн – основний білок молока і має гетерогенну структуру. Агрегати казеїну мають молекулярну масу порядку 70...100 кДа. Казеїн складається з α -казеїну і β -казеїну. α -казеїн становить основну частину казеїнів молока і його молекули складаються з простого пептидного ланцюга, до складу якого входять 199 амінокислот. β -казеїн містить 209 амінокислот і є найбільш гідрофобною фракцією казеїну [5–8].

Застосування желатину широко розповсюджено в плавлених сирах та структурованих сирних продуктах. Желатин має високу вологоутримуючу здатність внаслідок утворення білкової сітки, а його гелі легко плавляться в роті. Що позитивно впливає на органолептичні якості. У молочних продуктах желатин пригнічує синерезис, а також поглинає воду, що вивільняється іншими гідро колоїдами; зміцнюючи білкову сітку, він регулює текстуру. Желатин містить суміш лінійних поліпептидів та їх агрегатів з різною молекулярною масою. До складу цих поліпептидів входять 18 амінокислот, у тому числі гліцин (26-31 %), пролін (15-18 %), гідроксипролін (13-15%), глютамінова кислота (11-12 %), аспаргінова кислота (6-7 %), аланін (8-11 %) та аргінін (8-9 %) [4; 9; 10; 11].

Дослідження надмолекулярної структури таких складних харчових об'єктів, які містять білки різного типу викликає особливий інтерес. Результати вивчення такої структури дозволять

обґрунтувати механізми драглеутворення в цих системах.

Мета та завдання статті – визначення фракційного білкового складу та надмолекулярної структури модельних розчинів, до яких входять желатин і казеїн, виявлення основних закономірностей впливу білків і обґрунтування їх взаємодії задля пояснення механізму структуроутворення.

Виклад основного матеріалу дослідження.

Для визначення білкового складу зразків модельних розчинів використовували метод електрофорезу у поліакриламідному гелі. Кількісну оцінку білкових фракцій зразків структурованого продукту визначали спектрофотометрично за допомогою скандувального денситометра [12; 13]. Зміни інтенсивності смуг білків у зразках наведено на електрофореграмах (рис. 1), а відносний вміст фракцій білків – у таблиці 2.

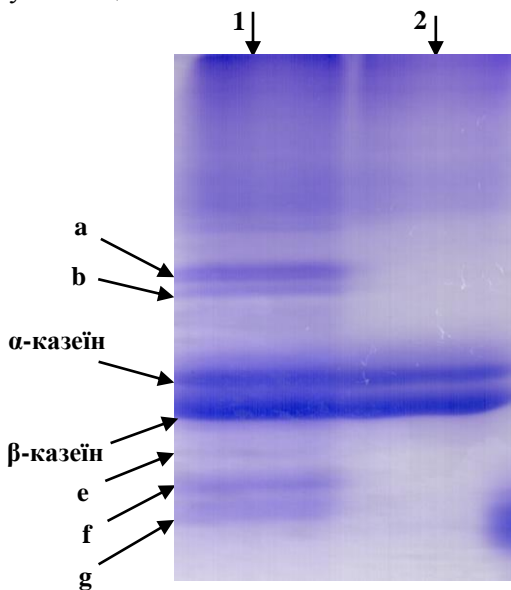


Рис. 1. Електрофореграма білків зразків модельних розчинів: 1 – казеїн з додаванням желатина; 2 – казеїн

Таблиця 2

Фракційний склад білків зразків № 1 і № 2

Зразки	Смуги білкової фракції		
	α-	β-	Пептиди

	казеїн	казеїн	a	b	e	f	g
Молекулярна маса, кДа	22...24	24	50	45	25	19	18
Зразок № 1 – казеїн+желатин, %	31,57	33,92	13,14	6,86	1,76	7,35	5,39
Зразок № 2 – казеїн, %	53,12	46,88	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

За результатами досліджень білкового складу запропонованих зразків виявлено наступне. Наявні фракції α -, β -казеїн та пептиди a, b, c, f, g. Причому пептиди виявлені тільки в зразку з желатином, що вказує на їх відношення саме до желатину. Як видно з табл. 1, пептиди характеризуються різною молекулярною масою; відносно невисока молекулярна маса пептидів f та g обумовлює підвищення інтенсивності до взаємодії з водою [10].

Зменшення вмісту фракцій α - і β -казеїну у модельному розчині, який містить казеїн і желатин (зразок № 1) та водночас поява в системі фракцій пептидів гідрофільного желатину, підвищує рухливість води в такій системі, що забезпечує утворення зв'язків між білками казеїну та желатину – так званого комплексу, що сприяє підвищенню вологоутримуючої здатності в системі [14]. В результаті міцність такої структури буде зростати, що повністю підтверджується проведеними нами попередніми дослідженнями кінетики структуроутворення модельних систем складових речовин продукту [1; 10; 11; 14].

Для дослідження надмолекулярної структури були обрані розчини, які містять желатин і казеїн, склад яких наведено у табл. 3.

Таблиця 3

Склад модельних розчинів харчових речовин

№ з/п	Желатин швидкокорозчинний, г	Казеїн, г	Вода, мл
1	3,0	-	97
2	3,0	0,05	97
3	3,0	0,2	97

Для визначення розміру та кількості надмолекулярних часточок (НМЧ) у модельних розчинах харчових речовин нами використано-вувався метод спектру мутності, який пов'язаний з дослідженням розсіювання світла колоїдними розчинами та теорії Мі

[16].

Застосування метода спектру мутності базується на теорії Мі.

Цей метод був детально розроблений Кленіним В.І., Щеголем С.Ю., Лаврушиним В.І. [17] і пов'язаний з одержанням інформації стосовно розміру НМЧ та їх кількості за допомогою простої експериментальної техніки, коли обмежені попередні дані про структуру системи, діапазон розмірів НМЧ, їх концентрацію, показники заломлення дисперсної фази і середовища та ін.

Під час проходження паралельним пучком світла відстані x у кюветі з колоїдним розчином зменшення його інтенсивності в зв'язку з розсіюванням ($-dI$) на шляху dx :

$$dI = -\tau \cdot I_x \cdot dx, \quad (1)$$

де τ – мутність.

Шляхом інтегрування одержуємо рівняння Бугера:

$$I = I_0 \cdot \exp(-\tau \cdot l), \quad (2)$$

де I_0 – інтенсивність падаючого світла, l – товщина кювети.

Фізичний зміст мутності τ – кількість енергії світла, яка розсіюється за одиницю часу одним см^3 колоїдної системи у розрахунку на одиницю інтенсивності падаючого пучку світла. В результаті логарифмування рівняння (2) одержуємо:

$$\tau = \frac{\ln(I_0/I)}{l} \quad \text{або} \quad \tau = 2,3 \cdot \frac{\lg(I_0/I)}{l},$$

де $D = \lg \frac{I_0}{I}$ – оптична густина системи.

Підставивши значення D у вище записане рівняння, маємо вираз для розрахунку τ :

$$\tau = 2,3 \cdot \frac{D}{l}. \quad (3)$$

У відсутності багаторазового розсіювання мутність дисперсної системи є сумою втрат мутності пучка світла на окремих часточках:

$$\tau = R \cdot N, \quad (4)$$

де N – число часточок в одиниці об'єму (см^{-3}), а R (λ , α , m) – кількість енергії, яка розсіюється за одиницю часу однією часточкою. R – функція довжини хвилі світлого потоку λ , відносного розміру часточок α , відносного показнику заломлення часточок m і називається оптичним перетином часточки.

$$\alpha = \frac{2\pi \cdot r \cdot \mu_0}{\lambda}, \quad (5)$$

$$m = \frac{\mu}{\mu_0}, \quad (6)$$

де r – радіус часточки, μ та μ_0 – показники заломлення часточок та дисперсного середовища.

З рівняння (5) одержуємо вираз для знаходження радіусу часточки:

$$r = \frac{\alpha \cdot \lambda}{2\pi \cdot \mu_0}. \quad (7)$$

Із рівняння (4) видно, що R має розмірність площини (см^2).

$$\frac{R}{S} = K(\alpha, m), \quad (8)$$

де $K(\alpha, m)$ – називається коефіцієнтом розсіювання або фактором інтенсивності розсіювання і є важливою характеристичною функцією світлорозсіювання, $S = \pi r^2$ – площа геометричного перетину сферичної часточки.

При об'єднанні рівнянь (4) та (8) одержуємо:

$$\tau = N \cdot \pi \cdot r^2 \cdot K(\alpha, m). \quad (9)$$

При розв'язанні рівняння (9) відносно N і враховуючи рівняння (5) маємо вираз:

$$N = 1,26 \cdot 10^{17} \cdot \frac{\tau}{(\lambda')^2 \cdot K(\alpha, m) \cdot \alpha^2}, \quad (10)$$

де $\lambda' = \lambda_{\text{ср}}/\mu_0$, $\lambda_{\text{ср}}$ – середнє значення довжини хвилі на ланці прямолінійної залежності $\lg D = f(\lg \lambda)$.

На невеличкому інтервалі $\Delta \lambda$ спектр мутності виражається співвідношенням Ангстрема:

$$\tau \sim \lambda^{-n}. \quad (11)$$

Хвильовий коефіцієнт n є безрозмірною функцією α та m [16] і може бути представлений в явному вигляді як:

$$n = \frac{d \ln \tau}{d \ln \lambda} \quad \text{або} \quad n = - \frac{d \ln D}{d \ln \lambda}. \quad (12)$$

Підставляємо рівняння (9) в (12), нехтуємо дисперсією m та μ_0 і одержуємо:

$$n = \frac{\alpha}{K(\alpha, m)} \cdot \frac{\partial K(\alpha, m)}{\partial \alpha}. \quad (13)$$

Рівняння (13) дає основу для визначення залежності характеристичної функції світлорозсіювання n од відносного розміру α і відносного показнику заломлення m дисперсних часточок. За калібрувальними залежностями $n(\alpha, m)$ складені таблиці

характеристичних функцій світлорозсіювання [15].

Для того щоб визначити розмір НМЧ r та їх концентрацію N дослідним шляхом знаходимо відносний показник заломлення m і значення характеристичної функції світлорозсіювання p із графіків залежності $IgD = f(Ig\lambda)$ і користуючись рівнянням (12). Далі за допомогою таблиць характеристичних функцій знаходимо відносний розмір НМЧ α та коефіцієнт розсіювання K (α, m) і за рівнянням (7) та (10) розраховуємо r та N .

Для визначення відносного показника заломлення m ми проводили дослідження 0,5 %, 1 %, 2 % і 4 % водних розчинів желатина за температури 30 °С на рефрактометрі УРЛ. Відносний показник заломлення розраховували за рівнянням (6). Для одержання залежності $IgD = f(Ig\lambda)$ проводили вимірювання оптичної густини досліджуваних модельних розчинів харчових речовин при різних довжинах хвиль $\lambda = 400 - 750$ з використанням фотоелектроколориметра КФК-2.

Результати розрахунків радіусу НМЧ та їх концентрації у модельних розчинах наведено у табл. 2.

Таблиця 4

Результати розрахунків радіусу НМЧ та їх концентрації у модельних розчинах харчових речовин

№ з/п	Радіус НМЧ, r , см	Концентрація НМЧ, N , част/см ³
1	$5,5 \cdot 10^{-6}$	$1075 \cdot 10^7$
2	$8,8 \cdot 10^{-6}$	$290 \cdot 10^7$
3	$122,2 \cdot 10^{-6}$	$0,37 \cdot 10^7$

З результатів, наведених у табл. 4, видно, що при додаванні казеїну до розчину желатину, розмір часточок збільшується, а їх концентрація різко зменшується. Це свідчить про взаємодію між молекулами глобулярного казеїну та фібрилярного желатину. В результаті чого в розчинах, які містять желатин і казеїн, при охолодженні буде утворюватися просторова міцна структура білкового гелю.

Висновки.

1. Узагальнюючи результати дослідження фракційного білкового складу модельних розчинів, що містять казеїн і желатин виявлено, що присутність желатину обумовлює зменшення вмісту гідрофобних фракцій казеїну та, паралельно з цим, підвищення

вмісту гідрофільних фракцій пептидів желатину з низькою молекулярною масою, що сприяє підвищенню здатності вологи до пересування в системі та утворенню хімічних взаємодій.

2. Доведено існування взаємодії між молекулами глобулярного казеїну та фібрилярного желатину внаслідок утворення надмолекулярної структури в модельних розчинах компонентів структурованого продукту. В результаті чого в розчинах, які містять ці компоненти, при охолодженні буде утворюватися просторова міцна структура білкового гелю.

3. Синергетична дія казеїну та желатину в межах утвореного комплексу з надмолекулярною структурою сприяє підвищенню міцності утвореного білкового гелю та його термічної стабільності.

Список літератури

1. Технологія харчової та кулінарної продукції з використанням білків молока: монографія / [Ф.В. Перцевой, П.В. Гурський, С.Л. Юрченко та ін.]. – Х.: ХДУХТ, 2010. – 225 с.

2. Рудакова Т.В. Розроблення технології комбінованих продуктів тривалого строку зберігання на основі сиру кисломолочного: дис. канд. техн. наук: 05.18.04 / Рудакова Тетяна Василівна. – К., 2006. – 155 с.

3. Микроорганизмы и растительный белок [Электронный ресурс]. – Режим доступа : <http://www.valleyflora.ru>.

4. Hudson B.J.F. New and developing sources of food proteins / B.J.F.Hudson. – London: Springer, 1994. – 369 p.

5. Степанова Л.И. Справочник технолога молочного производства. Технология и рецептуры. В 3 т. Т. 1. Цельномолочные продукты / Л.И. Степанова. – СПб. : ГИОРД, 1999. – 384 с.

6. Ярошкевич А.П. О физической структуре мицелл казеина. XXI Международный конгресс по молочному делу / А.П. Ярошкевич. – М.: Пищевая промсть, 1982. – Т. 1, кн. 2. – С. 143.

7. Fox Patrick F. Fundamentals of cheese science / Patrick F. Fox, P. F. Fox. – Aspen : Springer, 2000. – 587 p.

8. Grosclande F. Genetic aspects of casein research. / F.Grosclande, J.C. Mercier, Ribadeau Dumas // Neth. Milk Dairy J. – 1973. – Vol. 27. – P. 328.

9. Rinzler C.A. The new complete book of food: a nutritional, medical, and culinary guide / C.A. Rinzler, M. Kroger, J.E. Brody. – New York: Infobase Publishing, 2009. – 474 p.

10. Souheng W. Polymer Interface and Adhesion / W. Souheng. –

New York and Bael: Marcel Dekker, Inc., 1982. – 337 p.

11. Урьев Н.Б. Физико-химическая механика и интенсификация образования пищевых масс / Н. Б. Урьев, М.А. Талейсник. – М.: Пищевая пром-сть, 1978. – 239 с.

12. Инихов Г.С. Методы анализа молока и молочных продуктов: справочное руководство / Г.С. Инихов, Н.П. Брио. – М.: Пищевая пром-сть, 1971. – 423 с.

13. Laemmli, U.K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4 [Text] / U.K.Laemmli // Nature. – 1970. – v. 227. – P. 680–685.

14. Walstra, P. Dairy technology: principles of milk properties and processes [Text] / P.Walstra. – Marcel: Marcel Dekker, 1999. – 727 p.

15. Mie G. Beiträge zur Optik triiber Medien speziell kolloidaler Metallosungen / G.Mie // Ann. Phys. – 1908. – V. 25. – P. 377.

16. Кленин В.И. Характеристические функции светорассеивания дисперсных систем / Кленин В.И., Щеголь С.Ю., Лаврушин В.И. – Саратов: Узд. СГУ, 1977. – 176 с.

17. Rees D.A. Structure, conformation, and mechanism in the formation of polysaccharide gels and networks / D.A. Rees // Adv. Carbohydr. Chem. Biochem. – 1969. – V. 24. – P. 267–332.

Аннотация

ИССЛЕДОВАНИЕ ФРАКЦИОННОГО БЕЛКОВОГО СОСТАВА И НАДМОЛЕКУЛЯРНОЙ СТРУКТУРЫ МОДЕЛЬНЫХ РАСТВОРОВ, КОТОРЫЕ СОДЕРЖАТ ЖЕЛАТИН И КАЗЕИН

Разработана технология комбинированного молочно-растительного продукта, где в качестве структурообразователя использован желатин. Обнаружено синергетическое действие казеина и желатина при изучении фракционного белкового состава и надмолекулярной структуры их модельных растворов, практическая реализация которого заключается в появлении возможности управления технологическим режимом процесса структурообразования.

Abstract

RESEARCH OF FACTIOUS ALBUMINOUS COMPOSITION AND NADMOLEKULYARNOY STRUCTURE OF MODEL SOLUTIONS WHICH CONTAIN GELATIN AND CASEIN

The technology combined dairy and vegetable products, where the structure-used gelatin. The observed synergistic action of casein and gelatin in the study of fractional protein composition and supramolecular structure of model solutions, the practical realization of which is the emergence of the ability to manage technological regime of structure formation process.