

ВИВЧЕННЯ ВПЛИВУ ФЕРМЕНТУ ТРАНСГЛЮТАМІНАЗА НА КОНФІРМАЦІЙНИЙ СТАН БІЛКІВ БОРОШНЯНОГО ТІСТА

ШАНІНА О.М., д-р техн. наук, професор, ЛОБАЧЕВА Н.Л.

Харківський національний технічний університет сільського господарства ім. П.Василенка
Харківський державний університет харчування та торгівлі

В статті розглянуто технологічні та наукові аспекти застосування ферменту трансглютаміназа (ТГ) як структуроутворювача борошняного тіста для хлібобулочних виробів. Доведено ефективність застосування желатину для підвищення реакційної здатності ферменту. Встановлено конфірмаційні перетворення білків в бік упорядкування їх просторової мережі.

The technological and scientific aspects of usage of transglutaminase (TG) enzyme as texturizer of dough for bakery products are considered in the article. It is proven the effectiveness of gelatin to increase the reactivity of the enzyme TG. It is established conformational conversion of proteins toward organizing their spatial networks.

Ключові слова: трансглютаміназа, інфрачервоноспектроскопічний аналіз, желатин, безглютенові борошняні вироби

Постановка проблеми. При виробництві продуктів харчування без вмісту глютену виникають серйозні труднощі щодо створення структури продукту, подібної тій, до якої звикли споживачі – пористої, пружно-еластичної. Справа в тому, що клейковина пшеничного борошна (глютен) володіє унікальними технологічними властивостями, які відіграють найважливішу роль у формуванні структурно-механічних властивостей борошняного тіста та текстури готових виробів.

Тому відсутність такого стратегічно важливого та структуроутворюючого сировинного компонента, як пшеничне борошно, призводить до виникнення низки специфічних проблем – як для виробників безглютенової продукції, так і для її споживачів. Зазвичай структура продуктів є крихкою, дуже сухою. Більшість видів дріжджових виробів перед вживанням необхідно розігрівати. До того ж, безглютенові продукти мають більш низьку якість внаслідок погіршення смаку.

Оскільки глютен як складова пшеничного борошна виконує в процесі виробництва виробів з дріжджового тіста різні технологічні функції, необхідна певна кількість інгредієнтів, здатних його замінити. Більшість видів безглютенових продуктів, існуючих сьогодні, виробляються на основі пшеничного крохмалю. Це небажано, бо і ця сировина може містити залишкову кількість глютену. Тому ефективними можна вважати таку безглютенову сировину, як, наприклад, кукурудзяне, соєве, гречане і рисове борошно, картопляний крохмаль. Наприклад, розроблено спосіб приготування хліба на основі рисового та кукурудзяного борошна в комбінації з соєвими білками ізолятами, що передбачає використання в якості коректорів реологічних властивостей тіста та хліба ксантан або модифікуючі крохмалі в кількості 1,0-3,0% від маси борошна [1]. Відомо також про спосіб виробництва безглютенового хліба, який передбачає застосування таких видів борошна, як гречане, рисове, вівсяне, кукурудзяне або соргове, а також ферментного препарату трансглютаміназа у кількості 1,0-10,0 U/гр. білка [2]. Проте, за даною технологією хліб має зниженні структурно-механічні характеристики, невеликий об'єм, нерівномірну пористість м'якушки хліба та знижену харчову цінність.

Відомо також про застосування ферментних препаратів в процесі виробництва безглютенових хлібобулочних виробів, де вони виконують такі важливі функції, як збільшення об'єму, поліпшення текстури та збільшення терміну зберігання хліба. Трансглютаміназа (TG) здатна змінювати протеїни за рахунок утворення поперечних зв'язків. TG здатна зв'язувати протеїни різного походження: казеїни і альбуміни з молока, тваринний білок з яєць і м'яса, соєвий і пшеничний протеїн.

Нами було сформульовано задачу розробки способу виробництва безглютенових виробів з дріжджового тіста підвищеної харчової цінності з високими поживчими властивостями.

Для ефективної участі ферменту TG в технології безглютенових виробів нами запропоновано використовувати рисове, кукурудзяне, гречане борошно, в якості додаткового джерела білків ми запропонували застосовувати желатин.

Ферментний препарат трансглютаміназа бере участь в утворенні ковалентних зв'язків з вільними аміногрупами лізину і γ -карбоксамідними групами глютаміну стійкими до протеолізу. Щодо реакційної здатності трансглютамінази до взаємодії з різними білками харчових продуктів можна поділити на три

групи як: дуже добра реакційна здатність з білками молока (казеїном), м'яса (желатином); добра реакційна здатність з білками хлібних культур; задовільна реакційна здатність з білками сироватки α -лактальбуміном та β -лактоглобуліном, яйця – овальбуміном та міоглобіном м'яса.

Як показали Basmann та ін. [3], вплив мікробіальної трансглютамінази (MTG) на реологічні властивості тіста з пшеничного борошна і якість хліба залежить від кількості MTG. Дослідження на фарінографі показали зниження водопоглинальної здатності борошна з підвищенням рівня ферментів (0-0,5%, м/м). Час утворення тіста і показник стабільності спочатку збільшується з ростом дози MTG, але знижується при більш високих концентраціях MTG (1,0-1,5%, м/м). Низькі кількості MTG покращують якість хліба (стан корки, крошлівість), в той час як великі кількості (1,0-1,5%, м / м) призводять до негативних наслідків.

Ще в одному дослідженні Basmann і співавт. [4] розглядається вплив MTG на пшеничне борошно з домішкою ячмінного чи соєвого борошна. Хліб з додаванням MTG (0,25%, м/м) зі слабким пшеничним борошном з додаванням ячмінного борошна до 30% має високий обсяг, а також меншу крошлівість, хорошу корку, і очевидно є м'якшим, ніж зразки без ферменту.

Додавання MTG до сильного борошна і призводило до невеликого зниження об'єму хліба при будь-якій концентрації ячмінного борошна. Висока частка волокон, таких, як висівки, змінювала збалансоване співвідношення крохмалю, клейковини і пентозанів в тесті, тим самим зменшуючи об'єм випічки. Додавання MTG до борошняної суміші пшеничного борошна з житнім та/або харчовими волокнами призводить до більш високої однорідності і поліпшення стабільності тіста.

Формулювання мети. Метою дослідження було встановити можливість впливу ферменту трансглютаміназа на конфірмаційний стан біополімерів борошняного тіста на основі борошняних сумішей. В якості борошняної сировини використовували: борошно вівсяне; борошно кукурудзяне; борошно рисове; борошно ячмінне.

В якості білкової добавки застосовували желатин, який обрано як білок, що відноситься до згаданої вище першої групи з дуже доброю реакційною здатністю з ферментним препаратом трансглютаміназа. Трансглютаміназа - це перспективний покращувач хлібобулочних виробів. Серією досліджень показано, що використання мікробіальної трансглютамінази (MTG) поліпшує властивості і якість випеченої продукції.

Матеріали і методи дослідження. Об'єктами дослідження обрано наступні види досліджуваної сировини: борошно кукурудзяне, рисове, вівсяне, ячмінне; вода питна; фермент трансглютаміназа Revada TG; желатин швидко розчинний; дріжджі хлібопекарні пресовані; зразки борошняного тіста (вологість 31%); випечений хліб. Застосовували желатин у вигляді 3%-вого водного розчину, фермент трансглютаміназа – в сухому вигляді в кількості 0,05% до маси борошняної сировини в рецептурі хлібобулочних виробів.

Для ІЧ-спектроскопічних досліджень застосовували аналізатор UR-20 (Німеччина) та FT-IR Spectrometer (Великобританія) в інтервалі коливань від 400 см^{-1} до 4000 см^{-1} . 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 $1700\text{--}1600\text{ см}^{-1}$; смуга складного коливання, в якому взаємодіють деформаційні (NH) і валентні (CN), в тому числі $1660\text{--}1650\text{ см}^{-1}$ для α -спіральних структур, 1630 см^{-1} – для β -шарів; максимум поглинання цієї смуги знаходиться в області $1600\text{--}1500\text{ см}^{-1}$ (Амід - II), в тому числі $1550\text{--}1540\text{ см}^{-1}$ для α -спіральних структур, $1525\text{--}1520\text{ см}^{-1}$ – для β -шарів; 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. Зміщення піку смуги Амід A в бік більших хвильових чисел (3400 см^{-1}) свідчить про утворення структур без водневих зв'язків.

Викладення основних наукових результатів. Результати аналізу інфрачервоних спектрів досліджуваних зразків тіста наведені в табл.1, а фрагменти спектрів - на рис. 1. Як бачимо, загалом ІЧ-спектри тіста мають багато спільних смуг поглинання. Відомо, що гідроксильна група є достатньо полярною і може взаємодіяти з будь-якими полярними молекулами. Тому валентні коливання незв'язаної групи OH можна спостерігати тільки у випадку дуже розведених розчинів в області $3700\text{--}3500\text{ см}^{-1}$ у вигляді вузької смуги. Зв'язана група OH внаслідок утворення міжмолекулярних водневих зв'язків дає смугу поглинання $3450\text{--}3200\text{ см}^{-1}$, що можна спостерігати для досліджуваних спектрів – в області хвильових чисел $3700\text{--}3000\text{ см}^{-1}$.

Спектральні характеристики смуг поглинання Амід-I та Амід-II дослідних зразків свідчать, що такі групи є наявними і нами їх чітко визначено.

За наявності білкових добавок (желатину або ферменту) з'являються нові смуги поглинання – досить слабкі, але присутні. Це відбувається в інтервалі хвильових чисел $1455, 1465, 1490, 1390\text{ см}^{-1}$.

Таблиця 1 - Частотні положення (см^{-1}) основних смуг ІЧ-спектрів поглинання зразків тіста

Склад зразка	Амід І	Амід ІІ	Амід А	Інші смуги
50% борошно вівсяне, 25% борошно рисове, 25% борошно ячмінне				
Без добавок	1660	1545	3400	495, 530, 575, 610, 710, 761, 855, 932, 1027, 1085, 1165
0,05% ТГ	1661	1544	3400	495, 530, 575, 602, 613, 708, 760, 855, 935, 1027, 1085, 1165
3% желатину	1660	1544	3400	495, 528, 578, 610, 710, 760, 860, 930*, 1027, 1085, 1165
3% желатину 0,05% ТГ	1660	1545	3400	475, 518, 550, 580, 605, 710, 760, 855, 930, 938, 1027, 1085, 1165
50% борошно кукурудзяне, 25% борошно рисове, 25% борошно ячмінне				
Без добавок	1660	1540	3400, 2850, 2920	528, 570, 750, 760, 850, 860, 935, 1020, 1080, 1160, 1240, 1465, 1490, 1742
0,05% ТГ	1660	1542	3400, 2850, 2920	498, 520, 575, 610*, 705, 730, 855, 935, 1020, 1080, 1160, 1245, 1390, 1460, 1490, 1742
3% желатину	1660	1540 слабка	3400, 2850, 2920	495, 570, 708, 685, 761, 855, 930, 1010, 1080, 1050, 1160, 1245*, 1390, 1460, 1490, 1742
3% желатину 0,05% ТГ	1655	1542	3400, 2850, 2920	525, 550, 575, 595, 612, 708, 761, 858, 930, 1020, 1050, 1080, 1160, 1240, 1390, 1390, 1455, 1465, 1490, 1745

Тут * - наведене значення стосується плеча смуги

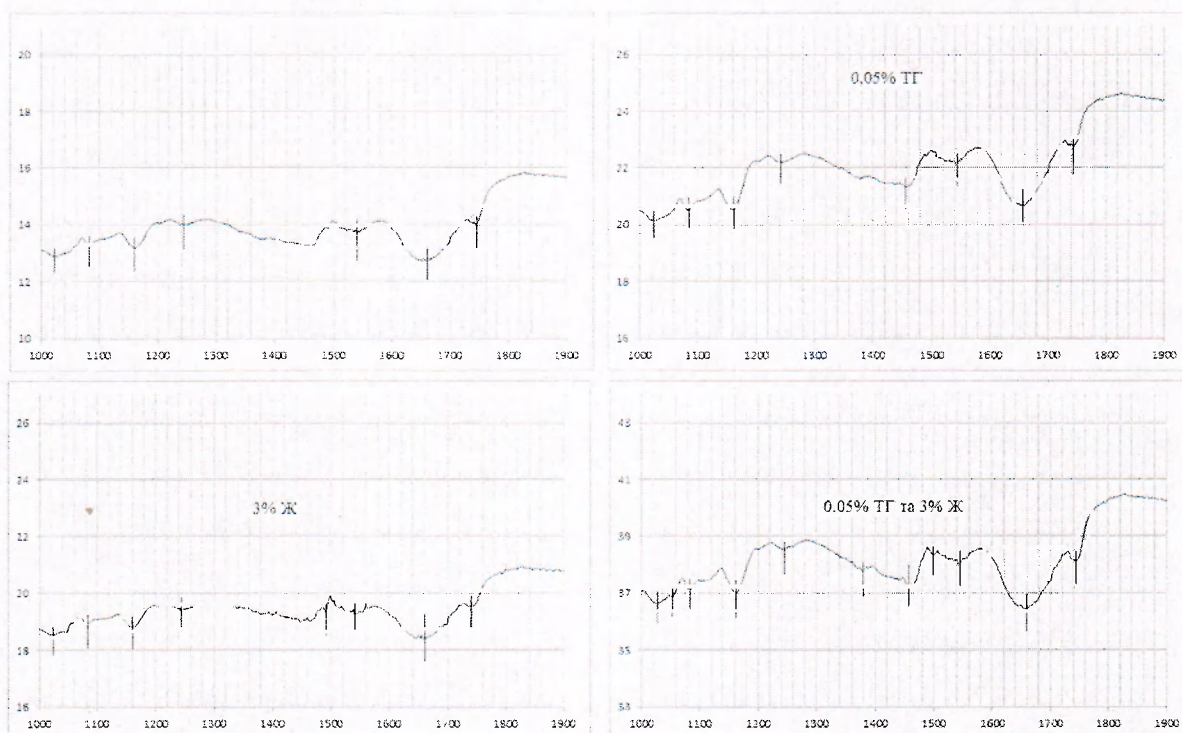


Рис. 1 – Фрагменти ІЧ-спектрів зі складом борошняної сировини 50% кукурудзяного борошна, 25% рисового борошна, 25% ячмінного борошна без добавок (а) та з використанням: трансглютамінази (б), желатину (в), трансглютамінази разом з желатином (г)

У випадку застосування ферменту ТГ разом з желатином з'являються нові піки поглинання 1500 см^{-1} та 1380 см^{-1} ; останні можуть бути віднесені до коливань карбоксильної групи COO^- або слабких скелетних коливань пептидної групи і бокових ланцюгів в області $800\text{-}1400 \text{ см}^{-1}$.

Посилюються смуги поглинання з піками поглинання хвильових чисел 1160 см^{-1} та 1460 см^{-1} , які вказують на певне зростання інтенсивності валентних коливань $\text{C}=\text{O}$ -груп простих ефірів та плоских деформаційних коливань C-H -груп відповідно.

Можливо, саме цими обставинами можна в подальшому провести спроби пояснити вплив ферментного препарату ТГ сумісно з желатином на структурно-механічні властивості борошняного тіста з сумішшю кукурудзяного, вівсяного, рисового, ячмінного борошна та випеченої продукції (рис.2).

Як видно з результатів спробних лабораторних випічок, ці добавки досить ефективно діють на якість безглютенового хліба – помітно зростає об'єм хліба, його форма і зовнішній вигляд, поліпшується пористість. При цьому, найбільший вплив здійснюють фермент ТГ сумісно з желатином.

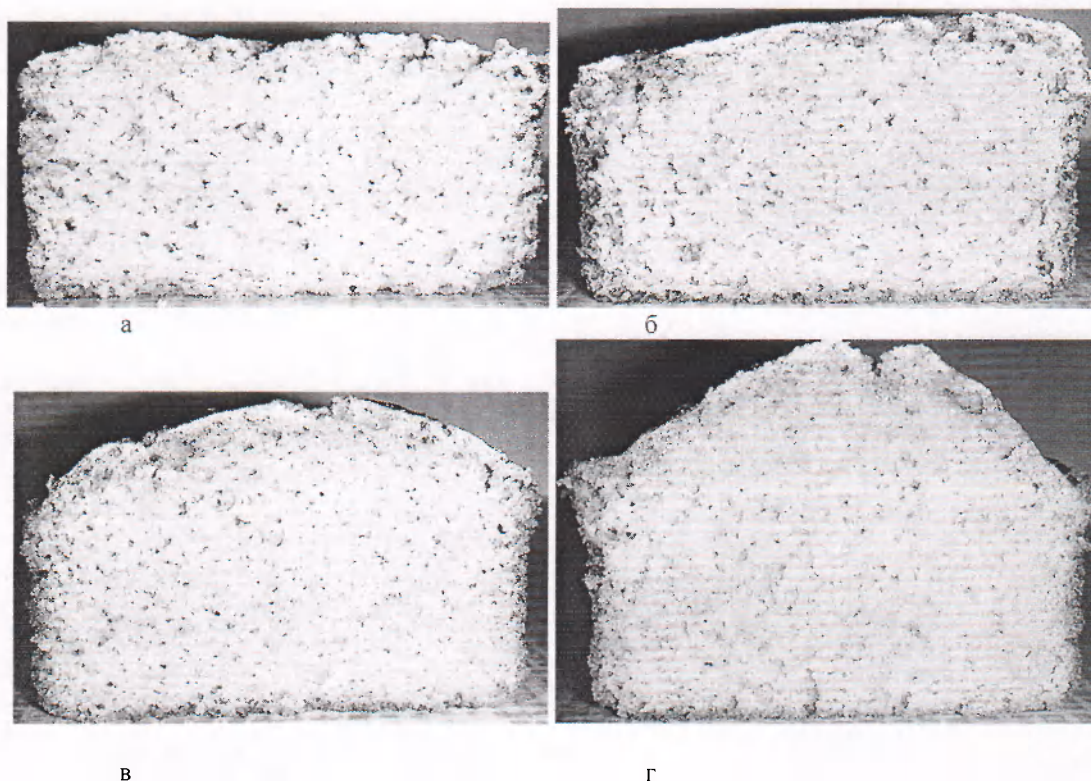


Рис. 2 - Зовнішній вигляд хліба (переріз) зі складом борошняної сировини 50% вівсяного борошна, 25% кукурудзяного борошна, 25% рисового борошна без добавок (а) та з використанням: транsgлютамінази (б), желатину (в), транsgлютамінази разом з желатином (г)

Висновки. Результати досліджень доводять ефективність сумісного застосування ферменту транsgлютаміназа з білковими добавками (на прикладі желатину) для суттєвого поліпшення структури тіста та випечених виробів. В якості борошняної сировини застосовані борошняні суміші та виключено пшеничне борошно, наявність якого є основним чинником формування структури хлібобулочних виробів. Інфрачервоноспектроскопічними дослідженнями показана можливість конфірмаційних змін білкових речовин тіста шляхом упорядкування їх просторової структури.

Література

1. Барсукова Н.В., Красильников В.Н. Новые технологические подходы к созданию специализированных продуктов питания для безглютеновой диеты // Материалы V Российского Форума «Здоровое питание с рождения: медицина, образование, пищевые технологии. Санкт-Петербург-2010», 12-13 ноября 2010 г. – СПб., 2010. – С. 7-8
2. Stefano Renzetti, Fabio Dal Bello Elke K. Arendt. Microstructure, fundamental rheology and baking characteristics of batters and breads from different gluten-free flours treated with a microbial transglutaminase / Journal of Cereal Science. - 48 (2008). – p.33–45.
3. Basmann A, Koksel H, Ng PKW (2002) Eur. Food Res. Technol. 215:419–424.
4. Basmann A, Koksel H, Ng PKW (2003) J. Food Sci. 68:2453–2460.