

Лекція 1

Тема. Вступ. Білкові речовини.

Мета. Ознайомити студентів з харчовою та біологічною цінністю білків, структурою та фізико-хімічними властивостями білків, новими формами білкової їжі, функціональними властивостями білків, методами якісного та кількісного визначення білків.

Вступ. Організація здорового харчування населення – складний і багатofакторний процес, який можна реалізувати тільки спираючись на глибокі знання, наукову концепцію і продуману науково-технічну політику.

План.

1. ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА БІЛКІВ
 - 1.1. Білки у харчуванні людини
 - 1.2. Проблема білкового дефіциту на Землі
 - 1.3. Білково-калорійна недостатність і її наслідки. Харчові алергії
2. АМІНОКИСЛОТИ. ФУНКЦІЇ АМІНОКИСЛОТ В ОРГАНІЗМІ
3. НЕЗАМІННІ АМІНОКИСЛОТИ. ХАРЧОВА ТА БІОЛОГІЧНА ЦІННІСТЬ БІЛКІВ
4. БУДОВА ПЕПТИДІВ І БІЛКІВ. ФІЗІОЛОГІЧНА РОЛЬ ПЕПТИДІВ
5. БІЛКИ ХАРЧОВОЇ СИРОВИНИ
 - 5.1. Білки злаків
 - 5.2. Білки бобових культур
 - 5.3. Білки олійних культур
 - 5.4. Білки картоплі, овочів та фруктів
 - 5.5. Білки м'яса та молока
6. НОВІ ФОРМИ БІЛКОВОЇ ЇЖІ. ПРОБЛЕМА ЗБАГАЧЕННЯ БІЛКІВ ЛІМІТУЮЧИМИ АМІНОКИСЛОТАМИ
7. ФУНКЦІОНАЛЬНІ ВЛАСТИВОСТІ БІЛКІВ
8. ПЕРЕТВОРЕННЯ БІЛКІВ В ТЕХНОЛОГІЧНОМУ ПОТОЦІ
9. ЯКІСНЕ ТА КІЛЬКІСНЕ ВИЗНАЧЕННЯ БІЛКА
 - 9.1. Визначення загального Нітрогену за К'ельдалем
 - 9.2. Формольний метод кількісного визначення білків
 - 9.3. Методика розділення суміші амінокислот за допомогою паперової розподільчої хроматографії
 - 9.4. Методика проведення біуретової реакції
 - 9.5. Методика проведення нінгідринової реакції
 - 9.6. Методика проведення ксантопротеїнової реакції

УМОВНІ ПОЗНАЧЕННЯ

- ЛНГ – ліпопротеїдів низької густини;
УДФ – уридиндифосфат;
МСГ – меланоцитостимулючі гормони (меланотропіни, інтермедіни, меланокортини);
НВЧ – надвисокочастотне випромінювання;
КЕБ – коефіцієнт ефективності білка;
ІНАК – індекс незамінних амінокислот;
а.к. – амінокислота;
а.с. – амінокислотний скор;
ГАМК – γ -аміномасляна кислота;
КоА – кофермент А (коензим А, СоА, НСКоА);
АПБ – ацилпереносний білок;
ГЮК – гідрооксііндолілоцтова кислота;
НАД – нікотинамідаденіндинуклеотид;
НАДФ – нікотинамідаденіндинуклеотидфосфат;
ДОФА – діоксифенілаланін;
АДФ – аденозиндифосфат (аденозиндифосфорна кислота);
АТФ – аденозинтрифосфат (аденозинтрифосфорна кислота);
ТГФК – тетрагідрофолева кислота;
АМК – амінокислота;
АМН – Академія медичних наук;
ВООЗ – Всесвітня організація охорони здоров'я;
ФАО – продовольча та сільськогосподарська організація ООН (англ. Food and Agriculture Organization);
ДСТУ – Державні Стандарти України;
ДЕАЕ-целюлоза (DEAE cellulose) – діетиламіноетилцелюлоза;
ПААГ – поліакриламідний гель;
ІЕТ – ізоелектрична точка;
КМЦ – карбоксиметилцелюлоза;
КРА – коефіцієнт розчинності азоту;
КДБ – коефіцієнт диспергованості білка;
КЕБ – коефіцієнт ефективності білка;
ЛНГ – ліпопротеїд низької густини;
ПАР – поверхнево-активні речовини;
ДНК – дезоксирибонуклеїнова кислота.

ВСТУП

В харчуванні людини білки займають особливе місце. Вони виконують ряд специфічних функцій, властивих лише живій матерії. Білкові речовини забезпечують організм пластичним матеріалом, забезпечують обмін між організмом та навколишнім середовищем. В обміні речовин беруть участь як структурні білки клітин та тканин, так і ферментні та гормональні системи. Білки координують та регулюють усі хімічні перетворення в організмі, які забезпечують функціонування його як одне ціле.

Поглиблене вивчення даного класу сполук в курсі харчової хімії необхідне з огляду на кінцеву мету – збереження здорового способу життя людини та продовження терміну її життя. Цим слід керуватися спеціалістам, які задіяні до виробництва харчових продуктів.

В природничих науках проблема білків включає два аспекти. Перший із них полягає в дослідженні природи білків та їх біологічних функцій як інгредієнта протоплазми клітини, який відіграє вирішальну роль в розвитку живих організмів. Другий включає вивчення ресурсів білків як обов'язкового компонента їжі, шляхів їх збільшення (з наданням особливого значення білкам рослинного походження), розробку способів покращення якості білка з урахуванням функціональних властивостей і залежності їх від реакційної здатності, структурної організації, фізико-хімічних, біохімічних та інших видів перетворення в технологічних процесах виробництва і зберігання харчових продуктів. Ці дві сторони проблеми вивчення білка є самостійними, в той же час вони взаємопов'язані, так як доповнюють одна одну конкретними знаннями, як у процесі вивчення фізіологічних процесів в організмі, так і процесів приготування їжі під час розробки продуктів харчування та умов їх зберігання. Питання першого аспекту проблеми білка складають предмет вивчення біохімії і молекулярної біології, другого – харчової хімії.

1. ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА БІЛКІВ

1.1. Білки у харчуванні людини

Білки або протеїни – високомолекулярні нітрогеновмісні органічні сполуки, молекули яких побудовані із залишків амінокислот. Назвою білки (або білкові речовини) у вітчизняній літературі прийнято позначати клас сполук, які за аналогією з білком курячого яйця під час кип'ятіння (денатурації) набувають білого кольору. Термін «протеїни», введений Берцеліусом у 1838р., походить від грецького слова *proteios*, що означає «першорядний». Цей термін достатньо точно відображає біологічне значення найважливішого класу сполук, яке полягає в забезпеченні складної ієрархії молекулярної структури та специфічних функцій живих організмів.

В природі існує близько 10^{10} - 10^{12} різних білків, що становлять основу усіх видів живих організмів, починаючи від вірусів і закінчуючи людиною. Велика різноманітність білків зумовлена здатністю 20 протеїногенних α -амінокислот взаємодіяти між собою з утворенням полімерних молекул з молекулярною масою від 5 тис. до 1 млн. (і більше) дальтон. Наприклад, включення до складу білка залишків тільки 15 амінокислот приводить до отримання приблизно $1,3 \cdot 10^{12}$ ізомерів. Неважко уявити, яке різноманіття білків з усіма особливостями структурної організації можливе в природі за умови включення в полімерний ланцюг сотні і більше протеїногенних амінокислот.

Кожний вид живих організмів характеризується індивідуальним набором білків, який визначається спадковою інформацією, закодованою в ДНК. Інформація про лінійну послідовність нуклеотидів ДНК переписується в лінійну послідовність амінокислотних залишків, яка, в свою чергу, забезпечує самочинне формування тривимірної стійкої структури індивідуального білка. Розміщення білкових молекул у просторі визначає їх біологічні функції.

Основними біологічними функціями білків є **структурна** (кератин волосся, нігтів, колаген сполучної тканини, еластин, муцини слизових

виділень), **каталітична** (ферменти), **транспортна** (гемоглобін, міоглобін, альбуміни сироватки), **захисна** (антитіла, фіброген крові), **скорочувальна** (актин, міозин м'язової тканини), **гормональна** (інсулін підшлункової залози, гормон росту, гастрит шлунку) та **резервна** (овальбумін яйця, казеїн молока, феритин селезінки). Резервна, або поживна, функція заключається у використанні білків як джерела амінокислот, які витрачаються на синтез білків та інших активних сполук, що регулюють процеси обміну, наприклад, в плоді, який розвивається або паростках рослин. Такі білки відкладаються про запас в процесах дозрівання насіння і життєдіяльності тварин. Тому їх ще називають **запасними**. Запасні білки рослинного походження, за класифікацією Осборна, відносяться до класів проламінів (гліадин пшениці, гордеїн ячменю, кукурудзи) і глютеїнів (орезинін рису, глютенін пшениці). Такі білки достатньо широко розповсюджені в природі і в відносно великій кількості входять в склад харчів та кормів для тварин.

Білкові речовини беруть участь також в багатьох інших важливих процесах в організмі, таких як збудження, координація рухів, диференціювання клітин. Враховуючи, що білки складають значну частину сухої речовини не тільки живих організмів, але й продуктів харчування, а також те, що вони мають певні специфічні функції, які не є характерними для інших класів сполук, визначення складу та структурно-функціональної організації поліпептидів містить в собі відповідь на вирішення багатьох важливих проблем у виробництві, зберіганні та вживанні харчових виробів.

Всі елементи клітин знаходяться в процесі постійного оновлення, під час якого розклад врівноважується ресинтезом, тобто має місце стаціонарний стан фіксації рівноваги. Про стаціонарний стан і цілісність організму свідчить рівновага між швидкістю синтезу і розпаду білків тіла. Постійний обмін та оновлення здійснюється між білками тканин та «фондом» вільних амінокислот, які утворюються в процесі перетравлювання їжі та надходять у кров (рис. 1.1). Білки в організмі людини, незалежно від її віку, оновлюються постійно. В молодому організмі, який росте, швидкість синтезу білків

перевищує швидкість їх розпаду; під час важких захворювань чи голодування – навпаки. Найшвидше оновлюються білки печінки і слизової оболонки кишківника (до 10 днів), найповільніше (до 180 днів) – білки м'язів (міозин), сполучної тканини (колаген) і мозку (мієлін). Період оновлення гормонів вимірюється годинами або навіть хвилинами (інсулін). Швидкість оновлення білків виражається часом, необхідним для обміну половини всіх молекул. Ця величина називається **період півжиття** ($T_{1/2}$). Середнє значення $T_{1/2}$ для білків всього організму складає близько 3 тижнів. Загальна швидкість синтезу білків у людини досягає 500 г в день, що майже в 5 раз перевищує споживання їх з їжею. Досягнення такого результату здійснюється за рахунок повторного використання продуктів розпаду білків і попередників амінокислот в організмі.

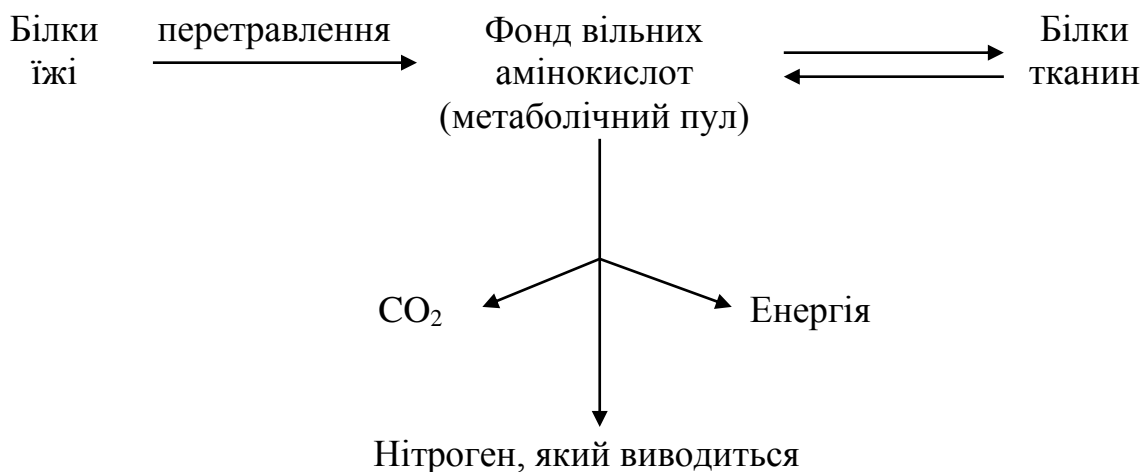


Рис.1.1. Стаціонарний стан обміну білків

Ефективність обміну білків в значній мірі залежить від кількісного і якісного складу їжі. Під час надходження білків (з їжею) менше за рекомендовані норми, в організмі починають розпадатися білки тканин (печінки, плазми крові тощо), а утворені амінокислоти – витрачаються на синтез ферментів, гормонів та інших необхідних для підтримки життєдіяльності організму біологічно-активних сполук. Підвищена кількість білків в складі їжі значного впливу на обмін речовин в організмі людини не

має, при цьому надлишок продуктів обміну нітрогену виводиться з сечею. Стан білкового обміну в більшій мірі залежить від нестачі або відсутності незамінних амінокислот. Клітини організму людини не можуть синтезувати необхідні білки, якщо в складі їжі відсутня хоча б одна незамінна амінокислота. Синтез білків також порушується, якщо частина амінокислоти руйнується в кишківнику патогенною мікрофлорою, амінокислоти погано всмоктуються, протеолітичні ферменти шлунково-кишкового тракту мало активні. Видалення частини амінокислот з організму з продуктами обміну речовин зумовлює його негативний азотистий баланс.

Показник азотистого балансу використовується для оцінки ступеня забезпеченості людини білковою їжею. Це різниця між кількістю нітрогену, що надходить з їжею, та кількістю нітрогену, що виводиться у вигляді кінцевих продуктів обміну, виражена у [г/добу]. При позитивному балансі кількість нітрогену, що виводиться з організму, менша за кількість нітрогену, що надходить в організм, при від'ємному – навпаки. Позитивний азотистий баланс характерний для молодого організму та вагітних жінок, негативний – для людей, їжа яких бідна на білки, для хворих з порушеннями процесів травлення їжі та людей похилого віку.

Стан, за якого кількість нітрогену, що надходить в організм, дорівнює кількості нітрогену, що виводиться з організму, характерний для азотистої рівноваги. Азотисту рівновагу має здорова доросла людина, яка вживає повноцінні білки в необхідній кількості. Азотистий баланс такого організму дорівнює нулю.

На стан азотистого обміну організму істотно впливають жири та калорійність їжі, вітаміни (В₁, В₂, В₆, РР), мінеральні речовини і гормони. Наприклад, гормони щитовидної залози та низькокалорійна дієта стимулюють розпад білків, а гормони росту і статевих залоз, навпаки, сприяють їх синтезу. Таким чином, організм людини потребує забезпечення його білковою їжею, в іншому випадку можуть розвиватися патологічні процеси і настає смерть організму.

Середня добова фізіологічна потреба людини в білках постійно досліджується протягом більше як ста років та періодично висвітлюється в рішеннях ВООЗ, ФАО та національних організацій різних країн. Ці величини мають орієнтовний характер, так як вони знаходяться на стадії постійного уточнення в залежності від віку людини, статі, характеру професійної діяльності, фізіологічного стану, клімату, індивідуальних та національних особливостей та ступеня забруднення навколишнього середовища. У відповідності до рекомендацій ВООЗ та ФАО, величина оптимальної потреби в білках становить 60-100 г на добу, або 12-15% від загальної калорійності їжі. В загальній кількості енергії частка білків тваринного та рослинного походження становить 6-8%. В перерахунку на 1 кг маси тіла потреба у білках на добу в дорослої людини в середньому дорівнює приблизно 1 г, тоді як для дітей, залежно від віку, вона коливається від 1,05 до 4,00 г.

Ці дані відображають загальні вимоги до оптимального рівня білка для забезпечення здоров'я людини. Наприклад, ще в 1904 р. Чіттенден (Chittenden) встановив, що споживання 44-53 г білка на день сприяє нормальному фізіологічному стану дорослої людини (вагою 70 кг). Відомі випадки, коли люди добре почували себе і під час вживання підвищеної кількості білка в день, наприклад, м'яса до 337 г на добу (Shah, 1953). У харчуванні слід дотримуватись норм, які рекомендуються.

Рекомендовані норми споживання основних харчових речовин для основних груп населення включають 73-120 г білка на добу для чоловіків і 60-90 г для жінок, в тому числі білка тваринного походження 43-65 і 43-49 г, відповідно. Нижня межа відноситься до тих, чия діяльність не пов'язана з фізичною працею, верхня – до людей, що займаються важкою фізичною працею. В середньому, для дорослого чоловіка в віці 30 років необхідний рівень споживання білка в перерахунку на нітроген дорівнює 9,0-9,2 г на добу на 1 кг маси. Для людей, які перенесли важкі інфекційні захворювання, хірургічні втручання, мають захворювання органів травлення, дихання, потреба в білку збільшується в середньому до 110-120 г в день, а в

високобілковій дієті, наприклад, у діабетиків кількість білку може досягати 135-140 г. Білок обмежується до 20-40 г на добу під час захворювань, пов'язаних з нирковою недостатністю, подагрі.

1.2. Проблема білкового дефіциту на Землі

Сьогодні у світі існує дефіцит харчового білка і нестача його в найближчі десятиліття, ймовірно, збережеться. На кожного жителя Землі припадає близько 60 г білка на добу, при нормі 70 г. В останні роки в Україні відмічається різка зміна структури споживання харчових продуктів. Результати динамічних досліджень фактичного харчування дорослого та дитячого населення країни за останні 10 років свідчать про зниження вживання продуктів тваринного походження, зокрема м'яса та м'ясопродуктів на 37%, молочних продуктів на 34%, риби на 81%. Наприклад, в раціоні дошкільнят (вік 3-7 років), які відвідують дитячі дошкільні установи м. Києва, відмічається дефіцит м'яса, риби, молока, овочів та фруктів, вживання тваринного білка знижено на 17%, вітаміну А – на 70%, вітамінів групи В – на 40% (за результатами дослідження, проведеного в 2000 р. лабораторією гігієни харчування Інституту гігієни та медичної екології ім. Марзеєва АМН України). Відмічається, що населення віддає перевагу дешевшим продуктам з меншою біологічною цінністю, проте більш енергоємним, які забезпечують енергетичну цінність раціону. Основним постачальником енергії є вуглеводний компонент, частка якого в раціоні складає від 50% до 80% (в основному це хлібобулочні вироби, вироби з борошна, картопля, 17% калорійності раціону забезпечується за рахунок цукру). У структурі харчування спостерігається збільшення частки жирового компоненту на 38-40%, переважно за рахунок жирів тваринного походження (в першу чергу за рахунок сала).

Наведені дані дозволяють зробити висновок, що харчовий статус населення України характеризується такими важливими порушеннями: надлишкове вживання тваринного жиру та цукру, дефіцит тваринних білків, поліненасичених жирних кислот, харчових волокон.

Окрім того, у населення України спостерігається так званий «прихований голод» за рахунок дефіциту в раціоні вітамінів, особливо антиоксидантного ряду (А, Е, С), макро- та мікроелементів (йод, ферум, кальцій, флуор, селен). Дослідження показали, що до 90% населення мають недостатність вітаміну С, ступінь дефіциту якого досягає 50-80%; у 40-80% виявлена недостатня забезпеченість вітамінами групи В та фолієвою кислотою. Особливу тривогу викликає виявлений у дітей та дорослих (зокрема, у тих, що мешкають на екологічно несприятливих територіях) дефіцит вітамінів антиоксидантного ряду (С, Е, А та бета-каротину).

Зниження вживання білка з їжею відповідає сучасним світовим тенденціям зниження ступені забезпечення населення Землі білком. Загальний дефіцит білка на планеті оцінюється в 10-25 млн. т на рік. З 7 млрд. людей, які живуть на Землі, приблизно половина страждає від нестачі білка. Нестача харчового білка є не тільки економічною, але й соціальною проблемою сучасного світу. Не в усіх країнах продукти тваринного походження доступні широким верствам населення. В районах тропічної Африки, Латинської Америки та Азії, населення яких зайняте важкою сільськогосподарською працею, проблема забезпечення білком яєць, м'яса і молока, особливо гостра. Тваринні білки є цінним джерелом харчування, тому економічно розвинутим країнам потрібно знайти вирішення важливої проблеми: з одного боку, це розробка раціональних способів зберігання та збуту надлишку продуктів тваринного походження, а з другого – пошук шляхів одержання нових ресурсів харчового білка. В іншому випадку більшість населення Землі вживатиме в їжу лише білки рослинного походження, які відрізняються неповноцінним амінокислотним складом.

Традиційним шляхом збільшення ресурсів харчового білка є підвищення продуктивності рослинництва та тваринництва на основі технологій вирощування зернобобових, оливкових та злакових культур, які використовуються як безпосередньо в їжу, так і на корм тваринам. Найбільшу кількість білків, а особливо лізину, забезпечують такі зернобобові

культури як соя, горох, чечевиця. Однак, бобові культури, які використовуються безпосередньо в їжу, не є традиційними для багатьох народів, до того ж важко досягти високих урожаїв та розширення площі посіву певної культури в силу особливостей ґрунтово-кліматичних умов вирощування і застосування агротехнічних заходів.

Рослинний раціон, який містить повноцінний білок в необхідній кількості, може бути створений на основі використання харчових продуктів, одержаних з різних джерел. Наприклад, кукурудза збіднена триптофаном і лізином, а бобові – метіоніном, тому суміш, що складається з кукурудзи та соєвих білкових продуктів чи овочів, забезпечує надходження в організм «якісного» білка. Можливість використання однокомпонентного складу дієти в їжі людини збільшується за рахунок практичного використання досягнень генетики рослин. На сьогодні виведені сорти високолізинової кукурудзи «Опейк-2», ячменю «Хай-пролі», сорго, пшениці з підвищеним вмістом білка. Шляхом схрещування, наприклад, ячменю «Хай-пролі» з високобілковими мутантами, отримані сорти з вмістом лізину 4,5-4,8% і білка 13,5-15,5%. Створений гібрид жита і пшениці (тритікале) з 3,7% лізину і середнім вмістом білка 13,4%.

В останні роки все більше уваги приділяється отриманню нових видів білкової їжі, виготовлення яких ґрунтується на використанні повноцінних за амінокислотним складом рослинних білків.

Збільшення кількості харчового білка за рахунок тваринництва є менш перспективним шляхом, в порівнянні з рослинництвом. На отримання 1 кг тваринного білка, яке міститься в молоці, м'ясі і яйцях, потрібно витратити 5-8 кг кормового білка. При цьому коефіцієнти трансформації рослинних білків в білки високопродуктивних тварин і птахів дуже низькі (25-39%). В процесі трофічного (харчового) ланцюга втрачається 60-75% білка в неперетравлених залишках корму, не утилізованих в організмі амінокислот, які виділяються з сечею у вигляді продуктів розпаду, в процесах обміну (рух, оновлення білків тканин тощо) та через шкірно-волосяні покриви. Особливо великі втрати

білків відбуваються за рахунок затрат на їх біосинтез, так як тваринні білки значно відрізняються за амінокислотним складом від білків рослин. Відсутність у тварин здатності синтезувати ряд амінокислот призводить до того, що свої потреби в останніх вони задовольняють за рахунок підвищеної кількості рослинних білків. Організм тварин може синтезувати ряд відсутніх амінокислот, але тільки на шкоду діяльності гормональної і ферментативної системи. Звідси актуальним є збалансоване годування тварин (відходи м'ясо-молочної, рибної промисловості, соєвий шрот і т.і.) з метою підвищення коефіцієнта трансформації білків у продукцію тваринництва.

В найближчі роки рослинництво і тваринництво, ймовірно, будуть основними джерелами харчового білка, однак важливе місце в вирішенні білкової проблеми відводиться і рибальству. В той же час запаси морепродуктів обмежені, тому пошук нових ефективних шляхів покриття білкового дефіциту з врахуванням природних ресурсів кожної країни залишається актуальним.

У вирішенні проблеми дефіциту білка за останні три десятиліття визначився новий біотехнологічний напрям – одержання продуктів з підвищеним вмістом та покращеними властивостями білка методом генної інженерії. Сутність генної інженерії полягає в перенесенні генів певного організму в клітину реципієнта для отримання рослин, тварин або мікроорганізмів з рекомбінованими генами, а, отже, і з новими корисними властивостями. Рослини, тварини і мікроорганізми, отримані генною інженерією, називаються генетично зміненими, а продукти їх переробки – трансгенними харчовими продуктами.

Генна інженерія, або рекомбінація *in vitro*, включає виділення чужорідного гена ДНК, отримання гібридних (рекомбінованих) молекул ДНК і введення їх в живі клітини рослини, яка модифікується, наприклад, для отримання нових ознак організму.

ДНК рослин попередньо піддається гідролізу ферментів рестриктазою в специфічних ділянках подвійної спіралі, при цьому на двох її кінцях

розщепленої молекули стають вільними чотири нуклеотиди, в яких азотисті основи представлені, наприклад, тиміном та аденіном (ТГАА і ААТТ) (рис. 1.2). Ген, який необхідно вбудувати в ДНК, «вищипують» із ДНК організму-донора з допомогою такого ж ферменту рестрикції так, щоб його кінці були комплементарними до нуклеотидних послідовностей на кінцях ДНК модифікованого організму (ААТТ і ТГАА). Обидві ДНК «зшивають» разом ферментом лігазою. Отриману рекомбінантну ДНК вводять в клітину рослини, ознаки якої хочуть змінити. Клітина, розмножуючись, утворює клон, що містить чужорідний ген, який індукуює синтез білка з новою амінокислотою послідовністю.

Рис. 1.2. Введення гена в ДНК модифікованої рослини

Найбільш інтенсивно проводяться роботи з такими сільськогосподарськими культурами як соя, пшениця, кукурудза, помідори, цукровий буряк, картопля, бавовник, ріпак. Практичні розробки уже зараз впроваджені в багатьох країнах світу, збільшуються площі посіву під трансгенну сою, рис, картоплю та ягідні культури (малина, полуниця). З генетично зміненою соєю тільки в США випускається близько 3000 харчових продуктів: супи, рибні консерви, дитячі каші, соуси тощо.

Продукти, отримані з використанням генів мікроорганізмів і рослин, в порівнянні з традиційними продуктами, містять менше пестицидів,

консервантів, залишкової кількості важких металів, вони не потребують обробки хімічними препаратами від шкідників. Трансгенна соя і кукурудза стійкіша до бур'яну та комах, трансгенні томати несприйнятливі до вірусних захворювань, а гичка картоплі неїстівна для колорадського жука. Соя, яка містить ген пшениці, має біологічну цінність 1,0 (0,92 у традиційної), а картопля, отримана з пересадженим геном квасолі, містить підвищену кількість білка (на 6%).

Одним із способів інтенсифікації виробництва продуктів харчування з підвищеним вмістом якісного білка є впровадження урожайних сортів рослин, не піддаються впливу пестицидів, гербіцидів, інсектицидів, але мають рядом корисних властивостей (морозостійкість, стійкість до посухи, відсутність здатності до вилягання, певні розміри насіння і підвищена біологічна цінність).

За допомогою генетичних змін бактерій отримують ферменти, які застосовуються під час виробництва глюкозного сиропу із крохмалю, виготовлення кондитерських, хлібобулочних виробів (амілази), соків і вин (пектинази). При цьому покращуються фізико-хімічні та органолептичні показники якості харчових продуктів.

Вживання генетично-модифікованих продуктів знаходиться під контролем спеціальних органів, так як введення в організм рослин генів, відповідальних за синтез білків, наприклад, альбумінів молока, яєць і т.і., містить в собі небезпеку вживання в їжу продуктів харчування, які не переносяться певними групами людей (харчова алергія). Це може бути пов'язано з появою антиаліментарних і токсичних речовин, що визначаються властивостями перенесених генів. За умови пересадки генів із мікроорганізмів може синтезуватися білок з низькою засвоюваністю.

Підходи до оцінки безпеки та якості генетично-модифікованих об'єктів в різних країнах різні і за змістом, і за об'ємом, але в усіх них розробляються спеціальні методи і критерії. Так, до 2007 року в Україні не існувало законодавства, яке б регламентувало створення, оцінку та реалізацію

генетично модифікованої продукції. Окремі законодавчі акти носили загальний обмежувачий характер і не надавали конкретної процедури визначення безпечності генетично модифікованих продуктів. У зв'язку з необхідністю підготовки пакету документів для вступу у Світову організацію торгівлі, за останній рік в нашій державі прийнято ряд актів, які поклали початок системному і нормативно регламентованому дослідженню генетично модифікованих об'єктів.

31 травня 2007 року Верховною Радою України прийнято закон № 1103-V «Про державну систему біобезпеки при створенні, випробовуванні, транспортуванні та використанні генетично модифікованих організмів». Кабінет Міністрів України постановою № 985 від 1 серпня 2007 року «Питання обігу харчових продуктів, що містять генетично модифіковані організми та/або мікроорганізми» зобов'язав виробників вказувати на упаковці продуктів інформацію про наявність в них генетично модифікованих компонентів у кількості, що перевищує 0,9 %. Цим же документом заборонені ввезення та реалізація продуктів дитячого харчування, що містять генетично модифіковані компоненти. Держспоживстандарт України планує з 1 листопада 2007 року запровадити маркування продуктів з генетично модифікованими компонентами. У 2007 році уведено в дію ДСТУ ISO 21572:2006 (ISO 21572:2004, IDT) «Продукти харчові. Методи аналізу для визначення генетично модифікованих організмів і похідних продуктів. Методи, які ґрунтуються на аналізі білків».

В Україні діють 3 сертифіковані лабораторії з визначення генетично модифікованих організмів, ще 6 лабораторій готуються до сертифікації. Основною проблемою для оцінки вмісту генетично модифікованих організмів в Україні надалі залишається відсутність уніфікованих схем дослідження та стандартизованих методів визначення генетично модифікованих організмів, аналогічних тим, що існують у інших державах. Необхідно також прискорити гармонізацію ISO стандартів, пов'язаних з

оцінкою генетично модифікованих організмів. Ці питання потребують якнайшвидшого вирішення.

Таким чином, що ліквідація в харчуванні людини дефіциту білка всіма ефективними методами, включаючи генну інженерію, є однією із насущних проблем нашого століття.

1.3. Білково-калорійна недостатність і її наслідки. Харчові алергії

Білкова недостатність є важливою проблемою харчування. Сім'ї, які живуть бідно, на фоні недостатньо калорійної їжі вживають мало білку, в результаті чого виникає синдром дистрофії. Багата на білок їжа дорого коштує, тому не всі верстви населення можуть нею постійно харчуватися. Дистрофія розвивається в людини під час часткового (або повного) голодування та під час вживання неповноцінних білків. Це захворювання супроводжується порушенням функції кишківника, так як з необхідною швидкістю не синтезуються ферменти підшлункової залози та не оновлюються клітини слизової оболонки цієї залози. В організмі розвивається негативний азотистий баланс, порушується водно-сольовий обмін, з'являється атонія м'язів і зупинка росту. Харчова дистрофія особливо небезпечна для немовлят. Дистрофія може супроводжуватися смертю від діареї, гострих інфекцій, захворювань печінки та відставанням у фізичному і розумовому розвитку. Різке зниження синтезу білка в печінці на фоні недостатнього поступлення його в організм зменшує кількість сироваткового альбуміну, ліпопротеїдів низької густини (ЛНГ) і гемоглобіну в крові (рис. 1.3).

Поряд із загальними порушеннями обміну амінокислот в організмі існують специфічні зміни деяких з них. Так, порушення обміну гістидину виражаються в зниженні активності ферменту гістидинаміакліази і підвищенні активності гістидиндекарбоксилази. Це викликає, в свою чергу, накопичення надлишку гістидину в тканинах. Під час нестачі триптофану знижується синтез нікотинової кислоти і накопичується ксантуренова

кислота, яка пригнічує β -клітини острівців Лангерганса підшлункової залози, провокуючи цим самим виникнення діабету.

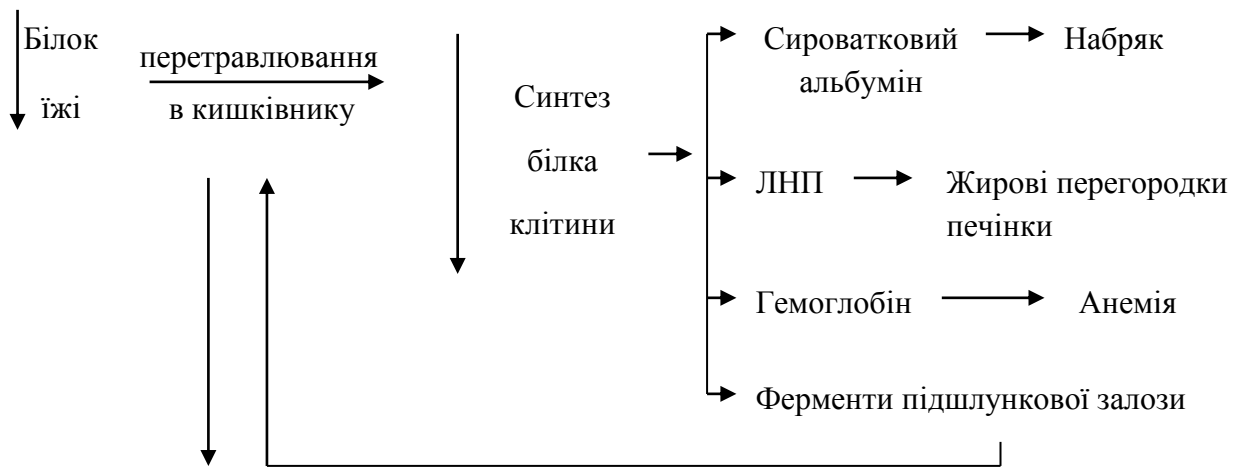


Рис. 1.3. Порочне коло під час квашиоркору

Важкі наслідки недостатнього надходження білка в організм людини неможливо лікувати терапевтичними методами, тому надання всім потребуючим матеріальної допомоги для вживання в їжу білкових добавок може вирішити проблему охорони і збереження здоров'я людей як в дитячому, так і в зрілому віці. Використання в раціоні повноцінного тваринного білка чи збалансованих рослинних білкових сумішей необхідно для виключення незворотних відхилень у здоров'ї людини.

Негативну роль для людини відіграють *харчові алергії*, пов'язані з несприйняттям організмом деяких видів білкової їжі (молоко, яйця, горіхи, білки деяких злаків). Термін «алергія» походить від грецьких слів «аллос» – інший та «ергон» – дія. У процесі нормального травлення білки розщеплюються в кишково-шлунковому тракті до амінокислот, які не є антигенами (алергенами) і не викликають зворотної імунної (захисної) реакції. Якщо в кров'яне русло без попереднього розщеплення проникає незначна кількість білків їжі, то в організмі починає діяти імунна система для захисту від дії чужорідних компонентів. При значному надходженні в кров алергенів виникає гостра реакція, яка проявляється у свербінні, шкірному висипанні або кишково-шлункових розладах. Природа таких реакцій

остаточно не вивчена. Запобігти харчовій алергії у немовлят можна грудним вигодовуванням або нагріванням деяких білків до 120°C , однак найбільш ефективним способом боротьби є виключення алергенів з дієти.

2. АМІНОКИСЛОТИ. ФУНКЦІЇ АМІНОКИСЛОТ В ОРГАНІЗМІ

Загальне число амінокислот, які зустрічаються в природі досягає близько 300. Серед них розрізняють:

- а) амінокислоти, які входять до складу білків;
- б) амінокислоти, які утворюються з інших амінокислот, але тільки після включення останніх в процес синтезу білка (їх виявляють в гідролізатах білків);
- в) вільні амінокислоти.

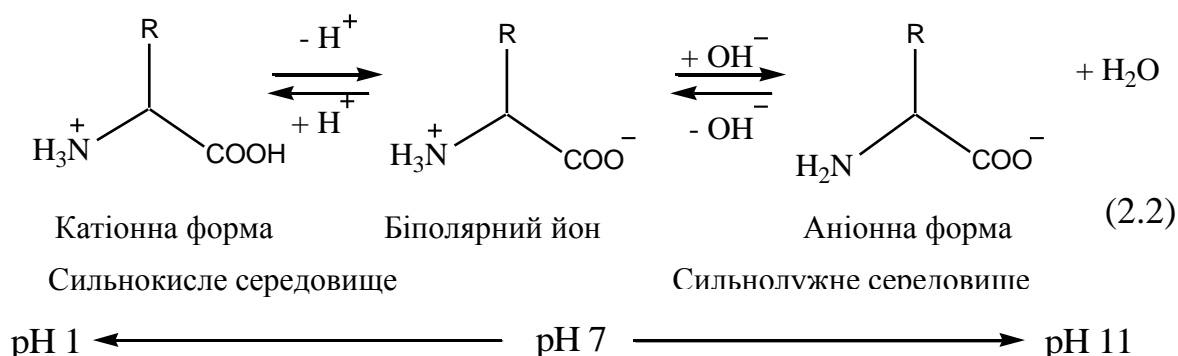
З точки зору харчування виділяють **есенціальні** (незамінні) амінокислоти. Ці амінокислоти не можуть синтезуватися в організмі людини і повинні надходити з їжею.

Амінокислоти – поліфункціональні сполуки, які містять дві різні хімічні функціональні групи, що здатні реагувати одна з одною з утворенням ковалентного пептидного (амідного) зв'язку:



В амінокислотах аміно- ($-\text{NH}_2$) та карбоксильна ($-\text{COOH}$) групи приєднані до одного і того ж атома Карбону, який називається α -карбон. Природа бокових ланцюгів 20 протейногенних амінокислот наведена на рис. 2.1.

1. Амінокислоти, існуючи в твердому або розчиненому стані, завжди знаходяться в формі біполярних йонів (цвіттер-йонів), положення рівноваги яких залежить від рН середовища:



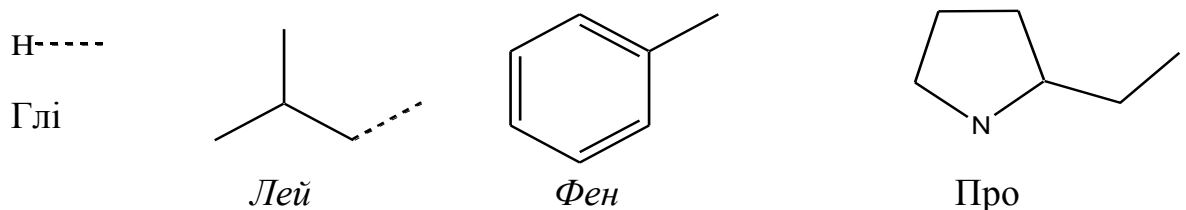
Існування амінокислот у вигляді йонів зумовлює розчинність у воді та нерозчинність в неполярних рідинах. Більшість амінокислот розчинні у воді, але амінокислоти з гідрофобними групами (ізолейцин, лейцин, тирозин) характеризуються відносно невисокою розчинністю. В організмі йонний стан амінокислот визначає їх всмоктуваність в шлунково-кишковому тракті після гідролітичного розщеплення білків і транспорт до різних органів і тканин. Здатність до йонізації в кислому або лужному середовищі лежить в основі розділення амінокислот йонообмінною хроматографією та електрофорезом.

2. Більшість природних α -амінокислот відноситься до L-стереохімічного ряду, однак в деяких пептидах (антибіотики грамїцидин, актиноміцин) зустрічаються амінокислоти D-ряду. Останні, як правило, не засвоюються організмом людини. Так, D-глутамінова кислота не має смаку, а L-глутамінова кислота має смак м'яса. L-глутамінову кислоту отримують із клейковини пшениці та використовують як смакову добавку до харчових концентратів. Солодкий смак мають й інші амінокислоти L-ряду: валін, треонін, пролін, серин і тощо. Ці амінокислоти привертають до себе увагу як замітники цукру в харчуванні діабетиків.

3. Амінокислоти відрізняються ї структурою бокових ланцюгів, від якої залежать хімічні, фізичні властивості і фізіологічні функції білків в організмі.

Амінокислоти з гідрофобними боковими групами здебільшого локалізовані в середині білкових макромолекул, тоді як амінокислоти з полярними боковими групами розташовуються на їх поверхні.

А. Гідрофобні амінокислоти (з неполярними радикалами):



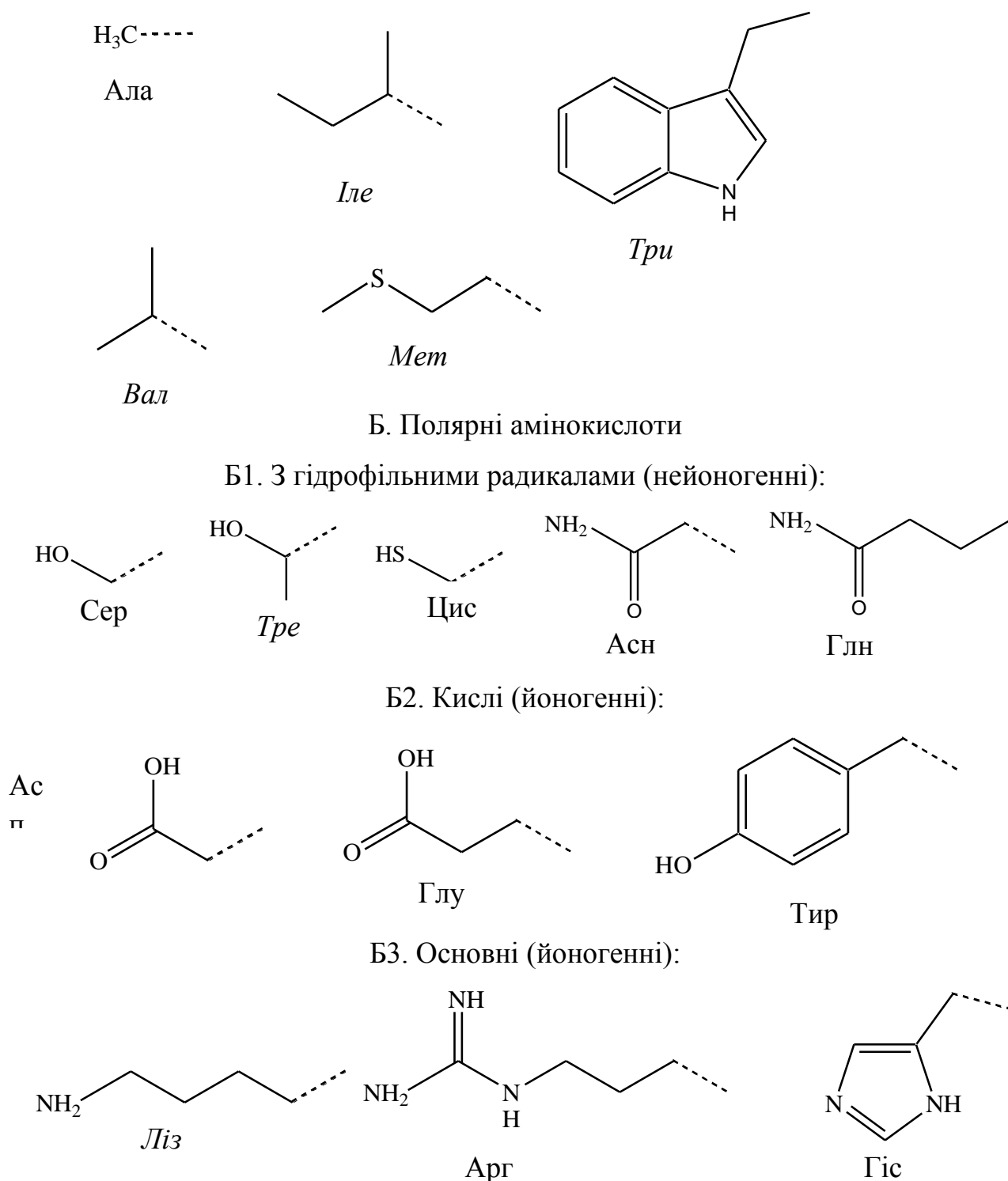


Рис. 2.1. Бокові ланцюги амінокислот, які входять або здатні включатись до складу білків (*курсивом* виділені назви незамінних амінокислот).

В складі полярних α -амінокислот є функціональні групи, які здатні до йонізації (йоногенні) та не здатні переходити в йонний стан (нейоногенні). При цьому кислі та основні йоногенні групи радикалів, як правило, розташовуються на поверхні молекул білків та беруть участь в йонних

(електростатичних) взаємодіях. В ролі полярних нейоногенних груп в молекулах білків виступають гідроксильні групи серину, треоніну та амідні групи глутаміну (Глн) і аспарагіну (Асп). Ці групи можуть розташовуватись як на поверхні, так і всередині білкової молекули, і беруть участь в утворенні водневих зв'язків з іншими полярними угрупованнями.

Майже усі α -амінокислоти, які надходять з травного тракту людини в кров'яне русло організму, зазнають ряд загальних перетворень, призначення яких полягає в забезпеченні пластичним матеріалом процесу синтезу білків і пептидів та здійсненні дихання з утворенням АТФ (рис. 2.2). В основі таких перетворень лежать реакції дезамінування, трансамінування і декарбоксілювання.

Специфічні шляхи обміну та модифікації α -амінокислот

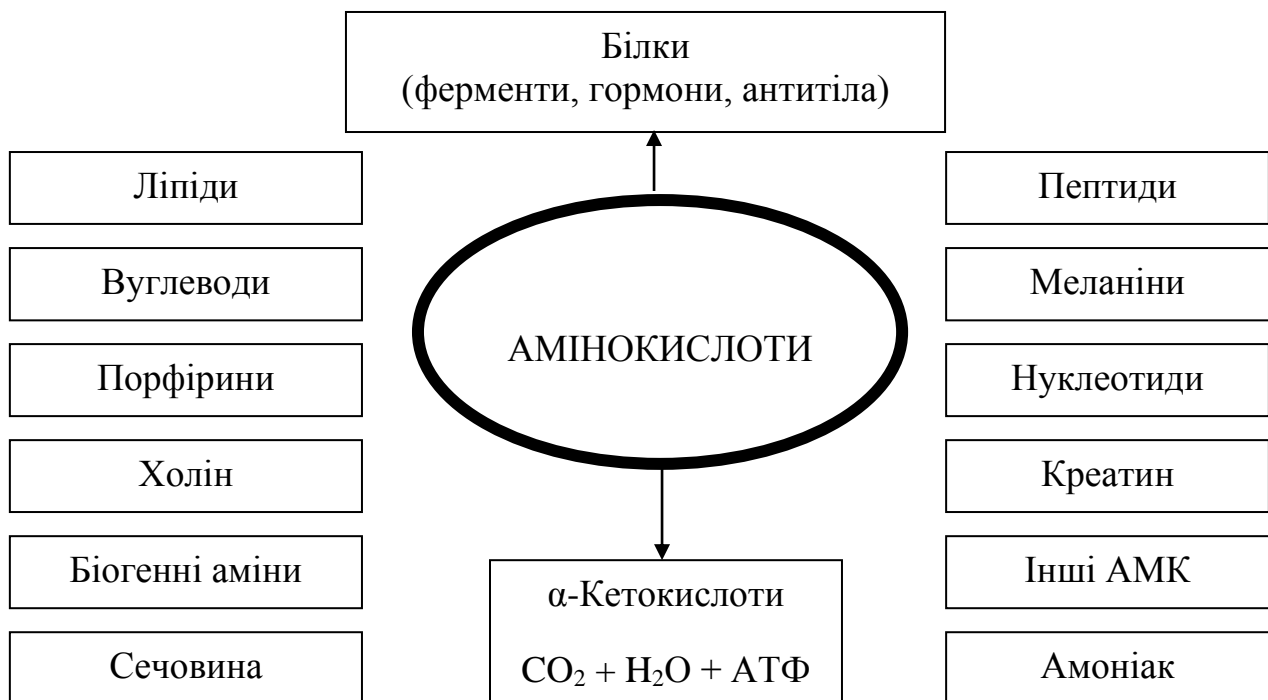
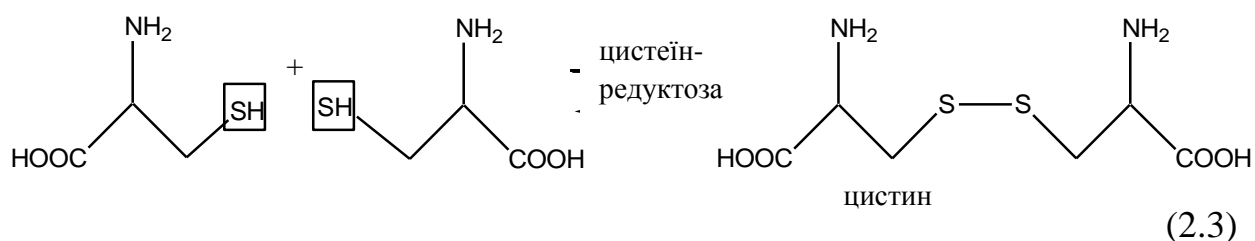


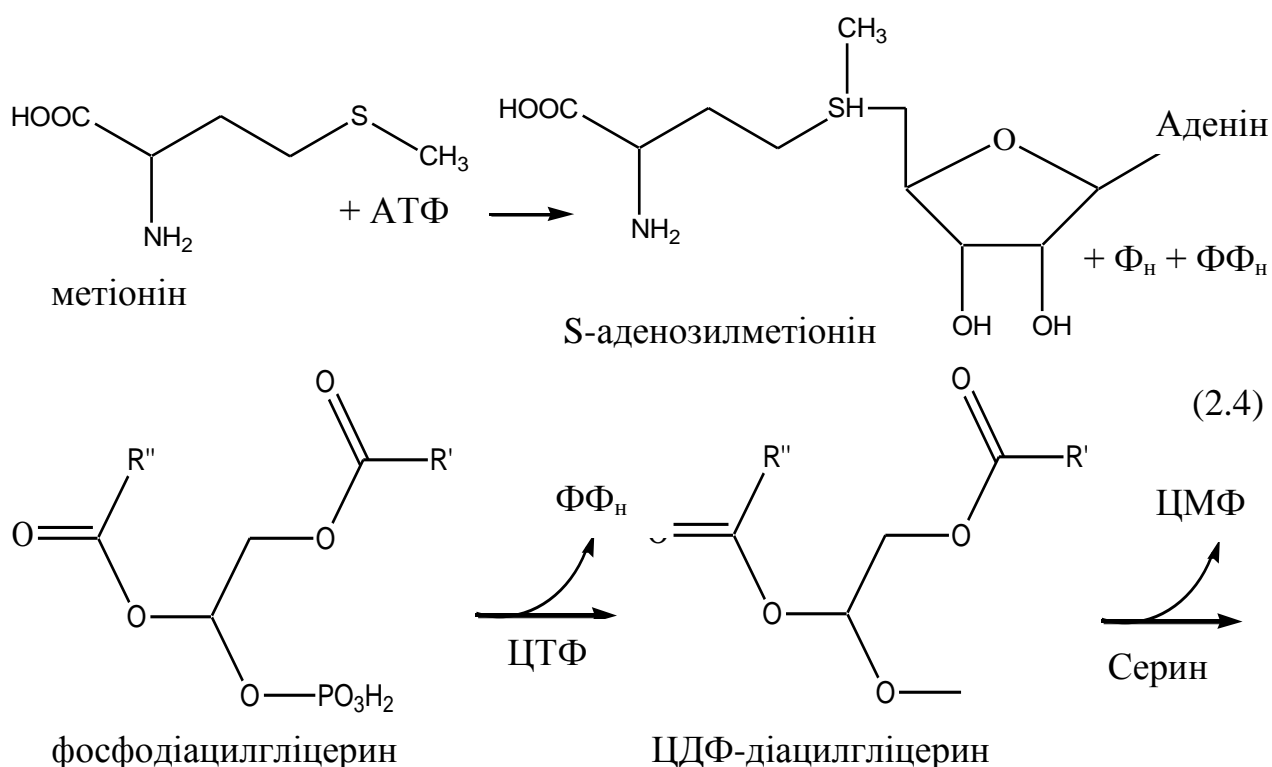
Рис. 2.2. Основні функції амінокислот в організмі

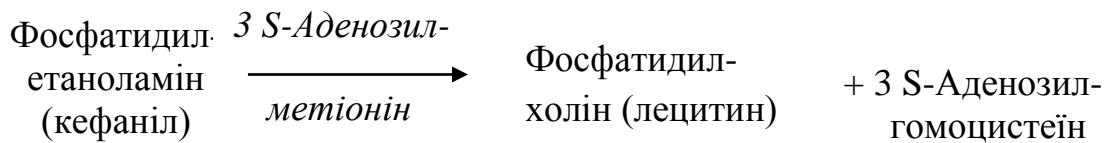
В тканинах організму легко здійснюється ферментативна окисно-відновна реакція, обумовлена наявністю в цистеїні реакційно-здатної SH-групи:



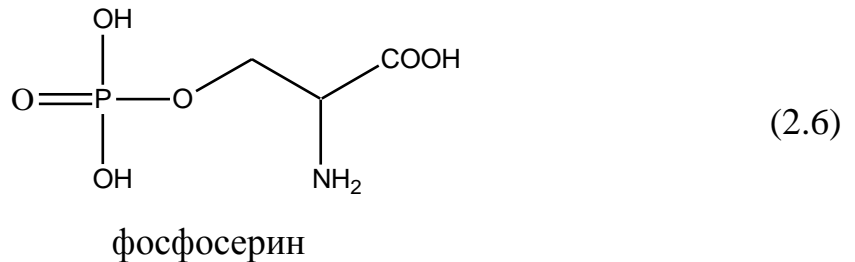
Здатність цистеїну окиснюватись зумовлює захисні і радіопротекторні властивості. В присутності цистеїну знижується інтенсивність окисних процесів в ліпідах і білках, підвищується стійкість організму до йонізуючого випромінювання, стабілізується якість лікарських препаратів. За участі двох залишків цистеїну в поліпептидних ланцюгах утворюються дисульфідні зв'язки, які зумовлюють біологічну активність або функціональні властивості білків в складі їжі. Дуже важливу роль дисульфідні зв'язки відіграють в білках пшениці, так як вони надають клейковині пружних властивостей.

Основна фізіологічна роль метіоніну пов'язана з наявністю лабільної метильної групи. Віддаючи групу $-\text{CH}_3$ через утворення S-аденозилметіоніну, метіонін бере участь в синтезі гліцерофосфоліпідів:

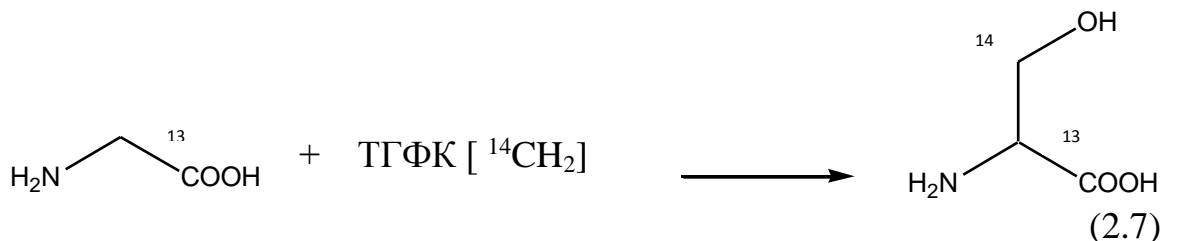




У реакціях синтезу гліцерофосфоліпідів помітна фізіологічна роль амінокислоти серин, яка, як і треонін, в естерифікованому вигляді за участі ортофосфатної кислоти у великій кількості входить до складу складних білків – фосфопротеїнів (казеїну молока і вітеліну яйця):

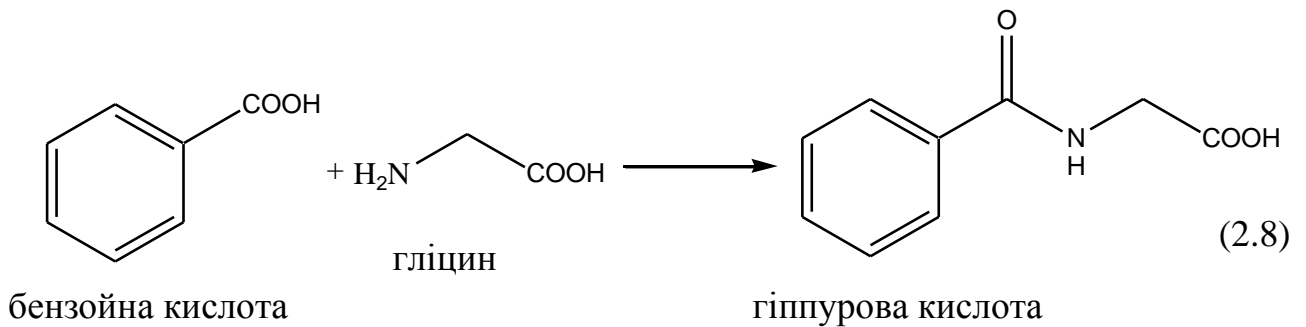


Серин, в свою чергу, синтезується із гліцину під дією ферменту, який містить тетрагідрофолеву кислоту (ТГФК). Ця реакція вивчена за допомогою метода мічених атомів:



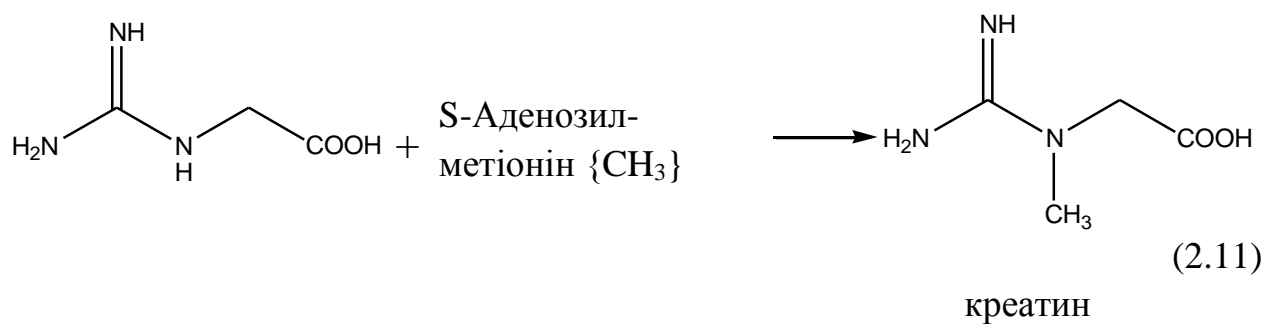
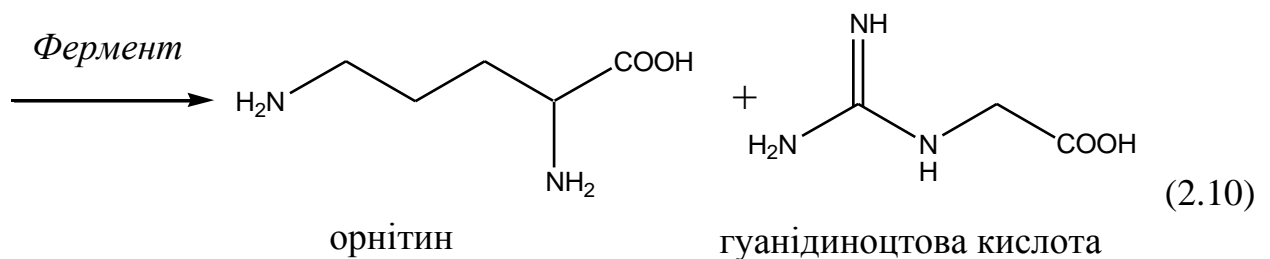
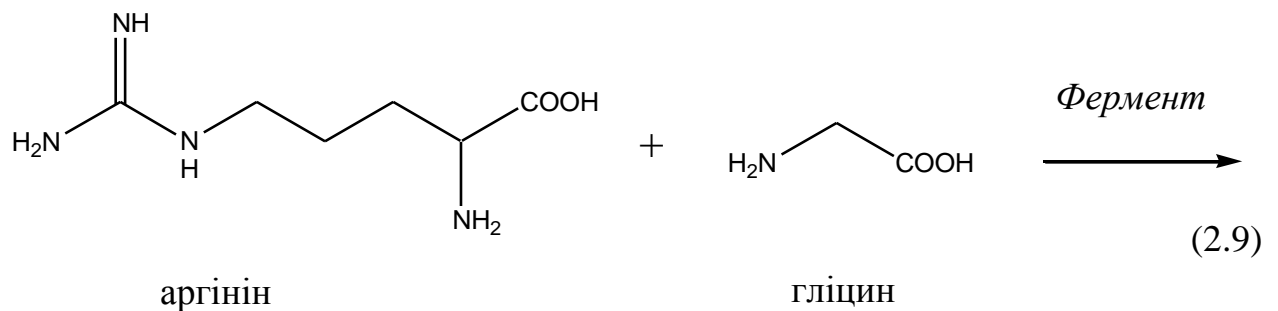
Гліцин є попередником пуринового кільця гема крові і утворює так звані парні сполуки. З жовчними кислотами, наприклад холевою кислотою,

Гліцин утворює глікохолеву кислоту, з бензойною кислотою – гіппурову кислоту:

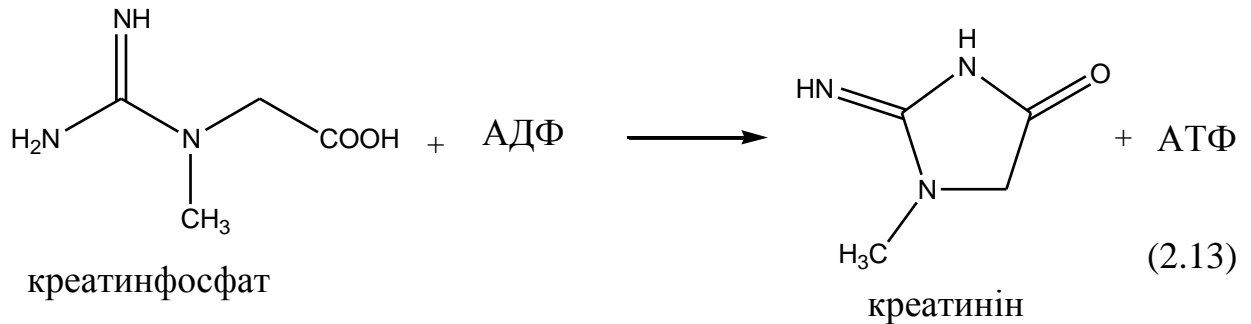


Глікохолева кислота бере участь в процесі засвоєння ліпідів, а в формі гіппурової кислоти із організму виводиться токсична бензойна кислота.

Три амінокислоти – аргінін, гліцин і метіонін – беруть участь в синтезі *креатину* – сполуки, за допомогою якої в м'язовій тканині відбувається неперервний ресинтез макроергу АТФ:

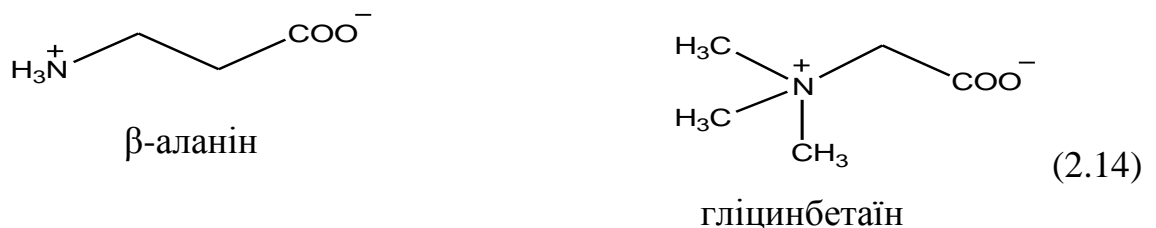


За участі креатину в організмі людини і тварин утворюється креатинфосфат, який по мірі необхідності віддає свою фосфатну групу молекулам АДФ, перетворюючись в *креатинін*:

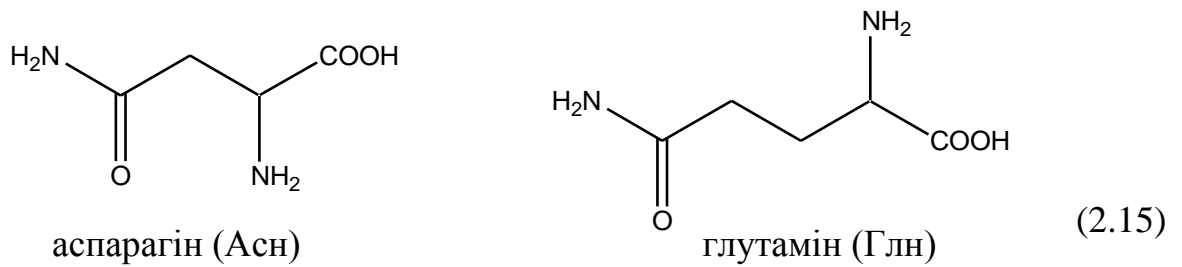


Креатин і циклічний креатинін входять до складу м'ясного екстракту, їх співвідношення залежить від рН середовища і температури. Так, під час нагрівання м'яса в кислому середовищі в екстракті переважає креатинін.

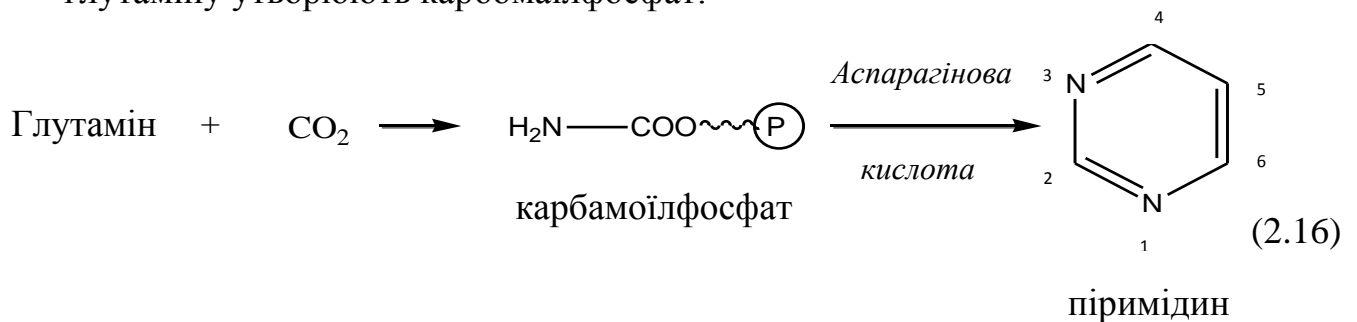
У живих організмах, харчових продуктах і сировині зустрічаються й інші, так звані «рідкісні» амінокислоти, або їх похідні, які не входять до складу білків. Так, β -аланін є складовою частиною м'ясних бульйонів, а бетанін – продукт метилювання гліцину, відходу цукрового виробництва – меляси:



Амінокислоти цитрулін та орнітин беруть участь разом з аргініном в циклі утворення сечовини у людини і тварин. Фундаментальну роль в обміні речовин живих організмів відіграють глютамінова та аспарагінова кислоти. Вони беруть участь в процесах розщеплення, синтезу і переносу, часто у формі амідів:

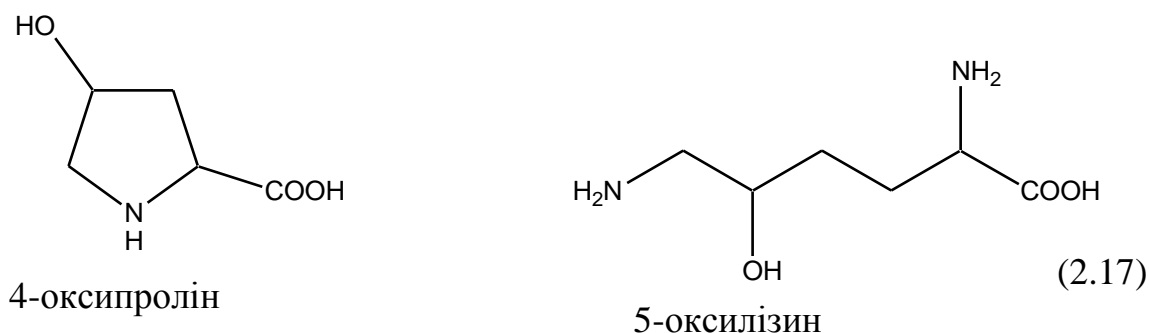


Глутамін, наприклад, є основною формою переносу амоніаку в крові людини і разом з аспарагіною кислотою служить попередником піримідинового кільця нуклеотидів. Нітроген 1 походить з аспарагінової кислоти, нітроген 3 – із глутаміну, карбон 4,5,6 кільця віддає аспарагінова кислота, а карбон 2 походить із CO_2 . Молекула CO_2 та амідна група глутаміну утворюють карбомаїлфосфат:

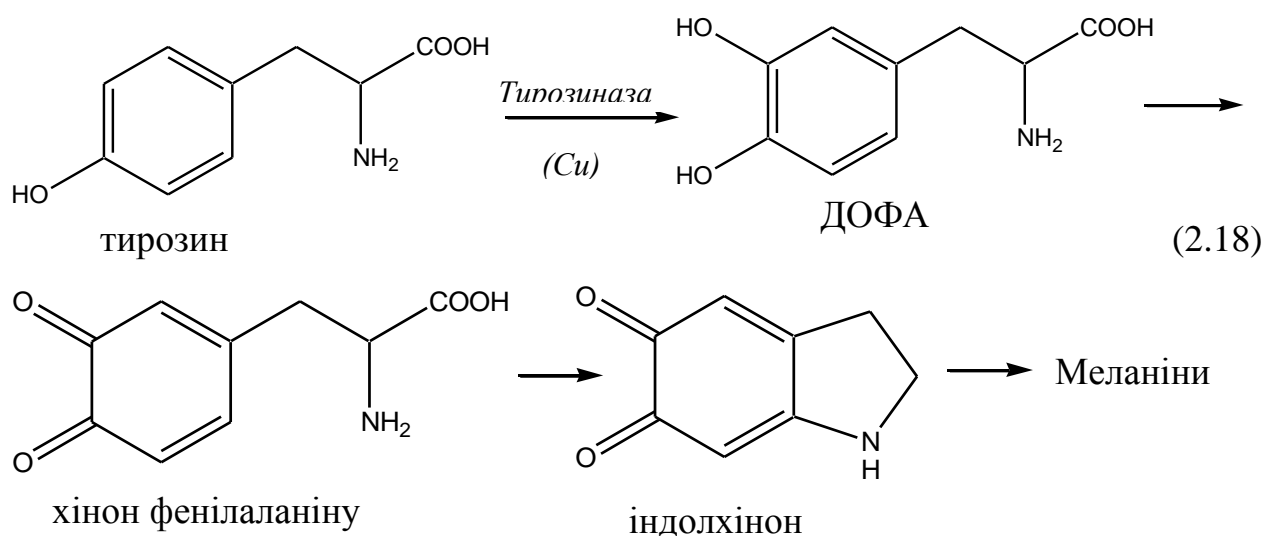


Реакція декарбоксилювання глутамінової кислоти з утворенням γ -аміномасляної кислоти, яка відноситься до групи медіаторів, відіграє важливу роль в обміні речовин мозку і нервової тканини.

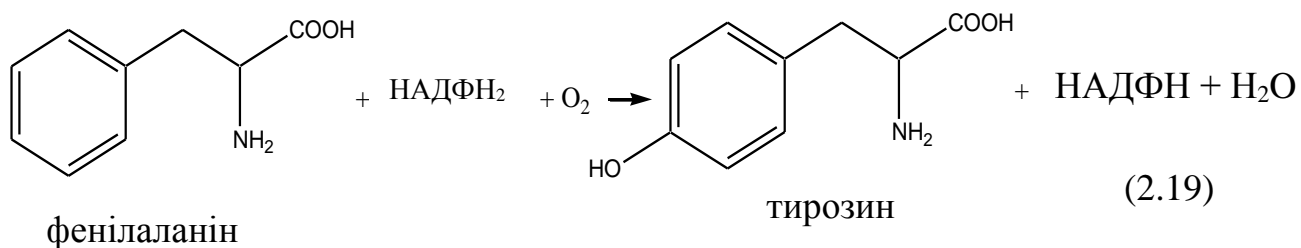
З обміном глутамінової кислоти тісно пов'язаний обмін проліну, який синтезується цієї кислоти в результаті відновлення проліндегідрогеназою. Пролін відіграє важливу роль під час формування структури колагену і білків клейковини пшениці, викликаючи вигини в поліпептидних ланцюгах. У фібрилярних білках сполучної тканини м'яса і колагену, разом з проліном, зустрічаються 4-оксипролін і 5-оксилізін, які утворюються за рахунок окиснення відповідних амінокислот вже після включення в білок. Присутність оксипроліну в м'ясних і ковбасних виробках впливає на їх якість і враховується під час їх оцінки.



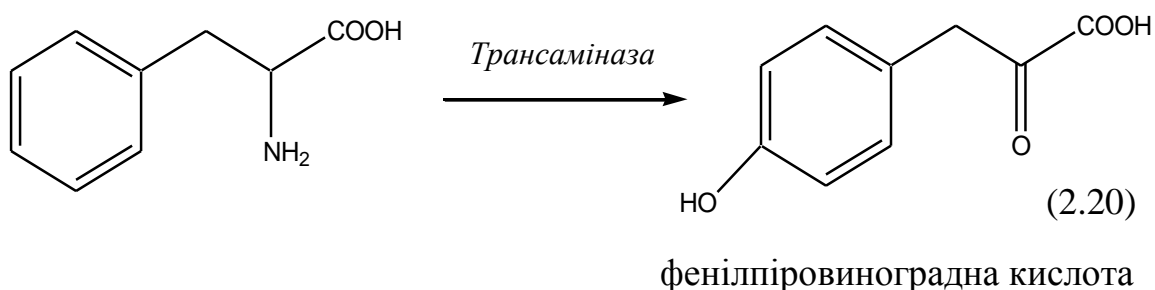
Тирозин відповідає за колір волосся, шкіри, очей, за темний колір харчових продуктів (наприклад, житнього хліба), так як з його участю синтезуються темно кольорові пігменти – меланіни. Механізм реакції до кінця не вивчений, але відомі перші етапи їх синтезу. Під дією ферменту, який містить купрум, тирозин перетворюється в діоксифенілаланін (ДОФА), який далі окиснюється, циклізується, утворюючи індолхінон. Полімеризація останнього призводить до синтезу меланінів:



Утворення меланінів посилюється під впливом ультрафіолетових променів (під час загару) і може бути причиною злякисних новоутворень. При спадковому захворюванні – альбінізмі, який характеризується відсутністю ферменту тирозинази, навпаки, не спостерігається пігментація шкіри, волосся, але присутній страх світла. Тирозин утворюється з фенілаланіну. В здоровому організмі реакція синтезу тирозину протікає за участю двохкомпонентного ферменту фенілаланінгідроксилази за схемою:

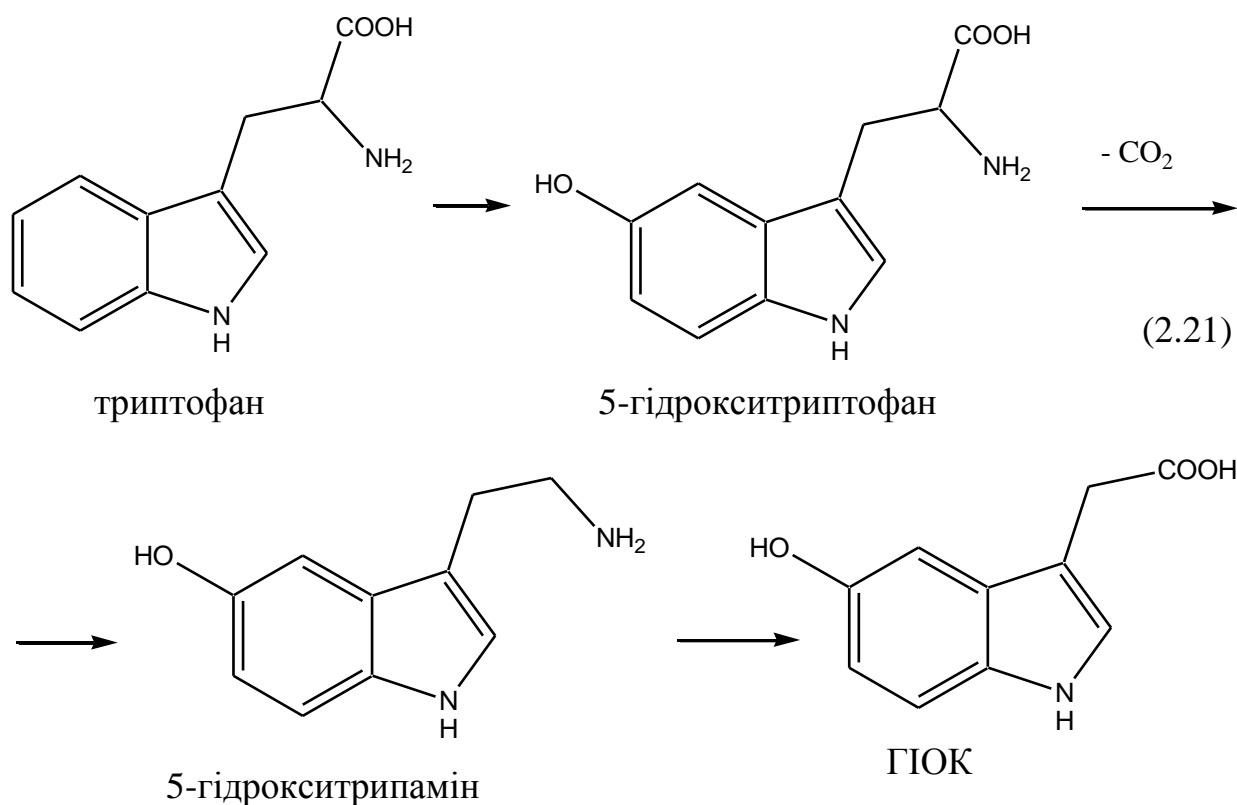


При спадковому захворюванні фенілкетонурією у людини відбувається мутація гена, який кодує синтез одного із компонентів ферменту, що містить як переносник гідрогену сполуку біоптерин. Спадкова аномалія, яка супроводжується важкою розумовою відсталістю, характеризується перетворенням фенілаланіну за типом переамінування з надлишковим накопиченням фенілпірвіноградної кислоти в сечі:

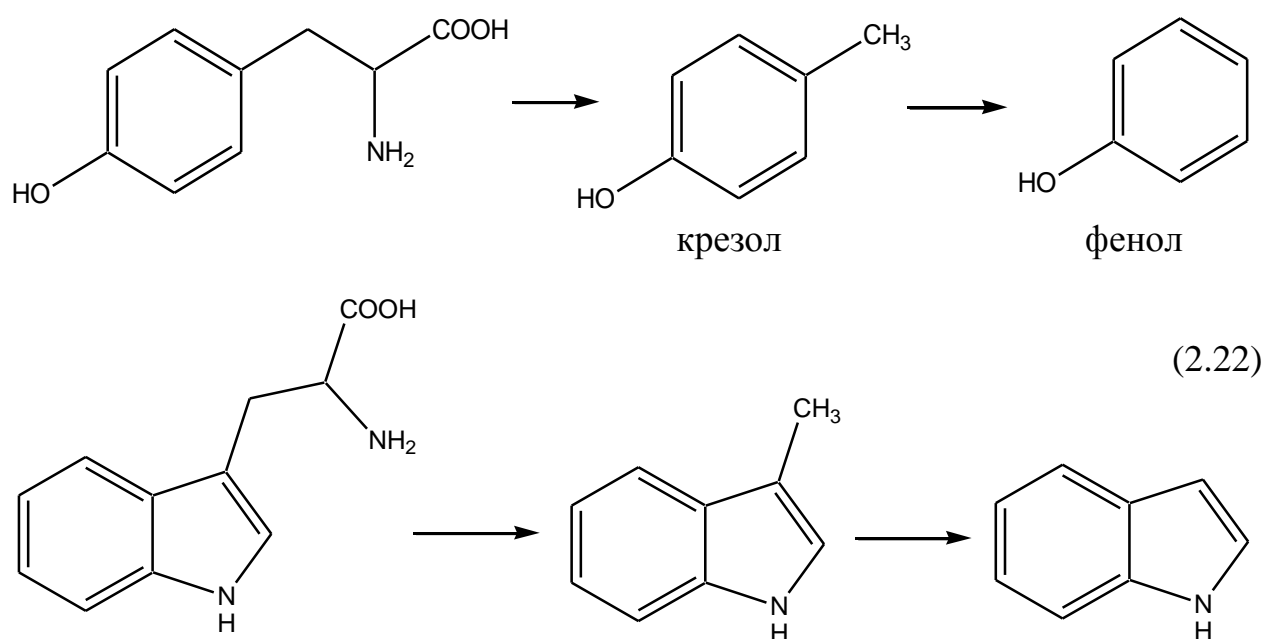


Знизити ступінь розумової відсталості, особливо у дітей в ранньому віці, можна з допомогою зниження вмісту фенілаланіну в їжі, щоб його надлишок токсично не впливав на клітини головного мозку. Відомий і ряд інших вроджених захворювань, пов'язаних з порушенням обміну амінокислот. Так, алкаптонурія виникає в результаті недостатчі оксидази гомогентизинової кислоти – продукту обміну тирозину, гіперпролінемія – через недостачу ферменту проліноксидази, а цитрулінемія зумовлена порушенням циклу утворення сечовини, так як в організмі не синтезується аргінінсукцинатсинтетаза.

Незамінна амінокислота триптофан служить попередником нікотинової кислоти, НАД і НАДФ, серотоніну й індолілоцтової кислоти – гормону росту рослин. Серотонін, має судинозвужувальну дію; синтезується в клітинах кишківника і нервової тканини. Із організму виводиться у вигляді гідрооксііндолілоцтової кислоти (ГІОК):



Із тирозину і триптофану, які містяться в їжі, за участі мікробних ферментів в кишківнику утворюються отруйні продукти – крезол, фенол, скатол, індол, знешкодження яких проходить в печінці шляхом зв'язування з сульфатною або глюкуроною кислотою з утворенням нетоксичних (парних) кислот, наприклад фенолсульфатної кислоти.



В результаті декарбоксілювання скатол і індол є важливими біогенними амінами. Так, декарбоксілювання аспарагінової кислоти

забезпечує синтез β -аланіну, який є складовою частиною біологічно-активних сполук – КоА і АПБ; декарбоксілювання лізину та орнітину під дією ферментів кишкової мікрофлори призводить до утворення отруйних діамінів – кадаверину і путресцину. В здоровому організмі обидва аміни повністю знешкоджуються в слизовій оболонці кишківника.

Частина амінокислот виконує роль медіаторів – речовин, які беруть участь в передачі нервових імпульсів від однієї нервової клітини до іншої. Під час подразнення нервових волокон медіатори реагують зі специфічним рецептором і забезпечують відповідну фізіологічну функцію: регуляцію сну, неспання, серцево-судинну діяльність, терморегуляцію тіла. До медіаторів відносяться ацетилхолін, глютамінова та аспарагінова кислоти, гліцин, ГАМК, гістамін, серотонін, норадреналін.

Таким чином, амінокислоти відіграють велику роль в синтезі важливих фізіологічно активних сполук в організмі і забезпеченні деяких властивостей харчової сировини і продуктів. Узагальнена схема показана на рис. 2.3.

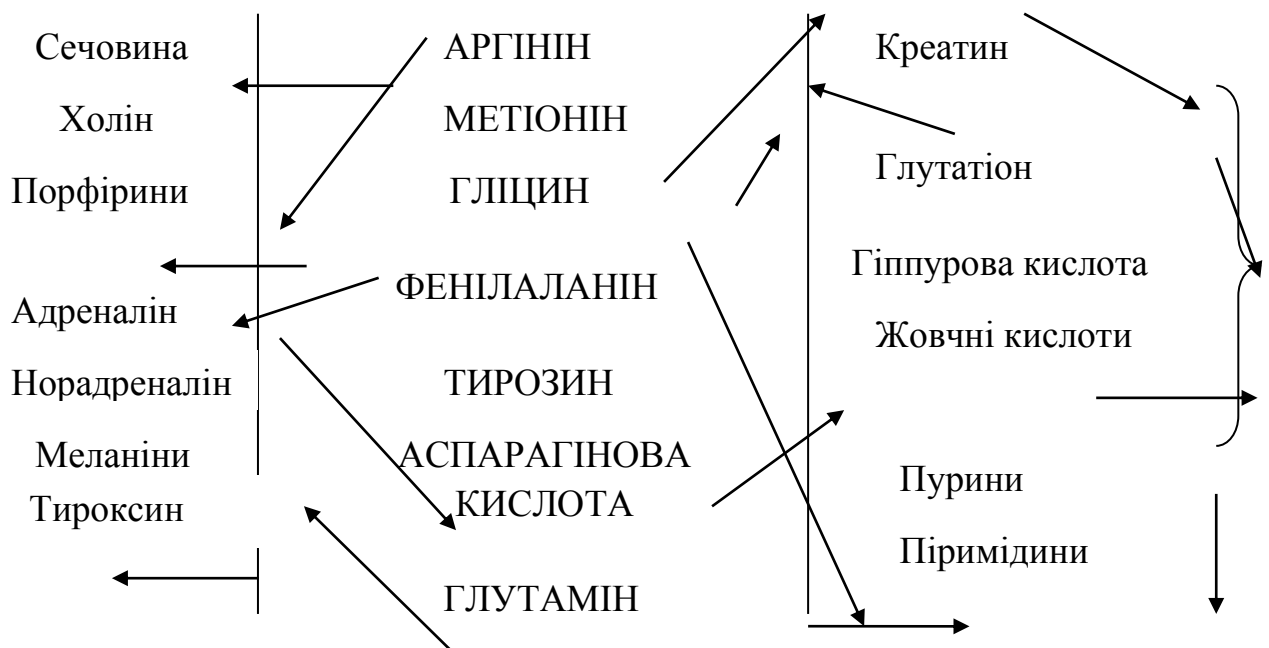


Рис. 2.3. Роль амінокислот

3. НЕЗАМІННІ АМІНОКИСЛОТИ.

ХАРЧОВА ТА БІОЛОГІЧНА ЦІННІСТЬ БІЛКІВ

Всі живі організми відрізняються за здатністю синтезувати амінокислоти, необхідні для біосинтезу білків. В організмі людини синтезується тільки частина амінокислот, інші повинні надходити з їжею. Перші з них називаються **замінними**, другі – **незамінними** (рис. 2.1). Замінні амінокислоти здатні замінити одна одну в раціоні, так як вони перетворюються одна в одну або синтезуються із проміжних продуктів вуглеводного або ліпідного обміну. Для незамінних амінокислот такі шляхи обміну існують тільки у рослин та деяких мікроорганізмах, наприклад, *E.coli*.

Життєдіяльність людини забезпечується щоденним вживанням з їжею збалансованої суміші, яка містить вісім незамінних амінокислот і дві частково замінні. Незамінні представлені ароматичними (фенілаланін, триптофан), аліфатичними (лейцин, валін, ізолейцин, лізин), а також, сульфурвмісними (метіонін) і гідроксивмісними (треонін). Так як із метіоніну та фенілаланіну в організмі синтезується цистеїн і тирозин, відповідно, то наявність в їжі в достатній кількості цих двох замінних амінокислот зменшує необхідність в незамінних попередниках.

До частково замінних амінокислот відносять аргінін і гістидин, так як в організмі вони синтезуються досить повільно. Недостатнє споживання аргініну і гістидину з їжею у дорослої людини в цілому не позначається на розвитку, однак може виникати екзема або порушення синтезу гемоглобіну. Особливо потребує аргінін і гістидин молодий організм.

Відсутність в їжі хоча б одної незамінної амінокислоти викликає негативний азотистий баланс, порушення діяльності центральної нервової системи, зупинку росту і важкі клінічні наслідки типу авітамінозу. Нестача однієї незамінної амінокислоти призводить до неповного засвоєння інших. Дана закономірність підпорядковується закону Лібіха, за яким розвиток живих організмів визначається тією незамінною речовиною, яка присутня в найменшій кількості.

Залежність функціонування організму від кількості незамінних амінокислот використовується під час визначення біологічної цінності білка хімічними методами. Найбільш широко використовуються метод Х.Мітчела і Р.Блока (Mitchell, Block, 1946), за яким розраховують показник амінокислотного скору (а.с.). Скор виражають у відсотках або безрозмірною величиною: відношення вмісту незамінної амінокислоти (а.к.) у визначуваному білку до її кількості в еталонному білку. Формула для розрахунку скору (%):

$$\text{Амінокислотний скор} = \frac{\text{мг а.к. в 1г білка}}{\text{мг а.к. в 1г еталону}} \times 100 \quad (3.1)$$

Амінокислотний склад еталонного білка збалансований та ідеально відповідає потребам організму людини у кожній незамінній амінокислоті, тому його ще називають «ідеальним». У 1973 р. у доповіді ФАО і ВООЗ опубліковані дані зі вмісту кожної амінокислоти в еталонному білку. В 1985 р. дані були уточнені у зв'язку з накопиченням нових знань про оптимальний раціон людини (табл. 3.1).

Амінокислота, скор якої має найнижче значення, називається першою лімітуючою амінокислотою. Значення скору цієї амінокислоти визначає біологічну цінність і ступінь засвоєння білків. Наочно показник біологічної цінності можна зобразити у вигляді найнижчої дошки бочки Лібіха на прикладі білків пшениці (рис. 3.1). Повна ємність бочки відповідає «ідеальному» білку, а висота дошки лізину – біологічній цінності пшеничного білка.

Інший метод визначення біологічної цінності білків полягає у визначенні індексу незамінних амінокислот (ІНАК). Метод уявляє собою модифікацію хімічного скору (Oser, 1951) і дозволяє враховувати кількість всіх незамінних кислот.

Індекс розраховують за формулою:

$$\text{ІНАК} = \sqrt[n]{\frac{\text{Ліз}_б}{\text{Ліз}_е} \times \frac{\text{Три}_б}{\text{Три}_е} \times \dots \times \frac{\text{Гіс}_б}{\text{Гіс}_е}} \quad (3.2)$$

де n – число амінокислот;

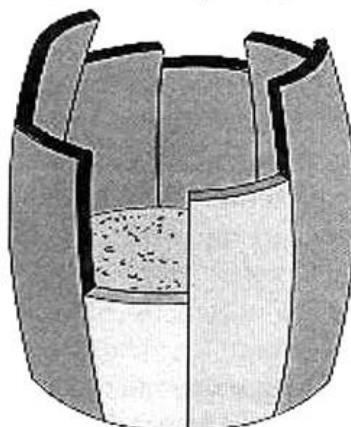
$б, е$ – індекси – вміст амінокислоти в досліджуваному та еталонному білку, відповідно.

Таблиця 3.1

Рекомендовані склади і добова потреба людини в незамінних амінокислотах (мг/г білка)

Незамінні амінокислоти	ФАО/ВООЗ (1985 р.)			ФАО/ВООЗ (1973 р.) Дорослі	Мг/кг маси тіла
	Діти 2-5 років	Діти 10-12 років	Підлітки		
Ізолейцин	28	28	13	40	10
Лейцин	66	44	19	70	14
Лізин	58	44	16	55	12
Метіонін+ цистин	25	22	17	35	13
Фенілаланін+тирозин	63	22	19	60	14
Треонін	34	28	9	40	7
Триптофан	11	9	5	10	3,5
Валін	35	25	13	50	10

Мет Три



Фен Ліз Тре Ала
Рис. 3.1. Бочка Лібіха

Крім хімічних методів на практиці широко застосовують біологічні методи з використанням мікроорганізмів і тварин. Основними показниками оцінки при цьому є приріс (ріст тварин) за певний проміжок часу, витрати

білка і енергії на одиницю приросту, коефіцієнти перетравлювання і відкладення нітрогену в тілі, доступність амінокислот. Показник, визначений відношенням приросту тварин (в г) до кількості вживаного білка (в г), розроблений П. Осборном (Osborn, 1919) і носить назву коефіцієнта ефективності білка (КЕБ). Для порівняння під час визначення показника використовують контрольну групу тварин із стандартним білком – казеїном, в кількості, яка забезпечує в раціоні 10% білка. В дослідях на щурах ефективність казеїнового білка дорівнює 2,5.

Тваринні і рослинні білки помітно відрізняються за біологічною цінністю. Амінокислотний склад тваринних білків близький до амінокислотного складу білків людини. Тваринні білки є повноцінними, тоді як рослинні – через відносно низький вміст в них лізину, триптофану, треоніну та інших, в порівнянні з м'ясом, молоком і яйцями, – неповноцінні. В табл. 3.2 наведено вміст незамінних амінокислот, включаючи лімітуючі, в найбільш поширених харчових продуктах. За допомогою цих даних можна орієнтовно скласти харчовий раціон, комбінуючи білки різного походження з метою доповнення їх за амінокислотним складом. Білки пшениці, наприклад, містять недостатню кількість лізину (перша лімітуюча кислота) і треоніну (друга лімітуюча кислота), але ці амінокислоти в надлишку присутні в казеїні молока. З іншого боку, нестача в казеїні сульфурвмісних амінокислот компенсується вмістом їх в білках пшениці. Важливо пам'ятати, що під час надлишкового вживання тваринних білків в організм надходить підвищена кількість насичених жирних кислот і холестерину. Тому доцільніше складати дієти, які містять достатню кількість рослинного білка, але із різних джерел. Наприклад, суміш кукурудзи з квасолею забезпечує комплементарний вміст білка і ліквідує дефіцит триптофану, лізину, метіоніну. Слід пам'ятати, що збереження нормальної ваги і працездатності людини забезпечується не тільки кількістю і відношенням незамінних амінокислот, але і вмістом загального нітрогену. За недостатньої кількості нітрогену біологічна цінність білків знижується.

Поряд з амінокислотним вмістом біологічна цінність білків визначається і ступенем їх засвоєння після перетравлюванням. Ступінь перетравлювання, в свою чергу, залежить від структурних особливостей, активності ферментів, глибини гідролізу в шлунково-кишковому тракті та виду попередньої обробки білків в процесі приготуванні їжі (теплової, гідротермічної, в полі НВЧ і т.і.). Так, білки шкіри і кератин волосся через фібрилярну структуру взагалі не використовуються людиною, не дивлячись на їх близький амінокислотний вміст до вмісту білків тіла. Теплова обробка, розварювання, протирання і подрібнення прискорюють перетравлювання білка, особливо рослинного, тоді як нагрівання за дуже високих температурах (більше 100°C) утруднює його.

Тваринні білки мають вищу засвоюваність, ніж рослинні. Із тваринних білків в кишківнику всмоктується більше 90% амінокислот, а із рослинних – тільки 60-80%. В порядку зменшення швидкості засвоєння білків в шлунково-кишковому тракті харчові продукти розташовуються у ряд:

риба > молочні продукти > м'ясо > хліб > крупи.

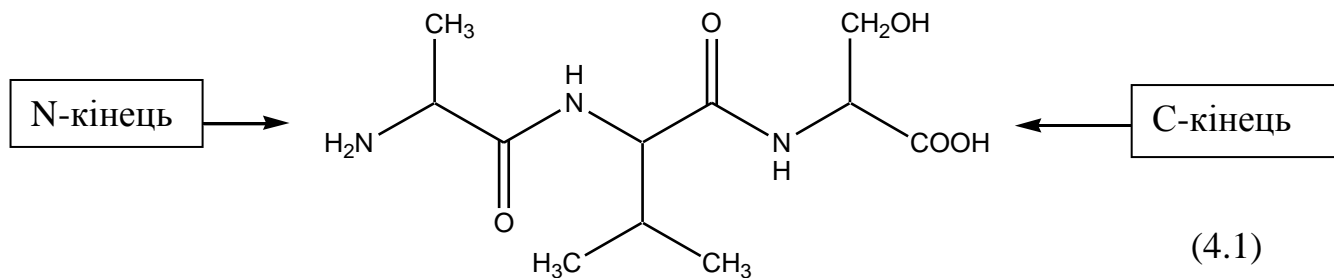
Однією з причин низького засвоєння білків є їх взаємодія з полісахаридами (целюлозою, геміцелюлозами), які ускладнюють доступ травних ферментів до поліпептидів.

За нестачі в їжі вуглеводів і жирів вимоги до білка (як носія харчової цінності) особливо зростає, так як поряд з біологічною роллю він починає виконувати й енергетичну роль. З іншого боку, при надлишку білків (на фоні необхідної кількості основних енергетичних компонентів) виникає небезпека синтезу ліпідів та ожиріння організму.

4. БУДОВА ПЕПТИДІВ І БІЛКІВ. ФІЗІОЛОГІЧНА РОЛЬ ПЕПТИДІВ

До середини ХХ ст. вважалося, що пептиди не є самостійним класом органічних сполук, а представляють собою продукти неповного гідролізу білків, які утворюються в ході перетравлювання їжі, в технологічному процесі або під час зберігання харчових продуктів. І тільки після того, як В. Дю Віньо (1953 р.) визначив послідовність залишків амінокислот двох гормонів задньої долі гіпофіза – окситоцину і вазопресину – та відтворив їх синтез хімічним шляхом, з'явилась нова точка зору на фізіологічну роль і значення пептидів. Сьогодні виявлена велика кількість пептидів, які мають індивідуальну послідовність амінокислот і не зустрічаються в гідролізатах природних білків.

Пептиди мають невисоку молекулярну масу, широкий набір амінокислотних залишків (до їх складу входять, наприклад, D-амінокислоти) і структурні особливості (циклічні, розгалужені). Назва пептидів утворюється із назви амінокислотних залишків шляхом послідовного їх перерахування, починаючи з NH₂-кінцевого залишку з додаванням суфікса –ил, крім С-кінцевої амінокислоти, назва якої залишається без змін. Наприклад:



Аланілвалілсерин (Ала-Вал-Сер)

В природі існує два види пептидів, один з яких синтезується і виконує фізіологічну роль в процесі життєдіяльності організму, інший утворюється за рахунок хімічного або ферментного гідролізу білків в організмі або поза ним. Пептиди, які утворюються в процесі гідролізу поза організмом (*in vitro*), широко використовуються для аналізу амінокислотної послідовності білків. За допомогою пептидів розшифрована амінокислотна послідовність ферменту лізоциму, гормону підшлункової залози інсуліну (Сенджер),

нейтротоксину отрути кобри (Ю. Овчинников та ін.), аспартам амінотрансферази (А Браунштейн та ін.), пепсиногену та пепсину (В. Степанов та ін.), лактогенного гормону бика (Н. Юдаєв).

Ферментне утворення пептидів відбувається в шлунково-кишковому тракті людини в процесі перетравлювання білків їжі. Воно починається в шлунку під дією пепсину, гастриксину і закінчується в кишківнику за участю трипсину, химотрипсину, аміно- і карбоксипептидаз. Розпад коротких пептидів завершується ди- і трипептидазами з утворенням вільних амінокислот, які витрачаються на синтез білків та інших активних сполук. Гідроліз білка в шлунково-кишковому тракті забезпечує структуру радикалів кінцевих амінокислот, залежну від місця дії ферменту (властивість специфічності). Так, під час розриву білка пепсином пептиди як N-кінцеві амінокислоти містять фенілаланін і тирозин, а як C-кінцеві – глютамінову кислоту, метіонін, цистин і гліцин. Пептиди, які утворені із білка за участю трипсину як C-кінцеві амінокислоти містять аргінін і лізин, а під дією химотрипсину – ароматичні амінокислоти та метіонін.

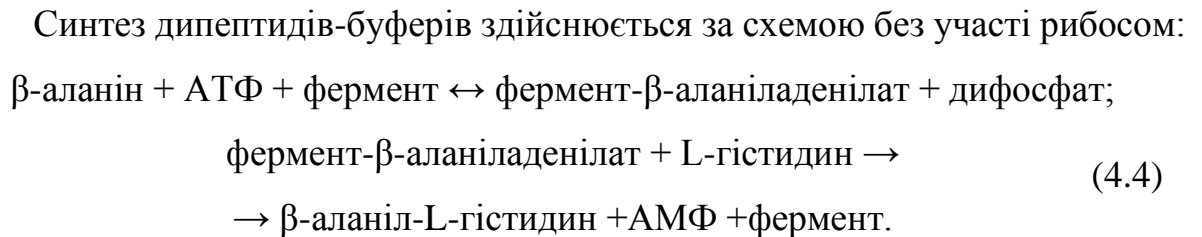
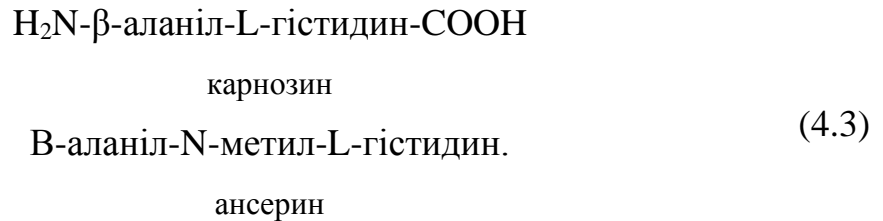
Для багатьох природних пептидів встановлена структура, розроблені методи синтезу і встановлена їх роль. На рис. 4.1 зображені фізіологічні значення і функціональна роль найбільш поширених груп пептидів, від яких залежать здоров'я людини та органолептичні і санітарно-гігієнічні властивості харчових продуктів.



Рис. 4.1. Важливі групи пептидів

Пептиди-буфери. В м'язах різних тварин і людини виявлені дипептиди – карнозин та ансерин, які виконують буферні функції за рахунок

імідазольного кільця гістидину, що входить до їх складу. Відмінною особливістю пептидів є наявність залишку β -аланіну:



Карнозин та ансерин є складовою частиною екстрактивних речовин м'яса. Вміст карнозину та ансерину в м'ясі досягає 0,2-0,3% від сирової маси продукту.

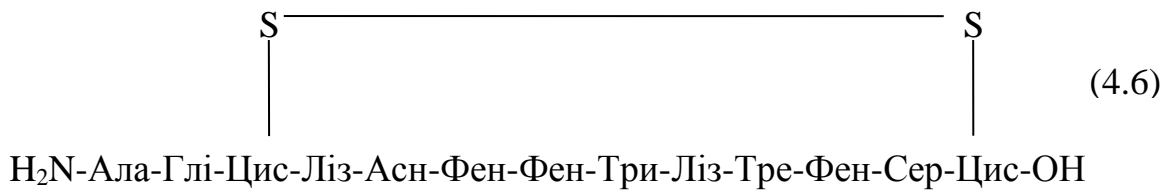
Пептиди-гормони. Гормони – речовини органічної природи, які виробляються клітинами залоз внутрішньої секреції і поступають в кров для регуляції діяльності окремих органів і організму в цілому. Гормони окситоцин і вазопресин виділяються задньою частиною гіпофіза (придаток мозку). Вони містять по 9 амінокислотних залишків, один дисульфідний зв'язок і на С-кінці – амідну групу – CONH_2 :



Регуляторна функція обох гормонів полягає в стимуляції скорочення гладкої мускулатури організму і секреції молока молочними залозами. Відмінності в природі залишків амінокислот в положенні 3 і 8 додатково наділяють вазопресин здатністю регулювати водний баланс, осмотичний тиск в крові і стимулювати процеси запам'ятовування.

Гормони гіпоталамуса, в якому ендокринний апарат взаємодіє з вищими відділами ЦНС, є низькомолекулярними пептидами. Так, тироліберин представлений три пептидом, який складається із

піроглютамінової (циклічної) кислоти, гістидину і пролінаміду (Піроглу – Гіс – Про – NH₂), люліберин є декапептидом (Піроглу – Гіс – Три – Сер – Глі – Лей – Арг – Про – Глі – NH₂), а соматостатин – циклічним тетрадекапептидом:



Гіпоталамічні гормони беруть участь в процесі вивільнення гормонів передньої частини гіпофіза. Тироліберин, наприклад, контролює вивільнення тиротропіну – гормону, який бере участь в регуляції діяльності щитовидної залози, соматостатин регулює активність гормону росту (соматропіну), а люліберин бере участь в регуляції виділення лютропіну – гормону, який впливає на діяльність статевих органів. Багато гормонів (окситоцин, тироліберин, пролактин – гормон передньої частини гіпофіза і гонадоліберин – гормон гіпоталамуса) присутні в молоці жуйних тварин і матерів, які вигодовують грудним молоком.

Відомий пептидний гормон меланотропін (МСГ), який виділяється в крові проміжною частиною гіпофіза. Одноланцюговий пептид стимулює утворення пігменту, який надає кольору очам, шкірі, волоссю. Розрізняють два види МСГ: α -МСГ, який складається із 13 залишків амінокислот, і β -МСГ, до складу якого у людини входить 22 амінокислотних залишки. Панкреатичний глюкагон, виділений в 1948 р. в кристалічному стані із підшлункової залози людини, складається із 29 залишків амінокислот. Має подвійну дію: прискорює розпад глікогену (глікогеноліз) та інгібує його синтез з УДФ-глюкози. Гормон активує ліпазу, стимулюючи процес утворення жирних кислот в печінці.

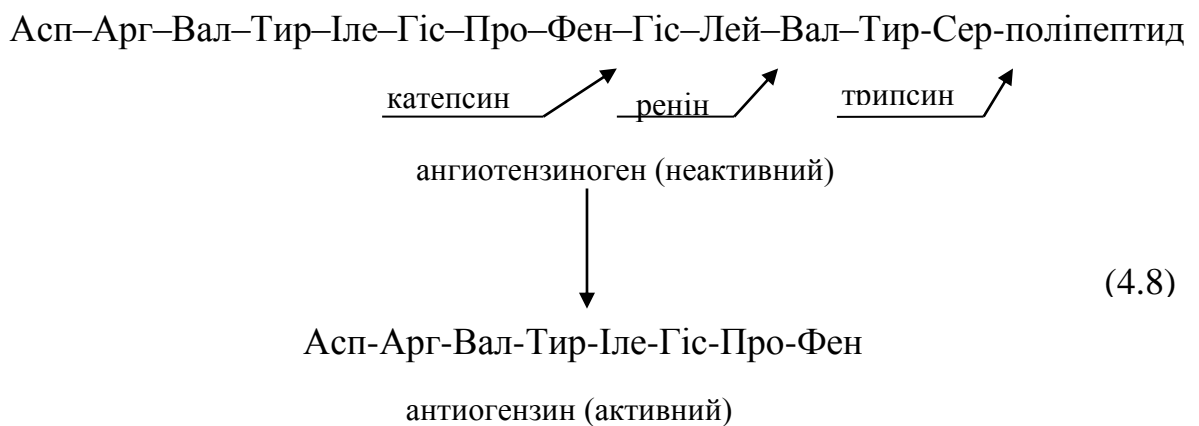
Нейропептиди. В останні роки в окрему групу виділяють більше 50 пептидів, які містяться в мозку людини і тварин. Ці речовини визначають реакції поведінки (побоювання, страх), впливають на процеси

запам'ятовування, навчання, регулюють сон, знімають біль. Нейропептиди – ендорфіни та енкефаліни – є похідними β -ліпотропного гормону гіпофізу, який складається із 91 залишку амінокислот. β -Ендорфін є фрагментом гормону з 61-го до 91-го, γ -ендорфін – з 61-го до 77-го, а α -ендорфін – з 61-го до 76-го залишку амінокислот. Енкефаліни є пептидами будови:



В усьому світі сьогодні інтенсивно проводяться дослідження з виділення та вивчення нейропептидів, метою яких є отримання штучним шляхом біологічно активних речовин (ліків).

Вазоактивні пептиди. До групи пептидів, що впливають на тонус судин (вазоактивні), відносять брадикинін, калідин і ангіотензин. Брадикинін містить 9 залишків амінокислот, калідин – 10, а ангіотензин – 8. Усі вони синтезуються із неактивних білкових попередників в результаті процесу посттрансляційної модифікації. Наприклад, ангіотензин, який має судинозвужувальними властивості, утворюється із білка сироватки ангіотензиногену під час послідовної дії протеолітичних ферментів:

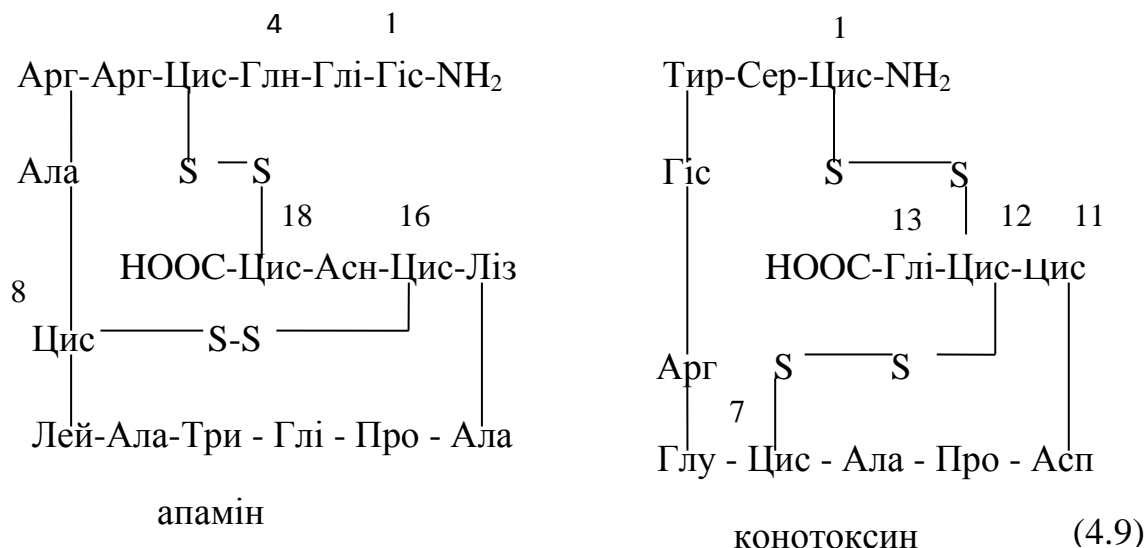


Пептидні токсини. Пептидну природу має ряд токсинів, які виробляються мікроорганізмами, отруйними грибами, бджолами, зміями, морськими молюсками та скорпіонами. Ідентифіковано 5 ентеротоксинів, продукованих бактеріями *Staphylococcus aureus* (А, В, С, D і Е) і 7 нейротоксинів (від А до G), які виробляються *Clostridium botulinum*.

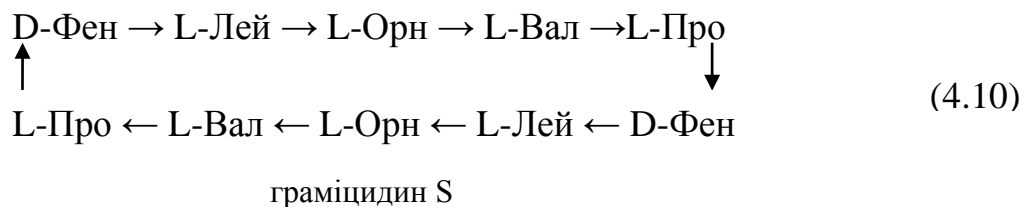
Стафілококові токсини, маючи в своєму складі 239-296 залишків амінокислот, відрізняються за значенням ізоелектричної точки, коефіцієнтами дифузії і седиментації. Токсини можуть стати причиною харчового отруєння під час вживання молочних, м'ясних, рибних, рідких яєчних продуктів, а також салатів і кремкових начинок борошняних кондитерських виробів за умови недотримання правил санітарно-гігієнічної обробки і зберігання. Ботулінічні токсини відносяться до найбільш сильнодіючих отрут і часто викликають смертельні харчові отруєння під час використання овочів, риби, фруктів і приправ, не оброблених у відповідності до норм. Молекулярна маса, токсину E – 350 кД. Ці токсини інактивуються за температури вище 80°C і в кислому середовищі.

Ентеротоксини можуть вироблятися і бактеріями *Salmonella* і *Clostridium perfringens*, та стають, при цьому, причиною розладів роботи кишківника, непритомних станів і лихоманки (черевного тифу). Продукуються ентеротоксини частіше в продуктах тваринного походження (яловичина, птиця, сир, риба), ніж рослинного (квасоля, олія). Найбільш добре вивчений ентеротоксин *C. perfringens* з молекулярною масою 36 кД та ізоелектричною точкою 4,3. Токсин містить 19 залишків амінокислот, серед яких переважають аспарагінова кислота, лейцин і глютамінова кислота. Погіршуючи транспорт електrolітів і глюкози, даний токсин викликає відмирання клітин кишківника.

Отруйний гриб бліда поганка містить близько 10 циклічних пептидів з молекулярною масою близько 1000. Типовим представником є особливо отруйний токсин α -аманітин. До токсичних компонентів отрути бджіл, що сильно впливає на ЦНС, відноситься апамін, який складається із 18 амінокислотних залишків, а морських молюсків – конотоксин, який містить 13 залишків:

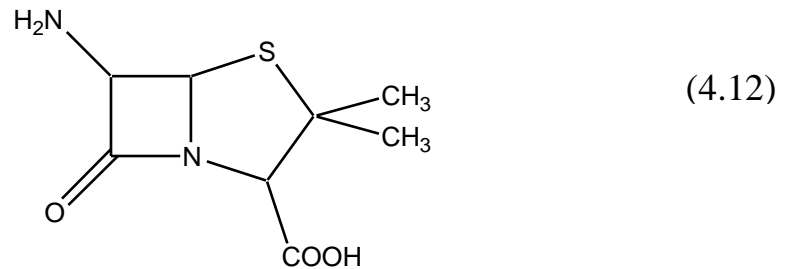


Пептиди-антибіотики. Представниками даної групи пептидів є грамїцидин S – циклічний антибіотик, який синтезується бактеріями *Bacillus brevis*, і сурфактин – поверхнево-активний (містить естерний зв'язок) антибіотик, який синтезується бактеріями *Bacillus subtilis*. Обидва антибіотики ефективні під час боротьби з інфекційними захворюваннями, які викликаються стрептококами і пневмококами:



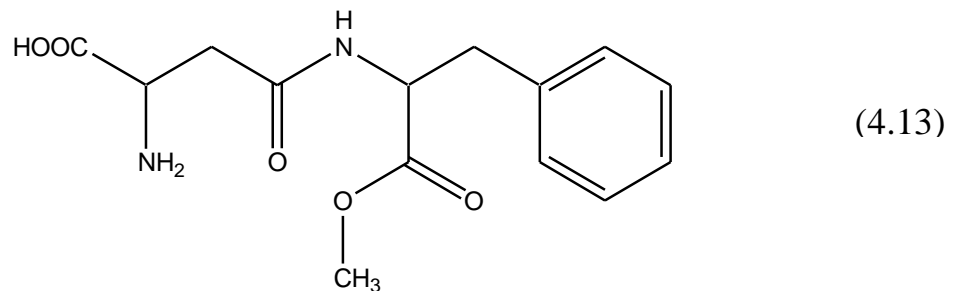
Грамїцидин здатний бути йонофором, тобто є переносником іонів K^+ і Na^+ через мембрани клітин.

Структурною основою антибіотиків, які виділяються пліснявими грибами *Penicillium*, є дипептид, який побудований із залишків D-валіну і цистеїну:



Антибіотики групи пеніциліну ефективні під час боротьби з інфекціями, які викликані стафілококами, стрептококами та іншими мікроорганізмами.

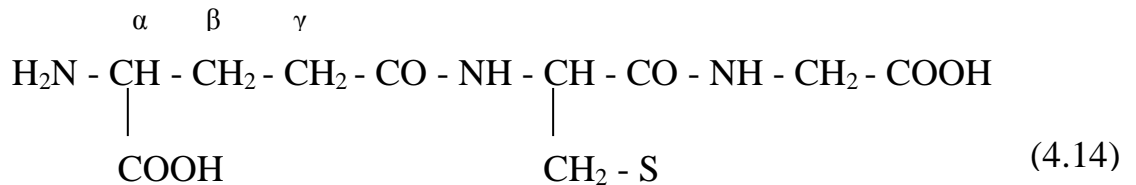
Смакові пептиди. Найбільш важливими сполуками цієї групи є солодкі і гіркі пептиди. У процесі виробництві морозива, кремів як підсолоджувачі або посилювачі смаку використовують аспартам, який представляє собою метиловий естер L- α -аспартіл-L-фенілаланілу:



Аспартам солодший за сахарозу в 180 разів, але під час тривалого зберігання та теплової обробки солодкуватість зменшується. Підсолоджувач протипоказаний хворим на фенілкетонурію. Пептиди гіркої смаку утворюються під час розпаду білків у сирах і молоці за участю протеаз молочнокислих бактерій. Вони представляють собою низькомолекулярні гідрофобні сполуки, які містять від 2 до 8 залишків амінокислот поліпептидних ланцюгів α_s -казеїну і β -казеїну. Багато із гірких пептидів містять N-кінцеву циклізовану глутамінову кислоту. У процесі гідролізу пептидів гіркий смак таких сполук зазвичай зникає.

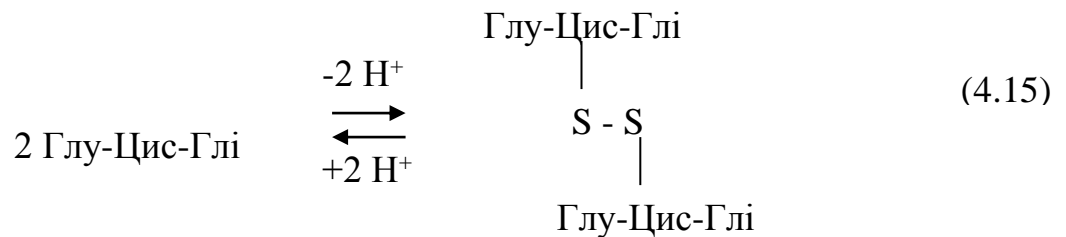
Протекторні пептиди. Одним з найбільш поширених сполук з протекторними властивостями є трипептид *глутатіон* (γ -

глутамілцистеїнілглицин). Глутатіон міститься в усіх тваринах, рослинах, бактеріях, але найбільша його кількість зустрічається в дріжджах і зародку пшениці. Вступаючи в окисно-відновні реакції, глутатіон виконує функцію протектора, який захищає вільні –SH групи від окиснення:



глутатіон

Глутатіон виконує роль окисника, «захищаючи» тим самим білки або, наприклад, аскорбінову кислоту. Під час окиснення глутатіону утворюється міжмолекулярний дисульфідний зв'язок:

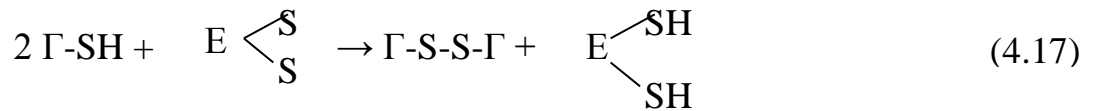


Глутатіон бере участь в транспорті амінокислот через мембрани клітин, знешкоджує сполуки меркурію, ароматичні вуглеводні, пероксидні сполуки, запобігає захворюванням кісткового мозку та розвитку катаракти очей.

Відновлена форма глутатіону, яка входить до складу хлібопекарських дріжджів або борошна із пророслого зерна, знижує пружні властивості клейковини і погіршує якість пшеничного хліба. Дезагрегуюча дія відновленого глутатіону на білки клейковини може здійснюватися як без розриву пептидних зв'язків, так і з їх розривом. Дезагрегація білків без розриву пептидних зв'язків відбувається за участі НАДФН₂-вмісного ферменту глутатіонредуктази:



а з розривом – в присутності тіолових протеїназ, активний центр яких містить сульфгідрильні групи:



Розрив пептидних зв'язків в білках під дією активованих протеїназ призводить до погіршення реологічних властивостей тіста і якості хліба в цілому.

Пептиди, які мають достатньо високу молекулярну масу (більше 5000 Да) та виконують ту чи іншу біологічну функцію, називаються **білками**. Під первинною структурою білків розуміють послідовність амінокислот в поліпептидному ланцюгу і положення наявних дисульфідних зв'язків. Послідовність амінокислотних залишків в ланцюгу реалізується за рахунок пептидного зв'язку. Пептидний зв'язок має частково подвійний характер, так як значення відстані між $-\text{NH}$ і $-\text{CO}$ групами в ній займають проміжне ($1,32\text{\AA}$) положення між відстанню одинарного ($1,49\text{\AA}$) і подвійного ($1,27\text{\AA}$) зв'язку. Крім того, групи R чергуються по обидва боки пептидного зв'язку, відповідно, спостерігається транс-ізомерія. Відстань між іншими атомами і кути в структурі поліпептидних ланцюгів показані на рис. 4.2.

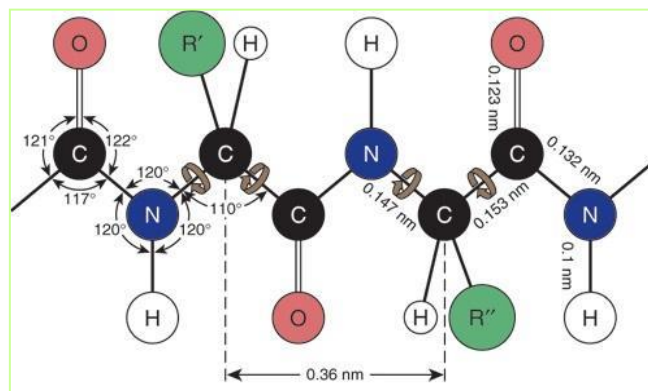
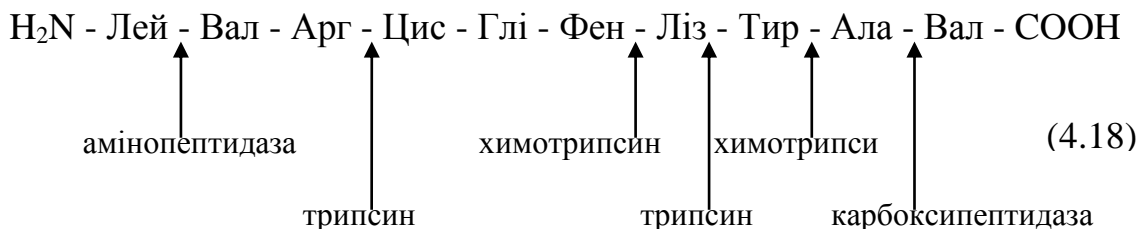


Рис. 4.2. Відстань і кути між атомами в структурі поліпептидного ланцюга

Багато білків складаються із декількох поліпептидних ланцюгів, які з'єднані між собою дисульфідними зв'язками. Утворення дисульфідних містків $-\text{S}-\text{S}-$ можливе і між двома залишками цистеїну, які знаходяться в одному поліпептидному ланцюгу. Як приклад можна навести основні білкові фракції клейковини: гліадин і глютенін пшениці.

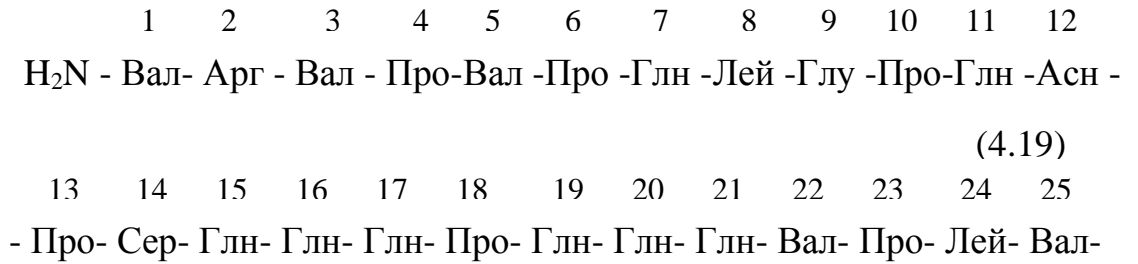
Визначення послідовності амінокислот в білках представляю інтерес з двох причин. По-перше, ці дані необхідні для з'ясування молекулярної основи біологічної активності і, по-друге, для встановлення тих принципів, на основі яких формуються просторові структури, від яких залежать фізико-хімічні, поживні і функціональні властивості білків, що визначають їх засвоюваність, перетравлювання, якість харчових продуктів, поведінку у процесі технологічних потоків і зберігання. Для визначення первинної структури білка спочатку розривають дисульфідні зв'язки, потім визначають амінокислотний склад, N-кінцеву і C-кінцеву амінокислоти та порядок з'єднання амінокислот. Розрив дисульфідних $-S-S-$ зв'язків здійснюється сильним окисником (надмурашиною кислотою) або відновником, а амінокислотний склад визначають після гідролізу пептидних зв'язків в розчині HCl за температури $110^{\circ}C$ протягом 24 год. у вакуумі. Для аналізу триптофану проводять лужний гідроліз, так як в кислому середовищі дана амінокислота руйнується. Суміш амінокислот, отриманих в результаті гідролізу, фракціонують хроматографією на катіонообмінній смолі та ідентифікують.

Порядок сполучення амінокислотних залишків один з одним визначають хімічними (метод Едмана) та ферментативними методами. Ферментативні методи основані на властивості специфічності ферментів. Так, трипсин розриває молекулу на рівні карбоксильних груп лізину і аргініну, химотрипсин – карбоксильних груп ароматичних амінокислот:



Для аналізу послідовності амінокислотних залишків вихідний матеріал ділять на три частини, одну з яких обробляють холодною HCl , другу – трипсином, третю – химотрипсином. Отримані суміші пептидів аналізують за

амінокислотним складом і обробляють, в кінці, екзопептидазами (аміно- та карбоксипептидазами). Результати сумують з урахуванням того, що розрив пептидів відбувається в певних місцях ланцюга. Нижче ілюструється амінокислотна послідовність пептиду із 25 перших амінокислот α_2 - і γ_1 -гліадинів пшениці, розшифрована таким чином для американського сорту Понка:



Поліпептидний ланцюг білкової молекули не лежить в одній площині. Полінг і Корі показали, що багато білків мають конфігурацію α -спіралі, яку легко можна уявити у вигляді спіралі, яка розміщується по поверхні уявного циліндра. Така структура стійка завдяки великій кількості водневих зв'язків між $-CO$ і $-NH$ групами пептидних зв'язків. Водневі зв'язки виникають між ковалентно зв'язаним атомом водню, який несе невеликий позитивний заряд, і сусіднім атомом, який володіє незначним негативним зарядом (киснем, азотом). Деякі фібрилярні білки (β -керотин, фіброїн шовку) утворюють β -конформацію, яку подають як ряд листків, розташованих під кутом один до одного (рис. 4.3).

Поряд з великою кількістю водневих зв'язків в стабілізації вторинної структури білка беруть участь інші відносно слабкі зв'язки: електростатичні і гідрофобні. Енергія цих зв'язків мала в порівнянні з енергією ковалентних пептидних і дисульфідних зв'язків, але завдяки своїй багаточисельності вони забезпечують стійкість макромолекул і дозволяють утворювати активні комплекси (фермент – субстрат), антиген – антитіло, репресор – ДНК). Природа таких зв'язків наведена на рис. 4.4.

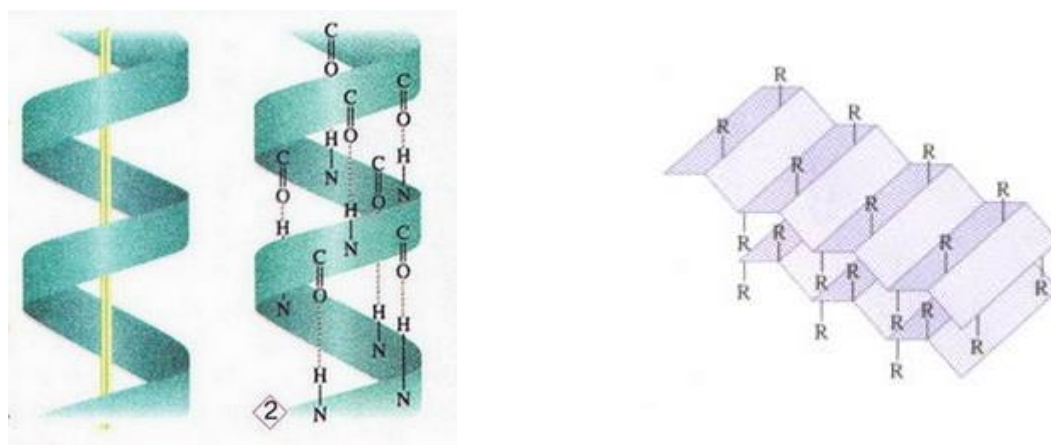


Рис. 4.3. Вторинна структура білків:

а) α -спіраль; б) β -конформація (R-бокові групи амінокислотних залишків)

Рис. 4.4. Слабкі зв'язки:

Водневі: 1 – між пептидними групами; 2 – між кислотами і спиртами (серин); 3-між фенолом та імідазолом; *Електростатичні*: 4 – між основами (аргінін, лізин) і кислотами (глутамінова, аспарагінова). *Гідрофобні*: 5 – за участі лейцину, ізолейцину, валіну, аланіну; 6 – за участі фенілаланіну.

Між двома протилежно зарядженими полярними групами, наприклад, боковими ланцюгами аспарагінової і глутамінової кислот та позитивно зарядженою протонованою основою (залишки аргініну, лізину, гістидину), відбуваються електростатичні притягання. Вони більш міцні, ніж водневі зв'язки. Гідрофобні зв'язки виникають за участі груп $-\text{CH}_2$, $-\text{CH}_3$ валіну, лейцину або ароматичного кільця феніл-аланіну. Вони представляють собою

скупчення заряду, зумовленого виштовхуванням води із простору під час близького взаємного розташування неполярних груп.

Регулярну вторинну структуру пептидних зв'язків забезпечують водневі зв'язки, тоді як інші слабкі сили беруть участь в ній в меншій мірі. Слабкі сили мають велике значення у формуванні третинної структури білка. Вперше третинна структура була встановлена для міоглобіну, потім для гемоглобіну крові. В третинній структурі білка важливу роль відіграють вигини, які зумовлені присутністю амінокислоти пролін. У вигинах відсутня спіралізована структура. Загальною ознакою просторового розміщення залишків амінокислот у третинній структурі білків є локалізація гідрофобних груп всередині молекули, гідрофільних – на її поверхні.

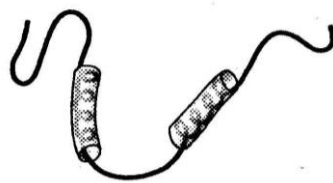
Велика кількість білків має четвертинну структуру. Вона уявляє собою комбінацію субодиниць з однаковою або різною первинною, вторинною і третинною структурою. Субодиниці з'єднані між собою за допомогою слабких нековалентних зв'язків. Дія сечовини, кислих і сольових розчинів, детергентів часто призводить до дисоціації білка на субодиниці і втрати їх біологічної активності. Дисоціація може бути зворотна. Прикладом білків з четвертинною структурою можуть бути ферменти лактатдегідрогеназа і глютаматдегідрогеназа, які містять, відповідно, чотири і вісім субодиниць.

Особливості хімічної будови бокових ланцюгів амінокислотних залишків і розташування їх в просторі певним чином забезпечують, при виконанні білкам біологічних функцій, компліментарність (відповідність) контактуючих поверхонь або поверхні білка з небілковими сполуками за принципом «ключ до замка». Є ряд експериментальних доказів відносно механізму формування структури молекули білка шляхом асоціації α -спіралей і складчастих β -шарів (рис. 4.5). Етапи скручування білка включають формування двох одночасно утворених коротких α - або β -спіралей, які потім стабілізуються з утворенням комплексу. Сформовані комплекси $\alpha\alpha$, $\beta\beta$, $\alpha\beta$, які називаються одиницями скручування, далі виступають в ролі самостійних центрів, здатних до взаємодії з іншими

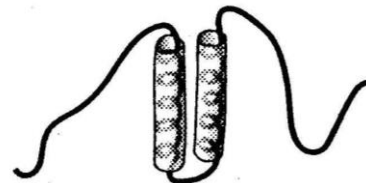
елементами вторинної структури. Завдання полягає в тому, щоб якомога повніше розшифрувати той шлях, який призводить до формування функціональної активності структури білка в кожному конкретному випадку.



Розкручений ланцюг



Тимчасово утворена α -спіраль



Стабілізовані α -спіралі
(α -одиниці скручування)

Рис. 4.5. Передбачувані етапи скручування білка.

5. БІЛКИ ХАРЧОВОЇ СИРОВИНИ

5.1. Білки злаків

Аналізуючи амінокислотний склад сумарних білків різноманітних злакових культур з точки зору складу еталонного білка для харчування людей (ФАО, 1973) слід відмітити, що всі вони, крім вівса, бідні на лізин (2,2-3,8%), а за винятком рису і сорго – на ізолейцин. Для білків пшениці, сорго, ячменю і жита характерна наявність відносно невеликої кількості метіоніну (1,6-1,7 мг/100 г білка). Білки пшениці містять невелику кількість треоніну (2,6%), а білки кукурудзи – триптофану (0,6%). Найбільш збалансованими за амінокислотним складом є овес, жито та рис.

Амінокислотний склад сумарних білків злакових культур визначається амінокислотним складом окремих фракцій, в основу класифікації яких покладений принцип розчинності (Т. Осборн, 1907). Під час послідовної обробки борошна або розмолотого зерна водою, 5-10%-м розчином натрій хлориду, 60-80%-м водним розчином спирту і 0,1-0,2%-м розчином натрій гідроксиду екстрагуються білкові фракції: *альбуміни*, *глобуліни*, *проламіни* та *глютеліни*. В табл. 5.1 наведений відсотковий вміст білкових фракцій в зернових культурах. До складу білків входять також *склеропротеїни* (нерозчинні білки), які містяться в оболонках і периферичних шарах зерна. Особливістю білків даної фракції є міцне з'єднання з лігніно-полісахаридним комплексом. Склеропротеїни виконують структурну функцію і мало доступні для травлення. Разом з білками в зерні міститься небілковий нітроген (0,7-12,9% від загального нітрогену), який включає вільні амінокислоти (50-60%), пептиди, нуклеотиди та ін. Кількість небілкового нітрогену змінюється в залежності від ступеня зрілості та проростання зерна.

Для альбумінів відмінною особливістю є високий вміст лізину (3,9-8,2%), треоніну (2,4-7,7%), метіоніну (1,7-3,3%), ізолейцину (3,1-6,0%) і триптофану (6,7-16,9%). Найбільш високий вміст лізину в альбумінах вівса, рису і проса (6,5-8,2%), нижчий – в альбумінах пшениці, ячменю та жита

(3,9-4,5%). Високий вміст треоніну (4,7-7,7%) характерний для альбумінів ячменю, жита, вівса; низький (2,4%) – для альбумінів пшениці.

Таблиця 5.1

Вміст білкових фракцій в зерні злакових

Культура	Нітроген фракцій (% від білкового нітрогену)				
	Альбуміни	Глобуліни	Проламіни	Глютеліни	Склеро-протеїни
Пшениця м'яка	5,2	12,6	35,6	28,2	8,7
Жито	24,5	13,9	31,1	23,3	7,2
Ячмінь	6,4	7,5	41,6	26,6	17,9
Кукурудза	9,6	4,7	29,9	40,3	15,5
Овес	7,8	32,6	14,3	35,5	11,8
Гречка	21,7	42,6	1,1	12,3	23,3
Рис	11,2	4,8	4,4	63,2	16,4

Глобулінова фракція злакових культур бідніша, ніж альбумінова за вмістом лізину (2,8-6,0%), триптофану (0,5-1,3%) і метіоніну (1,1-2,7%). Обидві фракції відрізняються високим вмістом глютамінової та аспарагінової кислот, але низьким – проліну.

Характерною особливістю проламінів є високий вміст залишків глютамінової кислоти (13,7-43,3%), проліну (6,3-19,3%) та невелика кількість йоногенних груп, так як дикарбонові кислоти майже повністю амідовані. Проламіни відрізняються низьким вмістом лізину. Невелика кількість лізину міститься в *зеїні* кукурудзи (0,2%), *гліадині* пшениці і *секаліні* жита (0,6-0,7%). Високий відсоток лізину (3,3%) міститься в *авеніні* вівса. Невелика кількість лізину знаходиться в проламінах і відносно великий вміст даної фракції в сумарному білку відображається на загальній незбалансованості зерна більшості злакових культур. Проламіни бідні на треонін, триптофан, аргінін і гістидин. *Зеїн* кукурудзи, *оризин* рису і *кафірін* сорго відрізняються високим вмістом лейцину (16,9-18,6%). Злаки відрізняються і за вмістом цистеїну та метіоніну. Так, гліадин пшениці в середньому містить 1,2% метіоніну і 1,9% цистину, а авенін вівса – 3,7 і 4,2%, відповідно.

Глютеїни за амінокислотним складом займають проміжне положення між проламінами та глобулінами. Вміст лізину, аргініну, гістидину в

глютеїнах більший, ніж в проламінах. Так, вміст лізину в глютеніні пшениці становить 2,6%, жита – 2,3%, ячменю – 4,0%, а вівса – 5,0%. За вмістом лізину і цистеїну різні сорти зерна також відрізняються. Наприклад, глютенін пшениці Акмолінка 1 містить менше цистеїну (5,18%), ніж глютенін сорту Саратовська 29 (7,34%). Глютеніни ячменю, рису та вівса відрізняються від глютеніну пшениці з вищим рівнем лізину. У рисі 80% усього білка припадає на глютеліни (*оризенін*), цим забезпечується задовільний вміст лізину (2,6-4,0%) в загальному білку рисового зерна. Переважаючими фракціями вівса є глобуліни і глютеліни, які містять 5,0-5,5% лізину, що також забезпечує добру збалансованість даної культури за лізином.

Білки нерівномірно розподіляються між морфологічними частинами зерна. Основна їх кількість (65-75%) припадає на ендосперм, менша – на алейроновий шар (до 15,5%) і зародок (до 22%). В алейроновому шарі та зародку концентрація білка висока. В зародку пшениці міститься 33,3% білка, кукурудзи – 26,5%, вівса – 19,4%. Алейроновий шар пшениці і кукурудзи містить більше 19% білка. В ендоспермі білки розподілені також нерівномірно, концентрація їх зменшується по мірі просування від субалейронового шару до центру. Субалейроновим шаром називається периферійна зона зерна, яка знаходиться під алейроновим шаром. Вміст білку в даній частині зерна досягає для кукурудзи 27,7%, сорго 29-30%, ячменю 21-24%, рису 29%. Центральна частина ендосперму містить невелику кількість білка (7-9%). В загальному ж розподіл білка по частинах зерна залежить від виду культури, його сорту і ґрунтово-кліматичних умов вирощування.

Білки зародку та алейронового шару характеризуються, в основному, вмістом альбумінів і глобулінів, які виконують каталітичну функцію під час проростання зерна (ферменти), а білки ендосперми – альбумінів, глобулінів, проламінів і глютелінів. Більшу частину білків ендосперму злакових культур (до 80%) становлять запасні білки: спирторозчинні проламіни і лужнорозчинні глютеліни. Альбуміни та глобуліни входять до складу

мембран органел зерна, утворюючи рибосоми, мітохондрії, ендоплазматичні ретикулуми, які є основною частиною складних білків – нуклеопротейдів, ліпопротейдів, фосфопротейдів.

Запасні білки ендосперму злаків зосереджені в білкових тілах, які мають простішу будову, ніж алейронові зерна (білкові тіла алейронового шару). Алейронове зерно складається із кристалоїду (глікопротейду), глобоїду (калієвої, магнієвої солі фітинової кислоти) та основного білка речовини – аморфної зони.

Білкові тіла ендосперму кукурудзи та сорго складаються із матриці і вдавлених в неї округлих білкових гранул. Матричні білки є глутелінами, а білки гранул – проламінами. Матричний білок характеризується однорідною структурою, тоді як білкові гранули мають пластинчасту структуру з літо протейнами, які входять до її складу. В ендоспермі зрілого зерна пшениці відкладаються білкові утворення у вигляді неперервної білкової матриці клиновидної форми і у вигляді випуклих серповидних зон під мембраною, яку оточують крохмальні зерна. За класифікацією Гесса (Hess, 1954), білки борошна поділяють на проміжні (цвікель) та прикріплені (хафт). Проміжні білки розподіляються між крохмальними зернами і відповідають білковій матриці, а прикріплені – це залишки мембран крохмальних зерен. Прикріплені білки жита та пшениці характеризуються кращим амінокислотним складом. Під час розмелювання твердих і скловидних м'яких пшениць поділ компонентів відбувається через крохмальне зерно та запасний білок, в результаті чого крохмальні зерна руйнуються. У процесі розмелювання зерна з борошністим ендоспермом тріщини утворюються не в крохмальних зернах, а навколо них, так як між білком і крохмалем існують відносно слабкі взаємодії.

Білкові фракції зернових культур – гетерогенна суміш окремих компонентів, подібних за фізико-хімічними властивостями. Ці компоненти відрізняються за електрофоретичною рухливістю, молекулярною масою, амінокислотним складом і здатністю взаємодіяти один з одним за допомогою

різних типів зв'язків. В альбумінах м'якої пшениці електрофорезом в ПААГ і крохмальному гелі виявлено 14-21 субодиниця, переважаючими серед яких за кількістю є субодиниці з молекулярною масою ~ 11 і 20 кД. Ці компоненти відрізняються за вмістом лізину, аланіну, триптофану і гістидину, вони відсутні в твердій пшениці.

В ендоспермі м'якої пшениці виявлені домінуючі α -глобуліни з молекулярною масою 24 кД, в зародку – γ -глобуліни з молекулярною масою 210 кД. До глобулінів відносять також специфічні білки, які виділені в кристалічній формі із бензинового екстракту борошна (пуротионін пшениці, гордотионін ячменю). В зерні вони містяться у вигляді ліпопротеїнового комплексу, мають молекулярну масу близько 7 кД. Позитивний вплив цих білків на хлібопекарські властивості борошна не виявлений.

За допомогою йонообмінної хроматографії, гель-хроматографії, електрофорезу та інших методів *гліадинова* фракція пшениці поділена на велике число індивідуальних компонентів. Електрофоретичні компоненти гліадину умовно об'єднують в порядку зменшення електрофоретичної рухливості в кислому середовищі в чотири групи: α -, β -, γ - і ω -гліадини, кожна з яких складається із декількох компонентів. Загальне число білкових компонентів пшениці може досягати $40-50$. За строго визначених умов електрофорезу в ПААГ або крохмальному гелі електрофоретичний спектр розглядається як генотипна ознака виду і сорту пшениці (рис. 5.1). Еталонний спектр містить 30 позицій, які розподіляються за фракціями:

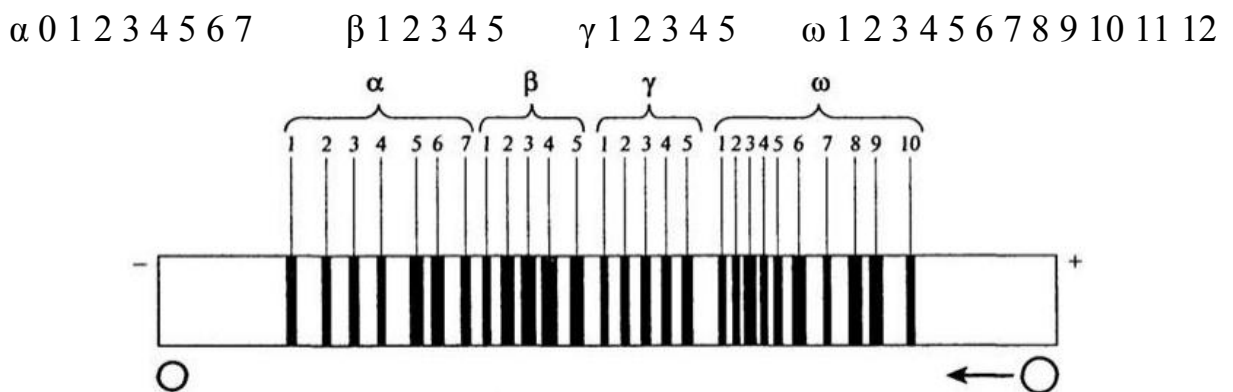
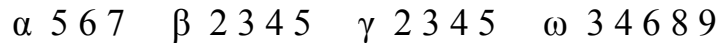


Рис. 5.1. Еталонний електрофоретичний спектр гліадину пшениці

[В. Конарев, 1983]

У відповідності до еталону гліадин сорту Лютесценс 230, наприклад, записується так:



Більшість гліадинових білків побудовані із одного поліпептидного ланцюга з молекулярною масою 30-45 кД і внутрішньомолекулярними дисульфідними зв'язками (рис. 5.2).



Рис. 5.2. Дисульфідні зв'язки в гліадині та глютеніні

В меншій кількості до складу гліадину входять білки з молекулярною масою 22; 25,6; 48,8; 57,3 кД і 64-80 кД, а також димери, побудовані із одноланцюгових молекул головного типу (36,5 і 44,2 кД). Від інших компонентів відрізняються ω -гліадини, які мають слабкий заряд, високий вміст глютаміну, глютамінової кислоти, проліну, гідрофобних залишків амінокислот і не містять цистину та метіоніну і, відповідно, внутрішньомолекулярних дисульфідних зв'язків. В харчовому відношенні ω -гліадини є цінними як джерелами $-\text{NH}_2$ груп та проліну, необхідних для біосинтезу амінокислот і азотистих основ. До складу гліадину входять низькомолекулярні білки (5-10%) типу альбумінів, глобулінів (11-12 кД) і високомолекулярна фракція («низькомолекулярний глютенін») з молекулярною масою 104-125 кД (6%).

Проламіни інших злаків також утворюють індивідуальні електрофоретичні спектри, які використовують як білкові маркери для визначення видової і сортової приналежності під час виведення нових сортів, що ґрунтується на залежності цінних господарських ознак зерна (урожайність, посухостійкість, нездатність до полеганню та ін.) від присутності конкретних компонентів.

Глютенін пшениці є більш гетерогенною білковою фракцією у порівнянні з гліадином. Він складається із багатьох компонентів з молекулярною масою від 50 до 3000 кД і без розірвання дисульфідних зв'язків не здатний мігрувати в гель під час електрофорезу. Відновлений глютенін розділяється під час електрофоретичного аналізу не менш ніж на 15 компонентів, які складаються із одного поліпептидного ланцюга з молекулярними масами від 11,6 до 133 кД. Деякі із них ідентичні до молекул гліадину (36-44,6 кД), інші – до молекул альбумінів та глобулінів (11,6 кД), а треті – це специфічні високомолекулярні субодиниці (102, 124, 133 кД). Ці дані дозволяють стверджувати, що глютенін – білок, який побудований із багатьох поліпептидних ланцюгів, з'єднаних між собою дисульфідними зв'язками. Розрахунки показують, що на кожний поліпептидний ланцюг глютеніну припадає 2-3 дисульфідних зв'язки з сусідніми ланцюгами (Еварт, 1968).

Вивченню запасних білків, особливо глютеніну, відводиться важлива роль, але структура їх залишається до кінця не з'ясованою. Головними труднощами під час з'ясування особливостей будови є здатність білків до агрегації, які важко подолати відомими в наш час методами. До цього часу вивчається значення молекулярних мас компонентів і цілого білка цієї фракції. Так, за останніми даними, глютенін складається із білкових частинок, які включають декілька субодиниць з молекулярною масою всього 100-300 кД, тоді як на долю частинок надвисокої молекулярної маси і одноланцюгових молекул припадає не більше 20%.

Запропоновано декілька гіпотез будови глютеніну та клейковини, але жодна з них не дає повної відповіді на запитання взаємозв'язку його особливостей з природою в'язко-еластичних властивостей пшеничного тіста. До кінця не з'ясоване питання, чим відрізняються глютеліни зернових культур, здатних і не здатних до формування клейковинного комплексу. За уявленнями Еварта, ці відмінності зумовлені неоднаковим способом з'єднання окремих поліпептидних ланцюгів через дисульфідні мости під час

утворення полімерних молекул глютелінів. Кожний поліпептидний ланцюг, з'єднуючись з іншими, може збільшуватись в довжину, утворюючи структуру лінійного типу. Якщо ж поліпептидні ланцюги з'єднуються великою кількістю поперечних дисульфідних мостиків, то виникає розгалужена тривимірна структура з відносно високою компактністю. Глютеліни зернових культур, які утворюють клейковину, мають лінійну структуру, на відміну від глютелінів культур, які не здатні формувати клейковину (овес, кукурудза).

Реологічні властивості клейковини і тіста отримують більш повне обґрунтування, якщо вважати структуру глютеніну лінійною. Тоді в'язкість тіста із пшениці, жита та ячменю можна пояснити сильним розкручуванням достатньо гнучких ланцюгів і постійним переміщенням їх один відносно іншого. Еластичність виникає внаслідок тенденції розтягнутих, не закручених поліпептидних ланцюгів повертатись до їх попередньої конформації. Причиною відсутності в'язко-еластичних властивостей вівсяного і кукурудзяного тіста є розгалужений спосіб з'єднання поліпептидних ланцюгів, який характеризується тривимірною розгалуженою структурою.

У світі інтенсивно проводяться дослідження, які присвячені залежності хлібопекарських якостей пшениці від поліпептидного складу глютенінової фракції в зв'язку з відмінностями сортів і класів на генетичному рівні. Встановлено, що найбільш виражений вплив на реологічні властивості клейковини та якість хліба має наявність високомолекулярних субодиниць глютеніну (100 кД) або відношення високо- і низькомолекулярних субодиниць. Всього виявлено близько 25 субодиниць з високомолекулярною масою, 3-5 з них присутні в кожному сорті. Кожній субодиниці присвоєний номер в залежності від рухливості в ПААГ з ДДС-Na, і з'ясовується конкретна роль в забезпеченні якості зерна. Наприклад, 98% американських сортів пшениці, які характеризуються високою «силою» і доброю еластичністю тіста, містять субодиниці 5+10, синтез яких кодується

хромосоною 1Д, тоді як англійські пшениці з низькою якістю містять ці субодиниці тільки у 19% зразків. Така ж картина спостерігається і в відношенні високомолекулярних субодиниць 7+8 і 7+9, які кодується хромосоною В1.

Реологічні властивості клейковини та якість пшеничного хліба залежать не тільки від присутності високомолекулярних субодиниць (60%), але й і від наявності хромосоми 1BL/1RS (7%), поліморфізму низькомолекулярного глютеніну, гліадину (α -, β -, γ -, ω -), кількості білка та активності α -амілози (31%). Глютенін надає клейковині пружних властивостей, а гліадін зумовлює еластичність та зв'язаність, тобто ні глютенін, ні гліадін окремо не мають характерних реологічних властивостей клейковини, тільки взаємодія цих фракцій в єдиному комплексі утворює клейковинний білок з усіма притаманними йому властивостями. Припускають, що «поліпептидні ланцюги гліадину в різних місцях та різними зв'язками сполучаються з полімеризованими молекулами глютенінової фракції, поєднуючи їх в складну тривимірну сітку переплетених поліпептидних ланцюгів» (А. Вакар, 1975). У структурі такої сітки значну роль крім ковалентних дисульфідних зв'язків відіграють нековалентні взаємодії: водневі, електростатичні (йонні) зв'язки і гідрофобні взаємодії. Всі ці взаємодії відіграють важливу роль при поясненні відмінностей реологічних властивостей міцної та слабкої клейковини (розтяжності, зв'язаності, пружності, еластичності).

Амінокислотний склад клейковинного білка та відношення гліадинової і глютенінової фракцій не є показниками його якості, тоді як розчинність, вміст водневих, дисульфідних зв'язків і віскозиметричні характеристики співвідносяться з відмінностями реологічних характеристик клейковини. Міцна клейковина відрізняється від слабкої меншою розчинністю в різних розчинниках, великою кількістю водневих і дисульфідних зв'язків, меншими значеннями характеристичної в'язкості (η), питомого гідродинамічного

об'єму та осьового відношення частин (в/а). Частинки міцної клейковини мають ущільнену структуру, слабкої – розпушену.

Вища швидкість агрегації білків клейковини хорошої якості під час дії на них солей свідчить про велику роль гідрофобних взаємодій в структурі міцної клейковини, в порівнянні з слабкою. Встановлено великий вклад цих видів взаємодій в агрегацію глютеніну та його фракцій. Для пружної, еластичної клейковини на частку білків глютеніну, який перейшов в розчин за рахунок розриву гідрофобних зв'язків, припадає 25,4%, йонних – 17,3%, водневих – 56,3%, в той час як для непружної і розтяжної клейковини розподіл білка за розчинністю становить, 7,1; 12,8 і 80,1% відповідно. Надлишкова «гідрофобізація» поверхні білкових молекул (дія жирних кислот, теплова денатурація тощо) призводить до погіршення реологічних властивостей клейковини (зв'язаності), зниження гідратації та розчинності. Таким чином, різний ступінь пружності, розтяжності і зв'язаності визначається різним співвідношенням сил ковалентного і нековалентного характеру (гідрофобні, йонні, водневі зв'язки) як всередині фракції клейковини, так і на рівні їх взаємодії один з одним.

Гліадин та глютенін відіграють головну роль у забезпеченні якості клейковини. При цьому необхідно враховувати роль небілкових сполук у формуванні її структури. За рахунок високої реакційної здатності хімічних угруповань молекул білка є можливою їх взаємодія з ліпідами і вуглеводами та утворення, відповідно, літопротеїнових і глікопротеїнових комплексів, які впливають на структуру та властивості клейковини. Загальноновизнана гіпотеза, за якою фосфоліпіди є частиною ліпопротеїну, який виконує роль шаруватої структури між білковими пластинками і забезпечує деформацію ковзання (Гросскрейтц, 1960).

З клейковинним комплексом пшениці взаємодіють протеази, їх білкові інгібітори, амілази та ліпоксигеназа (табл. 5.2). Протеази вилучаються лужним розчином соди, β -амілаза – водним розчином спирту, а ліпоксигеназа та β -амілаза – розчином глутатіону. У зерні (стан «спокою») ферменти не

проявляють своєї активності, тоді як під час проростання вони беруть участь у розпаді та перетворенні запасних поживних речовин. Не менш важливу роль відіграють ферменти і під час формування тіста. Протеази, частково дезактивуючи білки, послаблюють клейковину, ліпоксигеназа, за участі якої продукти окиснення жирних кислот окиснюють –SH групи білка, зміцнюють її. Вивільнення ліпоксигенази із клейковини відбувається в присутності відновленого глутатіону, з іншого боку, ця сполука, беручи участь в тіоловому обміні з клейковиною, зменшує кількість S–S зв’язків і послаблює її. Таким чином, ферментні системи в комплексі з клейковинними білками виступають в ролі регулятора якості пшеничного хліба.

Таблиця 5.2

Ферментативна активність білків клейковини [М.Попов, 1998]

Розчинник	Розчинений білок, %	Активність ферментів, од/г клейковини		
		Протеази	Ліпоксигеназа	β-Амілаза
		ΔA _{234/г}	ΔA _{234/г}	ΔA _{595/г}
Сода 0,35%	23,3	5,94	0	0
Спирт 70%	49,1	0	0	1560
Глутатіон 0,75%	92,7	0	780	9835

Серед злакових культур особливої уваги заслуговує білковий комплекс першої штучно створеної зернової культури, отриманої під час схрещування пшениці (*Triticum*) і жита (*Secale*) – тритикале. З точки зору поживності тритикале – цінна культура, так як відрізняється відносно високим рівнем білка (11,7-22,5%) та покращеним амінокислотним складом у порівнянні з пшеницею. Тритикале містить амінокислоти, в кількостях, як правило, проміжних між вихідними формами (табл. 5.3). Вищий вміст лізину, метіоніну та інших амінокислот є суттєвим для харчової цінності. В даній культурі геноми жита і пшениці не взаємодіють між собою з утворенням «нових» білків, тому їх елетрофореграми є ідентичними до елетрофореграми суміші білків батьківських форм.

Таблиця 5.3

Амінокислотний склад білків борошна (в г на 100 г білка)

Амінокислота	Яре жито	Тритикале	Тверда пшениця
Лізин	3,49	2,80	2,29
Гістидин	2,14	2,34	2,37
Аргінін	4,55	4,77	3,64
Аспарагінова кислота	6,82	5,67	4,62
Треонін	3,26	3,05	2,82
Серін	4,11	4,37	4,37
Глютамінова кислота	30,51	32,91	35,78
Пролін	15,29	14,18	13,92
Гліцин	3,82	3,87	3,52
Аланін	4,06	3,55	3,27
Цистин	2,65	3,22	2,66
Валін	5,22	4,93	4,77
Метіонін	2,15	2,25	2,14
Ізолейцин	4,21	4,37	4,51
Лейцин	6,65	7,55	7,46
Тирозин	2,16	2,81	2,67
Фенілаланін	5,16	4,98	5,48
Амоніак	3,40	3,25	3,91

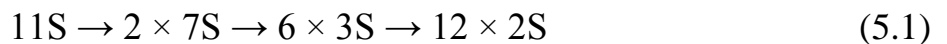
У порівнянні з пшеницею тритикале містить більше водорозчинних та солерозчинних білків, але менше – спирторозчинних і значно менше – білків нерозчинного залишку, тому в хлібопекарстві вона може використовуватись тільки в суміші з пшеничним борошном або з покращувачами.

5.2. Білки бобових культур

Основну частину сім'ядолей бобових культур (сої, гороху, квасолі, вікі) становлять запасні білки глобуліни. Крім того, в насінні міститься невелика кількість альбумінів, які не є запасними білками. Як самостійна група в

сім'ядолях не виявлені глютеліни. Виділені лугом білки – глобуліни, але вони взаємодіють з полісахаридами. Загальний вміст білка в бобових культурах високий і складає 20-40% від загальної маси.

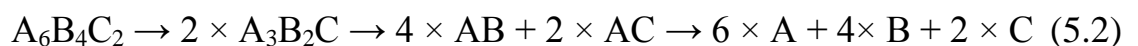
Із сумарного сольового білкового екстракту осадженням амоній сульфатом виділяють два основних глобулінових компоненти – біцилін та легумін. З урахуванням значень констант седиментації для сої, вікі, гороху та інших культур їх називають 7S і 11S білками, відповідно. Обидва ці види білків мають складну четвертинну структуру, яка визначає їх функції та властивості. Дисоціація 11S білків насіння на субодиниці виявлена ще в 30-ті роки Сведбергом і Педерсеном, але більш детально вона вивчена пізніше. Встановлено, що 11S білки насіння бобових дисоціюють спочатку на 7S субодиниці, потім на субодиниці з коефіцієнтом седиментації 2-3S. Дисоціація 11S білків протікає ступінчасто за схемою:



Результати, отримані методом седиментаційної рівноваги, свідчить про те, що кожна із 2S субодиниць, які утворені під впливом сильних дисоційованих агентів, таких як сечовина, складаються із одного поліпептидного ланцюга з молекулярною масою 30 кД (табл. 5.4), а загальна кількість поліпептидних ланцюгів в молекулі 11S білка дорівнює 12.

На основі даних хроматографічного розділення білків на ДІАЕ-целюлозі, електрофорезу в ПААГ, значення констант седиментації, результатів амінокислотного аналізу і визначення N-кінцевих амінокислот для білків більшості бобових культур більш детально конкретизована описана вище схема легуміну.

Для білків, наприклад, вікі:



Кожна молекула 11S білків вікі складається із шести основних (A) і шести кислих 2S субодиниць двох видів – B і C. Деякі властивості цих субодиниць:

	A	B	C
$S_{20, w}$	1,40	2,28	2,25
Молекулярна маса, кД	24,3	37,6	32,6
N-кінцева АК	Гліцин	Лейцин	Треонін

Таблиця 5.4

Молекулярні маси субодиниць 11S білків сої і вікі

Ступінь дисоціації	Умови дисоціації	Білок сої		Білок вікі	
		$S_{20, w}$	Молекулярна маса, Д	$S_{20, w}$	Молекулярна маса, Д
11S	pH 7,0	12,2	363 000	12,9	362 000
7S	pH 4,0	–	180 000	8,0	190 000
3S	pH 2,7	3,5	63 000	3,3	60 000
2S	4М сечовина	–	31 000	1,7	30 000
2S	4М гуанідин-гідрохлорид	–	–	–	30 000

11S білок сої відрізняється від леуміну вікі наявністю трьох, а не двох типів кислих субодиниць. Як і в леуміну вікі, N-кінцевою амінокислотою основною фракцією є гліцин, а її молекулярна маса дорівнює 22,3-24,4 кД. Кислі субодиниці мають таку ж молекулярну масу, що і субодиниці В леуміну вікі. 11S білок сої може містити декілька типів основних субодиниць, однак точно відомо, що молекула 11S білка сої також складається із шести основних та шести кислих субодиниць.

Особливості моделі четвертинної структури 11S білків бобових аналогічні до особливостей цієї ж структури 11S білків сімнадцяти інших родин, які відносяться до філогенетично віддалених груп (капуста, гарбузові, гречка, ріпак). Едестин коноплі, наприклад, так як і леумін вікі, дисоціює на шість 3S субодиниць, кожна з яких складається із однієї основної субодиниці з N-кінцевим гліцином і молекулярною масою 23 кД та однією кислою субодиницею. Амінокислотний склад цих субодиниць подібний (табл. 5.5).

Таблиця 5.5

Амінокислотний склад поліпептидних ланцюгів легуміну вікі та едестину коноплі (в г на 100 г білка)

Амінокислота	Основні ланцюги		Кислі ланцюги		
	Едестин	Легумін	Едитин	В-ланцюг легуміну	С-ланцюг легуміну
Аспарагінова	12,2	12,1	11,9	12,3	8,4
Треонін	3,8	3,7	3,0	2,1	2,5
Серин	4,5	4,7	5,1	4,1	5,2
Глютамінова	13,0	10,2	21,6	19,8	23,7
Пролін	3,2	4,1	3,0	3,8	5,4
Гліцин	3,1	2,9	4,2	3,6	3,0
Аланін	5,5	5,9	3,3	3,1	1,9
Валін	7,0	7,2	5,1	2,8	2,7
Метіонін	2,9	0,5	1,5	1,0	0,1
Ізолейцин	4,5	3,7	4,9	4,6	4,2
Лейцин	7,9	9,5	6,2	5,5	5,9
Тирозин	4,4	4,2	4,0	4,0	2,2
Фенілаланін	6,1	4,3	4,5	4,5	3,4
Лізин	3,5	4,4	1,9	3,8	4,1
Гістидин	2,0	1,8	2,6	2,7	3,3
Аргінін	13,3	10,8	15,3	12,2	9,4
Цистин (1/2)	0,9	0,8	1,1	0,9	0,8
Триптофан	1,4	1,6	0,9	1,8	2,0

Це дозволяє вважати, що 11S білки мають подібну четвертинну структуру та що їх відповідні субодиниці гомологічні.

Запасні 7S білки вивчені значно менше, ніж 11S білки. Відомо, що ця фракція вікі, гороху, сої та арахісу також дисоціює на субодиниці. Так, у 7S білків вікі і сої кінцевими продуктами дисоціації є 2S субодиниці, проміжними – 4S субодиниці.

Для вказаних видів субодиниць отримані значення молекулярних мас 31-33 кД і 84 кД відповідно.

Враховуючи молекулярні маси 7S білка вікі (186-193 кД) і сої (180-193 кД), можна зробити висновок, що молекули 7S білків складаються із шести 2S субодиниць, а 4S субодиниці є «півмолекулами» 7S субодиниць. Таким чином, виявляється подібність четвертинних структур 7S і 11S білків глобулінової фракції бобових. 2S субодиниці 7S білків між собою не ідентичні.

Четвертинна структура білка відіграє істотну роль у регулюванні процесу гідролізу запасних білків під час проростання. Під час проростання насіння такі білки розпадаються на низькомолекулярні сполуки. Гідролізу запасних білків передують їх дисоціація на субодиниці (В.Кретович, 1960). Дисоціація білків супроводжується попереднім дезамінуванням залишків амінокислот, накопиченням сечовини та протіканням ряду інших процесів, які полегшують цю дисоціацію.

Білковий комплекс сумарних глобулінів різних видів бобових характеризується відмінностями в розчинності, хроматографічному, електрофоретичному та амінокислотному складах. Ці дані використовуються в селекційно-генетичних роботах для виведення нових сортів рослин з заданою кількістю незамінних амінокислот.

Серед бобових культур як джерело харчового біологічно цінного білка найбільше значення мають насіння сої. З їх використанням організовано виробництво соєвого борошна (знежиреного, напівжирного та незнежиреного), концентратів та ізолятів. Дані про амінокислотний склад та кількість сумарного білка в продуктах із соєвих бобів наведені в табл. 5.6.

Поряд з білками, які мають харчову цінність, до складу бобових культур входять антиаліментарні сполуки, які мають таку ж білкову природу. Вони знижують харчову цінність білкових продуктів та харчових виробів. До таких сполук відносяться *інгібітори протеаз* шлунково-кишкового тракту та *лектини*.

Таблиця 5.6

Амінокислотний склад та кількість сумарного білка в продуктах із соєвих бобів

Характеристика	Продукт			
	Соєві боби	Знежирене соєве борошно	Концентрати сої	Ізоляти сої
Вміст білка, % на с.в.	39,6	57,0	68,0	91,0
Вміст амінокислот, г на 100 г білка:				
лізин	6,5	6,3	6,3	6,0
метіонін + цистин	1,3	2,9	2,8	2,2
треонін	4,6	4,0	4,3	3,5
лейцин	8,5	7,7	7,9	7,8
ізолейцин	5,2	4,4	4,6	4,5
фенілаланін + тирозин	5,2	8,6	8,9	8,7
валін	5,6	4,8	4,8	4,6
триптофан	0,8	1,4	1,5	1,2

В насінні сої міститься не менше п'яти інгібіторів трипсину (5-10% від загального вмісту білка). Найбільш добре вивчені інгібітор Кунітца, на частку якого припадає 90% від загальної активності інгібіторів, та Баумана-Бірк. Інгібітори – білкові молекули з молекулярними масами 21,5 і 8 кД, відповідно.

Для них розшифрована первинна структура. Так, найбільш високомолекулярний – інгібітор Кунітца – містить 181 залишок амінокислот та два дисульфідних зв'язки. Розщеплення одного із них не впливає на активність інгібітора, тоді як одночасне відновлення двох зв'язків призводить до отримання неактивного продукту.

Зниження активності ферментів білковими інгібіторами пов'язане з утворенням стійких білок-білкових комплексів, які містять молекулу інгібітора та одну або декілька молекул ферменту.

У білках-інгібіторах існує «активна» ділянка, яка вступає у взаємодію з активним центром ферменту. До складу усіх інгібіторів трипсину входять залишки лізину або аргініну, які особливим чином розташовані в просторі. Білкові інгібітори відрізняються за специфічністю, яка виражається в неоднаковій здатності пригнічувати активність різних ферментів. Так, інгібітор Кунітца із сої пригнічує активність трипсину і ферменту крові плазміну, але слабо інгібує химотрипсин, а інгібітор Баумана-Бірк знижує активність не тільки трипсину, але і химотрипсину. «Двоцентровий» інгібітор Баумана-Бірк одночасно вступає в реакцію з двома молекулами різних ферментів і не може зв'язувати дві молекули одного ферменту.

У технологічних процесах виробництва білкових продуктів із сої передбачається інактивація інгібіторів протеїназ обробкою паром, мікрохвильовим нагріванням, вимочуванням з наступним кип'ятінням та іншими способами. Інактивація інгібіторів трипсину на 80-90% у порівнянні з їх активністю у вихідній сировині, дозволяє віднести білкові продукти до харчових, які не проявляють негативної дії на організм.

Лектини (від *лат.* – «вибирати») – це глікопротеїни рослинного походження, які зв'язують один або декілька специфічних цукрів. Свою назву вони отримали від вибіркової здатності викликати аглютинацію (агрегацію, склеювання) еритроцитів крові, клітин, бактерій. Аглютинація відбувається шляхом взаємодії лектинів з вуглеводневими компонентами поверхні клітин. Так, лектин соєвих білків, наприклад, специфічний до залишків галактози та N-ацетилглюкозаміну і N-ацетилнейрамінової кислоти. На частку лектинів у бобових культурах припадає від 2 до 10% загального білка. В чистому вигляді лектини широко використовуються для визначення групи крові, очистки глікопротеїнів та як засоби для вивчення поверхні здорових і хворих клітин, які позбавлені деяких ферментів синтезу

олігосахаридів. Як речовини, які зв'язують специфічні цукри, лектини використовують як зонди для «впізнавання» цукрів на мембранах клітинної поверхні здорових та ракових клітин. Аглотинація ракових клітин потребує менше лектинів, ніж здорових.

Відсутність високої активності лектинів та інгібіторів ферментів, в білкових продуктах із бобових є однією із санітарно-гігієнічних вимог, які передбачаються сертифікацією для використання їх в хлібопекарстві, кондитерській та інших галузях промисловості з метою підвищення харчової цінності виробів. Зниження активності лектинів досягається застосуванням м'якших умов, ніж зниження активності інгібіторів ферментів – нагріванням за температури 80°C.

Деякі види білкових продуктів із сої, ензиматично-активне соєве борошно містять ферменти: ліпоксигеназу та β -амілазу. Ліпоксигеназа бере участь в процесах відбілювання пшеничного борошна та стабілізації тіста хлібобулочних виробів, а β -амілаза (більш термостабільна, ніж пшенична), довго зберігає активність на ранніх стадіях приготування хліба, дозволяючи інтенсифікувати процес газоутворення в тісті та поліпшити якість хліба.

5.3. Білки олійних культур

В насінні олійних культур основною запасною тканиною для білків і ліпідів є паренхіма сім'ядолей (соняшник, бавовник, ріпак), ендосперм (насіння рицини, коріандру) або одночасно паренхіма сім'ядолей та ендосперм (бавовник, льон). Запасні білки зосереджені в простих алейронових зернах (насіння бавовнику, ріпаку, гірчиці) і складних (соняшник, рицина). Прості алейронові зерна не містять інших сполук, тоді як складні включають білкову та небілкову частину. Складні алейронові зерна поділяють на два типи: зерна, які містять глобоїди – K, Mg, Ca-солі інозитфосфатної кислоти, і зерна, до складу яких входять глобоїди та кристалоїди. Кристалоїди розташовані в центрі алейронових зерен і оточені аморфною білковою зоною. Алейронове зерно має вакуольну природу, навколо нього зосереджені ліпіди, які знаходяться в клітині, покриті

клітинною оболонкою (рис. 5.3). На частку білка в складі сухої маси алейронових зерен припадає 60-80% від загального білка насіння.

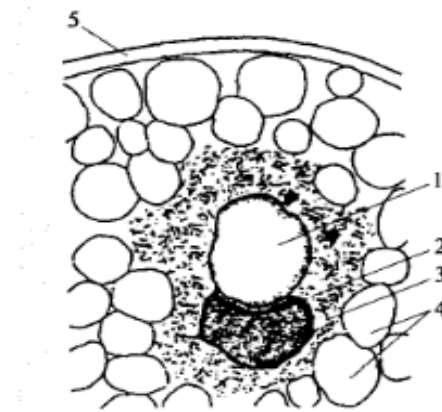


Рис. 5.3. Схема будови складного алейронового зерна клітини олійного походження: 1 – глобоїд; 2 – білковий кристалоїд; 3 – аморфна білкова зона; 4 – ліпідні каплі; 5 – клітинна оболонка.

Вміст білків у насінні олійних культур становить 14-37% від сухої речовини. Насіння соняшника містить 15%, ядро – 16-19%, насіння арахісу – 20-37%, коноплі – 20-22%, ріпаку 25-26%, ядра рицини – 18-20%, ядра бавовнику – 34-37% білка.

У білках насіння олійних культур міститься 10-30% альбумінів і до 90% глобулінів. Білки алейронового зерна (алеїрони) – в основному глобуліни (80-97%) (кількість альбумінів і глютелінів – 1-2%). В алейронових зернах практично відсутні проламіни. Кристалоїд олійних культур (коноплі – едестин, рицини, бавовнику, маку) – глобуліни з молекулярною масою від 15 до 300 кД і вище. У невеликій кількості в ньому присутні мінорні компоненти з молекулярною масою близько 600 кД. Глобуліни та альбуміни є сумішшю індивідуальних білків. В табл. 5.7 наведені склад та молекулярні характеристики фракцій глобулінів. 7S фракція глобулінів олійного зерна називається біциліном, 11S – легуміном. Всі фракції відрізняються одна від одної за амінокислотним складом та за співвідношенням кислих і основних субодиниць.

Таблиця 5.7

Характеристика білкових компонентів олійних культур

Культура	Коефіцієнт седиментації S20, В	Молекулярна маса білка, кД	Вміст білка, %
Соняшник	15	600	11
	2	20-50	22
	11	340	54
Ріпак	2	50-75	40
	12	150-350	40
Бавовник	2	15-50	25
	7	140	45
	12	180-200	20
Арахіс	2	20-50	5-8
	8	142-190	30
	13	330	35

Аморфна зона алейронового зерна є більш гетерогенною за компетентним складом, ніж кристалоїд. У цій зоні знайдені глікопротеїди і білки з сильно вираженими основними властивостями, здатні до утворення йонного комплексу з фітиновою кислотою. Фізіологічна роль фітин-білкових комплексів та глікопротеїдів на сьогоднішній день до кінця невияснена. Припускають, що обидва види білкових утворень легко мобілізуються на початку проростання насіння. Токсичний білок рицин також розміщується в аморфній зоні алейронових зерен.

Білки кристалоїду є довготривалою формою запасу, під час проростання насіння вони розпадаються пізніше, ніж білки аморфної зони. В простих алейронових зернах основні запасні білки також є глобулінами, про що свідчить їх незначна електрофоретична гетерогенність та низька ферментативна активність. З'ясування питання ферментативної активності насіння має велике значення для розуміння фізіологічної ролі алейронових

зерен: чи є вони інертними сховищами білка, чи уявляють собою структури лізосомного типу.

В алейронових зернах насіння арахісу, рицини та інших культур присутні фосфатази, протеїнази, амілази, ліпази, причому в складних алейронових зернах ферменти локалізовані в аморфній зоні. Ці дані свідчать про відсутність метаболічної інертності запасних білків.

З питання виникнення та формування алейронових зерен тісно пов'язаний механізм відкладення про запас білків у клітинах насіння. Припускають, що на першому етапі утворення алейронових зерен у вакуолях ендосперму з'являються характерні структури (полісомподібні частинки), на другому – утворюється глобоїд з відкладенням фітину всередині та «обростанням» білка ззовні, на третьому – формується кристалоїд. Таким чином, білки алейронових зерен олійних культур – складна гетерогенна система, яка включає в себе як власне запасні білки, так і деякі гідролітичні ферменти, які беруть участь у процесі гідролізу запасного білка і фітину під час проростання насіння. Механізм відкладання про запас білків під час утворення алейронових зерен різних типів різноманітний, але в будь-якому випадку в процесі беруть участь структурні елементи самих алейронових зерен.

На сьогодні існує реальна можливість отримання із олійної сировини концентрованих форм білка та створення на їх основі нових форм білкової їжі. Доцільність виділення білка із даного виду сировини зумовлена його високою масовою часткою та різноманітним амінокислотним складом. Відмінною особливістю амінокислотного складу є високий вміст триптофану, тирозину і фенілаланіну, а в деяких культур – лізину (ріпак), сульфурвмісних амінокислот (кунжут, соняшник, ріпак) і треоніну (ріпак, соняшник); найбільш цінними в біологічному відношенні є білки ріпаку, соняшника і кунжуту (табл. 5.8).

Таблиця 5.8

Склад незамінних амінокислот насіння важливих олійних рослин

Незамінні амінокислоти	Насіння, мг на 1 г білка				
	Соняшник	Арахіс	Ріпак (високоеруковий)	Кунжут	Бавовник
Валін	52	50	52	46	45
Ізолейцин	37	36	40	40	35
Лейцин	67	70	74	69	57
Лізін	38	37	60	28	41
Треонін	47	30	42	40	39
Метіонін + цистин	42	25	51	45	25
Фенілаланін+тирозин	80	95	86	83	83
Триптофан	17	11	18	15	10

Великий практичний інтерес представляє перетворення білкових речовин олійних культур під час підготовки насіння до переробки та виділення олій на олійно-жирових виробництвах (сушіння, зберігання, волого-теплова обробка, пресування, екстракція), а також у процесі отримання білкових концентратів та ізолятів. Найбільш глибоко ці процеси вивчені для соняшника. Вже на перших етапах сушіння починаються денатураційні зміни білків, які призводять до зниження їх біологічної та харчової цінності. Під час підвищення температури до 60-90°C різко знижується в'язкість та здатність до гідролізу сумарного білка протеазами, так як змінена структура під дією тепла робить недоступними пептидні зв'язки, на які направлена дія цих ферментів.

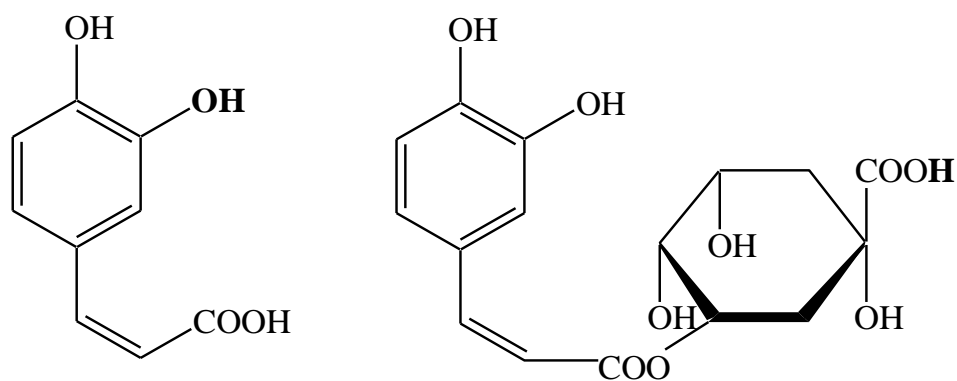
Зміна структури білкових молекул у процесі волого-теплової обробки, подрібнення насіння, просіювання та екстракції викликають зміни в фракційному складі білків. Кількість альбумінів в шроті знижується в два рази, відповідно збільшується частка глутелінів. Підвищення температури зменшує вміст лізину, метіоніну в глутеліновій фракції білка на 15-30% в

залежності від виду сировини і технологічних режимів, включаючи прийоми, направлені на виключення присутності небажаних компонентів в шроті (госсипол бавовнику, хлорогенова та кавава кислоти соняшника). Денатураційні зміни в процесі волого-теплової обробки на етапах підготовки насіння під час виділення олій призводить до зменшення кількості електрофоретичних компонентів з високою рухливістю та низькою молекулярною масою.

В олійному насінні і шротах містяться антипоживні речовини білкової природи, які зменшують харчову цінність концентратів, ізолятів або кормову цінність, якщо шрот використовується як корм для тварин. До таких речовин відносять інгібітори трипсину арахісу, рицин рицини, протеази, уреаза та ліпоксигеназа. Рицин та соїн, викликають гемаглютинацію крові; вміст рицину в насінні залежить від сорту рицини. Інактивація токсичних компонентів білкової природи досягається застосуванням волого-теплової обробки.

Білки олійних культур у процесі переробки сировини за підвищених температур в нейтральному і слабо лужному середовищах здатні до взаємодії з іншими компонентами, наприклад з поліфенольними сполуками. В процесі екстракції білка під час отримання концентратів та ізолятів хлорогенова і кавава кислоти соняшника, госсипол бавовнику окиснюються до *o*-фенолів, які полімеризуються з утворенням коричневих пігментів.

Поліфенольні сполуки мають будову:



кавава кислота

хлорогенова кислота

(5.3)

Поліфенольні сполуки взаємодіють з білком за допомогою водневих і ковалентних зв'язків за участю залишків лізину, триптофану та сульфурвмісних амінокислот. В результаті білкові продукти забарвлюються в зеленувато-коричневий колір, їх біологічна цінність зменшується, функціональні та органолептичні властивості змінюються.

5.4. Білки картоплі, овочів та фруктів

Відносно низький вміст нітрогенвмісних речовин в картоплі (близько 2%) і плодах (0,4-1,0%) свідчать про те, що дані види харчової рослинної сировини не відіграють значної ролі в забезпеченні білком продуктів харчування (табл. 5.9). Виняток – картопля, яка, не дивлячись на невисокий вміст білка, як джерела нітрогенвмісних сполук, має велике суттєве значення. Якщо врахувати, що вживання картоплі в середньому складає 330 г в день, то з даним видом продукту задовольняється 6-8% загальної добової потреби людини в білку. Вміст білкового нітрогену в бульбах картоплі в 1,5-2,5 рази більше, ніж небілкового, тоді як в овочах та фруктах, навпаки – менше 50% (наприклад, в капусті 40%, винограді 7%). Небілковий нітроген картоплі представлений амінним (61-130 мг%) та нітратним нітрогеном з амоніаком, які від загального нітрогену в бульбах становлять 18-31 та 10-15% відповідно. Сорти картоплі в більшій мірі відрізняються за вмістом небілкового нітрогену, ніж білкового, і перш за все за кількістю вільних амінокислот. Серед амінокислот переважають аланін, лізин, гістидин, глютамінова кислота та фенілаланін.

Таблиця 5.9

Вміст білка в овочах та фруктах (у % на суху масу)

Капуста білокачанна	Морква	Цибуля	Баклажани	Буряк	Огірки	Гарбуз	Абрикос	Яблука
1,8	1,3	1,4	1,2	1,5	0,8	0,7	0,9	0,4

Білки картоплі є біологічно цінними білками, так як містять всі незамінні амінокислоти. За відношенням до білків курячого яйця біологічна цінність білків картоплі дорівнює 85%, за відношенням до ідеального білка – 70%. Першими лімітуючими амінокислотами білків картоплі є метіонін та цистеїн, другою – лейцин.

Білки картоплі відрізняються за розчинністю і компонентним складом, який визначається електрофорезом. Більша частина білків картоплі (70%) – глобуліни, менша (30%) – альбуміни. Відмінності в електрофоретичній гомогенності сумарних білків є ознакою сорту і використовуються в селекційній практиці під час виведення нових сортів картоплі з високою урожайністю, стійкістю до захворювань та шкідників.

Серед овочевих культур великим вмістом білка відрізняються зелений горошок (28,3-31,9%) і цукрова кукурудза (10,4-14,9 % в розрахунку на суху масу). Основну частину в зеленому горошку складають глобуліни (біцилін і регулі), в кукурудзі – спирторозчинний зеїн. У зеленому горошку одночасно високий вміст альбумінів, який в 2-3 рази вищий, ніж в зрілому горосі різних сортів. В процесі дозрівання горошку білки інтенсивно накопичуються при зменшенні екстрактивного нітрогену. В молочно-восковій стадії стиглості в горошку міститься в 2,5-3 рази менше глютелінів, ніж при повній зрілості, вміст більш рухливого біциліну вищий, ніж легуліну. До кінця дозрівання, навпаки, кількість біциліну знижується, а легуліну збільшується.

У порівнянні з зерною кукурудзою, овочева кукурудза містить значно більше альбумінів, глобулінів та проявляє тенденцію до меншого вмісту лужнорозчинних білків. Вміст зеїну становить 21,1-37,2% від загального білка, що значно менше, ніж в кукурудзі інших ботанічних груп (41-58%). Особливість фракційного складу зеленого горошку і кукурудзи сприятливо відображається на їх амінокислотному складі. Значну частину амінокислот горошку становлять лейцин з ізолейцином (15,4% від загальної кількості), фенілаланін (7,1%), валін з метіоніном (5,2%), аргінін (10,5%) та треонін (5,2%). Для білків цукрової кукурудзи характерний високий вміст

лейцину та ізолейцину – 15,1%, аргініну 12,4%, глютамінової кислоти 17,3%, аланіну, гліцину, серину 9,0%, гістидину 4,2%, лізину 1,1%. Високий вміст в зеленому горошку і цукровій кукурудзі лізину і аргініну пояснюється збільшеною кількістю альбумінів, а в кукурудзі – і зниженим вмістом біологічно неповноцінного зеїну.

Під час різних температурних впливів білки обох культур поведуть себе по-різному. Нагрівання зеленого горошку протягом 1 хвилини у воді за температури 98-100°C зменшує розчинність глобулінів на 80%, альбумінів – на 24% і збільшує кількість лужнорозчинної фракції (на 61%). Замороження за температури –30...–196°C суттєво не впливає на розчинність і компонентний склад білків. У процесі довготривалого зберігання замороженого, але попередньо прогрітого горошку змінюється фракційний склад та відбувається денатурація білків.

Склад нітрогенвмісних речовин, які містяться у перці і баклажанах, та його зміна під час зберігання і переробки становить певний інтерес. Зрілі баклажани містять більше білкових речовин, ніж перець: 1,55% і 0,76% відповідно, та характеризуються вищим рівнем співвідношення білковий/небілковий нітроген – 0,94/0,89. Вища здатність баклажанів до біосинтезу нітрогенвмісних сполук підтверджується вищим вмістом у них ДНК, РНК, фосфору та сульфору (в мг/г сухої речовини):

	Баклажани	Перець
РНК	0,27-0,32	0,13-0,31
ДНК	0,21-0,36	0,14-0,22
Фосфор	5,5-7,2	2,5-7,1
Сульфур	2,2-2,9	0,9-2,5

Баклажани більш стійкі до в'янення в порівнянні з перцем, що пов'язують з великим накопичення в них білкових речовин.

Нітрогенвмісні речовини картоплі, овочів та фруктів мають суттєве значення для формування харчових і органолептичних властивостей продуктів (смаку, аромату, кольору, консистенції), стійкості під час

зберіганні та збереження вітамінів. Так, вільні амінокислоти беруть участь в реакціях, пов'язаних з утворенням аромату (реакції Майяра), нітрати в надлишкових кількостях погіршують стійкість під час зберіганні, а дія, наприклад, пектолітичних ферментів до кінця дозрівання фруктів зумовлює їх пом'якшення. Деякі із нітрогенвмісних сполук виконують роль інгібіторів протеаз та амілаз.

Ферменти, маючи білкову природу, значно впливають на споживчі властивості харчових продуктів і напівфабрикатів, так як беруть участь в процесах дозрівання, дихання під час зберігання соковитої сировини і її переробки. Перш за все, це відноситься до оксидоредуктаз і гідролаз. Цілісність овочів і фруктів в процесі зберігання залежить від активності анаеробних дегідрогеназ (алкогольдегідрогенази, дегідрогеназ яблуневої, бурштинової, лимонної кислот) та киснеактивних оксидоредуктаз. Способи зберігання фруктів і овочів передбачають пригнічення активності вказаних ферментів (виключення доступу повітря, зниження температури тощо). Небажаним процесом під час зберігання є реакція окиснення ненасичених жирних кислот, L-молочної кислоти, аскорбінової кислоти, лізину, фенолів, які протікають за участі відповідно ліпоксигенази, лактатоксидази, аскорбатоксидази, лізінооксигенази, *o*-дифенілоксидази. Гідропероксидази, які утворюються в результаті дії, наприклад ліпоксигенази, самостійно окиснюють феноли, а утворені при цьому хінони беруть участь в процесах розпаду аскорбінової кислоти, амінокислот, взаємодіють з білками та вуглеводами, викликаючи погіршення органолептичних (потемніння, зміна смаку, запаху), технологічних (набухання, розм'якшення) властивостей та втрату харчової і біологічної цінності (деструкцію незамінних амінокислот, жирних кислот, вітамінів, зниження засвоюваності, перетравлювання).

Із гідролаз в овочах, фруктах та картоплі виявлені β -глюкозидаза, β -фруктофуранозидаза, полігалактуроназа, пектинліаза, пектатліаза, протеолітичні і ніші ферменти. Інактивація ферментів в результаті теплової обробки під час консервації, сушіння та отримання натуральних соків із

фруктів, овочів і ягід запобігає псуванню і зберігає колір, смак та аромат соковитої сировини.

В бульбах картоплі, насінні японської редиски, коренях турнепсу, зеленому горошку, томатах містяться білки-інгібітори тваринних протеїназ, в першу чергу трипсину і химотрипсину. За вмістом інгібіторів соковита рослинна сировина займає третє місце після бобових і злакових. Найбільш добре вивчені інгібітори ферментів бульб картоплі. Інгібітор химотрипсину картоплі відноситься до «аргінінового» типу, тобто в ділянці, яка вступає в взаємодію з активним центром ферменту, міститься аргінін. Крім інгібіторів трипсину і химотрипсину в картоплі виявлені поліпептиди, які діють як інгібітори карбоксипептидаз А і Б.

5.5. Білки м'яса та молока

М'ясо, молоко та продукти, які отримують із них, містять необхідні організму білки, що сприятливо збалансовані і добре засвоюються. Білки м'язової тканини м'яса тварин повноцінні, за збалансованістю амінокислот яловичина, баранина і свинина мало відрізняються одна від одної. Білки сполучної тканини і хрящів є неповноцінними. В організмі людини і тварин білки м'язів виконують скорочувальну функцію, білки сполучної тканини та хрящів – структурну. Функції всіх цих видів білків ґрунтовані на їх фібрилярній природі.

Вміст білка в м'ясних продуктах коливається від 11 до 22%. Головними м'язовими білками є *міозин* і *актин*, молекулярна функція яких полягає в забезпеченні механізму м'язового скорочування і розслаблення за участі АТФ. Міозин становить 55% м'язового білка за масою. Це – гексамер з молекулярною масою 460 кД. Гексамер включає фібрилярну частину (дві переплетені α -спіралі з молекулярною масою 200 кД, які закінчуються глобулярними «головками»), важкі ланцюги і дві пари легких ланцюгів (молекулярна маса 15-27 кД). Міозин проявляє АТФ-гідролізуючу активність та здатність зв'язуватись з нерозчинним F-актином. Актин – це мономерний глобулярний білок з молекулярною масою 43 кД (G-актин), на частку якого

припадає 25% від загальної маси м'язового білка. В присутності магнію G-актин піддається нековалентній полімеризації з утворенням подвійного спірального ланцюга, який отримав назву F-актин. М'язове скорочення полягає в повторних приєднаннях та від'єднаннях глобулярної «головки» міозину від нитки F-актину. Гідроліз АТФ запускає цикл асоціації і дисоціації актину та міозину в п'яти реакціях даного процесу (рис. 5.4).

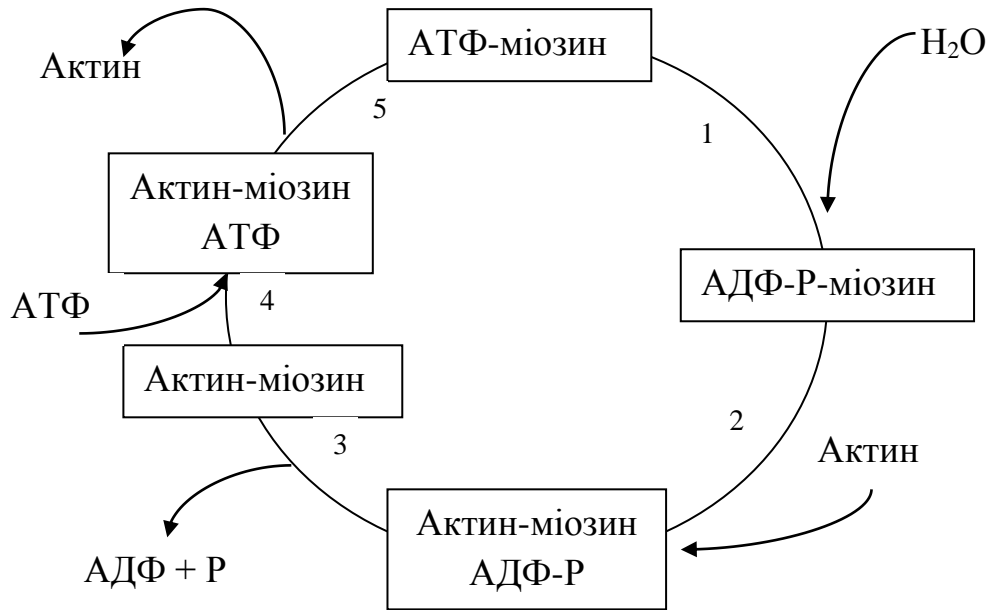
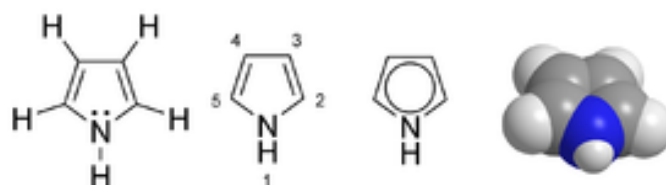


Рис. 5.4. Цикл м'язового скорочення.

Сутність процесу розслаблення м'язів полягає в відділенні міозинової (АТФ) головки від F-актину.

В м'язових клітинах міститься водорозчинний хромопротеїд *міоглобін*, який містить простетичну групу – гем-циклічний тетрапірол, наявністю якого пояснюється червоний колір цього білка. Тетрапіроли складаються із чотирьох молекул піролу, зв'язаних чотирма α -метиновими мостиками з утворенням плоскої кільцевої структури. В центрі плоского кільця заходиться один атом феруму в феро-стані (Fe^{2+}), окиснення якого призводить до втрати біологічної активності міоглобіну.



Пірол

(5.4)

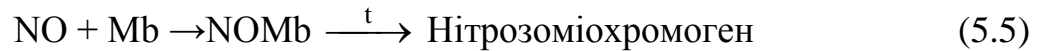
Біологічна функція міоглобіну полягає не в транспортуванні кисню, як для гемоглобіну, а в його запасі. В умовах кисневого голодування (наприклад, під час фізичного навантаження) кисень вивільняється із комплексу з міоглобіном і надходить в мітохондрії м'язових клітин, де здійснюється синтез АТФ (окисне фосфорилування).

На прикладі міоглобіну добре вивчений взаємозв'язок функції глобулярного білка та його структури. Міоглобін складається із одного поліпептидного ланцюга з молекулярною масою 17 кД, який містить 153 залишки амінокислот. Приблизно 75% залишків утворюють вісім правих α -спіралей, укладених в компакту сферичну молекулу. В місцях згину поліпептидного ланцюга розташовані залишки проліну, серину, треоніну, які не здатні до утворення α -спіралі. На поверхні молекули знаходяться полярні залишки, а всередині – неполярні, якщо не рахувати двох залишків гістидину, які беруть участь у зв'язуванні кисню. Приєднання кисню до міоглобіну супроводжується зміщенням атома феруму, а разом з ним гістидину, і ковалентно зв'язаних інших залишків амінокислот в напрямі площини гемового кільця. В результаті ця ділянка білкової молекули набуває нової конформації.

Міоглобін, не зв'язаний з киснем, називають дезоксиміоглобіном (Mb), оксигемований Mb називають оксиміоглобіном (MbO₂). Забарвлення м'ясопродуктів залежить від вмісту міоглобіну, стану гема та білкової частини макроглобули. Окиснення Fe²⁺ в міоглобіні до Fe³⁺ призводить до зміни забарвлення пігменту від яскраво-червоного до темно-коричневого, так як утворений метміоглобін (MetMb) втрачає здатність зв'язувати молекулярний кисень. Теплова денатурація глобіну також призводить до втрати здатності гемового пігменту зв'язувати кисень і погіршує колір виробу.

Кисень міоглобіну може заміщатися такими лігандами, як нітроген(II) оксид, карбон(II) оксид та ін., тому дана властивість білка м'язової тканини м'яса використовується для отримання інтенсивного забарвлення

м'ясопродуктів. Нітрит (NO), який використовують з цією метою, вступає в реакцію з гемоглобіном, утворюючи нітрозоміоглобін, який переходить під час нагрівання в стійкий пігмент червоно кольору нітрозоміохромоген:



Міоглобін та його похідні мають різні спектральні характеристики, тому для їх ідентифікації під час оцінки якості м'яса застосовують спектрофотометричні методи аналізу.

Найбільш поширеним білком у тваринному світі є *колаген* – головна макромолекула шкіри, сухожилля, кровоносних судин, кісток, рогівки очей та хрящів. Він забезпечує позаклітинну структуру в сполучній тваринній тканині, існуючи не менш ніж в п'яти різних типах. Головною особливістю колагенових молекул є триспиральна структура, кожний α -ланцюг (субодиниця) якого – це лівозакручена спіраль. У спіралі на кожний завиток припадає по три амінокислотних залишки. Три ліві α -спіралі закручуються в праві суперспіралі, які в свою чергу об'єднуються в фібрили.

Ще одну характерною особливістю молекули колагену є наявність в її складі потрійної спіралі α -ланцюга гліцину. Повторну структуру можна навести як Глі-Х-У, де Х, У – інші амінокислоти. Приблизно 100Х– і 100У– положень в колагені зайнято проліном та 4-гідроксипроліном, відповідно. В деяких Х-положеннях міститься 3-гідроксипролін, а в У – 5-гідроксилізін. Залишки «жорстких» амінокислот підвищують стабільність потрійної спіралі. За кількістю оксипроліну визначається рівень розварювання колагену під час оцінки якості м'яса.

Колаген – позаклітинний білок, але він синтезується всередині клітини у вигляді молекул-попередників, проходячи через ендоплазматичний ретикулум та комплекс Гольджі. В результаті процесу посттрансляційної модифікації потрійна спіраль колагену стабілізується між- і внутріланцюговими дисульфідними зв'язками, О-глікозидними зв'язками між залишками сахаридів і гідроксилізіну та перехресним зв'язуванням

ланцюгів і спіральних молекул фібрил через Шиффові основи та альдольну конденсацію.

В еластичних фібрилах сполучної тканини виявлений білок *еластин*, який подібний за властивостями до колагену. Еластин міститься в зв'язках та стінках кровоносних судин. Цей білок багатий на гліцин, аланін і лізин, але бідний на пролін. Відмінною особливістю еластину є наявність в його структурі поперечних зв'язків особливого характеру. Альдегідні групи, які утворились в результаті окиснення аміногруп бокових ланцюгів залишків лізину і оксилізину, взаємодіють з аміногрупою за допомогою реакцій альдольної конденсації, дегідратації та окиснення, утворюють десмозин та ізодесмозин. Всі чотири аміно- та карбоксильні групи беруть участь в утворенні пептидних зв'язків.

М'ясо, яке містить багато сполучної тканини, залишається жорстким навіть після теплової обробки; засвоюваність колагену та еластину в ньому дуже низьке. Однак за необхідності посилення рухової функції кишківника доцільне використання продуктів, багатих сполучною тканиною. В дієтах щадного режиму застосовують желатин – продукт неповного гідролізу колагену. За амінокислотним складом желатин неповноцінний, але желатиноподібні продукти із нього перетравлюються без напруження секреції органів травлення.

Молоко – це гетерогенна система, в якій як дисперсна фаза виступають емульговані жирові глобули та колоїдні міцели *казеїну*, а як дисперсне середовище – розчин білків, лактози, солей і вітамінів. Загальний вміст білків в молоці коливається від 2,9 до 3,5%. Серед них виділяють дві основні групи: казеїни та сироваткові білки (табл. 5.10). В молоці міститься більше 20 ферментів (ксантинооксидаза, пероксидаза, каталаза, ліпаза, холінестераза, α -амілаза, лізоцим, протеаза та ін.), а також гормони (пролактин, окситоцин, кортикостероїди, тироксин, трийодтиронін і ін.) і білки в складі оболонки жирових кульок.

Таблиця 5.10

Склад та молекулярні характеристики білкових компонентів молока

Компоненти	Вміст		Молекулярна маса, кД	ІЕТ
	% від загальних білків	г/л		
Казеїн:	78-85	...		
α_{S1} -казеїн	43-54	12-15	23,0	4,4-4,8
α_{S2} -казеїн	43-54	3-4	25,0	-
β -казеїн	25-35	9-11	24,0	4,8-5,1
χ -казеїн	8-15	2-4	19,0	5,4-5,8
Білки сироватки:	15-25	6-8		
β -лактоглобулін	7-12	3,6	18,3	5,1
α -лактальбумін	2-5	1,7	14,2	4,2-4,5
імуноглобуліни	1,5-2,5	0,6	150-1000	5,5-8,3
альбумін сироватки крові	0,7-1,3	0,4	69,0	4,7-4,9

Основні білки молока – казеїни, які легко перетравлюються і є джерелами незамінних амінокислот, кальцію, фосфору та деяких фізіологічно-активних пептидів. Так, під дією хімосину на κ -казеїн в шлунку вивільняються гліко- та фосфоропептиди, які регулюють секрецію шлункового соку, моделюють фізико-хімічні властивості білків (розчинність, в'язкість, заряд, денатурацію), здійснюють захист від протеолізу і впливають на проникність мембран клітин. Важливими фізіологічними функціями характеризуються і сироваткові білки. Імуноглобуліни виконують захисну функцію, лактоферин та лізоцим (фермент) є носіями антибактеріальних властивостей, а лактоферин і β -лактоглобулін виконують транспортну роль, вони переносять в кишківник мікро- та мікроелементи, вітаміни і ліпіди. α -Лактальбумін необхідний для синтезу лактози в молоці із УДФ-галактози та глюкози.

Для більшості компонентів казеїну, α -лактальбуміну, β -лактоглобуліну та компонентів протеозо-пептонної фракції розшифровані первинні і деякі фрагменти вторинної, третинної, четвертинної структур. Так, молекули казеїну містять невелику кількість α -спіралей – 1-6% (тоді як, наприклад, α -лактальбумін складається із 26% α -спіралі, β -конформації) і тільки решта кількості білка – невпорядкована структурна організація.

У процесі утворення четвертинної структури казеїну велику роль відіграють гідрофобні взаємодії та фосфат-кальцієві мостики; меншу – електростатичні та водневі зв'язки. Фосфаткальцієві мостики є основою казеїнаткальцієвого ортофосфатного комплексу, у вигляді якого казеїн міститься в молоці:



Кальцій у складі комплексу виконує роль структуроутворювача, створюючи мостик між серинфосфатними групами двох молекул казеїну, а залишки ортофосфатної кислоти посилюють кислі властивості білка, зумовлені присутністю в поліпептидах β - і γ -карбоксильних груп аспарагінової та глютамінової кислот. Казеїн із молока осаджується за рН 4,6-4,7, у момент, коли на його молекулах настає рівність позитивних і негативних зарядів. Нерозчинний казеїн зв'язує воду в достатньо великих кількостях (більше 2 г на 1 г білка), що дуже важливо для стійкості частинок білка в сирому, пастеризованому або стерилізованому молоці. Гідрофільні властивості казеїну посилюються під час взаємодії його з β -лактоглобуліном, яка спостерігається в процесі теплової обробки молока, і від них залежать структурно-механічні властивості згустків, що утворюються під час кислотного згортання або отримання сирної маси у процесі дозрівання сирів.

Промислові казеїни отримують із знежиреного молока під дією кислот, кисломолочної сироватки, введенням солей кальцію, хімозину або інших ферментів. В залежності від способу отримання розрізняють казеїнат натрію, казеїнат кальцію, кислотний, сичуговий казеїн та копреципітат з різними функціональними властивостями. Для регулювання функціональних властивостей часто використовують неповний ферментативний гідроліз або змішування з рослинними білками та їх спільне сушіння. У процесі виробництва нових форм білкової їжі (аналогів м'ясних та рибних продуктів) більше значення мають гелеутворення казеїну, його взаємодія з речовинами небілкової природи, утворення стійких емульсій та явище синерезису.

Білки молока характеризуються високою біологічною цінністю, вони містять у достатніх кількостях (надлишок) лізин та триптофан та невелику кількість (нестача) сульфурвмісних амінокислот. Білки сироватки містять незамінні амінокислоти в значно більших кількостях, ніж казеїн, включаючи лізин, треонін, триптофан, метіонін та цистеїн.

На частку сироваткових білків від загальної кількості білків в молоці припадає 0,5-0,8%. β -Лактоглобулін стійкий у кислому середовищі шлунка до дії пепсину, тому розщеплюється тільки в кишківнику трипсином і химотрипсином. У процесі пастеризації молока білок денатурується, утворюючи комплекси з κ -казеїном, і осаджується разом з ним під час кислотної та сичужної коагуляції. Податливість даного комплексу до дії сичужного ферменту знижується. α -Лактальбумін не осаджується в ізоелектричній точці (рН 4,6), не згортається під дією сичужного ферменту і термостабільний за рахунок великої кількості дисульфідних зв'язків. Імуноглобуліни за хімічною природою є глікопротеїдами. Вони виконують свою функцію, викликаючи аглютинацію мікроорганізмів та інших чужорідних клітин. Виділені три основні групи імуноглобулінів: G, A і M. Серед них є мономери та полімери, які складаються із важких і легких поліпептидних ланцюгів з молекулярними масами 50 кД і 25 кД, відповідно.

Розрізняють два основних типи молочної сироватки: солодку, яка утворюється під час виробництва сирів, і кислу, яку отримують у процесі осадження сиру та казеїнів. Для застосування молочної сироватки як добавки в хлібопекарній, кондитерській промисловості, для виробництва сумішей для дитячого харчування її концентрують методами сушіння, ультрафільтрації, електродіалізом та осадженням білка у вигляді комплексів з поліелектролітами. Для отримання ізолятів, концентратів та копреципітатів застосовують термоденатурацію з наступним осадженням білка в ІЕТ (рН 4,5-4,6) і комплексоутворення з аніонними полісахаридами (КМЦ, альгінати та пектини). Ці способи дозволяють виділити до 70-90% повноцінного білка молочної сироватки і урізноманітнювати його функціональні властивості.

6. НОВІ ФОРМИ БІЛКОВОЇ ЇЖІ. ПРОБЛЕМА ЗБАГАЧЕННЯ БІЛКІВ ЛІМІТУЮЧИ МИ АМІНОКИСЛОТАМИ

Основними напрямками науково-технічного прогресу в галузі виробництва продуктів харчування в останній три десятиліття є інтенсифікація процесів приготування їжі з одночасним наданням їй комплексу властивостей, які відображають потреби наукового світогляду про здорове харчування. Нові харчові виробництва, як пріоритетні включають технології отримання білкових продуктів. Ці технології ґрунтуються на фундаментальних і прикладних знаннях в галузі харчової, молекулярної біології, біофізики та деяких технічних дисциплін. Об'єктивні причини створення принципово нових технологій отримання білкових компонентів їжі: зростання чисельності населення, усвідомлення людьми того, що ресурси планети не безмежні, необхідність виготовлення харчових продуктів із відповідним до сучасного образу життя складом, можливість використання накопичених людиною теоретичних знань з прикладною метою. Відмінною особливістю технологій виробництва білкових продуктів є можливість цілеспрямованого використання окремих фракцій білків та комплексної переробки сировини з одночасним отриманням інших корисних харчових інгредієнтів (крохмалю, масла, пектину, фосфатидів тощо).

Нові форми білкової їжі – це продукти харчування, отримані на основі різних білкових фракцій харчової сировини із застосуванням науково обґрунтованих способів переробки, та які мають певний хімічний склад, структуру і властивості, включаючи біологічну цінність.

Об'єктивною якісною оцінкою створення і розвитку галузі виробництва рослинних білкових продуктів (фракцій) є наявність сільськогосподарської сировини, високопродуктивного обладнання (екстракторів, сепараторів, центрифуг тощо) і конкурентоздатних технологій. До потенційних сировинних джерел належать: зернобобові (соя, горох, чечевиця, люпин, квасоля, нут); хлібні та круп'яні культури (пшениця, тритикале, жито, овес, ячмінь, кукурудза) і побічні продукти їх переробки

(висівки, січка, мучка, зародок); олійні (соняшник, льон, ріпак, кунжут); псевдозлакові (амарант); овочі і баштанні (картопля, гарбуз); вегетативна маса рослин (люцерна, конюшина, люпин, цукровий буряк, зелений тютюн); продукти переробки фруктів і ягід (кісточки абрикосу, сливи, вишні, кизилу, винограду тощо); кедрові та інші види горіхів. Не менш важливими факторами, які визначають вибір сировинних джерел, є: кількість і склад білка, біологічна цінність, можливість видалення антихарчових речовин, функціональні властивості, здатність до зберігання, можливість глибокого фракціонування з отриманням як основних (білкових), так і побічних продуктів харчової (жир, крохмаль) або лікувально-профілактичної (пектин, сорбіт, ксиліт, лецитин, антоціани, вітаміни, глюкозо-фруктозні сиропи тощо) цінності. Виробництво з випуску харчових білків будують поблизу біохімічних або кормових заводів з метою отримання ряду додаткових інгредієнтів (дріжджі, ферментні препарати, суха мезга) або організують спеціалізовані цехи на діючих підприємствах.

Традиційними джерелами для виробництва білкових продуктів є соя та пшениця. Продукти із соєвих білків поділяють на три групи, які відрізняються за вмістом білка: борошно-крупа, концентрати, ізоляти. На основі вказаних видів білкових продуктів організовується виробництво і маркетинг текстурованого борошна, концентратів та ізолятів. Випускаються модифіковані і спеціальні білкові продукти. Соєве борошно і крупа виробляється на млиновому обладнанні шляхом подрібнення до певного розміру частин знежиреного або незнежиреного насіння з наступним їх просіюванням. У борошні та крупі міститься 40-54% ($N \times 6,25$) білка від загальної маси продукту. Різні види борошна (круп) відрізняються за вмістом жиру, розміром частинок та рівнем теплової обробки. Від інтенсивності теплової дії залежать КРА, КДБ, активність ферментів ліпоксигенази, уреазы та інгібіторів протеаз. Соєві білкові концентрати виготовляють із очищених і знежирених соєвих бобів (білих пелюстків) шляхом видалення розчинних у воді небілкових компонентів (олігосахаридів,

ферментів, мінеральних речовин). Концентрати містять 65-70% білка на суху речовину ($N \times 6,25$). Соеві білкові ізоляти є найбільш очищеною формою білкових продуктів, так як містять не менше 90% білка на суху речовину. Білок екстрагується із подрібненої білої пелюстки слаболужним розчином (рН 8-11) з наступним осадженням в ізоелектричній точці (4,2-4,5) і відділенням у вигляді сирнистої маси від олігосахаридів. Білкову масу промивають, нейтралізують до рН 6,8 і сушать.

Призначення текстурованих білкових продуктів полягає в наданні харчовим виробам волокнистої або багат шарової структури. Після гідратації такі білкові продукти за зовнішнім виглядом і структурою нагадують м'ясо або морські продукти, виступаючи при цьому в ролі аналогів традиційних харчових продуктів. Багат шарова м'ясоподібна структура соєвих білкових продуктів може формуватися за допомогою термопластичної екструзії. Основні стадії процесу включають: дозування сировини → кондиціонування (зволоження, нагрівання) → процес варіння → орієнтація молекул білків (ламінарна течія) → формування волокон → розрізання продукту на шматки → сушіння. В основі екструзії лежить процес реструктуризації білка, який полягає в тому, що під впливом температури, зволоження і механічної дії макромолекули його формують в'язкопластичну масу, вибудовуючись в напрямку зсуву, з утворенням нових поперечних зв'язків. В результаті утворюється багат шарова об'ємна жувальна структура, яка придатна для використання як наповнювачів або аналогів.

Особливі соєві продукти: соєвий соус, тофу (соєвий сир), соєве молоко, місо (соєва паста). Модифіковані білки (частково або повністю гідролізовані) отримують із білкових продуктів із застосуванням протеолітичних ферментних препаратів (пепсин, папаїн, бромелайн) або кислотного гідролізу. Такі білки використовуються як функціональні і смакові добавки до їжі.

Із пшениці або пшеничного борошна методом водної екстракції небілкових і розчинних білкових компонентів отримують суху пшеничну клейковину. Так як клейковина є продуктом, який швидко псується, то

важливе місце в технологічному процесі виробництва клейковини займає сушіння. По-перше, вологість готового продукту не повинна перевищувати 10%, а по-друге, клейковина повинна бути нативною, або «вітальною». Перша умова необхідна з метою успішного зберігання, а друга – для забезпечення широкого використання клейковини як технофункціонального інгредієнта. В клейковині міститься білка не менше 75-80% (N×5,7), жиру – 0,5-1,5%, клітковини – 1,5%, зольність – 0,8-1,2%.

Не дивлячись на те, що в індустрії харчових білків розроблена і запроваджена велику кількість технологій, існують перспективні напрями, які полягають в отриманні білкових продуктів з підвищеною харчовою та біологічною цінністю із нетрадиційної сировини; фракціонуванні білків на компоненти з різними молекулярними масами (наприклад, 7S і 11S білки сої), фізико-хімічними, функціональними і фармакологічними характеристиками та розробці на їх основі нового покоління білкових добавок (комполімерів) з поліфункціональними властивостями і багатоцільовим призначенням.

Рослинний білок зернових та інших культур в загальній масі поступається тваринному за вмістом незамінних амінокислот (лізину, треоніну і триптофану). Тому уже сьогодні у світі широко розробляються і впроваджуються в життя спеціальні програмні питання, які передбачають застосування рослинних білків або лімітуючих амінокислот для дорослого населення, школярів і дітей. Оптимальний баланс незамінних факторів харчування забезпечується шляхом правильного підбору та поєднання різних видів білків (ефект взаємного збагачення). Додавання в їжу, наприклад, сої є чудовим методом заповнення нестачі лізину в пшениці, кукурудзі та рисі. За рахунок правильного підбору складових в сумішах із хлібних, бобових і олійних культур можна значно підвищити КЕБ, за еталон якого приймають показник для казеїну (2,5). Суміш із хлібних культур з соєвими продуктами комплементарні за амінокислотним складом уже при співвідношенні 50:50, однак ідеальним вважають – 30:70.

В залежності від співвідношення білкових складових розрізняють ефекти істинного та простого збагачення. Ефект істинного збагачення спостерігається в тому випадку, якщо скор для кожної незамінної амінокислоти в білку створеного продукту не менше 1,0, а простого – якщо значення амінокислотного скору композиції менше 1,0, але вище, ніж значення даного показника для окремих білків кожного продукту. Збалансованість амінокислотного складу в білкових продуктах позитивно відображається на їх засвоюваності. Якщо засвоюваність білків рослин, в порівнянні з казеїном, складає 60-80%, то засвоюваність білків, які містяться в концентрованих білкових продуктах з великою кількістю незамінних амінокислот, – 80-100%. Так, засвоюваність дорослою людиною соєвих білкових концентратів та ізолятів, як і білків молока, знаходиться в межах 91-96%, сухої пшеничної клейковини – 91%, а білкового борошна із пшеничних висівок – 94%. Даний показник можна підвищити до 97-99% змішуванням їх з лімітуючими амінокислотами. Наприклад, додавання 0,5-1,5% метіоніну до білкових продуктів із сої наближає їх за харчовою цінністю до ідеального білка, а додавання триптофану в їжу підвищує утворення в організмі людини антитіл та підвищує його імунітет. В табл. 6.1 показаний вплив добавок амінокислот на якість зернового корму, яка оцінена за КЕБ.

У виробництві продуктів та кормів застосовують добавки лімітуючих амінокислот, виробництво яких в світі уявляє собою багатотонну спеціалізовану галузь. Більше 98% виробництва (за даними ФАО) припадає на метіонін, лізин і триптофан. Основними способами отримання амінокислот є методи мікробіологічного (лізин, треонін, валін) і хімічного (метіонін, триптофан, фенілаланін) синтезу, але частину дефіцитних амінокислот можна отримати із застосуванням ферментативних методів (метіонін), екстракцій (цистин, тирозин) та генної інженерії (лізин, треонін).

Вживання амінокислот в їжу потребує ретельного контролю зі сторони медиків і спеціалістів з харчування, так як тут необхідні особливі методи їх вживання та прийоми введення.

Таблиця 6.1

Вплив добавок амінокислот на КЕБ зернових культур

Зернова культура	Амінокислота	КЕБ	
		без добавки	з добавкою
Пшениця	L-лізин (0,2%)	0,7	1,6
	L-лізин (0,4%) + DL-треонін (0,3%)	0,7	2,7
Рис	L-лізин (0,02%) + DL-треонін (0,2%)	1,5	2,6
Кукурудза	DL-лізин (0,4%)+L-триптофан (0,07%)	0,9	2,6

Лімітуючі амінокислоти містяться в їжі, не беручи участі в порожнинному травленні швидко надходять в кровоносну систему або залишаються в кишківнику, де під впливом мікрофлори стають об'єктом утворення токсичних продуктів. Різниця в часі надходження в кров вільних амінокислот та амінокислот, утворених під час перетравлювання білків їжі, сприятиме протіканню негативних ферментативних перетворень дезамінування, декарбоксілювання тощо. Вільні амінокислоти, які не беруть участь в синтезі білків тіла, можуть стати джерелом токсичних біогенних амінів та амонійних солей. Найвищу токсичність проявляють продукти дезамінування триптофану, тирозину, гістидину. Так, гістамін і серотонін, утворені під час декарбоксілювання гістидину і триптофану, відповідно, відносять до речовин, які викликають алергію.

Вживання цінних рослинних білків в їжу в цілому позитивно відображається на здоров'ї людей. Поставляючи організму незамінні амінокислоти, білкові продукти є джерелом харчової клітковини, здатної утворювати структурні комплекси з лікувально-фізіологічною функцією впливу на моторику кишківника та регуляцію рівня холестерину в крові. Рослинні білки знижують рівень сироваткових ліпідів у хворих гіперліпідемічних станів (атеросклероз, гіпертонія, цукровий діабет, жовчнокам'яна хвороба, ендокринні розлади та ін.), в зв'язку з чим інтерес до

заміни тваринних білків на рослинні в останні роки особливо зростає. Так, заміна в раціоні хворих з підвищеним вмістом ліпопротеїдів і холестерину в крові м'ясо-молочних продуктів на соєві білкові ізоляти знижує рівень загального холестерину та холестерину з ЛНГ.

7. ФУНКЦІОНАЛЬНІ ВЛАСТИВОСТІ БІЛКІВ

Рослинні білки знаходять застосування у виробництві харчових продуктів як інгредієнти поживної, технологічної та лікувально-профілактичної значущості завдяки властивим їм унікальним функціональним властивостям. Означення «функціональні властивості білків» вперше ввели Серкл і Джонсон у 1962р. Під функціональними властивостями розуміють фізико-хімічні характеристики білків, які визначають їх поведінку під час переробки на харчові продукти та забезпечують певну структуру, технологічні і споживчі властивості (В. Толстогузов, 1987).

Найбільш важливі функціональні властивості білків: розчинність; водозв'язуюча та жирозв'язуюча здатність; здатність стабілізувати дисперсні системи (емульсії, піни, суспензії); здатність утворювати гелі; плівкоутворююча здатність; адгезійні і реологічні властивості (в'язкість, еластичність); здатність до прядіння і текстурування.

Білки з високими функціональними властивостями добре розчиняються у воді, утворюють стійкі гелі, стабільні емульсії і піни; білки з низькими функціональними властивостями не набухають у воді, не здатні утворювати в'язкі, еластичні маси, гелі, не стабілізують піни і емульсії. Деякі відомі білки належать до сполук з проміжними властивостями. Так, білки пшеничної клейковини, не дивлячись на низьку розчинність у воді (2-5%), утворюють структурні колоїдні системи – гелі, які витримують нагрівання, замороження та висушування, а білки із висівок і тритикале з розчинністю 10-20% мають високі жироемульгуючі та піноутворюючі властивості. Відхилення від цих закономірностей пояснюються труднощами відтворення стандартних умов в експериментальних дослідженнях під час оцінки функціональних властивостей, так як білки мають різні оптимальні значення властивостей, а модельні системи не враховують багатofункціональність та взаємодію білків з іншими компонентами їжі (ліпідами, вуглеводами тощо). Тому функціональні властивості білків повинні виражатися не тільки в числових

значеннях, але і в профілях залежностей від технологічних або інших факторів. Даний підхід до оцінки функціональних властивостей білків знайшов відображення у застосуванні до білків нового терміну – «технофункціональні», які включають особливості технологічних процесів під час виробництва, зберігання та споживання харчових продуктів. При цьому функціональні властивості білків оцінюються для конкретних харчових систем в рамках вибраного напрямку шляхом порівняння їх з властивостями традиційних або інших відомих білків.

Розчинність білків характеризується коефіцієнтами КРА і КДБ. У першому випадку визначають кількість азоту, в другому – кількість білка, який перейшов в розчин (% від загального вмісту його в продукті). Специфічна послідовність амінокислотних залишків у поліпептидному ланцюзі, нерівномірне розташування гідрофобних та гідрофільних груп на поверхні білків, наявність або відсутність спіралізованих ділянок зумовлюють особливості функціональних властивостей білків. Розчинність найбільшою мірою залежать від наявності нековалентних взаємодій: гідрофобних, електростатичних та водневих зв'язків. Під час розгляду гідрофобних взаємодій білків розрізняють середню і відносну (поверхневу) гідрофобність. Під середньою гідрофобністю розуміють енергію стабілізації, яка припадає на одну неполярну бокову групу у процесі її зв'язування всередині глобули білкової молекули, під відотною – ступінь гідрофобної взаємодії неполярних залишків амінокислот, розташованих на поверхні глобул. Відносна гідрофобність оцінюється за зв'язуванням з ліпідами і вуглеводами, розподілом білків у двофазних водних системах, які містять полімери з різною гідрофобністю тощо. За рахунок відносної гідрофобності здійснюється взаємодія з ліпідами та формується четвертинна структура білків. Чим нижча відносна гідрофобність білків (нижча взаємодія між глобулами і вища сила відштовхування), тим вища взаємодія їх з молекулами розчинника, отже вища розчинність.

Внесок електростатичних сил у розчинність білків залежить від рН середовища та присутності солей. За рН, що відповідає ІЕТ, білки мають найменшу розчинність, так як сумарний заряд на їх молекулах дорівнює нулю і частинки не здатні відштовхуватись за рахунок електростатичних взаємодій від молекул розчинника. У кислому або лужному середовищі, навпаки, протилежно заряджених йонів розчинника (H^+ або OH^- відповідно) взаємодіють з поверхнями білкових частинок, заряджених позитивно в кислому середовищі і негативно в лужному, що спричиняє перехід білка в розчин. У кислому середовищі білок має позитивний заряд на аміногрупах внаслідок пригнічення дисоціації карбоксильних ($-COOH$) груп, у лужному – негативний заряд карбоксильних груп за рахунок пригнічення дисоціації ($-NH_2$) груп.

Залежність розчинності білків від концентрації солей має нелінійний характер. Під час додавання невеликих кількостей солей розчинність білків збільшується, так як йони перешкоджають електростатичній взаємодії бокових груп білка між собою. Високі концентрації солей, які знижують гідратацію поліпептидних ланцюгів, навпаки, посилюють гідрофобні білок-білкові взаємодії і викликають випадання білка в осад (висолювання). Використання як розчинника води, розбавлених розчинів солей, лугів та водно-спиртових розчинів забезпечують переведення гетерогенної суміші в розчин, відповідно, альбумінів, глобулінів, глютелінів і проламінів та отримання білкових фракцій, які відрізняються за амінокислотним складом, молекулярними масами і функціональними властивостями.

Відмінності в розчинності білків харчової сировини лежать в основі технологічних процесів виділення ізолятів та концентратів і мають безпосереднє відношення до якості багатьох харчових продуктів. Важливе значення розчинність білків має для підвищення якості харчових продуктів, під час виробництва яких передбачається їх гідроліз (автоліз) та денатурація (початкові технологічні стадії, сушіння і зберігання). Втрата розчинності, як правило, супроводжується зміною інших функціональних властивостей, що в

значній мірі відображається на якості продуктів та ступені перетравлювання білка в шлунково-кишковому тракті. Особливі вимоги до розчинності білків висуваються під час їх використання у процесі виробництва напоїв, хлібних, борошняних кондитерських і макаронних виробів. У напоях застосовуються білки з високою розчинністю, у виробів із борошна – з низькою. Застосування білків з надзвичайно високою розчинністю в складі хлібопекарських покращувачів негативно відображається на еластично-в'язкопружних властивостях тіста. Незначна кількість розчинного білка повинна міститися в текстурованих формах білка, зернових продуктах, приготовлених високотемпературною екструзією, і макаронних виробів.

Властивості білкових суспензій. Під час використання білків як збагачувачів, наповнювачів (розріджувачів), функціональних інгредієнтів та аналогів м'ясних і рибних виробів велике значення мають такі властивості білкових суспензій, як обмежений ступінь набухання та розмір частинок, водо- і жирозв'язуюча здатність, адгезійні властивості, значення рН і буферна ємність, утворення в'язко-пружноеластичних мас та гелів.

Водозв'язуюча здатність характеризується адсорбцією води за участі гідрофільних залишків амінокислот, жирозв'язуюча – адсорбцією жиру за рахунок гідрофобних залишків. За невисокої вологості гідрофільні групи, взаємодіючи з молекулами води, утворюють мономолекулярний шар, за високої – навколо глобул білка формується багат шарова структура з одночасним проникненням води у впадини та виступи. Загальна кількість води і жиру на поверхні досягає 0,2-0,4 г на 1 г білків.

Здатність білків утримувати жир і воду залежить не тільки від особливостей амінокислотного складу та структури, але і від фракційного складу, способу обробки, рН середовища, температури, наявності вуглеводів, ліпідів, інших білків. У пшеничному тісті під час додавання соєвого білка або пшеничної клейковини водонепроникна здатність позитивно корелює з кількістю нерозчинної фракції білків і негативно – із вмістом розчинної. Висока здатність білків утримувати воду в харчових продуктах (м'ясних,

хлібобулочних тощо) підвищує їх вихід, подовжує терміни зберігання та покращує текстуру. Денатуровані білки мають знижену водозв'язуючу здатність, їх застосування негативно відбивається на якості хліба. Висока жирозв'язуюча здатність білків забезпечує ніжну та однорідну текстуру виробів, виключає відділення жиру, зморщування виробів, зменшує втрати у процесі варіння та смаження.

Жироемульгуюча і піноутворююча здатність білків широко використовується в практиці отримання жирових емульсій та пін. Присутність в одному білковому ланцюгу гідрофобних і гідрофільних угруповань забезпечує певний розподіл молекул на межі розділу фаз вода–олія і вода–газ. Орієнтація гідрофільних груп білка до води, а гідрофобних – до олій на межі розділу фаз у вигляді міцного адсорбційного шару знижує поверхневий натяг в дисперсних системах і робить їх агрегатний стан стійким та одночасно в'язким. Найбільш широко поширені харчові емульсії «олія в воді» (о/в) і «вода в олії» (в/о), які називаються, відповідно, прямими і оборотними. У процесі виробництва нових форм білкової їжі великого значення набули емульсії «вода в воді» (в/в). Всі види білкових емульсій отримують механічним диспергуванням однієї рідини в іншу за допомогою мішалок, гомогенізаторів, які забезпечують в полі сил зсуву деформацію дисперсійного середовища з утворенням малих частин. Емульгуючі властивості білків оцінюють за емульгуючою здатністю, емульгуючою ємністю, стабільністю емульсії.

Піни (дисперсні системи з газовою фазою і рідким або твердим середовищем) отримують механічним розподілом повітря в розчині білка шляхом збивання або за рахунок кип'ятіння води, зниження тиску, забезпечення хімічних і мікробіологічних процесів у білкововмісних харчових системах. Так, білки клейковини утворюють піну в хлібному тісті під дією карбон(IV) оксиду під час бродіння, в кондитерському тісті – за рахунок хімічних розпушувачів під час виділення амоніаку та карбон(IV) оксиду. Піноутворюючі властивості білків характеризуються

піноутворюючою здатністю і стабільністю піни. Перший показник вимірюється об'ємом піни, віднесеним до маси білка, другий – періодом її піврозпаду, тобто часом, необхідним для руйнування половини об'єму піни. Обидва показники залежать від рН середовища, концентрації білка, наявності солей, температури, присутності ліпідів, сахарози, харчових волокон, фракційного складу та будови білків. Для якості деяких харчових продуктів велике значення мають розмір бульбашок піни, який також залежить від технологічних та інших факторів. Глютенін пшениці, наприклад, утворює бульбашки піни більшого розміру, порівняно з гліадином. Після розщеплення дисульфідних зв'язків в гліадині та клейковині розмір бульбашок не змінюється, в той час як у глютеніні зменшується.

За жироемульгуючими властивостями рослинні і тваринні білки застосовуються під час виробництва хлібобулочних, борошяних кондитерських виробів, низькокалорійних маргаринів, майонезі, паст, м'ясних продуктів, а піноутворюючі властивості є основою виробництва кондитерських виробів (бісквітів, десертів, кремів тощо), у процесі отримання яких застосовують збивання. Здатність білкових суспензій до зчеплення з поверхнею металу, пластмас, картону, паперу (адгезія) важлива в процесах транспортування, обробки, формування і упаковки тістових, кисломолочних, сирних, цукеркових мас, м'ясних і рибних фаршів, текстуратів білка та нових форм білкової їжі.

Гелеутворюючі властивості білків характеризуються здатністю їх колоїдного розчину із вільного дисперсного стану переходять в зв'язанодисперсні (з утворенням систем із властивостями твердих тіл). Пружні властивості гелю, зумовлені утворенням просторової сітки взаємодіючих молекул білка, залежать від їх мінімальної концентрації, за якої настає гелеутворення (гель-точка), від рН, присутності інших білків, олій, полісахаридів. Білок як гелеутворювач повинен утворювати гелі в широкому діапазоні рН, йонної сили, за мінімальної концентрації та з необхідними фізико-хімічними властивостями (міцність, твердість,

еластичність, тиксотропія – здатність оборотно переходити в текучий стан під час механічної обробці і знову утворювати нетекучий гель після зняття навантаження), температура розм'якшення, топлення, ступінь набухання, здатність до синерезису – відділення дисперсійного середовища, що супроводжується зменшенням об'єму гелю, сорбція барвників та ароматичних речовин і т.і.). До «універсальних» гелеутворювачів відносять желатин, який дозволяє в широких межах забезпечувати регулювання хімічного складу і біологічну цінність харчових продуктів.

Розрізняють наповнені, змішані, комплексні, анізотропні гелі та ксерогелі. Наповнені гелі містять інші білки в суспендованому або розчиненому вигляді, змішані складаються із просторових сіток з різними видами білків, у комплексних гелях роль гелеутворювача виконують комплекси білків з іншими сполуками. Відмінною особливістю анізотропних гелів є наявність в їх складі орієнтованих молекул білка, а ксерогелів (сухих гелів) – можливість їх зберігання протягом тривалого часу.

В'язко-еластично-пружні властивості. Відмінною властивістю деяких харчових білків є низький рівень полярності функціональних груп. Молекули води, оточуючи частинки білків, відштовхуються, а молекули білків, навпаки, агрегуються з утворенням комплексів із властивими їм реологічними властивостями (в'язкість, еластичність, пружність). Найбільш виражений комплекс таких властивостей мають білки пшеничної клейковини, зумовлюючи текстуру хліба та утворюючи неперервну фазу в виробках з наповнювачами (зерно, висівки, родзинки). За пружність та еластичність білків відповідає глютенінова фракція білків.

З метою забезпечення стабільності технологічного процесу, покращення якості та розширення асортименту харчових виробів здійснюють регулювання функціональних властивостей. Функціональні властивості білків визначаються їх структурою. Наприклад, в'язкість та гелеутворюючі властивості співвідносяться із розміром і формою молекул, а водозв'язуюча здатність, піноутворюючі та емульгуючі властивості корелюються із

співвідношенням полярних і гідрофобних груп на поверхні білка. Всі фактори, які змінюють структуру білків, уможливають регулювання (модифікацію) їх властивостей.

Регулювання функціональних властивостей білків досягається зміною умов їх виділення, сушіння, фізичними, фізико-хімічними впливами, ферментативною і хімічною модифікацією. Параметри обробки можуть змінювати амінокислотний та фракційний склад білків, викликати денатурацію, агрегацію або взаємодію з іншими компонентами (ліпідами, вуглеводами).

Найбільш поширеними методами регулювання функціональних властивостей є фізико-хімічні і ферментативні. До фізико-хімічних методів відносять переведення білків перед сушінням у розчин кислот, лугів, основ – з метою зміни заряду або йонного складу, теплову денатурацію і т.і. При цьому покращуються функціональні властивості білків: збільшується розчинність, гелеутворююча, жироемульгуюча здатність, здатність до текстурування і прядіння.

Функціональні властивості білків покращуються і за рахунок їх обробки речовинами ліпідної (лецитин, стеароїл-2-лактилат натрію або кальцію, моно- і діацилгліцерини), вуглеводної (пектини, альгінати, карагінани, камеді) або йонної природи (полівалентні метали).

Реакційні групи білків взаємодіють із різними типами сполук з утворенням при цьому композитних формул. Ці сполуки посилюють процеси поглинання води, емульгування жиру, гелеутворення, структурування і тим самим покращують якість готових виробів.

Добре вивчені взаємодії білків із зарядженими полісахаридами, які призводять до отримання нерозчинних електростатичних комплексів. При цьому спостерігається фазове розшарування системи. Регулювання функціональних властивостей білків у складі суспензії досягається додаванням в склад харчових дисперсійних систем, наприклад м'ясних фаршів, аніонних полісахаридів (пектати, альгінати,

карбоксиметилцелюлоза) або їх застосуванням на стадії осадження білка із розчинів. Комплексоутворення білків з полісахаридами ефективно і для вибіркового фракціонування білкових компонентів за рахунок сорбції їх як за однойменних, так і різнойменних зарядів з молекулами йонів.

Комплекси білок-аніонний полісахарид мають велике набування, добру водоутримуючу здатність і вищі поверхнево-активні властивості. За присутності, наприклад, пектину і карагінану емульсійна ємність та стабільність жирової емульсії з казеїнатом натрію підвищується. Утворення комплексу білок-аніонний полісахарид (КМЦ, гуміарабік та ін.) з казеїном, глобулінами сої забезпечує отримання більш стабільних пін за вищої масової частки білка в них.

Під час утворення комплексів білка з аніонними полісахаридами велику роль відіграють взаємодії позитивно заряджених груп білка з негативно зарядженими групами полісахаридів, а також утворення гідрофобних взаємодій та водневих зв'язків між комплексоутворювачами. У процесі формування таких комплексів іноді змінюється вторинна структура білка.

Ферментативна модифікація функціональних властивостей білків здійснюються з використання ферментів (табл. 7.1) рослинного, мікробного та тваринного походження. Перевагою таких методів є м'які режими виділення білків, збереження біологічної цінності і можливість регулювання глибини тієї чи іншої реакції. До недоліків методів відноситься обмеження процесів модифікації через високий рівень специфічності ферментів.

Із ферментативних методів модифікації найбільше поширення отримав метод обмеженого ферментативного протеолізу. Цей метод використовують для заміни яєчного альбуміну, що дозволяє отримувати піноутворюючі модифікаційні білки: гідролізати ізоляту та гідролізати борошна.

Під час обмеженого протеолізу, наприклад, легуміну кормових бобів під впливом трипсину – ферменту травного тракту – розщеплюються пептидні зв'язки тільки α -ланцюгів, тоді як β -ланцюги залишаються не

руйнуються. І тільки в ході подальшого глибокого протеолізу β -ланцюги 11S білка розщеплюються на пептиди.

Таблиця 7.1

Методи ферментативної модифікації білків [К.Швенке, 2000]

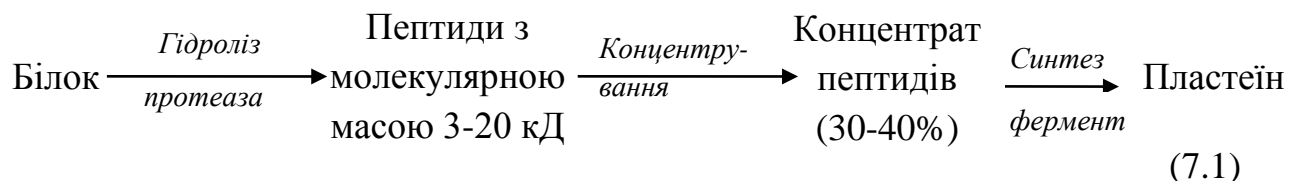
Реакція	Фермент	Реагуючі функціональні групи	Структурні ефекти
Протеоліз	Протеїнази	Специфічне розщеплення пептидних зв'язків	Зменшення молекулярної маси, гідрофілізація
Пластеїнова реакція	Протеїнази	Пептидні зв'язки, $-\text{NH}_2$ і $-\text{COOH}$	Транспептидація після ферментативного розщеплення
Глікозилювання	Трансглютаміназа	$-\text{Glu}-\text{CO}-\text{NH}_2$	Гідрофілізація
Фосфорилування	Протеїнкінази	$-\text{OH}$	Гідрофілізація
Дезамінування	Пептидоглютамінази, трансглютамінази	$-\text{Glu}-\text{CO}-\text{NH}_2$	Гідрофілізація
Зшивання	Трансглютамінази, пероксидаза, поліфенолоксидаза	$-\text{Glu}-\text{CO}-\text{NH}_2$ Tyr Tyr	Стабілізація структури

Гідролітичний розпад гідрофільних α -ланцюгів призводить до зниження молекулярною маси з 340 до 240 кДа та до зростання ступеня гідрофобності леґуміну Т. Молекули білка стають більш компактними, сферичними і з високою термодинамічною стабільністю (Браудо Е.Е., 1997). При цьому поліпшуються емульгуючі та піноутворюючі властивості білків.

Аналогічний взаємозв'язок між особливостями структури 11S глобулінів, які піддаються обмеженому протеолізу, та функціональними властивостями виявлений для гороху сої. Відрізняється тільки молекулярна маса леґуміну Т – 230-260 кДа.

Певний інтерес представляють реакції ферментативного синтезу білків із пептидів (пластеїновий синтез), які цілеспрямовано застосовують для введення до складу білків незамінних амінокислот або їх похідних (естерів) з

метою покращення розчинності, поверхнево-активних властивостей та біологічної цінності:



Важливі хімічні методи модифікації функціональних властивостей наведені в табл. 7.2.

Таблиця 7.2

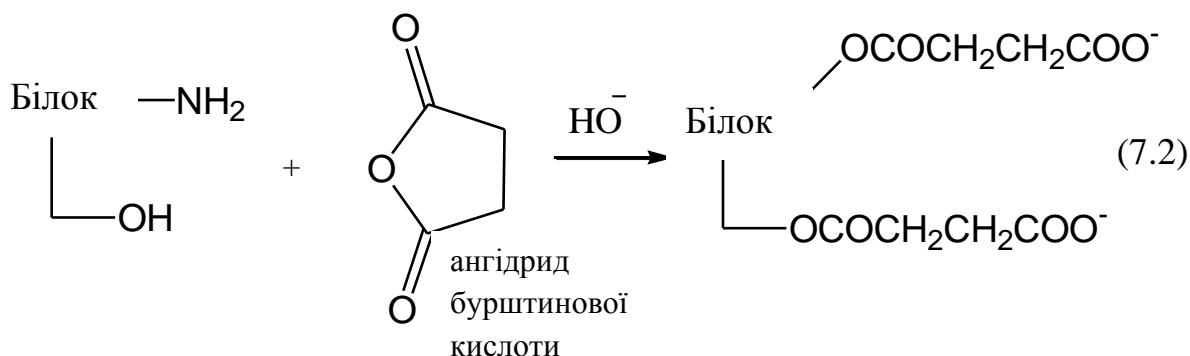
Методи хімічної модифікації білків [К.Д.Швенке,2000]

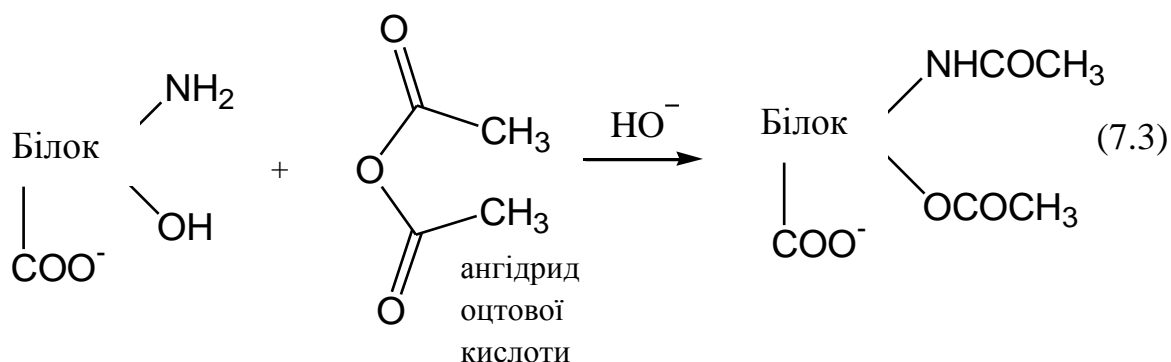
Реакція	Реагуючі функціональні групи	Структурні ефекти
Ацетилювання	-NH ₂ , -OH, Tyr-OH, -SH	Гідрофобізація, зміна конформації за високих ступенів модифікації
Сукцинілювання	-NH ₂ , -OH, (Tyr-OH, -SH)*	Гідрофобізація, зміна конформації за високих ступенів модифікації
Глікозилування	-NH ₂	Гідрофілізація
Фосфорилування	-OH, -NH ₂ , Tyr-OH, (-COOH)*	Гідрофілізація, зшивання, гідрофобізація як результат зміни конформації
Дезамінування	-CONH ₂	Гідрофілізація, гідрофобізація як результат зміни конформації
Естерифікація	-COOH	Гідрофобізація

* Продукти реакції нестабільні

Із цих методів широко відомі дезамінування (видалення амідних груп глютаміну і аспарагіну), ацилювання аміногруп бурштиновим (сукцинілювання) або оцтовим (ацетилювання) ангідридами та фосфорилування.

Сукцинілювання та ацетилювання протікають за схемами:





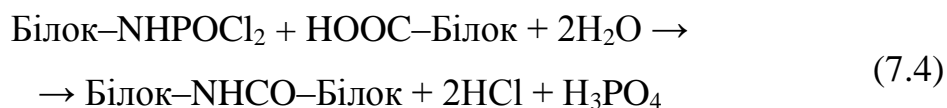
Даний вид хімічної модифікації призводить до підвищення сумарного негативного заряду молекули за рахунок ковалентного приєднання залишків бурштинової та оцтової кислот до ϵ -груп залишків лізину. Ступінь ацилювання зростає за рахунок гідроксильних груп серину, треоніну і тирозину.

Електростатичне відштовхування однойменно заряджених груп призводить до структурних змін у білках і навіть розпаду 11S білків на субодиниці та розкручуванню їх глобулярної структури. Подібні структурні зміни характерні для 11S глобулінів насіння арахісу, ріпаку, соняшника, гороху та кормових бобів.

Завдяки змінам просторової структури і заряду молекул білків посилюються гідрофобні властивості, відповідно, покращуються емульгуючі та гелеутворюючі властивості. Поліпептидні ланцюги формують гелі за менших значень концентрації, рН і температури, ніж нативні білкові глобули. Зі збільшенням ступеня модифікації стійкість гелів зменшується, тому для ацетильованих білків доцільним є середній ступінь модифікації.

Сукцинильовані або ацетильовані легуміни за певного ступеня модифікації утворюють стійкі емульсії «олія в воді».

Фосфорилювання рослинних білків із застосуванням хлороксиду фосфору призводить до покращення розчинності, емульгуючих та піноутворюючих властивостей і здатності до гелеутворення. Стабілізації структури гелю сприяють ковалентні зшивання модифікованих білків:



8. ПЕРЕТВОРЕННЯ БІЛКІВ У ТЕХНОЛОГІЧНОМУ ПОТОЦІ

Нативна тривимірна структура білків підтримується за рахунок різноманітності внутрішньо- і міжмолекулярних сил та попережних зв'язків. Будь-яка зміна умов середовища у технологічних потоках виробництва харчових продуктів впливає на нековалентні зв'язки молекулярної структури і призводить до руйнування четвертинної, вторинної та третинної структури. Руйнування нативної структури супроводжується втратою біологічної активності (ферментативної, гормональної) – *денатурація*. З фізичної точки зору денатурація – розупорядкування конформації поліпептидного ланцюга без зміни первинної структури. Процес денатурації протомеру схематично поданий на рис. 8.1. Денатурація олігомерного білка полягає в дисоціації на протомери, яка супроводжується або не супроводжується змінами їх конформації.

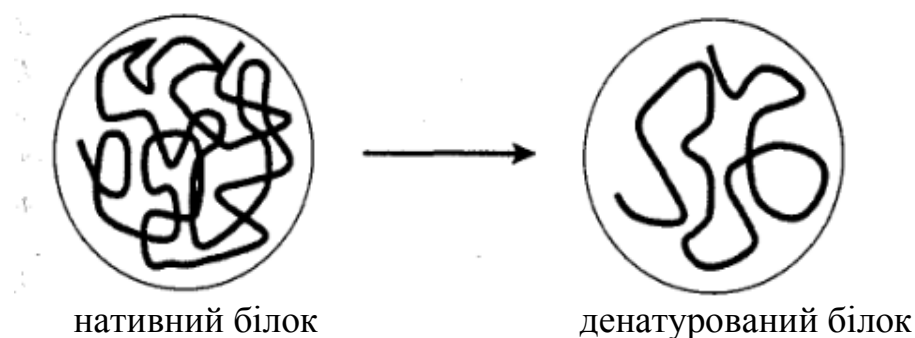


Рис. 8.1. Схема денатурації протомеру

Більшість білків піддаються денатурації в присутності сильних мінеральних кислот або основ, під час нагрівання, охолодження, обробки поверхнево-активними речовинами (додецилсульфатом), сечовиною, гуанідіном, солями важких металів (Ag, Pb, Hg) або органічними розчинниками (етанолом, метанолом, ацетоном). Кислоти, основи, солі, органічні розчинники широко застосовуються під час виділення білків із харчової сировини і готових продуктів у процесі вивчення їх властивостей та структурних особливостей, а також під час екстракції і очистки в технології виділення концентратів та ізолятів. Денатуровані білки менш розчинні у воді, так як їх поліпептидні ланцюги настільки сильно переплетені між собою, що

утрудняється доступ молекул розчинника до радикалів залишків амінокислот. Велика частина білків денатурує за температури 60-80°C, однак зустрічаються термостабільні білки, наприклад α -лактоглобулін молока і α -амілази деяких бактерій. Підвищена стійкість білків до нагрівання часто зумовлена наявністю в їх складі великої кількості дисульфідних зв'язків. Однак ступінь денатуруючої дії температури на білки залежить і від їх вологості, реакції та сольового складу середовища, присутності небілкових сполук. Наприклад, температура денатурації білків сої і соняшника суттєво знижується в присутності кислот жирного ряду, в кислому і вологому середовищі, але підвищується в присутності сахарози та крохмалю.

Фактори, які викликають денатурацію білків, мають особливо важливе значення для регулювання активності ферментів. Будь-які дії, направлені на стабілізацію вторинної і третинної структури, призводять до підвищення активності ферментів, а ті, які руйнують нативну структуру – до їх інактивації.

За температури від 40-60°C до 100°C зі значною швидкістю протікає взаємодія білків з відновлюючими цукрами, яка супроводжується утворенням карбонільних сполук та темнозбарвлених продуктів – меланоїдинів (реакція Майєра). Сутність реакції меланоїдиноутворення полягає у взаємодії групи $-NH_2$ амінокислот з глікозидними гідроксилами цукрів. Цукрозоамінні реакції є причиною не тільки потемніння харчових продуктів, але і зменшення в них сухої речовини та втрат незамінних амінокислот (лізину, треоніну). Меланоїдини знижують біологічну цінність виробів, так як знижується засвоєння амінокислот (цукрозоамінні комплекси не піддаються гідролізу ферментами харчового тракту). До того ж кількість незамінних амінокислот зменшується. Це зменшення відбувається не тільки за рахунок взаємодії їх з відновлюючими цукрами, але і за рахунок взаємодії між собою функціональних груп $-NH_2$ та $-COOH$ самого білка. Реакції протікають з утворенням внутрішніх ангідридів, циклічних амідів та ω - ϵ ізопептидних ланцюгів. Механізм утворення зв'язків за участі

глутамінової кислоти і її аміду показаний на рис.18. Ізопептиди виявлені в кератині, молочних білках та білках м'яса.

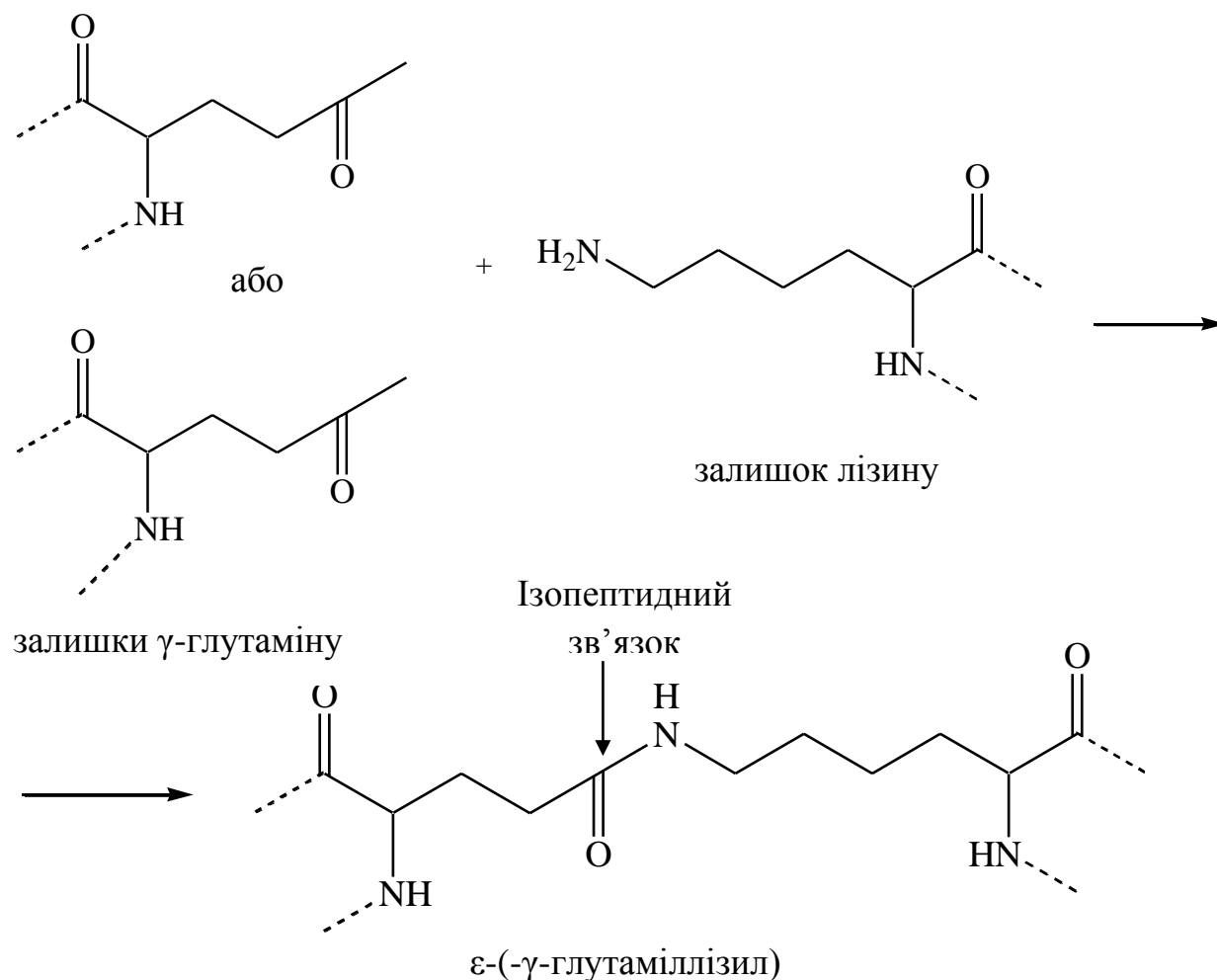
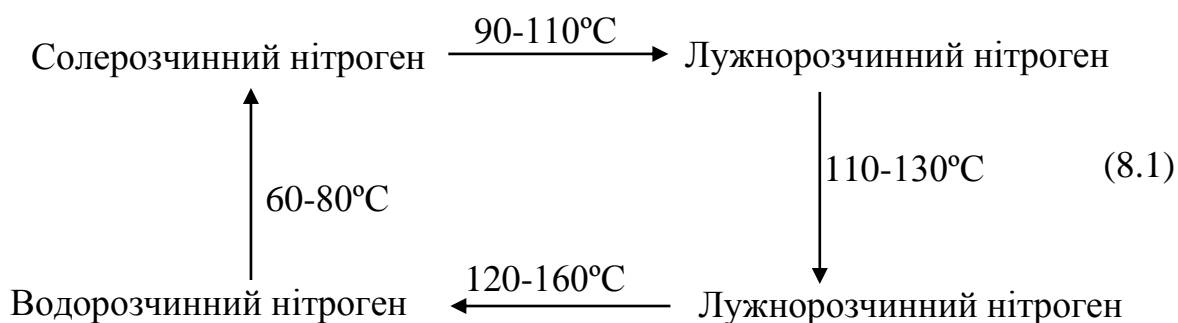


Рис. 8.2. Механізм утворення ізопептидних зв'язків

Теплова денатурація білків є одним з основних фізико-хімічних процесів, які лежать в основі випікання хліба, печива, бісквітів, тістечок, сухарів, сушіння макаронних виробів, отримання екструдатів та сухих сніданків, варіння, смаження овочів, риби, м'яса, консервування, пастеризації та стерилізації молока. Даний вид перетворення відноситься до корисних, так як прискорює перетравлювання білків в шлунково-кишковому тракті людини (полегшуючи доступ до них протеолітичних ферментів) і зумовлює споживчі властивості харчових продуктів (текстуру, зовнішній вигляд, органолептичні властивості). В зв'язку з тим, що ступінь денатурації білків може бути різним (від незначного до повної зміни розташування поліпептидних ланцюгів з утворенням нових ковалентних $-S-S-$ зв'язків), то і засвоєння полімерів

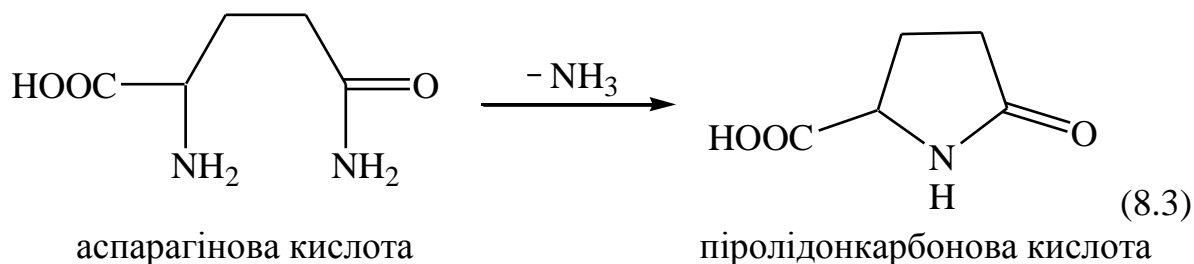
може не тільки покращуватись, але і погіршуватись. Паралельно можуть змінюватись фізико-хімічні властивості білків. Для насіння бавовнику, яке піддане волого-тепловій обробці, зафіксований, наприклад, перехід розчиненого нітрогену із одної форми в іншу:

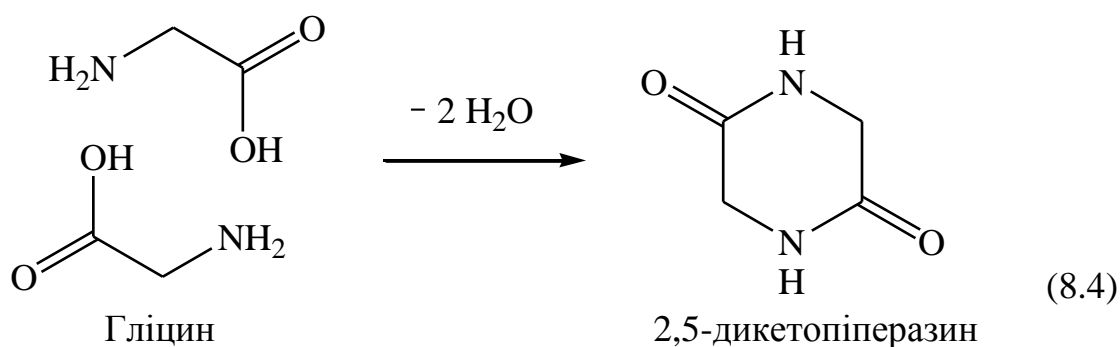


Термічна обробка білоквмісної їжі за температури 100-120°C призводить не до денатурації, а до руйнування (деструкції) макромолекул білка з відщепленням функціональних груп, розщепленням пептидних зв'язків та утворенням гідроген сульфїду, амонїаку, карбон(IV) оксиду та ряду складніших сполук небілкової природи. Так, стерилізація молочних, м'ясних і рибних продуктів за температури вище 115°C викликає руйнування цистеїнових залишків з відщепленням гідроген сульфїду, диметилсульфїду та цистеїнової кислоти:



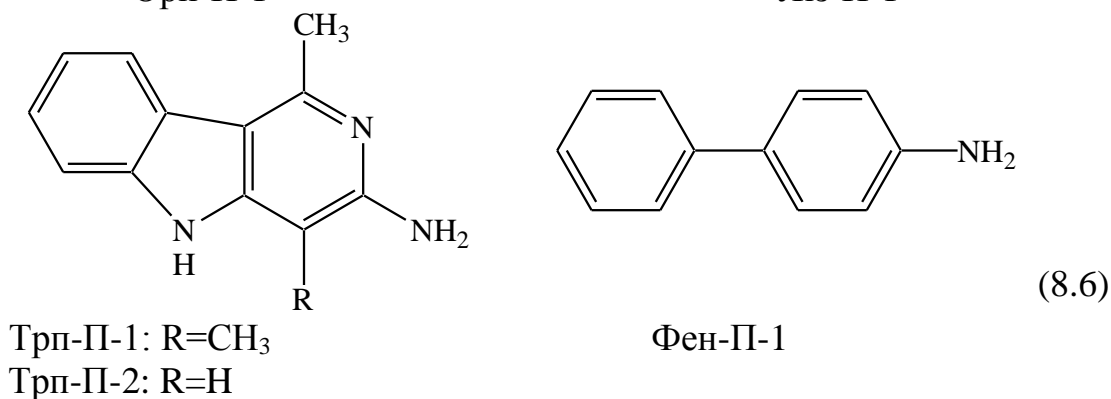
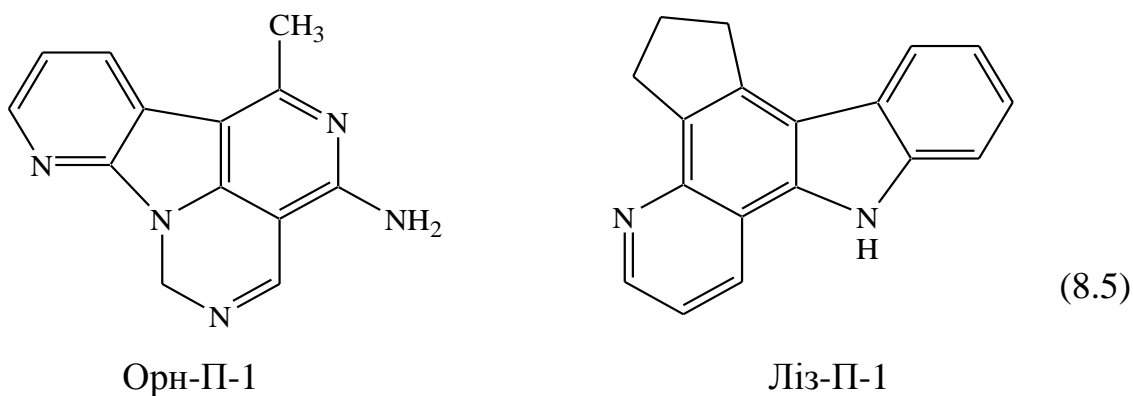
Реакції дезамінування аспарагінової та глютамінової амінокислот і дегідратації гліцину можуть бути причиною утворення нових ковалентних зв'язків в білках, так як утворюється піролідонкарбонова кислота і 2,5-дикетопіперазин (дикетопіперазину багато в обсмажених бобах какао):

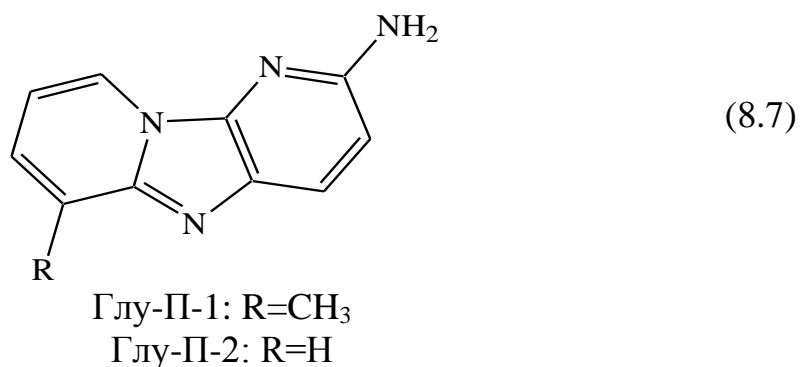




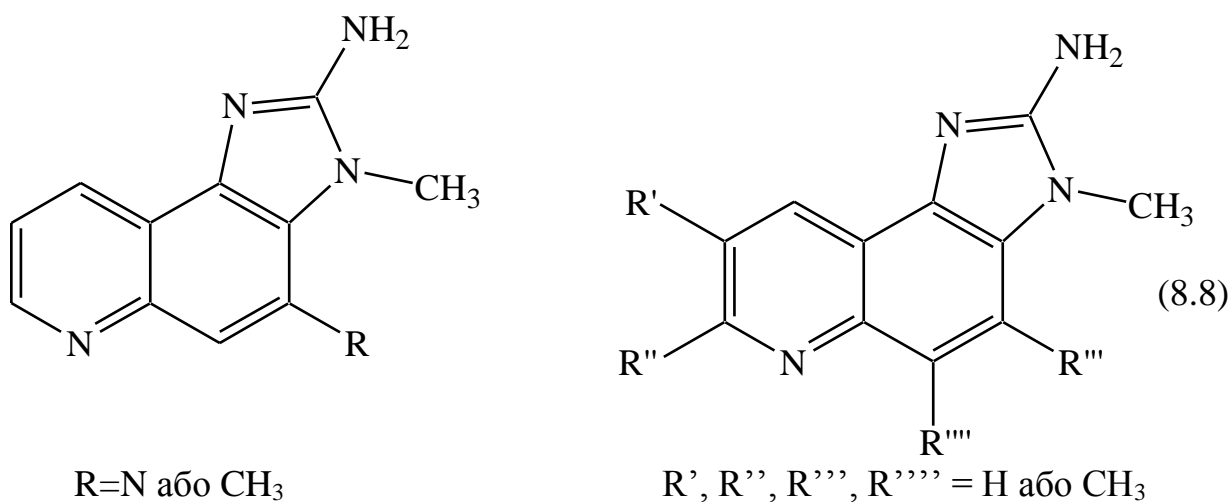
Серед продуктів термічного розпаду білків зустрічаються сполуки з мутагенними властивостями. Термічно-індуковані мутагени утворюються в білковій їжі в процесі її обсмажування в олії, випікання, копчення в диму та сушіння. Мутагени містяться в бульйонах, смаженій яловичині, свинині, домашній птиці, смажених яйцях, копченій та в'яленій рибі. Деякі із них викликають спадкові зміни в ДНК; їх дія на здоров'я людини може бути від незначної до летальної.

В екстрактах, виділених зі смаженої риби і м'яса, ще в 70-х рр. знайдені продукти піролізу амінокислот, які утворюються переважно за температури 500-600°C. Продукти ідентифіковані як Трп-П-1 і Трп-П-2 із триптофану, Фен-П-1 із фенілаланіну, Глу-П-1 і Глу-П-2 із глютамінової кислоти, Ліз-П-1 із лізину, Орн-П-1 із ортиніну:





Інша група мутагенних сполук в білковій їжі виявлена у 80-х рр. в помірно нагрітому м'ясі (нижче 200°C) та харчових бульйонах:

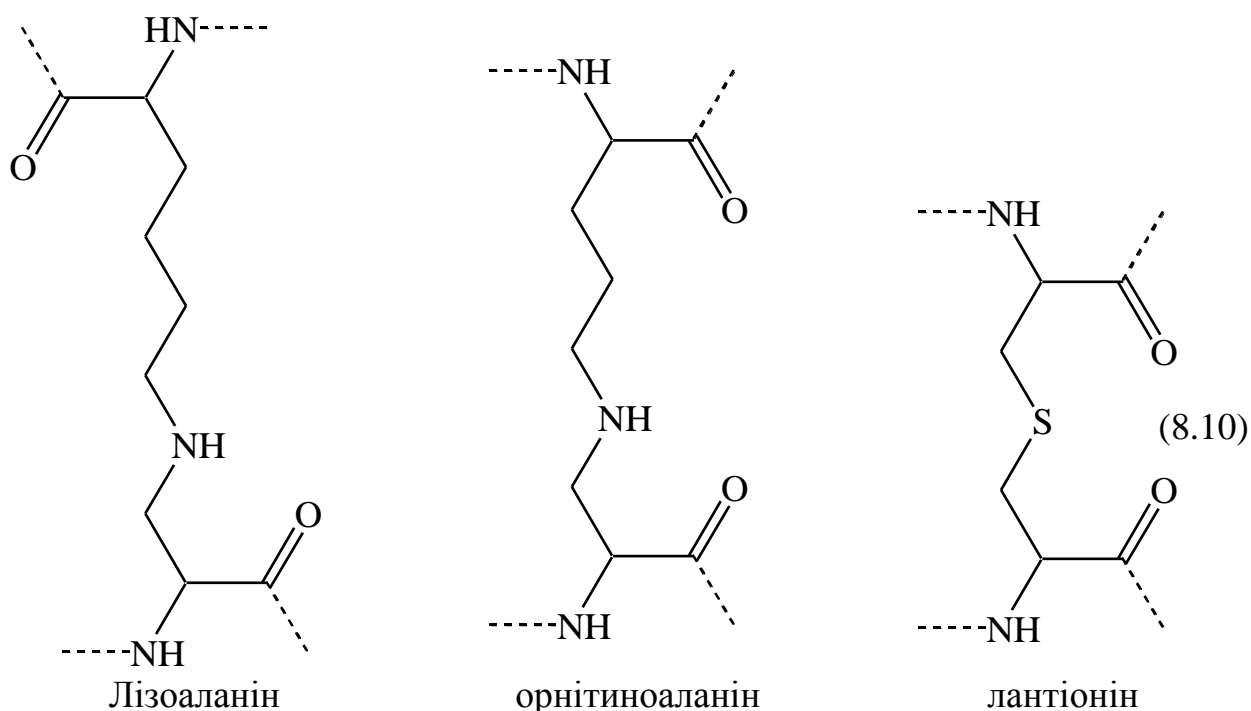


Токсичні властивості білків у процесі термічної обробки вище 200°C або за нижчих температур, але в лужному середовищі, можуть зумовлюватися не тільки процесами деструкції, але й реакціями ізомеризації залишків амінокислот із L- в D-форму. Присутність D-ізомерів знижує засвоювання білків. Наприклад, термообробка казеїну молока за температури близько 200°C знижує біологічну цінність продукту на 50%.

У сильно лужному середовищі, особливо за високих температур, деякі залишки амінокислот зазнають ряду специфічних перетворень. Так, аргінін перетворюється в орнітин, цитрулін, сечовину та амоніак, а цистеїн – в дегідроаланін з виділенням гідроген сульфід:



Реакційноздатний дегідроаланін конденсується із залишками лізину, орнітину та цистеїну бокових ланцюгів і утворює міжмолекулярні поперечні зв'язки в білках:

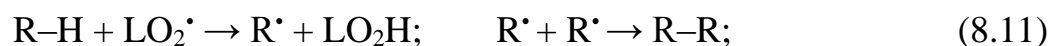


У реакцію конденсації можуть вступати залишки аргініну, гістидину, треоніну, серину, тирозину і триптофану. Харчова цінність білків з новими поперечними зв'язками нижча, ніж білків з нативною структурою, тому утворення їх в технологічних процесах виробництва харчових продуктів небажане. До того ж в дослідях на мишах показано, що утворення, наприклад, лізоаланіну стимулює нефрокальциноз, діарею та облісіння.

Обробка сировини розчинами лугів широко використовується під час отримання ізолятів та концентратів білків. Чим нижчі значення рН, температура і час обробки, тим вищий вміст незамінних амінокислот в білку. Наприклад, при підвищенні рН розчину з 8,5 до 12,5 у процесі екстракції білка із пшеничних висівок кількість лізину в ньому зменшується на 40%, треоніну – на 26%, а валіну – на 24%. М'які температурні режими запобігають утворенню в великих кількостях небажаних амінокислотних фрагментів. На сьогодні обговорюється питання про введення гранично

допустимих концентрацій лізіноаланіну (наприклад, 300 мг на 1 кг) з метою забезпечення безпеки білоквмісної їжі.

Несприятливі погодні умови під час дозрівання зерна, ураження його шкідниками та мікрофлорою, знижена або підвищена температура під час зберігання і переробки сировини та напівфабрикатів, механічні, фізичні і хімічні фактори (перемішування, гомогенізація, замішування, інфрачервоне випромінювання, ультразвук, дія солей, карбон(IV) оксиду, азоту і етилену) посилюють структурні перебудови білків, які можуть руйнувати природні білково-ліпідні взаємодії. Вивільнені ліпіди, зазнаючи окисного псування, здатні ініціювати утворення ковалентних між- і внутрішньомолекулярних зв'язків у білках та нових полімерах:



Залишки тирозину в присутності гідропероксидів (LO_2H) можуть перетворюватись в сульфоксиди та сульфони, залишки цистеїну – в сульфінові, сульфонові кислоти, а залишки триптофану – в гідроксі- β -індолілаланін і N-формілкінуренін. Всі реакції окиснення пов'язані з втратою незамінних амінокислот. Окисне псування білків особливо небезпечне у процесі переробки олійної та жирової сировини. Гальмування реакції можна досягти додаванням антиоксидантів, ферментних препаратів або підвищенням активності власних ферментів сировини з метою виведення ліпідів із взаємодії з білками.

Використання нових та традиційних технологічних процесів без глибокого вивчення впливу їх на молекулярні основи структури білків, з одного боку, небезпечне для здоров'я людей, а з іншого – неефективне з точки зору забезпечення якості харчових продуктів. Як приклад можна навести науково обґрунтоване застосуванням аскорбінової кислоти для поліпшення якості хліба.

За сучасними уявленнями, аскорбінова кислота, окиснюючись киснем повітря в дегідроаскорбінову кислоту, окиснює глутатіон (G-SH),

перетворюючи його в окиснену форму (Г–S–S–Г). Завдяки цьому глутатіон не бере участі в сульфгідрильно-дисульфідних взаємодіях з білками клейковини під час утворення тіста. Сульфгідрильні групи пшеничного білка взаємодіють одна з одною з утворенням дисульфіднозв'язаних бокових ланцюгів, що покращує якість виробів.

Разом з окисними в технологічних процесах, які передбачають механічні або фізичні впливи на білкові речовини сировини (замішування, гомогенізація, ультразвук), протікають й інші перетворення, характер яких залежить від природи, ступеня і способу цих впливів. На початкових стадіях замішування хлібного тіста та під час подрібнення насіння зерна спостерігається теплова агрегація білків, у процесі посиленої механічної обробки тіста можлива їх деструкція з розривом дисульфідних і навіть пептидних зв'язків.

Агрегуюча та комплексоутворююча здатність білків пшениці є одним із важливих показників, які забезпечують їм провідну роль у формуванні клейковини в процесі її відмивання із борошна і замішування тіста. Параметри агрегації визначають за методом японських дослідників (Т. Arakawa, D. Yonezawa, 1975). Для цього змішують розчини клейковини білків в 0,01 Н оцтовій кислоті і 0,2М натрій-фосфатного буферного розчину (рН 5,6), який містить 2 М NaCl. Вимірюють оптичну густину розчину ($\lambda=350$ нм) під час агрегації процесу і розраховують коефіцієнт початкового етапу агрегації (К) та показник агрегації (t_{10}/c), який характеризує ступінь помутніння розчину протягом 10 хвилин.

Константу початкової швидкості агрегації розраховують за рівнянням:

$$K = \frac{r}{c^4} \quad \text{і} \quad \tau^3 = 3^t + \tau_0^3 \quad (8.13)$$

де τ – оптична густина розчину при $\lambda=350$ нм;

r – стала, яка відображає зміни τ^3 в перші 1-1,5 хв. агрегації;

t – час агрегації;

τ_0 – оптична густина за $t = 0^\circ\text{C}$;

c – концентрація білка, %.

Параметри агрегації білків «сильних» пшениць, які характеризуються «щільнішим» просторовим упакуванням структури, вищі в порівнянні зі слабкими, які мають більш «рихлу» організацію молекул (рис. 8.3). Процес утворення білкових агрегатів у ході технологічного процесу приготування виробів із борошна інтенсивніший у міцної клейковини, ніж у слабкої.

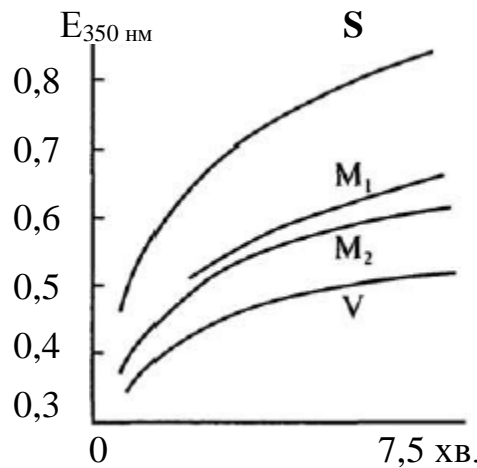


Рис. 8.3. Крива помутніння розчину з клейковиною із борошна різної якості (Т.Аракawa, D. Yonezawa, 1975):

S – сильне борошно; M₁ і M₂ – середнє; W – слабке.

Константи агрегації оцтоворозчинних білків, екстрагованих із попередньо відмитої клейковини nf тіста, вищі, ніж білків, виділених із борошна [В.Колпакова, Е.Молчанова, 1991]. Отже, під час гідратації білків у ході технологічного процесу і, зокрема, у процесі замішування тіста або відмивання клейковини водою відбуваються внутрішньо- і (або) міжмолекулярні перетворення, пов'язані зі змінами структури молекул, які призводять до зниження їх агрегуючих властивостей.

Найвищі показники агрегації спостерігаються для α - і γ -компонентів гліадину, найменші – ω -компонентів. Здатність до агрегації зростає по мірі збільшення рухливості поліпептидів та зменшення їх молекулярної маси. Дуже високою здатністю утворювати надмолекулярні асоціати характеризуються рухливі α -гліадини з молекулярною масою 31000.

Агрегуюча здатність білків взаємопов'язана із особливостями амінокислотного складу. Так, сумарний гліадин з підвищеною агрегуючою здатністю містить менше заряджених груп, а ω -гліадини з низьким ступенем агрегації, які багаті на пролін, фенілаланін, аміногрупи та полярні амінокислотні залишки. Це визначає їх високу здатність до взаємодії з іншими компонентами борошна і, перш за все з ліпідами та ліпідоподібними сполуками (дигалактозилдигліцерид). Комплексоутворення цих сполук з ω -гліадинами за рахунок водневих зв'язків зумовлює газоутримуючу здатність тіста та об'єм хліба. Структура комплексів білки-ліпіди подібна до структури білок-ліпідних мембран.

У процесі агрегації та взаємодії молекул клейковинних частинок з іншими компонентами борошна в технологічних процесах виробництва хліба, макаронних виробів, печива, беруть участь водневі зв'язки, гідрофобні, йонно-електростатичні та дисульфідні зв'язки.

Здатність білків до формування високо агрегованих і надмолекулярних угруповань залежить від рН, йонної сили та складу середовища (присутність денатурованих, солубізуючих, відновлюючих агрегатів).

З підвищенням рН від 4,0 до 9,1 агрегація білків злакових культур (пшениці, жита, ячменю) підвищується. Чим більша концентрація нейтральних солей, тим вища агрегуюча здатність білків. Звідси, певні дозування кухонної солі здатні регулювати утворення або руйнування макромолекул клейковинного білка в стані просторово організованої структури пшеничного тіста під час виробництва, наприклад, хліба.

На агрегатний стан запасних білків впливають детергенти (ПАР) різної природи: аніонні, катіонні, нейтральні. В присутності аніонного детергенту в кислому середовищі (молекули мають позитивний заряд) агрегація білка максимальна. Посилення або послаблення агрегації під дією катіонних або нейтральних детергентів неоднозначне і залежить від рН середовища та їх концентрації.

В цілому ж, агрегуюча здатність запасних білків різних зернових культур у ході технологічного процесу може бути подана у вигляді інтегральної суми багатьох взаємодій, які сприяють або перешкоджають утворенню надмолекулярних структур:

$$\sum SA = \Delta A_{\text{И}} + \Delta A_{\text{Г}} + \Delta A_{\text{В}} + \Delta A_{\text{Н}} + \Delta A_{\alpha} + \Delta A_{\text{Д}} + \dots, (8.14)$$

де $\Delta A_{\text{н}}$ – агрегація білка за рахунок йонно-електростатичних сил;

$\Delta A_{\text{Г}}$ – гідрофобних взаємодій;

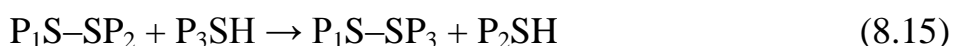
$\Delta A_{\text{В}}$ – водневих зв'язків;

$\Delta A_{\text{н}}$ – набухання (гідратації); ΔA_{α} – зміна регулярних структур;

$\Delta A_{\text{Д}}$ – вміст дисульфідних зв'язків.

Ступінь участі того чи іншого фактору в зміні агрегативного стану білків та реологічних властивостей тіста і якості хліба, залежать від вихідних фізико-хімічних властивостей і структурних особливостей білків борошна, технологічних факторів процесу (температура, ступінь механічної дії, рН середовища тощо), хімічної природи та кількості додаткової сировини, покращувачів і харчових добавок.

Велике значення для зміни властивостей та агрегативного стану білків у ході технологічного процесу приготування тіста має дисульфідно-сульфгідрильний обмін:



Лабільність дисульфідних зв'язків забезпечує утворення нових стійких міжмолекулярних зв'язків та релаксацію (послаблення) напруги структур клейковини під час замішування тіста.

Сильне борошно, яке містить міцну клейковину, потребує великого часу замішування, так як воно містить більше дисульфідних зв'язків і менше SH-груп, ніж слабке.

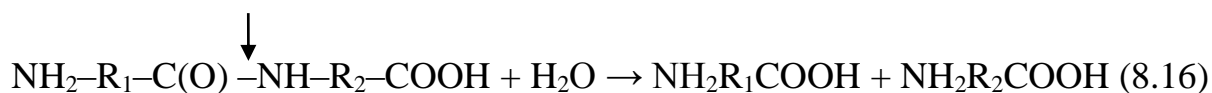
В процесі дозрівання борошна під час його зберігання, а також під впливом окисників (броматів), покращення реологічних властивостей клейковини пояснюється збільшенням вмісту S-S-зв'язків і зменшенням,

відповідно, SH–груп. В присутності відновників (натрій сульфід) реологічні властивості клейковини погіршуються, так як це відбувається в проростаючому зерні або в процесі приготування тіста із зерна, ураженого клопом-черепашкою. В усіх випадках показники якості та реологічні характеристики тіста взаємопов'язані зі змінами у співвідношенні S–S-зв'язків та SH–груп в білках.

Процеси утворення або розпаду S–S-зв'язків в дозріваючому та проростаючому зерні пшениці протікають за участі специфічних ферментів тіол-дисульфідного обміну: тіол-киснередуктаза (КФ 1.8.3.2) і тіол-протеїндисульфідредуктаза (КФ 1.8.4.2). Направлене регулювання активності даних ферментів у процесі приготування тіста є дієвим прийомом поліпшення технологічних властивостей борошна з метою забезпечення належної якості хліба [Т.Горпінченко, 1995].

У результаті дії протеолітичних ферментів у технологічному потоці виробництва харчових продуктів білкові речовини також зазнають ряд суттєвих змін. Так, на стадії солодоросту під час виробництва пива в ендоспермі ячменю спостерігається гідроліз глобуліну (едестин), альбуміну (лейкозин), проламіну (гордеїн) та глютеліну з накопиченням азотистих сполук з нижчою молекулярною масою (пептиди, амінокислоти). В результаті в зерні накопичується розчинна, коагулююча та амінна форми нітрогену, тоді як в зародковому листку і паростках зерна, навпаки, збільшується кількість білкового нітрогену за рахунок процесів синтезу.

Високомолекулярні фракції білків під час проростання зерна розщеплюються під дією ферментів ендопептидаз за схемою:



та екзопептидаз (дипептидаз і поліпептидаз). Поліпептидази містять амінопептидази (α -аміноацилпептидгідролази, 3.4.1), для дії яких необхідні вільні аміногрупи (-NH_2), та карбоксипептидази (пептидиламінокислотні

гідролази, 3.4.2), які потребують для гідролізу вільні карбоксильні групи ($-\text{COOH}$).

Технологічні режими пророщування зерна передбачають оптимальні умови (рН, температура) дії гідролітичних ферментів для забезпечення накопичення низькомолекулярних азотистих сполук для харчування дріжджів сусла.

У традиційній технології виробництва хліба та кондитерських виробів із борошна нормальної якості під час замішування тіста не протікають глибокі реакції гідролізу білків, що свідчать про зміни їх первинної структури, тоді як слабкі процеси пептизації низькомолекулярних азотистих сполук, які є продуктами незавершеного синтезу в зерні, можуть відбуватися. Зміна структури білків у процесі приготування тіста обмежується, як правило, дезагрегацією, агрегацією молекул та зміною її вищих рівнів організацій (вторинна, третинна, четвертинна структури).

9. ЯКІСНЕ ТА КІЛЬКІСНЕ ВИЗНАЧЕННЯ БІЛКА

Наявність білків у харчових об'єктах встановлюється за допомогою якісних реакцій, які умовно поділяють на дві групи:

- а) кольорові реакції;
- б) реакції осадження.

Серед першої групи розрізняють універсальні реакції (біуретова на пептидні зв'язки і нінгідринова на α -амінокислоти) та специфічні, зумовлені присутністю в білках залишків певних амінокислот. Так, ксантопротеїнова реакція свідчить про наявність в білках залишків ароматичних амінокислот, Адамкевича і Вуазене – триптофану, нітропрусидна – цистеїну, реакція Сакагучі – аргініну. За результатами специфічних реакцій приблизно можна судити про харчову цінність білків.

У другій групі реакцій білки осаджують під дією солей, органічних розчинників, концентрованих кислот, лугів, йонів важких металів, температури та в ізоелектричній точці. Білки в розчиненому стані нестійкі, тому під час додавання органічних розчинників (спирт, ацетон), концентрованих розчинів нейтральних солей лужних металів та дії фізичних факторів (нагрівання, опромінення, ультразвук) гідратна оболонка руйнується і білки випадають в осад.

Так як білкові речовини сировини (борошна, круп, молока, м'яса), включаючи і ферменти, часто є визначальними в забезпеченні якості харчових виробів, то для вивчення фізико-хімічних, біохімічних і фізіологічних властивостей цих сполук обов'язковою умовою є отримання білків в індивідуальному і, за можливістю, неденатурованому стані. Білки під впливом різних факторів піддаються денатурації і втрачають природні (нативні) властивості (розчинність, гідратацію, ферментативну активність тощо). Типовим прикладом необоротної денатурації білків є випадання їх в осад під дією трихлорооцтової кислоти. Тривалий контакт зі спиртом також призводить до необоротної денатурації білка. Денатуруючу дію різних

факторів на білки можна пом'якшити, якщо проводити операції їх виділення за температури не вище +4°C.

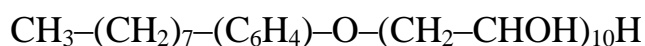
Методи виділення і очистки білків. Загальна схема операцій з виділення білків зводиться до подрібнення біологічного матеріалу (гомогенізації), екстрагування та власне виділення, тобто очистки і отримання білка в індивідуальному стані. Під час вивченні метаболічних процесів у живих організмах (в зрілому зерні, фруктах, овочах) морфологічна та біохімічна цілісність клітин і тканин зберігається в максимальному ступені, тоді як у процесі дослідження складу сировини і готових харчових продуктів втрата цілісності структури несуттєва. Гомогенізацію об'єктів слід розглядати як початкову стадію виділення білків, але її спосіб визначається постановкою задачі. Наприклад, аналіз ферментів із рослинних матеріалів часто затрудняється тим, що під час гомогенізації екстрагується велика кількість фенолів, які взаємодіють з карбонільними групами пептидних груп за допомогою водневих зв'язків і викликають денатурацію білка та втрату ферментами своєї активності. Додавання в екстракт полівінілпіролідону, який утворює з фенолами нерозчинні комплекси, запобігає інактивації ферментів.

Руйнування клітинної структури здійснюється ретельним подрібненням матеріалу в гомогенізаторах, млинах, поперемінним заморожуванням і відтаюванням, застосуванням ультразвукових високочастотних коливань, прес-методів з використанням високих тисків і методу «азотної бомби». В останньому випадку клітини насичуються азотом під тиском, який потім знижують, і клітини руйнуються. Ефективність гомогенізації залежить не тільки від способу руйнування клітинних структур, але і від виду матеріалу, який аналізують. Тваринні клітини руйнуються відносно легко, особливо за відсутності судинної і сполучної тканини, тоді як рослинні та мікробні – через присутність клітинних стінок – важко. В такому випадку застосовують методи розтирання матеріалу з твердими речовинами (пісок, абразивний порошок) або обробку клітинних стінок лізоцимом чи ферментними

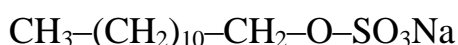
препаратами, які містять целюлозу, хітиназу і ліпазу. Гомогенізацію рекомендується проводити в холодних кімнатах або з використанням льоду.

Екстракція білків може бути поєднана з гомогенізацією клітин і тканин або проведена окремо, якщо продукт заздалегідь подрібнений. Для визначення ферментативної активності білка достатньо одноразової екстракції, тоді як для кількісного визначення білкових фракцій зерна – три- або п'ятикратної. Умови екстрагування білків (час, гідромодуль, температура тощо) підбирають емпірично, ґрунтуючись на методиках провідних наукових шкіл.

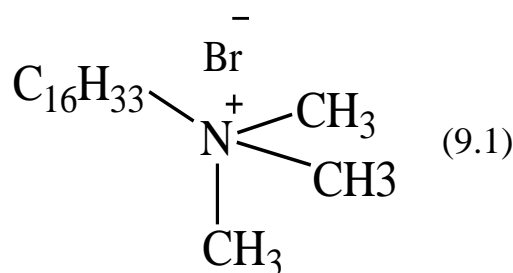
Більшість білків тваринних тканин добре розчинні в 5-10% розчинах солей, тоді як для переведення в розчин білків зернових культур застосовують ширший набір розчинників. Для цього використовують буферні системи із значеннями рН від кислих до слаболужних (фосфатні, боратні, цитратні, трис-НСІ), органічні розчинники та нейонні детергенти, які розривають білок-ліпідні або білок-білкові зв'язки:



тритон X-100



натрій додецилсульфат



цетилтриметиламоній бромід

Розчинники підбираються із врахуванням розриву в білках певних типів зв'язків. Так, етанова кислота послаблює йонні зв'язки, надаючи молекулам однойменні позитивні заряди, сечовина – водневі та гідрофобні, саліцилати натрію і ДДС-Na – гідрофобні і йонні, а водні розчини спиртів – водневі та гідрофобні взаємодії. Органічні розчинники розривають білок-ліпідні зв'язки.

Під час вивчення фізико-хімічних властивостей білків та їх перетворень у харчових системах широко використовують методи фракціонування і очистки від небілкових сполук. Вони основані на

відмінностях таких властивостей білків, як розмір молекул, розчинність, заряд і спорідненість до специфічних хімічних груп.

Осадження білків із розчинів під дією солей лужних і лужноземельних металів називають висолюванням. Для висолювання найчастіше застосовують амоній сульфат, під впливом якого білки, як правило, зберігають розчинність та ферментативну активність. Головну роль під час висолювання відіграє не природа солей, а валентність йонів, дія яких оцінюється за йонною силою (μ):

$$\mu = \frac{1}{2} \sum C V^2, \quad (9.2)$$

де C – концентрація кожного виду йону; V – валентність йонів.

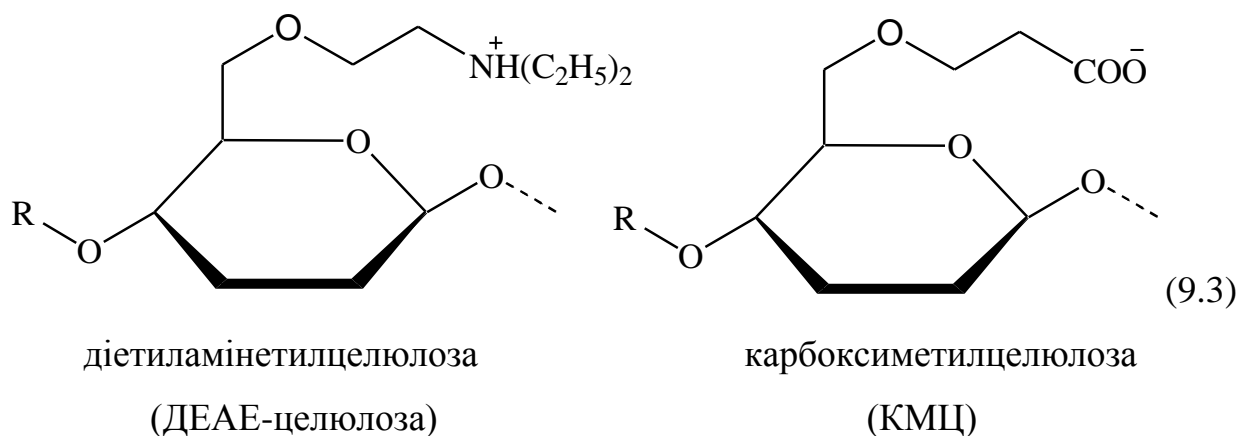
Глобуліни випадають в осад за 50% насичення, альбуміни – за 100% насичення розчинів солей, а під час ступінчастого фракціонуванні (20-100%) випадають білки й інших класів (проламіни, глютеліни).

У практиці виділення та очищення білків використовують різні типи хроматографії: адсорбційна, розподільна, йонообмінна та афінна хроматографія. Адсорбційна хроматографія оснований на відмінностях у полярності білків. В колонці разом з буферним розчином упаковують адсорбент, на який у великому об'ємі розчинника наносять досліджуваний зразок. Компоненти суміші, що розділяється адсорбуються, потім елюються за допомогою буферного розчину, збільшуючи концентрацію або полярність. Фракції білка збирають за допомогою автоматичного колектора фракцій.

У розподільній хроматографії, на відміну від адсорбційної, як нерухома фаза виступає водний шар, який утримується твердою фазою (силікагель, папір). Речовини, що розділяють, багаторазово розподіляються між водним шаром та рухомою фазою розчинника і з різною швидкістю переміщуються по довжині колонки або паперу. Розподільну хроматографію на папері часто використовують для аналізу пептидів та амінокислот. Адсорбентом служать нитки целюлози, а розчинником – суміш розчинників, наприклад: бутиловий спирт – оцтова кислота – вода. Хроматограму проявляють, висушують та

аналізують місце знаходження компонентів, які розділяють тим або іншим способом.

Методом йонообмінної хроматографії білки або амінокислоти розділяють на основі відмінностей у загальному заряді молекул. Якщо білок в нейтральному середовищі (рН 7) має позитивний заряд, то він зв'язується на колонці з йонообмінником, який містить фенольні, сульфо- та карбоксильні групи (катионообмінник), якщо негативний, то – на колонці з йонообмінником, представленим амінами або органічними основами (аніонообмінник). Найчастіше для фракціонування білків використовують похідні полістиролу та целюлози:



Позитивно заряджений білок знімається з колонки за допомогою розчину натрій хлориду або зміною рН елюючого буфера. При цьому йони натрію конкурують з позитивно зарядженими групами білків. Білки з меншим позитивним зарядом вимиваються з колонки першими, з більшим зарядом – останніми.

Афінна хроматографія оснований на принципі вибіркового зв'язування білків зі специфічними речовинами (лігандами), які прикріплені до носія. Ліганд (глюкозу) ковалентно приєднують до носія (проводять іммобілізацію) і наносять на колонку досліджувану білкову суміш. Білки, які не зв'язалися, видаляють відповідним буфером, а потрібний білок елюють розчином, що містить ліганд в дуже високій концентрації. При цьому приєднані до колонки залишки глюкози в молекулі білка заміщаються на глюкозу, яка знаходиться в розчині (рис. 9.1).



Білок, який зв'язує глюкозу

Вивільнений білок

Рис. 9.1. Афінна хроматографія.

Гель-фільтрація, або метод молекулярних сит полягає у пропусканні білків через колонку з гелем сефадексу або інших типів (агарозних, полістирольних). Застосовуються також пористі скляні кульки і пористий кварц (порасил). Найбільше поширення отримали декстринові гелі (сефадекс), який є продуктом поперечного зшивання полісахаридних ланцюгів декстрину. Зерна сефадексів різних номерів містять пори різних розмірів, в які можуть проникати білки з певною молекулярною масою. Низькомолекулярні білки розподіляються в розчиненому вигляді як всередині частинок полімеру, так і між ними, а високомолекулярні – тільки між частинками, тому другі швидше проходять через колонку і першими витікають із неї (рис. 9.2). В результаті білки розподіляються за молекулярною масою і можуть бути зібрані у вигляді окремих хроматографічних фракцій (рис. 9.3).

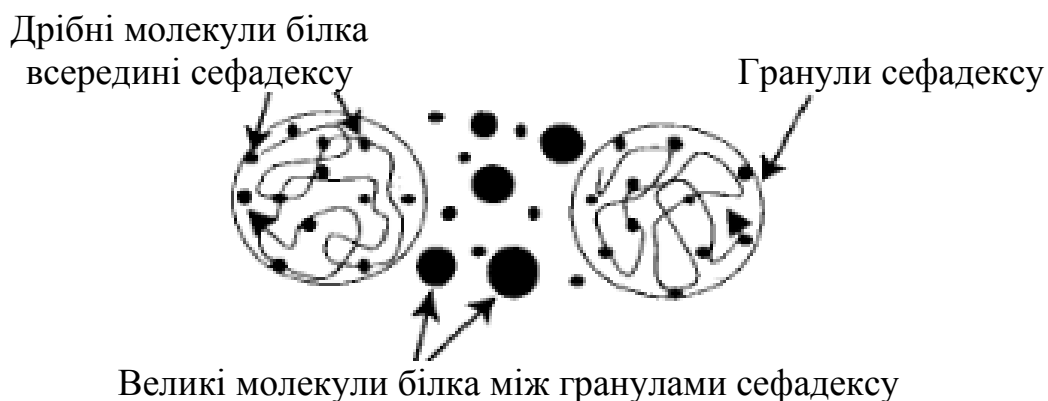


Рис. 9.2. Розподіл молекул білка серед гранул сефадексу.

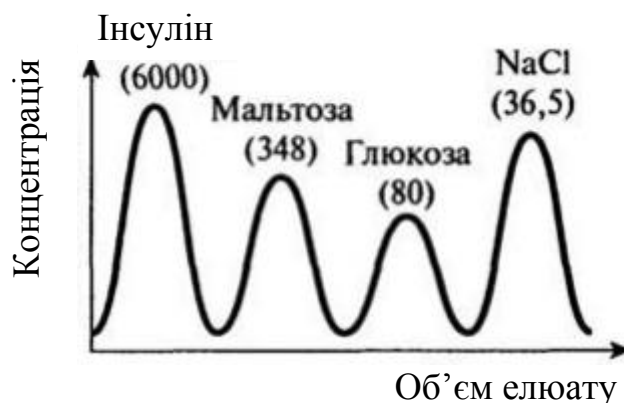


Рис. 9.3. Розподіл суміші речовин, які відрізняються за молекулярними масами методом гель-фільтрації.

Принцип методів електрофоретичного розділення полягає в здатності молекул пептидів та амінокислот, знаходячись в зарядженій формі у вигляді катіонів (+) або аніонів (–), рухатися в електричному полі з певною швидкістю. Крім того, молекули з близькими зарядами, але різними розмірами, відрізняються відношенням заряду до маси. Всі ці відмінності і зумовлюють високу руйнівну здатність електрофоретичних методів. Швидкість міграції білків в електричному полі (V) залежить від напруги електричного поля (ε), заряду білків (z) і опору тертя (f). Опір тертя визначається розмірами, формою білка, значеннями рН і концентрацією буферу. Вказані величини пов'язані між собою співвідношенням:

$$V = \varepsilon \cdot z / f. \quad (9.4)$$

Вперше метод електрофорезу був розроблений Тизеліусом із застосуванням паперу як носія і спеціальних оптичних пристроїв, які регулюють переміщення межі розділу розчину білка і розчинника за показниками заломлення (фронтальний електрофорез). В даний час поширені методи зонального електрофорезу, які передбачають використання крохмальних і поліакриламідних гелів (ПААГ). Найбільш поширеним методом фракціонування білків є диск-електрофорез (від англ. *discontinuous* – переривчастий) в ПААГ, в якому використовується пара буферних розчинів з різними значеннями рН в присутності ДДС-Na та гелі різної пористості (концентруючі і розділяючі) (Laemmli, 1970). Для виявлення білків гелі

обробляють барвниками: амідом чорним 10В, кумасі синім R-250. Інтенсивність забарвлення, а також кількісний вміст білкових фракцій, визначають скануванням на денситометрі.

Для електрофоретичного розділення білків і пептидів успішно застосовують двовимірний електрофорез в ПААГ. За цим методом суміші компонентів розділяють спочатку в стовпчиках гелю електрофорезом у горизонтальному напрямку, потім в гелевих пластинах – у вертикальному (рис. 9.4). Під час розділення білків, наприклад гороху, цим методом вдалося отримати більше 150 різних компонентів.

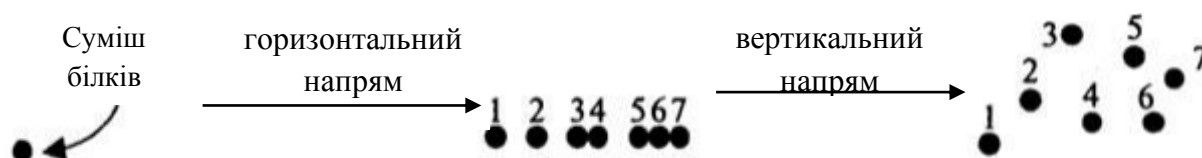


Рис. 9.4. Двовимірний електрофорез.

Дуже високу розрішуючу здатність має метод ізоелектричного фокусування білків, в основі якого лежить фронтальний електрофорез, що проводиться на колонці одночасно в градієнті рН та напруги. Колонку попередньо заповнюють носіями з синтаксичними сумішами поліамінополікарбонових кислот (амфолітами), потім зверху до неї подають розчин сильної кислоти, знизу – сильно лужний розчин для того, щоб встановити градієнт рН з крайніми значеннями, які відповідають рН кислого і лужного розчинів. Амфоліти зупиняють рух по колонці, коли їх сумарний заряд стає рівним нулю, і тим самим стабілізує вихідний градієнт рН. У підготовлену колонку вносять зразок досліджуваної суміші, компоненти якої розподіляються за зонами зі значеннями рН, характерними їх ізоелектричним точкам.

У хімії харчового білка застосовують й інші види електрофоретичного розділення (імуноелектрофорез, ізотахофорез), а також метод пептидних карт та ультрацентрифугування. Метод пептидних карт (відбитків пальців) відносять до методів двовимірного розділення і найбільш часто використовують для аналізу пептидів. Пептиди отримують вибірково

гідролізом білків, потім на папері їх розділяють в горизонтальному напрямі електрофорезом, у вертикальному – розподільною хроматографією. Пептиди зафарбовують нінгідридом, елюють і визначають амінокислотний склад.

У методі ультрафільтрації білки в градієнті густини розподіляються на різних рівнях центрифужної пробірки в процесі седиментації (осадження) в вигляді окремих зон. Для створення градієнта використовують солі тяжких металів і розчини сахарози. Метод широко застосовують для визначення молекулярних мас білків в константі седиментації (S), яка залежить від маси і форми білкових частин:

$$S = v / (w^2 \cdot r), \quad (9.5)$$

де v – швидкість переміщення межі розчинник-білок, см/с;

w – кутова швидкість ротору, рад/с;

r – відстань від центру ротору до середини комірки з розчином білка.

Величина S , яка дорівнює $1 \cdot 10^{-13}$ с, прийнята за одиницю і названа сведбергом (S) на честь Т. Сведберга, який вперше сконструював ультрацентрифугу.

Очищення білків від низькомолекулярних сполук (солей, цукрів, амінокислот) здійснюється методом діалізу, гель-фільтрації на сефадексі G-25, кристалізації, ультрафільтрації і за допомогою порожнистих волокон. Під час діалізу використовують напівпроникні мембрани (целофан, колодійна плівка), через які білки не дифундують та залишаються всередині діалізного мішечка. Дрібніші молекули проходять через пори діалізної мембрани та виходять в діалізат. У методі ультрафільтрації, який застосовують, наприклад, під час виробництва сироваткових білків молока, соєвих білкових ізолятів, по обидві сторони мембрани створюється різниця тиску за рахунок продавлювання білкового розчину, який фільтрують. Як мембрани використовуються целюлозні плівки і нецелюлозні поліелектролітні комплекси. Аналогічно до мембран за принципом молекулярного сита діють і порожністі волокна. Білковий розчин поміщається із зовнішньої сторони

волокон, і створюється різниця тиску за рахунок підвищення його в розчині або зниження в середині них.

Гомогенність білка визначається на останньому етапі виділення та очищення із застосуванням щонайменше двох методів, які оцінюють ту чи іншу фізико-хімічну властивість. Найбільш достовірним є ультрацентрифугування в градієнті густин, диск-електрофорез в ПААГ, імунохімічні методи та розчинність. Якщо білок під час електрофорезу уявляє собою тільки одну полосу і має при цьому максимальну біологічну активність, то він рахується гомогенним. Для гомогенного білка на кривій розчинності (залежності розчиненого білка від його загальної кількості в постійному об'ємі розчинника) є тільки один перегин, тоді як для гетерогенного – стільки, скільки в ньому індивідуальних компонентів.

Вміст білка в харчових об'єктах визначають за кількістю азоту з використанням методу К'ельдаля. З метою спрощення та скорочення тривалості аналізу цей метод з моменту його розробки (1983) неодноразово модифікувався із застосуванням різних каталізаторів та умов мінералізації. На основі модифікованих методів створені високопродуктивні автоматичні аналізатори типу «К'ельфос», вартість визначення вмісту білка на яких і сьогодні залишається високою. Існує деяка умовність в методі К'ельдаля під час розрахунку кількості білка, яка полягає у використанні перевідного коефіцієнта. Проте, не дивлячись на недоліки, метод К'ельдаля є уніфікованим, він включений в ДСТУ на багато харчових продуктів.

Для переведення кількості азоту у вміст білка використовують коефіцієнт 6,25. Прийнятий він тому, що більшість білків містить 16% нітрогену ($100/6,25=16$). Однак більш правильним є використання коефіцієнтів, які відповідають фактичному вмісту сирого білка в кожному його вигляді. Так, для пшениці отримано коефіцієнт 5,7, так як її білки містять 17,5% нітрогену. Для інших білкових ресурсів коефіцієнти переведення: 5,7 – жито, ячмінь, овес, насіння соняшника; 5,8 – соя; 6,25 – кукурудза, м'ясо; 6,38 – молоко.

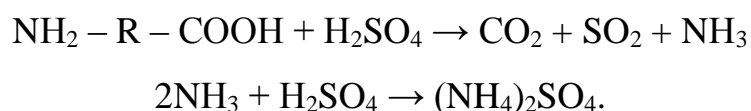
Існують інші методи визначення нітрогену: метод Дюма, нейтронно-активаційний і з фенолятгіпохлоритом на приладі «Технікон». Принцип методу Дюма полягає у розкладі органічних сполук в атмосфері карбон(II) оксиду до газового стану з наступним вимірюванням об'єму азоту (N_2). В нейтронно-активаційному методі атоми нітрогену зразку бомбардуються нейтронами в ядерному реакторі з отриманням ізотопу ^{13}N . Вміст білка розраховують за кількість гама-променів. Визначення нітрогену на приладі «Технікон» здійснюється колориметричним способом, під час якого вимірюють інтенсивність синьо-голубого забарвлення, що утворюється за реакцією взаємодії амоній сульфату (виділяється в процесі мінералізації зразка) з лужним розчином фенолу та гіпохлориту. Всі описані методи за точністю аналізу не поступаються методу К'ельдаля, але є достатньо дорогими.

Широкого поширення набув метод інфрачервоної спектроскопії, в основі якого лежить поглинання білками світла з певною довжиною хвилі і вимірювання інтенсивності його відбивання в приладах-аналізаторах. Прилади калібрують за зразком зерна (еталонами) з відомим вмістом білка, визначеним за методом К'ельдаля.

Відомі методи кількісного визначення білка, основані на різному ступені помутніння (нефелометричний метод), здатності білків адсорбувати барвники (кумасі синій R-250, амідочорний) та заломлювати промені світла (за показниками заломлення). Вони характеризуються високою точністю і простотою визначення, хоча є ряд обмежень. Найбільш зручними є методи з кумасі синім, біуретовий та Лоурі. В основі біуретового методу лежить біуретова реакція, в основі метода Лоурі – відновлення фосфомолібденової кислоти тирозином та триптофаном з одночасним протіканням біуретової реакції. За оптичною густиною з використанням калібрувальних графіків знаходять концентрацію білка в розчинах.

9.1. Визначення загального Нітрогену за К'ельдалем

За допомогою методу кислотно-основного титрування можна визначити загальну кількість Нітрогену у різних продовольчих продуктах, які містять білки та інші азотисті речовини. Метод базується на окисненні органічних речовин під дією концентрованої сульфатної кислоти у присутності каталізатора – купрум сульфату. Амоніак, що виділяється при цьому, із надлишком сульфатної кислоти утворює амоній сульфат:



Оскільки безпосередньо титрувати сіль амонію лугом неможливо через незначний стрибок титрування, застосовують метод зворотного титрування. Для цього, одержаний амоній сульфат розкладають концентрованим лугом, а амоніак, який виділяється, відганяють і вловлюють надлишковою аліквотною частиною хлоридної кислоти. Надлишок хлоридної кислоти, що залишився після нейтралізації амоніаку, відтитровують розчином лугу в присутності індикатора метилового оранжевого і за різницею визначають масову частку Нітрогену в досліджуваній наважці.

Масову частку загального Нітрогену обчислюють за формулою:

$$X = \frac{(V_1 \cdot K_1 - V_2 \cdot K_2) \cdot 0,0014 \cdot 100}{a},$$

де V_1 – загальна кількість титрованого 0,1 н розчину хлоридної кислоти у колбі-приймачі;

K_1 – коефіцієнт нормальності 0,1 н розчину HCl ;

V_2 – кількість титрованого 0,1 н розчину лугу, витраченого на титрування кислоти;

K_2 – коефіцієнт нормальності 0,1 н розчину лугу;

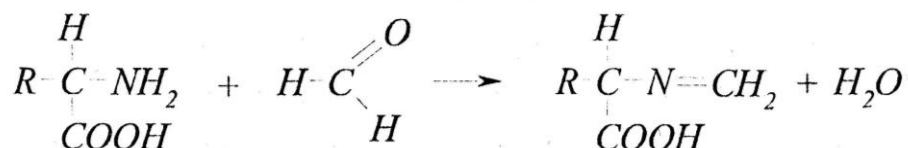
a – наважка досліджуваного продукту, г;

0,0014 – кількість Нітрогену, що відповідає 1 мл 0,1 н розчину хлоридної кислоти.

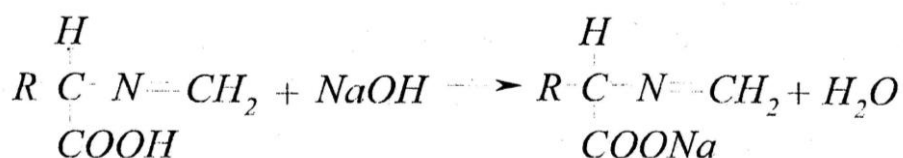
9.2. Формольний метод кількісного визначення білків

Визначення білків базується на реакції амінокислот білків молока з формальдегідом. Суть його полягає в блокуванні основних властивостей аміної групи формальдегідом з подальшим алкаліметричним визначенням карбоксильної групи.

Хімізм процесу можна представити реакціями:



Метиленове похідне далі відтитрують розчином лугу:



Для фіксування точки еквівалентності застосовують кислотно-основний індикатор – фенолфталеїн. Таким чином, сумарно встановлюється число карбоксильних груп, що еквівалентне числу аміногруп.

Реактиви і матеріали: калій гідроксид, 0,1 М стандартний розчин; формольна суміш, нейтралізований 37 %-вий водний розчин формальдегіду; фенолфталеїн, 1 %-вий етанольний розчин; бюретка об'ємом 25 мл; піпетки об'ємом на 5 і 25 мл; колби для титрування на 50 мл; молоко, що аналізується.

У колбу для титрування об'ємом 50 мл піпеткою відібрати 10 мл молока, додають 2-3 краплі розчину фенолфталеїну і титрувати 0,1 М розчином *KOH* до появи стійкого блідо-рожевого забарвлення (нейтралізація вільних кислот). Потім додати 2 мл формольної суміші (при цьому рожеве забарвлення зникає). Продовжити титрувати до появи повторного рожевого забарвлення.

Об'єм в мілілітрах 0,1 моль/л розчину *KOH*, витраченого на повторне титрування, помножений на коефіцієнт перерахунку 1,9, відповідає масовому вмісту (%) білків в молоці.

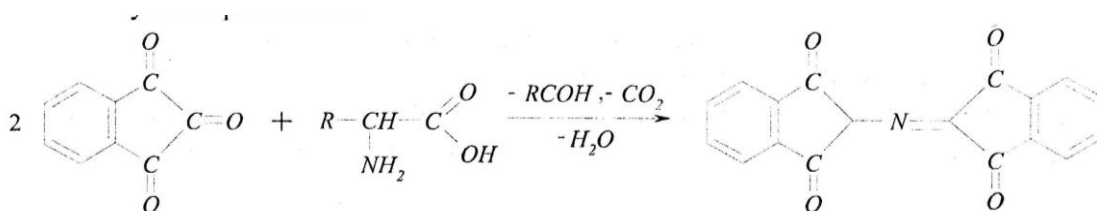
9.3. Методика розділення суміші амінокислот за допомогою паперової розподільчої хроматографії

У шкіряному та хутровому виробництвах використовують сировину біологічного походження, основною складовою частиною якої є білки. При вивченні гідролізатів білкових речовин для ідентифікації амінокислот широко використовують хроматографічний метод аналізу.

На смужку хроматографічного паперу розміром 10x25 см на відстані 5 см від краю простим олівцем проводять лінію (лінія старту). Смужку складають у формі циліндра і закріплюють шпильками.

На лінію старту посередині смужки наносять краплю розчину суміші амінокислот. Підготовлений хроматографічний папір закріплюють у циліндрі, який герметично закривається. Нижній край паперу повинен торкатися розчинника, налитого у ванночку на дні циліндра. Органічний розчинник повільно дифундує вздовж смужки паперу, захоплюючи за собою відповідні амінокислоти. Внаслідок різної розчинності амінокислоти переміщуються з різною швидкістю і за певний час піднімаються на різну висоту, що призводить до їх розділення. Коли фронт розчинника буде на відстані 1,5-2,0 см від верхнього краю паперу, папір виймають з циліндра і підсушують для випаровування розчинника. Висушену хроматограму «проявляють» шляхом обробки її з пульверизатора розчином нінгідрину і нагрівають в сушильній шафі при температурі 60°C протягом 5-10 хв. Там, де зосереджена та чи інша амінокислота, з'являється забарвлена пляма, яку обводять простим олівцем, оскільки з часом вона може знебарвитись.

Утворення забарвленої сполуки при взаємодії α -амінокислот з нінгідрином описується рівнянням:



Щоб визначити якісний склад суміші амінокислот, вираховують коефіцієнти розподілу R_f . Для цього заміряють висоту підняття розчинника L_p і відстань від лінії старту до центра кожної плями L_x :

$$R_f = \frac{L_x}{L_p}.$$

Значення R_f для різних амінокислот наведені в таблиці 1.6.

Таблиця 9.1

Значення R_f для різних амінокислот

Амінокислота	R_f	Амінокислота	R_f
Аланін	0,60	Оксипролін	0,63
Аргінін	0,89	Оксилізін	0,66
Аспарагінова кислота	0,40	Пролін	0,88
Валін	0,78	Серин	0,36
Гліцин	0,41	Тирозин	0,51
Лейцин	0,84	Триптофан	0,75

Інколи, при визначенні речовин, користуються так званими мітчиками (еталонами). Мітчик – це чиста речовина, яка ймовірно може міститися в суміші. Мітчики наносять на лінію старту і потім порівнюють R_f мітчиків і компонентів суміші.

9.4. Методика проведення біуретової реакції

Під час *біуретової реакції* до розчину, який містить білок, додають концентрований розчин лугу і краплю розчину купрум(II) сульфату. Після перемішування розчину з'являється фіолетове забарвлення. Його поява пов'язана з наявністю в білках пептидних груп ($-\text{CO}-\text{NH}-$), які утворюють забарвлені комплексні сполуки з йонами Cu^{2+} . Продукти розкладу білків – поліпептиди – також дають біуретову реакцію, причому колір утворених при цьому мідних комплексів визначається кількістю залишків α -амінокислот, зв'язаних пептидними зв'язками. Так, дипептиди дають синє забарвлення, трипептиди – фіолетове, а тетрапептиди та більш складні пептиди – червоне. Тому фіолетове забарвлення мідного комплексу з білком в умовах проведення біуретової реакції вказує на більшу кількість в складній білковій молекулі трипептидних угруповань.

9.5. Методика проведення нінгідринової реакції

Під час *нінгідринової реакції* на смужку фільтрувального паперу наносять краплю досліджуваного розчину, просушують її і на суху пляму наносять краплю розчину нінгідрину. У випадку, якщо в розчині присутній білок, після повторного нагрівання плями з'являється певне забарвлення (жовте, червоне, синє), яке залежить від природи білка.

Нінгідрінова реакція характерна для сполук, молекули яких містять аміногрупи в α -положенні (білки, поліпептиди та вільні α -амінокислоти). Ця реакція широко використовується під час розділення суміші α -амінокислот хроматографічним методом, для відкриття окремих α -амінокислот та кількісного їх визначення.

9.6. Методика проведення ксантопротеїнової реакції

Ксантопротеїнова реакція (реакція Мульдера) білків зумовлена наявністю в білках ароматичних α -амінокислот: фенілаланіну, тирозину, триптофану. Під час додавання до розчину, що містить білок, концентрованого розчину нітратної кислоти з'являється жовте забарвлення, яке зумовлене нітруванням ароматичних ядер і утворенням полінітросполук:

Висновки.

Література.

1. Гамаюрова В.С. Пищевая химия. Лабораторный практикум / В.С. Гамаюрова, Л.З. Ржечицкая. – СПб.: ГИОРД, 2006. – 136 с.
2. Гігієна харчування з основами нутріціології / За ред. Ципріяна В.І. – К: Здоров'я, 1999. – 577 с.
3. Голубев В.И. Основы пищевой химии. – М.: Биофармсервис, 1997. – 223 с.
4. Л.В. Дуленко, Ю.А. Горяйнова А.В. Полякова. Харчова хімія – К.: Кондор 2012. – 248с.
5. Лечебные свойства пищевых продуктов: в 2 томах / [В.Г. Лифляндский и др.]. – С-Петербург: Азбука, 1997. – 500 с.
6. Нечаев А.П., Попов М.П., Траубенберг С.Е. Пищевая химия. Курс лекций. / В 2-х частях./ Ч. 1. – М.: ИК МГУПП, 1998. – 131 с.
7. Павлоцкая Л.Ф., Дуденко Н.В., Эйдельман М.М. Физиология питания. – М.: Высшая школа, 1989. – 368 с.

8. Пищевая химия / А.П. Нечаев, С.Е. Траубенберг, А.А. Кочеткова и др.; под. ред. А.П. Нечаева. – [издание 4-е, испр. и доп.]. – СПб.: ГИОРД, 2007. – 640 с.
9. Руководство по методам анализа качества и безопасности пищевых продуктов / Под ред. И.М. Скурихина, В.А. Тутельяна. – М.: Брандес-Медицина, 1998. – 341 с.
10. Скоробогатий Я.П., Гузій А.В., Заверуха О.М. Харчова хімія: [Навчальний посібник]. – Львів: «Новий світ-2000», 2012. – 514 с.
11. Скоробогатий Я.П. Хімія і методи дослідження сировини і матеріалів. Фізична і колоїдна хімія та фізико-хімічні методи дослідження / Я.П. Скоробогатий, В.Ф. Федорко. – Львів: Компакт-ЛВ, 2005. – 248 с.
12. Скурихин И.М., Нечаев А.П. Все о пище с точки зрения химика. – М.: Высшая школа, 1991. – 288 с.
13. Химия пищи. / В 2 книгах. / Книга 1. Белки: структура, функции, роль в питании. / Рогов И.А., Антипова Л.В., Дунченко Н.И. и др. – М.: Колос, 2000. – 384 с.

Запитання для самоконтролю

1. Яке значення білків в організмі людини?
2. Які рекомендовані норми білків в харчуванні і від яких факторів вони залежать?
3. В чому полягає харчова та біологічна цінність білків? Як визначається біологічна цінність білків?
4. Які амінокислоти називаються незамінними?
5. Якими структурами характеризується будова молекул білків?
6. Основні джерела білків в організмі людини.
7. Які особливості амінокислотного складу білків рослинної та тваринної сировини?
8. Що означає поняття «нові форми білкової їжі»?
9. Які основні функціональні властивості білків? Яке значення білків в технологічних процесах виробництва харчових продуктів?
10. Які основні методи якісного та кількісного визначення білків в продуктах харчування та сировині?