

ІТМО

Н.Б. Еремеева

ПИЩЕВАЯ ХИМИЯ



Санкт-Петербург
2023

МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РОССИЙСКОЙ
ФЕДЕРАЦИИ

УНИВЕРСИТЕТ ИТМО

Н.Б. Еремеева
ПИЩЕВАЯ ХИМИЯ

УЧЕБНОЕ ПОСОБИЕ

РЕКОМЕНДОВАНО К ИСПОЛЬЗОВАНИЮ В УНИВЕРСИТЕТЕ
ИТМО

по направлению подготовки 19.03.01 Биотехнология
в качестве учебного пособия для реализации основных профессиональных
образовательных программ высшего образования бакалавриата

ИТМО

Санкт-Петербург
2023

Еремеева Н.Б., Пищевая химия– СПб: Университет ИТМО, 2023. – 240 с.

Рецензент(ы):

Игнатова Динара Фанисовна, к.т.н., доцент, доцент Высшей биотехнологической школы, ФГБОУ ВО Самарский государственный технический университет;

В учебном пособии рассмотрены основные компоненты пищевых продуктов, а именно вода, углеводы, жиры и белки. Описано их строение, физические и химические свойства. Пособие предназначено для обучающихся по программе бакалавриата 19.03.01 Биотехнология при изучении дисциплины «Пищевая химия», с целью формирования базовых знаний необходимых для понимания особенностей химического состава пищевых продуктов.

The logo of ITMO University, consisting of the letters 'ITMO' in a bold, black, sans-serif font. The 'I' and 'T' are connected, and the 'O' is a solid circle.

Университет ИТМО – ведущий вуз России в области информационных и фотонных технологий, один из немногих российских вузов, получивших в 2009 году статус национального исследовательского университета. С 2013 года Университет ИТМО – участник программы повышения конкурентоспособности российских университетов среди ведущих мировых научно-образовательных центров, известной как проект «5 в 100». Цель Университета ИТМО – становление исследовательского университета мирового уровня, предпринимательского по типу, ориентированного на интернационализацию всех направлений деятельности.

© Университет ИТМО, 2023

© Еремеева Н.Б., 2023

Содержание

ВВЕДЕНИЕ	9
1 ВОДА КАК КОМПОНЕНТ ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ	12
1.1 Физические свойства воды.....	12
1.1.1 Взаимодействие фаз.....	15
1.2 Молекула воды	17
1.2.1 Водородные связи	18
1.3 Структура льда и воды.....	20
1.3.1 Структура льда	20
1.3.2 Структура воды в жидком состоянии	22
1.4 Вода с растворенными в ней веществами	24
1.4.1 Взаимодействия «вода – растворенное вещество».....	24
1.4.2 Взаимодействие воды с ионными группами	25
1.4.3 Взаимодействие молекул воды с нейтральными полярными группами	26
1.4.4 Взаимодействие воды с неполярными растворенными веществами.....	27
1.4.5 Гидрофобная гидратация.....	27
1.5 Активность воды	30
1.6 Технологические проблемы продуктов с промежуточным содержанием влаги.....	37
2 УГЛЕВОДЫ	42
2.1 Моносахариды	42
2.1.1 Изомеризация моносахаридов	46
2.1.2 Формы колец моносахаридов	47
2.1.3 Гликозиды	51
2.1.4 Реакции моносахаридов.....	51
2.1.4.1 Окисление до альдоновых кислот и альдолактанов	51
2.1.4.2 Восстановление карбонильных групп	52
2.1.4.3 Уроновые кислоты	54
2.1.4.4 Сложные эфиры.....	54
2.1.4.5 Неферментативное потемнение.....	55
2.1.4.6 Карамелизация.....	61
2.1.4.7 Образование акриламида.....	62
2.2 Олигосахариды	65

2.2.1 Мальтоза.....	65
2.2.2 Лактоза	66
2.2.3 Сахароза	68
2.2.4 Циклодекстрины.....	70
2.3 Полисахариды.....	72
2.3.1 Химическая структура и свойства полисахаридов	72
2.3.2 Растворимость, кристаллизация и криостабилизация полисахаридов ...	73
2.3.3 Вязкость и стабильность растворов полисахаридов	76
2.3.4 Гели.....	80
2.3.5 Гидролиз полисахаридов.....	83
2.3.6 Крахмал	84
2.3.6.1 Амилоза	84
2.3.6.2 Амилопектин	85
2.3.6.3 Гранулы крахмала	87
2.3.6.4 Клейстеризация крахмала	87
2.3.6.5 Применение немодифицированных крахмалов	90
2.3.6.6 Клейстеризация крахмала в растительных тканях	91
2.3.6.7 Ретроградация крахмала и черствение.....	93
2.3.7 Целлюлоза, ее формы и производные.....	94
2.3.8 Гуаровая камедь и камедь рожкового дерева.....	95
2.3.9 Ксантановая камедь	96
2.3.10 Каррагинаны	98
2.3.11 Пектины.....	102
2.4 Пищевые волокна, пребиотики и усвояемость углеводов	103
3 ЛИПИДЫ	108
3.1 Введение.....	108
3.2 Основные компоненты липидов	108
3.2.1 Жирные кислоты	108
3.2.1.1 Номенклатура насыщенных жирных кислот	109
3.2.1.2 Номенклатура ненасыщенных жирных кислот.....	109
3.2.2 Ацилглицерины	111
3.2.3 Фосфолипиды	112
3.2.4 Сфинголипиды.....	113
3.2.5 Стерины.....	113

3.2.6 Воски	114
3.2.7 Состав жиров	114
3.3 Переработка жиров. Выделение, очистка и модификация	115
3.3.1 Рафинирование	115
3.3.2 Дегуммирование	117
3.3.3 Нейтрализация	117
3.3.4 Отбеливание	117
3.3.5 Дезодорирование	118
3.4 Молекулярные взаимодействия и структура триацилглицеринов	118
3.5 Физические свойства триацилглицеринов	120
3.5.1 Реологические свойства	121
3.5.2 Плотность	122
3.5.3 Термические свойства	123
3.5.4 Оптические свойства	124
3.6 Содержание твердого жира в ТАГ пищевых продуктов	125
3.7 Кристаллизация триацилглицеринов	127
3.7.1 Переохлаждение	128
3.7.2 Нуклеация	128
3.7.3 Рост кристаллов	131
3.7.4 Морфология кристаллов	132
3.7.5 Полиморфизм	133
3.7.6 Кристаллизация жира в эмульсиях	134
3.8 Изменение состава твердых триглицеридов в пищевых жирах	135
3.8.1 Смешивание	136
3.8.2 Изменение состава кормов для животных	136
3.8.3 Генетические методы	136
3.8.4 Фракционирование	136
3.8.5 Гидрогенизация	136
3.8.6 Переэтерификация	137
3.9 Роль триацилглицеринов в пищевых продуктах	137
3.9.1 Текстура	137
3.9.2 Внешний вид	138
3.9.3 Вкус и аромат	138
3.10 Химическое разложение жиров. Гидролитические реакции	139

3.11 Химическая порча жиров. Окислительные реакции	140
3.11.1 Механизмы окисления липидов	140
3.11.1 Инициирование окисления.....	141
3.11.2 Стадия развития окисления.....	144
3.11.3 Стадия окончания окисления.....	144
3.12 Проксиданты.....	144
3.12.1 Стимулирование образования гидропероксидов	146
3.12.2 Стимулирование образования свободных радикалов	147
3.13 Образование продуктов окислительного разложения липидов	150
3.14 Антиоксиданты.....	151
3.14.1 Контроль образования свободных радикалов.....	152
3.14.2 Токоферолы	154
3.14.3 Синтетические фенольные соединения	157
3.14.4 Фенольные соединения растительного происхождения	157
3.14.5 Аскорбиновая кислота и тиолы	158
3.15 Прочие факторы, влияющие на скорость окисления липидов	159
3.16 Пищевые жиры и их влияние на здоровье человека	160
3.16.1 Биологическая активность жирных кислот	160
3.16.2 <i>Транс</i> -изомеры жирных кислот	161
3.16.3 Омега-3 жирные кислоты	161
3.16.4 Конъюгированная линолевая кислота	161
3.16.5 Фитостерины.....	162
3.16.6 Каротиноиды.....	162
3.16.7 Низкокалорийные жиры	163
4 АМИНОКИСЛОТЫ, ПЕПТИДЫ И БЕЛКИ	166
4.1 Введение.....	166
4.2 Физико-химические свойства аминокислот	168
4.2.1 Общие свойства	168
4.2.1.1 Структура и классификация.....	168
4.2.1.2 Стереохимия аминокислот	170
4.2.1.3 Кислотно-основные свойства аминокислот	171
4.2.1.4 Гидрофобность аминокислот	174
4.2.1.5 Оптические свойства аминокислот	175
4.2.2 Реакционная способность аминокислот	175

4.3 Структура белка	180
4.3.1 Структурная иерархия белков.....	180
4.3.1.1 Первичная структура	180
4.3.1.2 Вторичная структура	182
4.3.1.3 Третичная структура	186
4.3.1.4 Четвертичная структура	189
4.4 Денатурация белков	190
4.4.1 Термодинамика процесса денатурации	191
4.4.2 Денатурирующие факторы.....	193
5.5. Функциональные свойства белков	195
4.5.1 Гидратация белка	198
4.5.2 Растворимость	202
4.5.2.1 Значение рН	203
4.5.2.2 Ионная сила	204
4.5.2.3 Температура.....	205
4.5.3 Поверхностно-активные свойства белков	205
4.5.3.1 Эмульгирующие свойства.....	210
4.5.3.1.1 Методы определения эмульгирующих свойств белков	210
4.5.3.1.2 Факторы, влияющие на эмульгирование	212
4.5.3.2 Пенообразующие свойства.....	213
4.5.3.2.1 Условия, влияющие на пенообразование и стойкость пены	214
4.5.4 Вязкость.....	216
4.5.5 Гелеобразование	217
4.5.6 Текстуризация.....	221
4.5.6.1 Фильтрная текстуризация	221
4.5.6.2 Текстуризация экструзией.....	222
4.6 Белковые гидролизаты.....	224
4.6.1 Функциональные свойства белковых гидролизатов	224
4.6.2 Аллергенные свойства	226
4.6.3 Горькие пептиды	226
4.7 Нутритивные свойства белков.....	227
4.7.1 Качество белка.....	227
4.7.2 Усвояемость	230
4.7.2.1 Конформация белка	230

4.7.2.2 Факторы, снижающие биологическую ценность (антипитательные)	230
4.7.2.3 Промышленная переработка.....	231
4.7.3 Оценка биологической ценности белков.....	231
4.7.3.1 Биологические методы	231
4.7.3.2 Химические методы.....	233
4.7.3.3 Ферментативные и микробиологические методы	234
Рекомендуемая литература	238

ВВЕДЕНИЕ

Область наук о пищевых продуктах (Food Science) изучает физические, химические и биологические свойства пищевых продуктов и их связь со стабильностью, ценой, качеством, технологией производства, безопасностью, пищевой ценностью, полезностью для здоровья и удобством потребления. Наука о пище – это междисциплинарная область биологических наук, включающая прежде всего микробиологию, химию, биологию и инженерию. Химия пищевых продуктов изучает состав и свойства пищевых продуктов и химические реакции, которые протекают в ходе первичной обработки сырья, производства и хранения. Химия пищевых продуктов тесно связана с химией, биохимией, физиологической химией, ботаникой, зоологией и молекулярной биологией. Химик-пищевик при фактическом изучении и контроле биологических материалов как источников пищи для человека в большой степени полагается на знания вышеупомянутых областей. Знание природных свойств биологических материалов и владении методами их исследования важны как химиков-пищевиков, так и для биологов. К основным сферам интересов биологов относится размножение, рост и изменение биологических объектов в условиях окружающей среды, совместимых или частично совместимых с жизнью. В отличие от них пищевые химики имеют дело в основном с мертвыми или умирающими биологическими объектами (в том числе с физиологией растений после сбора урожая и посмертными физиологическими изменениями мышечных тканей), а также с их изменениями в различных условиях. Например, условия, необходимые для поддержания остаточных жизненных процессов, представляют интерес при изучении возможности реализации свежих фруктов и овощей, а условия, несовместимые с жизненными процессами, представляют интерес при возможности длительного хранения (консервирования) пищевых продуктов.

Химики-пищевики обычно заняты опеределением молекулярных детерминантов свойств материала и способности пищевых матриц к химическим реакциям. Они стараются эффективно использовать полученную информацию в целях совершенствования рецептур, технологий производства и обеспечения стабильности пищевых продуктов при хранении. Главная задача – выявить причинно-следственные зависимости между различными классами химических соединений. Факты, полученные при исследовании одного пищевого продукта или некоторой модельной системы, можно использовать для улучшения понимания свойств пищевых продуктов.

Основное необходимое условие для любого пищевого продукта – это его безопасность для здоровья. В широком смысле это означает, что в продукте на момент его потребления не должно содержаться никаких вредных химических примесей или микроорганизмов-контаминантов. В промышленности это определение принимает более прикладную форму. Так, в консервной промышленности «промышленная стерильность» слабых кислых пищевых продуктов означает отсутствие жизнеспособных спор *Clostridium botulinum*,

что, в свою очередь, можно перевести в конкретные режимы термообработки данного продукта в той или иной упаковке. Исходя из этих требований к режимам тепловой обработки, можно выбрать определенные температурно-временные условия, оптимальные для обеспечения качественных показателей. Аналогичным образом в производстве арахисового масла «промышленная безопасность» может рассматриваться в основном как отсутствие афлатоксинов – канцерогенных веществ, продуцируемых определенным видом плесеней. Мероприятия, направленные на предотвращение роста этой плесени, могут как влиять, так и не влиять на другие показатели качества, однако должны применяться те технологические режимы и условия, которые обеспечат прежде всего безопасность продукта.

Без знаний химического состава пищевых продуктов невозможно правильно оценить соответствие рациона физиологическим потребностям человека, оценить состояние его пищевого статуса. Особенно важно иметь данные о химическом составе пищевых продуктов для больных людей, в том числе страдающих генетически обусловленными заболеваниями, когда направленными изменениями в химическом составе пищевых продуктов можно сделать их жизнь полноценной.

Работа по изучению химического состава пищевых продуктов должна проводиться непрерывно и не может быть когда-либо завершена. Химический состав – это постоянно меняющаяся величина, и всего за 5-10 лет благодаря развитию технологий существенно меняется ассортимент пищевых продуктов. Одновременно с изменениями в пищевой промышленности совершенствуется и приборная база, открываются новые возможности для более точной оценки химического состава. Все это требует проведения новых систематических исследований, создания и обновления необходимых баз данных о химическом составе пищевых продуктов.

Именно этому посвящено учебное пособие, в котором системно изложены современные научные представления о том, из чего состоят пищевые продукты и какие изменения в них происходят в процессе производства, технологической обработки и приготовления.

В данном учебном пособии изложены современные представления о составе основных компонентов пищевых продуктов и какие изменения в них происходят в процессе производства, технологической обработки и приготовления. Пособие предназначено для обучающихся по программе бакалавриата 19.03.01 Биотехнология при изучении дисциплины «Пищевая химия», с целью формирования базовых знаний необходимых для понимания строения и химической структуры воды, углеводов, жиров и белков. Учебный курс включает в себя 24 ч лекций, 8 ч практических занятий и 16 ч лабораторного практикума, а также 96 ч самостоятельной работы. Учебное пособие будет полезно как при освоении теоретического курса, так и при подготовке к практическим и лабораторным занятиям, так как содержит теоретические аспекты изложенных методов анализа, возможность их практического применения и интерпретаций полученных результатов.

Пищевая химия основывается на теоретических положениях фундаментальных дисциплин и прежде всего химии и физики, а также биохимии, биофизики, биотехнологии, физиологии и гигиены питания.

По мере изложения материала курса “Пищевая химия” приводятся ссылки на литературу, в которой более подробно описаны соответствующие разделы. В конце пособия приводится рекомендуемая литература на русском языке, которые хорошо дополнит изложенный материал.

Основной задачей издания является оказание помощи студентам в формировании научного подхода к сложным процессам взаимосвязи химического состава пищевых систем, качества и пищевой ценности продуктов питания с технологическими режимами производства, переработки и хранения продовольственного сырья и пищевых продуктов.

Отдельные разделы учебного пособия могут быть использованы при изучении основ пищевой химии, а также в качестве дополнительного источника литературы при изучении профильных дисциплин. В качестве самостоятельной работы студентам может быть рекомендовано при изучении строения углеводов, жиров и белков. Для более полного изучения дисциплины рекомендуется использования дополнительной литературы с более полным изложением основных компонентов пищевых продуктов.

1 ВОДА КАК КОМПОНЕНТ ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ

Вода – самое распространенное соединение на Земле, которая в зависимости от условий окружающей среды может существовать в виде твердого тела, жидкости или газа. По общепринятым научным теориям жизнь на Земле не смогла бы зародиться без воды. Первичные образования биологических макромолекул, таких как белков и ферментов, биомембран, а также их функционирование напрямую связано с наличием воды в жидкой форме. Кроме того, вода выполняет также функции регулирования температуры тела, служит растворителем и носителем питательных веществ (нутриентов) и отходов, а также участвует в реакциях гидролиза.

Содержание воды в биологических тканях варьирует от 50 до 90%. Поскольку свежие пищевые продукты получают в основном из растительного и животного сырья, содержание воды в них также составляет 50-95 %масс. Вода является основным компонентом и приготовленных пищевых продуктов различной структуры: пен, эмульсий и желеобразных продуктов, причем состояние воды в подобных изделиях во многом обуславливает их текстуру, внешний вид, а также вкус и аромат (флейвор). От взаимодействия воды с другими компонентами пищевых систем – жирами (липидами), углеводами и белками во многом зависят их физические и химические свойства, которые, в свою очередь, влияют на органолептические свойства и приемлемость данного продукта для потребителя. С другой стороны, пищевые продукты с высоким содержанием влаги являются прекрасной средой для размножения микроорганизмов, что делает такие продукты подверженными микробиологической порче. Технологии консервации пищевых продуктов типа замораживания и дегидратации (сушки) подразумевают превращение жидкой воды соответственно в лед или водяной пар. Поскольку на экономический аспект подобных превращений влияют физические свойства воды при разных режимах давления и температуры, фундаментальное понимание структуры и свойств воды в разных состояниях (жидком, твердом и газообразном) совершенно необходимо для анализа ее влияния на стабильность пищевых продуктов в самом широком контексте.

1.1 Физические свойства воды

Вода – это, казалось бы, простое химическое соединение из двух атомов водорода, ковалентно присоединенных к одному атому кислорода. Вместе с тем, физические свойства воды в жидком и твердом состояниях по сравнению с другими веществами примерно тех же молекулярных размеров характеризуются 41 аномальным признаком (см. Врезку 1.1). Некоторые из этих аномальных свойств имеют настолько большое значение, что без них жизнь на Земле была бы теоретически невозможна. Так, плотность некоторой вещества в жидком состоянии при его температуре плавления обычно бывает на 5-15% ниже, чем при той же температуре в твердом состоянии из большего

расстояния между молекулами в жидком состоянии (объемного расширения). В случае воды это не так. Плотность жидкой воды при 0 °С выше, чем у льда той же температуре. Кроме того, плотность воды в температурном диапазоне 0-100 °С остается большей, чем у льда, с максимумом при 3,984 °С. В результате лед может плавать по воде. Если бы плотность льда была выше, чем у жидкой воды, лед в Арктике и Антарктике просто бы утонул, а Северные и Южные океаны и моря постепенно превратились бы в большие ледяные поля, что сделало бы их непригодными для жизни.

Врезка 1.1 Аномальные свойства воды [1]

- 1 Необычно высокая температура плавления.
- 2 Необычно высокая температура кипения.
- 3 Необычно высокая критическая точка (точка перехода механизмов реакции).
- 4 Необычно высокое поверхностное натяжение.
- 5 Необычно высокая вязкость.
- 6 Необычно высокая теплота испарения.
- 7 Усадка вода при плавлении.
- 8 Вода обладает высокой плотностью, которая при нагревании (до 3,984 °С) возрастает.
- 9 При плавлении увеличивается количество ближайших соседних элементов структуры.
- 10 Количество ближайших соседних элементов структуры увеличивается при повышении температуры.
- 11 При повышении давления снижается температура плавления (при давлении 13,35 МПа температура плавления составляет -1 °С).
- 12 При повышении давления снижается температура достижения максимальной плотности.
- 13 D₂O и T₂O сильнее отличаются от H₂O по своим физическим свойствам, чем это можно было бы предположить на основе их более высоких молекулярных масс; так, у них выше температуры достижения максимальной плотности (соответственно 11,185 °С и 13,4 °С).
- 14 По мере снижения температуры вязкость воды необычно возрастает, а коэффициент диффузии снижается.
- 15 Вязкость воды снижается при повышении давления (при температурах ниже 33 °С).
- 16 Вода характеризуется необычно низкой сжимаемостью.
- 17 По мере повышения температуры сжимаемость воды снижается, достигая минимума при температуре около 46,5 °С. Ниже этой температуры сжимаемость воды увеличивается.
- 18 Вода характеризуется низким коэффициентом (теплового) расширения.
- 19 Тепловое расширение воды при пониженных температурах все сильнее возрастает, достигая отрицательных значений.
- 20 Скорость звука в воде возрастает по мере повышения ее температуры, достигая максимума при 73 °С.
- 21 Удельная теплоемкость воды более чем в два раза превышает удельную теплоемкость льда и водяного пара.
- 22 Удельная теплоемкость (C_p и C_v) необычно высокая.
- 23 Удельная теплоемкость C_p имеет минимальное значение, а C_v - максимальное.
- 24 В ЯМР-анализе спин-решеточная релаксация при низкой температуре очень мала.

- 25 Растворенные в воде вещества по-разному влияют на такие ее свойства, как плотность и вязкость.
- 26 Ни одно из растворенных в воде веществ не обеспечивает воде идеальных термодинамических свойств, даже D₂O в H₂O.
- 27 Рентгеновская дифракция показывает необычно подробную структуру.
- 28 Переохлажденная вода характеризуется наличием двух фаз, причем критическая точка второй фазы составляет около -91 °С.
- 29 Жидкую воду при понижении температуры до -70 °С можно привести в переохлажденное состояние с присутствием в воде мелких капель. Такое состояние можно получить также из стекловидного аморфного льда в температурного диапазоне от -123 до -149 °С.
- 30 Вода в твердом состоянии существует в виде различных стабильных и нестабильных кристаллов, а также аморфных структур, количество которых больше, чем у других веществ.
- 31 Горячая вода в некоторых условиях может замерзнуть быстрее, чем холодная (парадокс Мпембы).
- 32 Показатель преломления воды достигает максимального значения при температуре чуть ниже 0 °С.
- 33 Показатели растворимости в воде неполярных газов уменьшаются при понижении температуры до некоторого минимального значения, после чего начинают возрастать.
- 34 При пониженных температурах самодиффузия воды возрастает по мере увеличения плотности и давления.
- 35 Теплопроводность воды достигает максимального значения при температуре около 130 °С, после чего снижается.
- 36 Мобильность протона и гидроксидных ионов в электрическом поле необычно велика.
- 37 Теплота таяния льда максимальна при температуре -17 °С.
- 38 Диэлектрическая постоянная воды велика и при изменении температуры ведет себя необычно.
- 39 При увеличении давления молекулы воды еще больше отдаляются друг от друга.
- 40 Электропроводность воды возрастает до максимума при температуре около 230 °С, после чего снижается.
- 41 Теплая вода дольше сохраняет колебания, чем холодная.

У воды имеются и другие необычные свойства, важные для переработки пищевых продуктов, в том числе необычные температуры кипения и плавления, высокая диэлектрическая проницаемость, высокое поверхностное натяжение, необычные термические свойства (теплоемкость, теплопроводность, коэффициент тепловой диффузии, скрытая теплота таяния и испарения), а также высокая вязкость с учетом низкой молекулярной массы воды (табл. 1.1). Так, теплопроводность воды и льда по сравнению с другими жидкостями и твердыми телами-неметаллами довольно велика, и, что еще более важно, теплопроводность льда при 0 °С в четыре раза выше, чем воды при той же температуре. Аналогичным образом, коэффициент тепловой диффузии льда в девять раз выше, чем у воды, а теплоемкость льда составляет 50% от теплоемкости жидкой воды. Из-за более высокой теплопроводности и коэффициента тепловой диффузии, а также более низкой теплоемкости, при воздействии одного и того же температурного градиента скорость изменения температуры у льда намного выше, чем у воды. То, что под действием

заданного положительного или отрицательного температурного градиента пищевые продукты замораживаются намного быстрее, чем размораживаются, обусловлено прежде всего различиями вышеуказанных термических свойств воды и льда.

Таблица 1.1

Физические свойства льда и воды

Свойство	Значение			
Молекулярная масса	18,0153			
Температура плавления (при 101,3 кПа)	0,00 °С			
Температура кипения (при 101,3 кПа)	100,00 °С			
Критическая температура	373,99 °С			
Критическое давление	22,064 Мпа			
Температура тройной точки	0,01 °С			
Давление в тройной точке	611,73 Па			
$\Delta H_{исп}$ при 100 °С	40,647 Вт/моль			
$\Delta H_{суб}$ при 0 °С	50,91 кДж/моль			
$\Delta H_{пл}$ при 0 °С	6,002 кДж/моль			
Другие зависящие от температуры свойства	Температура, °С			
	Лед		Вода	
	-20	0	0	+20
Плотность, г/см ³	0,9193	0,9168	0,99984	0,99821
Давление пара, кПа	0,103	0,6113	0,6113	2,3388
Теплоемкость, Дж/г·К	1,9544	2,1009	4,2176	4,1818
Теплопроводность, Вт/м·К	2,433	2,240	0,561	0,5984
Температуропроводность, м ² /с	11,8·10 ⁻⁷	11,7·10 ⁻⁷	1,3·10 ⁻⁷	1,4·10 ⁻⁷
Сжимаемость, Па ⁻¹	-	2	4,9	-
Диэлектрическая постоянная	98	90	87,9	80,2

1.1.1 Взаимодействие фаз

У воды при существующих земных температурах и давлениях три фазы – газообразная (водяной пар), жидкая и твердая (лед) [2]. При комнатной температуре и обычном давлении вода находится в жидком состоянии; при повышении температуры до 100 °С вода испаряется, а при понижении температуры ниже 0 °С она становится твердой и превращается в лед. Сплошными линиями на рис. 1.1 обозначены те сочетания температуры и давления, при которых вода находится в равновесном состоянии между паром и жидкостью, льдом и жидкостью и льдом и паром. На этих межфазовых границах вода может существовать в двух состояниях одновременно (то есть жидкость/пар, жидкость/твердое тело и твердое тело/пар), так что химический потенциал в этих двух фазах одинаков. Точка пересечения соответствующих кривых на фазовой диаграмме называется «тройной точкой». У воды существует только одна тройная точка, в которой газообразное, жидкое и твердое состояние воды сосуществуют в идеальном равновесии, а это означает, что химические потенциалы воды в этих трех состояниях в тройной точке одинаковы. У воды тройная точка соответствует температуре 273,16 К и давлению 611,73 Па (0,0060373 атм.) (рис. 1.1). Малейшее отклонение

температуры и давления от показателей тройной точки превращает воду в двухфазную систему. При сочетании температуры и давления ниже тройной точки вода существует в твердом или газообразном состоянии. В этих условиях при нагревании льда при постоянном давлении ниже тройной точки он превращается непосредственно в водяной пар, а при воздействии на водяной пар повышенного давления при постоянной температуре он превращается непосредственно в лед. Это свойство известно как сублимация – оно лежит в основе применяемой в пищевой промышленности технологии *сублимационной сушки*. Сублимационная сушка пищевых продуктов по сравнению с обычной высокотемпературной позволяет сохранять пищевую ценность и другие качественные показатели. Как правило, при сублимационной сушке используют температуры порядка $-50\text{ }^{\circ}\text{C}$ и давление 13,3-26,6 Па.

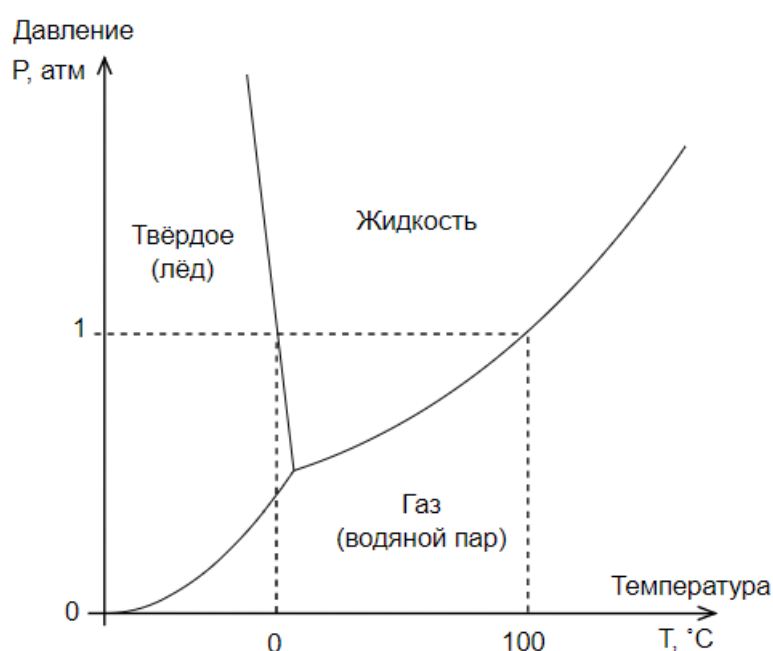


Рис. 1.1. Фазовая диаграмма состояний воды в зависимости от давления и температуры

Еще одно anomальное поведение воды заключается в том, что если наклон кривой равновесия «твердое тело – жидкость» на рис. 1.1 почти у всех веществ положительный, то у воды он отрицательный. В результате при постепенном повышении давления при постоянной температуре чуть ниже тройной точки состояние воды меняется «пар – твердое тело – жидкость», тогда как состояние других веществ меняется в направлении «пар – твердое тело». Другими словами, если температура плавления (или застывания) большинства веществ с повышением давления тоже повышается, то температура плавления льда с повышением давления снижается. Такое anomальное поведение льда связано с уникальной структурой его кристаллической решетки. В зависимости от температуры и давления лед существует не менее чем в 13 различных структурных формах.

Температура плавления льда (температура замерзания жидкой воды) по мере повышения давления примерно 200 МПа понижается. Такое необычное

поведение используется в пищевой промышленности в технологии замораживания путем резкого сброса высокого давления. В этой технологии пищевые материалы с комнатной температурой подвергаются действию давления около 180-200 Мпа, после чего охлаждаются до температур ниже 0 °С (как правило, до -10...-20 °С), при которых вода в этих материалах остается в жидком состоянии. После достижения материала нужной температуры давления резко сбрасывают до нормального, что приводит к ускоренному замораживанию (превращению воды в обрабатываемом материале в лед). Преимуществом такой технологии ускоренного замораживания с помощью сброса давления является быстрое и однородное переохлаждение, приводящее к образованию очень мелких кристаллов льда с сохранением целостности тканей и текстуры замораживаемых пищевых продуктов.

Еще одной полезной особенностью диаграммы состояний является возможность ее использования для разработки технологии ускоренного размораживания замороженных, пищевых материалов. В этом случае при воздействии замороженный материал при заданной температуре высокого давлений лед в нем сразу же начнет плавиться (таять), а при последующем повышении температуры после сброса давления до положительных значений материал будет находиться в размороженном состоянии.

1.2 Молекула воды

Необычные свойства воды дают основания полагать, что в жидком и твердом состояниях ее структура также будет отличаться от структуры других веществ. Молекулу воды зачастую описывают как состоящую из двух атомов водорода, ковалентно присоединенных к атому кислорода. Последний находится в sp^3 -гибризованном состоянии, связанном sp^3 -орбиталями тетраэдральной ориентации. Две из этих орбиталей делят электроны с 1s-орбиталями атомов водорода, а две другие заняты двумя другими парами электронов.

В отдельно взятой молекуле воды угол Н-О-Н составляет около 104,5° (рис. 1.2), что близко к совершенному тетраэдрическому углу 109,5°, однако у воды в жидком и твердом состояниях этот Н-О-Н-угол больше 104,5°, предположительно из-за взаимодействий между молекулами воды в конденсированном состоянии. Длина связи О-Н составляет примерно 0,96 Å, а радиус Ван-дер-Ваальса у атома кислорода равен примерно 1,4 Å. Форма молекулы воды не является совершенной сферической, так что модель молекулы, приведенная на рис. 1.2, показывает, что ее диаметр, проведенный через геометрический центр, составляет примерно 3,12 Å. Тем не менее, средний диаметр Ван-дер-Ваальса молекулы воды принимают за 2,8 Å.

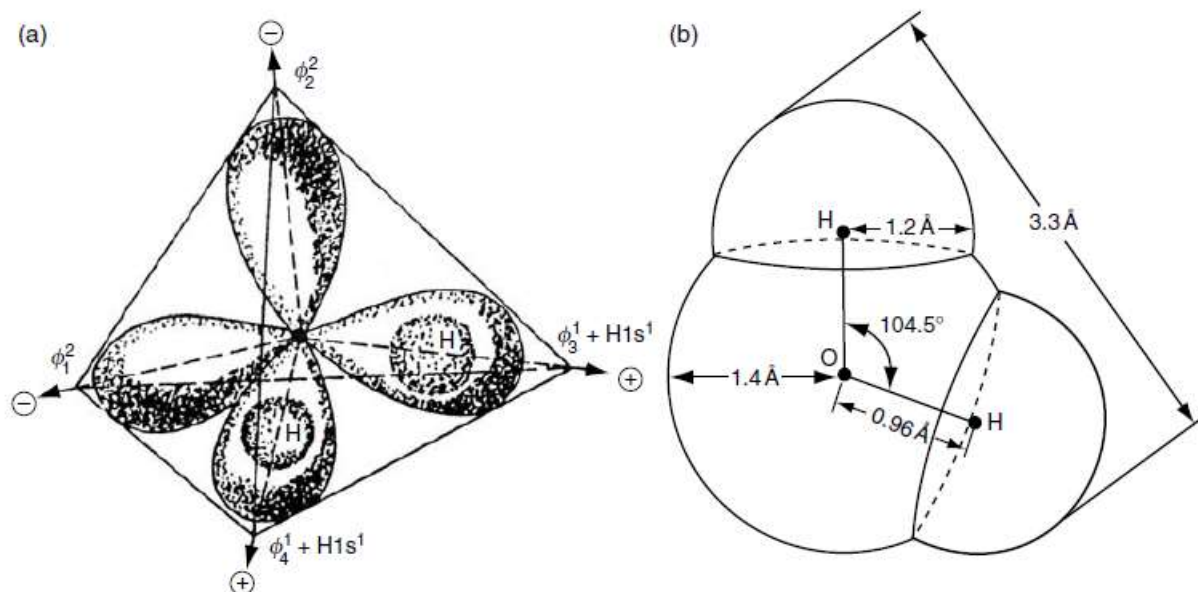


Рис. 1.2. Схематическая модель одиночной молекулы НОН: а – возможная sp^3 -конфигурация; б – радиусы Ван-дер-Ваальса для молекулы НОН в парообразном состоянии

1.2.1 Водородные связи

Многие необычные свойства воды обусловлены простой, но уникальной структурой ее молекулы. Вода – это дигидрид кислорода, и при такой молекулярной структуре атом кислорода с большим отрицательным электрическим зарядом притягивает к себе и изменяет положение электронов в связях О-Н, так что в результате атомы водорода приобретают часть положительного заряда, а атом кислорода часть отрицательного. Эта часть заряда у атома кислорода составляет примерно $-0,72$, а у каждого из двух атомов водорода – примерно $+0,36$. Такое асимметричное распределение заряда под углом Н-О-Н $104,5^\circ$ обуславливает молекуле постоянные свойства диполя. Дипольный момент воды составляет примерно $1,85$ Д (дебаев) ($= 6,2375 \cdot 10^{-30}$ Кл \cdot м). Этот постоянный дипольный момент позволяет молекулам воды участвовать в водородном связывании через взаимодействия «диполь – диполь». Поскольку у молекулы воды два протона и две отдельные пары электронов, ориентированных вдоль осей тетраэдра, каждая молекула воды может образовать четыре водородные связи с четырьмя другими молекулами воды. При такой конфигурации орбитали О-Н выполняют функцию доноров для водородных связей, а орбитали двух отдельных пар электронов – функцию акцепторов.

Сильные силы притяжения между молекулами воды обусловлены в основном присутствием одинакового количества доноров и акцепторов водородного связывания в тетраэдрической конфигурации и, в меньшей степени, отрицательным зарядом атома кислорода. Подобное одинаковое и акцепторов водородного связывания позволяет воде образовывать в конденсированном состоянии протяженную трехмерную структуру из

связанных атомов водорода. Это не характерно для других жидкостей с водородным связыванием. Например, фтористый водород (HF) может также почувствовать во взаимодействиях водородного связывания, но у него нет характерного для воды необычного поведения. У атомов фтора в HF также четыре связанных орбитали в тетраэдрической конфигурации, однако, в отличие от воды, три орбитали (акцепторы водородного связывания) заняты тремя отдельными парами электронов, и только одна орбиталь является донором. Такое неравномерное распределение доноров и акцепторов жидком фтористом водороде не дает образоваться трехмерной сетке. Похожая ситуация наблюдается и в жидком аммиаке (NH₃). В тетраэдрической конфигурации молекулы аммиака к атому азота присоединены три атома водорода (доноры водородного связывания) и имеется лишь одна отдельная пара электронов, что позволяет образоваться лишь двухмерной водородносвязанной сетке. С другой стороны, среди гидридов элементов с отрицательным зарядом типа O, S, Se, Te и Po единственными жидкими являются лишь вода H₂O, а другие гидриды при комнатной температуре находятся в газообразном состоянии, хотя у них также имеются две отдельные пары орбиталей электронов (акцепторов водородного связывания) и два атома водорода (доноров водородного связывания). Объяснить это можно различиями в отрицательном заряде этих элементов, которые можно упорядочить следующим образом: O > S > Se > Te > Po. Если отрицательный электрический заряд кислорода составляет 3,5, то заряды S, Se, Te и Po равны соответственно 2,5, 2,4, 2,1 и 2,0 (у водорода – 2,2). Кроме того, угол связи H-O-H составляет 104,5°, тогда как угол связи H-X-H у других гидридов – около 90°. В результате степень смещения и поляризации электронов у гидридов вышеуказанных элементов пренебрежимо мала. Отклонение связывающих орбиталей в этих гидридах от тетраэдрической конфигурации снижает также их силы межмолекулярного притяжения. Следует отметить, что, если температуры кипения гидридов S, Se, Te и Po по мере увеличения их отрицательного заряда снижаются линейно, то поведение воды резко отличается от подобной линейности. Эта аномальная характеристика свидетельствует о том, что размер, электронная структура и угол расположения орбитали у атома кислорода участвуют в формировании трехмерной сетевой структуры с некоторыми необычными свойствами каким-то непонятным и таинственным образом.

Водородная связь – это взаимодействие между одним отрицательно заряженным атомом (например, кислорода) и ковалентно связанным другим отрицательно заряженным атомом (водорода). Прочность нековалентной водородной связи обычно составляет 2-6 ккал/моль по сравнению с 80-120 ккал/мол, необходимыми для разрыва ковалентной связи. Тем не менее, эта прочность существенно больше, чем энергия ван-дер-ваальсового взаимодействия, которая составляет около 0,1-0,3 ккал/моль, и намного больше, чем тепловая энергия, составляющая при 25 °C 0,59 ккал/моль. Так как при комнатной температуре водородная связь примерно в 4-10 раз сильнее,

чем средняя кинетическая (тепловая) энергия молекул, межмолекулярные комплексы, образованные с помощью водородных связей, очень стабильны относительно термических смещений.

Как мы уже отмечали, у воды водородные связи образуются благодаря тому, что вода представляет собой диполь. Прочность водородных связей между молекулами воды зависит от их ориентации относительно друг друга. Угол θ на этом рисунке обозначает изгиб акцепторного участка водородной связи относительно ее оси. Потенциальная энергия водородносвязанного димера минимальна при значении β около 58° . В такой конфигурации одна из отдельных пар электронов в атоме кислорода совпадает с осью О-Н другой молекулы воды. Следует отметить, что потенциальная энергия водородной связи существенно не меняется при изменении β в пределах от 58° до -40° , что свидетельствует о том, что колебания ориентации в указанном диапазоне вполне допустимы без существенного ущерба для запасов энергии. Благодаря такой высокой степени энергетической свободы молекулы воды в жидком состоянии считаются высокоэнтропийными.

Кроме того, прочность водородной связи зависит от расстояния О-Н...О. Потенциальная энергия водородносвязанного димера воды минимальна при расстоянии О-Н...О примерно $2,9 \text{ \AA}$. При большем и меньшем расстоянии потенциальная энергия увеличивается нелинейно, что свидетельствует о том, что водородная связь действует на коротких расстояниях.

1.3 Структура льда и воды

1.3.1 Структура льда

Лед в зависимости от значений температуры и давления существует не менее чем в 13 структурных состояниях (фазах). При обычных для земных условий температурах и давлениях лед существует только в гексагональной форме I_h . В этой форме каждая молекула воды связана водородной связью с четырьмя другими молекулами воды, расположенными ближе всего, образуя тетраэдрическую конфигурацию (рис. 1.3). Расстояние О-О между ближайшими соседними молекулами воды составляет $2,76 \text{ \AA}$, расстояние О-О между следующими ближайшими соседями – $4,5 \text{ \AA}$.

При распространении такой тетраэдрической структуры образуется водородносвязанная трехмерная сеть. Из-за такой уникальной пространственной ориентации атомов в этой сети лед I_h имеет открытую кристаллическую структуру с гексагональной симметрией (рис. 1.4). Точнее, лед относится к дигексагональному двухпирамидальному классу кристаллов. При такой гексагональной симметрии атомы кислорода шести водородносвязанных молекул воды образуют гексагональное кольцо в конфигурации «кресло». Это заметно при виде на структуру льда I_h сверху по оси c . Двухмерный набор таких гексагональных колец, связанных друг с другом водородными связями, образует «базальную плоскость» льда.

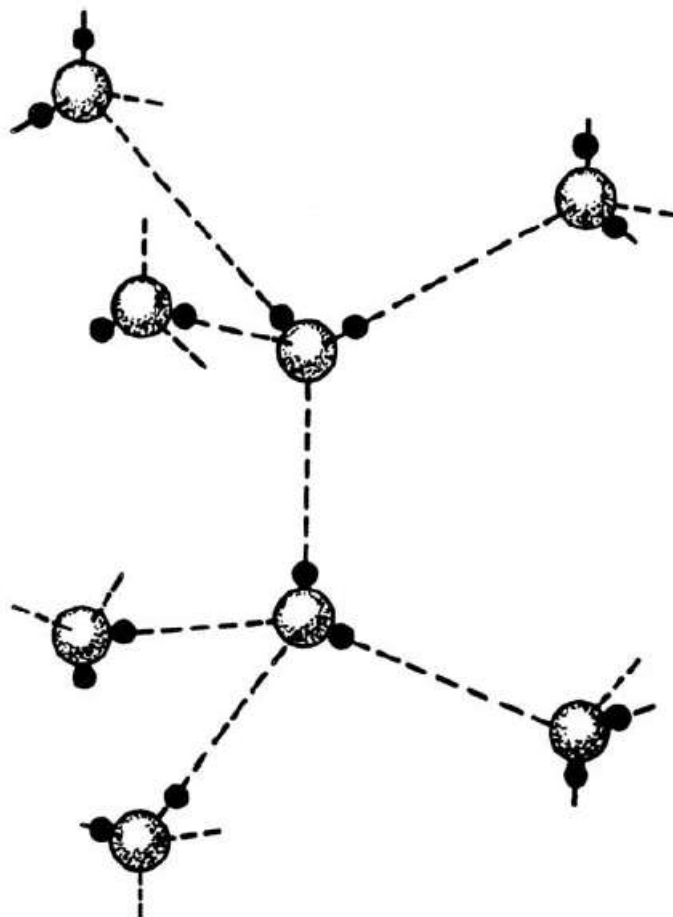


Рис. 1.3. Водородное связывание молекул воды в тетраэдрической конфигурации

В расширенной трехмерной структуре льда эти базальные плоскости словно уложены друг на друга и четко упорядочены, будучи связанными водородными связями перпендикулярно базальной плоскости. Кристалл льда I_h характеризуется двумя поверхностями: базальной плоскостью при виде сверху вдоль оси c и гранями призмы при виде по оси a . Базальная плоскость является монопреломляющей и тем самым служит оптической осью льда, тогда как грани призмы характеризуются двойным преломлением (являются двоякопреломляющими).

Из-за открытой водородно-связанной структуры атомы молекул воды занимают лишь 42% общего объема льда I_h . Остальные 58 % объема – это пустота, из-за которой плотность льда очень мала. Вместе с тем пустое пространство между молекулами воды во льду I_h недостаточно для размещения любых других молекул. Таким образом, при замораживании водного раствора (например, сахарозы или соли) вода кристаллизуется как чистый лед I_h , оставляя растворенные вещества в незамороженной жидкой фазе. Это свойство воды лежит в основе технологии концентрирования вымораживанием, используемой в пищевой промышленности для концентрирования жидких пищевых продуктов, в частности, молока и соков.

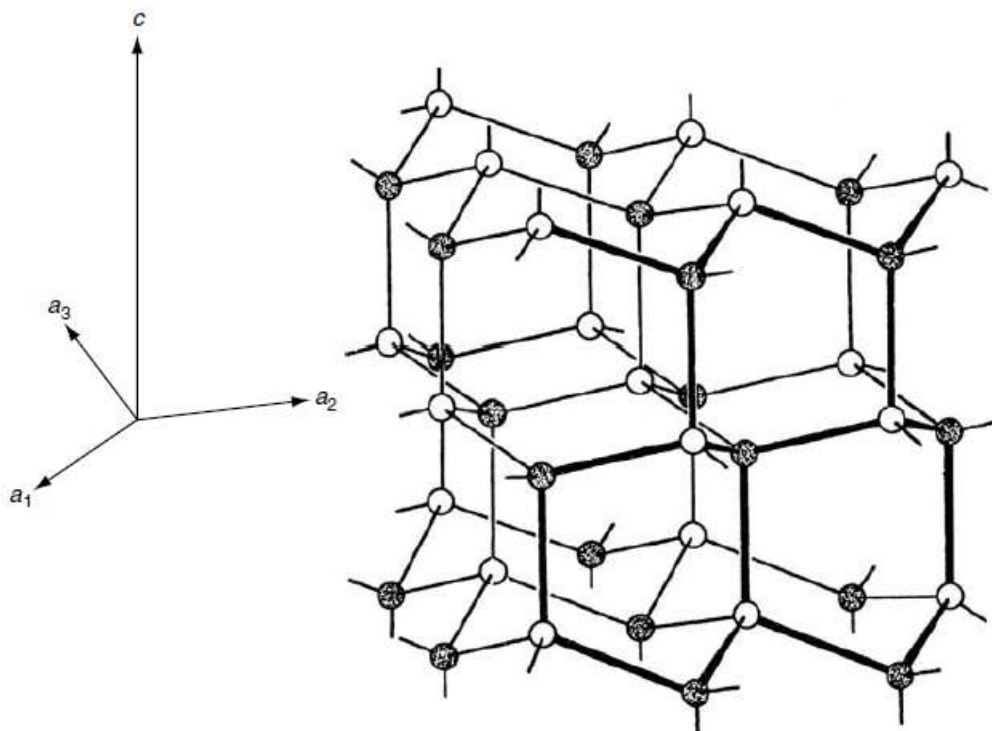


Рис. 1.4. Структура льда I_h. Белыми и темными кружками обозначены атомы кислорода в верхних и нижних слоях базальной плоскости соответственно

Структура льда не статична, а динамична. Водородные связи во льду образуют постоянное течение из-за ротации/колебания молекул воды в кристаллической решетке и явлений диссоциации/ассоциации протонов (что приводит к образованию H_3O^+ и OH^-). Подобные молекулярные явления приводят к образованию в кристаллах льда «дефектов», количество и степень проведения которых зависит от температуры. Водородные связи в кристалле льда статичны и не разрываются только при температуре $-180\text{ }^\circ\text{C}$ и ниже. По мере постепенного повышения температуры в направлении $0\text{ }^\circ\text{C}$ вибрация (осцилляция) молекул в структуре кристаллической решетки и процессы диссоциации и ассоциации протонов усиливаются. При температуре около $0\text{ }^\circ\text{C}$ энергия вибрации некоторых молекул воды возрастает настолько, что они «выбиваются» из кристаллической решетки. Считается, что при температуре $-10\text{ }^\circ\text{C}$ средняя амплитуда вибраций молекул воды в кристаллической решетке льда составляет около $0,4\text{ \AA}$. К подобным структурным дефектам льда имеют отношение лишь высокий коэффициент тепловой диффузии протонов (табл. 1.1) и небольшое уменьшение электропроводности при переходе воды в твердое состояние.

1.3.2 Структура воды в жидком состоянии

Так как вода во всех биологических системах – это главный растворитель, она необходима для образования макромолекулярных биологических структур типа биомембран, белков и ферментов, и само функционирование этих биологических структур зачастую происходит при помощи воды в

жидком состоянии. Все это привлекает к структуре воды огромный интерес со стороны ученых. В отличие от органических жидкостей, молекулы которых находятся в относительно неупорядоченном состоянии и удерживаются вместе в основном силами Ван-дер-Ваальса, действующим на коротких расстояниях, считается, что вода в жидком состоянии характеризуется определенной локальной упорядоченностью в виде водородосвязанных кластеров, в которых ориентация и мобильность отдельной молекулы воды регулируется и/или находится под влиянием соседних молекул воды. Подобные структурированные кластеры разных размеров, насчитывающие от 3 до более чем 200 молекул воды, способны быстро распадаться и преобразовываться, однако они находятся в состоянии термодинамического равновесия, благодаря чему всегда сохраняется количество таких ассоциированных структур. У воды в жидком состоянии эти кластеры под действием слабых Ван-дер-Ваальсовых сил могут принимать различные конфигурации.

Появление модели «трепещущих кластеров» молекул воды обусловлено разными ее физическими свойствами. Как мы уже отмечали, во льду молекулы воды занимают лишь 42% общего объема, а остальной объем остается пустым, и структура льда считается открытой. Когда при 0 °С лед начинает таять и вода переходит в жидкое состояние, этот «пустой» объем физически занимает молекулами воды лишь на 60% от теоретически возможного для случайно «упакованных» молекул в жидкости. Несмотря на то, что частично это обусловлено более высокой плотностью жидкой воды по сравнению со льдом, все равно приходится предполагать, что у воды в жидком состоянии открытая структура, похожая на структуру льда, то есть многие молекулы воды в жидком состоянии по-прежнему входят в состав сетки из водородосвязанных тетраэдрических кластеров, как у льда. Эмпирически это проявляется следующим образом: скрытая теплота плавления (таяния) льда и скрытая теплота сублимации льда при 0 °С составляет соответственно 334 и 2838 Дж/г. Если предположить, что теплота сублимации отражает энергию, необходимую для разрыва всех водородных связей льда для перехода из твердого в газообразное состояние, то количество водородных связей, которые необходимо разорвать, чтобы лед при 0 °С растаял до жидкой воды с температурой 0 °С, составляет лишь 12% от общего количества водородных связей у льда (то есть 334 из 2838). Более углубленный анализ показывает, что каждая молекула воды в жидком состоянии водородосвязана с 3,4 молекул воды, тогда как во льду – с 4. Для превращения льда в воду при 0 °С это требует разрыва примерно 15 % водородных связей. Из этого следует, что примерно 85% водородных связей льда при 0 °С сохраняются и в воде при той же температуре. Вместе с тем, в отличие от льда, большинство водородных связей в воде геометрически изменяются (изгибаются, поворачиваются или растягиваются) из-за более сильного теплового движения молекул. Тем самым структуру воды в жидком состоянии можно считать частично кристаллической структурой растаявшего льда, в которой сохраняется

локальная упорядоченность близко расположенных молекул, однако утрачена их упорядоченность на дальних расстояниях.

При таянии льда при 0 °С и образовании воды в жидком состоянии с температурой 0 °С при повышении температуры до 50 °С длина водородной связи между ближайшими соседними молекулами возрастает до 2,9 Å. В результате такого увеличения расстояния между ближайшими соседними молекулами можно было бы ожидать снижения плотности с повышением температуры. Вместе с тем, по мере таяния льда и повышения температуры с 0 до 50 °С количество молекул воды в первом слое ближайших соседей возрастает с 4 до 5, что вызывает увеличение плотности. Именно взаимодействие этих разнонаправленных событий (увеличение расстояния между ближайшими молекулами-соседями и их количества) является причиной того, что плотность воды проходит через максимум при температуре 3,98 °С. Здесь необходимо подчеркнуть, что при превращении льда в воду на функцию изменения плотности в зависимости от температуры больше влияет увеличение численности ближайших молекул-соседей, чем увеличение длины водородных связей между ними.

1.4 Вода с растворенными в ней веществами

1.4.1 Взаимодействия «вода – растворенное вещество»

Поскольку структура воды в жидком состоянии находится в динамическом равновесии между различными тетраэдрическими кластерами, соединенными водородными связями, появление в ней какого-либо растворенного вещества неизбежно вызывает сдвиг в равновесной структуре воды [4]. Таким образом, при растворении в воде какого-либо вещества (даже без специфических взаимодействий между ними) термодинамические свойства воды из-за энтропии смешивания меняются. Степень подобных изменений играет еще большую роль в случае наличия специфических взаимодействий между растворенным веществом и водой. Так как молекула воды является диполярной (диполем), она неизбежно взаимодействует с почти всеми растворенными в ней веществами путем связей «заряженная группа – диполь», «диполь – диполь» и «диполь – наведенный диполь». Относительная сила различных нековалентных взаимодействий между водой и функциональными группами растворенных веществ приведена в табл. 1.2. В зависимости от биохимической структуры растворенного вещества эти взаимодействия могут упрочнять или дестабилизировать тетраэдрическую структуру воды, молекулы которой соединены водородными связями. Эти изменения в структуре воды в жидком состоянии влияют на структуру и стабильность биомолекул типа белков и/или ферментов.

Классификация типов взаимодействия «вода – растворенное вещество»

Тип взаимодействия	Пример	Энергия связи, кДж/моль	Примечание
Ион – диполь	Негидратированный ион	40-600	В зависимости от размера иона и его заряда
Диполь – диполь	Вода – вода Вода – NH-группа белка Вода – CO-группа белка Вода – OH-группа	5-25 5-25 5-25 5-25	
Диполь – наведенный диполь (гидрофобная гидротация)	Вода – углевод (вода + R→R(гидр.))	Слабая	
Диполь – наведенный диполь (гидрофобное взаимодействие)	2R(гидр.) → R ₂	4-12	

1.4.2 Взаимодействие воды с ионными группами

Среди всех нековалентных взаимодействий, перечисленных в табл. 1.2. наиболее сильной является связь «ион – диполь» [5]. В водных растворах такая связь возникает между молекулой воды и мобильными ионами (например, солей) или иммобилизованными группами белков и полисахаридов:

$$E_{\text{ион-диполь}} = - \left(\frac{(ze)\mu}{4\pi\epsilon_0\epsilon} \right) \cdot \left(\frac{\cos\theta}{r^2} \right), \quad (1.1)$$

где z – количество зарядов на данном ионе; e – заряд электрона ($=1,602 \cdot 10^{-19}$ Кл); μ – дипольный момент воды ($= 1,85$ дебаев или $6,137 \cdot 10^{-30}$ Кл · м); ϵ_0 – диэлектрическая проницаемость вакуума ($= 8,854 \cdot 10^{-12}$ Кл²/Н · м²); ϵ – диэлектрическая постоянная среды ($= 1$ для воздуха или вакуума); r – расстояние между центрами конкретного иона и диполя; θ – угол диполя, который у мобильной свободной молекулы воды обычно равен нулю.

Существует достаточно доказательств, что ионы влияют на тетраэдрическую структуру молекул воды, соединенных водородными связями. В этом смысле все ионы можно разделить на две категории: небольшого радиуса и с высокой плотностью поверхностного заряда (Li^+ , Na^+ , Ca^{2+} , Ba^{2+} , Mg^{2+} и F^-), которые усиливают общую тетраэдрическую структуру молекул воды, соединенных водородными связями, и крупные ионы с низкой плотностью поверхностного заряда (Rb^+ , Cs^+ , Br^- , I^- , CN^- , SCN^- и NO_3^-), которые разрушают структуру воды. Ионы первой группы называют «космотропными», а второй – «хаотропными». Относительное влияние этих ионов на структуру обычной воды в жидком состоянии можно расположить по возрастанию с помощью последовательности Гофмейстера (*Hofmeister*).

Ионы Cl^- and K^+ оказывают минимальное влияние на структуру воды, и в последовательности Гофмейстера их относят преимущественно к нейтральным. Так как структура и стабильность белков в водных растворах зависят от структуры воды, хаотропные соли обычно приводят к денатурации белков и повышают растворимость неполярных веществ, тогда как космотропные соли повышают стабильность структуры белка и снижают растворимость неполярных веществ в водных растворах.

1.4.3 Взаимодействие молекул воды с нейтральными полярными группами

Молекула воды может взаимодействовать с несколькими нейтральными полярными (гидрофильными) растворенными веществами с помощью взаимодействия «диполь – диполь».

Потенциальная энергия этого взаимодействия составляет

$$E_{\text{диполь-диполь}} = - \left(\frac{\mu_1 \mu_2}{4\pi \epsilon_0 \epsilon} \right) \cdot \left(\frac{\cos \theta}{r^3} \right), \quad (1.2)$$

где μ_1 и μ_2 – дипольные моменты соответственно воды и полярной молекулы; r – расстояние между центрами диполей; θ – угол между диполями.

Поскольку уравнение 1.2 применимо почти ко всем случаям взаимодействия «диполь – диполь», оно дает значения энергии водородного связывания димеров воды и взаимодействия воды с другими полярными группам полисахаридов и белков менее $-5 \dots -6$ ккал/моль. Это необычная энергия взаимодействия обусловлена тем, что взаимодействие одной молекулы воды с другой или полярной ОН-группой представляет собой, как правило, скорее мультиполярное взаимодействие, а не взаимодействие «диполь-диполь». Прочность водородной связи между полярной группой растворенного вещества и молекулой воды обычно такая же, как прочность водородной связи между двумя молекулами воды. Тем самым вода в пищевых компонентах взаимодействует с полярными группами белков и углеводов так же, как молекулы воды взаимодействуют между собой. Вместе с тем, такое взаимодействие не приводит к образованию вокруг полярных молекул гидратационной оболочки, как это происходит вокруг ионов.

Как правило, при растворении в воде кого-либо вещества его молекулы связываются с молекулами воды, изменяя структуру водной фазы. Это касается любых растворенных веществ, в том числе нейтральных полярных и ионных. Вместе с тем, упрочнение или разрушение структуру водной фазы нейтральным полярным растворенным веществом зависит от пространственной и ориентационной совместимости водородных связей между молекулами воды и растворенного вещества с молекулами тетраэдрической водородносвязанной структуры водной фазы. В этом отношении молекулы сахарных спиртов (полиолов) упрочняют структуру тетраэдрической водородносвязанной водной фазы, тогда как разрушают ее водородные связи мочевины. Это было выяснено методами анализа дифракции нейтронов, показавшими, что несмотря на хорошую

смешиваемость мочевины с водой и ее способность замещать молекулы воды в сетке водородных связей, более крупный объем молекул мочевины разрушает ее водородные связи с водой, что проявляется в полном исчезновении второго ближайшего соседнего пика при 4,5 Å. Другими словами, мочевина разрушает, а сахарные спирты улучшают протяженную упорядоченную структуру водной фазы. Это не означает, что для двух категорий растворенных веществ изменяется (соответственно уменьшается или увеличивается) общее количество водородных связей в одной молекуле воды – из данного факта лишь следует, что в водной фазе меняется протяженная упорядоченность водородносвязанных кластеров.

Некоторые компоненты пищевых продуктов, в частности белки и полисахариды, содержат нейтральные полярные группы (амино-, амидо-, гидроксильные и карбонильные группы), способные образовывать с молекулами водой водородные связи. Как уже отмечено выше, прочность этих водородных связей такая же, как и между молекулами воды, в связи с чем считается, что в водной среде у молекул воды нет какого-либо предпочтения относительно водородного связывания с этими группами.

1.4.4 Взаимодействие воды с неполярными растворенными веществами

Несмотря на то, что большинство неполярных веществ не растворимы в воде и/или не смешиваются с ней, на молекулярной уровне вода способна взаимодействовать с неполярными растворенными веществами путем взаимодействий «диполь – наведенный диполь». У неполярных веществ нет постоянного дипольного момента, однако, когда дипольная молекула (типа воды) с дипольным моментом сближается с неполярной молекулой, она вызывает смещение облака электронов неполярной молекулы. Это приводит к возникновению наведенного дипольного момента $\mu_2 = \alpha_0 \mu_1 / 4\pi \epsilon_0 \epsilon$, где α_0 – способность неполярной молекулы к поляризации (в м³). Зависимость потенциальной энергии от взаимодействий «диполь – наведенный диполь» определяется формулой (1.3):

$$E_{\text{диполь-наведенный диполь}} = -\frac{\alpha \mu_1^2}{(4\pi \epsilon_0 \epsilon) r^3}, \quad (1.3)$$

где r – расстояние между центрами диполей.

Силы взаимодействия «диполь – наведенный диполь» между молекулами воды и неполярных веществ всегда являются силами притяжения, из чего следует, что на молекулярном уровне между водой и неполярными веществами отсутствует какая-либо «фобия». При этом возникает фундаментальный вопрос, почему на макроскопическом уровне неполярные вещества не растворимы в воде и/или не смешиваются с ней.

1.4.5 Гидрофобная гидратация

Для разрешения этого кажущегося противоречия предложены два объяснения. Согласно первому из них предлагается рассмотреть две

несмешиваемые жидкости, например, воду и *n*-октан. Межфазная энергия между ними определяется формулой (1.4):

$$\gamma_{12} = \gamma_1 + \gamma_2 - W_{\text{адг}}, \quad (1.4)$$

где γ_1 и γ_2 – соответственно значения поверхностного натяжения двух жидкостей; γ_{12} – межфазная энергия; $W_{\text{адг}}$ – «работа по адгезии» двух несмешиваемых жидкостей.

У большинства несмешиваемых жидкостей «работа по адгезии» имеет положительное значение (например, для воды с *n*-октаном 43,76 эрг/см²), а это означает, что действуют силы притяжения и, следовательно, между водой и углеводородом нет «фобии». Вместе с тем, энергия этого притягивающего взаимодействия (обусловленного взаимодействием «диполь – наведенный диполь» между водой и углеводородом) недостаточно велика, чтобы разорвать водородные связи воды так, чтобы углеводород мог перейти в раствор. Предположим, например, что концентрация молекул воды на границе раздела фаз «воздух – вода» составляет около $5,7 \cdot 10^{-10}$ моль/см². Тогда «работа по адгезии» между водой и *n*-октаном на границе раздела между ними составит 43,76 эрг/см², что соответствует энергии силы притяжения лишь – 1,85 ккал/моль, тогда как средняя энергия водородного связывания чистой воды составляет около – 6 ккал/моль. Таким образом, энергия притяжения между водой и *n*-октаном недостаточна для разрыва водородных связей воды, что ограничивает растворимость октана (и аналогичных неполярных веществ) в воде.

Второе объяснение базируется на экспериментальных данных по термодинамическим изменениям, происходящим при переходе некоторого неполярного вещества (типа циклогексана или метана) из газообразного состояния или неполярного растворителя в воду. Изменение энтальпии (ΔH) при таком переходе отрицательное или равно нулю в зависимости от перехода из газообразного или жидкого состояния, однако изменение свободной энергии (ΔG) при таком переходе всегда положительное, что свидетельствует о том, что с термодинамической точки зрения этот переход нежелателен. Поскольку $\Delta G(\Delta H - T\Delta S)$ (где ΔS – изменение энтропии), из этого следует, что когда углеводород переходит из неполярной среды в водную, в последней происходит большое изменение энтропии в отрицательную сторону, намного превышающее любое (положительное) изменение энтальпии, то есть общая свободная энергия при таком переходе положительна ($\Delta G > 0$). Такое изменение энтропии в отрицательную сторону обуславливает, что простое присутствие неполярного вещества в водной среде приводит к увеличению «упорядоченности» или «структурированности» воды. Еще важнее то, что ориентация связей между молекулами такой «структурированной» существенно отличается от их ориентации в обычных водородно-связанных кластерах.

При попадании неполярного растворенного вещества в водный раствор молекулы воды взаимодействуют с поверхностью неполярного вещества по связи «диполь – наведенный диполь». Тем не менее, для поддержания вблизи

неполярной молекулы своих взаимодействий с другими молекулами воды путем водородного связывания вода вынуждена «раздвигать» поверхность неполярной молекулы и переориентировать ее так, чтобы максимальное количество орбиталей ее водородных связей (и доноров, и акцепторов) было направлено от неполярной поверхности. Такая реорганизация называется «гидрофобной гидратацией», и она существенно отличается от ионной гидратации или гидратации полярных растворенных веществ, где нет необходимости в подобной переориентации. Неполярное растворенное вещество с таким типом гидратационной оболочки называют «клатратным гидратом», и молекулы воды с таким типом гидратационной оболочки полностью утрачивают свою ротационную свободу. Клатратные гидраты стабильны при низких температурах и при очень высоком давлении (например, в глубинах океана, в арктических и антарктических льдах), но очень нестабильны в обычных условиях.

Главным следствием такой структурной реорганизации молекул воды вблизи неполярного растворенного вещества является то, что ориентация водородносвязанных молекул воды в структуре клатрата очень отличается от их ориентации в водородносвязанных кластерах воды в чистой воде и во льду. Ориентация связанных молекул воды во льду и в чистой воде – со смещением, тогда как в клатратном гидрате она с перекрытием. Конфигурация со смещением отличается от конфигурации с перекрытием тем, что двугранный угол водородных связей меняется примерно на 60° . В конфигурации со смещением единственная пара электронов атомов кислорода находятся ближе друг к другу, чем при конфигурации с перекрытием, и возникает более сильное отталкивание отдельных пар электронов, вызывающее деформацию водородной связи. Утрата свободы вращения двугранного угла водородной связи наряду с деформацией водородной связи уменьшают энтропию воды, что делает присутствие неполярного растворенного вещества невыгодным с термодинамической точки зрения. Чтобы сохранить свою энтропию, молекулам воды необходимо минимизировать связи с неполярными растворенными веществами. Для этого вода заставляет молекулы последних агрегироваться или ассоциироваться друг с другом так, что молекулы воды, высвобождающиеся из оболочек клатратов, могут восстановить свою начальную высокую энтропию. Этот процесс, обратный гидрофобной гидратации с изменением свободной энергии $\Delta G < 0$, называют «гидрофобным взаимодействием». Следует подчеркнуть, что в таких условиях взаимодействие между неполярными растворенными веществами возникает не из-за естественных ван-дер-ваальсовых сил притяжения, а благодаря энтропийной силе структуры воды, так что энергия гидрофобного взаимодействия намного выше, чем у ван-дер-ваальсового.

Среди биологов и биохимиков существует консенсус относительно того, что вторая из вышеизложенных гипотез более правдоподобно объясняет термодинамическую несовместимость воды и неполярных веществ. Изменение структуры воды при попадании в нее неполярных растворенных

веществ и склонность воды к восстановлению своей высокой энтропии составляют ядро эволюции биологических структур типа белков, биомембран, других клеточных структур, так что вполне вероятно, что и вообще эволюции жизни, основанной на углероде. Например, у фосфолипидов есть как гидрофильные (фосфатные, «голова») группы, так и гидрофобные (ацильные звенья высокомолекулярных липидов). Невыгодное с термодинамической точки зрения взаимодействие воды с этими ацильными звеньями вынуждает фосфолипиды агрегироваться в мицеллы или липидные бислоиные структуры. В этих структурах ацильные звенья («хвост») удалены от поверхности непосредственного контакта с водной фазой, с которой контактируют гидрофильные фосфатные концы («голова»). Аналогичным образом у белков имеются полярные и неполярные аминокислотные остатки. Из-за термодинамической потребности избежать контакта с неполярными аминокислотными остатками и максимизации взаимодействия с полярными аминокислотными остатками вода вынуждает белки «сворачиваться» (выполнять фолдинг) и принимать трехмерную структуру, в которой большинство неполярных остатков оказываются «заглублены», а полярные располагаются у поверхности молекулы и обращены к воде.

1.5 Активность воды

Без воды все живые организмы обойтись не могут. Она выполняет функции растворителя при биологических реакциях и транспортных процессах, а также функции реакционноспособного вещества в некоторых биологических реакциях. Несмотря на то что для живых клеток необходимо высокое содержание воды, для консервации пищевых продуктов она нежелательна, так как способствует процессам микробиологической порчи и другим процессам разложения немикробиологической природы, протекающим в ходе хранения. Известно, что различные пищевые продукты с одинаковым содержанием влаги существенно различаются по своей лежкоспособности, а это заставляет предположить, что подверженность порче или лежкоспособность обусловлены не самим присутствием воды, а ее «состоянием» или термодинамической активностью в пищевых продуктах. При одном и том же содержании влаги термодинамическая активность воды в различных пищевых продуктах может различаться в зависимости от химического состава продуктов и интенсивности взаимодействий «ион – диполь», «диполь – диполь» и «диполь – наведенный диполь» между водой и разными химическими группами. Из этого следует, что вода, «связанная» с этими химическими группами в пищевых продуктах, оказывается недоступной для роста микроорганизмов или для участия в тех или иных реакциях гидролиза, приводящих к ухудшению качества продуктов (в отличие от «свободной» воды). Таким образом, понятие «активность воды» некоторого пищевого материала отражает термодинамическое (энергетическое) состояние или эффективную концентрацию воды в пищевых материалах,

реально участвующую в различных биологических процессах или химических реакциях.

По законам классического термодинамики активность воды в некоторой водной системе связана с ее эффективной концентрацией в этой системе. Активность воды в объемной фазе принимается за единицу и в идеальном растворе значение активности воды a_w мольной доле воды в растворе X_{H_2O} , то есть

$$a_w = X_{H_2O} = \frac{n_{H_2O}}{n_{H_2O} + n_{solute}}, \quad (1.5)$$

где n_{H_2O} – число молей воды; n_{solute} – число молей растворенного вещества в системе.

Для водных растворов типа сахарных сиропов или соляных растворов, когда концентрация выражается в моляльных (m) единицах, уравнение (1.6) сводится к

$$a_w = X_{H_2O} = \frac{55,5}{55,5 + n_{solute}}. \quad (1.6)$$

В идеальных растворах прилагательное «идеальный» означает, что не происходит никаких реакций между растворителем и растворенным веществом, разными растворителями или растворенными веществами, или энергии взаимодействия между ними равны, так что энтальпия смешивания (ΔH_{mix}) равна нулю, а энтропия смешивания идеальная.

Поскольку свободная энергия смешивания Гиббса равна

$$\Delta G_{mix} = \Delta H_{mix} - T\Delta S_{mix}, \quad (1.7)$$

а в идеальных растворах $\Delta H_{mix} = 0$, свободная энергия смешивания определяется только энтропией смешивания, то есть

$$\Delta G_{mix} = -T\Delta S_{mix}. \quad (1.8)$$

Реальные растворы зачастую отличаются от идеальных, и их отличия обусловлены тем, что между молекулами растворенного вещества и растворителя возникают силы притяжения или отталкивания. Силы притяжения между растворенным веществом и растворителем (водой) приводят к отклонениям от идеального состояния с отрицательным знаком, то есть измеренная активность воды ниже, чем фактическая мольная доля воды в системе ($a_w < X_w$). Подобная ситуация характерна прежде всего для тех пищевых продуктов, в которых сильное взаимодействие «ион – диполь» и «диполь – диполь» воды с ионными и водородно-связанными группами белков и полисахаридов приводит к тому, что часть воды в этих продуктах оказывается связанной с матриксом пищевого продукта, а это обуславливает снижение эффективной концентрации воды, доступной для биологических процессов и химических реакций. Любое отклонение от идеального состояния можно выразить путем изменения уравнения (1.9).

$$a_w = \gamma_w X_w \quad (1.9)$$

где γ_w – коэффициент активности воды в данной системе.

Надежность применения значений a_w (или p_w/p_w^0) для прогнозирования безопасности и стабильности пищевых продуктов зависит от двух важных

допущений. Во-первых, истинное термодинамическое равновесие между водой в пищевом материале и водяным паром над ним определяется в замкнутой системе. Во-вторых, ни один из неводных компонентов этого пищевого материала не должен претерпевать фазовых изменений в ходе хранения. Если для жидких пищевых продуктов эти допущения легко выполнимы, в составных твердых пищевых продуктах или полутвердых продуктах (эмульсионной природы) эти допущения могут не соблюдаться, поскольку для установления истинного равновесного состояния может понадобиться несколько суток, и растворенные вещества могут медленно и постоянно претерпевать фазовые изменения, переходя из аморфного в кристаллическое состояние. В последнем случае многое зависит от природы растворенного вещества, и значение a_w не может служить надежным показателем химической, физической и микробиологической стабильности пищевых продуктов, так как фазовое изменение любого из компонентов этого пищевого продукта меняет его значение a_w .

Изотермы сорбции влаги. Активность воды пищевого материала является мерой изменения в нем свободной энергии воды. Это изменение свободной энергии обусловлено энтропией смешивания (ΔS_{mix}) и энтальпией (ΔH_{mix}) взаимодействия между молекулами воды и растворенного вещества в данном пищевом материале. Таким образом, путем построения обратного графика зависимости содержания влаги в пищевом продукте как функции a_w можно получить термодинамическое состояние воды в данном пищевом материале при разных условиях и соотнести его с химическими и физическими изменениями, а также с микробиологической порчей пищевых продуктов. Такие графики зависимости называют «изотермами сорбции влаги» (ИСВ).

ИСВ обычно строят методом ресорбции (или адсорбции), когда полностью высушенный материал выдерживают в условиях контролируемой влажности при постоянной температуре. Как правило, для создания в камерах сред с разной влажностью используют различные насыщенные солевые растворы (табл. 1.3).

Таблица 1.3

Значения активности воды различных насыщенных растворов

Используемая соль	Показатель активности воды
Хлорид лития	0,120
Ацетат калия	0,225
Хлорид магния	0,336
Карбонат калия	0,440
Нитрат аммония	0,625
Хлорид натрия	0,755
Сульфат лития	0,850
Сульфат калия	0,970

Образец выдерживают в камере при заданной влажности до тех пор, пока его масса перестанет изменяться (обычно несколько суток). Чистая прибавка массы образца при равновесном состоянии и данном значении (или

относительной влажности) позволяет судить о содержании влаги в образце (г воды/г сухой массы образца) при данном значении a_w . Форма и расположение кривых на ИСВ пищевых материалов зависят от состава данного материала и фазового состояния его компонентов. Обычно изотермы сорбции влаги под разделяют на три категории. Пищевые материалы с высоким содержанием кристаллических веществ типа сахара и леденцовой карамели дают ИСВ типа J, для которой характерна плоская кривая с очень низким содержанием влаги до значений $a_w \approx 0,8$, после которых при $a_w > 0,8$ следует резкий подъем кривой содержания влаги (рис. 1.5, тип 1). В изотермах подобного типа перегиб кривой в районе $a_w \approx 0,8$ называется точкой растворения за счет поглощения влаги, когда пищевой матрикс начинает растворяться и переходить в раствор. Пищевые продукты с очень гигроскопичными компонентами типа антислеживающих агентов и некоторых солей (например, CaCl_2 и MgCl_2) дают ИСВ типа 3 (рис.1.5), которая характеризуется резким увеличением содержания влаги даже при небольших значениях активности воды. Большинство составных пищевых продуктов с полимерными ингредиентами типа белков и полисахаридов, а также с аморфными компонентами обычно дают изотерму сигмоидального типа (рис. 1.5, тип 2). Такая сигмоидальная форма кривой обусловлена частично присутствием различных классов химических групп (то есть ионных и водородно-связанных) с различным сродством с молекулами воды. Примеры изотерм сорбции влаги различных пищевых материалов, которые характеризуются сигмоидальной формой кривой и кривой J-типа, приведены на рисунке 1.5. Кристаллическая сахароза и целлюлозные волокна характеризуются изотермами J-типа, тогда как ксантановая камедь, готовые к употреблению зерновые завтраки, сывороточный белок и овсяные отруби – изотермой сигмоидального типа.



Рис. 1.5 Схематическое представление трех типов изотерм сорбции влаги, характерных для большинства пищевых продуктов: тип 1 – кристаллические вещества сахара и леденцовой карамели, тип 2 – белки, камеди и аморфные вещества, тип 3 – антислеживающие агенты, например, силикагель и некоторые соли, CaCl_2 MgCl_2

Интерпретация изотерм сорбции влаги. Поскольку значение активности воды представляет ее энергетическое состояние, а оно влияет на химико-физические изменения и рост микроорганизмов в пищевых продуктах, желательно как можно глубже понимать фундаментальные физические

принципы, лежащие в основе связей и роли воды в пищевых продуктах. Из нелинейного характера связей между активностью воды и ее содержанием в пищевых продуктах, обуславливающего сигмоидальную форму изотермы сорбции, можно сделать вывод, что вода существует в них при разном содержании влаги в различных связанных состояниях. Сигмоидальную кривую сорбции влаги можно разделить на три области (зоны), показанные на рис. 1.6, которые соответствуют трем различным связанным состояниям воды. Первая зона (I) соответствует области до первого перегиба кривой сорбции. Эта точка перегиба обычно появляется, когда активность воды в пищевом продукте достигает значений порядка 0,2-0,25. Энергетическое состояние воды в этой зоне I меняется по мере возрастания значения активности воды (и содержания влаги) с очень малых начальных значений ($\sim 0,02$) в сушеном продукте до примерно 0,2-0,25. Так как $\Delta G_w = RT \ln a_w$, изменение свободной энергии при содержании влаги, соответствующем $a_w = 0,02$, составляет при 25 °С около -9,68 кДж/моль. Эта вода тесно связана с матриксом пищевого продукта, поскольку ее ΔG_w равна $3,9 k_B T$. Со стороны более высокого содержания влаги зоны I, где $a_w = 0,2$, изменение свободной энергии составляет примерно -3,98 кДж/моль (или примерно $1,6 k_B T$). Таким образом, даже в зоне I молекулы воды в пищевом продукте находятся на разных энергетических уровнях – от -9,68 кДж/моль до -3,98 кДж/моль. Тем не менее, среднее энергетическое состояние предполагает, что вода в зоне I тесно связана с пищевым материалом. Эта вода чаще всего бывает связана с ионизированными группами посредством взаимодействий «ион – диполь» (особенно в нижнем конце зоны I); кроме того, она связана с некоторыми полярными группами посредством взаимодействий «диполь – диполь» (в верхнем конце зоны I). Содержание воды в пищевом продукте в этой зоне составляет обычно 7 % (г H₂O/г СВ). В этой первой зоне пищевой материал преимущественно сухой и сыпучий. Из-за ограниченных трансляционных и ротационных перемещений молекул, необходимых для образования льда, вода в зоне I остается в незамерзающем состоянии вплоть до температуры -40 °С.

Содержание влаги, соответствующее более «влажному» концу зоны I, называют «ВЕТ-монослоем». При таком содержании влаги в пищевом продукте гидратируются не все полярные группы, а лишь их часть с высоким сродством и стерической совместимостью с водой. Таким образом, ВЕТ-монослой представляет собой ненасыщенный монослой молекул воды, присоединенных только к сайтам связывания, обладающим высоким сродством. Гидратирование оставшихся полярных групп в матриксе пищевого продукта начинается, когда содержание влаги (или активность воды) повысится до значений, соответствующих зоне II. В этой второй зоне по мере повышения содержания влаги активность воды возрастает с 0,2 до 0,85. При 25 °С ΔG_w возрастает с -3,98 кДж/моль в нижнем конце зоны II до примерно -0,4 кДж/моль в более «влажном» конце этой зоны. Вторая зона потенциально разделяется на две подобласти: в зоне II-A молекулы воды связаны с молекулами пищевого продукта в основном посредством водородных связей,

а в зоне II-B молекулы воды соединены с неполярными участками молекул пищевого продукта слабыми взаимодействиями типа «диполь – наведенный диполь».

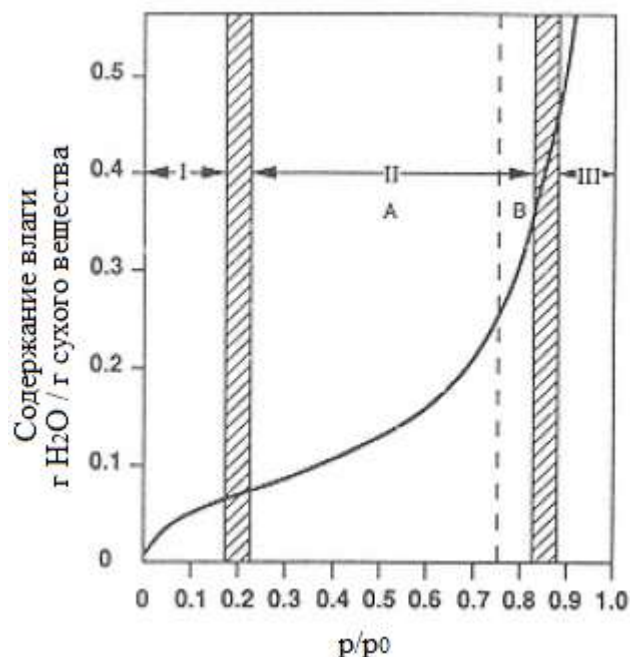


Рис. 1.6. Обобщенная изотерма сорбции влаги для диапазона низкого содержания влаги в пищевом продукте (при 20 °C)

Как и в случае с водой из зоны I, большая часть воды из зоны II также не замерзает при -40 °C, даже если ее средняя свободная энергия выше, чем у воды из зоны I. Когда общее содержание влаги в пищевом продукте близко граничной области зона II (включая воду из зоны I), вода преимущественно присутствует в форме насыщенного монослоя на молекулах пищевого продукта (белков и полисахаридов), покрывая ионизированные, полярные и неполярные поверхности. Молекулы воды в зонах I и II могут перемещаться с одного сайта связывания на другой, однако в насыщенном монослое всегда присутствуют два разных подмножества молекул воды – одно соответствует зоне I, а второе – зоне II. Термодинамические свойства молекул из этих двух подмножеств всегда различны. Так как молекулы воды из подмножества II соединены с молекулами пищевого продукта слабыми связями, они более мобильны, чем молекулы из зоны I, но все равно намного менее мобильны, чем в объемной фазе чистой воды. Такая повышенная мобильность позволяет молекулам из зоны II выполнять функцию пластификатора, приводить к набуханию матрикса пищевого продукта (что, в свою очередь, приводит к тому, что ранее «заглубленные» сайты водородного связывания выходят на поверхность и становятся доступны для молекул воды) и понижать температуру стеклования (T_g) пищевых материалов.

По мере постепенного увеличения количества молекул воды в граничной области между зонами I и II температура стеклования (T_g) пищевых материалов постепенно понижается, и при содержании влаги, соответствующем граничной области между зонами II и III, значение T_g

образца становится равным температуре образца (то есть температуре окружающей среды). Таким образом, граничная область между зонами II и III представляет собой критическое содержание влаги, при котором переход пищевого материала из стекловидного в резиноподобное состояние начинается при температуре окружающей среды. Этот переход характеризуется существенным увеличением вязкости, и в результате пищевой материал приобретает текучие свойства (он начинает таять). По мере дальнейшего увеличения содержания влаги в зоне III мобильность молекул воды и компонентов пищевого продукта (обратно пропорциональная вязкости) возрастает на несколько порядков. Критическое значение активности воды, при котором в большинстве пищевых продуктах наблюдается резкое изменение мобильности молекул воды, составляет 0,75-0,85. В зоне III возрастает скорость химических реакций и изменений физических (текстурных) свойств, которые в зонах I и II были ограничены недостаточной подвижностью молекул. Некоторые из этих изменений могут быть желательными, а другие – нежелательными. Такая повышенная мобильность молекул воды в зоне III способствует также росту микроорганизмов, способных участвовать в биологических процессах. По мере увеличения содержания влаги ближе к нижней границе зоны III вокруг молекул пищевого продукта (в частности, белков) формируются мультислои воды, и по мере приближения значения активности воды к единице макромолекулы начинают переходить в раствор.

Следует учитывать, что несмотря на то, что активность воды (и, следовательно, ее свободная энергия) возрастает нелинейно как функция содержания влаги в пищевом продукте, пулы молекул воды с низкой свободной энергией (соответствующей зонам I и II) существуют даже при очень высоком содержании влаги. Вместе с тем, количество молекул в этих «связанных» пулах образует очень небольшую часть всего содержания влаги, так что усредненные термодинамические свойства воды в том или ином пищевом продукте при высоком содержании влаги соответствуют свойствам воды в объемной фазе.

Активность воды и стабильность пищевых продуктов. Результаты многочисленных проведенных исследований убедительно свидетельствуют, что стабильность пищевых продуктов (их физико-химических и микробиологических показателей) зависит от значения a_w . Понимая зависимости между скоростями протекающих процессов и активностью воды, можно использовать последнюю как инструмент технологического контроля физико-химических и микробиологических процессов, происходящих в пищевых продуктах.

Что касается безопасности продукта для здоровья и его стабильности, то на изотерме сорбции влаги можно выделить две критические пороговые точки, а именно граничные области между зонами I/II и II/III. Значение активности воды в этих граничных областях обычно составляет соответственно 0,20-0,25 и 0,75-0,85. При $a_w < 0,25$ (зона I) пищевые материалы обычно представляют

собой сухие, преимущественно сыпучие порошки; недостаточная мобильность молекул тормозит скорость большинства химических реакций (за исключением окисления липидов), а недоступность воды для биологических процессов препятствует росту микроорганизмов. Так, при $a_w < 0,25$ пищевые продукты очень стабильны и безопасны для здоровья, но большинство из них попросту несъедобны (за исключением крекеров и чипсов). С другой стороны, при $a_w > 0,8$ пищевые продукты попадают в область резиноподобного состояния с высоким содержанием влаги (зона III), в которой мобильность молекул воды и других компонентов пищевых продуктов экспоненциально возрастает, способствуя повышению скорости нежелательных химических реакций и росту микроорганизмов, из-за чего при $a_w > 0,8$ пищевые продукты оказываются очень нестабильными и небезопасными для здоровья. Таким образом, область с промежуточным значением a_w , то есть $0,25 < a_w < 0,8$, которую называют областью с промежуточным значением активности воды, является единственной, в которой можно менять скорости химических реакций, физических и микробиологических изменений в пищевых продуктах путем тонкого регулирования содержания влаги и значения активности воды. Пищевые продукты, попадающие в эту область, называют «продуктами с промежуточным содержанием влаги».

1.6 Технологические проблемы продуктов с промежуточным содержанием влаги

Активность воды влияет на скорость окисления липидов в картофельных чипсах при температуре 35 °С. Полученные данные свидетельствуют, что скорость окисления липидов при очень низких и очень высоких значениях активности воды довольно высокая, а минимальная – при $a_w \sim 0,4$. Такое необычное явление можно объяснить следующим образом. В очень сухом состоянии отсутствует препятствие для контакта кислорода с липидом, что приводит к окислению последнего. Вместе с тем, по мере постепенного повышения содержания влаги до значений, соответствующих ВЕТ-монослою ($a_w \approx 0,4$), вода связывается с гидропероксидами липидов и обуславливает их разложение до свободных радикалов (этот этап необходим для окисления липидов). Кроме того, ВЕТ-монослой воды гидратирует также ионы металлов типа Fe^{2+} и Cu^+ , снижая их эффективность как катализаторов. Увеличение скорости окисления липидов при $a_w > 0,4$ обусловлено повышением мобильности молекул с соответствующим увеличением количества их столкновений с молекулами липидов и металлов-катализаторов. Таким образом, активность воды регулирует комплексные химические процессы, приводящие к окислению липидов. Также активность воды влияет на хрустящие свойства картофельных чипсов (по органолептической оценке). Следует отметить, что балльная оценка хрустящих свойств также снижается при значениях $a_w > 0,4$, что хорошо согласуется с тем фактом, что более высокая мобильность молекул воды, чем в ВЕТ-монослое (то есть в данном

случае $a_w > 0,4$) вызывает пластификацию и набухание микроструктуры картофельных чипсов, меняя их текстурные свойства. Интересно, что и увеличение окисления липидов, и утрата хрустящих свойств происходят при $a_w \ll 0,4$, что заставляет предположить взаимосвязанность этих процессов.

Активность воды влияет на протекание в пищевых продуктах реакции Майяра. Скорость снижения содержания лизина в сухом молоке при хранении при температуре 40 °С зависит от значения активности воды. Максимальные потери лизина наблюдаются при $a_w \approx 0,65$. Обусловлены они реакцией неферментативного потемнения (реакцией Майяра), известной также как реакция аминов с карбонильными группами, между лактозой (редуцирующим молочным сахаром сухого молока) и аминогруппой лизинового остатка молочных белков. Первой стадией реакции Майяра является обратимая реакция с образованием основания Шиффа:



Поскольку вода является одним из продуктов на ранней стадии этой реакции, ее скорость зависит от активности воды в образце. Соответственно, при очень низких значениях $a_w < 0,4$ частота столкновений между молекулами лактозы и аминогруппами очень мала из-за ограниченной их мобильности. По мере повышения значения a_w увеличение мобильности молекул приводит к ускорению реакции, достигающей своего максимума при $a_w \approx 0,65$. При $a_w > 0,65$ избыточное количество воды в пищевом материале сдвигает равновесие реакции (уравнение 1.10) влево, вызывая замедление реакции Майяра. Степень потемнения сухого молока является функцией активности воды. Зависимость потерь лизина и потемнения от активности воды подтверждает взаимозависимость этих двух процессов. Следует отметить, что скорость ферментативного гидролиза пренебрежимо мала до значений $a_w \approx 0,35$, а при $a_w \approx 0,4$ она резко возрастает.

От значения активности воды зависит и рост микроорганизмов в пищевых продуктах. Критические значения активности воды, необходимые для роста конкретных микроорганизмов, приведены в табл. 1.4. Как правило, скорости химических и ферментативных реакций, требующих участия воды как реакционноспособного вещества (например, при разложении аспартама, гидролизе лецитина и других видов гидролитического расщепления) постепенно возрастают при переходе пищевого материала в промежуточную зону активности воды (зону II) и ускоряются в зоне III, где молекулы воды достигают своей максимальной мобильности. С другой стороны, когда вода является одним из продуктов реакции (как в случае реакции Майяра), скорости химических реакций достигают максимума уже в промежуточной зоне активности воды (в зоне II). Когда вода не является ни продуктом, ни участником реакций (как, например, при окислении липидов), скорости этих реакций зависят в основном от молекулярной мобильности, так что в зоне II они постепенно возрастают, ускоряясь в зоне III. Что касается микроорганизмов (плесеней, дрожжей и бактерий), для роста которых требуется молекулярная мобильность, близкая к показателям свободной

объемной воды, то их рост в пищевых продуктах возможен лишь при значениях $a_w > 0,7$.

Из всего вышеизложенного следует, что пищевые продукты химически, физически и микробиологически наиболее стабильны в диапазоне $a_w = 0,2-0,4$, но в этом диапазоне он очень сухие, из-за чего практически несъедобны. С другой стороны, при $a_w 0,6-0,8$ содержание влаги в пищевом продукте достаточно для того, чтобы сделать его съедобным. Пищевые продукты с $a_w 0,6-0,8$ (с содержанием примерно 15-30% по сухой массе) зачастую называют «продуктами с промежуточным содержанием влаги». Такие продукты можно хранить без охлаждения, у них хорошая текстура, и им требуется меньше защитной упаковки. При этом ингибируется рост бактерии и дрожжей, но в этом диапазоне активности воды возможен рост плесеней. Рост плесеней можно контролировать путем доведения знамени рН до < 4 и/или путем внесения противогрибковых средств типа сорбата калия.

Таблица 1.4

Возможность роста микроорганизмов в пищевых продуктах при различных относительных давлениях водяного пара

Диапазон p/p_0	Микроорганизмы, рост которых обычно ингибирован при наименьшем значении p/p_0 данного диапазона	Пищевые продукты, для которых обычна характерен данный диапазон p/p_0
1,00-0,95	<i>Pseudomonas, Escherischa, Proteus, Shigella, Klebsialla, Clostridium perfringens</i> , некоторые дрожжи	Свежие скоропортящиеся продукты, консервированные фрукты, овощи, мясо, рыба, молоко; вареные колбасы и хлебобулочные изделия; продукты, содержащие до 7 % (масс./масс.) хлорида натрия или 40 % сахарозы
0,95-0,91	<i>Salmonella, Vibrio parahaemolyticus, C. botulinum, Serratia, Lactobacillus</i> , некоторые плесени, дрожжи (<i>Rhodolorula, Pichia</i>)	Некоторые сыры (Чеддер, Швейцарский, Мюнстер, Проволоне), посоленные мясопродукты (ветчина); некоторые концентраты фруктовых соков; содержащие до 12 % (масс./масс.) хлорида натрия или 55 % сахарозы
0,91-0,87	Многие дрожжи (<i>Candida, Torulopsis, Hansenula, Micrococcus</i>)	Ферментированные колбасные изделия (салями), бисквиты, сухие сыры, маргарин; содержащие до 15 % (масс./масс.) хлорида натрия или 65 % сахарозы
0,87-0,80	Большинство плесеней (микотоксигенные пенициллины), <i>Staphylococcus aureus</i> , большинство <i>Saccharomyces (bailii) spp., Debaryomyces</i>	Большинство концентратов фруктовых соков, сгущенное молоко с сахаром, шоколадный, кленовый и фруктовые сиропы; мука, рис, бобовые с содержанием влаги 15-17 %; пироги с фруктами; ветчина по-крестьянски; помадные массы
0,80-0,75	Большинство галофильных бактерий,	Джем, мармелад, марципан, глазированные фрукты, некоторые виды маршмеллоу

	микотоксиногенные аспергиллы	
0,75-0,65	Ксерофильные плесени (<i>Aspergillus chevalieri</i> , <i>A. Candidus</i> , <i>Wallemia sebi</i>)	Овсяные хлопья с содержанием влаги 10 %; зернистая нуга, фадж, маршмеллоу, желе, меласса, неочищенный тростниковый сахар, некоторые сухофрукты, орехи
0,65-0,60	Осмофильные дрожжи (<i>Saccharomyces rouxii</i>), некоторые плесени (<i>Aspergillus echinulatus</i> , <i>Monascus bisporus</i>)	Сухофрукты с содержанием влаги 15-20 %, ирис, карамель, мед
0,60-0,50	Микроорганизмы не размножаются	Макаронные изделия с содержанием влаги 12 %, специи с содержанием влаги 10 %
0,50-0,40	То же	Яичный порошок с содержанием влаги 5 %
0,40-0,30	То же	Печенье, крекеры, корочка хлеба и т.д. с содержанием влаги 3-5 %
0,30-0,20	То же	Сухое цельное молоко (СЦМ) с содержанием влаги 2-3 %; сушеные овощи с содержанием влаги 5 %; кукурузные хлопья с содержанием влаги 5 %

Контрольные вопросы

1. Приведите примеры аномальных свойств воды.
2. Что такое фазовая диаграмма состояний? Сколько тройных точек у воды? При каких условиях вода находится в тройной точке? Как можно применять фазовую диаграмму состояний воды в пищевой промышленности?
3. Опишите структуру молекулы воды и ее межмолекулярных взаимодействий.
4. Объясните с точки зрения межмолекулярных взаимодействий в жидкой и кристаллической воде почему лед легче, чем вода.
5. При какой температуре вода имеет наибольшую плотность?
6. Какие возможны типы взаимодействия воды и растворенного в ней вещества? Приведите примеры.
7. Дайте определение активности воды. Как активность воды влияет на качество пищевых продуктов и на сроки их годности?

Список использованной литературы

1. Fernandez P.P., Otero L., Guignon B., Sanz P.D. High-pressure shift freezing versus high-pressure assisted freezing: Effects on the microstructure of a food model // Food Hydrocolloids. – 2006. – Vol. 20, P. 510–522.
2. Clark G.N.I., Cappa C.D., Smith J.D., Saykally R.J., Head-Gordon T. The structure of ambient water // Mol. Phys. – 2010. – Vol. 108, P. 1415-1433.
3. Soper A.K., Castner E.W., Luzar A. Impact of urea on water structure: a clue to its properties as a denaturant? // Biophysical Chemistry. – 2003. – Vol. 105, P. 649–666.

4. Tanford C. The Hydrophobic Effect and the Organization of Living Matter // Science. –1978. – Vol. 200, P. 1012-1018.

5. Idrissi A., Gerard M., Damay P., Kiselev M., Puhovsky Y., Cinar E., Lagant P., Vergoten G. The Effect of Urea on the Structure of Water: A Molecular Dynamics Simulation // J. Phys. Chem. B. – 2010. – Vol. 114, P. 4731–4738

2 УГЛЕВОДЫ

Углеводы составляют более 90 % сухой массы растений. Они широко распространены, легко доступны и недороги. Углеводы (как нативные, так и добавляемые) являются обычными компонентами пищевых продуктов. Ассортимент продуктов, содержащих углеводы, а также потребляемое количество углеводов очень велики. Углеводы характеризуются различной молекулярной структурой, размером и формой молекул, обладают разными химическими и физическими свойствами и оказывают различное физиологическое действие на организм человека. Углеводы подвержены и химическим, и биохимическим модификациям, причем такие модифицированные углеводы с улучшенными свойствами широко применяются в промышленности.

Крахмал, лактоза и сахароза хорошо усваиваются здоровыми людьми и наряду с D-глюкозой и D-фруктозой являются источниками энергии, обеспечивая по среднемировым оценкам 70-80% поступления калорий с пищей. В США эта цифра немного ниже и широко варьирует в зависимости от конкретного человека.

Термин «углеводы» предполагает некоторую общую химическую структуру $C_x(H_2O)_y$, в которой наряду с атомами углерода содержатся атомы водорода и кислорода в том же соотношении, что и в молекуле воды, однако у подавляющего большинства природных углеводных соединений, вырабатываемых живыми организмами, структурные формулы гораздо сложнее. Более того, большинство природных углеводов имеют форму олигомеров (олигосахаридов) или полимеров (полисахаридов) простых и модифицированных сахаров. Источником низкомолекулярных углеводов зачастую служат деполимеризованные природные полимеры.

2.1 Моносахариды

Углеводы содержат хиральные атомы углерода, представляющие собой атомы, которые могут существовать в двух различных пространственных расположениях (конфигурациях). К хиральным атомам углерода присоединены четыре различные группы. Две различные пространственные конфигурации этих четырех групп являются не накладывающимися зеркальными отображениями друг друга (рис. 2.1), то есть одна из них является зеркальным отображением другой (все, что в одной конфигурации находится справа, то у другой – слева, и наоборот) [1].

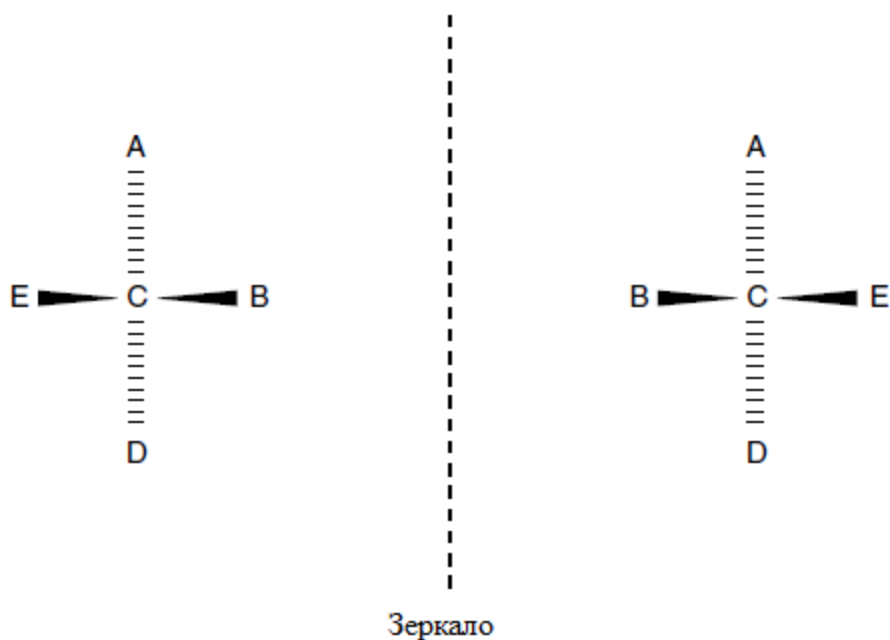


Рис. 2.1. Хиральный атом углерода. Символами А, В, D, и Е обозначены атомы, функциональные группы или группы атомов, присоединенные к атому углерода С. Полушпирными клиньями обозначены химические связи, направленные вдоль плоскости этой страницы, а черточками – связи, направленные перпендикулярно к ней

D-глюкоза наиболее распространенный углевод и органическое вещество (включая все его комбинированные формы), относится к классу углеводов, называемых моносахаридами. Моносахариды – это углеводы, которые не расщепляются гидролизом на более простые молекулы углеводов, и поэтому их иногда называют простыми сахарами. Они представляют собой мономерные единицы, образующие при их соединении более сложные структуры – олигосахариды и полисахариды, которые при гидролизе разлагаются на составляющие их моносахариды.

D-глюкоза – это одновременно и полиспирт, и альдегид. Ее относят к альдозам, то есть к сахарам с альдегидной группой (табл. 2.1). Суффикс «-оз» означает принадлежность к сахарам, а «альд-» означает альдегидную группу.

Таблица 2.1

Классификация моносахаридов

Число атомов углерода	Тип карбонильной группы	
	Альдегид	Кетон
3	Триоза	Триулоза
4	Тетроза	Тетрулоза
5	Пентоза	Пентулоза
6	Гексоза	Гексулоза
7	Гептоза	Гептулоза
8	Октоза	Октулоза
9	Ноноза	Нонулоза

Когда структуру D-глюкозы изображают в открытом (вертикальном) виде с прямой цепью (рис. 2.2, «ациклическая структура»), где сверху расположена альдегидная группа (у атома углерода 1), а снизу – первичная гидроксильная

группа (у атома углерода 6), то видно, что все вторичные гидроксильные группы располагаются на атомах углерода 2, 3, 4 и 5, у каждого из которых четыре различных присоединенных к ним заместителя, и поэтому они хиральны. Встречающаяся в природе глюкоза представлена D-формой, то есть D-глюкозой, у которой имеется зеркальное отражение, называемое L-глюкозой.

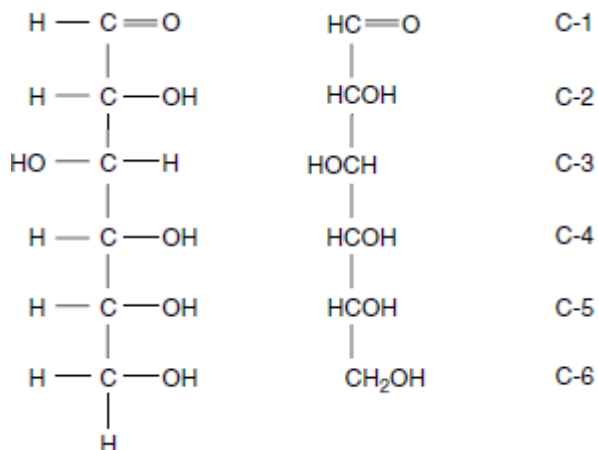


Рис. 2.2. Структурная формула D-глюкозы (с открытой цепью или ациклическая структура)

Так как зеркальное отражение характерно для всех хиральных атомов углерода, то всего для этих атомов может существовать 2^n конфигураций. Именно поэтому у альдозы из 6 атомов углерода (типа D-глюкозы с четырьмя хиральными атомами углерода) существует 2^4 , то есть 16 различных конфигураций углеродных атомов со вторичными гидроксильными группами, позволяющих образовывать из 6 атомов углерода 16 различных сахаров с альдегидной группой на конце. Восемь из них относятся к D-ряду (рис. 2.3), а восемь других являются их зеркальным отражением и относятся к L-ряду. Все сахара с расположенной справа гидроксильной группой при хиральном атоме углерода с наибольшим номером (в данном случае — C₅) условно называют D-сахарами, а все сахара с расположенной слева гидроксильной группой при хиральном атоме углерода с наибольшим номером — L-сахарами. Две структуры D-глюкозы в форме с открытой цепью или в ациклической форме, называемой проекцией Фишера, с пронумерованными атомами углерода представлены на рис. 2.2. В таком представлении каждая горизонтальная связь направлена вдоль плоскости страницы, а каждая вертикальная — перпендикулярно ей (обычно горизонтальные линии ковалентных связей к атомам водорода и гидроксильным группам опускают, см. структуру справа). Поскольку последний атом углерода нехирален, то относительное положение присоединенных к нему атомов и групп не указывают и записывают эту группу как —CH₂OH.

D-глюкоза и все другие сахара с шестью атомами углерода называют гексозами, относящимися к группе альдоз и представленными в природе в наибольшем количестве. Названия, определяющие принадлежность к классу,

зачастую комбинируют, и альдегидный сахар с шестью атомами углерода называют альдогексозой.

Существуют две альдозы с тремя атомами углерода – D-глицериновый (D-глицероза) и L-глицериновый альдегиды (L-глицероза), имеющие один хиральный атом углерода. У альдоз с четырьмя атомами углерода (тетрозы) два хиральных атома углерода, а у альдоз с пятью атомами углерода (пентозы) – три; последние образуют вторую по распространенности группу альдоз. Ряды с более чем шестью атомами углерода (гептозы, октозы и нонозы) завершают встречающиеся в природе сахара. Восемь D-гексоз на основе D-глицеринового альдегида представлены на рис. 2.3, где кружками обозначены альдегидные группы, горизонтальными черточками – расположение каждой карбоксильной группы на хиральном атоме углерода, а нижними концами вертикальных линий – концевая нехиральная первичная гидроксильная группа (–CH₂OH). Такой простейший способ отображения структуры моносахаридов называется структурой Розанова. Сахара, представленные на рис. 2.3, обычно обнаруживаются в растениях почти исключительно в комбинированных формах гликозидов, олиго- и полисахаридов (см. ниже). D-глюкоза – это единственная свободная альдоза, представленная в натуральных пищевых продуктах, причем в очень в малых количествах.

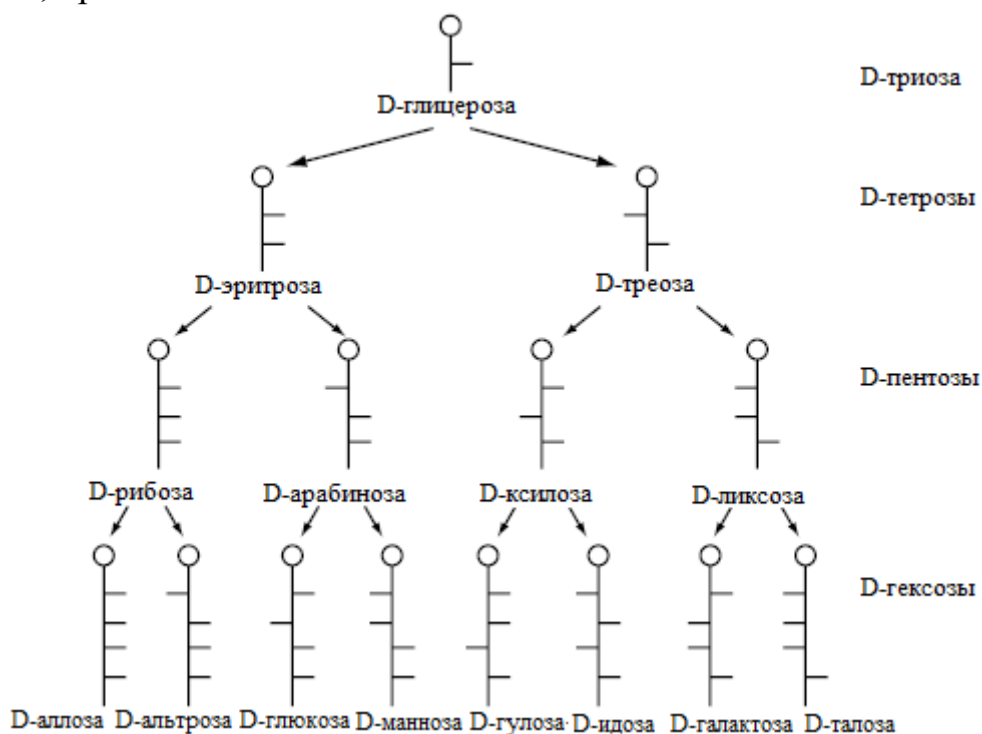


Рис. 2.3. Структура Розанова для D-альдоз, содержащих от 3 до 6 атомов углерода

L-сахаров меньше и они и менее распространены в природе, чем D-сахара, но они выполняют важные биохимические функции. К двум обнаруженным в пищевых продуктах L-сахарам относятся L-арабиноза и L-галактоза, каждый из которых входит в состав углеводных полимеров (полисахаридов).

В другом типе моносахаридов карбонильным соединением является кета-группа, и такие сахара называют кетозами («кет-» означает кета-группу). В

систематической номенклатуре углеводов суффикс «-улоз» обозначает принадлежность к кетозам (см. табл. 2.1). Первый представитель этой группы сахаров – D-фруктоза (систематическое наименование – D-арабино-гексулоза, рис. 2.4), являющаяся одной из двух моносахаридных единиц дисахарида сахарозы, которая составляет около 55% обычного высокофруктозного сиропа (ВФС) и около 40 % меда. У D-фруктозы только три хиральных атома углерода (C₃, C₄ и C₅), то есть существует 2³ (8) кетогексоз. D-фруктоза – единственная промышленно выпускаемая кетоза и единственная, обнаруженная в свободном состоянии в натуральных пищевых продуктах, причем, как и D-глюкоза, лишь в малых количествах.

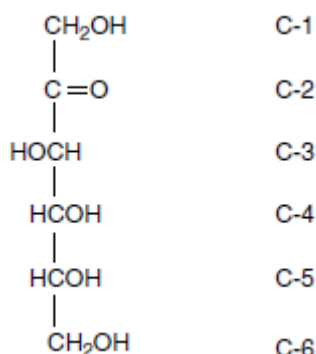


Рис. 2.4. Ациклическая структура D-фруктозы

2.1.1 Изомеризация моносахаридов

Простые альдозы и кетозы с одинаковым количеством атомов углерода являются изомерами друг друга. Так, гексоза и гексулоза имеют эмпирическую формулу C₆H₁₂O₆ и могут изомеризоваться друг в друга. Изомеризация моносахаридов охватывает карбонильную и соседнюю гидроксильную группу. При этой реакции одна альдоза превращается в другую с противоположной конфигурацией при C₂ и соответствующую кетозу, а последняя – в две соответствующие альдозы. Таким образом, при изомеризации D-глюкоза, D-манноза и D-фруктоза могут быть превращены друг в друга (рис. 2.5). Изомеризация катализируется как основаниями, так и ферментами.

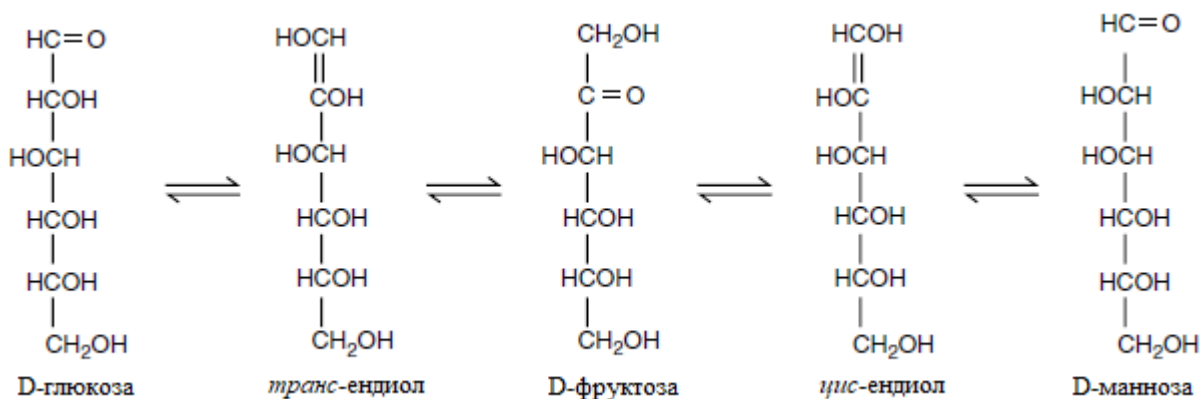


Рис. 2.5. Взаимосвязи D-глюкозы, D-маннозы и D-фруктозы при изомеризации

2.1.2 Формы колец моносахаридов

Карбонильные группы альдегидов реакционноспособны и быстро подвергаются нуклеофильной атаке атома кислорода гидроксильной группы с образованием полуацетала [2]. Гидроксильная группа полуацетала может реагировать далее с гидроксильной группой спирта с образованием ацетала (рис. 2.6). Карбонильная группа кетона реагирует аналогичным образом.

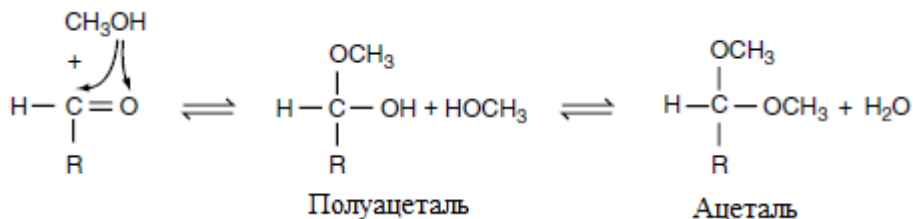


Рис. 2.6. Образование ацетала при реакции альдегида с метанолом

Образование полуацетала может происходить внутри одной молекулы альдозы или кетозы так, что карбонильная группа сахара реагирует с одной из его гидроксильных групп (рис. 2.7), где молекула D-глюкозы слева свернута). Шестичленное кольцо сахара, образовавшееся по реакции альдегидной группы с гидроксильной группой при C₅, называется пиразольным кольцом. Обратите внимание, что когда атом кислорода гидроксильной группы при C₅ реагирует с образованием кольца, то этот атом углерода должен вращаться так, чтобы атом кислорода оказался сверху. В ходе такого вращения гидроксиметильная группа C₆ переносится в позицию «над кольцом». Подобное представление D-глюкопиранозного кольца (см. рис. 2.7) называется проекцией Хеуорса (*Haworth*).

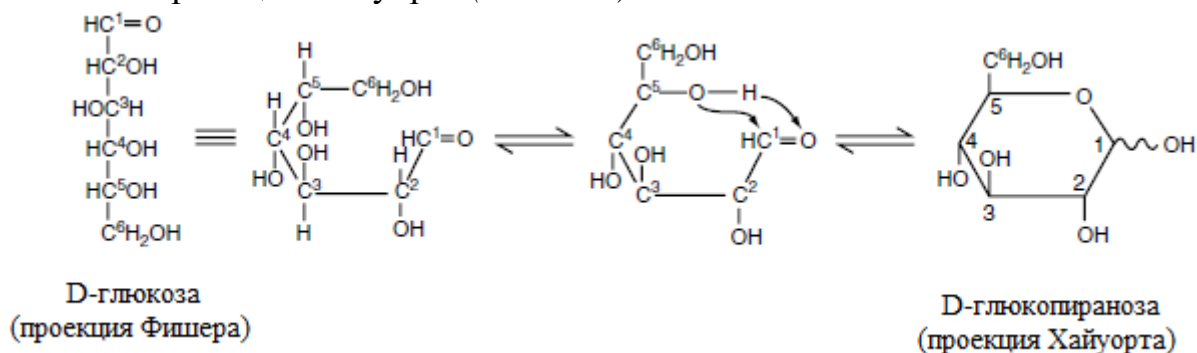


Рис. 2.7. Образование пиранозного полуацетального кольца из D-глюкозы

Сахара также встречаются в форме пятичленных (фуранозных) колец (рис. 2.8), но реже, чем в форме пиранозных.

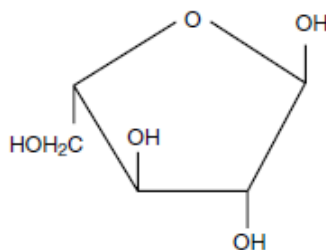


Рис. 2.8. L-арабиноза с кольцом в фуранозной форме и α-L-конфигурации

Во избежание путаницы при изображении структур колец приняты общие правила: атомы углерода в кольце изображаются углами, а присоединенные атомы водорода опускают. Смесь хиральных (аномерных*) форм обозначают волнистой линией (рис. 2.9).

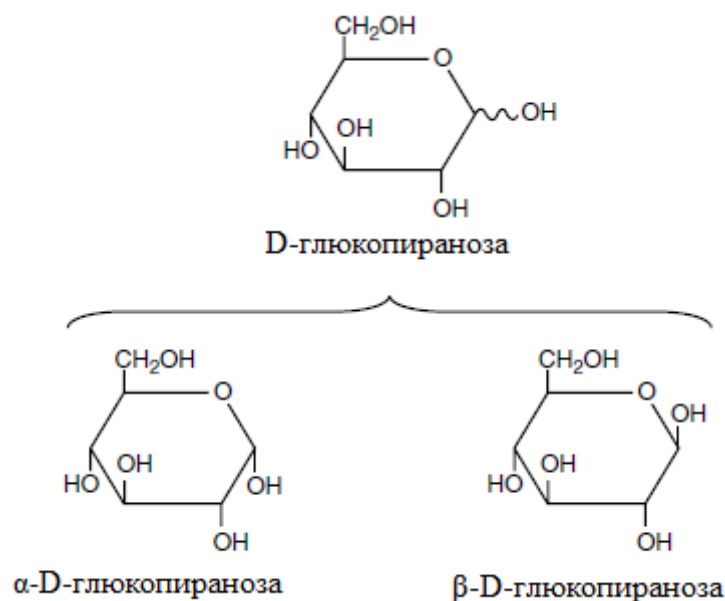


Рис. 2.9. D-глюкопираноза как смесь двух хиральных форм

Когда атом углерода карбонильной группы вовлечен в образование кольца с получением полуацетала (в виде пиранозного или фуранозного кольца), он становится хиральным. Для D-сахаров конфигурация с гидроксильной группой ниже плоскости кольца (в проекции Хеуорса) является α-формой, и поэтому α-D-глюкопираноза – это D-глюкоза в пиранозной (шестичленное кольцо) форме в конфигурации с новым хиральным атомом углерода C₁, называемым аномерным атомом углерода альфа (расположенным ниже плоскости кольца). Когда новообразованная гидроксильная группа при C₁ расположена выше плоскости кольца (в проекции Хеуорса), то она находится в β-положении, и такая структура называется β-D-глюкопиранозой. Это относится ко всем D-сахарам. Для сахаров L-ряда действует обратное правило, то есть аномерная гидроксильная группа расположена наверху в α-аномере и внизу – в β-аномере (см. рис. 2.8). Это обусловлено тем, что α-D-глюкопираноза и β-L-глюкопираноза являются зеркальными отражениями друг друга.

Вместе с тем, пиранозные кольца с присоединенными группами не являются плоскими и вытянуты вверх и вниз, как следует из проекции Хеуорса. Более того, они встречаются в различных формах (конформациях), чаще всего в одной из двух конформаций, названных кресло из-за их формы. В конформации кресла одна связь каждого атома углерода проецируется вверх или вниз от плоскости кольца (такие связи называют аксиальными). Другая связь не вовлечена в образование кольца и расположена выше или ниже относительно аксиальных связей, но по отношению к кольцу она расположена на периметре и называется поэтому экваториальным положением (рис. 2.10).

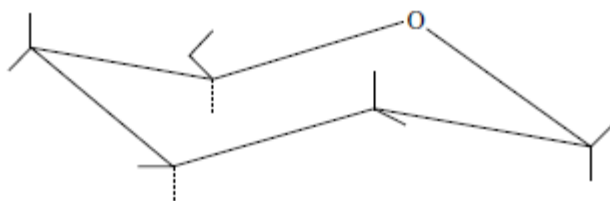


Рис. 2.10. Пиранозное кольцо в конформации «кресла» с указанием экваториальных (сплошная линия) и аксиальных (точечная линия) связей

На примере β -D-глюкопиранозы видно, что C_2 , C_3 , C_5 и атом кислорода кольца остаются в плоскости, C_4 располагается несколько выше, а C_1 – несколько ниже (см. рис. 2.10 и 2.11). Такая конформация обозначается 4C_1 . Обозначение «С» здесь происходит от англ. «Chair» (кресло). Верхний индекс указывает, что атом C_4 расположен выше плоскости кольца, а нижний – что атом C_1 расположен ниже его плоскости (существуют две формы кресла – во второй форме (1C_4) аксиальные и экваториальные группы расположены наоборот). В шестичленных кольцах нормальные углы между связями при атомах углерода и кислорода искажены меньше, чем в кольцах с другим количеством звеньев. Когда объемные гидроксильные группы максимально отделены друг от друга конформацией кольца, способствующей расположению большинства из них в экваториальных, а не аксиальных положениях, напряжение еще больше снижается. Экваториальное положение энергетически выгодно, и вращение атомов углерода, происходящее на соединяющих их связях, разворачивает объемные группы в экваториальных положениях на максимальное расстояние.

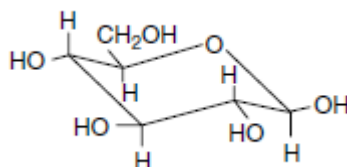


Рис. 2.11. β -D-глюкопираноза в конформации 1C_4 – все объемные группы находятся в экваториальном положении, а все атомы водорода – в аксиальном

Как мы уже отмечали, у β -D-глюкопиранозы все гидроксильные группы расположены в экваториальном положении, но каждая из них – несколько выше или ниже его. Это расположение гидроксильных групп β -D-глюкопиранозы относительно истинно экваториального положения чередуется (при C_1 несколько выше, при C_2 – несколько ниже и т. д.). Громоздкая гидроксиметильная группа C_6 у гексоз всегда находится в стерически свободном (незатрудненном) экваториальном положении. Если β -D-глюкопираноза имеет конформацию 1C_4 , то все объемные группы будут аксиальными. В 1C_4 конформации из-за гораздо более энергетически высокой формы существует лишь небольшая часть молекул D-глюкопиранозы.

Если объемные (гидроксильная и гидроксиметильная) группы находятся в экваториальных положениях, то шестичленные кольца сахаров достаточно

стабильны. Так, β -D-глюкопираноза растворяется в воде с быстрым достижением равновесия форм с открытой цепью и форм с 5-, 6- и 7-членными кольцами. При комнатной температуре преобладает шестичленная (пиранозная) форма, затем следуют пятичленные (фуранозные) формы колец. Конфигурация аномерного атома углерода (C_1 у альдоз) каждого кольца может быть альфа или бета. Равновесное отношение кольцевых форм зависит от конкретного сахара и температуры (примеры распределения кольцевых форм приведены в табл. 2.2).

Таблица 2.2

Равновесное распределение циклической и аномерной форм моносахаридов

Сахар	Пиранозные формы		Фуранозные формы	
	α -конфигурация	β -конфигурация	α -конфигурация	β -конфигурация
Глюкоза	36,2	63,8	0	0
Галактоза	29	64	3	4
Манноза	68,8	31,2	0	0
Арабиноза	60	35,5	2,5	0,5
Рибоза	21,5	58,5	6,5	13,5
Ксилоза	36,5	63	< 1	< 1
Фруктоза	4	75	0	21

Альдегидная форма с открытой цепью составляет лишь около 0,003% от общего количества форм, но из-за быстрых взаимопревращений с кольцевыми формами сахар может быстро реагировать так, словно он полностью находится в свободной альдегидной форме (рис. 2.12).

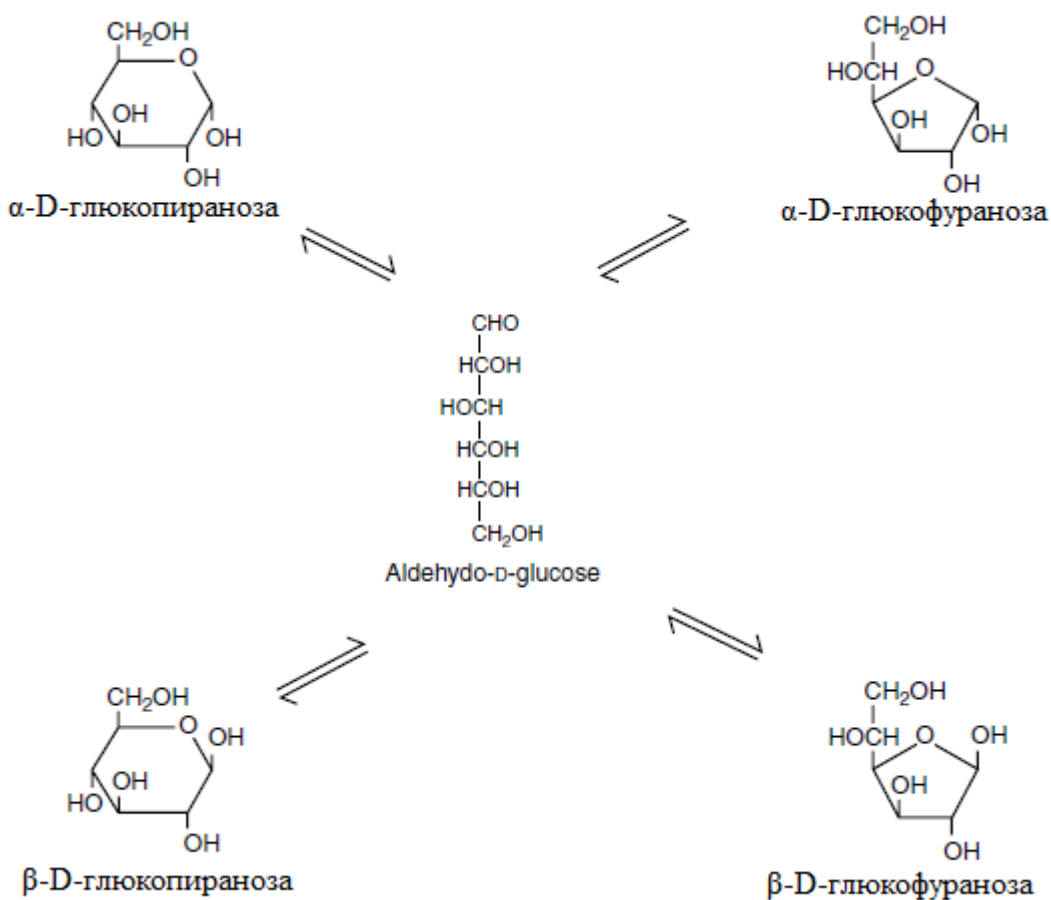


Рис. 2.12. Взаимопревращения ациклической и циклической форм D-глюкозы

2.1.3 Гликозиды

Полуацетальная форма сахаров может реагировать со спиртами с образованием полного ацетала, называемого гликозидом. В лабораторных условиях данная реакция протекает в безводных условиях в присутствии кислоты (в качестве катализатора) и при повышенных температурах, но чаще всего гликозиды образуются в природе в водной среде в ходе реакции, катализируемых ферментами, и по путям, включающим образование ряда промежуточных продуктов реакции (интермедиатов). Ацетальную связь при аномерном атоме углерода обозначают суффиксом «-ид». При реакции D-глюкозы с метанолом получается преимущественно метил α -D-глюкопиранозид с небольшим количеством β -D-глюкопиранозид (рис. 2.13). Образуются также две аномерные формы пятизвенных фуранозидов, но, обладая более высокоэнергетической структурой, они реорганизуются в более стабильные формы и в равновесном состоянии представлены в небольших количествах. В этом случае метильная и любая другая группа, связанная с сахаром, называется агликоном. Гликозиды подвергаются гидролизу в кислой среде с образованием редуцирующего сахара и гидроксильированного соединения. При повышении температуры гидролиз ускоряется.

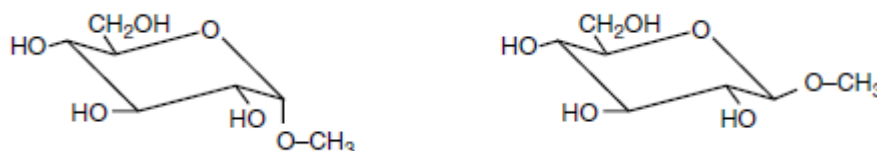


Рис. 2.13. Метил α -D-глюкопиранозид (слева) и метил β -D-глюкопиранозид (справа)

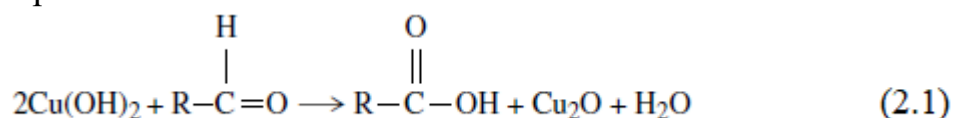
2.1.4 Реакции моносахаридов

Во всех молекулах углеводов имеются доступные для реакции гидроксильные группы. У простых моносахаридов и большинства других молекул углеводов с низкой молекулярной массой имеются также реакционноспособные карбонильные группы. Образование пиранозных и фуранозных колец (циклических полуацеталей) и гликозидов (ацеталей) мы уже рассматривали.

2.1.4.1 Окисление до альдоновых кислот и альдолактанов

Альдозы быстро окисляются до альдоновых кислот окислением альдегидной группы до карбоксильной или карбоксилатной группы. Эта реакция (2.1) обычно используется для количественного определения сахаров. В одном из ранних методов обнаружения и измерения содержания сахаров использовался реактив Фелинга, представляющий собой щелочной раствор меди (II), который окисляет альдозу до альдоновой кислоты и восстанавливается до меди (I), которая выпадает в осадок в виде Cu₂O кирпично-красного цвета. Разновидности этого метода (реактивы Шомоди-Нельсона и Бенедикта) до сих пор используют для количественного

определения редуцирующих сахаров в пищевых продуктах и других биологических материалах.



В процессе окисления альдегидной группы альдозы до соли карбоновой кислоты окисляющий агент останавливается сахаром, и поэтому альдозы называются редуцирующими (восстанавливающими) сахарами). Редуцирующими сахарами являются и кетозы, поскольку в щелочных условиях теста Фелинга кетозы изомеризуются до альдоз. Реактив Бенедикта реагирует с альдозами, но не с кетозами.

В простом и специфическом методе количественного определения сахаров путем окисления D-глюкозы до D-глюконовой кислоты используется фермент глюкозооксидаза, 1,5-лактон (внутримолекулярный эфир) этой кислоты (рис. 2.14). Эту реакцию обычно используют для количественного определения D-глюкозы в пищевых продуктах и других биологических материалах, в том числе для определения ее содержания в крови и моче. D-глюконовая кислота нативно присутствует во фруктовых соках и меде.

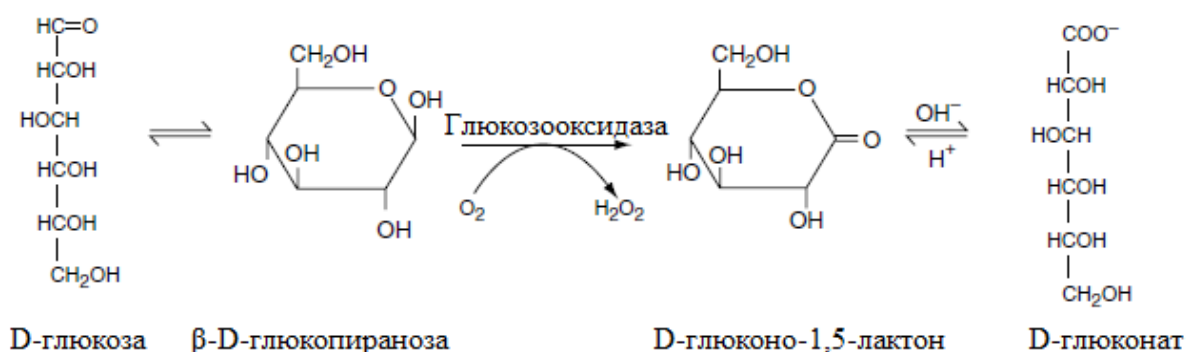


Рис. 2.14. Окисление D-глюкозы, катализируемое глюкооксидазой

Показанная на рис. 2.14 реакция также используется для промышленного производства D-глюконовой кислоты и ее лактона. D-глюконо-дельта-лактон (ГДЛ) или D-глюконо-1,5-лактон (по систематической номенклатуре) за 3 ч при комнатной температуре почти полностью гидролизует в воде, вызывая снижение значения рН. Его медленный гидролиз, обеспечивающий медленное подкисление и мягкий вкус, делает ГДЛ уникальным подкислителем, который широко применяют в производстве мясных и молочных продуктов, а также замороженного теста (как разрыхлитель).

2.1.4.2 Восстановление карбонильных групп

Гидрогенизация – это присоединение водорода к двойной связи. Для углеводов это означает присоединение водорода к двойной связи между атомом кислорода и атомом углерода карбонильной группы альдозы или кетозы. Гидрогенизация D-глюкозы (рис. 2.15) быстро протекает под действием газообразного водорода под давлением в присутствии катализатора

(никеля Ренея). В результате этой реакции образуется D-глюцитол, известный под названием сорбит (суффикс «-итол» означает «сахарный спирт», альдитол). Альдитолы называют также полиолами и полигидроксиспиртами. Будучи полученным из гексозы, D-глюцитол (сорбит) является гекситолом. Сорбит широко распространен в растениях (от водорослей до высших растений; он обнаружен в ягодах и фруктах, но в небольших количествах). Степень сладости сорбита составляет половину сладости сахарозы, реализуется он как в виде сиропа, так и в кристаллической форме. Сорбит используют в качестве увлажняющего агента, то есть для удержания влаги в продукте.

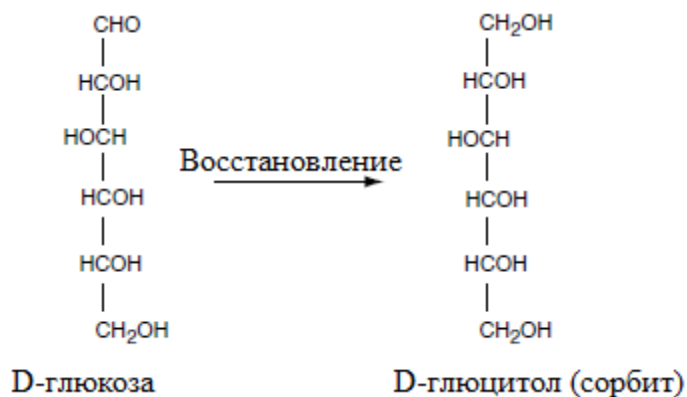


Рис. 2.15. Восстановление D-глюкозы

D-маннит можно получить гидрогенизацией D-маннозы. Промышленно его получают, как и сорбит, путем гидрогенизации сахарозы. D-маннит является продуктом гидрогенизации D-фруктозного компонента сахарозы и изомеризации D-глюкозы (рис. 2.16), количество которого может регулироваться щелочностью раствора, подвергаемого каталитической гидрогенизации. В отличие от сорбита, D-маннит не обладает влагоудерживающими свойствами – наоборот, он легко кристаллизуется и характеризуется лишь умеренной растворимостью. Используют D-маннит для снижения липкости кондитерских глазурей. Степень сладости D-маннита составляет 65 % сладости сахарозы, благодаря чему его применяют в производстве шоколадных изделий без сахара, леденцах от кашля, а также мятной, леденцовой и мягкой карамели.

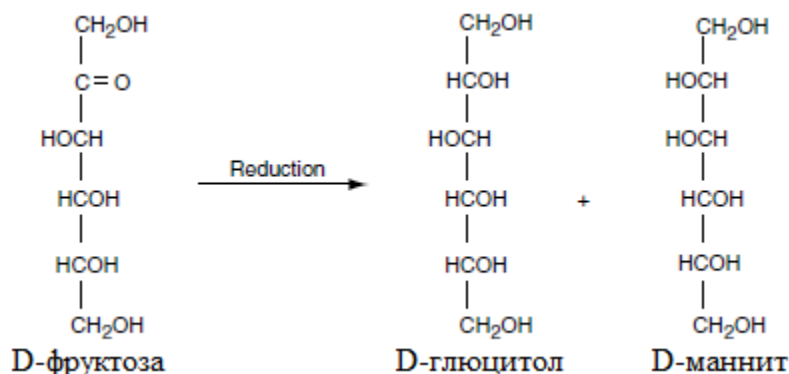


Рис. 2.16. Восстановление D-фруктозы

Ксилит (рис. 2.17) получают гидрогенизацией D-ксилозы, получаемой из гемицеллюлоз (в основном из березы). Его кристаллы характеризуются высокой отрицательной теплотой растворения, обеспечивающей освежающий эффект в ротовой полости («холодок во рту»), что делает ксилит хорошим ингредиентом мятных конфет и жевательной резинки без сахара. Степень сладости ксилита примерно такая же, как у сахарозы. Ксилит некариесогенен, поскольку он не метаболизируется микробиотой ротовой полости и не образует зубной налет.

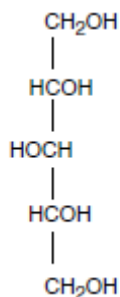


Рис. 2.17. Структурная формула ксилита

2.1.4.3 Уроновые кислоты

У моносахаридной единицы олиго- или полисахарида конечной атом углерода (с противоположного от альдегидной группы конца углеродной цепи) может встречаться в окисленной форме (в форме карбоновой кислоты). Такую альдогексозу с C₆ в форме карбоновой кислоты называют урановой кислотой. Если хиральные атомы углерода урановой кислоты находятся в той же конфигурации, что у D-галактозы, то такое соединение называется галактуроновой кислотой (рис. 2.18), являющейся основным компонентом пектина.

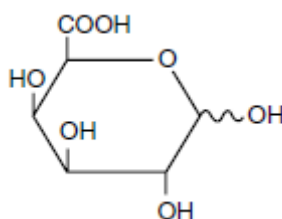
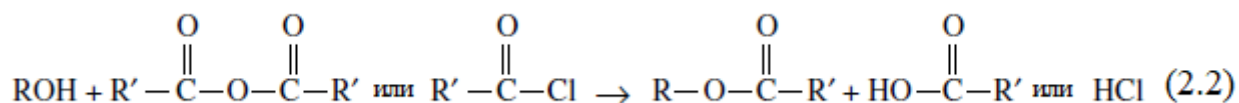


Рис. 2.18. Структурная формула D-галактуроновой кислоты

2.1.4.4 Сложные эфиры

Гидроксильные группы углеводов, как и гидроксильные группы простых спиртов, с органическими и некоторыми неорганическими кислотами образуют сложные эфиры. Реакция гидроксильных групп с активированными формами карбоновых кислот (прежде всего с ангидридом карбоновой кислоты) в присутствии соответствующего основания дает эфир (2.2):



В природе встречаются ацетаты, полуэфиры янтарной кислоты (сукцинаты) и другие эфиры углеводных карбоновых кислот. Обнаружены они главным образом как компоненты полисахаридов. Наиболее местными промежуточными продуктами метаболизма являются фосфаты сахаров (рис. 2.19).

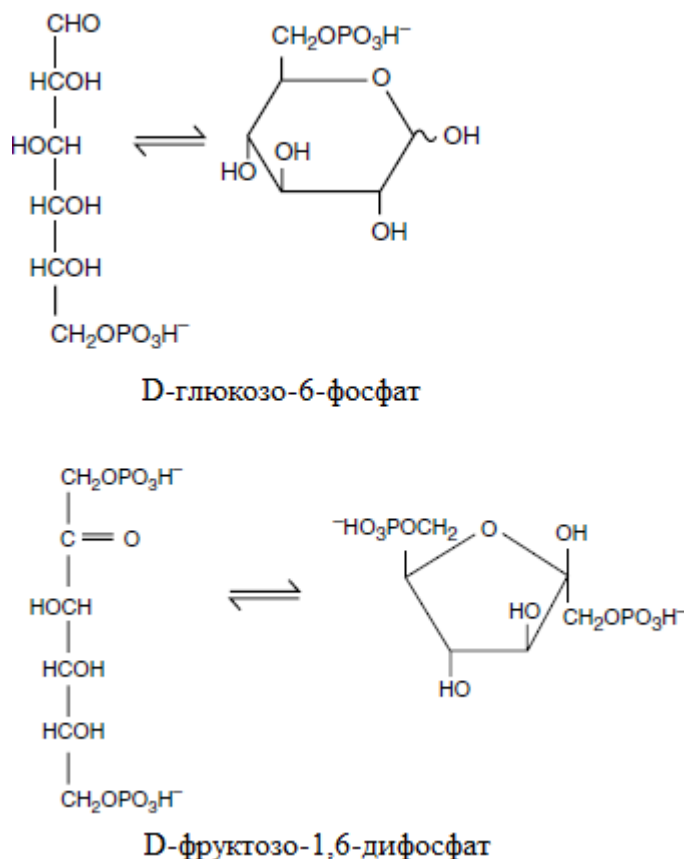


Рис. 2.19. Фосфаты сахаров как примеры промежуточных продуктов метаболизма

Компонентами полисахаридов являются также моноэфиры фосфорной кислоты. Например, в картофельном крахмале содержится довольно мало фосфатных групп, а в кукурузном их еще меньше. При производстве модифицированного пищевого крахмала кукурузный крахмал дериватизируют с помощью моно- или дикрахмальных эфирных групп, или их обеих. Другими модифицированными пищевыми крахмалами являются эфиры крахмала – в первую очередь ацетат, сукцинат и замещенные полуэфиры сукцината, а также дикрахмаладипаты. Сложные эфиры жирных кислот сахарозы промышленно получают в виде эмульгаторов эмульсий «вода-в-масле». Полисахариды красных водорослей, в том числе каррагинаны, содержат сульфатную группу (полуэфиры серной кислоты, R-OSO₃).

2.1.4.5 Неферментативное потемнение

При определенных условиях редуцирующие сахара вызывают потемнение («побурение») изделия, что для некоторых пищевых продуктов представляется желательным и важным, а для других такое потемнение при

нагревании или длительном хранении изделий, содержащих редуцирующие сахара, нежелательно. Потемнение пищевых продуктов при нагревании или хранении обычно происходит благодаря химической реакции между редуцирующими сахарами (в основном D-глюкозой) и первичной аминогруппой (свободной аминокислоты или аминогруппой боковой цепи молекулы белка). Эта реакция называется реакцией Майяра [3], а весь процесс – реакцией неферментативного потемнения Майяра (в отличие от более быстрого ферментативного потемнения, катализируемого ферментами и обычно наблюдаемой в свеженарезанных фруктах и овощах типа яблок или картофеля).

При нагревании альдозы или кетозы с аминами протекает ряд реакций с образованием различных соединений (в том числе вкусоароматических веществ и темноокрашенных полимеров), причем оба реагента исчезают довольно медленно. Эти вкусоароматические вещества и пигменты могут быть как желательными, так и нежелательными. При хранении они образуются медленно, а при жарке или выпекании – гораздо быстрее.

Неплохими примерами пищевых продуктов, у которых желательные цвет, вкус и аромат формируются под действием реакции Майяра (неферментативного потемнения), могут служить картофель фри и обжаренные хлебные тосты, и в том и в другом случае лучше всего это заметно по внешней поверхности). Реакцию Майяра можно считать комплексной реакцией, протекающей в три основные стадии:

- начальное конденсирование карбонильного соединения (например, редуцирующего сахара) с амином и последующими реакциями, приводящими к образованию продукта перегруппировки Амадори (предположительно альдозы);

- переупорядочивание, дегидратация, разложение и/или реакции промежуточных продуктов перегруппировки Амадори с образованием фурфальных соединений, редуктонов или дегидроредуктонов и продуктов их разложения), а также продуктов расщепления Штрекера;

- реакция промежуточных продуктов реакции Майяра с образованием гетероцилических вкусоароматических соединений и высокомолекулярных меланоидных красящих веществ красновато-коричневого цвета.

Редуцирующие сахара обратимо реагируют с амином с образованием оснований Шиффа (иминов, $\text{RHC} = \text{NHR}'$), способных циклизироваться тем же способом, что и альдоза, с образованием глюкозиламина иногда его называют N-гликозидом, рис. 2.20). Основание Шиффа подвергается реакции, называемой перегруппировкой Амадори, в результате получается, как и в случае с D-глюкозой, производное 1-амино-1-деокси-D-фруктозы (называемое продуктом перегруппировки Амадори, который образуется на ранней стадии реакции неферментативного потемнения).

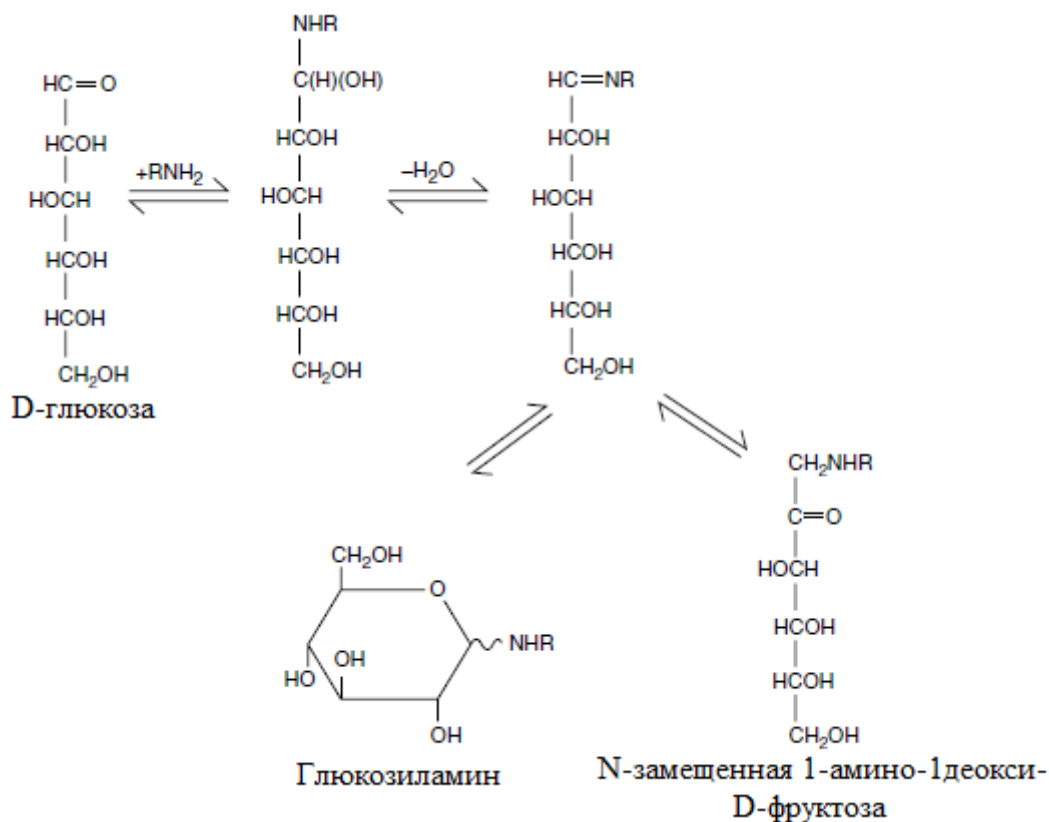


Рис. 2.20. Продукты реакции D-глюкозы с первичным амином (RNH₂)

Продукты перегруппировки Амадори трансформируются четырьмя известными путями, которые начинаются с четырех различных промежуточных продуктов. В результате образуется сложная смесь промежуточных и конечных продуктов. Три из четырех промежуточных продуктов, полученных в ходе перегруппировки и элиминирования, – это 1-, 3- и 4-деоксидикарбонильные соединения, известные как 1-, 3- и 4-деоксиозоны. Их образование идет быстрее всего при значениях pH 4-7, причем преобладающим является 3-деоксиозон (его правильнее называть 3-деоксигексулоза, рис. 2.21).

Деоксиозоны могут иклизироваться так же, как альдозы и кетозы. Они также будут дегидратироваться, особенно при высоких температурах. Реакция продолжается (особенно при значениях pH 5 и ниже) с образованием дегидратируемого промежуточного продукта. В результате из гексозы образуется производное фурана – 5-гидроксиметил-2-фуральдегид, общеизвестный как гидроксиметилфурфурол (ГМФ) (рис. 2.21), а из пентозы – фурфурол (фуральдегид). В менее кислых условиях (pH > 5) реакционноспособные циклические соединения (ГМФ, фурфурол и др.) и соединения с аминогруппами полимеризуются до темного азотсодержащего нерастворимого вещества, называемого меланоидином. Аминокислоты и фураны (фурфурол и/или ГМФ) почти всегда содержатся в готовых полимерных продуктах. Цвет конкретных меланоидинсодержащих полимеров варьирует от коричневого до черного, у них также разные молекулярная масса, содержание азота и растворимость.

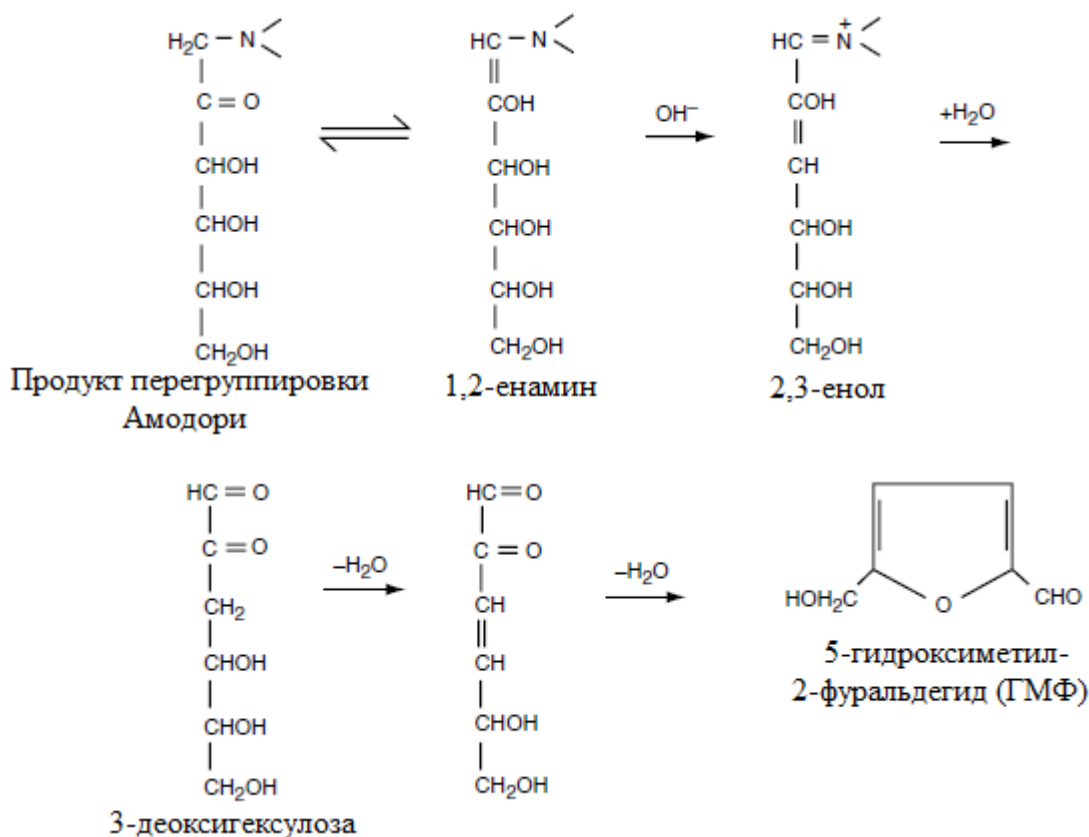


Рис. 2.21. Превращение продукта перегруппировки Амодори в ГМФ

При наличии более высокого содержания веществ с первичными аминогруппами (например, белков с высоким содержанием L-лизина) основными продуктами реакции являются пирролы (соединения, которых атом кислорода в кольце ГМФ или фурфурола замещен группой N-R).

Мальтит и изомальтит, которые участвуют в формировании вкуса и аромата хлебной корочки, образуются из 1-деоксиозона (рис. 2.22).

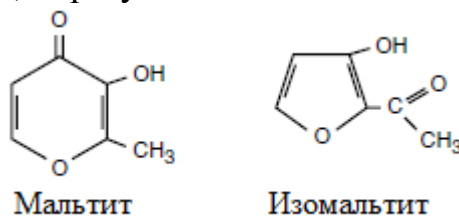


Рис. 2.22. Структурные формулы мальтита и изомальтита

Промежуточные продукты образования меланоидина называются редуктонами и также получают из 1-деоксиозонов. Редуктоны обладают антиоксидантными свойствами. Поскольку редуктоны участвуют в окислительно-восстановительных (редокс-) реакциях, из них могут образовываться и другие промежуточные продукты (рис. 2.23).

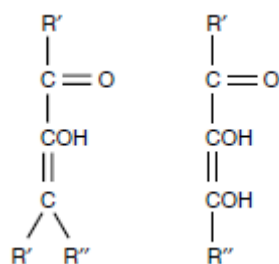


Рис. 2.23. Два примера типов структуры редуцтантов

Озоны расщепляются или между двумя карбонильными группами, или со стороны ендиола (-COH=COH-), образуя соединения с более короткой цепью (в первую очередь альдегиды), которые могут вступать в различные реакции. Еще одна важная реакция дикарбонильных соединений (озонов и деоксиозонов) – это расщепление по Штрекеру. Реакция одного из этих соединений с α -аминокислотой (R-CHNH₂-CO₂H) сначала приводит к образованию основания Шиффа, а затем к декарбоксилированию (выделению CO₂), дегидратации и элиминированию с образованием альдегида, имеющего на один атом углерода меньше, чем в исходной аминокислоте. Полученные из аминокислот альдегиды – зачастую главные компоненты аромата при неферментивном потемнении. К важнейшим вкусоароматическим соединениям, получаемым этим путем, следует отнести 3-метилтиопропаналь (метиональ, CH₃-S-CH₂-CH₂-CHO) из L-метионина, фенилацетальдегид (Ph-CH₂-CHO) из L-фенилаланина, метилпропаналь ((CH₃)₂-CH-CHO) из L-валина, 3-метилбутаналь ((CH₃)₂-CH-CH₂-CHO) из L-лейцина и 2-метилбуаналь из L-изолейцина.

Образуется ряд окрашенных веществ под общим названием «меланоидины», разнообразие которых зависит от количества промежуточных продуктов и возможных реакций конденсации. Некоторые из них содержат азот, некоторые – только углерод, водород и кислород, но во всех имеются ароматические кольца и сопряженные двойные связи.

К другим продуктам реакции Майяра относятся модифицированные белки. Модификация белков – это в первую очередь результат их реакции (особенно реакции их боковых цепей L-лизина и L-аргинина) с соединениями, содержащими карбонильные группы (редуцирующими сахарами, озонами, фурфуролом, ГМФ и производными пиррола). Например, реакция ϵ -аминогруппы L-лизинового звена в молекуле белка после перегруппировки Амадори превращает L-лизиновое звено в звено N-фруктофуранозиллизина. Последующие реакции приводят к образованию замещенных колец фурана и пиррола, образованных из фруктофуранозильного звена и присоединенных к молекуле белка. Такие реакции разрушают аминокислоту, а так как L-лизин – это незаменимая (эссенциальная) аминокислота, то ее разрушение снижает пищевую ценность продукта. В обычных жареных и выпекаемых продуктах потери лизина и аргинина составляют 15-40%.

Смесь образующихся продуктов реакций зависит от температуры, продолжительности, значения pH, природы редуцирующего сахара и

аминосоединения. Это обусловлено тем, что различные сахара подвергаются неферментативному потемнению с разной скоростью. Например, D-глюкоза подвергается реакции потемнения быстрее D-фруктозы. Вторичные амины дают иные продукты реакции, чем первичные. Так как у этой реакции относительно высокая энергия активации, то всегда необходимо нагревание. Скорость реакции Майяра зависит от значения активности воды (a_w) пищевого продукта и максимальна при a_w 0,6–0,7. Для некоторых видов продуктов степень неферментативного потемнения может регулироваться путем контроля активности воды, а также концентрации реагентов, продолжительности воздействия, температуры и значения pH. Диоксид серы и бисульфитные ионы реагируют с альдегидными группами с образованием продуктов присоединения, ингибирующих реакцию Майяра путем удаления по крайней мере одного реагента (редуцирующего сахара, ГМФ, фурфурола, и т.д.). Цвет, вкус и аромат пищевых продуктов зависят от смеси продуктов реакции. Можно выделить следующие параметры, которые можно контролировать для увеличения или уменьшения степени неферментативного потемнения:

- температура (скорость реакции уменьшается при понижении температуры) и время пребывания продукта при этой температуре;
- значение pH (скорость реакции при снижении pH уменьшается);
- содержание влаги (максимальная скорость реакции наблюдается при активности воды 0,6–0,7 и содержании влаги около 30%);
- вид редуцирующего сахара;
- присутствие ионов переходных металлов, подвергающихся одноэлектронному окислению в энергетически выгодных условиях, например, ионов Fe (II) и Cu (I) (к концу процесса пигментобразования может включаться свободнорадикальная реакция).

После совместного нагревания редуцирующих сахаров и аминокислот, белков и/или других азотсодержащих соединений (например, в соевом соусе или корочке хлеба) обнаруживаются продукты реакции Майяра, в том числе растворимые и нерастворимые полимеры. В хлебопечении и производстве мучных кондитерских изделий, а также при жарке мяса желательное потемнение корочки до коричневого цвета. Летучие соединения, образующиеся в реакции неферментативного потемнения при выпекании и жарке, зачастую обеспечивают требуемый вкус и аромат. Продукты реакции Майяра являются также необходимыми вкусоароматическими компонентами молока, шоколадных изделий, карамели, ириса и помадок, при производстве которых редуцирующие сахара реагируют с молочными белками. В ходе реакции Майяра также образуются вкусоароматические соединения, особенно горькие, желательные, например, для кофе. С другой стороны, реакция Майяра может привести к образованию посторонних привкусов и запахов. Наиболее вероятно их появление при пастеризации, хранении сухих продуктов и жарке мяса или рыбы на гриле. Для неферментативного потемнения общим требованием является нагревание влагосодержащих пищевых продуктов.

2.1.4.6 Карамелизация

Нагревание углеводов, в частности, сахарозы и редуцирующих сахаров в отсутствие азотсодержащих соединений вызывает сложную группу реакций, вовлеченных в процесс карамелизации. Эта реакция ускоряется в присутствии небольших количеств кислот и некоторых солей. Несмотря на то, что в ней не участвуют аминокислоты или белки, реакция карамелизации аналогична неферментативному потемнению. В конечном продукте (карамели), как при реакции Майяра, образуется сложная смесь полимерных веществ, сформированных из ненасыщенных циклических (пяти- и шестизвенных) соединений. Как и при реакции Майяра, образуются промежуточные продукты типа 3-деоксиозонов и фуранов. Ненасыщенные циклические звенья конденсируются с образованием полезных полимеров коричневого цвета с сопряженными двойными связями. Эта реакция ускоряется катализаторами, которые используют для получения карамели требуемых цвета, растворимости и кислотности.

Карамели промышленно производятся в качестве как красящих, так и ароматобразующих веществ. Получают карамель путем нагревания чистого углевода или в присутствии кислоты, основания или соли. Чаще всего в качестве углевода используют сахарозу, но можно карамелизовать D-фруктозу, D-глюкозу (декстрозу), инвертный сахар, глюкозный и мальтитный сиропы, а также мелассу. Из кислот допускается использование серной, сернистой, фосфорной, уксусной и лимонной кислот пищевой степени чистоты. К используемым основаниям относятся гидроксиды аммония, натрия, калия и кальция, а к солям – карбонаты аммония, натрия и калия, бикарбонаты, фосфаты (одно- и двухосновные), сульфаты и бисульфиты. Таким образом, в производстве карамели существует большой набор переменных, включая температуру. В результате реакции аммиака с промежуточными продуктами реакции карамелизации (3-деоксиозонами, полученными термолизом) получают производные пиразина и имидазола (рис. 2.24).

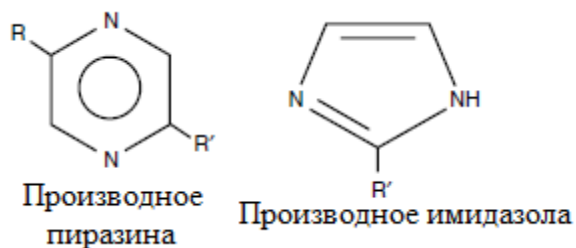


Рис. 2.24. Производное пиразина (слева) и имидазола (справа), образующиеся при карамелизации в присутствии аммиака. $R = -CH_2-(CHON)_2-CH_2OH$, $R' = -(CHON)_3-CH_2OH$

Существует четыре класса карамельных (сахарных) колеров. Карамельный колер I (E150a, также называемый «простым») получают нагреванием углеводов без источников ионов аммония или сульфита (могут использоваться кислоты и щелочи). Карамельный колер II (E150b, полученный по щелочно-сульфитной технологии) получают нагреванием углевода в присутствии сульфита, но в отсутствие ионов аммония (могут использоваться

кислоты и щелочи). Такой колер, используемый в производстве пива и алкогольных напитков для придания им красновато-коричневого цвета, содержит коллоидные частицы с небольшим отрицательным зарядом и в растворе дает значение рН 3-4. Карамельный колер III (E150c, полученный по аммиачной технологии) получают нагреванием углевода в присутствии источника аммониевых ионов, но в отсутствие сульфитных ионов (могут использоваться кислоты и щелочи). Этот колер используют в производстве хлебобулочных и мучных кондитерских изделий, сиропа и пудингов для придания им красновато-коричневого цвета. Он содержит положительно заряженные коллоидные частицы и дает раствор со значением рН 4,2-4,8. Карамельный колер IV (E150d, полученный по аммиачно-сульфитной технологии) получают нагреванием углевода в присутствии как сульфитных, так и аммониевых ионов (могут использоваться кислоты и щелочи). Этот колер используют в производстве безалкогольных напитков на основе колы, других кислых напитков, выпечных изделий, сиропов, конфет. кормов для животных и сухих приправ для придания им коричневого цвета. Он содержит отрицательно заряженные коллоидные частицы и дает раствор со значением рН 2-4,5. В этом случае кислая соль катализирует расщепление гликозидной связи сахарозы, и аммониевый ион участвует в перегруппировке Амадори. Пигменты в этих четырех типах карамельного колера представляют собой крупные полимерные молекулы с различной сложной, до конца еще не выясненной, структурой. Именно эти полимеры и образуют коллоидные частицы. Скорость их образования возрастает при повышении температуры и значения рН. Естественно, карамелизация может происходить и при кулинарной обработке, особенно в присутствии сахара. В производстве шоколада реакция карамелизации протекает параллельно реакции ферментативного потемнения.

2.1.4.7 Образование акриламида

Реакция Майяра предполагает образование акриламида во многих видах пищевых продуктов, нагреваемых до высоких температур в процессе их переработки или кулинарной обработки [4]. Для разных видов пищевых продуктов, в ходе производства которых использовалась жарка во фритюре, выпечка, взрывание в вакууме, обжарка и другие высокотемпературные технологии, содержание акриламида составляет обычно менее 1,5 мг/кг (табл. 2.3). В вареных и ненагреваемых блюдах акриламид не выявлен, при варке картофеля, например, температура не превышает 100 °С. Акриламид не обнаружен или выявлен в очень небольших количествах в консервированных или замороженных фруктах, овощах и овощных белковых продуктах, в частности, в «вегетарианских» бургерах и родственных им продуктах, за исключением зрелых оливок без косточек, в которых содержание акриламида варьирует от 0 до 1925 мкг/кг. Акриламид – это известное нейротоксичное вещество, обладающее, по всей вероятности, слабым канцерогенным

действием при потреблении его в количествах, значительно превышающих его содержание в пищевых продуктах.

Таблица 2.3

Содержание акриламида в некоторых пищевых продуктах с повышенным его содержанием

Продукт	Содержание акриламида*, мкг/кг
Хлебобулочные изделия*	24-130
Зерновые завтраки, готовые к употреблению	11-1057
Шоколадные конфеты	0-74
Кофе (молотый, неферментированный)	64-319
Кофе (молотый, без кофеина)	27-351
Кофе с цикорием	380-609
Печенье	34-955
Крекеры	26-1540
Картофель фри	109-1325
Картофельные чипсы	117-2762**
Претцели	46-386
Чипсы из кукурузной муки	130-196

* Экстремальные значения, особенно из верхнего диапазона, обычно выявляются лишь в небольшом числе образцов.

** В одном из образцов чипсов 113 батата акриламида было 1570 мкг/кг а в образце «вегетарианских» чипсов – 1970 мкг/кг

Акриламид образуется в основном в ходе реакции второго порядка между редуцирующими сахарами (карбонильная часть) и α -аминогруппой свободного L-аспарагина (рис. 2.25).

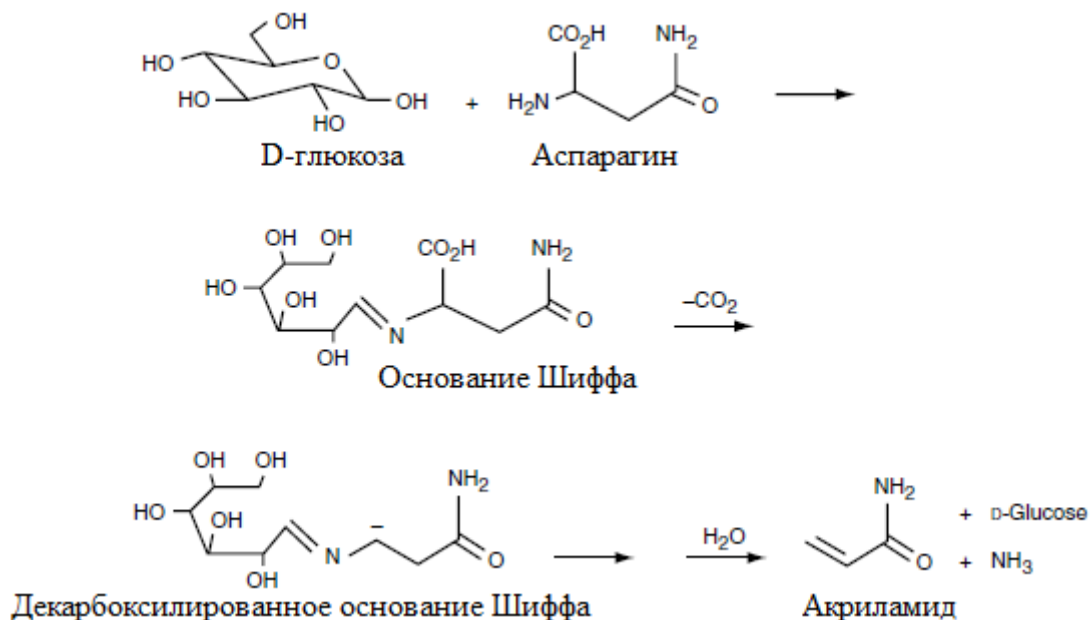


Рис. 2.25. Предполагаемый механизм образования акриламида в пищевых продуктах

Эта реакция требует присутствия обоих субстратов. Образование акриламида может происходить в таких блюдах из жареного картофеля, как чипсы и картофель фри, поскольку в картофеле содержится как D-глюкоза, так и свободный L-аспарагин. Картофель при хранении может накапливать

свободные сахара, особенно при холодильных температурах, то есть при 3-4 °С. При этом крахмал превращается сначала в сахарозу, а затем в D-глюкозу и D-фруктозу. В промышленности раствором D-глюкозы обрабатывают бланшированный картофель (путем погружения или орошения) перед обжаркой (и перед замораживанием) для оптимизации и нормализации цвета картофеля фри. При изготовлении ломтиков картофеля фри на начальной стадии реакции редуцирующих сахаров с аминами (аминокислотами, пептидами и белками) образуются промежуточные продукты реакции Майяра (деоксигексулозы, дикарбонильные соединения и др.), которые предположительно вступают в реакцию с аспарагином и приводят к образованию акриламида. Для прогнозирования содержания акриламида в готовом картофеле фри была разработана кинетическая модель, учитывающая содержание субстрата, влаги и градиенты температуры при обжарке. При высокотемпературных реакциях обжарки ломтиков картофеля в акриламид превращается лишь 0,6 % всего аспарагина. Кроме того, D-глюкоза по сравнению с D-фруктозой больше участвует в формировании цвета и меньше – в образовании акриламида (последняя действует наоборот). Для образования акриламида требуются температуры не менее 120 °С, что означает невозможность его образования в продуктах с высоким содержанием влаги, а кинетически оно выгодно при повышении температуры до 200 °С. При длительном нагревании при температурах выше 200 °С содержание акриламида может снижаться за счет реакций термического элиминирования или разложения. Кроме того, содержание акриламида в пищевых продуктах зависит от значения рН (он образуется при рН 4-8). Считается, что пониженное образование акриламида в кислой среде обусловлено протонированием α -аминогруппы аспарагина, что снижает его нуклеофильность. Более того, акриламид подвергается ускоренному термическому разложению при снижении значения рН. На последних стадиях длительного нагревания пищевых продуктов содержание акриламида быстро возрастает, поскольку вода с поверхности продукта быстро испаряется и поверхность нагревается до температур выше 120 °С. Продукты с большой площадью поверхности типа картофельных чипсов содержат максимальное содержание акриламида, так как относятся к продуктам высокотемпературной обработки. Дополнительным фактором, делающим возможным образование акриламида из субстратов реакции при высоких температурах, является нагреваемая площадь поверхности продукта.

Попытки минимизировать образование акриламида в пищевых продуктах можно свести к трем стратегиям:

- удаление одного или обоих субстратов;
- изменение условий переработки;
- удаление акриламида из продукта уже после его образования.

Бланшированием или вымачиванием в воде за счет удаления субстратов реакции (уменьшение содержания сахаров и свободного аспарагина) можно обеспечить 60 %-ное снижение содержания акриламида. Показано, что

уменьшить образование акриламида можно путем модификации реагентов (например, протонирования аспарагина путем снижения рН или его превращения в аспарагиновую кислоту аспарагиназой), добавления конкурирующих субстратов, не образующих акриламид (например, аминокислот, отличных от аспарагина или белка) и внесения солей, уменьшающих образование акриламида. Полезными для минимизации образования акриламида могут также стать улучшение контроля и оптимизация условий тепловой обработки (соотношения температуры и продолжительности). Вполне возможно, что для эффективного сокращения образования акриламида в пищевых продуктах потребуются, наряду с уже используемыми способами, их комбинация в зависимости от особенностей данной пищевой системы. Несмотря на то, что до сих пор не выявлены связи между потреблением акриламида с пищей и риском онкологических заболеваний, необходимо продолжать изучение его долгосрочной канцерогенности, мутагенности и нейротоксичности, как и попытки уменьшить образование акриламида в процессе переработки и кулинарной обработки пищевых продуктов.

2.2 Олигосахариды

Олигосахариды содержат от 2 до 10 или до 20 сахарных звеньев в зависимости от позиции автора определения этого термина, основанного на наличии гликозидных связей. Если молекула содержит более 20 звеньев, это уже полисахарид. Дисахариды – это гликозиды, моносахаридным звеном является агликон, а трисахариды – соединение с тремя моносахаридными звеньями. Структуры, содержащие от 4 до 10 гликозильных звеньев, независимо от их линейности или разветвленности, называют соответственно тетра-, пента-, гекса-, гепта-, окта-, нона- и декасахаридами и т. д. В природе встречаются лишь немногие олигосахариды. Большая их часть получается гидролизом полисахаридов до соединений с меньшим числом звеньев. Поскольку гликозидные связи являются частью ацетальных структур, они подвергаются кислотнo-катализируемому гидролизу при нагреве в присутствии водных растворов кислот.

2.2.1 Мальтоза

Примером дисахарида может служить мальтоза (рис. 2.26). В редуцирующем концевом звене (обычно изображаемом справа) имеется потенциально свободная альдегидная группа, и в растворе она будет в равновесии с альфа- и бета-шестизвенными циклическими формами (аналогично уже рассматривавшимся ранее моносахаридам). Так как О-4 заблокирован присоединением второго D-глюкопиранозильного звена, фуранозное кольцо образоваться не может. Мальтоза – это редуцирующий сахар, и альдегидная группа может взаимодействовать с окислителями и фактически подвергаться всем реакциям, как если бы она была свободной альдозой.

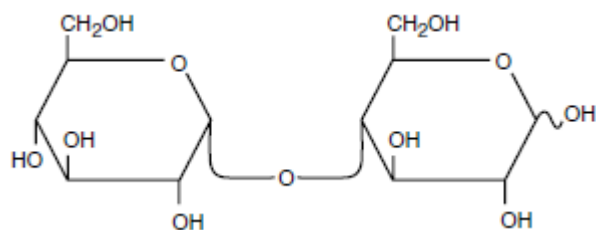


Рис. 2.26. Структурная формула мальтозы

Мальтозу получают гидролизом крахмала с использованием фермента β -амилазы. В природе она встречается довольно редко, и только в растениях в результате частичного гидролиза крахмала. Образуется мальтоза при солодоращении, особенно ячменя, а промышленно ее получают путем специфического ферментативного гидролиза крахмала с использованием β -амилазы, продуцируемой некоторыми штаммами *Bacillus*, хотя можно использовать β -амилазы ячменного зерна, сои и батата. Мальтозу иногда используют в качестве подсластителя. Мальтоза восстанавливается до альдитола мальтита, используемого в производстве шоколада без сахара.

2.2.2 Лактоза

Дисахарид лактоза (рис. 2.27) встречается в молоке в основном в свободном состоянии, и в меньшем количестве – как компонент высших олигосахаридов. Содержание лактозы в молоке зависит от вида и породы млекопитающих и составляет от 2,0 до 8,5 %. В коровьем и козьем молоке содержится 4,5-4,8% лактозы, а в грудном молоке – около 7 %. Лактоза – это главный углевод, необходимый для роста и развития всех млекопитающих. У человека лактоза обеспечивает 40 % энергии, потребляемой в период кормления новорожденных и грудных детей. Использованию лактозы как источника энергии должен предшествовать ее гидролиз до составляющих ее моносахаридов (D-глюкозы и D-галактозы), так как в тонкой кишке всасываются только моносахариды.

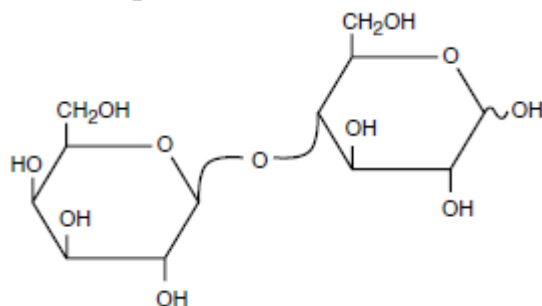


Рис. 2.27. Структурная формула лактозы

В молоке содержится также 0,3-0,6 % лактозосодержащих олигосахаридов, многие из которых необходимы для роста и размножения особого штамма *Lactobacillus bifidus*, доминирующего микроорганизма кишечной микробиоты грудных детей.

Лактоза потребляется с молоком и другими неферментированными молочными продуктами типа мороженого. Кисломолочные продукты, в частности большинство йогуртов и сыров, содержат меньше лактозы, поскольку при сквашивании часть лактозы превращается в молочную кислоту. Лактоза стимулирует всасывание в кишечнике и усвоение кальция. Лактоза не усваивается, пока она не достигнет тонкой кишки, в которой присутствует гидролитический фермент лактаза. Лактаза (β -галактозидаза) – это связанный с клеточной мембраной фермент, присутствующий в ворсинчатых граничных эпителиальных клетках тонкой кишки и катализирующий гидролиз лактозы до составляющих ее D-глюкозы и D-галактозы, которые быстро всасываются и попадают в кровяное русло:



Если по какой-либо причине усвоенная лактоза гидролизуется только частично или вообще не гидролизуется, возникает клинический синдром, называемый непереносимостью лактозы. При дефиците лактазы остаточная лактоза остается в просвете тонкой кишки, что вызывает приток жидкости в просвет под действием осмоса. Эта жидкость вызывает вздутие живота и судороги. Из тонкой кишки лактоза поступает в толстый кишечник, где подвергается ферментации анаэробными микроорганизмами до молочной кислоты в виде лактат-аниона (рис. 2.28) и других низкомолекулярных кислот. Повышение концентрации и (иными словами) увеличение осмотического давления приводит к еще большему удержанию жидкости. Кроме того, кислые продукты брожения снижают значение pH и раздражают выстилающую стенку толстого кишечника, что приводит к усиленному продвижению содержимого кишечника (диарея вызывается именно удержанием жидкости и усиленным продвижением содержимого кишечника). Газообразные продукты брожения приводят к вздутию живота и болям.

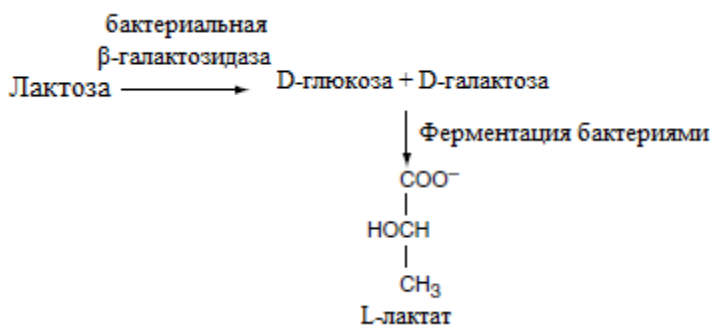


Рис. 2.28. Метаболизм лактозы в толстом кишечнике у лиц с дефицитом лактазы

Непереносимость лактозы у детей редко наблюдается до 6-летнего возраста, после чего частота встречаемости непереносимости лактозы начинает расти и повышается в течение жизни. Наибольшая вероятность ее проявления характерна для взрослых. Частота встречаемости и степень непереносимости лактозы у разных этнических групп различны, что свидетельствует о генетической обусловленности наличия или отсутствия лактазы в организме.

Известны три пути преодоления дефицита лактазы. Согласно первому пути, лактозу удаляют сквашиванием (ферментацией), как в кисломолочных продуктах. Другой путь – это производство молока с пониженным содержанием лактозы путем внесения в него лактазы, но поскольку оба продукта гидролиза (D-глюкоза и D-галактоза) слаще лактозы, то при степени гидролиза около 80 % становится заметным изменение вкуса. Поэтому в большей части молока с пониженным содержанием лактозы ее содержание – близко к заданному нормативными документами (70 %). Третий путь – это прием β -галактозидазы при употреблении молочных продуктов людьми с дефицитом лактазы.

2.2.3 Сахароза

Если общее количество используемой в США сахарозы (обычно называемой «сахар» или «столовый сахар») поделить на численность населения, то получится, что ее среднестатистическое суточное потребление составляет около 160 г. При этом следует учитывать, что сахароза широко используется в бродильных производствах, в хлебобулочных и мучных кондитерских изделиях, в кормах для животных, так что реальное среднесуточное потребление сахарозы с пищевыми продуктами и напитками гораздо меньше и составляет около 55 г, то есть около 20 кг/год. Сахароза состоит из α -D-глюкопиранозильного и β -D-фруктопиранозильного звеньев, соединенных «голова к голове» («редуцирующий конец к редуцирующему концу»), а не «голова к хвосту» (рис. 2.29). Так как у нее нет редуцирующего конца, то сахарозу относят к нередуцирующим сахарам.

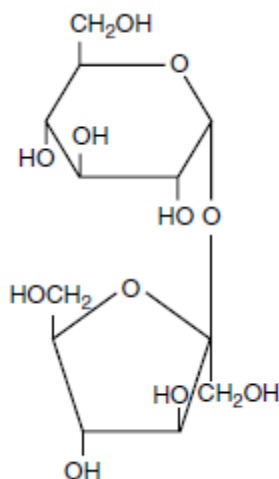


Рис. 2.29. Структурная формула сахарозы

Два основных промышленных источника сахарозы – это сахарный тростник и сахарная свекла. В экстракте сахарной свеклы также содержатся раффиноза (трисахарид) с D-галактопиранозильным звеном, присоединенным к сахарозе, и стахиоза (тетрасахарид), содержащая другое D-галактозильное звено (рис. 2.30). Эти олигосахариды, обнаруженные также в бобовых культурах, не усваиваются. Они вместе с другими не полностью

расщепляемыми на моносахариды кишечными ферментами не всасываются и попадают в толстую кишку, где они метаболизируются микроорганизмами с образованием лактата и газа. В результате возникает диарея, вздутие живота и метеоризм.

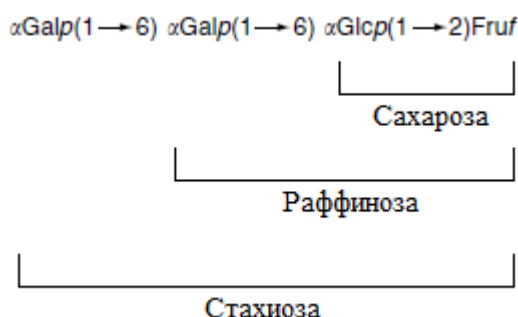


Рис. 2.30. Сахароза, раффиноза и стахиоза

Сахароза характеризуется специфическим вращением плоскости поляризации (+66,5°). Эквимолярная смесь D-глюкозы и D-фруктозы, полученная гидролизом гликозидной связи, соединяющей две моносахаридные единицы, имеет специфическое вращение плоскости поляризации -33,3°. Обнаружившие это ученые назвали этот процесс инверсией, а продукт – инвертным сахаром.

Сахароза и большинство других низкомолекулярных углеводов (моносахаридов, альдитолов, дисахаридов и других олигосахаридов с низкой молекулярной массой) из-за их большой гидрофильности и растворимости образуют высококонцентрированные растворы с высокой осмоляльностью.

Например, такие растворы, как мед, не нуждаются в консервантах и могут использоваться не только как подслащивающие вещества (хотя не все углеводные сиропы обладают достаточной степенью сладости), но и в качестве консервантов и влагоудерживающих агентов.

В любом растворе углевода часть воды не замораживается. При кристаллизации невымороженной воды, то есть при образовании льда, концентрация раствора в оставшейся жидкой фазе увеличивается, а точка замерзания понижается, что приводит к постепенному увеличению вязкости остаточного раствора. В итоге жидкая фаза затвердевает, как стекло, подвижность молекул ограничивается, а обусловленные диффузией реакции замедляются. Из-за ограничения подвижности молекулы воды становятся незамораживаемыми, то есть они не могут образовывать кристаллы. Таким образом, углеводы действуют как своего рода криопротекторы и защищают продукт от дегидратации, которая разрушает структуру и текстуру, образованную замораживанием.

Фермент сахараза в кишечном тракте человека катализирует гидролиз сахарозы на D-глюкозу и D-фруктозу, что делает сахарозу одним из трех углеводов, усваиваемых человеком и используемых в качестве источника энергии (другие два углевода – это лактоза и крахмал). Моносахариды (D-

глюкоза и D-фруктоза) обладают большой пищевой ценностью и не нуждаются в преобразовании перед всасыванием.

Соединение, получаемое путем замены трех из восьми гидроксильных групп сахарозы на атомы хлор; (сукралоза), представляет собой высокоинтенсивный подсластитель.

2.2.4 Циклодекстрины

К циклодекстринам, которые прежде называли декстринами Шардингера или циклоамилозами, относят циклические олигосахариды, образованные α -2)-глюкопиранозильными звеньями со связью (1 \rightarrow 4) (рис. 2.31). Эти циклические структуры образуются из растворенных, частично гидролизованных полимеров крахмала под воздействием фермента циклодекстрингликозилтрансферазы (ЦГТазы), которая катализирует внутримолекулярную циклизацию гликозильных цепей [5]. Циклодекстрины могут состоять из 6, 7 или 8 гликозильных звеньев и называются соответственно α -, β - и γ -циклодекстринами. Промышленно циклодекстрины можно выделять выборочной кристаллизацией (после обработки реакционной смеси глюкоамилазой) или дифференцированным осаждением путем добавления комплекса образателя (обычно органического растворителя). Хотя все α -, β - и γ -циклодекстрины разрешены для использования в пищевых продуктах, применяются в основном только β -циклодекстрины из-за их более низкой стоимости по сравнению с двумя другими типами и четко выраженного действия.

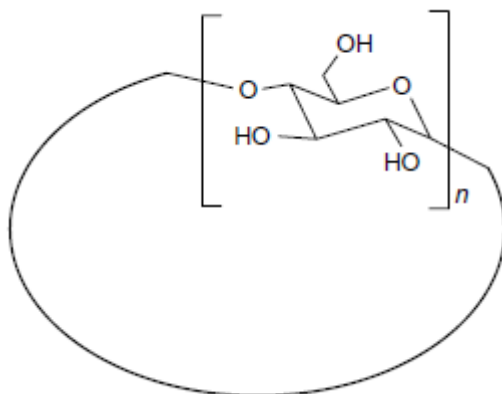


Рис. 2.31. Упрощенная структурная формула α - ($n = 6$), β - ($n = 7$), и γ - ($n = 8$) циклодекстринов

Циклодекстрины характеризуются геометрией усеченного конуса или тороидальным (бубликоподобным) видом с внутренним гидрофобным ядром или полостью и гидрофильной внешней поверхностью 2.32.



Рис. 2.32. Графическое представление примерной формы циклодекстринов

Растворимость циклодекстринов обусловлена наличием гидрофильных групп на внешней поверхности молекулы и у α -, β - и γ -циклодекстринов она различна (табл. 2.4). Наиболее растворим γ -циклодекстрин, за ним следует α -циклодекстрин, а наименее растворим в воде β -циклодекстрин (из-за протяженности внутримолекулярных водородных связей, охватывающих весь внешний периметр молекулы). Внутренняя полость обеспечивает гидрофобное окружение для образования комплексов с неполярными гидрофобными молекулами путем гидрофобных и других нековалентных ассоциаций. Размер этой внутренней полости с ростом числа циклодекстриновых звеньев увеличивается – у γ -циклодекстрина она больше, чем у β -циклодекстрина, а у последнего она больше, чем у α -формы (табл. 2.4). Способность к комплексообразованию является одним из важнейших свойств циклодекстринов и позволяет использовать их в производстве почти всех пищевых продуктов и других отраслях промышленности. Что касается пищевой промышленности, то циклодекстрины применяют в разных целях:

- для образования комплексов с ароматизаторами, жирами, пищевыми красителями;
- для связывания нежелательных соединений (дающих посторонние привкусы и запахи, горечь);
- для удаления холестерина и свободных жирных кислот;
- для повышения стойкости к химическому окислению (например, для защиты вкусоароматических веществ, связывания фенольных соединений-предшественников ферментативного потемнения);
- для усиления свойств нерастворимых в воде (липофильных) вкусоароматических веществ;
- для улучшения физической стабильности ингредиентов пищевых продуктов (для инкапсулирования летучих веществ, контролируемого высвобождения вкусоароматических соединений).

Таблица 2.4

Характеристики α -, β - и γ -циклодекстринов

Характеристика	α -	β -	γ -
Число гликозильных звеньев	6	7	8

Молекулярная масса	972	1135	1297
Растворимость, г/100 см ³ , при 25 °С	14,5	1,9	23,2
Диаметр полости, Å	4,7-5,3	6,0-6,5	7,5-8,3

2.3 Полисахариды

2.3.1 Химическая структура и свойства полисахаридов

Полисахариды – это полимеры моносахаридов. Как и олигосахариды, они состоят из линейносвязанных или разветвленных гликозильных звеньев. Полисахариды имеет более 10 или 20 моносахаридных остатков. Число моносахаридных звеньев полисахаридов (степень полимеризации, СП) может быть разным. Лишь у нескольких полисахаридов СП менее 100, и для большинства их она составляет от 200 до 300. Для крупных полисахаридов типа целлюлозы СП составляет 7000-15 000. Молекула амилопектина крахмала еще крупнее – его молекулярная масса не менее 10^7 (то есть СП более 60 000). Более 90 % массы углеводов в природе приходится на долю полисахаридов. В науке полисахариды принято называть гликанами.

Как следует из вышесказанного, все полисахариды обладают определенным диапазоном молекулярных масс – причем не только полисахариды из разных источников, но и из одного конкретного. Этот диапазон молекулярных масс обусловлено тем, что полисахариды в отличие от белков синтезируются ферментами без участия модельной РНК. Для описания диапазона молекулярных масс в рамках данного множества полисахаридов используют термин «полидисперсные»; таким образом, каждая молекула в образце конкретного полисахарида может иметь молекулярную массу, отличную от масс других молекул в данном образце. По той же причине биосинтез без участия РНК и тонкие физические структуры большинства полисахаридов также различаются от молекулы к молекуле. У конкретного полисахарида тонкие физические структуры могут различаться по типу, соотношению и/или распределению моносахаридных звеньев и связям отдельных звеньев, а также по количеству и распределению неуглеводных групп (при их наличии). Для описания этих свойств используют термин «полимолекулярные».

Если полисахарид состоит из двух и более звеньев различных моносахаридов, его называют гетерогликаном. Полисахарид, состоящий из двух различных звеньев моносахаридов – это дигетерогликан, из трех – тригетерогликан и т. д. Дигетерогликаны – это обычно либо линейные полимеры, состоящие из чередующихся блоков одинаковых звеньев, или линейные цепи гликозильных звеньев одного типа с ветвящимися от нее линейными цепями гликозильных звеньев другого типа. Примером полимеров первого типа служат альгинаты, а второго – гуаровая камедь и камедь рожкового дерева.

В сокращенном виде олиго- и полисахаридов гликозильные звенья обозначаются по первым трем буквам их названия (кроме глюкозы,

обозначение которой – Glc), причем первая буква прописная. Если моносахаридное звено представлено D-сахаром, то буква D опускается в отличие от L-сахаров (например, L-Ara – L-арабиноза). Размер кольца обозначают курсивным написанием – *p* для пиранозы или *f* для фуранозы. Аномерная конфигурация обозначается α или β – например, α -D-глюкопиранозильное звено обозначается α Glc_p. Уроновые кислоты обозначают буквой A, например, L-гулопиранозилуроновая кислота обозначается LGulpA. Позиции связей обозначают либо стрелкой (1→3), либо запятой (1,3) – последний вариант, как правило, используется в биохимии, а первый – специалистами в области углеводов. В сокращенном виде структура лактозы записывается как β Galp(1→4)Glc или β Galp1,4Glc, а мальтозы – β Glc_p(1→4)Glc или β Glc_p1,4Glc. Следует отметить, что редуцирующий конец нельзя обозначать α или β , или по форме пиранозного или фуранозного кольца (за исключением случаев кристаллического продукта), поскольку кольцо может размыкаться или замыкаться – в растворах лактозы, мальтозы и других олиго- и полисахаридов редуцирующий конец будет присутствовать в виде смеси α - и β -пиранозных циклических форм и ациклической формы с быстрым преобразованием одной формы в другую (см. рис. 2.12).

2.3.2 Растворимость, кристаллизация и криостабилизация полисахаридов

Большинство полисахаридов содержат гликозильные звенья, имеющие в среднем три гидроксильные группы. Каждая из этих гидроксильных групп может образовывать водородные связи с одной и более молекулами воды. Образовывать водородные связи с водой может также атом кислорода кольца и гликозидный атом кислорода, соединяющий одно кольцо сахара с другим. Так как каждое звено сахара в цепи может удерживать молекулы воды, гликаны проявляют большое сродство к воде, и большинство из них в ее присутствии быстро гидратируется. В водных системах частицы полисахаридов могут захватывать воду, набухать и полностью или частично растворяться [6].

Подобно низкомолекулярным углеводам, полисахариды изменяют и контролируют миграцию влаги в пищевых системах, а вода играет важную роль в физических и функциональных свойствах полисахаридов. Полисахариды и вода совместно регулируют многие функциональные и технологические свойства пищевых продуктов, включая их текстуру.

Воду, связанную водородными связями с молекулами полисахаридов, зачастую называют незамерзающей, то есть водой, структура которой значительно модифицирована присутствием полимерной молекулы так, что вода не замерзает. Такую воду также называют «пластифицирующей водой». Молекулы этой воды в химическом смысле энергетически не связаны, и поскольку они ограничены в своем перемещении, то могут быстро и свободно обмениваться с другими молекулами воды. Такая гидратационная вода составляет лишь часть общей влаги в гелях и свежих пищевых продуктах. При

избытке гидратационной воды она захватывается капиллярами и полостями гелей или тканей.

Полисахариды считаются криостабилизаторами, а не криопротекторами. Они не слишком повышают осмоляльность и не снижают точку замерзания, так как у них крупные молекулы с высокой молекулярной массой, а сила осмоса и снижение точки замерзания – свойства коллигативные. При замораживании раствора полисахарида образуется двухфазная система кристаллической воды (лед) и стекловидного вещества, состоящего на 70 % из молекул полисахаридов и 30 % незамерзающей воды. Как и в случае растворов низкомолекулярных углеводов, незамерзающая вода является частью высококонцентрированного раствора, в котором подвижность молекул воды ограничена очень высокой вязкостью. Если одни полисахариды обеспечивают криостабилизацию путем образования концентрированного замораживанием матрикса, сильно ограничивающего подвижность молекул, то другие вызывают криостабилизацию путем ограничения роста кристаллов путем их абсорбции к центрам кристаллизации. По своей природе некоторые полисахариды сами являются центрами кристаллизации льда.

Таким образом, как высоко-, так и низкомолекулярные углеводы обычно эффективны для защиты пищевых продуктов при температурах замораживания (-18 °С) от деструктивных изменений текстуры и структуры, но в разной степени. Улучшение качества продуктов и их стабильности при хранении – это результат контроля как количества (особенно в случае низкомолекулярных углеводов), так и структурного состояния (особенно в случае полисахаридов) концентрированного замораживанием аморфного матрикса, окружающего кристаллы льда.

Большинство полисахаридов (кроме очень разветвленных) представляют собой разветвленные спиральные структуры. Некоторые линейные гомогликаны типа целлюлозы имеют плоскую ленточную структуру. Такие типичные линейные цепи взаимодействуют друг с другом с помощью водородных связей, образуя кристаллические области, отделенные от аморфных областей (рис. 2.31). Именно эти кристаллические области линейных цепей дают высокопрочные целлюлозные нити типа древесных или хлопковых, не растворимые в воде и с высокой прочностью на разрыв (последнее обусловлено тем, что кристаллические области практически недоступны для действия ферментов). Вместе с тем, такие высокоориентированные и высококристаллические полисахариды – исключение. Большинство же полисахаридов не кристаллические, они быстро гидратируются и растворяются в воде.

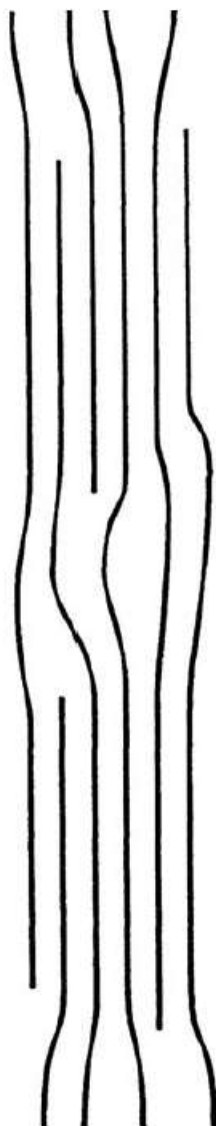


Рис. 2.33. Кристаллические области (в которых упорядоченные цепи параллельны), разделенные аморфными областями

Неразветвленные дигетерогликаны с нестандартными блоками гликозильных звеньев и наиболее разветвленные полисахариды не способны к образованию мицелл, поскольку сегменты их цепи защищены от уплотнения «упаковки» ленточной структурой, необходимой для межмолекулярного связывания, достаточного для формирования кристаллов определенного размера. Тем самым степень растворимости таких цепей возрастает по мере уменьшения плотности «упаковки». Как правило, растворимость полисахаридов повышается пропорционально возрастанию нерегулярности молекулярных цепей – иными словами, по мере уменьшения плотности межмолекулярной «упаковки».

Водорастворимые и модифицированные полисахариды, используемые в производстве пищевых продуктов и других отраслях промышленности, называют камедями или гидроколлоидами. Пищевые камеди поставляются в порошкообразной форме с различным размером частиц.

2.3.3 Вязкость и стабильность растворов полисахаридов

Полисахариды (камеди, гидроколлоиды) используются в пищевой промышленности прежде всего для загущения и/или желирования водных систем, для модификации и/или регулирования текучести и текстуры жидких продуктов, а также для изменения способности к деформации вязкопластичных (полутвердых) продуктов. Как правило, полисахариды вносят в пищевые продукты в количестве 0,25-0,50 %, поскольку они обладают высокими гелеобразующими свойствами.

Вязкость раствора полимера зависит от размера и формы его молекул и конформаций, принимаемых ими в растворителе. Для пищевых продуктов и напитков функцию растворителя выполняет водный раствор характерных для данного продукта растворимых веществ. Формы молекул полисахаридов в растворе зависят от их ориентации относительно гликозидных связей. Чем больше внутренняя свобода каждой гликозидной связи, тем больше конформаций может быть у каждого отдельного сегмента. Гибкость цепи обуславливает значительный энтропийный вклад, который обычно превышает энергетический, и инициирует цепь к образованию в растворе клубка неупорядоченной конформаций (рис. 2.34). Тем не менее, конформации большинства полисахаридов характеризуются меньшей степенью неупорядоченности, образуя более жесткие клубки, причем их специфическая природа зависит от состава и связей моносахарида.

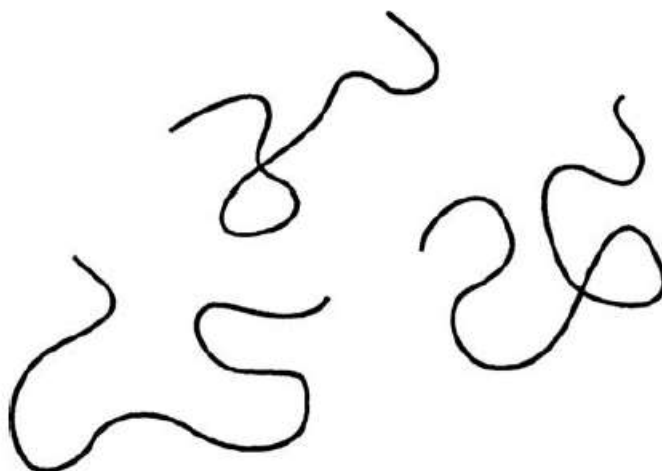


Рис. 2.34. Неупорядоченные клубки молекул полисахаридов

Движение линейных полимерных молекул в растворе приводит к образованию больших пустот. При столкновении молекул друг с другом создается трение, затрачивается энергия – именно так и возникает вязкость. Линейные полисахариды образуют высоковязкие растворы даже в низких концентрациях. Вязкость зависит как от степени полимеризации (молекулярной массы), так и от формы и гибкости растворенной полимерной цепи, причем наибольшую вязкость дают наиболее длинные, разветвленные и/или наиболее жесткие молекулы. Что касается степени полимеризации, то карбоксиметилцеллюлоза (КМЦ) и продукты на ее основе в 2%-ной

концентрации могут давать раствор с вязкостью от менее 5 до более 100 000 МПа·с.

Высокоразветвленный полисахарид занимает гораздо меньший объем, чем линейный полисахарид той же молекулярной массы (рис. 2.35). В результате высокоразветвленные молекулы сталкиваются значительно реже и образуют гораздо менее вязкий раствор, чем линейные полимеры той же степени полимеризации. Таким образом, для образования раствора той же концентрации и вязкости молекула высокоразветвленного полисахарида должна быть значительно крупнее.

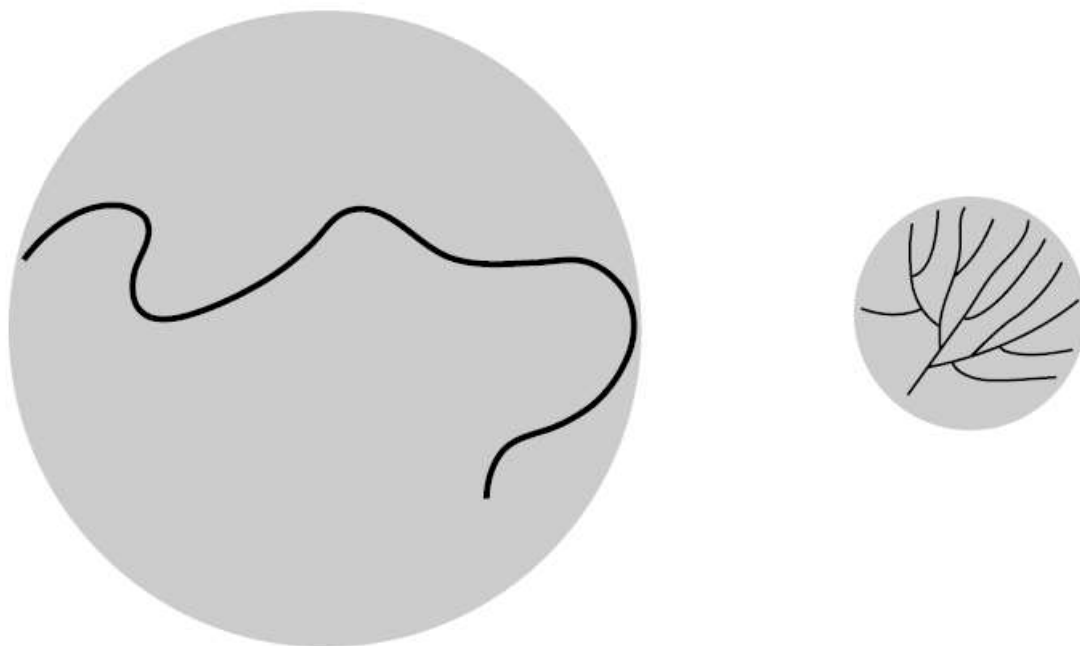


Рис. 2.35. Относительные объемы, занимаемые линейными и высокоразветвленными полисахаридами одинаковой молекулярной массы

Аналогичным образом линейный полисахарид, несущий только один заряд иона (почти всегда отрицательный, обусловленный ионизированными карбоксильной или сульфатной группами), приводит к объемной конфигурации за счет отталкивания одноименных зарядов, что увеличивает линейную длину цепи и занимаемый полимером объем. Именно поэтому такие полимеры дают высоковязкие растворы.

Неразветвленные гликаны с регулярно повторяющимися звеньями образуют нестабильные водные дисперсии, которые быстро осаждаются или желируют. Это происходит вследствие столкновения сегментов длинных молекул и образования межмолекулярных связей через несколько звеньев. Исходные короткие ровные участки приводят затем к образованию структур типа застешки «молния» и существенно усложненных межмолекулярных ассоциаций. Сегменты других цепей, сталкиваясь с таким организованным ядром, связываются с ним, увеличивая долю упорядоченной кристаллической фазы. Линейные молекулы продолжают связываться с такой бахромчатой мицеллой, которая может достигнуть размера, при котором под действием

силы тяжести начинается осаждение. Например, амилоза крахмала, растворенная при нагревании в воде и охлажденная затем до температуры ниже $65\text{ }^{\circ}\text{C}$, подвергается агрегации молекул и осаждается (этот процесс называется ретроградацией крахмала). При охлаждении хлебобулочных изделий молекулы амилозы ассоциируются, упрочняя структуру изделия. При длительном хранении боковые цепи амилопектина ассоциируются и могут частично кристаллизоваться, вызывая черствение.

Молекулы неразветвленных нейтральных гомогликанов по своей природе склонны к ассоциации и частичной кристаллизации. Тем не менее, при ветвлении или частичном ветвлении линейных гликанов, как, например, у гуаровой камеди с однозвенными гликозильными ветвями вдоль основной цепи, их сегменты защищены от ассоциирования, что приводит к образованию стабильных растворов.

Стабильные растворы образуются также, если в линейной цепи имеются заряженные группы, так что сближение сегментов предотвращается кулоновскими силами отталкивания. Как мы уже отмечали, силы отталкивания одноименных зарядов обуславливают расширение цепей и повышение вязкости. Подобные стабильные высоковязкие растворы образует, например, альгинат натрия, у которого все гликозильные звенья – это уроновая кислота с группой карбоновой кислоты в виде соли. Это относится и к ксантану, у которого уроновой кислотой представлена одна из пяти гликозильных групп и присутствует другая карбоксильная группа из циклического ацеталя пировиноградной кислоты (по одной на каждые 10 звеньев моносахарида). Если понизить значение рН раствора альгината до 3, когда подавляется ионизация карбоксильных групп, так как pK_a мономеров составляет соответственно 3,38 и 3,65, то полученные слабоионизированные молекулы могут ассоциироваться и осаждаться, а также формировать гель подобно тому, как это происходит в случае неразветвленного незаряженного гликана.

Каррагинаны – это смеси линейных цепей разной структуры, имеющих отрицательный заряд из-за большого числа ионизированных сульфогрупп. Эти молекулы не осаждаются при неких значениях рН, так как сульфатная группа при всех значениях рН ионизирована.

Растворы камедей представляют собой дисперсии гидратированных молекул и/или их агрегатов. Реологические свойства таких растворов определяются размером, формой, способностью к деформации (гибкостью), а также наличием и величиной зарядов этих гидратированных молекул и/или агрегатов. Существует два типа поведения растворов полисахаридов – псевдопластический (наиболее распространенный) и тиксотропный, причем оба характеризуются постепенным разжижением при сдвиге.

При псевдопластическом поведении более быстрое течение обусловлено увеличением скорости сдвига: чем больше прилагаемая сила, тем меньше вязкость (рис. 2.36). Эта прилагаемая сила образуется при выливании, пережевывании, глотании, перекачке насосом – то есть под действием любых

сил, способным вызывать сдвиг. Изменение вязкости не зависит от времени, то есть скорость течения мгновенно меняет при изменении скорости сдвига. Как правило, камеди с более высокой молекулярной массой образуют растворы с более псевдопластичным поведением, а линейные молекулы более «жесткой» структуры дают более псевдопластичное течение [12].

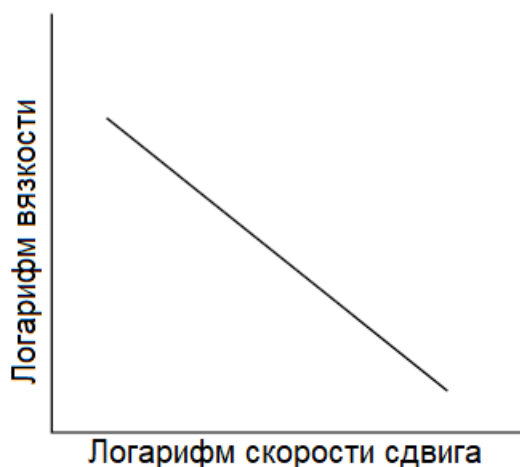


Рис. 2.36. Логарифмическая функция вязкости псевдопластичной жидкости в зависимости от скорости сдвига. При увеличении сдвига вязкости уменьшается

Растворы камедей менее псевдопластичны, то есть обуславливают «длинное течение»; такие растворы воспринимаются как слизистые. Более псевдопластичные растворы, как мы уже отмечали, характеризуются коротким течением и обычно воспринимаются неслизистыми. Что касается науки о пищевых продуктах, то слизистые материалы воспринимаются густыми, обволакивающими ротовую полость, их трудно глотать. «Слизистость» обратно пропорциональна псевдопластичности, то есть неслизистые растворы должны быстро разжижаться при низких скоростях сдвига, характерных для пережевывания и глотания.

Второй тип разжижения при сдвиге – это тиксотропное течение. В этом случае уменьшение вязкости при увеличении скорости течения происходит не мгновенно. Вязкость тиксотропных растворов при постоянной скорости сдвига со временем уменьшается и после прекращения сдвига возвращается к значению начальной вязкости, но только через определенный промежуток времени. Такое поведение объясняется последовательными переходами от геля к раствору и обратно в гель. Другими словами, тиксотропный раствор – это слабый гель, который можно лить.

Для растворов большинства камедей с увеличением температуры вязкость уменьшается. Такое снижение вязкости при повышении температуры зачастую бывает очень важным, так как более твердые тела можно поместить в раствор при повышенной температуре, а затем загустить раствор путем охлаждения (исключением здесь является ксантановая камедь, так как вязкость ее растворов в интервале температур от 0 до 100 °С постоянна).

2.3.4 Гели

Гель – это непрерывная трехмерная сеть соединенных молекул или частиц (кристаллов, капель эмульсии агрегатов молекул или фибрилл) с большим объемом непрерывной жидкой фазы (наподобие намоченной губки). Во многих пищевых продуктах гелевая сеть состоит из полимерных (полисахаридных и/или белковых) молекул или фибрилл из полимерных молекул, соединенных водородными связями, гидрофобными ассоциациями (то есть Ван-дер-Ваальсовыми силами), ионными мостиками, сложными переплетениями молекул или ковалентными связями, а жидкая фаза – это водный раствор низкомолекулярных компонентов и частей полимерных цепей.

Для гелей свойственны характеристики как твердых тел, так и жидкостей. При взаимодействии полимерных молекул или образованных ими фибрилл образуются зоны взаимодействия и трехмерная сеть (рис. 2.37), а жидкая фаза превращается в материал, способный частично или полностью удерживать свою форму. Структура трехмерной сети оказывает достаточное сопротивление приложенной нагрузке, что придает этой структуре вязкопластичные свойства. Вместе с тем непрерывная жидкая фаза, в которой молекулы остаются подвижными, делает гель менее твердым, чем обычное твердое тело, что обуславливает его некоторые свойства вязкой жидкости. Поэтому гель является вязкопластичным «полутвердым» телом или, другими словами, реакция геля на приложенную нагрузку характерна частично для эластичного твердого тела, а частично для вязкой жидкости.

Несмотря на то, что гелеобразные, похожие на мази и пасты материалы могут образовываться при высоких концентрациях частиц (наподобие томатной пасты), для формирования геля из растворенных молекул камедей (гидроколлоидов) эти молекулы или их агрегаты должны частично выделиться из раствора в зонах взаимодействия и удерживаться в трехмерной сетевой гелевой структуре. Как правило, если после формирования геля зоны взаимодействия увеличиваются, сеть становится более компактной, структура сжимается, и возникает синерезис, проявляющийся в появлении капель жидкости на поверхности геля.

Хотя в гелях полисахаридов обычно содержится не более 1 % полимера, что соответствует 99 % воды, они могут быть довольно прочными. Примерами таких гелей могут служить сладкие десерты, заливное, желированные кусочки фруктов, структурированные колечки репчатого лука, аналогичные мясу корма для животных, джемы, желе и жевательные конфеты.

Выбор конкретного гелеобразующего вещества (камеди) зависит от требуемых вязкости или прочности геля, реологических свойств, значения pH, температур переработки, взаимодействий с другими ингредиентами, текстуры и стоимости сырья. Необходимо учитывать и необходимые технологические характеристики – способность камеди быть связующим, наполнителем, ингибитором кристаллизации, осветлителем, замутнителем, пленкообразователем, эмульгатором, стабилизатором эмульсии,

инкапсулирующим веществом, имитатором жира, хлопьеобразователем, стабилизатором пены, смазкой для форм, стабилизатором суспензии, веществом, способствующим набуханию или взбиванию, ингибитором синерезиса. Учитывается также ее способность к поглощению и удержанию влаги (влагоудерживающая способность, ВУС, и регулирование миграции влаги).

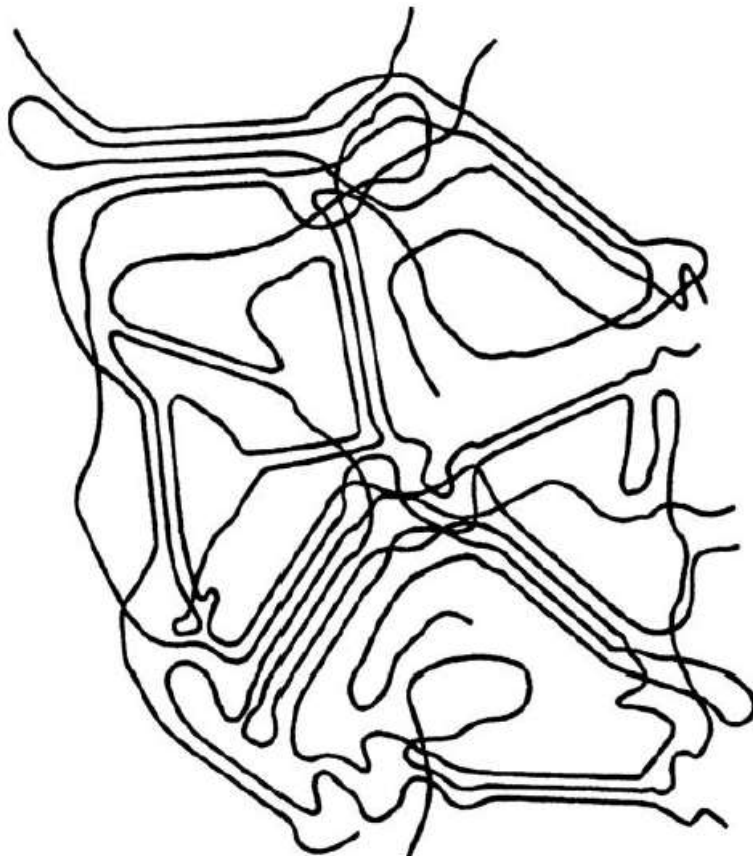


Рис. 2.37. Схематическое представление структуры трехмерной сетки гелей. Близко расположенные параллельные линии соответствуют упорядоченными кристаллическим структурам зон взаимодействия. В промежутках между этими зонами содержится водной раствор растворенных частей полимера и иных растворенных веществ

Каждая пищевая камедь характеризуется своими особыми, уникальными свойствами, которые зачастую и определяют ее выбор для промышленного применения (табл. 2.5).

Таблица 2.5

Основные водорастворимые некрахмалистые полисахариды, применяемые в пищевой промышленности [13]

Камеди	Источник происхождения	Растворимость в воде	Важнейшие свойства	Основные виды применения в пищевых продуктах
Альгины (альгинаты), в основном альгинат натрия	Бурые водоросли	Растворимый альгинат натрия Нерастворимая альгиновая кислота	Гели с Ca^{2+} Вязкие, не слишком псевдопластичные растворы	Образует нетающие гели (десертные, аналоги фруктов, другие структурированные продукты) Аналоги мяса Альгиновая кислота дает мягкие тиксотропные гели

				(томатная заливка, желейная начинка, начинка для зерновых завтраков с фруктами)
Карбоксиметил-целлюлоза (КМЦ)	Целлюлоза	Растворимые Высокая	Поверхностно активны, растворы устойчивы по отношению к кислотам Ca ²⁺ Прозрачные стабильные растворы как псевдопластичные, так и тиксотропные	Стабилизация эмульсии в кремообразных салатных дрессингах Загуститель для низкокалорийных салатных дрессингов Задерживает рост кристаллов льда в мороженом и других замороженных десертах Загуститель, суспендирующее вещество, защитный коллоид; улучшает «ощущение во рту», «тело» и текстуру различных салатных дрессингов, соусов и спредов Смазка, пленкообразователь, технологическая добавка в экструдированные продукты Влагоудерживающее вещество, замедляющее кристаллизацию и/или синерезис в посылках, глазурах, топпинаках, начинках и пудингах Загуститель для сиропов Основа подливки для сухих кормов для животных и др.
Каррагинаны	Красные водоросли	к типы: соль Na ⁺ растворима в холодной воде, соли K ⁺ и Ca ⁺ I типы: соль Na ⁺ растворима в холодной воде, соли K ⁺ и Ca ⁺ λ типа: все соли растворимы в горячей и холодной воде	Образуют прочные хрупкие термообратимые гели при K ⁺ > Ca ⁺ ; сгущают и желеируют молоко в низких концентрациях При Ca ⁺ > K ⁺ образует мягкие, эластичные, термообратимые гели; гели не проявляют синерезис и стабильны в циклах замораживания-размораживания	Производство сгущенного молока, смесей для детского питания, стабильных при замораживания-размораживания взбитых сливок, молочных десертов и шоколадного молока Кляр для мясных продуктов Улучшение адгезии в эмульгированных мясных продуктов Улучшение текстуры и качества мясных продуктов с пониженным содержанием жира
Гуаровая камедь	Зерна гуара	Высокая	Стабильные прозрачные очень вязкие среднеспсевдопластичные растворы Экономичное загущение	Связывает воду, предотвращает рост кристаллов льда, улучшает «ощущение во рту», смягчает структура, обусловленную каррагинаном и камедью бобов рожкового дерева, замедляет таяние мороженого и аналогичных продуктов Молочные продукты, готовые блюда,

				хлебобулочные изделия, соусы, корма для животных
Пектины	Кожура цитрусовых, яблочные выжимки	Растворим	Образует желе- и джемоподобные гели в присутствии сахара и кислоты, а также ионов Ca ²⁺	Высокометоксилированный пектин: Желе с высоким содержанием сахара, джемы, пресервы, мармелады Кисломолочные продукты Низкометоксилированный пектин: Диетическое желе, джемы, пресервы, мармелады
Ксантановая камедь	Ферментационная среда	Высокая	Очень псевдопластичные и очень вязкие растворы; превосходный стабилизатор эмульсий и суспензий, не изменяет вязкость раствора при изменении температуры и значения pH; прекрасно совместим с солью; дает синергетическое увеличение вязкости при взаимодействии с гуаровой камедью	Стабилизация дисперсий, суспензий и эмульсий Загуститель

2.3.5 Гидролиз полисахаридов

Полисахариды менее стойки к гидролитическому расщеплению, чем белки, и иногда в ходе кулинарной обработки и/или хранения пищевых продуктов могут подвергаться деполимеризации.

Пищевые камеди зачастую медленно деполимеризуются. Одна причина такого поведения состоит в том, что для получения требуемого «тела» («ощущения во рту») без нежелательного увеличения вязкости их вносят в высокой концентрации.

Гидролиз гликозидных связей между моносахаридными (гликозильными) звеньями олиго- и полисахаридов может катализироваться кислотами (H⁺) и/или ферментами. Степень деполимеризации, приводящая к снижению вязкости, определяется по кислоте значению pH, температуре, продолжительность пребывания при этих температуре и значении pH, а также по структуре конкретного полисахарида. Чаще всего гидролиз проходит при термообработке кислых продуктов (в противоположность хранению) из-за высоких температур. Дефектов, возникающих при деполимеризации в ходе термообработки, как правило, пытаются избежать путем введения в рецептуру большего количества полисахарида (камеди), использованием более вязкого сорта камеди (для компенсации деполимеризации) или камеди, более стойкой в кислой среде. Деполимеризация может быть важным индикатором срока годности продукта.

Полисахариды также подвержены ферментно-катализируемому гидролизу. Скорость и конечные продукты такого гидролиза зависят от подбора специфического фермента, значения рН, температуры и времени. Как и все углеводы, полисахариды расщепляются микроорганизмами из-за их подверженности ферментно-катализируемому гидролизу. Кроме того, камеди очень редко поставляются в стерильном виде, что следует учитывать при их применении как ингредиентов пищевых продуктов.

2.3.6 Крахмал

Уникальные физико-химические и нутритивные свойства крахмала выделяют его из всех других углеводов. Крахмал – это доминирующее питательное вещество растений, он обеспечивает поступление в организм человека 70-80 % калорий. Крахмал и продукты его гидролиза составляют большую часть усваиваемых углеводов в рационе. В количественном отношении крахмал, используемый для переработки пищевых продуктов (без учета его содержания в хлебопекарной муке и его нативного содержания в зерне, используемом для производства зерновых завтраков, а также во фруктах и овощах), значительно превышает общее использование всех других пищевых гидроколлоидов.

Промышленно выпускаемые типы крахмала получают из зерен злаков, в том числе из обыкновенной кукурузы, восковой кукурузы (воскового маиса), высокоамилозной кукурузы, пшеницы, различных сортов риса, а также из корнеплодов, в частности из картофеля и маниоки (тапиоки). Крахмалы, в том числе модифицированные, широко применяются на пищевых производствах благодаря их клейкости, связующим и замутняющим свойствам; они используются для посыпки, пленко- и пенообразования, клейстеризации, глазирования, удержания влаги, стабилизации, текстуризации, а также как наполнитель.

Крахмал уникален тем, что в природе он встречается в виде дискретных гранул. Гранулы крахмала нерастворимы и в холодной воде гидратируются лишь частично. В результате они диспергируются в воде с получением маловязкого теста, которое легко перемешивать и перекачивать даже при концентрации крахмала выше 35 %. Загущающие свойства крахмала проявляются лишь при нагревании взвеси гранул. Нагревание 5 %-ной взвеси большинства немодифицированных крахмалов до температуры около 80 °С при перемешивании дает высоковязкую дисперсию (тесто). Еще одна уникальная особенность крахмала состоит в том, что большинство гранул крахмала состоят из смеси двух полимеров – почти линейного полисахарида амилозы и высоковетвленного полисахарида амилопектина.

2.3.6.1 Амилоза

Несмотря на то, что амилоза – это почти линейная цепь (1→4)-связанных α -D-глюкопиранозильных звеньев, во многих молекулах амилозы присутствуют несколько цепей, присоединенных посредством α -D-(1→6)

связи. Такие ответвления характерны примерно для одного из 180-320 звеньев (или 0,3-0,5 %).

Ответвления в разветвленных молекулах амилозы могут быть как очень длинными, так и очень короткими, причем большинство точек ответвления разделены большими расстояниями. Благодаря этому физические свойства амилозы в целом примерно такие же, как у линейных молекул. Молекулярная масса амилозы составляет в среднем 10^6 .

Аксиально-экваториальная конфигурация (1→4)-связанных α -D-глюкопиранозильных звеньев в цепях амилозы придает молекулам форму правой спирали или форму геликса (рис. 2.38). Во внутренней части такой спирали содержатся преимущественно атомы водорода, так что она гидрофобна и липофильна, а гидроксильные группы расположены на ее внешней части. Вид сверху на геликс по оси напоминает «стопку» молекул α -циклодекстрина, так как в каждом витке спирали содержится около 6 (1→4)-связанных α -D-глюкопиранозильных звеньев.

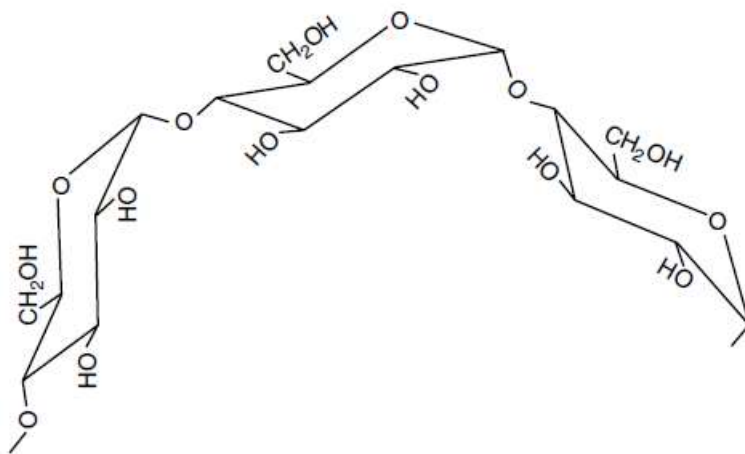


Рис. 2.38. Трисахаридный сегмент неразветвленного участка молекула амилозы или амилопектина

В большинстве крахмалов около 25 % амилозы. В двух видах промышленно выпускаемого высокоамилозного кукурузного крахмала содержится соответственно 52 и 70-75 % амилозы.

2.3.6.2 Амилопектин

Молекула амилопектина – это очень крупная сильноразветвленная молекула, у которой разветвления составляют 4-5% общего числа связей. В цепи амилопектина только одна редуцирующая концевая группа, к которой присоединено множество боковых цепей, а к ним, в свою очередь, присоединены еще одна или несколько боковых цепей («третий слой»). Ответвления молекул амилопектина сгруппированы в кластеры (рис. 2.39) и имеют вид двойных спиралей (геликсов). Молекулярная масса (от 10^7 , СП около 60 000, до $5 \cdot 10^8$, СП около 3 000 000) делает молекулы амилопектина одними из самых крупных молекул в природе, если не самыми крупными.

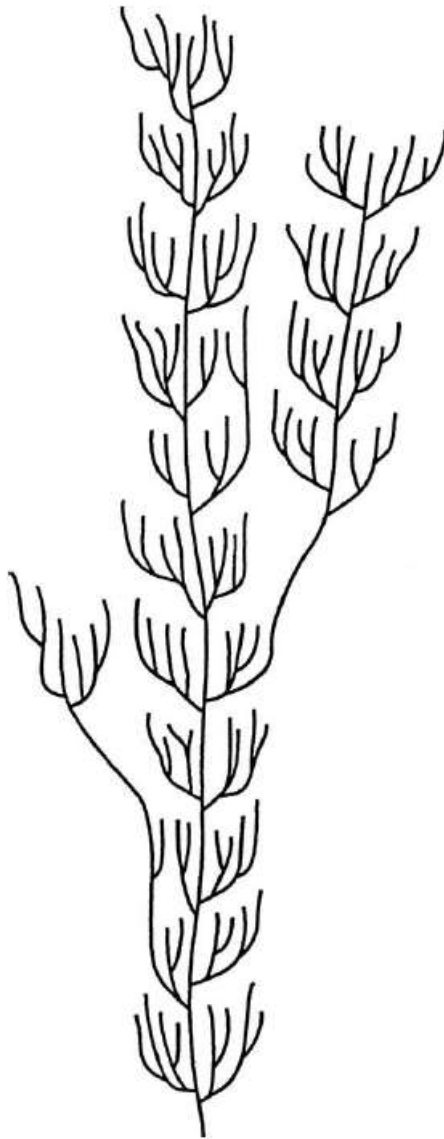


Рис. 2.39. Графическое представление одного участка молекулы амилопектина

Амилопектин присутствует во всех видах крахмала, причем его содержание в наиболее распространенных крахмалах составляет около 75 %. Некоторые крахмалы полностью состоят из амилопектина – их называют восковыми или амилопектиновыми крахмалами. Восковая кукуруза (восковой маис), первый злак, у которого было признано, что крахмал из него состоит только из амилопектина, названа так потому, что разрез зерна имеет стеклоподобный, воскообразный вид. Большинство других амилопектиновых крахмалов также называют восковыми, хотя воск в них, как и в кукурузе, отсутствует.

Картофельный амилопектин уникален среди промышленных крахмалов тем, что в нем больше фосфатных эфирных групп. Чаще всего (на 60-70 %) они присоединены в позиции О-6, а каждая третья – в позиции О-3. Эти фосфатные эфирные группы встречаются по одной на каждые 215-560 α -D-глюкопиранозильных звеньев.

2.3.6.3 Гранулы крахмала

Гранулы крахмала состоят из радиально расположенных молекул амилозы и/или амилопектина. В них присутствуют как кристаллические, так и некристаллические области, чередующимися слоями. Сгруппированные ответвления амилопектина имеют вид упакованных двойных спиралей, а «упаковка» этих биспиральных структур образует маленькие кристаллические ламели (пластинки). В более плотных слоях гранул крахмала, чередующихся с менее плотными аморфными слоями, больше таких кристаллических ламелей. Радиально-упорядоченное расположение молекул крахмала в грануле очевидно из двойного лучепреломления гранул, свидетельством чего является поляризационный крест (белый крест на черном фоне), видимый в поляризационном микроскопе с поляризаторами, установленными под углом 90°. Центр креста приходится на хилум, откуда растет гранула.

Гранулы кукурузного крахмала даже из одного источника имеют разную форму – некоторые почти сферические, некоторые заостренные, а некоторые зубчатые. Гранулы пшеничного крахмала двояковыпуклые и характеризуются бимодальным распределением размеров (примерно от менее 10 и более 10 мкм), причем самые крупные гранулы имеют выраженную двояковыпуклую форму. Гранулы рисового крахмала – самые мелкие из промышленно выпускаемых крахмалов (1-9 мкм), хотя примерно тот же размер имеют и самые мелкие гранулы пшеничного крахмала. Большинство гранул картофельного и других крахмалов из корнеплодов обычно больше гранул зернового крахмала (гранулы картофельного крахмала могут достигать 100 мкм по главной оси) – такой крахмал менее плотный, и его легче варить.

Во всех промышленно выпускаемых крахмалах содержатся небольшое количества золы, жира и белка. Содержание фосфора в картофельном крахмале (0,06-0,1%, 600-1000 мг/кг) обусловлено присутствием фосфатных эфирных групп в молекулах амилопектина, которые придают амилопектину картофельного крахмала слабый отрицательный заряд. Этот заряд вызван кулоновскими силами отталкивания, участвующими в быстром набухании гранул картофельного крахмала в теплой воде и в ряде свойств картофельного клейстера, а именно в его высокой вязкости, прозрачности и низкой скорости ретроградации. В молекулах крахмала злаков или вообще нет фосфатных эфирных групп, или их количество гораздо меньше, чем в молекулах картофельного крахмала. Эндогенные липиды характерны только для крахмалов злаков – к ним относятся прежде всего свободные жирные кислоты (СЖК) и лизофосфолипиды (ЛФЛ), представленные главным образом лизофосфатидилхолином в кукурузном крахмале – 89%). Содержание СЖК и ЛФЛ в различных зерновых крахмалах варьировалось.

2.3.6.4 Клейстеризация крахмала

Неповрежденные гранулы крахмала в холодной воде нерастворимы, но могут обратимо поглощать воду, слегка набухая, а при высыхании возвращаясь к исходному размеру. При нагревании в воде гранулы крахмала

подвергаются процессу, называемому клейстеризацией (желатинизацией). Клейстеризация – это нарушение упорядоченности молекулярного строения гранул. Признаки нарушения упорядоченности включают необратимое набухание гранул, утрату двойного лучепреломления и потерю кристалличности. Температура клейстеризации происходит вымывание амилозы, которое может начаться еще до клейстеризации. Полная клейстеризация гранул крахмала одного вида происходит в определенном интервале температур. Температура начальной клейстеризации и условия, в которых она происходит, зависят от способа измерений и соотношения «крахмал/вода», типа гранул и гетерогенности группы исследуемых гранул (все исследуемые группы гранул крахмала гетерогенны). Выделяют несколько температур клейстеризации группы гранул – температуру начала, температуру средней точки и температуру окончания клейстеризации.

Продолжительное нагревание гранул крахмала в большом количестве воды приводит к вымыванию растворимых компонентов (в первую очередь, амилозы) и полному разрыву гранул под действием сил трения. Все это приводит к образованию крахмального клейстера (клейстером называют то, что получается при нагревании крахмальной суспензии). В результате набухания и разрыва гранул получается вязкая масса (клейстер), состоящая из непрерывной фазы растворенной амилозы и/или амилопектина и дисперсной фазы остатков гранул крахмала (фрагментов). Полного диспергирования можно добиться только в условиях высоких температур, трения и избытка воды, то есть в условиях, редко встречающихся в производстве пищевых продуктов. После охлаждения горячего клейстера из кукурузного крахмала получается вязкоупругий прочный гель.

Так как клейстеризация крахмала – процесс эндотермический, то для ее контроля широко применяются методы дифференциальной сканирующей калориметрии (ДСК), позволяющие измерять как температуру, так и энтальпию клейстеризации. Хотя данные ДСК и процессы, происходящие при клейстеризации, можно интерпретировать по-разному, общепринято следующее понимание. Вода играет роль пластификатора. Эффект от усиления мобильности молекул сначала возникает в аморфных областях, которые с физической точки зрения стеклоподобны. При варке гранул крахмала в достаточном количестве воды (не менее 60 %) и при конкретной температуре (T_g , температуре стеклования), в пластифицированных аморфных областях гранул происходит фазовый переход из стеклообразного в резинообразное состояние. При использовании ДСК пик поглощения энергии, связанный с фазовым переходом, наблюдается очень редко, так как области кристалличности, то есть упорядоченные упакованные двойные спирали амилопектина, соприкасаются и соединяются ковалентными связями с аморфными областями, и плавление кристаллических областей следует сразу же после перехода в стеклообразное состояние. Поскольку энтальпия начального плавления (T_m) намного превышает энтальпию стеклования, последнее обычно бывает незаметно.

Плавление комплексов «липид-амилоза» происходит при гораздо более высоких температурах (101-120 °С) при избытке воды, чем плавление двойных спиралей амилопектина, упакованных по типу кристаллов. Липидно-амилозные комплексы образуются из одиночных спиральных сегментов молекул амилозы, при охлаждении клейстера, содержащего жирные кислоты или липиды моноацилглицеринов. У восковых крахмалов (без амилозы) пик ДСК при этом не наблюдается.

В нормальных условиях переработки пищевых продуктов (температуры и содержания влаги) гранулы крахмала быстро набухают и переходят точку обратимости. Молекулы воды проникают между цепями крахмала, разрывают межмолекулярные связи и образуют вокруг отдельных молекул гидратирующие слои. Тем самым молекулы крахмала пластифицируются («смазываются»), лучше отделяются друг от друга и сольватируются. Наличие больших количеств воды приводит к набуханию гранул, которые становятся в несколько раз больше. При аккуратном перемешивании и нагреве 5 %-ной суспензии крахмала его гранулы поглощают воду до тех пор, пока не будет абсорбирована большая часть воды; молекулы разбухают, прижимаются друг к другу, и в емкости образуется вязкий крахмальный клейстер, большая часть воды в котором находится внутри разбухших гранул. Вязкость такого клейстера сравнима с вязкостью пудинга, поскольку его большая часть образована разбухшими гранулами, с трудом перемещающимися относительно друг друга. При перемешивании такие разбухшие гранулы нативного крахмала легко разрываются и дезинтегрируются, приводя к дальнейшему увеличению вязкости. После набухания гранул крахмала гидратированные молекулы амилозы диффундируют через массу во внешнюю фазу (воду), что во многом объясняет некоторые аспекты поведения теста. Результаты набухания крахмала можно измерить различными инструментами, регистрирующими изменение вязкости сначала при повышении температуры, а затем при постоянной температуре и при ее снижении (рис. 2.40).

Большинство крахмальных суспензий при нагревании помешивают для предотвращения оседания гранул на дно. Перемешивание используется и в измерительных приборах, регистрирующих изменения – клейстеризации как функции от температуры в виде кривых, приведенных на рис. 2.40. К моменту достижения максимальной вязкости некоторые гранулы разрушаются. При продолжении перемешивания разрушается и фрагментируется все больше гранул, что приводит к последующему снижению вязкости. При охлаждении некоторые молекулы крахмала частично реассоциируются с образованием осадка или геля. Этот процесс называют ретроградацией крахмала. Прочность такого геля зависит от количества зон взаимодействия, на образование которых влияет присутствие других ингредиентов – жиров, белков, сахаров, кислот – и количество воды.

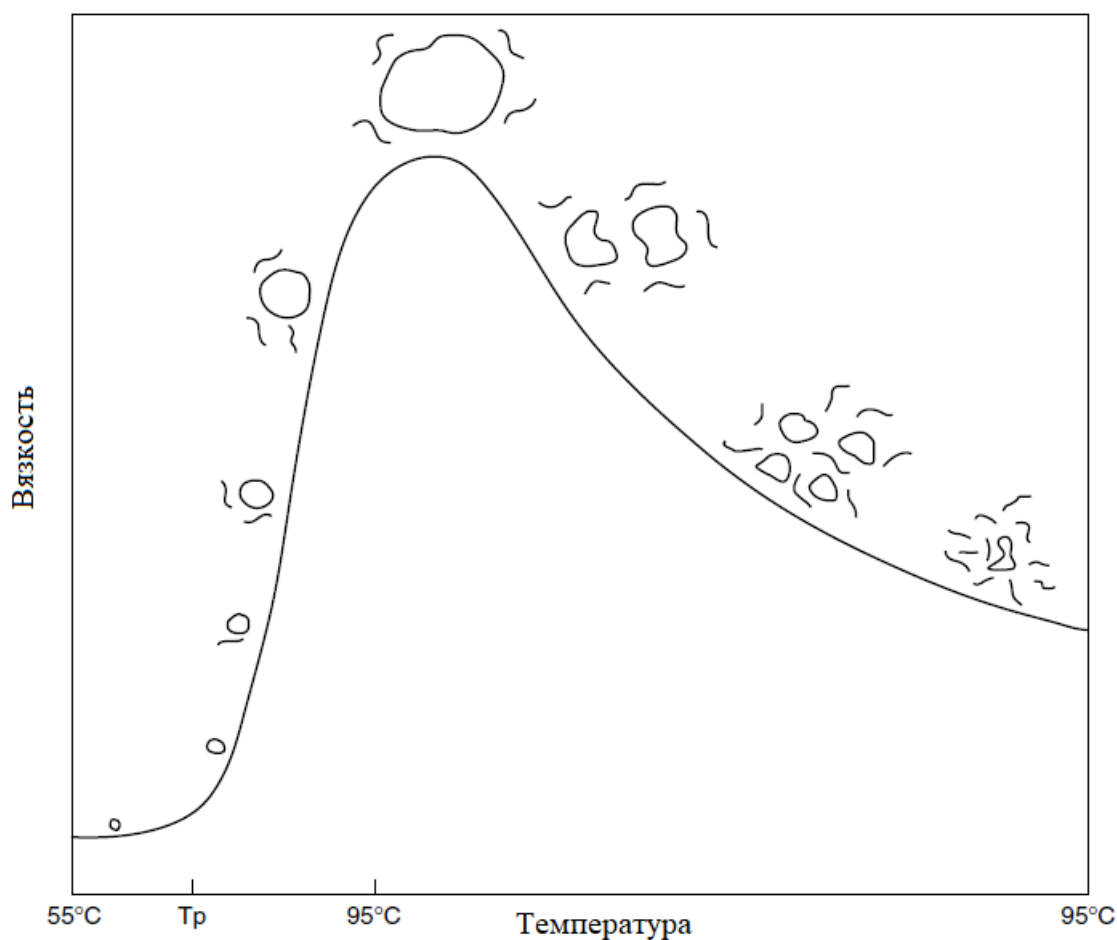


Рис. 2.40. Наглядная кривая клейстеризация, свидетельствующая об изменении при нагревании суспензии гранул крахмала до 96 °С с последующим выдерживанием при этой температуре (использовался измерительный прибор с низкой скоростью сдвига)

2.3.6.5 Применение немодифицированных крахмалов

В производстве пищевых продуктов крахмалы выполняют разные функции. В основном их используют для получения требуемых текстурных свойств, поскольку они обеспечивают объем и массу изделий. Степень клейстеризации крахмала в хлебобулочных и мучных кондитерских изделиях сильно влияет на свойства готового продукта, в том числе на стабильность при хранении и скорость усвоения в организме. В изделиях из теста с низким содержанием влаги многие гранулы крахмала остаются неклеястеризованными, тогда как в изделиях с высоким содержанием влаги большинство или все гранулы клейстеризованы. Большинство крахмалов, используемых в качестве ингредиента, относятся к «модифицированным пищевым крахмалам», поскольку текстура натурального крахмального клейстера, особенно из кукурузного крахмала, нежелательна. Более желательны прозрачные клейстеры из крахмала восковой кукурузы, но даже этот крахмал для улучшения его технологических свойств обычно химически модифицируют. Немодифицированный картофельный крахмал применяют в производстве экструдированных зерновых завтраков и снеков, а также сухих суповых и кондитерских смесей. Рисовый крахмал дает непрозрачный

клейстер, используемый в производстве детского питания. Клейстеры из воскового риса – прозрачные и клейкие, тогда как клейстеры из пшеничного крахмала довольно слабые и обладают слабым вкусом и ароматом из-за остаточного содержания компонентов муки. Картофельный крахмал характеризуется слабыми межмолекулярными связями и сильно набухает. Из него получается высоковязкий клейстер, но под действием сдвига его вязкость быстро снижается из-за быстрого разрушения набухших гранул.

2.3.6.6 Клейстеризация крахмала в растительных тканях

Большая часть пищевого крахмала присутствует в продуктах из зернового или овощного сырья, в которых крахмал составляет основную часть сухих веществ. Именно поэтому важно понимать термические свойства крахмала в этой нативной среде, поскольку они связаны с приемлемой текстурой переработанных пищевых продуктов. Степень клейстеризации крахмала в пищевых системах обычно зависит как от содержания влаги, так и от степени термического воздействия. Как уже было отмечено, в некоторых хлебобулочных и мучных кондитерских изделиях, гранулы крахмала могут остаться неклеистеризованными даже после нагревания до высоких температур. В корочке пирогов и некоторых видах печенья с высоким содержанием жира и небольшим влаги около 90 % гранул пшеничного крахмала остаются неклеистеризованными. В хлебном мякише и кексах с высоким содержанием влаги (около 96%) гранулы пшеничного крахмала клейстеризованы, но поскольку они нагревались без воздействия сдвига, присутствие этих гранул видно невооруженным глазом, и их можно изолировать, пусть и в деформированном виде [6].

Тепловой обработки овощей (бланширования, запекания, варки в воде или на пару, жарки) обычно бывает достаточно для требуемого размягчения растительных тканей. После такой тепловой обработки растительные волокна легче отделяются друг от друга вдоль паренхиматозных клеток.

Паренхиматозная ткань – наиболее распространенный тип тканей съедобных растений. Как правило, она состоит из агрегированных клеток многоугольной формы, в каждой из которых присутствуют кластеры гранул крахмала, окруженные целлюлозной клеточной стенкой. Соседние клетки соединяются и прикрепляются друг к другу с помощью срединной ламели, состоящей главным образом из пектиновых веществ. Вода, основной компонент большинства растительных тканей, накапливается преимущественно в вакуолях клеток (84 %), а также в гранулах крахмала (13 %) и компонентах клеточной стенки (3 %).

При нагревании растительных тканей полукристаллизованные гранулы крахмала забирают воду из клеток, набухают и клейстеризуются (рис. 2.41). Нативной влаги в паренхиматозной ткани обычно бывает достаточно для пластификации гранул крахмала и его клейстеризации. Вместе с тем температура, при которой это происходит, для гранул крахмала внутри нативных растительных клеток несколько выше, чем для уже изолированного

крахмала. Более высокую температуру клейстеризации крахмала *in situ* относят на счет присутствия растворенных веществ. Несмотря на то, что клейстеризация крахмала в растительной ткани считается полной (то есть упорядоченность молекул полностью утрачивается), набухание гранул ограничено окружающими клеточными стенками. Гранулы крахмала при набухании (с некоторым вымыванием амилозы из клеточных стенок) заполняют большую часть объема соответствующих клеток, превращаясь в набухшую крахмальную массу со слаборазличимыми остатками гранул. Набухание гранул при нагревании оказывает определенное внутреннее давление (примерно 100 кПа) на клеточные стенки паренхиматозных клеток. Хотя величина этого давления набухания сама по себе недостаточна для расщепления клеток, которые в основном остаются неповрежденными, изолированные паренхиматозные клетки картофеля несколько увеличиваются в размере и приобретают в результате клейстеризации крахмала более сферическую форму. Такое «округление» клеток происходит из-за разложения пектина в срединной ламели путем β -элиминирования, что вызывает размягчение паренхиматозной ткани. Поскольку это характерное явление размягчения наблюдается в тканях, не содержащих больших количеств крахмала (например, в тканях томатов), то его приписывают в основном расщеплению пектина в срединной ламели.

Тем не менее, в крахмалосодержащих тканях, в частности, картофеля, высокое содержание крахмала и/или степень набухания гранул крахмала зачастую обуславливает получение более мягких разваренных: тканей. Считается, что вышеупомянутое явление «округления» клеток приводит к давлению на частично расщепленную, ослабленную среднюю ламель с последующим разделением клеток или тканей. Кроме того, степень набухания клейстеризованных гранул крахмала и заполнения объема паренхиматозных клеток влияет на ощущение влажности ткани во рту.

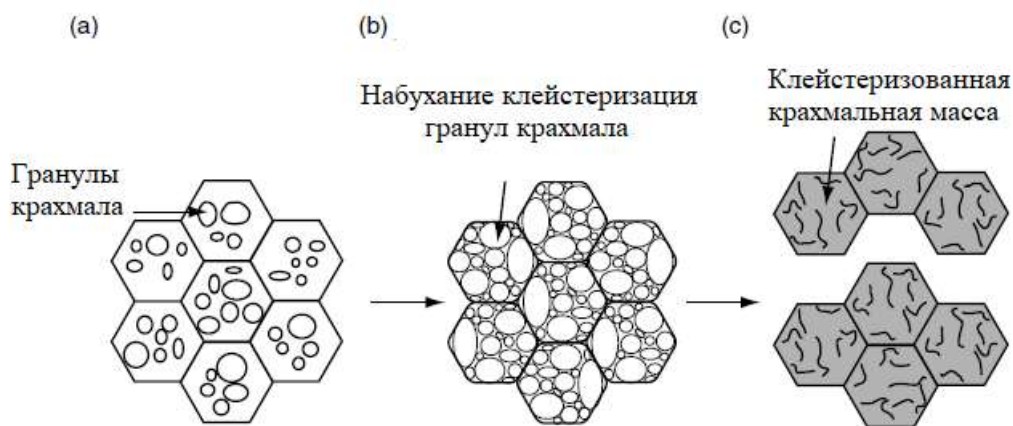


Рис. 2.41. В паренхиматозной растительной ткани гранулы крахмала (а) при нагревании набухают и клейстеризуются при нагревании, оказывая определенное давление на окружающие клеточные стенки (b); в ходе дальнейшего нагревания в клетках образуются почти однородная клейстеризованная крахмальная масса (с). Нагретая растительная ткань становится склонной к расслоению (разделению клеток), что в основном обусловлено расщеплением пектина в срединной ламелии и некоторым давлением набухающего крахмала

Высокое содержание крахмала и способность к набуханию обычно больше способствуют связыванию свободной влаги в подвергаемой обработке ткани, вызывает ощущение «сухости». Текстуру отварного картофеля традиционно описывают в терминах «рассыпчатости» и «клейкости». Рассыпчатость текстуры обуславливается легкокрошащейся сухой на вид тканью, а «клейкая» воскоподобная ткань, которую не следует путать с восковым крахмалом, характеризуется большей влажностью, резиноподобным ощущением во рту и более жесткой текстурой. Как правило, «клейкий» картофель легче перерабатывать в картофель «фри», пюре и т. д., но его также используют для варки и консервирования. Поведение крахмала при клейстеризации оказывает существенное влияние на текстуру приготавливаемых продуктов из растительного сырья и свойства готовых продуктов, а также благодаря «округлению» клеток влияет на размягчение и влагосвязывающую способность паренхиматозной ткани.

2.3.6.7 Ретроградация крахмала и черствение

Охлаждение горячего крахмального клейстера, как правило, приводит к образованию прочного вязкопластичного геля. Образование в геле зон взаимодействия может считаться первой стадией кристаллизации молекул крахмала. В ходе охлаждения и хранения крахмального клейстера крахмал постепенно становится менее растворимым, а в разбавленном растворе молекулы крахмала начинают осаждаться. Совокупность процессов уменьшения растворимости молекул крахмала в растворе или клейстере называется ретроградацией крахмала. Ретроградация крахмала затрагивает оба образующие его полимера (амилозу и амилопектин), причем ретроградация амилозы происходит гораздо быстрее, чем амилопектина. Скорость ретроградации зависит от нескольких факторов, в том числе от молекулярного соотношения амилозы и амилопектина, а также от структуры их молекул, что определяется типом растительного источника крахмала, температурой, массовой долей крахмала, а также наличием и содержанием других ингредиентов, прежде всего ПАВ и солей. Многие дефекты качества пищевых продуктов, а именно черствение хлебобулочных изделий, снижение вязкости и образование осадка у супов и соусов, обусловлены, по крайней мере частично, именно ретроградацией крахмала.

Черствение хлебобулочных изделий проявляется в увеличении твердости корочки и потере ощущения «свежести» продукта. Черствение начинается сразу же после завершения выпечки и начала охлаждения. Скорость черствения зависит от рецептуры, технологии хлебопечения и условий хранения. Черствение частично обусловлено постепенным переходом аморфного крахмала в частично кристаллическое состояние ретроградации. В изделиях с содержанием влаги, достаточным для клейстеризации гранул крахмала без потери ими своей идентичности, ретроградация амилозы (потеря растворимости) в основном завершается ко времени достижения продуктом комнатной температуры. Считается, что для ретроградации амилопектина,

включающей первичное ассоциирование его внешних ответвлений, требуется гораздо больше времени, чем для ретроградации амилозы. Это делает ретроградацию амилопектина доминирующим фактором в процессе черствения после охлаждения продукта.

Большинство полярных липидов с поверхностно-активными свойствами замедляют отверждение комков благодаря образованию комплексов с полимерными молекулами крахмала. В состав хлебопекарного теста и других выпекаемых изделий поэтому включают такие добавки, как глицерина монопальмитат (ГМП), другие моноглицериды и их производные, а также натрия стеарил-2-лактат, способствующие увеличению срока годности готовых изделий.

2.3.7 Целлюлоза, ее формы и производные

Целлюлоза – это высокомолекулярный линейный нерастворимый гомополимер, состоящий из повторяющихся β -D-глюкопиранозильных звеньев, соединенных друг с другом по (1→4)-гликозильным связям (рис. 2.42). Аксиально-экваториальные (1→4)-связи, соединяющие β -D-глюкопиранозильные звенья молекул крахмала, образуют спиральную структуру (α -геликс), тогда как экваториально-экваториальные (1→4)-связи, соединяющие β -D-глюкопиранозильные звенья целлюлозы, образуют плоскую ленточную структуру, в которой каждое глюкопиранозильное звено цепи перевернуто по сравнению с предшествующим и последующим фрагментом. Вследствие своей плоской и линейной природы молекулы целлюлозы могут соединяться друг с другом через водородные связи на достаточно протяженных участках, формируя поликристаллические волокнистые пучки. Кристаллические области отделены друг от друга и в то же время соединяются участками с аморфной структурой, и именно поэтому целлюлоза нерастворима в воде. Для растворения целлюлозы должно быть одновременно расщеплено большинство из огромного количества водородных связей. Тем не менее, целлюлозу можно с помощью процедуры дериватизации превратить в водорастворимые гидроколлоиды.

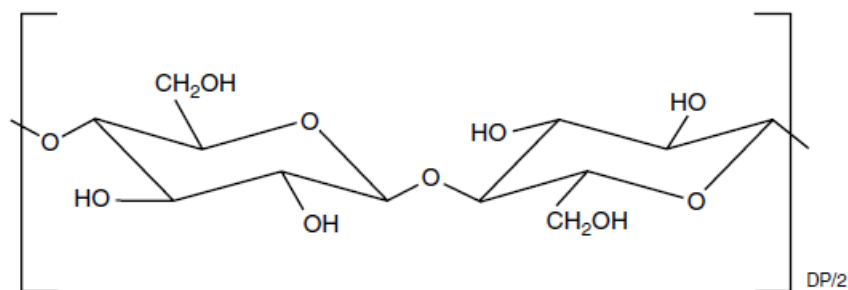


Рис. 2.42. Структура молекулы целлюлозы

Целлюлоза и ее модифицированные формы – это пищевые волокна, которые не перевариваются и не обладают существенной энергетической

ценностью, проходя через желудочно-кишечный тракт человек в неизменном виде. Пищевые волокна играют важную роль в рационе человека.

Очищенная порошкообразная целлюлоза поставляется в качестве ингредиента пищевых продукте. Высококачественную целлюлозу получают из древесины путем ее измельчения и последующей очистке. Для пищевого применения не требуется целлюлоза химической степени чистоты, поскольку целлюлозные клеточные стенки являются компонентами всего растительного сырья. У пищевой очищенной целлюлозы нет цвета, запаха и она не контаминирована микроорганизмами. Целлюлозный порошок чаще всей вносят в хлебобулочные изделия в качестве некалорийного наполнителя. Такие низкокалорийные хлебобулочные изделия не только характеризуются повышенным содержанием пищевых волокон, но и дольше удерживают влагу и остаются свежими.

2.3.8 Гуаровая камедь и камедь рожкового дерева

Гуаровая камедь и камедь рожкового дерева (КРД) – это важнейшие полисахариды-загустители (см. табл. 2.5). Гуаровая камедь по сравнению с другими натуральными, промышленно выпускаемыми камедями обеспечивает получение наибольшей вязкости. И гуаровая камедь, и КРД представляют собой измельченный эндосперм семян. Основной его компонент – это галактоманнаны, состоящие из молекул, образованных из β -D-маннопиранозильных звеньев, присоединенных друг к другу по (1→4)-связям. В структуру молекул входят также однозвенные α -D-галактопиранозильные боковые ответвления, присоединенные к O-6 (рис. 2.43). Большую часть гуаровой камеди составляет специфический полисахарид гуаран, в котором более половины D-маннопиранозильных звеньев основной цепи содержат α -D-галактопиранозильные заместители [7].

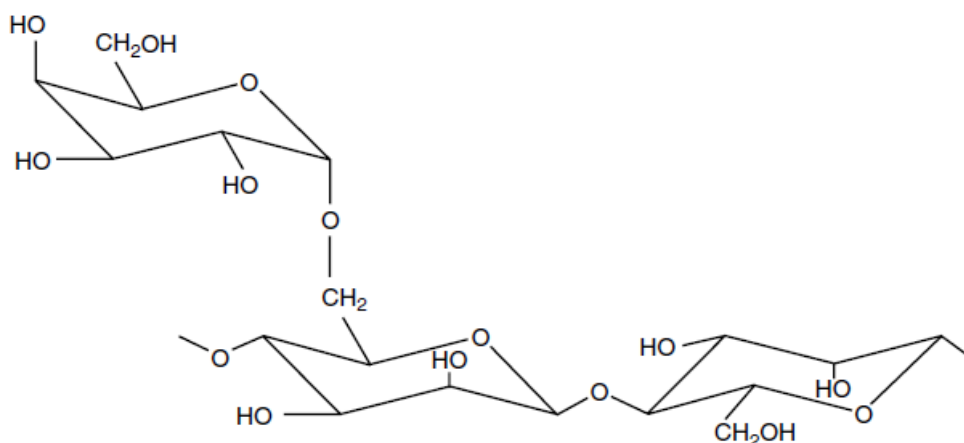


Рис. 2.43. Повторяющееся звено молекулы галактоманнана

У галактоманнана из КРД повторяющиеся звенья менее разветвлены, чем у гуарана, и его структур; более нерегулярна. Длинные участки, состоящие примерно из 80 немодифицированных D-маннозных звеньев, чередуются с участками примерно из 50 звеньев, большинство из которых имеют α -D-

галактопиранозильные группы, связанные с ними гликозидными связями в позиции О-6.

Из-за указанных структурных отличий гуаровая камедь и КРД обладают разными физическими свойствами, несмотря на то что обе камеди являются галактоманнанами и состоят из длинных, достаточно жестких молекул. Эта особенность обеспечивает высокую вязкость их растворов. Поскольку в гуаране галактозильные звенья распределены вдоль основной цепи довольно равномерно, существует мало участков, пригодных для образования связанных зон, тогда как КРД с ее длинными фрагментами «оголенных» цепей способна их образовывать. Молекулы КРД взаимодействуют со спиральными структурами ксантановой камеди (рис. 2.44) и каррагинана, образуя связанные зоны и прочные гели.

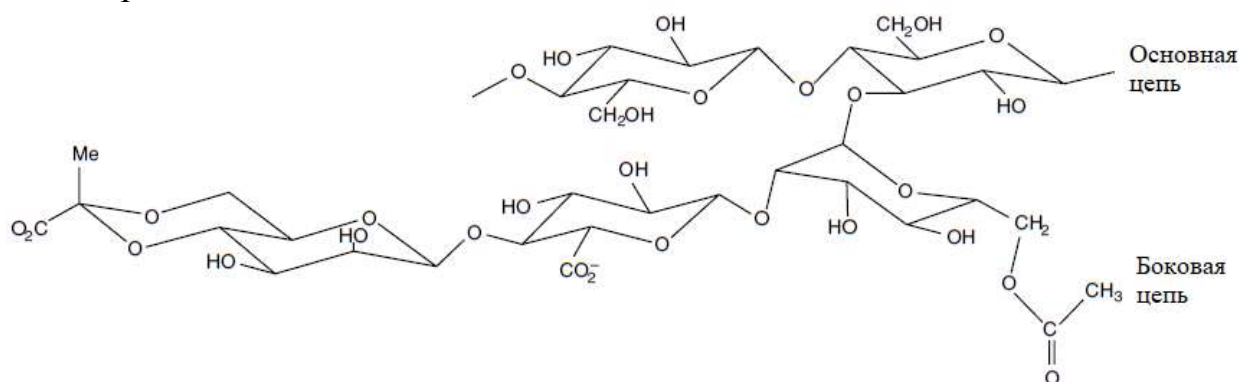


Рис. 2.44. Структура пентасахаридного повторяющегося звена молекулы ксантана. Обратите внимание на 4,6-О-пирувил-D-маннопиранозильные нередуцирующие концевые группы трисахаридной боковой цепи. Как правило, около половины боковых цепей пирувилированы

Гуаровая камедь позволяет экономически выгодно загущать различные пищевые продукты и зачастую применяется в сочетании с другими пищевыми камедями (например, в производстве мороженого, где ее вносят совместно с КМЦ, каррагинаном и КРД).

КРД обычно используется в производстве тех же продуктов, где используется гуаровая камедь. Около 85 % КРД применяют в производстве молочных и замороженных десертов. По отдельности ее используют редко, чаще в сочетании с другими камедями типа КМЦ, каррагинана, ксантановой и гуаровой камедями. В сочетании с к-каррагинаном и ксантановой камедью КРД применяют для обеспечения синергического гелеобразования. Типичный уровень внесения КРД – 0,05-0,25%.

2.3.9 Ксантановая камедь

Полисахарид, именуемый ксантаном, продуцируется *Xanthomonas campestris* (бактерией, обычно присутствующей на листьях растений семейства крестоцветных). Это соединение получают в больших бродильных чанах и широко используют в качестве пищевой камеди, называемой ксантановой.

Боковые ответвления молекулы ксантана идентичны боковым ответвлениям целлюлозы (рис. 2.42). В молекуле ксантана каждое второе β -D-глюкопиранозильное звено молекулы целлюлозы присоединено в O-3 позиции к β -D-маннопиранозил-(1 \rightarrow 4)- β -D-глюкуронопиранозил-(1 \rightarrow 2)-6-O-ацетил- β -O-маннопиранозильному звену трисахарида. Примерно к половине концевых β -D-маннопиранозильных звеньев присоединена пировиноградная кислота в качестве 4,6-циклического ацетала. Боковые звенья этого трисахарида взаимодействуют с основной цепью и делают молекулу довольно жесткой. Молекулярная масса ксантана обычно около $2 \cdot 10^6$, хотя имеются данные и о намного большей молекулярной массе (предположительно вследствие агрегации молекул).

Ксантановая камедь обладает синергизмом с гуаровой камедью, увеличивая вязкость раствора, а с КРД образует термообратимый гель (рис. 2.45).

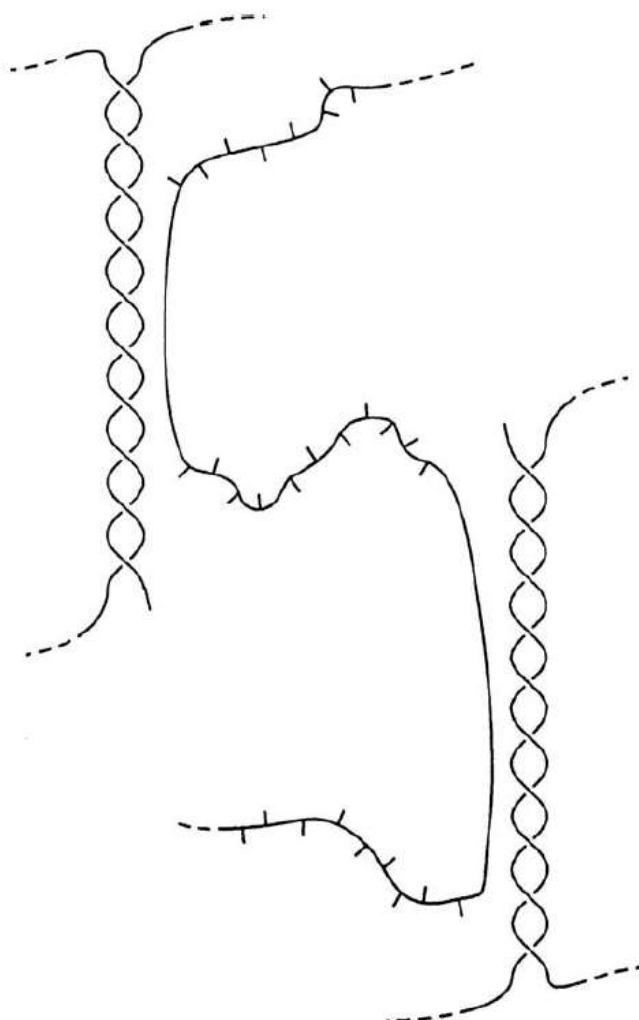


Рис. 2.45. Схематическое представление гипотетического взаимодействия молекул КРД с двуспиральными участками молекул ксантановой камеди или каррагинана с образованием трехмерной сети и геля

Ксантановая камель широко используется в пищевой промышленности, поскольку обладает следующими важными свойствами: растворимостью в холодной и горячей воде; образованием высоковязких растворов при низких концентрациях; отсутствием заметного изменения вязкости раствора при температурах от 0 до 100 °С (уникальное для пищевых гидроколлоидов свойство); растворимостью и стабильностью в кислой среде; отличная совместимость с солью; образование гелей в сочетании с КРД; хорошие стабилизирующие свойства в суспензиях и эмульсиях; обеспечение стабильности пищевых продуктов в циклах замораживания-оттаивания. Необычные и очень полезные свойства ксантановой камеди обусловлены жесткостью структуры и вытянутой природой ее молекул, которые, в свою очередь, являются следствием наличия линейной целлюлозной основной цепи, жесткость которой усиливается и защищается анионные трисахаридными боковыми ответвлениями.

Ксантановая камедь идеально подходит для стабилизации водных дисперсий, суспензий и эмульсий. Поскольку вязкость ее растворов под воздействием температуры изменяется очень мало, то есть эти растворы не загущаются в процессе охлаждения, она незаменима при загущении и стабилизации таких продуктов, как салатные дрессинги (заливки) и шоколадный сироп. Такие продукты при выемке их из холодильника должны литься так же легко, как и при комнатной температуре. Кроме того, ксантановую камедь добавляют в подливы, которые не должны быть слишком густыми в холодном виде или слишком жидкими в горячем. В обычной салатном дрессинге ксантановая камедь выполняет функции и загустителя, и стабилизатора, причем ее используют и для суспензии частиц, и для эмульсий типа «масло-в-воде». Эту камедь также применяют в качестве загустителя и суспендирующего агента в производстве обезжиренных низкокалорийных соусов, причем и в жирные, и в не содержащие жир соусы ее практически всегда вносят в сочетании с альгинатом пропиленгликоля (АПГ), который снижает вязкость ксантансодержащих систем и уменьшает их псевдопластичность. Совместно они обеспечивают требуемые текучие свойства, обусловленные псевдопластичностью ксантановой камеди, и ощущение кремообразной (сливочной) текстуры, обусловленное непсевдопластичным раствором.

2.3.10 Каррагинаны

Понятием «каррагинаны» обозначают группу или семейство сульфатированных галактанов, экстрагируемых из красных морских водорослей разбавленными растворами щелочей с получением, как правило, натриевой соли каррагинана [8]. Каррагинаны – это смесь нескольких родственных сульфатированных галактанов (см. табл. 2.5). Они представляют собой линейные цепи, состоящие из D-галактопиранозильных звеньев, связанных чередующимися (1→3)- α -D- и (1→4)- β -D-гликозидными связями причем у большинства сахаридных звеньев одна или две сульфатные

полуэфирные группы этерифицированы у атома С₂ и/или С₆ до гидроксильных групп. Тем самым содержание сульфатов в таких соединениях составляет 15-40 %. Галактопиранозильные звеньев зачастую содержат 3,6-ангидридные кольца. Основные виды каррагинанов обозначают как κ- (каппа), ι- (йота) и λ- (лямбда) каррагинаны. Дисахаридные звенья, наиболее характерные для каждого типа каррагинанов, представлены на рис. 2.47. Экстрагированные карригинаны представляют собой смесь неомогенных полисахаридов. В зависимости от исходной смеси разных видов красных водорослей получают более 100 производных каррагинана с различными свойствами, состав которых зависит от соотношения трех основных типов (каппа-, йота- и лямбда-) каррагинана. Для производства каррагинана в порошке к нему для нормализации можно добавить ионы калия или сахар.

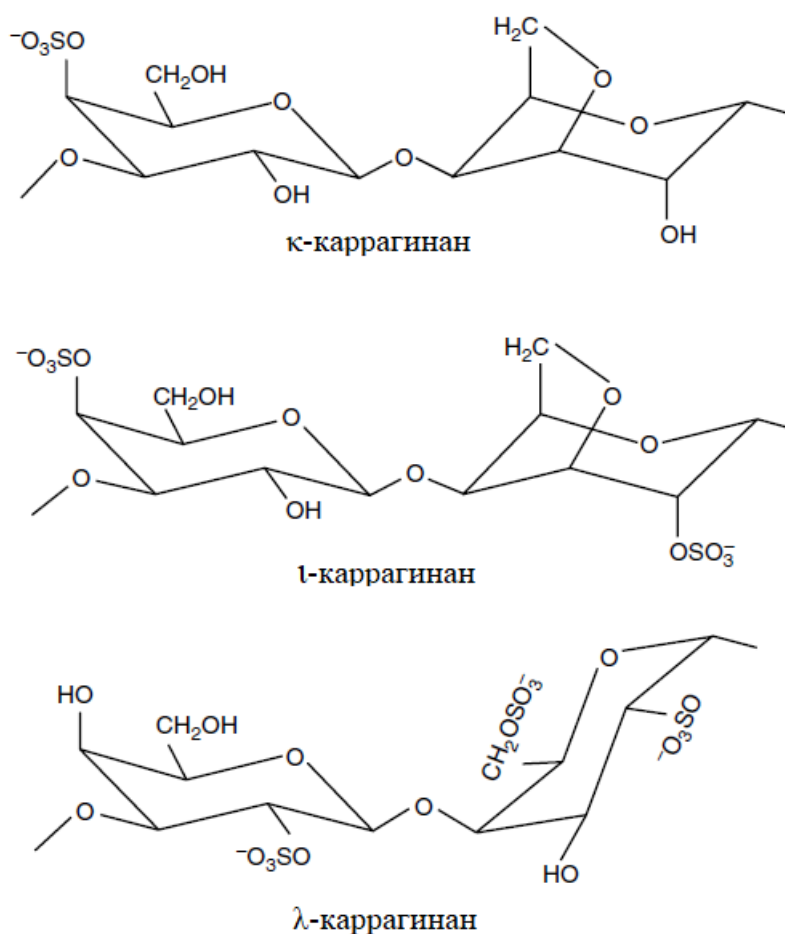


Рис. 2.46. Упрощенные структурные формулы звеньев κ-, ι- и λ-каррагинаны

Каррагинаны растворяются в воде с образованием очень вязких растворов, стабильных в широком диапазоне значений рН, так как даже в сильнокислых растворах сульфатные полуэфирные группы всегда ионизированы и придают молекуле отрицательный заряд. Тем не менее, в горячих кислых растворах каррагинаны подвергаются деполимеризации, в связи с чем при использовании каррагинана подобных условий следует избегать.

Сегменты молекул каппа- и йота-каррагинанов имеют вид двойных спиралей из параллельных цепочек. В присутствии ионов калия или кальция при охлаждении горячего раствора, содержащего фрагменты таких двойных спиралей, образуется термически обратимый гель. В воде гелеобразование может происходить уже при концентрации 0,5 %. При охлаждении раствора каппа-каррагинана в присутствии ионов калия образуется твердый хрупкий гель. Ионы кальция меньше способствуют гелеобразованию, и одновременное присутствие ионов калия и кальция дает высокопрочный гель. Гели, образованные каппа-каррагинаном, являются наиболее прочными из всех каррагинановых гелей и склонны к синерезису, поскольку удлиняется зона связывания внутри структуры молекулы, однако присутствие других камедей замедляет синерезис.

Йота-каррагинаны более растворимы, чем каппа-каррагинаны, однако в холодной воде растворимы только производные их натриевых солей. Йота-каррагинан лучше всего образует гель в присутствии ионов кальция. При этом получается мягкий эластичный гель, стабильный в циклах замораживания-оттаивания и не дающий синерезиса (последнее объясняется тем, что йота-каррагинаны более гидрофильны и образуют меньше зон связывания, чем каппа-каррагинаны).

Гелеобразование растворов каппа- и йота-каррагинанов при охлаждении происходит вследствие того, что из-за нерегулярности структуры линейные молекулы не способны образовывать безразрывные двойные спирали. Линейные спиралевидные фрагменты ассоциируются в трехмерный гель в присутствии соответствующих катионов (рис. 2.47). Все соли лямбда-каррагинанов растворимы и не образуют геля.

Если в составе молекул каррагинана, особенно каппа-каррагинана, имеются фрагменты двойных спиралей, то образуются зоны связывания с «оголенными» (незамещенными) фрагментами молекул КРД, что приводит к образованию прочных хрупких гелей, для которых характерен синерезис. Образование таких гелей происходит при концентрациях, составляющих треть от концентрации, необходимой для получения чистого каппа-каррагинанового геля.

Каррагинаны получили широкое распространение благодаря их способности образовывать гели с молоком и водой. Смеси различных типов каррагинана используются для производства широкого ассортимента продуктов, которые стандартизуют путем внесения разных количеств сахарозы, глюкозы (декстрозы), буферных солей и желирующих добавок типа хлорида калия. Промышленно выпускаемые пищевые продукты представлены самыми разными видами гелей – прозрачными и мутными, жесткими и эластичными, прочными и мягкими, термостойкими и термообратимыми, с синерезисом и без него. Гели каррагинанов не требуют холодильного хранения, поскольку они не разжижаются при комнатной температуре и стабильны в циклах замораживания-оттаивания.

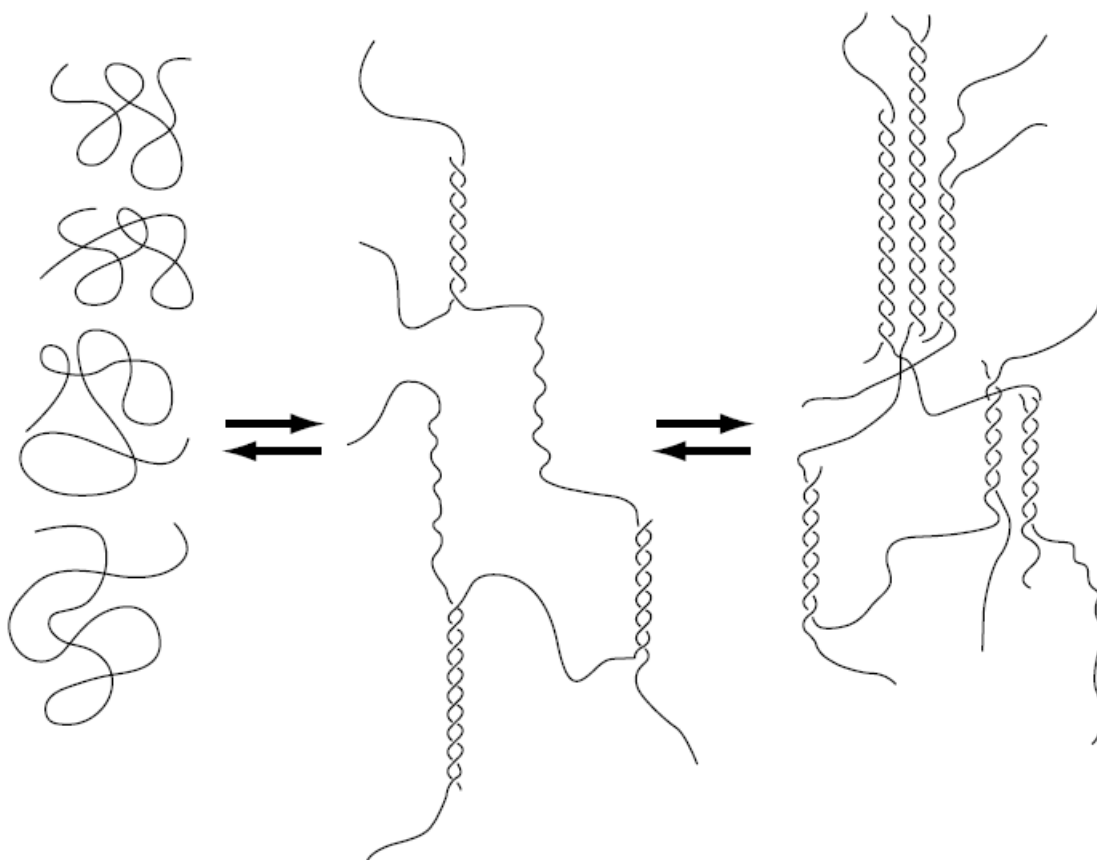


Рис. 2.47. Гипотетический механизм гелеобразования каппа- и йота-каррагинанов. В горячих растворах молекулы каррагинана переплетены, а при их охлаждении молекулы «разматываются» в двойные спирали. Дальнейшее охлаждение раствора приводит к сближению фрагментов двойных спиралей с помощью ионов кальция и калия

Одним из полезных свойств каррагинанов является их способность взаимодействовать с белками, в особенности с молочными. Комплекс к-каррагинана с мицеллами к-казеина дает слабый тиксотропный текучий гель. Загущающее действие к-каррагинанов в молоке в 5-10 раз сильнее, чем в воде. Это свойство используется в производстве шоколадного молока, где структура тиксотропного геля позволяет предотвратить осаждение частиц какао. Для достижения такой стабильности требуется внесение лишь 0,025 % каррагинана. Кроме того, это свойство используется в производстве мороженого, сгущенного молока, смесей для детского питания, взбитых сливок, стабильных в циклах замораживания-оттаивания, а также эмульсий, в которых вместо молочного жира применяются растительные жиры.

Синергизм к-каррагинана и КРД (см. рис. 2.46) позволяет получать более эластичный и упругий гель с меньшим синерезисом, чем гель, получаемый с использованием только калиевой соли к-каррагинана. Сочетание КРД и к-каррагинана по сравнению с использованием только к-каррагинана дает более стабильную текстуру, способную удерживать пузырьки воздуха в мороженом, но при этом ухудшается его разжевываемость, в связи с чем для получения геля с более мягкой текстурой в мороженое добавляют гуаровую камедь.

При внесении 1-2 % κ-каррагинана в холодную ветчину и роллы из мяса птицы удерживается на 20-80 % больше рассола, облегчается также их нарезка. Покрытие мясных продуктов каррагинаном обеспечивает их механическую защиту, и, кроме того, он служит носителем специй и вкусоароматических добавок. Каррагинаны иногда добавляют к имитаторам мяса, получаемым из казеина и растительных белков. Каррагинаны используют также для удерживания влаги при кулинарной обработке, в том числе для обеспечения мягкости мясных продуктов, в частности, сосисок и вареных колбас. Внесение κ- или ι-карагинана в форме их натриевых ионов, а также переработанного каррагинана из водорослей *Eucheima* в говяжий фарш улучшают текстуру и качество котлетной массы. Обычно для обеспечения мягкости продукта используют жиры, но благодаря связыванию каррагинана с белком и его высокому сродству к воде зачастую каррагинан используют в производстве постных продуктов в качестве заменителя животных жиров.

2.3.11 Пектины

Промышленно выпускаемые пектины – это гликаногалактуронаны (поли[α-D-галактопиранозилуруновые кислоты], галактуроногликаны) с различным содержанием метоксильных групп (см. табл. 2.5). Нативные молекулы пектина присутствуют в клеточной оболочке и межклеточных слоях всех наземных растений, и из них получают коммерческие пектины с более сложной молекулой из-за метоксилирования гликаногалактуронанов в ходе экстракции их кислотой. Коммерческие пектины получают в основном из кожуры цитрусовых и из яблочных выжимок. Легче всего выделить пектин из кожуры лимона и лайма (как правило, он наиболее высокого качества). Пектины обладают уникальным свойством образовывать пастообразные гели в присутствии сахара и кислоты или ионов кальция (основное применение пектинов основано именно на этом их свойстве).

Состав и свойства пектинов сильно варьируют в зависимости от сырья, технологии их получения и последующей обработки. При экстракции слабой кислотой происходит частичная гидролитическая деполимеризация и гидролиз метоксильных групп, и, следовательно, термин «пектины» следует относить к некоторому семейству веществ. Понятие «пектины» обычно используют как обобщающее название тех водорастворимых производных полигалактуроновой кислоты (гликаногалактуронанов) с разным содержанием метоксильных групп и различной степенью нейтрализации, которые способны образовывать гели. Во всех природных пектинах некоторое количество карбоксильных групп этерифицировано до метоксильных, и в зависимости от условий обработки оставшиеся карбоксильные группы могут частично или полностью нейтрализоваться, то есть быть представлены карбоксильными группами натрия, калия или аммония. Как правило, нейтрализованные карбоксильные группы бывают представлены натриевыми солями.

По определению производные, в которых более половины карбоксильных групп этерифицированы до метокси-групп (-COOCH₃), называются пектинами с высокой степенью метилирования или высокометелированными пектинами (рис. 2.48); оставшиеся карбоксильные группы могут быть представлены как смесь свободной кислоты (-COOH) или ее соли (например, -COO⁻Na⁺). Производные, в которых менее половины карбоксильных групп этерифицированы в метоксильные, называют пектинами с низкой степенью метоксилирования или низкометоксилированными пектинами. Процентное отношение карбоксильных групп, этерифицированных метанолом, называется степенью этерификации (СЭ) или степенью метоксилирования (СМ). Обработка производного пектина аммиаком (как правило, в растворе метанола) превращает метоксильные группы в карбоксилированные (15-25 %). При этом, согласно определению, образуется низкометоксилированный пектин. Такие продукты называют также амидированными низкометоксилированными пектинами.

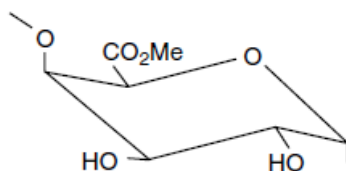


Рис. 2.48. Превалирующее мономерное звено в высокометоксилированного пектина (ВМ-пектина)

2.4 Пищевые волокна, пребиотики и усвояемость углеводов

Основными областями интересов специалистов представляются польза для здоровья растворимых и нерастворимых пищевых волокон (клетчатки), пребиотическое действие углеводных пищевых волокон и возможные взаимосвязи углеводного катаболизма в тонкой и толстой кишке [9]. Диетологи установили рекомендуемую норму потребления (РНП) пищевых волокон в 25-50 г/сут. Традиционно считается, что пищевые волокна оказывают различное полезное для здоровья действие, способствуя нормальной работе желудочно-кишечного тракта. Пищевые волокна состоят из гидрофильных молекул, увеличивающих объем кишечной и фекальной масс (как правило, благодаря высокой влагоудерживающей способности), что уменьшает время прохождения этих масс через кишечник и предотвращает запоры. Растворимые пищевые волокна снижают уровень холестерина в крови (возможно, путем выведения солей желчных кислот, снижая риск их повторного всасывания из кишечника), а также понижают вероятность сердечно-сосудистых заболеваний. Пребиотические пищевые волокна могут быть особенно полезны в предотвращении воспалительных заболеваний желудка и снижении вероятности рака прямой кишки. Благодаря своему влиянию на процессы ферментации в прямой кишке пищевые волокна обеспечивают также регуляцию иммунной системы. Подобные нутритивные аспекты и физиологическое влияние углеводов, а также их роль в

поддержании хорошего самочувствия человека в настоящее время являются предметом активного изучения ученых-пищевиков.

Олиго- и полисахариды могут быть перевариваемыми (главным образом крахмалсодержащие продукты), частично перевариваемыми (инертная амилоза, так называемый стойкий крахмал) и неперевариваемыми (как правило, все остальные полисахариды). Если при пищеварении происходит гидролиз до моносахаридов, то продукты гидролиза всасываются и катаболизируются (через стенку тонкой кишки всасываются только моносахариды, а при гидролизе полисахаридов в организме человека образуется лишь D-глюкоза, поскольку перевариваются только крахмалы). В перерабатываемые пищевые продукты добавляют вещества клеточной стенки растений, прежде всего целлюлозу, другие некрахмальные полисахариды и лигнин, являющиеся натуральными компонентами съедобных овощей, фруктов и другого растительного сырья, а также пищевые камеди, которые не всасываются в желудке и тонкой кишке человека. В желудке недостаточно сильные кислые условия; кроме того, времени нахождения полисахаридов в желудке недостаточно для их существенного химического разложения. В состав пищевых волокон входят также вещества, отличные от полимеров, в том числе неусвояемые олигосахариды – например, раффиноза и стахиоза из бобовых культур. Единственны, общим признаком этих материалов является то, что все они не всасываются в тонкой кишке человека, и это – главный критерий отнесения этих веществ к категории пищевых волокон.

Очень хорошими источниками пищевых волокон являются отруби зерновых культур, фасоль и бобы. Продукт на основе оболочек семян подорожника обладает высокой влагосвязывающей способностью, что ускоряет прохождение кишечных масс через пищеварительный тракт, и поэтому его применяют для предотвращения запоров. В тех же целях используют продукт на основе метилцеллюлозы. Аналогично: пищевым волокнам могут действовать и некоторые неусвояемые гидроколлоиды.

Одним из натуральных компонентов пищевых волокон является водорастворимый полисахарид β -глюкан, присутствующий в овсяных и ячменных отрубях. β -глюкан овса стал промышленно выпускаемым пищевым ингредиентом благодаря его эффективности в снижении уровня холестерина в сыворотке крови. Молекула β -глюкана овса представляет собой линейную цепь из β -D-глюкопиранозильных звеньев, около 70 % которых связаны по связи (1→4), а 30 % – по связи (1→3). Связи (1→3) отделены друг от друга последовательностями из двух-трех (1→4) связей. Таким образом, молекула β -глюкана состоит из (1→3)-связанных звеньев β -целлотриозил[→3)- β GlcP-(1→4)- β GlcP-(1→4)- β GlcP-(1→)] и β -целлотриозила. Такие (1→4,1→3)- β -глюканы зачастую называют β -глюканами со смешанными связями.

При употреблении с пищей β -глюканы снижают уровень глюкозы в сыворотке крови после еды и инсулиновый отклик; тем самым регулируется гликемический отклик как у здоровых людей, так и у больных диабетом. Данный эффект, по-видимому, коррелирует с вязкостью. Кроме того, β -

глиуканы уменьшают содержание холестерина в сыворотке крови у подопытных крыс и цыплят, а также у людей (эти физиологические эффекты типичны для растворимых пищевых волокон – другие растворимые полисахариды обладают сходным действием, но в иной степени).

Углеводы, не расщепленные ферментами до моносахаридов в тонкой кишке (все за исключением сахарозы, лактозы и продуктов разложения крахмала типа мальтодекстриновы), попадают в прямую кишку или толстую кишку в виде пищевых волокон. В толстой кишке они подвергаются воздействию типичных галечных микроорганизмов, некоторые из которых продуцируют ферменты, служащие катализаторами гидролиза части полисахаридов или отдельных частей их молекул.

В результате полисахариды, которые не были расщеплены в верхней части ЖКТ, могут разлагаться и гидролизироваться бактериями толстой кишки. Выделенные из цепочек полисахаридов сахара используются микроорганизмами при анаэробной ферментации в качестве источника энергии с образованием молочной, уксусной, пропионовой, масляной и валериановой кислот. Эти низкомолекулярные кислоты частично всасываются через стенки кишечника человека и метаболизируются (в основном, в печени) с выделением энергии. Кроме того, небольшая, но важная часть образовавшихся сахаров стенки кишечника может транспортироваться с кровотоком к печени, где они метаболизируются. По некоторым расчетам около 7 % энергии человек получает именно от сахаров, получаемых в результате расщепления микроорганизмами полисахаридов в толстой кишке или из низкомолекулярных кислот, образовавшихся из сахаров в ходе анаэробной ферментации. Степень расщепления полисахаридов зависит от наличия соответствующих кишечных микроорганизмов, способных продуцировать нужные ферменты. Субстраты, попавшие в толстую кишку нерасщепленными и метаболизируемые, как мы отмечали выше, микробиотой прямой кишки, представляют собой особую категорию пищевых волокон, а именно пребиотики. Пребиотики – это вещества, которые не усваиваются под действием ферментов в тонкой кишке, но оказывают благоприятное физиологическое действие и полезны для здоровья человека благодаря тому, что они стимулируют рост и/или биоактивность уже присутствующих в пищеварительном тракте (особенно в толстой или прямой кишке) полезных микроорганизмов.

Контрольные вопросы

1. Какие классификации моносахаридов существуют?
2. Как определить будет ли относиться моносахарид к D- или L-ряду? Нарисуйте структурную формулу D- или L-глюкозы в проекции Фишера.
3. Приведите примеры моносахаридов, относящихся к триозам, тетрозам, пентозам и гексозам. Приведете примеры кетоз и альдоз.
4. Каким образом происходит образование пиранозного полуацетального кольца из D-глюкозы?

5. Запишите структурную формулу β -D-глюкопиранозы в конформации 1C_4 в проекции Хеурса. Поясните запись.
6. Через какие стадии протекает неферментативное потемнение? От каких факторов будет зависеть продукты реакции и степень ее протекания?
7. Опишите процесс карамелизации моносахаридов.
8. Какие субстраты в реакции неферментативного потемнения способствуют образованию акриламида? Каким образом можно минимизировать образование акриламида в пищевых продуктах?
9. Какие сахара относятся к редуцирующим? Приведите примеры редуцирующих и нередуцирующих сахаров.
10. Для каких целей используют циклодекстрины в пищевой промышленности?
11. Опишите принцип, по которому записывают сокращенное название олиго- и полисахаридов в сокращенном виде.
12. Как можно в сокращенном виде можно записать сахарозу?
13. Если два вида полисахаридов имеют одинаковую молекулярную массу, но один из них является разветвленным, а другой – нет, то какой из них будет иметь большую вязкость? Ответ обоснуйте.
14. Что такое гели? Какими характеристиками обладают гели?
15. Опишите структура крахмала. Какими свойствами обладают амилоза и амилопектин?
16. Опишите процесс клейстеризации и ретроградации крахмала.
17. Приведите примеры различных полисахаридов и их технологические свойства.
18. Что такое пищевых волокна и пребиотики и как они влияют на процесс пищеварения?

Список использованной литературы

1. Barsanti L., Passarelli V., Evangelista V., Frassanito M., Gualtieri P. Chemistry, physico-chemistry and applications linked to biological activities of β -glucans // Nat. Prod. Rep. – 2011. – Vol. 28, P. 457–466.
2. Courtin C.M., Delcour J.A. Arabinoxylans and endoxylanases in wheat flour bread-making // J. Cereal Chem. – 2002. – Vol. 35, P. 225–243.
3. Gilbert R.G., Witt T., Hasjun J. What is being learned about starch properties from multiple-level characterization // Cereal Chem. – 2013. – Vol. 90, P. 312–325.
4. Jones J.M. Dietary fiber future directions: integrating new definitions and findings to inform nutrition research and communication // Adv. Nutr. – 2013. – Vol. 4, P. 8–15.
5. Lararidou A., Biliaderis CG Molecular aspects of cereal β -glucan functionality: physical properties, technological applications and physiological effects // J. Cereal Sci. – 2007. – Vol. 46, P. 101–108.
6. Mudgil D., Barak S., Khatkar B.S. Guar gum: processing, properties and food applications – a review // J. Food Technol. – 2014. – Vol. 5, P. 409–418.

7. Nishinari K. Sol-gel transition of biopolymer dispersions // *Macromol Symp.* – 2000. – Vol. 159, P. 205–214.
8. Obiro W.C., Ray S.S., Emmambux M.N. V-amylose structural characteristics, methods of preparation, significance, and potential applications // *Food Rev. Intl.* – 2012. – Vol. 28, P. 412–438.
9. Zyzak D.V., Sanders R.A., Stojanovic M., Tallmadge D.H., Eberhart L., Ewald D.K., Gruber D.C., Morsch T.R., Strothers M.A., Rizzi G.P., Villagran M.D. Acrylamide formation mechanism in heated foods // *J. Agric. Food Chem.* – 2003. – Vol. 51, P. 4782–4787.

3 ЛИПИДЫ

3.1 Введение

Жиры (липиды) – эта большая группа химически разнообразных соединений, хорошо растворимых в органических растворителях. Пищевые липиды в основном называют жирами (в твердом виде) и маслами, (в жидком виде), тем самым указывая на их физическое состояние при комнатной температуре. Пищевые липиды также подразделяют на неполярные (например, триацилглицерины и холестерин) и полярные (например, фосфолипиды), указывая тем самым на различия в их растворимости и функциональных свойствах. Общее содержание жиров и липидный состав пищи сильно варьируются. Поскольку пищевые жиры играют большую роль в составе пищевых продуктов, оказывая влияние на такие их свойства, как текстура, вкус и аромат, нутритивные свойства и энергетическую ценность, изменение их в пищевых продуктах в течение нескольких последних десятилетий было одним важнейших направлений разработок. Подобные разработки были направлены на изменение жирового состава в целях изменения текстуры, жирнокислотного состава и содержания холестерина, снижения общего содержания жиров, усвояемости и стойкости жиров к окислению. Кроме того, для качества пищевых продуктов важен такой параметр, как физическая стабильность липидов, поскольку многие из них существуют в виде термодинамически нестабильных дисперсий или эмульсий. Для изменения жирового состава, необходимого для производства высококачественных продуктов, необходимо знать и понимать фундаментальные физические и химические свойства липидов.

3.2 Основные компоненты липидов

3.2.1 Жирные кислоты

Основными компонентами липидов являются жирные кислоты – соединения, состоящие из алифатической цепочки с концевой карбоксильной кислотной группой [1]. Большинство натуральных жирных кислот имеет четное число атомов углерода в основной цепи вследствие биологических процессов удлинения жирной кислоты, сопровождающихся добавлением двух атомов углерода. Исключения составляют жирные кислоты с нечетным числом атомов углерода и разветвленной цепочкой, обнаруженные в таких источниках, как микроорганизмы и молочные жиры. Основная часть натуральных жирных кислот состоит из цепочки в 14-24 атомов углерода. В то же время некоторые жирные кислоты содержат менее 14 атомов углерода (большая часть этих низкомолекулярных жирных кислот обнаружена в тропических маслах и молочном жире). Жирные кислоты также классифицируют как насыщенные и ненасыщенные (содержащие двойные связи). Жирные кислоты могут быть названы по систематической, обычной или сокращенной номенклатуре.

3.2.1.1 Номенклатура насыщенных жирных кислот

По номенклатуре *IUPAC* систематические описания жирных кислот нормализованы по наименованию входных углеводородов жирных кислот на базе количества атомов углерода (например, жирная кислота с десятью атомами углерода называется декановой, см. табл. 3.1). Для большинства жирных кислот существуют тривиальные названия (у всех с четным количеством атомов углерода и у многих с нечетным). Многие такие тривиальные названия связывают кислоту с ее природным источником (например, пальмитиновую кислоту и пальмовое масло). Для сокращенных наименований существует определенная система нумерации, где первое число указывает на количество атомов углерода в жирной кислоте, а второе – на число двойных связей (например, гексадекановая кислота = пальмитиновая кислота = $C_{16:0}$). У насыщенных жирных кислот второе число – это всегда ноль.

Таблица 3.1

Систематические, тривиальные и сокращенные обозначения пищевых жирных кислот

Систематическое наименование	Тривиальное название	Сокращенное обозначение
Насыщенные кислоты:		
Гексановая	капроновая	$C_{6:0}$
Октановая	каприловая	$C_{8:0}$
Декановая	каприновая	$C_{10:0}$
Додекановая	лауриновая	$C_{12:0}$
Тетрадекановая	миристиновая	$C_{14:0}$
Гексадекановая	пальмитиновая	$C_{16:0}$
Октадекановая	стеариновая	$C_{18:0}$
Ненасыщенные кислоты:		
<i>цис</i> -9-Октадеценовая	олеиновая	$C_{18:1} \Delta 9$
<i>цис</i> -9- <i>цис</i> -12-Октадекадиеновая	ленолевая	$C_{18:2} \Delta 9$
<i>цис</i> -9- <i>цис</i> -12- <i>цис</i> -15-Октадекатриеновая	леноленовая	$C_{18:3} \Delta 9$
<i>цис</i> -5- <i>цис</i> -8- <i>цис</i> -11- <i>цис</i> -14-Эйкозатетраеновая	арахидоновая	$C_{20:4} \Delta 5$
<i>цис</i> -5- <i>цис</i> -8- <i>цис</i> -11- <i>цис</i> -14- <i>цис</i> -17-Эйкозапентаеновая	ЕРА	$C_{20:5} \Delta 5$
<i>цис</i> -4- <i>цис</i> -7- <i>цис</i> -10- Докозагексаеновая	<i>цис</i> -13- <i>цис</i> -16- <i>цис</i> -19- ДНА	$C_{22:6} \Delta 4$

3.2.1.2 Номенклатура ненасыщенных жирных кислот

Жирные кислоты с двойными связями в алифатической цепи называют ненасыщенными жирными кислотами. В системе *IUPAC* для обозначения наличия двойной связи используется суффикс -енов-. В зависимости от количества двойных связей добавляют приставки ди-, три-, тетра- и т. д., но кроме этого у ненасыщенных жирных кислот существуют и тривиальные названия (за исключением некоторых высокомолекулярных полиненасыщенных жирных кислот), и сокращенные обозначения, аналогичные обозначениям насыщенных жирных кислот (второе число указывает на число двойных связей (например, октадекадиеновая кислота = $C_{18:2}$). Позиция двойной связи в системе *IUPAC* обозначается символом дельта

(Δ) – это положение двойной связи, считая от карбоксильной группы жирной кислоты. Например, олеиновая кислота с 18-ю атомами углеродов и одной двойной связью называется 9-октадеценовой кислотой, а линолевая кислота с 18-ю атомами углерода и двумя двойными связями – 9,12-октадецидиеновой кислотой. В другой численной системе обозначений указывается позиция двойной связи по отношению к метильной группе жирной кислоты, и такую систему называют омега-(ω -)системой (иногда вместо греческой буквы «омега» используют латинскую букву *n*). ω -система удобна в том смысле, что в ней жирные кислоты сгруппированы по их биологической активности и источнику биосинтеза, поскольку многие ферменты при этерификации с глицерином распознают жирные кислоты по свободному метильному концу. Например, ω -3 жирные кислоты зачастую обладают сходной биологической активностью, выражающейся в их способности снижать уровень триацилглицеринов в крови [2].

Природным жирным кислотам присуща *цис*-конфигурация двойной связи. В *цис*-конфигурации атомы углерода алифатической цепи находятся по одну сторону от двойной связи, тогда как в *транс*-конфигурации – по разные стороны (рис. 3.1). В полиненасыщенных жирных кислотах (более чем с двумя двойными связями) двойные связи в большинстве случаев разделены метиленовой группой. Такую конфигурацию зачастую называют пентадиеновой системой, в которой две двойные связи находятся при 1-м и 4-м атомах углерода. Другими словами, эти двойные связи не конъюгированы, а напротив, разорваны метиленовой группой (рис. 3.2). Это означает, что двойные связи в большинстве ненасыщенных жирных кислот находятся при трех отдельных атомах углерода (например, 9,12,15-октадекатриеновая кислота). Тем самым, если известно положение первой двойной связи, то можно предсказать положение всех двойных связей в большинстве натуральных жирных кислот. Именно поэтому в сокращенном обозначении приводится иногда только число двойных связей и положение первой двойной связи (например, 9,12,15-октадекатриеновая кислота = $C_{18:3}\Delta 9 = C_{18:3} = \omega$ -3).

Наличие двойной связи влияет на температуру плавления жирных кислот, а двойные связи в конфигурации придают жирной кислоте изогнутую конфигурацию, то есть ненасыщенные жирные кислоты нелинейны, что затрудняет их ориентацию в компактной «упаковке». Из-за подобных стерических затруднений ван-дер-ваальсовы взаимодействия между ненасыщенными жирными кислотами слабее, что позволяет им сохранять жидкое состояние при комнатной температуре, и их температуры плавления и затвердевания относительно низки. По мере увеличения числа двойных связей молекула становится все более изогнутой, ван-дер-ваальсовы силы уменьшаются, и температура плавления снижается еще больше. Жирные кислоты с двойными связями в *транс*-конфигурации более линейны, чем в *цис*-конфигурации, что приводит к более компактной упаковке молекул и более высокой точке плавления. Например, примерная температура плавления

стеариновой кислоты (октадекановой) составляет 70 °С, олеиновой (*цис*-9-октадеценовой) – 5 °С, а элаидиновой (*транс*-9-октадеценовой) – 44 °С.

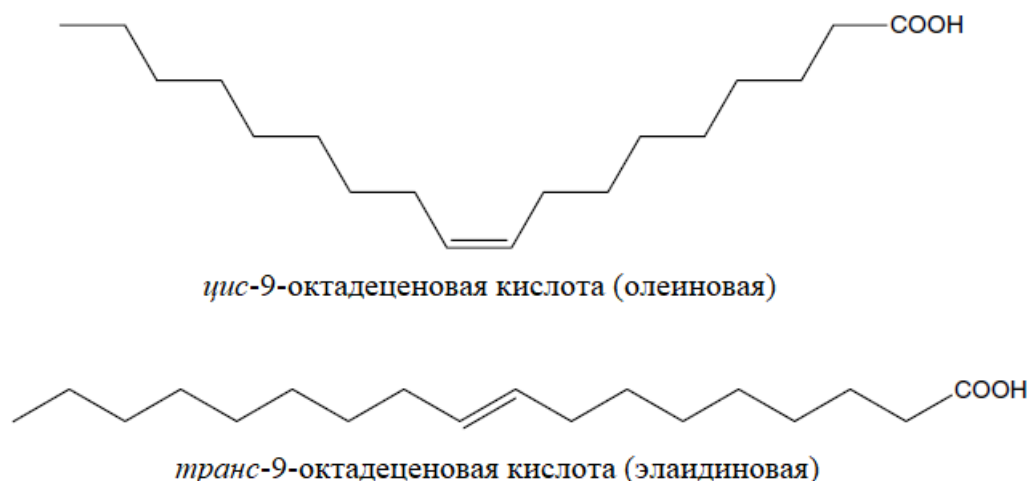


Рис. 3.1. Различия в двойных связях *цис*- и *транс*- ненасыщенных жирных кислот

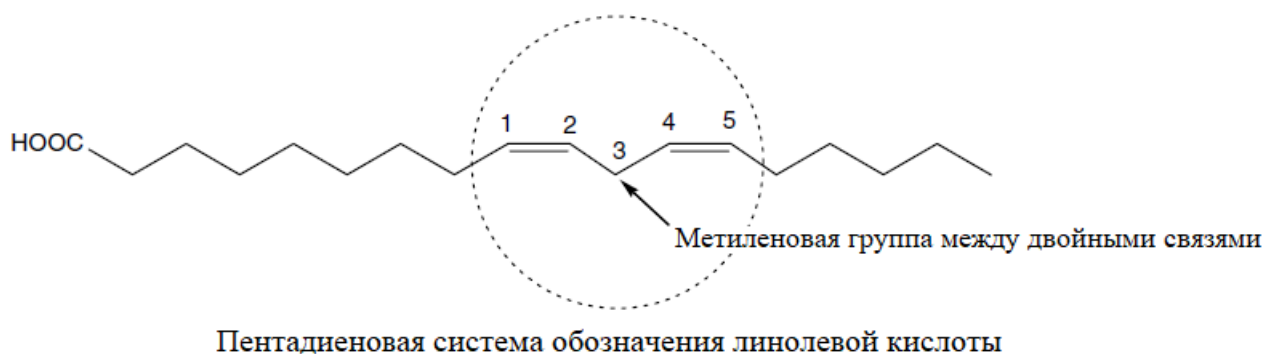


Рис. 3.2. Пентадиеновая система обозначения полиненасыщенных жирных кислот (на примере линолевой кислоты)

3.2.2 Ацилглицерины

Более 99 % жирных кислот растительного и животного сырья этерифицированы с глицерином. Свободные жирные кислоты в живых тканях не очень распространены из-за их цитотоксичности, то есть способности разрушать структуру клеточных мембран. Этерифицированные с глицерином жирные кислоты утрачивают поверхностную активность, а значит, и цитотоксичность [3].

Существуют моно-, ди- и триэфиры ацилглицеринов, называемые соответственно моно-, ди- и триацилглицеринами. Наиболее распространены в пищевых продуктах триацилглицерины (ТАГ), хотя моно- и диэфиры иногда используют в качестве пищевых добавок (например, как эмульгаторы). Если к глицерину присоединены три различные жирные кислоты, то хиральным является центральный атом углерода ТАГ. Из-за этого в ТАГ три атома углерода в молекуле глицерина дифференцируются по стереоспецифической нумерации (*sn*). Если расположить ТАГ в фишеровской проекции, то три атома углерода сверху обозначают 1, 2, 3.

Существует несколько номенклатур наименований триацилглицеринов. ТАГ зачастую обозначают по тривиальным названиям входящих в их состав жирных кислот – если ТАГ содержит одну жирную кислоту (например, стеариновую, сокращенно *St*), то он может быть назван тристеарином, тристеаратом, глицерин-тристеаратом, тристеариновым глицерином, *StStSt* или $C_{18:0}-C_{18:0}-C_{18:0}$. ТАГ с разными жирными кислотами называют по-разному в зависимости от стереоспецифичности каждой жирной кислоты (если она известна). В номенклатуре этих гетерогенных ТАГ суффикс -ов- заменяется на -оил-. Если стереоспецифичность гетерогенного ТАГ неизвестна, то триацилглицерин с пальмитиновой, стеариновой и олеиновой кислотами будет называться пальмитоил-олеоил-стеароил-глицерином.

3.2.3 Фосфолипиды

Фосфолипиды, или фосфоглицериды, являются разновидностью триацилглицеринов, где фосфатные группы находятся обычно в положении *sn*-3 (см. рис. 3.3 со структурами фосфолипидов). Простейший фосфолипид – это фосфатидная кислота (ФК), где заместителем гидроксила в положении *sn*-3 является фосфатная группа. Другие заместители в фосфатной группе при *sn*-3 дают фосфатидилхолин (ФХ), фосфатидилсерин (ФС), фосфатидилэтаноламин (ФЭ), фосфатидилинозитол (ФИ) (рис. 3.3). Номенклатура фосфолипидов подобна триацилглицеринам – название и положение фосфатной группы указывают в конце всей структуры, например, 1-пальмитоил-2-стеароил-*sn*--глицеро-3-фосфоэтаноламин. Термин «лизо» обозначает, что кислота входила в состав фосфолипида. В пищевой промышленности лизофосфолипиды обычно относят к фосфолипиду, в котором жирная кислота была удалена из положения *sn*-2. Официальная номенклатура IUPAC требует, чтобы указывалась стереоспецифичность положения удаленной жирной кислоты (например, 2-лизофосфолипиды). ФХ известен как лецитин, однако в качестве пищевой добавки обычно реализуется не чистый лецитин – он содержит смесь разных фосфолипидов и другие компоненты.

Наличие у фосфолипидов полярной фосфатной группы делает эти соединения поверхностно-активными, благодаря чему они располагаются бислоями, что оказывает существенное влияние на свойства биологических клеточных мембран. Поскольку клеточным мембранам необходимо поддерживать текучесть, жирные кислоты фосфолипидов зачастую ненасыщены и предотвращают кристаллизацию при комнатной температуре. Жирные кислоты в позиции *sn*-2 обычно более ненасыщены, чем в позиции *sn*-1. Ненасыщенные жирные кислоты в положении *sn*-2 могут высвободиться фосфолипазой с использованием в качестве субстрата ферментов, например, циклооксигеназы и липоксигеназы (*LOX*). Благодаря поверхностной активности фосфолипидов их можно использовать для изменения физических свойств липидов, поскольку они действуют как эмульгаторы и влияют на поведение липидов при кристаллизации.

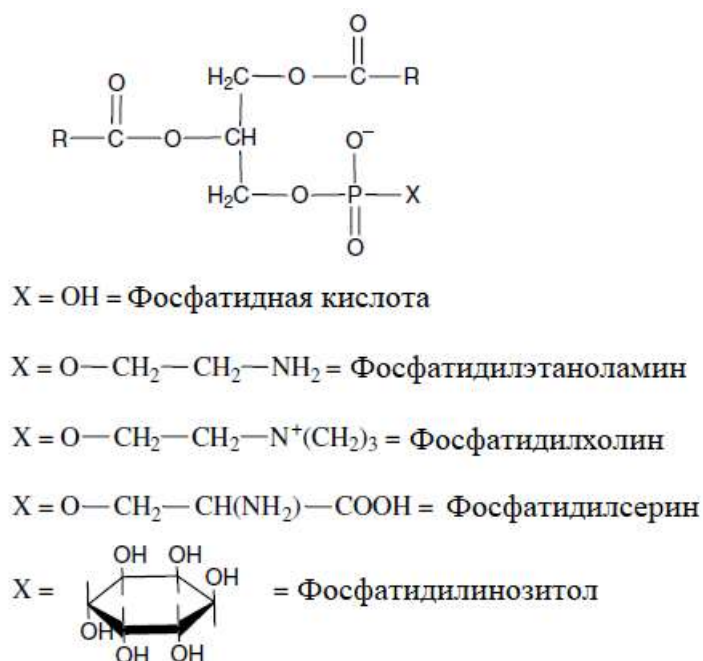


Рис. 3.3. Структуры фосфолипидов, типичных для пищевых продуктов

3.2.4 Сфинголипиды

В структуре сфинголипидов обычно присутствует сфингоидное основание сфингозин [4]. К наиболее распространенным сфинголипидам относятся сфингомиелины (сфингофосфолипид), керамиды, цереброзиды и ганглиозиды. Эти липиды присутствуют в мембранах клеток нервной ткани и обычно не относятся к основным компонентам пищевых жиров.

3.2.5 Стерины

Стерины являются производными стероидов. Это неполярные липиды, имеющие в своем составе три шестизвенных и одно пятизвенное кольца, присоединённое к алифатической цепи (рис. 3.4). Гидроксильная группа у стерина присоединена к 3-му атому углерода в кольце А. Сложные эфиры стерина – это эфир стерина с жирной кислотой, присоединенной к гидроксильному атому 3-го атома углерода. Стерины присутствуют как в растительных тканях (фитостерины), так и в животных (зоостерины). Важнейшим стеринном среди стерина животного происхождения является холестерин. В липидах растений много разных стерина, но преобладают β -ситостерин и стигмастерин. Меньше всего в растениях холестерина. Гидроксильная группа при 3-м атоме углерода придает этим соединениям поверхностно-активные свойства, то есть холестерин самоориентируется в клеточной мембране и стабилизирует ее структуру. Холестерин также важен как предшественник синтеза желчных кислот и 7-дегидрохолестерина, который в свою очередь является предшественником витамина D, образующегося в коже под действием УФ-излучения. Высокий уровень холестерина в крови и, в частности, в липопротеинах низкой плотности (ЛПНП) обусловит повышенный риск сердечно-сосудистых заболеваний, то есть очень важно снизить уровень холестерина, потребляемого с пищей. Для

этого следует уменьшить потребление животных жиров и/или удалять из них холестерин путем надкритической CO₂-экстракции или молекулярной дистилляции. Потребляемые с пищей фитостерины уменьшают всасывание холестерина в кишечнике и, следовательно, ими можно обогащать пищевые продукты в целях снижения уровня холестерина в крови.

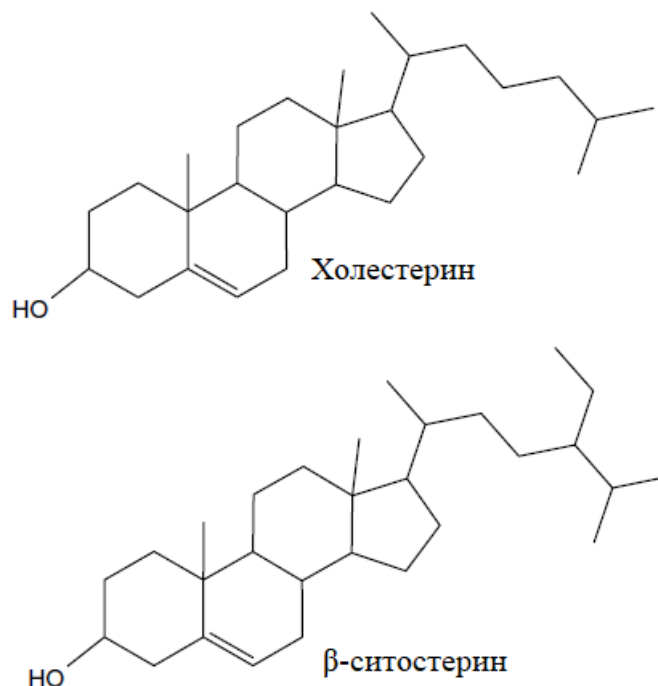


Рис.3.4. Структурные формулы стерина, присутствующих в пищевых продуктах

3.2.6 Воски

В строгом химическом смысле воски – это сложные эфиры высших монокарбоновых кислот и высших одноатомных спиртов. Промышленные и пищевые воски представляют собой смесь соединений разных химических классов, включая сложные эфиры воски и стерина, кетоны, альдегиды, спирты, углеводы и стерина. Воски классифицируют по их происхождению: животного происхождения (пчелиный воск), растительного происхождения (карнаубский воск) и минерального происхождения (воски из нефтепродуктов). Воски на поверхности растительных животных тканей предохраняют организм от потери или впитывания влаги. Воски обычно наносят на поверхность фруктов в целях снижения их обезвоживания при хранении.

3.2.7 Состав жиров

В пищевых жирах содержатся самые разные жирные кислоты (табл. 3.2). Жирам свойственны некоторые общие тенденции. Большинство растительных жиров, особенно из семян масличных культур, являются ненасыщенными и содержат главным образом жирные кислоты с 18-ю атомами углерода. К маслам, богатым олеиновой кислотой, относятся оливковое и рапсовое (канола), к маслам, богатым линолевой кислотой, – соевое, кукурузное и подсолнечное, а масло с высоким содержанием линоленовой кислоты

получают из семян льна. Триацилглицерины из растительного сырья с большим количеством насыщенных жирных кислот присутствуют в масле какао и маслах других тропических растений (в частности, в кокосовом масле). Кокосовое и пальмоядровое масла уникальны по содержанию большого количества жирных кислот со средней длиной молекулярной цепи (от $C_{8:0}$ до $C_{14:0}$), причем преобладают цепочки $C_{12:0}$. Содержание насыщенных жирных кислот в жирах и маслах животного происхождения возрастает в следующей последовательности: молочный жир > бараний жир > говяжий жир > свиной жир > куриный жир > жир индейки > рыбий жир. В них основными насыщенными кислотами являются стеариновая и пальмитиновая [5].

Жирнокислотный состав животного сырья зависит от особенностей пищеварительной системы животных, причем состав жира нежвачных животных (например, птицы, свиней и рыбы) частично зависит от состава жиров в их кормах. Примером здесь может служить свинина для получения иберийской ветчины – в этом случае кормовые рационы специально подбираются для получения сала с высоким содержанием олеиновой кислоты. Среди нежвачных животных по-своему уникальны ТАГ обитателей морей из-за содержащегося в них большого количества ω -3 жирных кислот (эйкозапентаеновой и докозагексаеновой). У коров и овец потребляемые с кормами жирные кислоты подвергаются биопревращениям микробными ферментами в рубце с преобразованием ненасыщенных жирных кислот в насыщенные, что может привести к образованию конъюгированных двойных связей (например, в конъюгированной линолевой кислоте, КЛК). Поскольку жвачные животные потребляют в основном жиры из растительного корма, состоящие из 18 атомов углерода, то конечным продуктом такого биопревращения оказывается стеариновая кислота. Тем самым в сливочном масле, говяжьим и бараньим жиром содержится больше стеариновой кислоты, чем в жире нежвачных животных. Бактерии из рубца жвачных уникальны тем, что они могут ферментировать углеводы до ацетата и β -гидроксипутирата. В молочных железах эти соединения преобразуются в жирные кислоты, и получают жиры с высоким содержанием насыщенных низкомолекулярных жирных кислот ($C_{4:0}$ и $C_{6:0}$), которые не встречаются ни в каких других пищевых ТАГ. Бактерии из рубца жвачных также способствуют образованию кето-, гидрокси- и разветвленных жирных кислот. Из-за сильного влияния бактерий на жирные кислоты в сливочном масле присутствуют сотни различных жирных кислот.

3.3 Переработка жиров. Выделение, очистка и модификация

3.3.1 Рафинирование

Триацилглицерины экстрагируют из источников как растительного, так и животного происхождения. *Вытапливание жира* – это операция термообработки, в ходе которой разрушают клеточные структуры в целях высвобождения триацилглицеринов из животных субпродуктов и отходов

Таблица 3.2

Жирокислотный состав (% масс. от общего содержания некоторых распространённых продуктов)

Пищевой продукт/ жирная кислота	Жирная кислота														Массовая доля насыщенных жирных кислот
	C _{4:0}	C _{6:0}	C _{8:0}	C _{10:0}	C _{12:0}	C _{14:0}	C _{16:0}	C _{16:1 Δ9}	C _{18:0}	C _{18:1 Δ9}	C _{18:2 Δ9}	C _{18:3 Δ9}	C _{20:5 Δ5}	C _{22:6 Δ4}	
Оливки							13,7	1,2	2,5	71,1	10,0	0,6			16,2
Рапс							3,9	0,2	1,9	64,1	18,7	9,2			5,5
Кукуруза							12,2	0,1	2,2	27,5	57,0	0,9			14,4
Соевые бобы						0,1	11,0	0,1	4,0	23,4	53,2	7,8			15,0
Семена льна							4,8		4,7	19,9	15,9	52,7			9,5
Кокос		0,5	8,0	6,4	48,5	17,6	8,4		2,5	6,5	1,5				91,9
Какао						0,1	25,8	0,3	34,5	35,3	2,9				60,4
Сливочное масло	3,8	2,3	1,1	2,0	3,1	11,7	26,2	1,9	12,5	28,2	2,9	0,5			62,7
Говяжий жир				0,1	0,1	3,3	25,5	3,4	21,6	38,7	2,2	0,6			50,6
Свиной жир				0,1	0,1	1,5	24,8	3,1	12,3	45,1	9,9	0,1			38,8
Куриный жир					0,2	1,3	23,2	6,5	6,4	41,6	18,9	1,3			31,1
Атлантический лосось						5,0	15,9	6,3	2,5	21,4	1,1	0,6	1,9	11,9	23,4
Куриные яйца						0,3	22,1	3,3	7,7	36,6	11,1	0,3			30,1

рыбопереработки. Триацилглицерины растительного происхождения выделяют путем прессования (например, оливок) или экстракцией растворителем (например, семян масличных растений), а также с помощью сочетания указанных способов. Полученные в ходе этих процессов неочищенные жиры и масла содержат не только триацилглицерины, но и свободные жирные кислоты, фосфолипиды, жирорастворимые вкусоароматические соединения и каротиноиды. Кроме того, в состав жиров и масел входят также и нежировые компоненты (белки и углеводы). Для получения жиров и масел с требуемыми цветом, вкусом и сроком годности эти компоненты необходимо удалить. Далее рассмотрены основные стадии процесса рафинирования.

3.3.2 Дегуммирование

Присутствие фосфолипидов способствует формированию в жирах и маслах эмульсии типа «вода-в-масле». Такие эмульсии делают растительное масло более мутным, а присутствующая вода может быть опасной при нагревании масла выше 100 °С из-за разбрызгивания и вспенивания. Дегуммирование – это процесс удаления фосфолипидов. Осуществляют его путем добавления 1-3 % воды температурой 60-80 °С в течение 30-60 мин. Для увеличения содержания водорода в этой воде к ней иногда добавляют небольшие количества кислоты. Затем для удаления агрегированных «камедей», образованных фосфолипидами и водой, зачастую применяют отстаивание, фильтрование или центрифугирование. В производстве соевого масла фосфолипиды затем восстанавливают и реализуют как лецитин.

3.3.3 Нейтрализация

Из неочищенных масел необходимо удалить свободные жирные кислоты, поскольку они могут стать причиной образования постороннего привкуса, ускоряют окисление липидов, вызывают пенообразование и влияют на ход гидрирования и переэтерификации. Нейтрализацию проводят путем перемешивания неочищенного масла с раствором каустической соды, что приводит к образованию растворимых солей свободных жирных кислот, то есть к омылению. Эти мыла затем удаляют путем отделения жировой фазы от окружающей ее водной среды. Количество используемой каустической соды зависит от концентрации свободных жирных кислот в неочищенном масле. Образующиеся продукты омыляющих веществ можно использовать в виде кормов для скота, а также в производстве ПАВ и моющих средств.

3.3.4 Отбеливание

В неочищенных жирах и маслах зачастую содержатся пигменты (каротиноиды, госсипол и т. п.), придающие ненужное окрашивание или способствующие окислению липидов (хлорофилл). Пигменты удаляют путем

смешивания горячего масла (температурой 80-100 °С) с такими абсорбентами, как нейтральные глины, синтетические силикаты, активированный уголь и др. Поглотитель затем удаляют при фильтрации. Отбеливание обычно проводят под вакуумом, поскольку абсорбенты могут ускорять окисление липидов. Дополнительным преимуществом отбеливания является попутное удаление остаточных свободных жирных кислот и фосфолипидов, а также расщепление гидропероксидов липидов.

3.3.5 Дезодорирование

В нерафинированном растительном масле содержатся ненужные ароматические соединения – альдегиды, кетоны и спирты, нативные или образованные в ходе реакций окисления липидов во время экстракции и очистки масла. Эти летучие соединения удаляют путем перегонки масла с водяным паром при высоких температурах (180-270 °С) и низком давлении. Процесс дезодорирования разрушает также гидропероксиды липидов, увеличивая тем самым стойкость масла к окислению, но может приводить и к образованию *транс*-изомеров жирных кислот. После окончания дезодорирования к растительному маслу добавляют лимонную кислоту (0,005-0,01 %) в целях образования хелатных комплексов и инактивации металлов-катализаторов окисления. В дистилляте дезодорирующего средства содержатся токоферолы и стерины (фитостерины), которые можно регенерировать и использовать затем в качестве антиоксидантов и функциональных пищевых ингредиентов.

3.4 Молекулярные взаимодействия и структура триацилглицеринов

В этом разделе рассматриваются в первую очередь физические свойства липидов и их влияние на свойства пищевых продуктов. В частности, речь пойдет о том, как молекулярная структура и строение липидов определяет их технологические свойства (характеристики плавления, морфологию кристаллов и взаимодействия) и как эти свойства обуславливают основные физико-химические и органолептические свойства пищевых продуктов (текстуру, стабильность, внешний вид, вкус и аромат).

Несмотря на то, что в пищевых продуктах присутствуют самые разные липиды, основное внимание в этом разделе уделяется триацилглицеринам, так как они широко распространены в природе и имеют важное значение в питании. Как было отмечено, триацилглицерины – это сложные эфиры молекулы глицерина и трех молекул жирных кислот, каждая из которых может иметь разное количество атомов углерода, степень ненасыщенности и разветвленности. Существование различных типов жирных кислот и то, что они могут располагаться в разных позициях в структуре глицерина, означает, что в пищевых продуктах могут присутствовать самые разные ТАГ. Фактически в потребляемых с пищей жирах и

маслах всегда содержится большое количество различных ТАГ, тип и содержание которых определяется источником их происхождения.

Молекулы ТАГ напоминают по форме камертон – две жирные кислоты по концам молекулы глицерина, ориентированные в одном направлении, и одна жирная кислота в позиции *sn*-2, ориентированная в противоположную сторону (рис. 3.5). Это в основном неполярные молекулы, и главным типом межмолекулярного взаимодействия, определяющего их структурную организацию, являются ван-дер-ваальсовы силы и силы стерического отталкивания. Взаимодействие между двумя молекулами может быть описано парным потенциалом $w(s)$, определяющим силу взаимодействия или отталкивания между молекулами на расстоянии s (рис. 3.6).

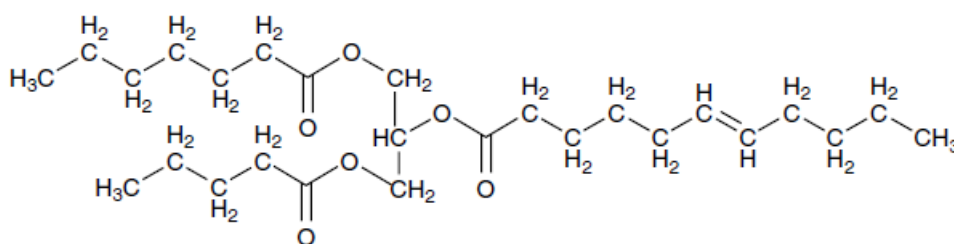


Рис. 3.5. Структурная формула триацилглицерина, состоящего из трех жирных кислот, присоединенных к молекуле глицерина

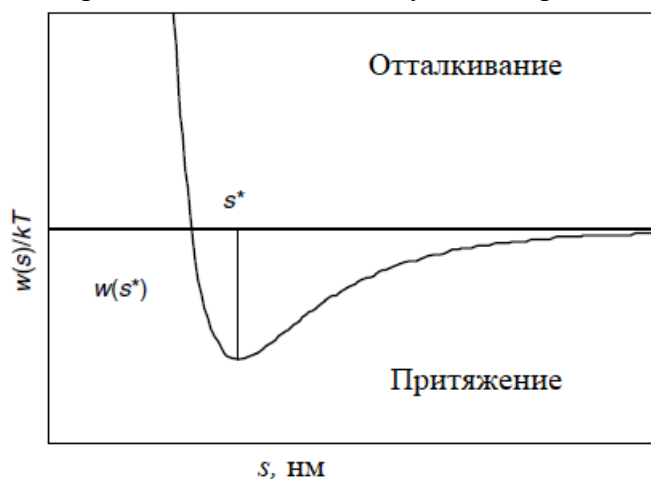


Рис. 3.6. Сила притяжения между молекулами липидов от экстремума межмолекулярного потенциала

Молекулы липидов как в жидком, так и в твердом состоянии могут принимать различные структурные формы в зависимости определенных молекулярных характеристик (например, длина цепи, степени ненасыщенности, полярности). Молекулы ТАГ могут быть «упакованы» в кристалле так, что высота образовавшихся слоев составляет около двух (например, α и β -L2) или трех (например, β -L3) цепочек жирных кислот (рис. 3.7). Кроме того, молекулы ТАГ могут располагаться с разными углами относительно плоскости слоев – ср., например, α и β -L2 (рис. 3.7). Образованные молекулами ТАГ структуры можно

описывать также в терминах упорядоченности молекул внутри кристаллической решетки как гексагональные, триклинные или орторомбические (рис. 3.8). Эти различия означают, что кристаллы жира могут существовать в разных полиморфных формах, обуславливающих разные физические свойства жиров и их поведение при плавлении. Тип образовавшейся кристаллической формы зависит от молекулярной структуры и состава липидов, а также от условий кристаллизации (скорости охлаждения, температуры при выдержке и усилий сдвига). Молекулы ТАГов даже в жидком состоянии находятся не в хаотичном, а в некотором упорядоченном состоянии из-за самоорганизации липидных молекул в некие структурные области (например, ламеллярные структуры). Размер и число этих структурных областей с повышением температуры уменьшается.

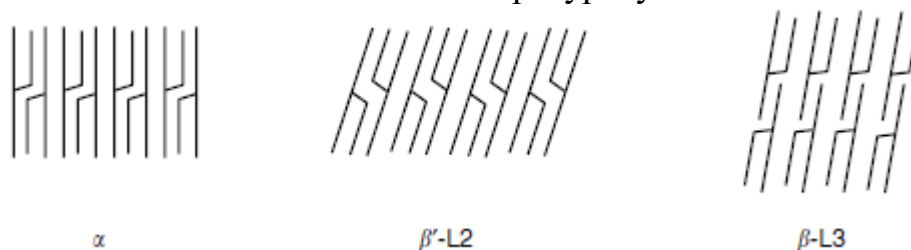


Рис. 3.7. Наиболее распространенные упаковки молекул триацилглицеринов в кристаллической фазе

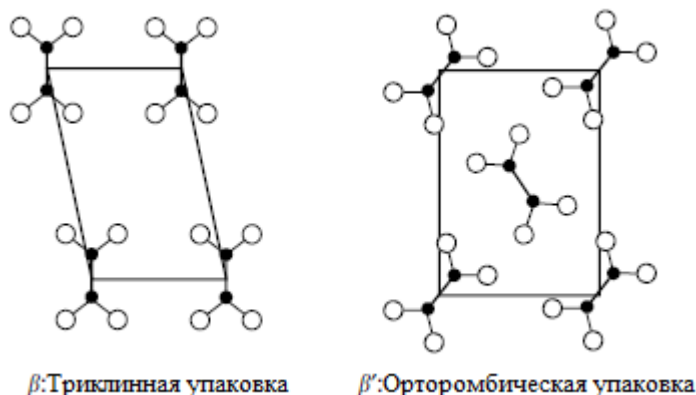


Рис. 3.8. Две из наиболее распространенных упаковок цепочек углеродой: триклинная (параллельная) и орторомбическая (перпендикулярная). Черными кружками показаны атомы углерода, а белыми – атомы водорода. Представлен вид на цепочку сверху

Следует отметить, что словом «жир» обычно называют липиды, которые при комнатной температуре находятся в твердом состоянии, а словом «масло» – жидкие липиды, хотя зачастую эти термины взаимозаменяемы.

3.5 Физические свойства триацилглицеринов

Физические свойства пищевых жиров и масел зависят от молекулярной структуры, их взаимодействия и структурной организации входящих в их состав молекул триацилглицеринов. В частности, термическое поведение, плотность и

реологические свойства определяются в основном силой притяжения между молекулами и эффективностью их упаковки в конденсированной фазе (табл. 3.3).

Таблица 3.3

Некоторые основные физико-химические свойства жидкого масла (триолеина) и воды при температуре 20 °С

Свойство	Масло	Вода
Молекулярная масса	885	18
Точка плавления, °С	5	0
Плотность, кг·м ⁻³	910	998
Сжимаемость, м·с ² ·кг ⁻¹	$5,03 \cdot 10^{-10}$	$4,55 \cdot 10^{-10}$
Вязкость, мПа·с	≈50	1,002
Теплопроводность, Вт·м ⁻¹ ·К ⁻¹	0,170	0,598
Удельная теплоемкость, Дж·кг ⁻¹ ·К ⁻¹	1980	4182
Коэффициент термического расширения, °С ⁻¹	$7,1 \cdot 10^{-4}$	$2,1 \cdot 10^{-4}$
Диэлектрическая постоянная	3	80,2
Поверхностное натяжение, мН·м ⁻¹	≈35	72,8
Показатель преломления	1,46	1,333

3.5.1 Реологические свойства

Большинство жидких масел представляют собой ньютоновские жидкости с вязкостью при комнатной температуре обычно от 30 до 60 мПа·с. Тем не менее, касторовое масло более вязкое, чем большинство других масел из-за содержания в нем значительной доли жирных кислот со спиртовой группой в углеводородном каркасе (например, рицинолеиновой кислоты), которые способны образовывать относительно сильные водородные связи с соседними молекулами. Вязкость жидких масел с ростом температуры постепенно уменьшается и может быть описана логарифмическим уравнением [6].

Большинство «твердых жиров» на самом деле состоит из смеси кристаллов жира, диспергированных в жидком жировом матриксе. Реологические свойства этих жиров существенно зависят от содержания, морфологии, взаимодействий и организации кристаллов жира в данной системе. Твердые жиры обычно проявляют так называемую «пластичность». Пластичные материалы проявляют свойства твердых тел при напряжениях ниже так называемого предела текучести (τ_0), но при более высоких напряжениях они ведут себя как жидкости. Реологическое поведение идеальных пластичных материалов (бингамовская вязкость) показано на рис. 3.9.

На практике твердые жиры характеризуются неидеальным пластичным поведением. Например, выше предела текучести твердые жиры могут течь не так, как идеальные жидкости, то есть они ведут себя как ньютоновские жидкости. Ниже предела текучести они могут быть неидеальными твердыми телами, проявляя определенные текучие свойства (например, вязкопластичные).



Рис. 3.9. Идеальное пластичное вещество при напряжениях ниже приложенного сдвига (предела текучести, τ_0) ведет себя как твердое тело, а при более высоких напряжениях — как жидкость

Кроме того, предел текучести характеризуется не каким-то определенным значением, а некоторой областью приложенного напряжения сдвига из-за постепенного разрушения структуры кристаллической жировой решетки [7]. Значение предела текучести жиров с увеличением содержания твердого жира (СТЖ) возрастает, причем у такой кристаллической морфологии, которая способна образовывать трехмерные сети, легко заполняющие объем, оно выше (например, маленьких игольчатых кристаллы).

Структурные характеристики пластичности твердых жиров можно объяснить их способностью образовывать трехмерные сети из мелких жировых кристаллов, диспергированных в жидком матриксе (рис. 3.9). Ниже определенного значения приложенного напряжения сдвига происходит небольшая деформация образца, но слабые связи между кристаллами жиров не разрушаются. При превышении предела текучести эти слабые связи разрушаются, и кристаллы жира «скользят» относительно друг друга, приводя к течению образца. Если устранить воздействующую силу, то течение останавливается, и соседние кристаллы жира начинают снова образовывать между собой связи. Скорость этого процесса может иметь важное значение для технологических свойств пищевого продукта.

3.5.2 Плотность

Плотность жира — это масса вещества заданного объема. Эта информация часто бывает важна при разработке пищевых технологий, поскольку она позволяет определить количество вещества, помещающегося в резервуар, или его расход через трубу заданного сечения. Плотность жиров важна также для определенных видов их применения, поскольку она влияет на общие свойства системы (например, образование крема из капель масла в эмульсии типа масло-в-воде зависит от разницы плотностей масляной и водной фаз). Плотность жидких жиров при комнатной температуре составляет около 910-930 кг/м³ и с увеличением температуры уменьшается. Плотность твердого жира составляет около 1000-1060 кг/м³, с увеличением температуры также уменьшается. Во многих пищевых

продуктах жиры имеют частично кристаллическую структуру, и их плотность зависит от общего содержания твердого жира, а именно доли общей затвердевшей жировой фазы. Плотность такого частично кристаллического жира с увеличением содержания твердого жира увеличивается (например, при охлаждении ниже температуры кристаллизации). Для определения содержания твердого жира иногда используют измерение плотности частично кристаллических жиров.

Плотность конкретного жира зависит от эффективности упаковки молекул ТАГ: чем она эффективнее, тем выше плотность. Триацилглицерины с линейными насыщенными кислотами более компактны, чем ТАГ с разветвленными ненасыщенными жирными кислотами, и поэтому их плотность выше. Более высокая плотность твердых жиров по сравнению с жидкими обусловлена тем, что их молекулы упакованы более компактно, но так бывает не всегда. Например, для жировых систем с высоким содержанием чистых триацилглицеринов, кристаллизующихся в узком диапазоне температур, плотность системы в целом при кристаллизации уменьшается из-за образования пустот.

3.5.3 Термические свойства

Наиболее важными термическими свойствами жиров с практической точки зрения является удельная теплоемкость (C_p), теплопроводность (κ), точка плавления ($T_{тр}$) и энтальпия плавления (ΔH_f). Эти термические характеристики определяют общее количество теплоты, необходимой для передачи жировой системе (или отвода от нее) определенной температуры в единицу времени. Удельная теплоемкость большинства жидких и твердых жиров составляет около 2 Дж/г и возрастает с повышением температуры. Жиры относительно плохо проводят тепло ($\sim 0,165$ Вт/(м·с)), их теплопроводность намного меньше, чем у воды ($\sim 0,595$ Вт/(м·с)). Таблицы термических свойств разных видов жидких и твердых жиров приведены в табл. 3.4.

Таблица 3.4

Температура и точка плавления наиболее стабильных полиморфных форм некоторых ТАГ

Тип ТАГ	Точка плавления, °С	ΔH , Дж/г
LLL	46	186
MMM	58	197
PPP	66	205
SSS	73	212
OOO	5	113
LiLiLi	-13	85
LnLnLn	-24	-
SOS	43	194
SOO	23	-

Обозначения: L – лауриновая кислота ($C_{12:0}$), M – миристиновая кислота ($C_{14:0}$), P – пальмитиновая кислота ($C_{16:0}$), S – стеариновая кислота ($C_{18:0}$), O – олеиновая кислота ($C_{18:1}$), Li – линолевая кислота ($C_{18:2}$) Ln – линоленовая кислота ($C_{18:3}$)

Температура и точка плавления жиров зависит от упаковки молекул ТАГ внутри образованных кристаллов: чем эффективнее упаковка, тем выше температура и энтальпия плавления. Кроме того, температура и точка плавления чистых ТАГов возрастают с увеличением длины цепи. Эти величины выше для:

- насыщенных жирных кислот по сравнению с ненасыщенными;
- неразветвленных по сравнению с разветвленными;
- ТАГ с более симметричным распределением жирных кислот на молекуле глицерина;
- *транс*-изомеров по сравнению с *цис*-изомерами ненасыщенных жирных кислот (см. табл. 3.4);
- более стабильных полиморфных форм.

Степень кристаллизации жиров во многом определяет их влияние на общие физико-химические и органолептические свойства пищевых продуктов.

Для некоторых видов применения (например, при жарке или выпечке) важно знать температуру, при которой жиры начинают разрушаться под действием тепла. Термостойкость жиров характеризуется температурой дымообразования, вспышки и воспламенения. Температура дымообразования – это температура, при которой в ходе испытаний в определенных условиях образец начинает дымить. Температура вспышки – это температура, при которой летучие соединения липидов начинают образовываться с такой скоростью, что они временно воспламеняются, но не поддерживают горения. Температура восстановления – это температура, при которой летучие соединения образуются под действием термического распада так быстро, что их горение продолжается и после применения пламени. Измерение этих температур важно для подбора жиров для использования при высоких температурах (например, при выпечке и жарке). Термостабильность триацилглицеринов намного больше, чем свободных жирных кислот, то есть склонность липидов к разрушению при нагревании определяется количеством содержащихся в них летучих органических соединений типа свободных жирных кислот.

3.5.4 Оптические свойства

Знание оптических свойств необходимо для пищевых химиков по нескольким причинам. Во-первых, оптические свойства липидов влияют на внешний вид многих пищевых материалов. Во-вторых, некоторые оптические свойства могут быть использованы для получения информации о составе и качестве липидов. Важнейшими такими свойствами являются показатель преломления и спектры поглощения. Показатель преломления жидких жиров составляет при комнатной температуре примерно 1,43-1,45. Для конкретных жиров он определяется структурой жирных кислот, входящих в состав их молекул, и возрастает с увеличением длины цепи, числа двойных связей и сопряженности (конъюгированности) двойных связей. Существуют эмпирические формулы,

связывающие молекулярную структуру липидов с показателем преломления, то есть измерение показателя преломления может быть использовано для определения средней молекулярной массы или степени ненасыщенности жирных кислот. Измерение видимого спектра жиров дает много информации об их составе, качестве и молекулярных свойствах (например, о наличии конъюгированных двойных связей, каротиноидов или хлорофилла). Так, конъюгированные диены поглощают УФ-излучение с длиной волны 232 нм, тогда как конъюгированные триены – примерно 270 нм.

Спектр поглощения жира определяет внешний вид готового продукта. Чистые триацилглицерины практически не имеют своего цвета, поскольку у них нет групп, поглощающих свет в видимой области спектра, однако реализуемые растительные масла имеют свой цвет, так как в них присутствуют значительные добавки поглощающих свет пигментов (например, каротиноидов и хлорофилла). Именно пищевые масла зачастую перед рафинированием обесцвечивают. В эмульгированных продуктах жиры делают их мутными из-за рассеяния света благодаря разнице между коэффициентами преломления жировой и водной фаз.

3.6 Содержание твердого жира в ТАГ пищевых продуктов

Как мы уже отмечали, в съедобных ТАГ присутствуют самые разные жирные кислоты [7]. Если эти жирные кислоты будут располагаться по глицериновому каркасу случайным образом, то количество возможных комбинаций молекул ТАГ с разными жирными кислотами в позициях sn-1, sn-2 и sn-3 будет зависеть количества различных жирных кислот в данном жире. Эти сочетания жирных кислот в ТАГ обуславливают переход жира в жидкую или твердую фазы, поскольку у каждого типа ТАГ своя температура плавления. Это означает, что у ТАГ в пищевых продуктах, как правило, отсутствует крутой изгиб на кривой плавления, и такие ТАГ будут плавиться в достаточно широком температурном диапазоне. Этот диапазон температур обычно называют «диапазоном пластичности», так как сосуществование в липидах жидкого масла и твердого жира обычно обуславливает пластичные реологические свойства, то есть при усилии сдвига ниже определенного значения жиры ведут себя как твердое тело (см. рис. 3.9). Несмотря на то, что термин «диапазон пластичности» широко распространен, вполне возможно, что жир может быть частично кристаллизованным и не обладать реологическими свойствами, подпадающими под точное определение пластичности. Например, в жидком масле могут присутствовать неагрегированные кристаллы жира. Профиль плавления ТАГ обычно описывают термином «содержание твердого жира» (СТЖ), которая определяет долю или процентное содержание липида, находящегося при данной температуре в твердом состоянии. Профиль плавления типичного ТАГ показан на рис. 3.10. При достаточно низкой температуре ТАГ будет совершенно твердым (СТЖ = 100%). По мере повышения температуры жир переходит диапазон

пластичности, в котором сначала плавятся ненасыщенные ТАГ и ТАГ с короткой длиной цепи, после чего плавятся более насыщенные высокомолекулярные ТАГ, и жир становится совершенно жидким маслом (СТЖ = 0%). Из-за присутствия кристаллов разного типа возможность переохлаждения и растворимость высокоплавких ТАГ в менее плавких, а также характеристики плавления липидов невозможно спрогнозировать непосредственно по составу ТАГ.

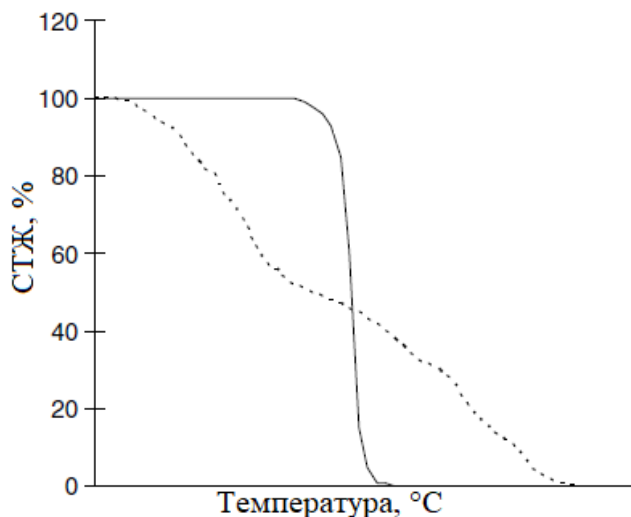


Рис. 3.10. Кривые плавления чистого триацилглицерина и обычного пищевого жира, который плавится в широком диапазоне температур, поскольку состоит из смеси различных молекул чистых ТАГ, каждый которых имеет свою температуру плавления

Ацильные группы в натуральных жирах обычно распределены не случайным образом. Для некоторых натуральных источников жиров характерны лишь несколько сочетаний различных ТАГ, тогда как у других жиров таких сочетаний гораздо больше. Жиры с ТАГ, у которых примерно одинаковая температура плавления, обычно плавятся в узком температурном диапазоне (диапазоне пластичности). Эти ТАГ затвердевают с образованием наиболее стабильной полиморфной формы кристаллов. С другой стороны, жиры с ТАГ, у которых существенно разные температуры плавления, плавятся в более широком температурном диапазоне. Некоторые липиды (например, молочный жир) представляют собой смесь высоко- и низкоплавких ТАГ, из-за чего кривая плавления у них не плавная, а скорее ступенчатая.

Одним из важнейших факторов, определяющих выбор того или иного жира для конкретного пищевого применения, является его показатель СТЖ или кривая плавления, так как именно этот показатель определяет важные функциональные (технологические) свойства пищевых продуктов. Так, он влияет на внешний вид и стабильность хранящихся в холодильнике салатных масел и дрессингов (салатных заправок), на мажущие свойства маргарина и разных сортов сливочного масла в различных условиях (например, в замороженном состоянии

или при комнатной температуре), на скорость таяния шоколада во рту, а также на текстуру многих выпечных изделий.

3.7 Кристаллизация триацилглицеринов

Переход между жидкой и твердой фазами является неотъемлемой частью многих технологических операций при производстве пищевых продуктов, в частности, маргарина, сливочного масла, мороженого или взбитых сливок. Получение пищевых продуктов с требуемыми свойствами зависит тем самым от понимания технологами основных факторов, влияющих на процессы кристаллизации и плавления пищевых жиров. Упорядочение молекул ТАГ в твердом и жидком состояниях схематически показано на рис. 3.11.

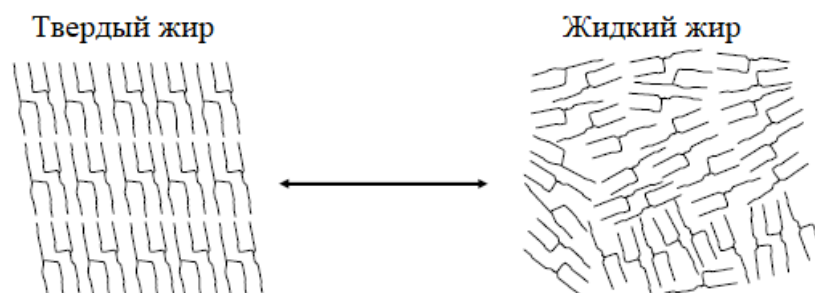


Рис. 3.11. Упорядоченность ТАГов в твердом и жидком состояниях зависит от соотношения сил притяжения молекул и термической энергии, нарушающей их ориентацию

При повышении температуры превалирует энтропийный вклад. При некоторой температуре, называемой точкой плавления, энтропийный фактор начинает доминировать над энтальпийным, и поэтому в жидком состоянии свободная энергия самая низкая [8].

Вещество переходит из твердого в жидкое состояние при температуре выше температуры плавления, переход «твердое тело-жидкость» (плавление) – процесс эндотермический, поскольку для удерживания молекул на расстоянии друг от друга необходимо приложить энергию. И наоборот, переход «жидкость-твердое тело» (кристаллизация) – процесс экзотермический, поскольку при сближении молекул энергия выделяется. Хотя свободная энергия в твердом состоянии при температурах ниже точки плавления минимальна, твердые кристаллы не образуются до тех пор, пока жидкий жир не охладится ниже точки плавления, поскольку свободная энергия затрачивается на образование зародышей кристаллизации.

В целом процесс кристаллизации жиров можно разделить на несколько стадий: переохлаждение, нуклеацию (образование зародышей или центров кристаллизации), рост кристалла и посткристаллизацию.

3.7.1 Переохлаждение

Хотя твердое состояние жиров при температурах ниже точки плавления термодинамически более выгодно, до кристаллизации жиры продолжают оставаться в жидком состоянии в течение довольно длительного времени. Это обусловлено энергией активации, затрачиваемой на образование центров кристаллизации (ΔG^*), которую необходимо преодолеть для осуществления фазового перехода (рис. 3.12). Если энергия активации достаточно велика по сравнению с тепловой энергией, то кристаллизация не начнется, и система будет находиться в метастабильном состоянии. Величина энергии активации зависит от возможностей образования центров кристаллизации в жидком жире, из которых в дальнейшем растут кристаллы. Степень переохлаждения некоторой жидкости определяется как $\Delta T = T - T_{тр}$, где T – температура, а $T_{тр}$ – точка плавления. Величина ΔT , при которой происходит начало кристаллизации, зависит от химической структуры жира, наличия в нем включений, скорости охлаждения, микроструктуры жировой фазы (например, объема, в котором эмульгирован жир) и величины приложенной внешней силы. Чистые беспримесные жиры до инициации кристаллизации зачастую могут быть переохлаждены более чем на 10°C .

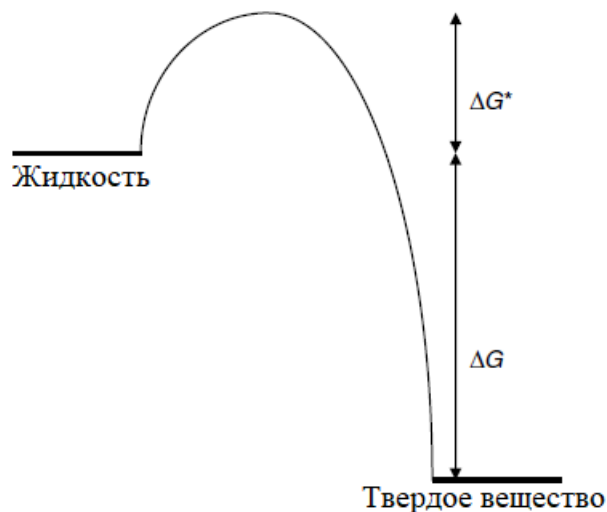


Рис. 3.12. При достаточно большой энергии активации, необходимой для образования зародышей кристаллизации, при температуре ниже точки плавления жидкий жир может существовать в метастабильном состоянии

3.7.2 Нуклеация

Рост кристалла начинается только после образования в жидкости стабильного центра кристаллизации. Считается, что такие центры представляют собой кластеры молекул жира, образующие слабоупорядоченные мелкие кристаллы, возникающие при столкновении нескольких молекул жира с образованием ассоциатов. Именно изменение свободной энергий обуславливает образование такого центра (рис. 3.13).

Отрицательная величина изменения свободной энергии (ΔG_V) пропорциональна объему образующихся зародышей кристаллизации. Это обусловлено изменениями энтальпии и энтропии внутри цен кристаллизации при фазовом переходе. С другой стороны, образование центров кристаллизации ведет к формированию новой поверхности раздела твердой и жидкой фаз, причем этот процесс сопровождается ростом свободной энергии для преодоления межфазного напряжения. Положительная величина изменения свободной энергии (ΔG_S) пропорциональна площади поверхности образующихся центров кристаллизации. Общее изменение свободной энергии образования центров кристаллизации представляет собой сумму влияния объема и площади поверхности [27]:

$$\Delta G = \Delta G_V + \Delta G_S = \frac{4}{3}\pi r^3 \frac{\Delta H_{fus}\Delta T}{T_{mp}} + 4\pi r^2 \gamma_i \quad (3.1)$$

где r – радиус центра кристаллизации; ΔH_{fus} – изменение энтальпии на единицу объема при переходе «жидкость-твердое тело» (отрицательное значение); γ_i – напряжение на разделе фаз «жидкость-твердое тело».

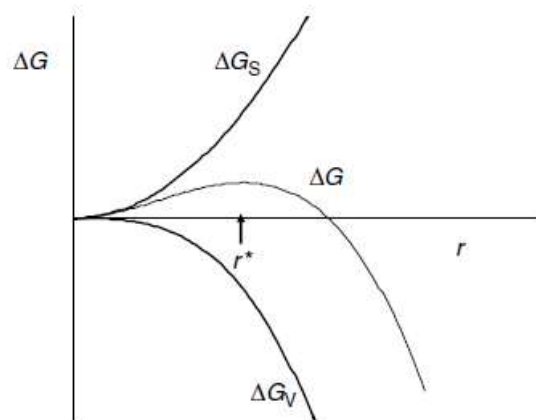


Рис. 3.13. Критический размер зародыша кристалла, необходимый для его роста, зависит от вклада объема и площади поверхности в свободную энергию образования центров кристаллизации. Спонтанно образованные зародыши кристаллов с радиусом больше r^* растут, а с меньшим радиусом распадаются

По мере роста центра кристаллизации вклад объемного члена становится все более отрицательным, тогда как вклад поверхностного члена становится все более положительным (см. рис. 3.13). Поскольку отношение площади поверхности к объему с увеличением размера уменьшается, для маленьких центров кристаллизации доминирует поверхностный член, тогда как для больших центров – объемный. В результате изменение общей свободной энергии при образовании центров кристаллизации становится максимальным при некотором критическом радиусе центра кристаллизации (r^*):

$$r^* = \frac{2\gamma_i T_{mp}}{\Delta H_{fus}\Delta T} \quad (3.2)$$

Если происходит спонтанное образование центров кристаллизации с радиусом менее этого критического размера, то происходит диссоциация и свободная энергия системы уменьшается. Если же образуются центры кристаллизации с радиусом, превышающим критический размер, то вырастает кристалл. Из уравнения (3.3) следует, что критический размер центра кристаллизации, необходимый для роста кристалла, по мере увеличения степени переохлаждения уменьшается, что согласуется с экспериментально наблюдаемой скоростью образования центров кристаллизации при понижении температуры. Практически это означает, что до начала образования кристаллов жидкие жиры должны быть значительно переохлаждены (ниже их термодинамической точки плавления).

Скорость образования зародышей кристаллизации можно математически увязать с энергией активации ΔG^* , которую необходимо преодолеть для образования стабильных зародышей:

$$J = A \exp\left(-\frac{\Delta G^*}{kT}\right), \quad (3.3)$$

где J – скорость образования центров кристаллизации, равная числу стабильных центров, образующихся на 1 с в единице объема вещества; A – предэкспоненциальный множитель; k – постоянная Больцмана; T – абсолютная температура.

Изменение скорости образования центров кристаллизации по уравнению (3.3) в зависимости от степени переохлаждения (ΔT) приведено на рис. 3.14. Образование стабильных зародышей кристаллизации при температурах ниже точки плавления происходит крайне медленно, но существенно возрастает при охлаждении жидкости ниже некоторой температуры T^* . В действительности скорость образования центров кристаллизации возрастает по мере переохлаждения до некоторой температуры, после чего при дальнейшем охлаждении замедляется. Это происходит из-за диффузии молекул жиров к поверхности раздела фаз «жидкость-центр кристаллизации». Тем самым на кривой зависимости скорости образования центров кристаллизации от степени переохлаждения наблюдается перегиб (см. рис. 3.14).

Такой тип образования центров кристаллизации наблюдается у беспримесных жиров и называется *гомонуклеацией*. При контакте жидкого жира с инородными поверхностями (например, частиц кристаллами жира, жировыми глобулами, пузырьками воздуха или стенками емкости) образование центров кристаллизации происходит при более высоких температурах, чем у чистых систем. Такой тип называется *гетерогенной нуклеацией* и может быть разделен на две разновидности: первичную и вторичную нуклеацию. Первичная гетерогенная нуклеация происходит, когда поверхности инородных тел имеют отличную от жира химическую структуру, тогда как вторичная – при контакте с поверхностью, состоящей из кристаллов одинаковой с жиром химической структуры. Вторичная

гетерогенная нуклеация является основой для инициирования кристаллообразования в переохлажденных жирах, то есть для добавления заранее сформированных кристаллов триацилглицеринов в переохлажденную жидкость с теми же триацилглицеринами, что способствует нуклеации при более высоких температурах.



Рис. 3.14. Теоретически скорость образования стабильных зародышей кристаллов при переохлаждении должна возрастать (сплошная линия), но на практике она уменьшается до определенной температуры, поскольку диффузия молекул жира замедляется из-за увеличения вязкости (пунктирная линия)

3.7.3 Рост кристаллов

При образовании стабильного центра кристаллизации он начинает расти до кристалла путем включения молекул из жидкой жировой фазы на поверхности раздела «жидкость-твердое тело». Кристаллы жира имеют несколько различных граней, и каждая грань растет с разной скоростью, чем и обусловлено большое разнообразие морфологии кристаллов жира. Общая скорость роста/кристаллов зависит от нескольких факторов, в том числе от процессов переноса массы молекул из жидкой фазы на поверхность раздела «жидкость-твердое тело», от инкорпорации молекул в кристаллическую решетку и от удаления теплоты, выделяющейся в ходе кристаллизации на поверхности раздела фаз. Условия окружающей среды (вязкость, теплопроводность, кристаллическая структура, температурный профиль и механическое перемешивание) влияют на процессы переноса массы и теплоты и, следовательно, на скорость роста кристаллов. Из-за этого довольно трудно построить общую модель роста кристаллов. В кристаллизующейся липидной системе закрепление молекулы на поверхности кристалла при высоких температурах зачастую ограничивает скорость роста, а диффузия молекулы к границе раздела твердой и жидкой фаз ограничивает скорость роста при низких температурах. Происходит это из-за того, что вязкость жидкого масла при понижении температуры возрастает, из-за чего затрудняется процесс диффузии молекул. Таким образом, скорость роста кристаллов сначала

возрастает по мере повышения степени переохлаждения до тех пор, пока эта скорость не станет максимальной, после чего она начинает снижаться. Зависимость скорости роста кристаллов от температуры аналогична зависимости скорости нуклеации; вместе с тем, температурная зависимость скорости нуклеации, как правило, отличается от зависимости скорости роста кристаллов (рис. 3.15). Это отличие обусловлено зависимостью количества и размеров образовавшихся кристаллов от скорости охлаждения и температуры выдерживания. Если жидкое масло охлаждено до температуры, при которой скорость нуклеации меньше, чем скорость роста кристаллов, то образуется небольшое число крупных кристаллов. С другой стороны, если они охлаждены до температуры, при которой скорость роста кристаллов меньше скорости нуклеации, то образуется большое число мелких кристаллов. Экспериментально было показано, что скорость роста кристаллов прямо пропорциональна степени переохлаждения и обратно пропорциональна вязкости расплава.

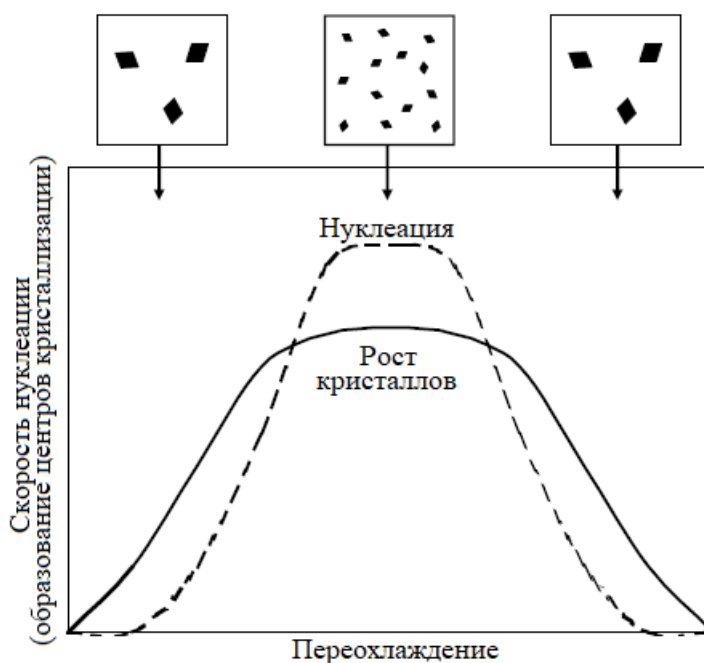


Рис. 3.15. Образование центров кристаллизации и скорость роста кристаллов характеризуется разными температурными зависимостями, что определяет разницу в числе и размерах кристаллов жира, образованных при различных условиях охлаждения

3.7.4 Морфология кристаллов

Морфология кристаллов зависит от внутренних (молекулярная структура, состав, упаковка) и взаимодействия внешних факторов (зависимость «время-температура», механическое перемешивание и наличие примесей). Как правило, при быстром охлаждении жидкой жировой фазы намного ниже температуры плавления образуется большое число мелких кристаллов, а при медленном охлаждении чуть ниже температуры плавления образуется небольшое число крупных кристаллов. Это объясняется разницей температурных зависимостей

скоростей образования центров нуклеации и роста кристаллов (см. рис. 3.15). Скорость образования центров нуклеации с понижением температуры возрастает до некоторой максимальной величины намного быстрее, чем скорость кристаллизации, а затем по мере дальнейшего повышения температуры быстрее снижается. Таким образом, быстрое охлаждение способствует спонтанному образованию мелких зародышей кристаллов, которые последовательно вырастают в маленькие кристаллы, а медленное охлаждение способствует образованию небольшого числа зародышей, которые успевают вырасти в крупные кристаллы до образования новых центров кристаллообразования (см. рис. 3.15).

Структурные и физические свойства кристаллов, получающихся после охлаждения смеси триацилглицеринов, существенно зависят от скорости охлаждения и температуры. При быстром охлаждении жидкой жировой фазы все триацилглицерины кристаллизуются примерно одновременно и образуется твердый раствор, состоящий из гомогенных кристаллов, в котором триацилглицерины смешаны друг с другом. При медленном охлаждении жидкой жировой фазы первыми кристаллизуются триацилглицерины с более высокой точкой плавления, тогда как триацилглицерины с более низкой точкой плавления кристаллизуются позднее, благодаря чему образуются смешанные кристаллы. Эти кристаллы гетерогенны и состоят из нескольких областей – в одних областях много триацилглицеринов с высокой точкой плавления, а в других их меньше. От того, образует ли жировая фаза твердый раствор или смешанные кристаллы, всегда зависят такие физико-химические свойства, как плотность, текучесть и характеристики плавления, определяющие свойства готовых пищевых продуктов.

3.7.5 Полиморфизм

Триацилглицеринам присуще явление, называемое (монотропным) *полиморфизмом* и отражающее существование нескольких кристаллических структур с различной упаковкой молекул [9]. Три наиболее распространенных типа упаковки триацилглицеринов – это гексагональная, орторомбическая и триклинная упаковки, обозначаемые соответственно α , β' и β полиморфными формами (см. рис. 3.7 и 3.8).

Образующиеся кристаллические формы зависят от молекулярной структуры и состава жиров, а также от условий окружающей среды при кристаллизации (скорости охлаждения, поддерживаемой температуры и сдвига). Термодинамическая стабильность, а значит, и температура плавления этих трех форм, уменьшается в следующей последовательности: $\beta > \beta' > \alpha$. Хотя β -форма более термодинамически стабильна, триацилглицерины зачастую кристаллизуются сначала в α -форму, поскольку для нее характерна меньшая энергия активации зарождения центра нуклеации (рис. 3.16). Со временем кристаллы трансформируются в более стабильную полиморфную форму со скоростью, зависящей от условий окружающей среды, а именно от температуры,

давления и наличия примесей. Время, необходимое для осуществления этого фазового перехода, определяется гомогенностью состава триацилглицеринов. Наиболее быстро переход из α -формы происходит при относительно гомогенном их составе, когда триацилглицерины имеют сходную молекулярную структуру, а медленнее переход осуществляется в случае многокомпонентных жиров с триацилглицеринами разной молекулярной структуры. Знание полиморфных форм кристаллов жира зачастую имеет большое значение, поскольку от них зависят выбор термических процессов и морфология образующихся кристаллов, а значит, физико-химические и органолептические свойства пищевых продуктов. Например, желаемые характеристики текстуры и внешний вид шоколада зависят от того, насколько образовавшиеся кристаллы жира перешли в требуемую полиморфную форму. Съедобные жиры и масла из разных источников или подвергнутые разной технологической обработке (фракционированию, переэтерификации или гидрогенизации) зачастую склонны принимать нужные полиморфные формы, как правило, β или β' , так как α -форма обычно бывает нестабильной. Липиды, склонные к β' -форме (например, пальмовое масло и многие гидрогенизированные растительные масла), склонны образовывать более мелкие кристаллы с более гладкой текстурой, желательной для спредов. Жиры же, склонные образовывать β -форму, зачастую образуют более крупные кристаллы, обуславливающие «песчанистую», зернистую текстуру, которая для упомянутых изделий нежелательна.

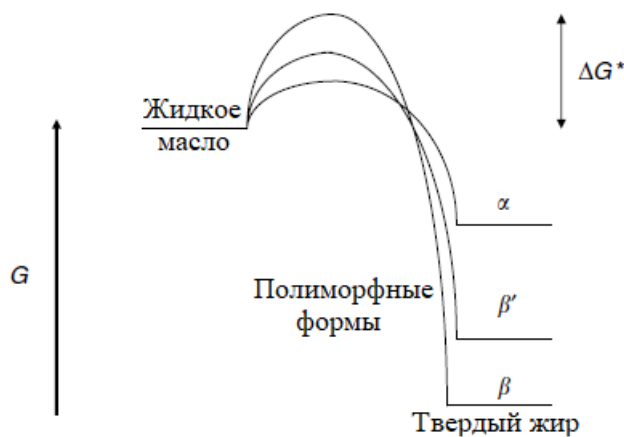


Рис. 3.16. Первоначально образующиеся полиморфные формы, когда кристаллизация жира зависит от относительной величины энергии активации, инициирующей образование центров нуклеации

3.7.6 Кристаллизация жира в эмульсиях

Влияние кристаллизации жиров на общие физико-химические свойства пищевых эмульсий зависит от того, какую фазу образуют жиры – непрерывную или дисперсную. Характерные стабильность и реологические свойства эмульсий типа «вода-в-масле» (В/М), таких как сливочное масло или маргарин,

определяются наличием в непрерывной (масляной) фазе сетки из агрегированных кристаллов жира. Эта сетка из кристаллов жира отвечает за предотвращение осаждения капель воды под действием силы тяжести, а также определяет текстурные свойства продукта. Если в продукте будет слишком много кристаллов жира, то он будет твердым и плохо мажущимся, а если их будет слишком мало, то продукт получится мягким и будет расплываться под собственным весом. Таким образом, одним из важнейших аспектов в производстве маргаринов и спредов является подбор требуемых характеристик плавления используемых жиров. Кривую плавления натуральных жиров можно оптимизировать путем использования соответствующих физических и химических методов обработки, включая смешивание, переэтерификацию, фракционирование и гидрогенизацию.

Кристаллизация жира оказывает также существенное влияние на физико-химические свойства многих эмульсий типа «масло-в-воде» (М/В), таких как молоко или салатные заправки (дрессинги). При частичной кристаллизации жировых капель кристалл из одной капли при столкновении может проникать в другую каплю, из-за чего две капли жира как бы «прилипают» друг к другу. Подобное явление называется «частичной коалесценцией» и приводит к резкому повышению вязкости эмульсии и снижению ее стабильности вплоть до разделения фаз (образования слоя сливок в случае молока). Сильная частичная коалесценция может привести к инверсии фаз, то есть к превращению эмульсии М/В в эмульсию В/М. Этот процесс представляется одним из важнейших стадий в производстве сливочного масла, маргаринов и спредов. Частичная коалесценция важна также для получения мороженого и взбитых сливок, когда эмульсию М/В охлаждают до температуры, при которой капли жира частично кристаллизуются, и механически перемешивают, способствуя столкновениям и агрегации этих капель. Такие агрегированные жировые капли образуют вокруг пузырьков воздуха двухмерную сеть, а в непрерывной фазе – трехмерную сеть, способствующую увеличению стабильности и улучшению текстуры продукта.

3.8 Изменение состава твердых триглицеридов в пищевых жирах

Натуральные жиры с необходимым диапазоном пластичности не всегда доступны, а иногда довольно дороги. Кроме того, изменение жирнокислотного профиля (снижение степени ненасыщенности) зачастую необходимо для получения жира, менее чувствительного к окислению, или для получения жира, более приемлемого с нутритивной точки зрения (повышение степени ненасыщенности). В этих целях были разработаны различные технологии, основной задачей которых являлось изменение в пищевых жирах содержания твердых триглицеридов (ТТГ) или «общего твердого жира» (ОТЖ).

3.8.1 Смешивание

Простейший метод изменить жирнокислотный состав и кривую плавления – это смешивание жиров с разным составом ТАГ. Этот метод используют главным образом в производстве жарочных масел и маргаринов.

3.8.2 Изменение состава кормов для животных

Состав жирных кислот в животных жирах можно изменить путем коррекции типа жиров в кормах. Этот способ особенно эффективен для нежвачных животных – свиней и птицы, а также для рыбы. Увеличение содержания ненасыщенных жирных кислот в рационе жвачных животных (коров и овец) не очень эффективно, поскольку бактерии рубца (первого отдела желудка жвачных) гидрогенизируют жирные кислоты прежде, чем они достигнут тонкой кишки, где они всасываются в кровь.

3.8.3 Генетические методы

Жирокислотный состав можно генетически скорректировать путем замены ферментативных путей образования ненасыщенных жирных кислот. Такая генетическая коррекция доказала свою успешность в программах селекции пород скота и в технологиях генной инженерии. Некоторые растительные масла из генетически модифицированных растений (например, подсолнечное) с повышенным содержанием олеиновой кислоты уже производятся промышленно.

3.8.4 Фракционирование

Состав жирных кислот и ТАГов в жирах можно изменить путем выдержки жира при такой температуре, при которой наиболее насыщенные или высокомолекулярные ТАГ будут кристаллизоваться с последующим образованием либо твердой (более насыщенной и высокомолекулярной), либо жидкой (более ненасыщенной или низкомолекулярной) фаз. Так обычно поступают с растительными маслами в ходе процесса, известного как *вымораживание (винтеризация)*. Эта технология необходима для тех масел, которые затем используют в замороженных пищевых продуктах, что помогает предотвратить кристаллизацию ТАГ и помутнение продукта. Вымораживание также необходимо для жиров, применяемых в производстве майонезов и салатных дрессингов (заправок), в которых кристаллизация жиров будет дестабилизировать эмульсию.

3.8.5 Гидрогенизация

Гидрогенизация – это химический процесс присоединения водорода к двойным связям. Его используют, во-первых, когда необходимо модифицировать жиры так, чтобы они были более твердыми при комнатной температуре, во-вторых, когда следует избежать различий в поведении жиров при кристаллизации (за счет большей гомогенности жирнокислотного состава), и в-третьих, для

обеспечения большей стойкости к окислению. Гидрогенизацию осуществляют путем удаления двойных связей, что приводит к большей насыщенности жирных кислот. Кроме того, при гидрогенизации происходит отбеливание, так как разрушение двойных связей (например, в каротиноидах) приводит к утрате ими красящих свойств. К пищевым продуктам, получаемым путем гидрогенизации жиров, относятся маргарины, кулинарные жиры и частично гидрогенизированные масла, более стойкие к окислению.

3.8.6 Переэтерификация

Переэтерификация – это процесс перестройки ацильных групп в триацилглицеринах. Как правило, это случайный процесс, приводящий к образованию триацилглицерина с параметрами, отличающимися от исходного липида, что приводит к существенным изменениям кривой плавления жиров без изменения их жирокислотного состава. Переэтерификация также влияет на процесс кристаллизации жира, поскольку затрудняется образование наиболее стабильных форм кристаллов жира (триклинной β -формы), так как состав ТАГ становится более гетерогенным. Переэтерификация осуществляется посредством ацидолиза, алкоголиза, глицеролиза и межмолекулярной переэтерификации. Обычно для изменения свойств пищевых жиров применяют межмолекулярную переэтерификацию, при которой для ускорения реакции широко используются натриевые алкилаты (например, этилат натрия) – они относительно дешевы и активны при низких температурах.

3.9 Роль триацилглицеринов в пищевых продуктах

Возможности ученых в области питания по улучшению качества пищевых продуктов зависят от глубины понимания ими той разнообразной роли, которые жиры и масла играют в свойствах готовых продуктов.

3.9.1 Текстура

Влияние жиров на текстуру пищевых продуктов определяется прежде всего физическим состоянием жира и природой пищевого матрикса (например, бестарный, основной, расфасованный жидкий жир, эмульгированный или структурный жир). У жидких жиров типа кулинарного жира или салатного растительного масла текстура определяется в основном вязкостью в определенном диапазоне температур, характерном для использования этих жиров. Для частично кристаллизованных жиров (в шоколаде, хлебобулочных и мучных кондитерских изделиях, в жирах, шортенингах, сливочном масле и маргарине) текстура в основном определяется содержанием, морфологией и взаимодействиями кристаллов жира. Кривые плавления кристаллов жира играют большую роль в формировании таких свойств готовых продуктов, как текстура, стабильность, мажущиеся свойства и «ощущение во рту». В эмульсиях типа М/В вязкость всей

системы в целом определяется больше концентрацией присутствующих жировых глобул, чем вязкостью жира в этих глобулах. Характерная кремообразная текстура многих пищевых эмульсий типа М/В (кремов, десертов, салатных заправок и майонеза) определяется именно присутствием жировых глобул. В эмульсиях типа В/М общие реологические свойства системы определяются преимущественно реологическими свойствами жировой фазы. В большинстве пищевых эмульсий типа В/М (в маргарине, сливочном масле и спредах) жировая фаза является частично кристаллизованной и характеризуется псевдопластичными свойствами. Реологические свойства подобных продуктов, следовательно, определяются содержанием общего твердого жира, а также морфологией и взаимодействиями присутствующих кристаллов жира, характеристики которых, в свою очередь, зависят от условий кристаллизации и хранения. Например, мажущиеся свойства определяются формированием трехмерной сети из агрегатов жировых кристаллов в объеме непрерывной фазы, что придает продукту механическую твердость. Во многих пищевых продуктах жиры образуют существенную часть твердого матрикса, в которой содержатся и многие другие компоненты (ср., например, шоколад, торты и пирожные, печенье, бисквит, сыр). Физическое состояние жиров в этих системах существенно влияет на их реологические свойства, в частности, на твердость и хрусткость.

3.9.2 Внешний вид

Наличие жиров оказывает существенное влияние на внешний вид многих пищевых продуктов. Цвет жидких жиров (например, жарочных или салатных) в основном определяется примесями поглощающих свет пигментов, в частности, хлорофилла и каротиноидов. Твердые жиры обычно оптически непрозрачны из-за рассеяния света, обусловленного присутствием кристаллов жира, тогда как жидкие жиры обычно оптически прозрачны. Мутность жира зависит от концентрации, размера и формы присутствующих кристаллов жира. Непрозрачный, мутный или матовый внешний вид пищевых эмульсий – это следствие несмешиваемости масляной и водной фаз, приводящей к образованию системы, где капли одной фазы диспергированы в другой фазе. Пищевые эмульсии обычно оптически непрозрачны, поскольку свет, проходящий через них, на глобулах жира рассеивается. Интенсивность рассеяния зависит от концентрации, размера и показателя рефракции присутствующих жировых глобул, так что и цвет, и мутность пищевых эмульсий обусловлены содержанием твердой жировой фазы.

3.9.3 Вкус и аромат

Триацилглицерины – это относительно крупные молекулы, обладающие слабыми летучими свойствами и, соответственно, слабым собственным вкусом и запахом. Тем не менее, пищевые жиры и масла из различных натуральных источников обладают собственным вкусом из-за присутствия в них характерных

летучих соединений – продуктов окисления липидов и примесей. Их минорные жирнокислотные компоненты также придают слабые вкусовые оттенки, особенно в животных жирах. На вкус и аромат многих пищевых продуктов опосредованно влияет и собственно жировая фаза, поскольку вкусоароматические вещества могут распределяться между жировой, водной и газообразной фазами внутри пищевого матрикса в зависимости от их полярности и летучих свойств. На воспринимаемый вкус и аромат пищи тем самым существенно влияет тип и концентрация присутствующих жиров.

Жир многих пищевых продуктов обуславливает «ощущение во рту». Жидкие жиры в ходе пережевывания могут обволакивать язык, обеспечивая характерное «масляное» ощущение. Кристаллы жира делают такое ощущение «зернистым» или «песчанистым», особенно если они достаточно крупные, а если они мелкие, то создается ощущение «гладкости» или «сливочности». Таяние кристаллов жира на языке вызывает освежающее ощущение («холодок»), являющееся важным органолептическим свойством многих жиросодержащих продуктов.

3.10 Химическое разложение жиров. Гидролитические реакции

Присутствие в пищевых продуктах свободных жирных кислот может проявляться в образовании побочных привкусов, снижении стойкости к окислению, в пенообразовании и снижении температуры дымообразования. Если высвобождение из глицерина свободных жирных кислот приводит к образованию соединений с посторонним привкусом (например, летучих свободных низкомолекулярных кислот, образующих посторонние запахи, или высокомолекулярных жирных кислот, придающих продукту мыльный привкус), то такое явление называют *гидролитическим прогорканием*. Вместе с тем свободные низкомолекулярные жирные кислоты в некоторых продуктах типа сыров иногда желательны, поскольку они участвуют в создании характерного вкусоароматического профиля продукта [10].

Свободные жирные кислоты могут высвобождаться из триацилглицеринов ферментами, называемыми липазами. В живых тканях активность (фосфо)липаз жестко регулируется, поскольку жирные кислоты могут быть цитотоксичными из-за своей способности к разрушению целостности клеточных мембран. При обработке и хранении биологических тканей, используемых в качестве сырья для производства пищевых продуктов, клеточные структуры и механизмы биологического регулирования могут нарушаться, и липазы активизируются (например, входят в контакт с жировыми субстратами). Хорошим примером здесь может служить производство оливкового масла. После первого отжима концентрация в нем свободных жирных кислот невелика, а в масле последующих отжимов и масле, отпресованном из жмыха, их концентрации выше (вследствие того, что клеточный матрикс уже разрушен и липазы приняли участие в гидролизе триацилглицеринов). Гидролиз ТАГ протекает также в жарочных жирах

вследствие действия высоких температур и влаги из подвергаемых жарке пищевых продуктов. Как только содержание свободных жирных кислот возрастает, температура дымообразования и стойкость к окислению понижаются, а способность к пенообразованию увеличивается. Для увеличения срока хранения выпускаемые промышленностью жарочные жиры фильтруют с адсорбентами, способными связывать и удалять свободные жирные кислоты. Гидролиз триацилглицеринов происходит также при экстремальных значениях pH.

3.11 Химическая порча жиров. Окислительные реакции

Термином «окисление липидов» обозначают целый комплекс последствий химических изменений, которые являются результатом взаимодействия липидов (жиров) с кислородом. Триацилглицерины и фосфолипиды обладают низкой летучестью и поэтому опосредованно влияют на вкус и аромат пищевых продуктов. В ходе реакции окисления липидов жирные кислоты, этерифицированные до триацилглицеринов и фосфолипидов, разлагаются с образованием небольших летучих молекул. Эти молекулы являются источником неприятного запаха, обусловленного *окислительным прогорканием*. Как правило, эти летучие соединения обуславливают снижение качества продуктов, хотя существуют некоторые продукты (жареные продукты, сухие зерновые завтраки и сыры), для которых небольшое содержание продуктов окисления липидов необходимо для улучшения их вкусоароматического профиля [11].

3.11.1 Механизмы окисления липидов

В реакциях окисления липидов центральное место занимают молекулярные частицы, называемые свободными радикалами. Они представляют собой молекулы или атомы, имеющие в структуре неспаренные электроны. Эти свободные радикалы значительно различаются по своей энергии. Например, гидроксильный радикал ($\bullet\text{OH}$) обладает очень высокой энергией и может окислить почти любую молекулу путем отрыва от нее атома водорода, тогда как антиоксидант α -токоферол может образовывать свободные радикалы, обладающие очень низкой энергией и менее способные атаковать молекулы (например, ненасыщенных жирных кислот).

Кинетика окисления липидов в пищевых продуктах зачастую характеризуется некоторой фазой задержки (лаг-фазой), после которой начинается экспоненциальное увеличение скорости окисления (рис. 3.17). Продолжительность этой лаг-фазы очень важна для переработчиков пищевых продуктов, так как в это время прогорклость еще не обнаруживается, и качество пищевых продуктов остается высоким. С началом фазы экспоненциального увеличения скорости окисления липиды весьма быстро окисляются с ускоренным образованием побочных вкусоароматических соединений. Продолжительность лаг-фазы возрастает с понижением температуры, содержания кислорода, степени

ненасыщенности жирных кислот, активности прооксидантов и увеличением содержания антиоксидантов. Увеличение продолжительности лаг-фазы при окислении эмульсии кукурузного масла в воде с помощью гамма-токоферола показано на рис. 3.17.

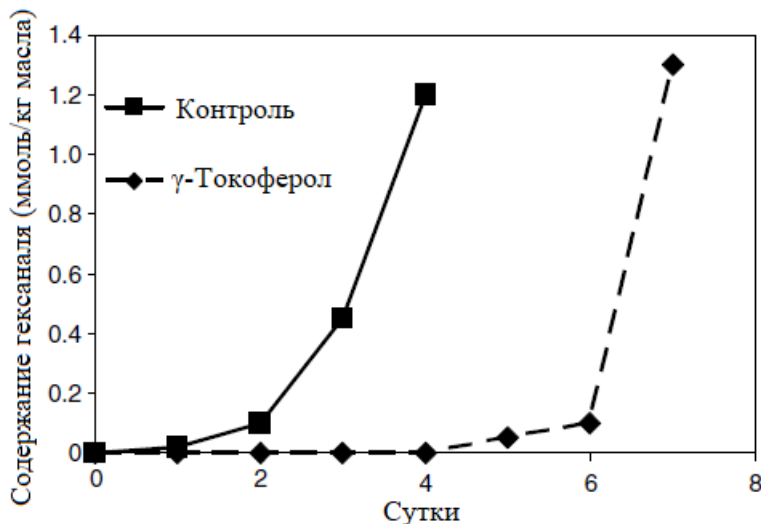


Рис. 3.17. Влияние γ -токоферола на лаг-фазу окисления кукурузного масла в воде

Окисление жирных кислот можно разделить на три основные стадии – инициирования, развития и окончания окисления.

3.11.1 Инициирование окисления

На стадии *инициирования окисления* происходит отрыв атома водорода от молекулы жирной кислоты с образованием жирнокислотного радикала (алкил-радикала, $L\cdot$). После его образования происходит стабилизация свободного радикала за счет его делокализации по двойной связи или связям, что в итоге приводит к смещению двойной связи. В случае полиненасыщенных жирных кислот эта стабилизация осуществляется путем формирования конъюгированных двойных связей. Такое смещение может продуцировать двойные связи как в *цис*-, так и в *транс*-конфигурации с преобладанием *транс*-конфигурации за счет ее большей стабильности. Стадия инициирования, заключающаяся в отщеплении атома водорода от ограниченного метиленовыми фрагментами атома углерода линолевой кислоты, показана на рис. 3.18. Параллельная перегруппировка двойных связей приводит к образованию двух изомеров. При отщеплении атома водорода от олеиновой кислоты алкильный радикал может существовать в четырех различных положениях (рис. 3.18).

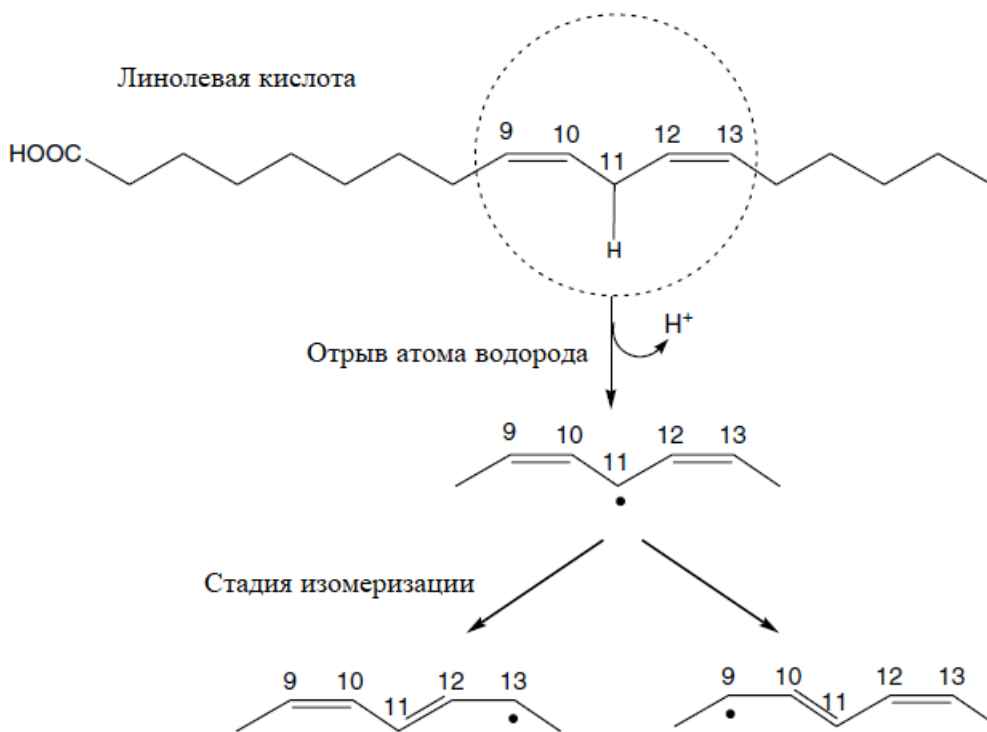


Рис. 3.18. Стадия инициации окисления линолевой кислоты

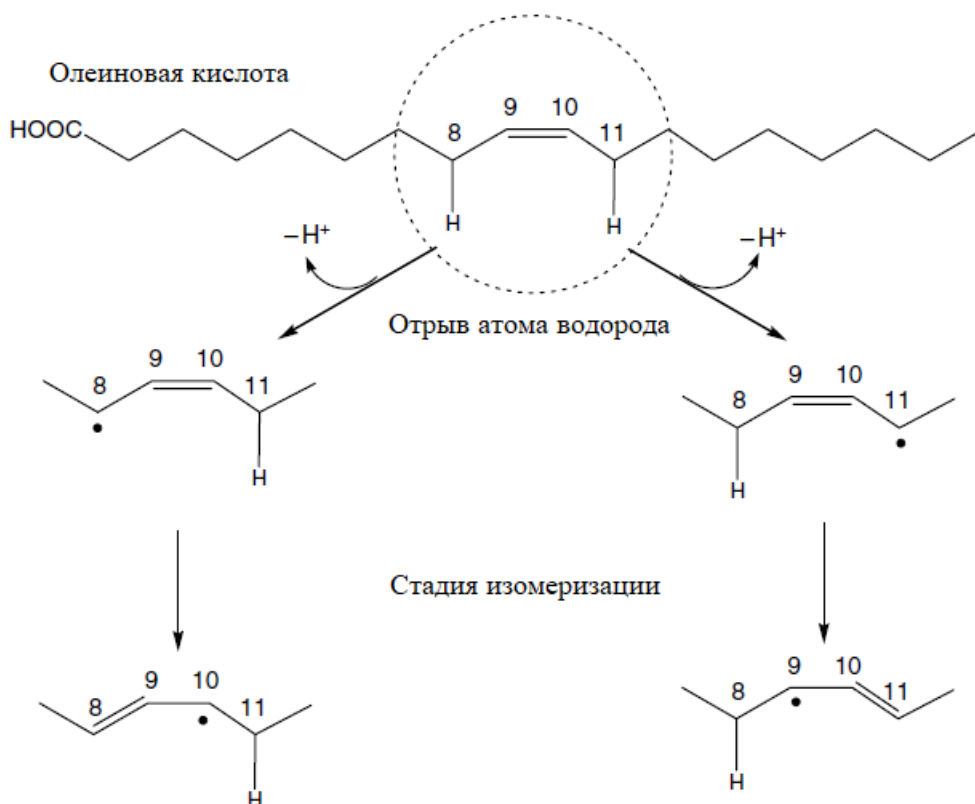


Рис. 3.19. Стадия инициации окисления олеиновой кислоты

С увеличением степени ненасыщенности возрастает легкость образования жирнокислотных радикалов. Энергия диссоциации ковалентной связи «углерод-водород» и алифатической цепи составляет 98 ккал/моль. Если атом углерода является смежным с богатой электронами двойной связью, то ковалентная связь «углерод-водород» ослабевает, и энергия диссоциации снижается до 89 ккал/моль. В полиненасыщенных жирных кислотах двойные связи находятся в пентадиеновой конфигурации, причем один атом углерода ограничен с двух сторон метиленовыми фрагментами (рис. 3.19). Поскольку ковалентная связь «углерод-водород» в этом ограниченном метиленовыми фрагментами атоме углерода ослаблена двумя двойными связями, то ее энергия диссоциации еще ниже – 80 ккал/моль. С уменьшением энергии диссоциации связи «углерод-водород» отщепление атома водорода облегчается, и окисление липидов протекает быстрее. Показано, что линолевая кислота ($C_{18:2}$) в 10-40 раз чувствительнее к окислению, чем олеиновая ($C_{18:1}$). Когда в полиненасыщенных жирных кислотах образуются дополнительные двойные связи, то добавляются и дополнительные ограниченные метиленовыми фрагментами атомы углерода, из-за чего формируются новые возможные положения для отщепления атома водорода. Например, у линолевой кислоты ($C_{18:2}$) один ограниченный метиленовыми фрагментами атом углерода, у линоленовой ($C_{18:3}$) – два, а у арахидоновой кислоты ($C_{20:4}$) – три (рис. 3.20). В большинстве случаев скорость окисления с добавлением одного ограниченного метиленовыми группами атома углерода удваивается. Так, линоленовая кислота окисляется вдвое быстрее, чем линолевая, а арахидоновая – вдвое быстрее, чем линоленовая и в четыре раза быстрее, чем линолевая.

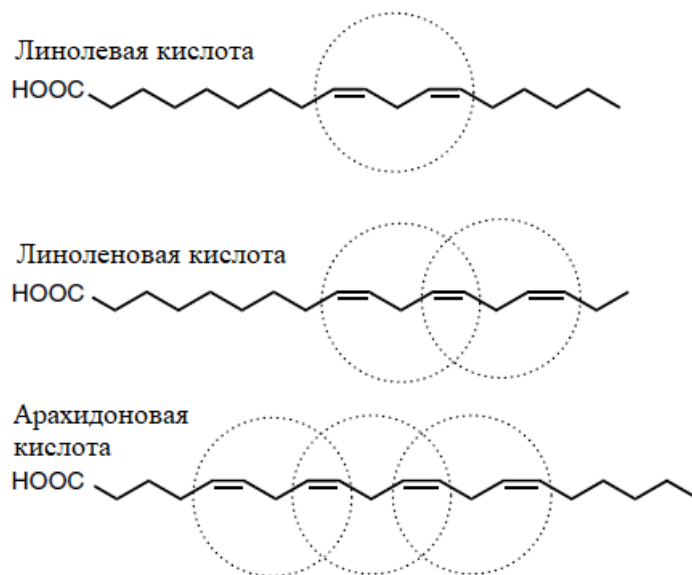


Рис. 3.20. Пентадиены линолевой, линоленовой и арахидоновой кислот

3.11.2 Стадия развития окисления

Первая фаза этой стадии – это добавление к алкильному радикалу атома кислорода. Атмосферный или триплетный кислород является бирадикальным, поскольку в нем присутствуют два электрона с одинаковым направлением спина, не способные сосуществовать на одной спиновой орбитали. Свободные радикалы триплетного кислорода обладают низкой энергией и не могут непосредственно вызвать отщепление атома водорода. Вместе с тем свободные радикалы кислорода могут реагировать с алкильными радикалами со скоростью, ограниченной диффузионными факторами. Комбинация алкильного радикала с одним из радикалов триплетного кислорода приводит к образованию ковалентной связи. Другой радикал кислорода остается свободным. Образующийся радикал известен как пероксидный радикал ($\text{LOO}\cdot$). Высокая энергия пероксидных радикалов позволяет им быть промоторами отщепления атома от другой молекулы. Поскольку ковалентные связи «углерод-водород» в ненасыщенных жирных кислотах слабы, то они весьма чувствительны к образованию гидропероксида жирной кислоты и формированию нового алкильного радикала у другой жирной кислоты. Тем самым реакция окисления распространяется от одной молекулы жирной кислоты к другой (схематически этот путь на примере двух молекул линолевой кислоты показан на рис. 3.21). Локализация липидного гидропероксида коррелирует с локализацией алкильных радикалов (см. рис. 3.18 и 3.19). Так, из олеатов получаются четыре гидропероксида, а из линолеатов – два.

3.11.3 Стадия окончания окисления

На этой стадии из комбинации двух радикалов образуются нерадикальные частицы. В присутствии кислорода преобладающим свободным радикалом является пероксидный, поскольку кислород присоединяется к алкильным радикалам со скоростью, ограниченной, как мы уже отмечали, диффузионными лимитирующими факторами. Таким образом, при атмосферных условиях реакции окисления на заключительной стадии протекают между пероксидным и алкоксильными радикалами. При низком содержании кислорода в среде (например, в жарочных жирах) реакции окончания окисления могут происходить только между алкильными радикалами с образованием димеров жирных кислот (рис. 3.22). Полимеры жирных кислот используются в качестве индикаторов качества жарочных жиров.

3.12 Проксиданты

Окисление липидов зачастую происходит как автоокисление, где префикс «авто-» означает «самопроизвольное», то есть понятие «автоокисление» используется для описания самопроизвольного образования свободных радикалов в присутствии кислорода из ненасыщенных жирных кислот в ходе окисления

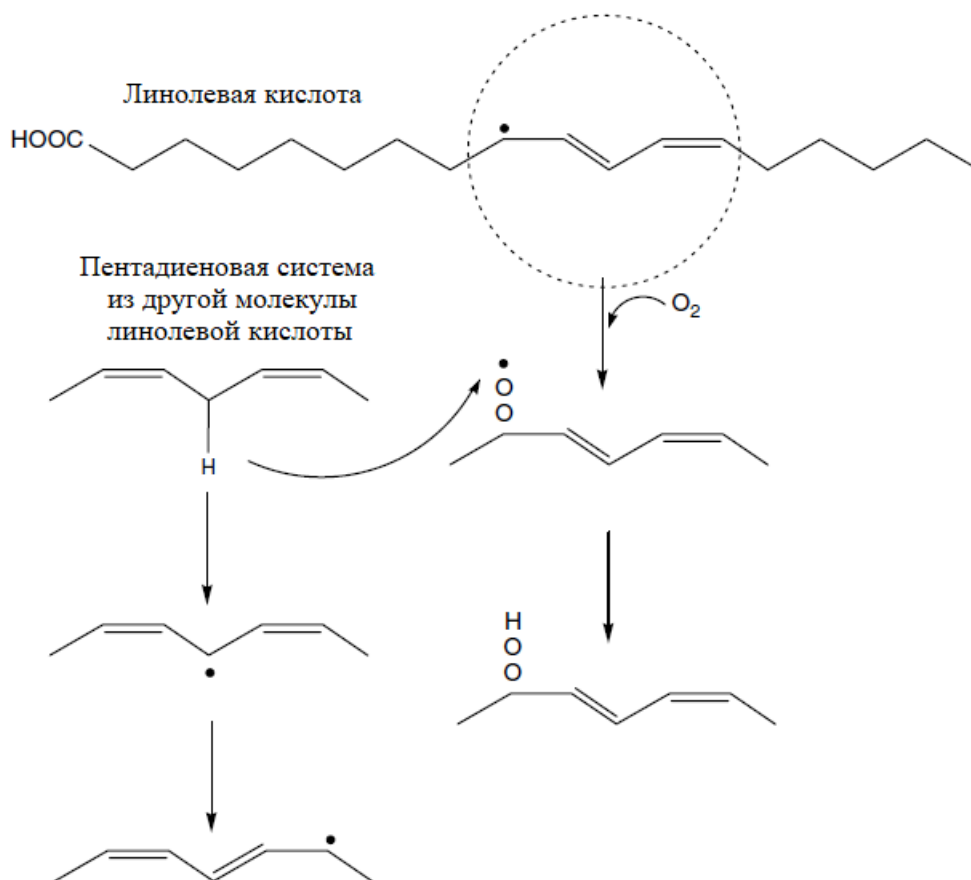


Рис. 3.21. Стадия развития окисления липидов на примере линолевой кислоты

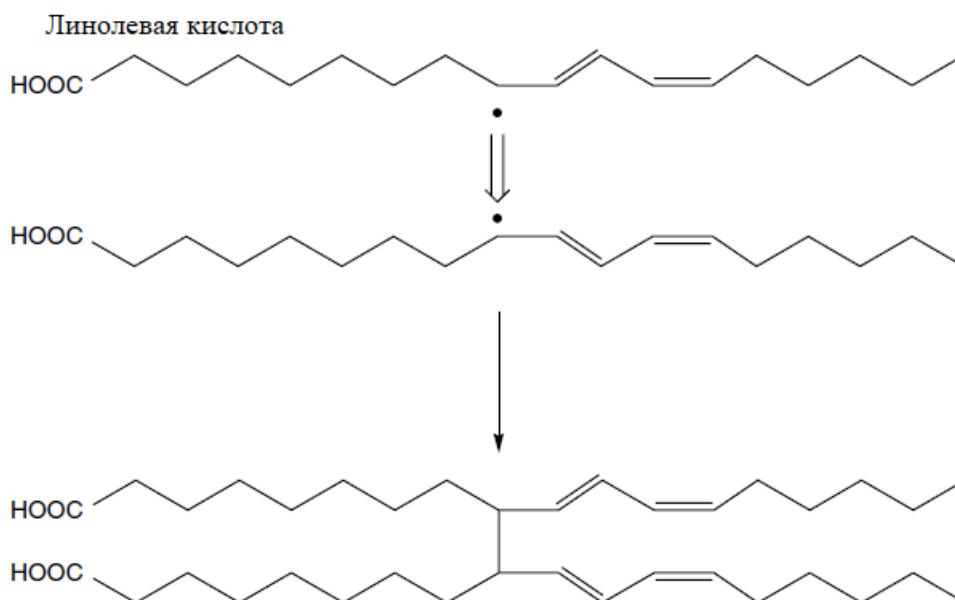


Рис. 3.22. Пример стадии окончания реакции окисления жиров в условиях низкого содержания кислорода

липидов. На стадии инициирования отрыв атома водорода от молекул ненасыщенных жирных кислот приводит к образованию одного свободного радикала. Присоединение кислорода к алкильному радикалу с образованием пероксидного радикала и последующее отщепление атома водорода от другой молекулы жирной кислоты или антиоксиданта с образованием липидного гидропероксида на стадии развития окисления не приводят к увеличению общего количества свободных радикалов. Так, если в процессе окисления липидов «автоокисление» было бы единственной реакцией, то образование продуктов окисления нарастало бы линейно (начиная с некоторого нулевого момента времени), однако в большинстве пищевых продуктов после лаг-фазы следует быстрое экспоненциальное увеличение содержания продуктов окисления. Это свидетельствует о том, что существуют другие реакции окисления липидов, при которых образуются дополнительные свободные радикалы [12].

Прооксиданты, встречающиеся практически в любых пищевых системах, представляют собой соединения или факторы, которые инициируют или ускоряют окисление жиров. Многие прооксиданты не являются истинными катализаторами, поскольку по ходу реакции они изменяются (например, синглетный кислород превращается в гидропероксид, а ион железа переходит в окисленное состояние). Прооксиданты могут ускорять окисление липидов либо благодаря прямым взаимодействиям с ненасыщенными жирными кислотами с образованием гидропероксидов (например, *LOX* или синглетный кислород), либо путем стимулирования образования свободных радикалов (например, разложение гидропероксида, активированное переходным металлом или УФ-излучением). Следует отметить, что липидные гидропероксиды не участвуют в образовании неприятных привкусов и запахов и, таким образом, они вызывают прогоркание не прямо, а опосредованно. Вместе с тем гидропероксиды являются важными субстратами для прогоркания, поскольку их распад зачастую приводит к расщеплению жирных кислот с образованием низкомолекулярных летучих соединений с неприятным привкусом и запахом.

3.12.1 Стимулирование образования гидропероксидов

Синглетный кислород. Как мы уже отмечали, триплетный кислород ($^3\text{O}_2$) является бирадикальным, поскольку два его электрона находятся на несвязывающей $2p$ -орбитали и имеют одинаковый (параллельный или антипараллельный) спин (рис. 3.23). Принцип запрета Паули гласит, что два электрона с одинаковым спином не могут существовать на одной и той же электронной орбитали. Если электроны на несвязывающей $2p$ -орбитали имеют противоположные спиновые направления, то кислород называют синглетным ($^1\text{O}_2$). Он может существовать в пяти различных конфигурациях, причем в пищевых продуктах наиболее широко распространено $^1\Delta$ -состояние, когда электроны существуют в одной и той же орбитали. Поскольку синглетный

кислород более электрофилен, чем триплетный, то он может непосредственно реагировать с двойной связью, обладающей высокой электронной плотностью. Когда электроны в синглетном кислороде соответствуют по спину электронам двойной связи, они могут реагировать с ненасыщенными жирными кислотами с непосредственным образованием липидных гидропероксидов, причем в 1500 раз быстрее, чем в случае триплетного кислорода. Синглетный кислород может реагировать с любым атомом углерода на конце двойной связи. В результате такого взаимодействия двойная связь смещается и образуется *транс*-двойная связь. Это означает, что при окислении линолеата синглетным кислородом может образовываться четыре различных гидропероксида (рис. 3.23), а не два, как на стадии иницирования окисления (см. рис. 3.18). Эти различия в локализации гидропероксидной группы дают различные продукты разложения жирных кислот.

Чаще всего синглетный кислород образуется в результате фотосенсибилизации. Светочувствительными компонентами пищевых продуктов являются хлорофилл, рибофлавин и миоглобин, которые могут поглощать энергию света с образованием возбужденного синглетного состояния, которое затем превращается в возбужденное триплетное. В возбужденном триплетном состоянии они могут вступать в реакцию непосредственно с такими субстратами, как ненасыщенные жирные кислоты, и отрывать от них атом водорода, вызывая иницирование окисления липидов. Этот путь называют «тип I», и в этом случае продуцируются такие же липидные гидропероксиды, как и на этапе иницирования окисления (см. рис. 3.18). На пути «типа II» светочувствительный компонент в возбужденном триплетном состоянии может реагировать с триплетным кислородом с образованием синглетного кислорода и синглетного состояния фотосенсибилизатора. Реакции у типов I и II зависят от содержания кислорода, причем при высоком его содержании в окружающей среде доминирует «тип II». Синглетный кислород можно получать также химически, ферментативно и путем разложения гидропероксидов, однако его образование путем фотосенсибилизации считается основным путем появления синглетного кислорода в пищевых продуктах

3.12.2 Стимулирование образования свободных радикалов

Ионизирующее излучение. В целях уничтожения патогенных микроорганизмов и увеличения срока годности пищевые продукты иногда подвергают действию ионизирующего излучения, однако оно может перевести молекулы в возбужденные состояния с образованием свободных радикалов. В ходе ионизирующего облучения из воды образуются гидроксильные радикалы ($\bullet\text{OH}$), которые являются наиболее реакционноспособными из известных радикалов, причем настолько активными, что способны отделять от липидов водород, а также молекулы белков и ДНК. Не удивительно, что облучение пищевых продуктов,

особенно из мышечных тканей с высоким содержанием жиров и прооксидантов, может усилить их окислительное прогоркание.

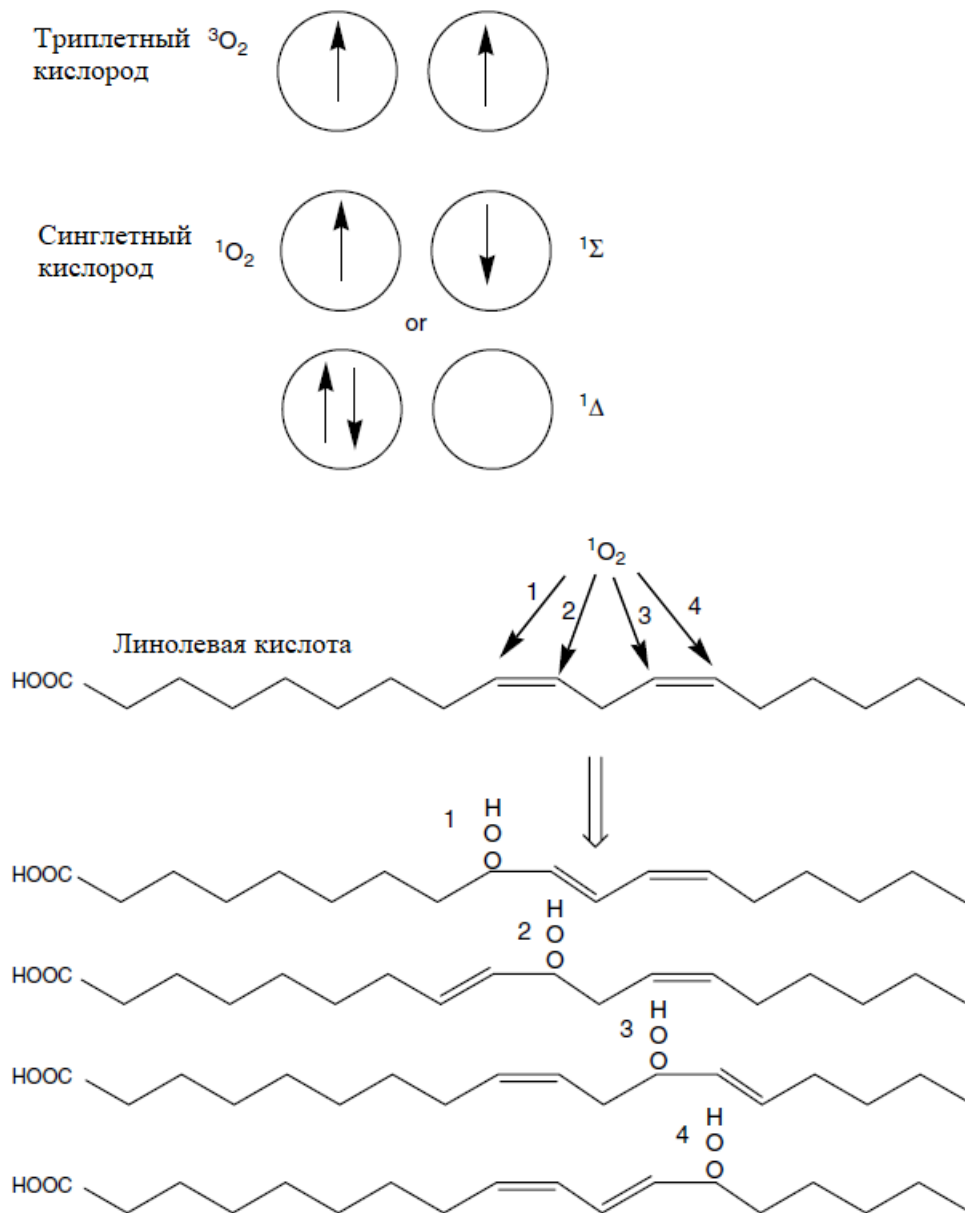
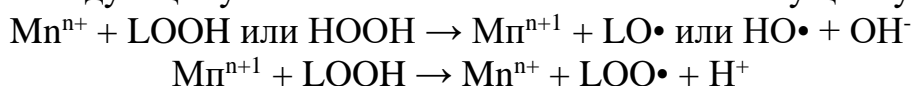


Рис. 3.23. Синглетный кислород и активированное им образование гидроксида линолевой кислоты

Стимулирование разложения гидропероксидов. Гидропероксиды липидов присутствуют практически во всех жиросодержащих пищевых продуктах. Пероксид водорода также присутствует в пищевых продуктах при использовании его в виде технологической добавки и при продуцировании его такими ферментами, как, например, супероксиддисмутаза. В триацилглицеринах пищевых продуктов обычно содержится от 1 до 100 нмоль липидных гидропероксидов на 1 г липида, что в 400-1000 раз больше, чем прогнозируемые концентрации липидных гидропероксидов *in vivo* (например, липидов плазмы). Это позволяет

предположить, что при экстракции и рафинировании жиров и масел происходит окисление. Липидные гидропероксиды под действием высоких температур термообработки или прооксидантов могут разлагаться с образованием дополнительных радикалов, что может приводить к экспоненциальному усилению окислительных процессов, заметных во многих пищевых продуктах после окончания лаг-фазы и стадии инициирования окисления. Разложение липидных гидропероксидов также приводит к образованию алкоксильных радикалов, способных вступать в реакции β -расщепления (реакции β -расщепления – это основной путь разложения жирных кислот на такие низкомолекулярные соединения, которые достаточно летучи для ощущения окислительной прогорклости).

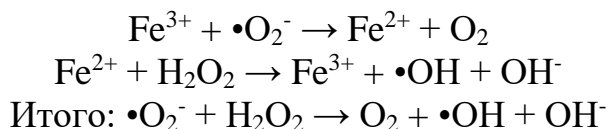
Переходные металлы. Переходные металлы присутствуют во всех пищевых продуктах, поскольку они распространены в биологических и упаковочных материалах, воде и ингредиентах. Эти металлы являются основными прооксидантами и снижают стойкость продуктов и биологических тканей к окислению из-за своей способности разлагать гидропероксиды на свободные радикалы. Эти реакционноспособные металлы разделяют водород и липидные пероксиды по следующему окислительно-восстановительному циклу:



где Mn^{n+} и Mn^{n+1} – это переходные металлы в восстановленном и окисленном состояниях, LOOH и HOOH – соответственно, пероксиды липидов и водорода, а $\text{LO}\cdot$, $\text{HO}\cdot$ и $\text{LOO}\cdot$ – алкоксильный, гидроксильный и пероксильный радикалы. Гидроксильный радикал образуется из пероксида водорода, а алкоксильные образуются из липидных гидропероксидов. Когда в этом цикле участвуют железо и гидропероксид, то его называют реакцией Фентона. На скорость разложения гидропероксида влияют концентрация, химическое состояние и тип металла. Наиболее распространенными переходными металлами в пищевых продуктах, участвующими в этих реакциях, являются медь и железо, причем железо обычно присутствует в больших концентрациях, чем медь. Медь наиболее реакционноспособна в одновалентном состоянии (Cu^+), разлагая пероксид водорода в 50 раз быстрее, чем ионы двухвалентного железа (Fe^{2+}).

Поскольку переходные металлы в восстановленном состоянии сильнее влияют на разложение гидропероксидов, восстановители, способные стимулировать окислительно-восстановительный цикл переходных металлов, могут активировать окисление липидов. К примерам таких восстановителей можно отнести супероксид-анион ($\cdot\text{O}_2^-$) и аскорбиновую кислоту. Супероксид-анион образуется путем добавления электрона к триплетному кислороду. Электрон в супероксид-анионе затем передается переходному металлу, вызывая его восстановление. Супероксид-анион продуцируется ферментами, а также при выделении кислорода из оксимиоглобина с образованием метмиоглобина, или он

продуцируется такими клетками, как фагоциты. Окислительно-восстановительный цикл железа с участием аниона супероксида, необходимого для активирования окисления липидов, известный как реакция Габера-Вайсса, приведен ниже.



Действие света и повышенных температур. Свет в УФ- и видимом диапазоне может стимулировать разложение гидропероксидов с образованием свободных радикалов. Так, светонепроницаемая упаковка может замедлить скорость окисления липидов. Гидропероксиды липидов могут также разлагаться под действием повышенных температур. Фактически в прогорклом жарочном масле накопление гидропероксидов липидов зачастую не заметно, так как после своего образования гидропероксиды быстро разрушаются.

3.13 Образование продуктов окислительного разложения липидов

При разложении гидропероксидов липидов на алкоксильные радикалы может иметь место последовательность химических реакций. Образующиеся продукты этих реакций зависят от типа жирной кислоты, а также от положения в ней гидропероксидной группы. Кроме того, продукты разложения могут быть ненасыщенными и иметь неповрежденные пентадиеновые структуры, то есть быть подверженными окислению. Это приводит к появлению сотен различных продуктов разложения жирных кислот. Поскольку тип продуктов разложения жирной кислоты зависит от жирнокислотного состава пищевого продукта, окисление липидов по-разному влияет на его органолептические свойства. Например, окисление растительных масел, имеющих в составе преимущественно ω -6 жирные кислоты, будет давать «травянистый» или «бобовый» побочные запахи, а окисление высокомолекулярных ω -3 жирных кислот рыбьего жира – «рыбные» запахи.

Одна из причин, по которой разложение гидропероксидов липидов заканчивается разрывом алифатической цепи жирных кислот, заключается в том, что при этом образуются алкоксильные радикалы ($\text{LO}\cdot$). Алкоксильный радикал обладает более высокой энергией, чем алкильный ($\text{L}\cdot$) и пероксильный ($\text{LOO}\cdot$) радикалы. Поэтому при образовании алкоксильного радикала у него достаточно энергии для отрыва электрона от соседних ковалентных связей с разрывом алифатической цепи жирной кислоты. Последняя реакция, известная как реакция β -расщепления, очень важна для понимания качества пищевых продуктов, поскольку именно она является причиной разложения жирных кислот с образованием низкомолекулярных соединений, дающих ощущение прогорклости.

Реакции β -расщепления. Высокоэнергетический алкоксильный радикал обладает способностью отделять атом водорода из связи «углерод-углерод» с любой стороны радикала кислорода.

Для подробной демонстрации этой реакции можно использовать неэтерифицированную линолевую кислоту. При этом не следует забывать, что продукт разложения на карбоксильной стороне этой жирной кислоты обычно бывает этерифицирован до глицерина какого-то ТАГ или фосфолипида. Тем самым продукт разложения оказывается нелетучим и не участвует в образовании прогорклости до тех пор, пока не подвергнется дальнейшему расщеплению с образованием низкомолекулярных соединений. Процесс окисления линоленовой кислоты с образованием гидропероксидов в 9-й позиции атомов углерода показан на рис. 3.24. На первом этапе этот гидропероксид превращается в алкоксильный радикал. На этапе происходит реакция β -расщепления благодаря тому, что высокоэнергетически алкоксильный радикал может удалять электрон с прилегающих связей «углерод-углерод», расщепляя тем самым цепочку жирной кислоты. При β -расщеплении цепочка жирной кислоты разрывается с каждой стороны алкоксильного радикала. Если расщепление происходит с карбоксильной стороны цепочки жирной кислоты, то продуктами такого расщепления станут октаноат и 2,2 декадиеналь (рис. 3.24). При расщеплении же с другой, метильной стороны алкоксильного радикала (рис. 3.25) образуются 9-оксононат и винильный радикал на 9-м атоме углерода (олефиновый).

3.14 Антиоксиданты

Окислительный стресс испытывают все организмы в кислородсодержащей среде [34]. Соответственно, чтобы противостоять окислению, в биологических системах сформировались защитные антиоксидантные средства. Единого определения антиоксиданта не существует, поскольку имеются самые разные химические механизмы ингибирования окислительных процессов. Биологические ткани, из которых получают пищевые продукты, обычно имеют несколько эндогенных антиоксидантных систем. К сожалению, в процессе приготовления пищи эти антиоксиданты могут быть удалены или эти процессы могут стать причиной окислительного стресса, преодолевающего сопротивление эндогенных для данного продукта антиоксидантных систем. С учетом этого в подвергаемые переработке пищевые продукты обычно вносят дополнительные антиоксиданты. К мерам повышения окислительной стабильности, используемым для увеличения стойкости пищевых продуктов к окислению, относятся контроль образования свободных радикалов, прооксидантов и промежуточных продуктов окисления.

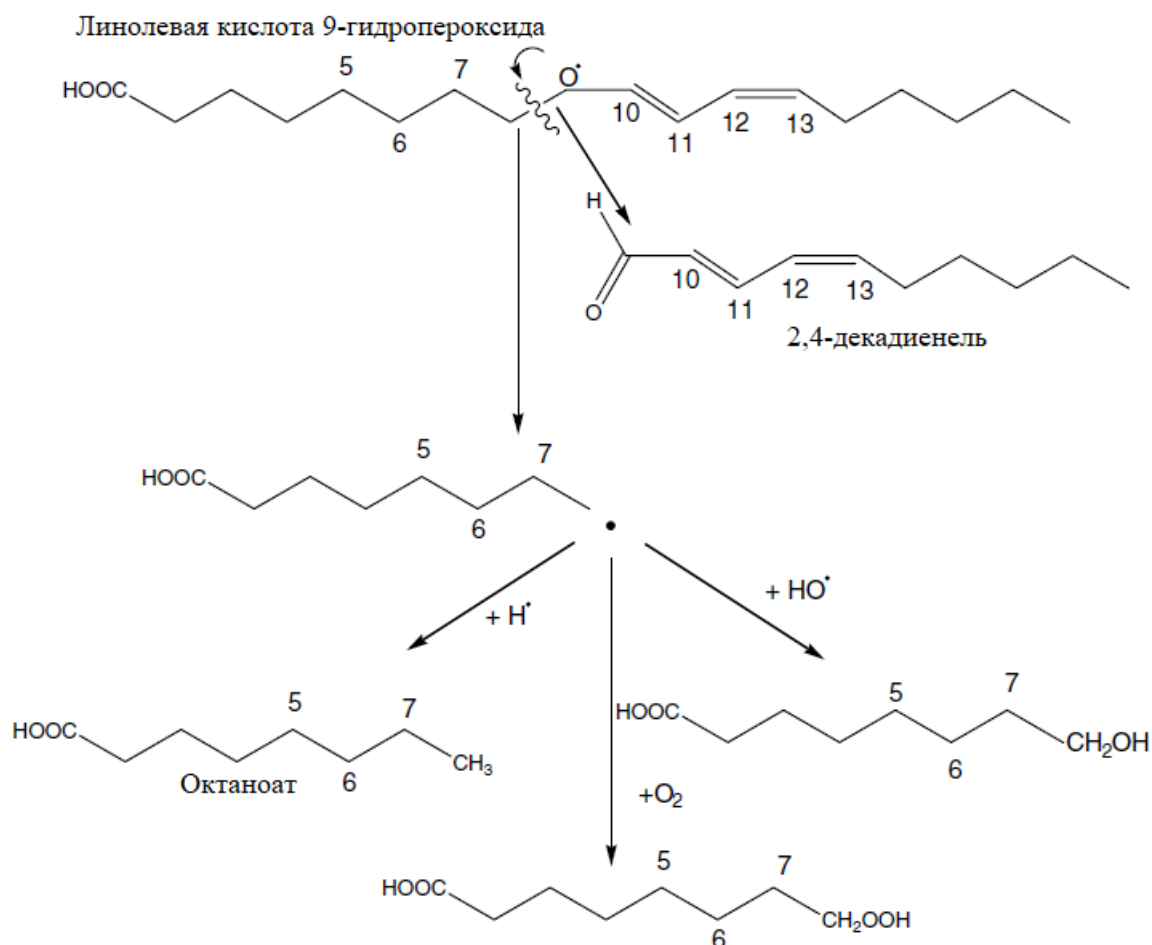
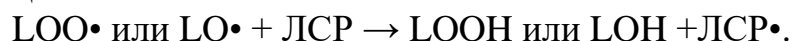


Рис. 3.24. Образование продуктов разложения в результате β-гидропероксида линолевой кислоты, если расщепление жирной кислоты осуществляется со стороны карбоксильного остатка гидропероксида

3.14.1 Контроль образования свободных радикалов

Многие антиоксиданты замедляют окисление липидов путем захвата свободных радикалов, ингибируя таким образом инициирование и развитие окислительных процессов, а также реакции β-расщепления. Ловушки свободных радикалов (ЛСР, *FRS*) и антиоксиданты, разрывающие цепочку окисления, могут взаимодействовать с пероксильным ($\text{LOO}\cdot$) и алкоксильным ($\text{LO}\cdot$) радикалами по следующим реакциям:



ЛРС ингибируют окисление липидов, поскольку они реагируют со свободными радикалами быстрее, чем ненасыщенные жирные кислоты. Полагают, что ЛСР взаимодействуют главным образом с пероксильными радикалами из-за их более низкого энергетического состояния. Это означает, что они живут дольше (поскольку менее реакционноспособны) и обладают таким образом большей вероятностью вступить в реакцию низкоэнергетическим атомом водорода ЛСР. Такое состояние прямо противоположно высокоэнергетическим свободным

радикалам (например, $\bullet\text{OH}$), которые настолько реакционноспособны, что взаимодействуют с молекулами, ближайшими к месту образования ЛСР. Поскольку ЛСР обычно присутствуют в низких концентрациях, они будут реагировать с высокоэнергетическими свободными радикалами с меньшей вероятностью.

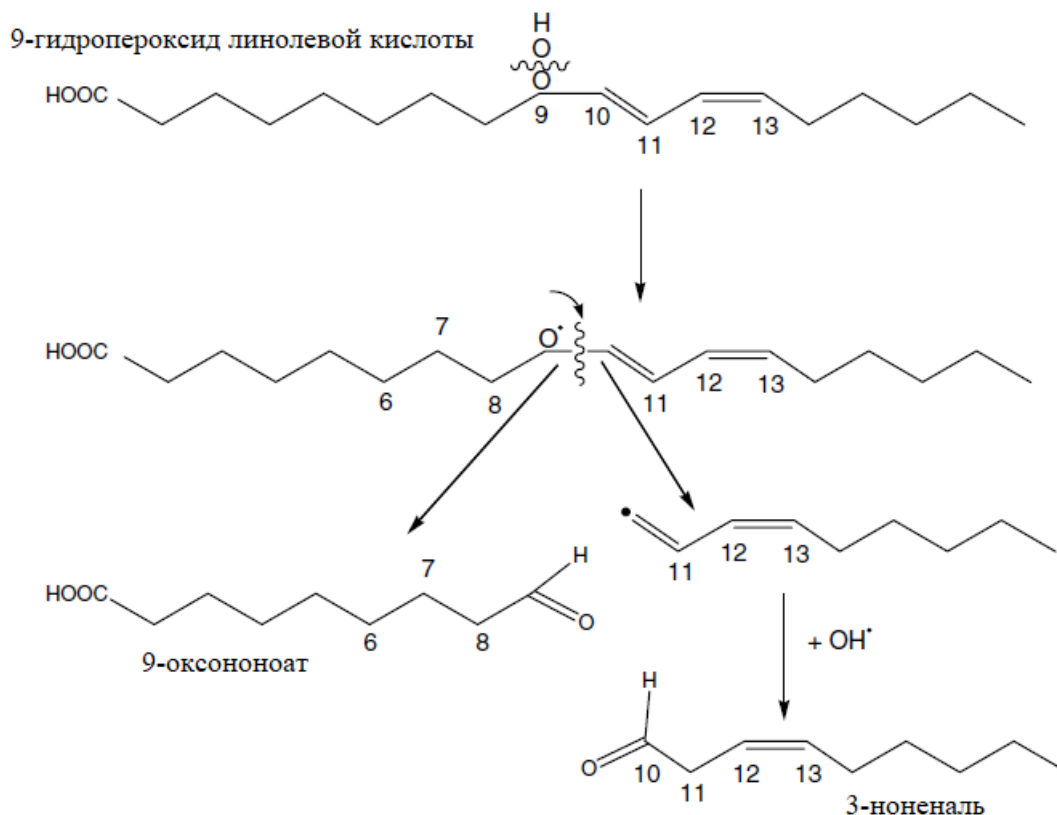


Рис. 3.25. Образование продуктов разложения в результате β -расщепления 9-гидропероксида линолевой кислоты, если расщепление жирной кислоты осуществляется со стороны метильного конца гидропероксида

Эффективность антиоксидантов зависит от способности ЛСР отдавать водород свободному радикалу. Поскольку энергия атома водорода у ЛСР ниже, передача водорода свободному радикалу более энергетически выгодна и протекает быстрее. Способность ЛСР отдавать свой водород свободному радикалу можно спрогнозировать по стандартным одноэлектронным потенциалам восстановления. Любое соединение с восстановительным потенциалом меньшим, чем восстановительный потенциал свободного радикала (или окисленного фрагмента), способно отдавать свой атом водорода этому свободному радикалу, даже если реакция кинетически не осуществима. Например, ЛСР, включающие α -токоферол ($E^{\circ'} = 500$ мВ), пирокатехин (катехол) ($E^{\circ'} = 530$ мВ) и аскорбат ($E^{\circ'} = 282$ мВ), обладают восстановительным потенциалом меньшим, чем у пероксильных радикалов ($E^{\circ'} = 1000$ мВ), и поэтому способны отдавать свой водород пероксильному радикалу с образованием гидропероксида.

Эффективность ЛСР зависит также от энергии образующегося в результате радикала (ЛСР•). Если ЛСР• является низкоэнергетическим радикалом, то снижается вероятность того, что он ускоряет окисление ненасыщенных жирных кислот. Эффективные ЛСР образуют низкоэнергетические радикалы благодаря резонансной делокализации (рис. 3.26) и продуцируют также радикалы, которые не реагируют быстро с кислородом с образованием гидропероксидов. Если ловушки радикалов образуют гидропероксид, он может подвергаться реакциям разложения, приводящим к образованию дополнительных радикалов, вызывающих окисление ненасыщенных жирных кислот. ЛСР• могут участвовать в реакциях обрыва с другим ЛСР• или липидным радикалом, образуя нерадикальные частицы, то есть каждая ЛСР способна инактивировать не менее двух свободных радикалов, причем первый инактивируется, когда ЛСР взаимодействует с пероксильным или алкоксильным радикалами, а второй – когда ЛСР• вступает в реакции обрыва с другим ЛСР• или липидным радикалом (рис. 3.27).

Многими свойствами эффективной ЛСР обладают фенольные соединения. Они отдают атом водорода своих гидроксильных групп, а образующийся в результате фенольный радикал может иметь низкую энергию, поскольку он делокализован по структуре фенольного кольца. Эффективность фенольных ЛСР зачастую увеличивают заместители на фенольном кольце, которые повышают способность ЛСР отдавать водород липидным радикалам и/или повышают стабильность ЛСР•. В пищевых продуктах эффективность фенольных ЛСР зависит также от их летучести, стойкости к значениям рН и полярности. Примеры ЛСР, наиболее распространенных в пищевых продуктах, приведены ниже.

3.14.2 Токоферолы

Токоферолы – это группа соединений, имеющих гидроксильную кольцевую систему (хроманольное кольцо) с фитольной цепью (рис. 3.28). Отличия в гомологах токоферола связаны с метильными группами хроманольного кольца – они бывают α -триметилированными (в позициях 5, 7 и 8); β -диметилированными (в позициях 5 и 8) и γ -диметилированными (в позициях 7 и 8); а также δ -монометилированными (в позиции 8). У токоферолов три асимметрических атома углерода и, таким образом у каждого гомолога может быть восемь возможных стереоизомеров. Природные токоферолы обнаружены во всех *RRR* конфигурациях. Синтетические токоферолы имеют стереоизомер с сочетанием *R*- и *S*-конфигураций. Очень важна стереоизомерная конфигурация α -токоферола, поскольку достаточной активностью витамина Е обладают только *RRR*- и *2R*-стереоизомеры (*RSR*, *RRS* и *SRR*). Токоферолы в форме метилового эфира блокируют гидроксильную группу и повышают стойкость молекул к окислительному разложению до переваривания. Следует отметить, что блокирование гидроксильной группы метиловым эфиром лишает токоферол

антиоксидантной активности, то есть метиловые эфиры токоферолов в пищевых продуктах не могут быть эффективными антиоксидантами [12].

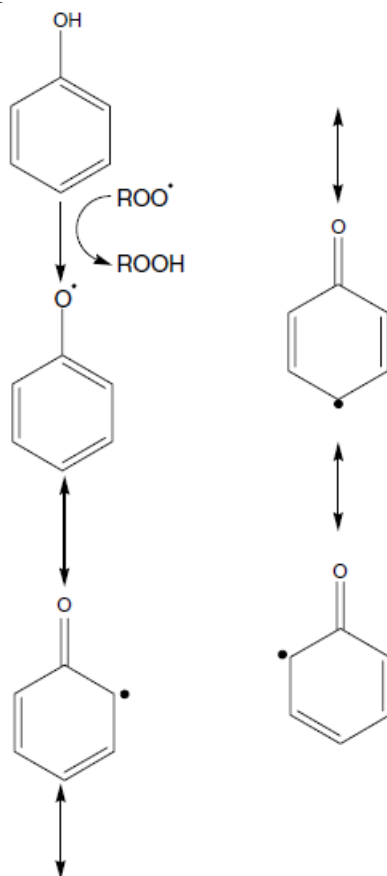


Рис. 3.26. Резонансная делокализация фенольного кольца

Реакция между токоферолами и липидными пероксидными радикалами приводит к образованию липидного гидропероксида и различных резонансных структур токофероксильных радикалов. Последние могут взаимодействовать с другими липидными радикалами и друг с другом с образованием различных конечных продуктов реакции. Типы и количества этих продуктов зависят от скорости окисления, радикальных частиц, физической локализации (например, внутриклеточные и мембранные липиды), а также от концентрации токоферола. Токоферолы обычно нерастворимы в воде, однако существенно различаются по полярности, причем α -токоферол (триметилированный) является самым неполярным, а δ -токоферол (монометилированный) – самым полярным. Эти различия в полярности меняют поверхностную активность токоферолов, что влияет на их антиоксидантную активность.

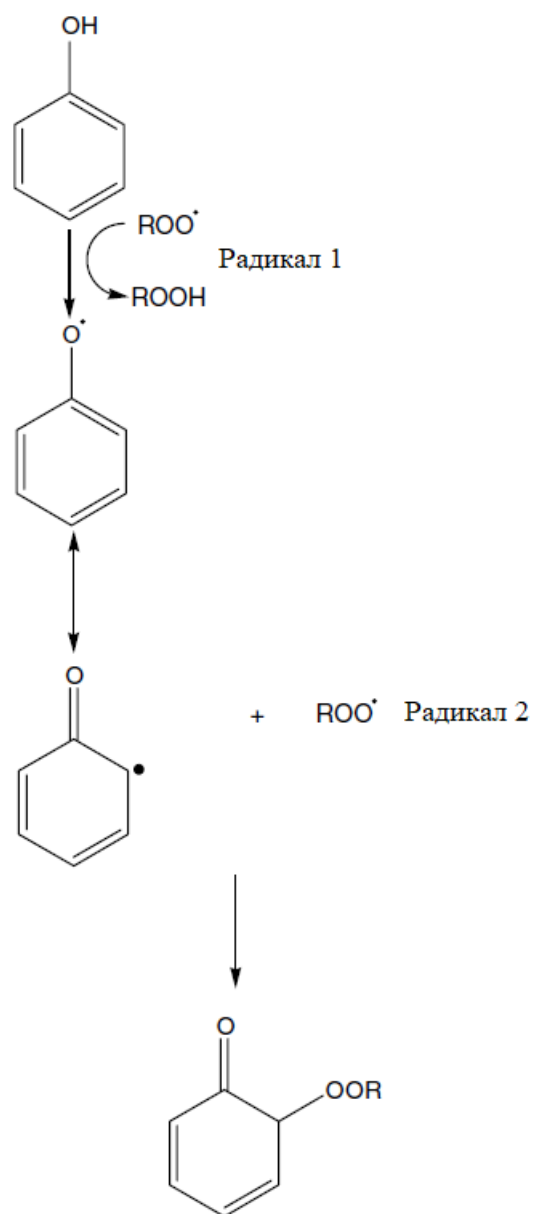


Рис. 3.27. Реакции обрыва между радикалом антиоксиданта и липидным пероксильным радикалом (ЛСР•)

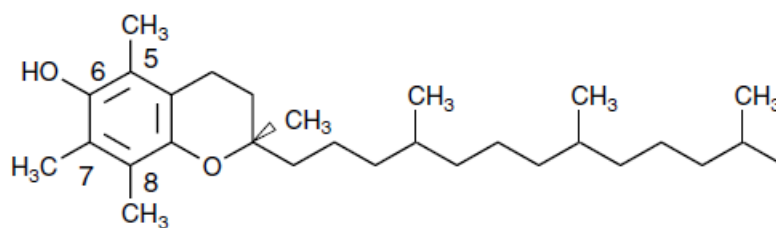


Рис. 3.28. Структурная формула α -токоферола

3.14.3 Синтетические фенольные соединения

Фенол сам по себе не является хорошим антиоксидантом, но путем добавления в фенольное кольцо заместителей его антиоксидантную активность можно увеличить. С учетом этого основную массу синтетических антиоксидантов составляют замещенные монофенольные соединения. Наиболее распространенные синтетические ЛСР, используемые в пищевых продуктах, – это бутилированный гидрокситолуол (ВНТ), бутилированный гидроксианизол (ВНА), третичный бутилгидрохинон (ТВНҚ) и пропилгаллат (рис. 3.29). Эти синтетические ЛСР располагаются по возрастанию полярности в следующем порядке: $VHT > VNA > TBHQ >$ пропилгаллат. Как и в случае других ЛСР, при взаимодействии между синтетическими антиоксидантами и липидными радикалами образуются низкоэнергетические резонансно-стабилизированные фенольные радикалы. Низкая энергия синтетических радикалов антиоксидантов означает, что они катализируют окисление ненасыщенных жирных кислот не слишком быстро. Кроме того, радикалы синтетических антиоксидантов действительно неохотно реагируют с кислородом с образованием нестабильных гидропероксидов антиоксидантов, разлагающихся до высокоэнергетических свободных радикалов, способных активировать окисление. Вместо этого они участвуют в реакциях обрыва «радикал-радикал» (см. рис. 3.27). Синтетические производные фенола весьма эффективны в многочисленных пищевых системах, однако использование в пищевой промышленности в последнее время снижается вследствие повышения внимания к безопасности продуктов для здоровья и увеличения спроса на натуральные продукты [13].

3.14.4 Фенольные соединения растительного происхождения

В растениях содержатся самые разные по составу фенольные соединения, в том числе простые фенольные соединения, фенольные кислоты, антоцианины, производные гидроксикоричной кислоты и флавоноиды. Эти фенольные соединения широко распространены во фруктах, пряностях, чае, кофе, семенах и крупах. Все эти классы фенольных соединений имеют структурные особенности ЛСР, хотя их активность существенно различается. К факторам, влияющим на активность растительных фенольных соединений относительно улавливания свободных радикалов, относятся положение гидроксильных групп и степень гидроксирования, полярность, растворимость, восстановительный потенциал, стабильность соединения при технологической переработке и стабильность конкретного фенольного радикала. Наиболее важным промышленным источником натуральных фенольных соединений, используемых как пищевые добавки для ингибирования окисления липидов с помощью ЛСР, являются экстракты розмарина. Основными соединениями со свойствами ЛСР в экстрактах розмарина являются кариозная кислота, карнозин и розмариновая кислота (рис. 3.30). Экстракты розмарина могут ингибировать окисление липидов в самых разных

пищевых продуктах, в том числе в мясе, жирах, маслах и жировых эмульсиях. Использование фенольных антиоксидантов из неочищенных растительных экстрактов типа розмарина зачастую ограничивается присутствием в них вкусоароматических соединений, в частности монотерпенов. Фенольные соединения в продуктах из растительного сырья и маслах важны для эндогенной стойкости к окислению этих продуктов. Содержание фенольных соединений в растениях существенно варьирует в зависимости от степени спелости, сорта, типа растительной ткани, условий произрастания, времени с момента сбора урожая и от условий хранения.

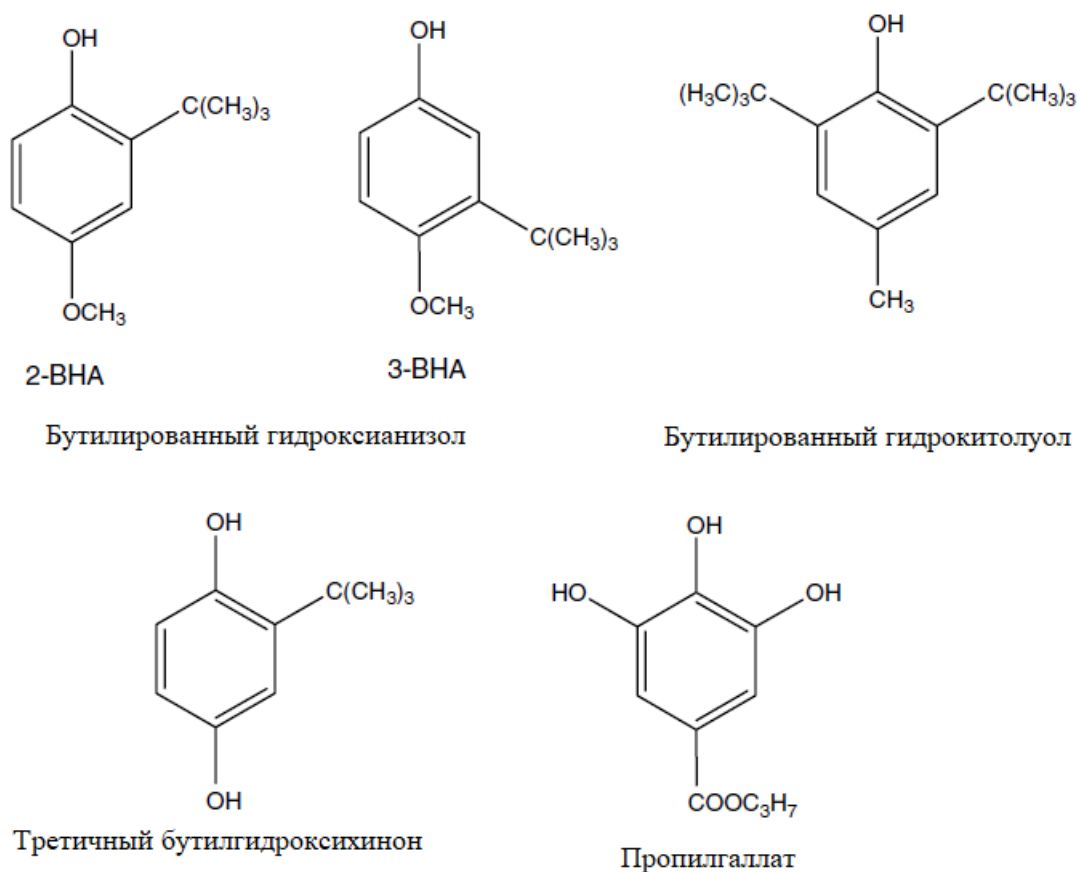


Рис. 3.29. Структурные формулы синтетических пищевых антиоксидантов

3.14.5 Аскорбиновая кислота и тиолы

Свободные радикалы зачастую образуются в водной фазе пищевого продукта в результате ряда процессов типа реакции Фентона, которая приводит к образованию из пероксида водорода гидроксильных радикалов. Свободные радикалы могут быть поверхностно активны, то есть они могут мигрировать и проникать через границу раздела водной и жировой фаз в жировых дисперсиях. Для защиты от свободных радикалов, образовавшихся в водной фазе, в биологических системах имеются водорастворимые соединения, способные улавливать свободные радикалы – так, аскорбиновая кислота и тиолы улавливают

свободные радикалы с образованием низкоэнергетических радикалов. Такие тиолы, как цистеин и глутатион, могут участвовать в повышении стабильности пищевых продуктов к окислению, но их редко вносят в продукты в качестве антиоксидантов (единственным исключением являются тиолы белков, способные ингибировать окисление липидов в пищевых продуктах). Аскорбат (и его изомер эриторбовая кислота) также способен улавливать свободные радикалы. Они имеют почти одинаковую активность, но эриторбовая кислота более рентабельна. Аскорбиновая кислота поставляется также в виде конъюгата с пальмитиновой кислотой. Этот конъюгат жирорастворим и поверхностно активен, что делает его эффективным антиоксидантом в жидких маслах и эмульсиях.

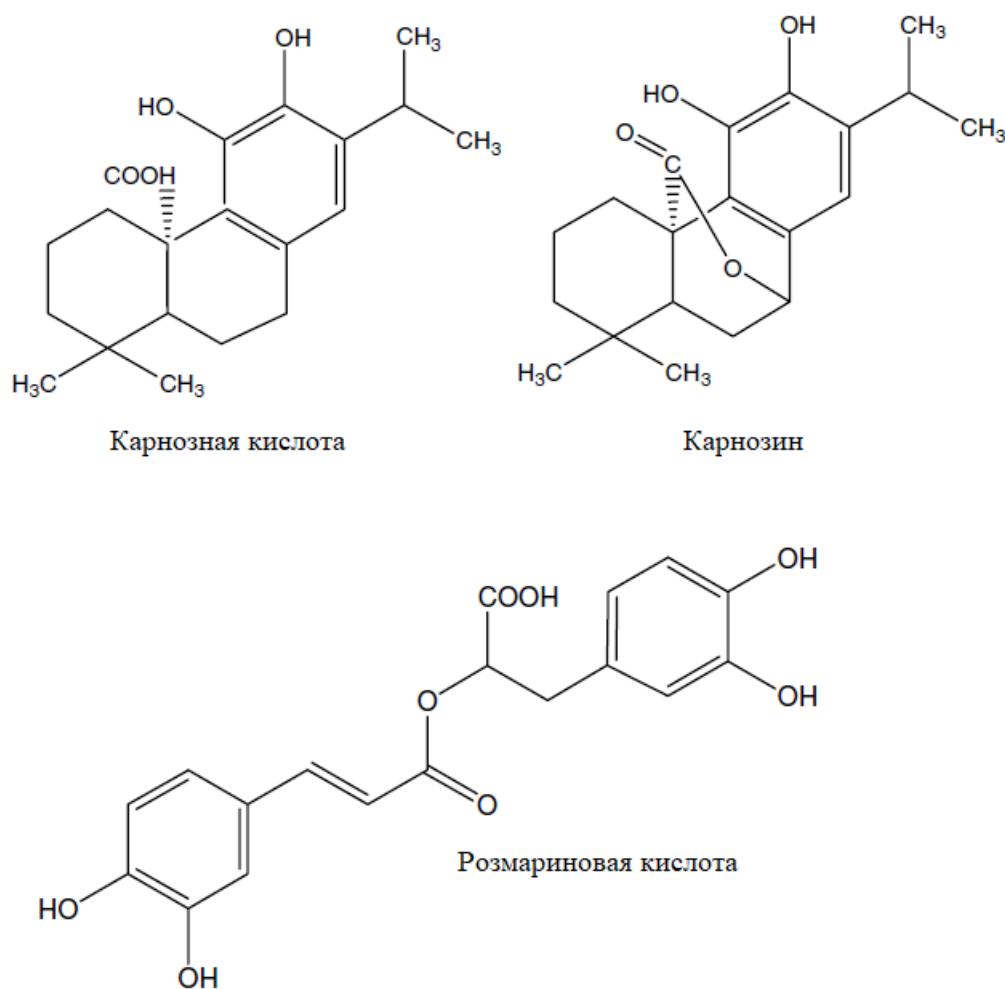


Рис. 3.30. Структурные формулы фенольных антиоксидантов из экстрактов розмарина

3.15 Прочие факторы, влияющие на скорость окисления липидов

Концентрация кислорода. Чаще всего для ингибирования окисления липидов применяют снижение содержания кислорода, однако добавление кислорода к алкильному радикалу является диффузионно ограниченной (быстрой) реакцией, и поэтому для эффективного ингибирования окисления липидов большая часть

кислорода должна быть из системы удалена. Поскольку растворимость кислорода в жирах больше, чем в воде, то удаление кислорода для ингибирования окисления липидов может быть затруднено (за исключением случаев вакуумирования или полной замены кислорода инертным газом, в частности азотом) [14].

Температура. При повышении температуры скорость окисления липидов обычно возрастает, но одновременно снижается растворимость кислорода, так что в ряде случаев высокие температуры могут замедлять процессы окисления, что и происходит в нагретых жидких жирах и маслах. При жарке пищевых продуктов в горячем масле происходит его аэрация с ускорением процессов окисления. Повышение температур может также стать причиной расщепления и улетучивания антиоксидантов, а в случае антиоксидантных ферментов приводить к их инактивации из-за денатурации.

Площадь поверхности. Увеличение площади поверхности жировой фазы повышает скорость окисления липидов, так как увеличивается площадь их контакта с кислородом и прооксидантами.

Активность воды. При удалении из пищевой системы воды скорость окисления липидов обычно снижается. Это происходит прежде всего из-за снижения мобильности реагентов – переходных металлов и кислорода. В некоторых пищевых продуктах удаление влаги приводит к ускорению окисления липидов, которое при низкой активности воды ($a_w \leq 0,3$) обусловлено уменьшением защитного слоя сольватированной воды вокруг гидропероксидов липидов.

3.16 Пищевые жиры и их влияние на здоровье человека

3.16.1 Биологическая активность жирных кислот

Если речь заходит о здоровье, то жиры в пищевых продуктах зачастую пользуются плохой репутацией. Поскольку избыточная масса тела связана с различными заболеваниями, в том числе сердечно-сосудистыми и диабетом, негативное влияние жиров на здоровье зачастую увязывается с их высокой калорийностью, составляющей 9 ккал/г. Отдельные жиры также ассоциируются с увеличением риска сердечно-сосудистых заболеваний из-за их способности изменять уровень ЛПНП-холестерина (холестерин липопротеинов низкой плотности) в крови. К этой группе липидов относятся насыщенные жирные кислоты, которые повышают содержание ЛПНП-холестерина, и ненасыщенные жирные кислоты, снижающие его. Поскольку содержание ЛПНП-холестерина зачастую соотносят с развитием сердечно-сосудистых заболеваний, некоторые диеты, направленные на снижение уровня ЛПНП-холестерина, подразумевают снижение содержания насыщенных жирных кислот в рационе до уровня менее 10 % калорий, снижение потребления холестерина с пищей до менее 300 мг/сут и потребление растворимых пищевых волокон в количестве 10-25 г/сут.

13.16.2 Транс-изомеры жирных кислот

Транс-изомеры жирных кислот привлекли к себе внимание относительно недавно из-за своей уникальной роли в возникновении сердечно-сосудистых заболеваний благодаря способности повышать уровень ЛПНП-холестерина и снижать уровень ЛПВП-холестерина. Такое поведение частично обусловлено геометрической конфигурацией *транс*-изомеров жирных кислот, которые больше похожи на насыщенные жирные кислоты, чем на ненасыщенные [15].

3.16.3 Омега-3 жирные кислоты

По мере совершенствования агротехнических приемов профиль пищевых липидов в промышленно-развитых странах Запада кардинальным образом изменился. Наши предки потребляли примерно одинаковые количества ω -6 и ω -3 жирных кислот. С развитием сельского хозяйства доступность рафинированных жиров, особенно растительных масел, увеличилась, и потребление нами ω -6 и ω -3 жирных кислот стало ближе к соотношению 7 : 1. Такое очень быстрое изменение потребления с точки зрения эволюции связано с определенными проблемами, поскольку взаимопревращение ω -6 и ω -3 жирных кислот в организме человека происходит очень медленно. Поскольку эти биоактивные липиды играют существенную роль в проницаемости мембран, передаче сигналов на клеточном уровне, экспрессии генов и метаболизме эйкозаноидов, содержание ω -3 жирных кислот в пище имеет большое значение. Потребление ω -3 жирных кислот с пищей – основа поддержания хорошего здоровья, особенно у беременных и кормящих женщин, людей, страдающих ишемической болезнью сердца, диабетом, нарушениями иммунитета и психики. Существуют убедительные свидетельства того, что потребление ω -3 жирных кислот с пищей основной массой населения в настоящее время недостаточно. Пищевые предприятия пытаются повысить содержание этих биоактивных липидов в выпускаемых продуктах путем прямого их обогащения ω -3 жирными кислотами или использования ω -3 жирных кислот в кормах для скота. Реализации этих подходов препятствует быстрое окисление ω -3 жирных кислот в ходе переработки и хранения обогащенных ими пищевых продуктов.

3.16.4 Конъюгированная линолевая кислота

Две двойные связи линолевой кислоты обычно разъединены метиленовыми группами, то есть двойные связи разделены одинарными. Эта система двойных связей иногда изменяется при изомеризации в конъюгированную конфигурацию. Изомеризация может протекать при гидрогенизации и обычно происходит при биогидрогенизации, активируемой бактериями в пищеварительном тракте жвачных животных. Эти изомеры, известные как КЛК, привлекли к себе интерес из-за своей способности подавлять онкологические заболевания, снижать уровень холестерина в крови, ингибировать возникновение диабета и влиять на увеличение

массы тела. Разные изомеры характеризуются разными биологическими эффектами, причем *9-цис*, *11-транс* линолевая кислота обладает антиканцерогенной активностью, а *10-транс*, *12-цис* линолевая кислота влияет на накопление жира в организме. Преобладающим изомером в молочных и мясных продуктах является *9-цис*, *11-транс* изомер КЛК. Молекулярные механизмы биологической активности КЛК обусловлены ее способностью регулировать образование эйкозаноидов и экспрессию генов. Следует отметить, что в подтверждение подразумеваемых положительных эффектов КЛК на здоровье человека было проведено довольно мало клинических исследований.

3.16.5 Фитостерины

К основным фитостеринам пищевых продуктов относятся ситостерин, кампестерин и стигмастерин. Пищевые фитостерины практически не всасываются в желудочно-кишечном тракте человека. Их биологическая активность основана на том, что они могут ингибировать всасывание и пищевого и желчного (продуцируемого клетками тонкого кишечника) холестерина. Потребление 1,5-2 г фитостеринов в день может снизить содержание ЛПНП-холестерина на 8-15%. Поскольку фитостерины ингибируют преимущественно всасывание холестерина, они наиболее эффективны при потреблении с пищей, содержащей холестерин. Фитостерины имеют очень высокую температуру плавления и поэтому при температурах, типичных для многих пищевых продуктов, существуют в виде кристаллов жира. Для минимизации кристаллизации фитостерины, как правило, этерифицируют с ненасыщенными жирными кислотами, повышая тем самым тем самым их жирорастворимость.

3.16.6 Каротиноиды

Каротиноиды – это обширная группа (более 600 различных соединений) жирорастворимых полиенов с окраской от желтой до красной. Основной нутриент, образующийся из каротиноидов, в частности из β -каротина, – это витамин А. Биологическая активность других каротиноидов широко исследовалась, причем изначально интерес был сосредоточен на их антиоксидантной активности. Тем не менее, в ходе клинических испытаний было показано, что β -каротин увеличивает скорость развития рака легких (в испытаниях на курильщиках), но наблюдается ли это действие у некурящих, до сих пор неизвестно. Другие же каротиноиды положительно влияют на здоровье человека, в частности лютеин и зеаксантин повышают остроту зрения и общее состояние здоровья. Эпидемиологические исследования свидетельствуют, что потребление помидоров коррелирует с уменьшением риска рака простаты и связано с каротиноидом ликопином. Интересно, что помидоры после тепловой обработки обладают более выраженным положительным воздействием на здоровье (считается, что благодаря термически индуцированному переходу *транс*-изомеров ликопина в *цис*-ликопин).

Повышенная биологическая активность *цис*-ликопена обусловлена его большей биодоступностью.

3.16.7 Низкокалорийные жиры

Одним из дополнительных оздоровительных аспектов пищевых триацилглицеринов является их высокая калорийность. Было сделано много попыток получить с помощью заменителей жира малокалорийные пищевые продукты с теми же свойствами. Заменители жира (так называемые имитаторы жира) представляют собой нелипидные соединения (белковые или углеводородные), которые могут обеспечивать жироподобные свойства при более низкой калорийности (например, 4 ккал/г у белков против 9 ккал/г у жира). На основе подобного подхода предпринимались попытки получения жировых компонентов без калорий или с более низкой калорийностью. Первыми промышленно полученными некалорийными жирами стали жирокислотные сложные эфиры сахарозы Olestra фирмы *Proctor and Gamble's*. Это соединение некалорийно, поскольку присутствие более 6 фрагментов жирных кислот, присоединенных сложноэфирными связями к сахарозе, стерически мешают липазам осуществлять гидролиз сложноэфирных связей с выделением свободных жирных кислот, которые могут всасываться в кровоток. Неусвояемость этих жирнокислотных сложных эфиров сахарозы означает, что они проходят через ЖКТ и выделяются с фекалиями, что иногда может вызывать диарею. В пищевой промышленности также использовались липиды с пониженной калорийностью. Эти продукты основаны на том принципе, что при гидролизе, осуществляемом панкреатическими липазами, выделяются в виде свободных жирных кислот только те жирные кислоты, которые находятся в sn-1 и sn-3 позициях триацилглицерина. Если в sn-1 и sn-3 позициях присоединены высокомолекулярные насыщенные жирные кислоты (с более чем 16 атомами углерода), их выделение может привести к взаимодействию с двухвалентными катионами и образованию нерастворимых солей с пониженной биодоступностью. В специально разработанных низкокалорийных жирах также используются низкомолекулярные жирные кислоты (с менее чем 6-ю атомами углерода) в sn-2 позиции. После гидролиза панкреатическими липазами sn-2-моноацилглицерин поглощается клетками эндотелия тонкой кишки. Низкомолекулярные жирные кислоты в sn-2 позиции в конечном счете метаболизируются в печени, где при этом высвобождается меньше калорий, чем у высокомолекулярных жирных кислот.

Контрольные вопросы

1. Какие соединения относятся к классу липидов?
2. Нарисуйте структурные формулы таких соединений как $C_{10:0}$, $C_{18:1}\Delta 9$ и $C_{20:4}\Delta 5$.

3. По какому принципу ненасыщенные жирные кислоты классифицируют в ω -системе?
4. Как будет влиять цис- и транс-конфигурации ненасыщенных жирных кислот на их физические свойства?
5. Какие вещества называют ацилглицеридами?
6. Опишите процесс рафинирования жиров.
7. Какие типы упаковки кристаллической решетки триацилглицеридов существуют?
8. Назовите масло, которое обладает наибольшей вязкостью.
9. Опишите зависимости термических свойств ацилглицеридов от их строения.
10. Почему эмульсии мутные, тогда как ее составные фазы являются прозрачными?
11. Опишите кривые плавления чистого триацилглицерида и обычного пищевого жира.
12. Какие этапы включает в себя процесс кристаллизации триацилглицеридов?
13. Почему важен этап переохлаждения триацилглицеридов в процессе кристаллизации? Почему кристаллизация не протекает в точке плавления триацилглицерида?
14. Что такое критический размер зародыша кристалла? При каких условиях кристалл триацилглицерида начинает формироваться?
15. Опишите условия, которые будут влиять на размер образующихся кристаллов триацилглицеридов.
16. Опишите, от чего зависит полиморфная форма образующегося кристалла?
17. Дайте определение процессу частичной коалесценции.
18. Как триацилглицериды влияют на органолептические свойства пищевых продуктов?
19. Какие этапы в себя включает окислительное прогоркание?
20. Опишите зависимость степени ненасыщенности жирной кислоты и скорости ее окисления. Ответ обоснуйте.
21. Приведите примеры использования растительных антиоксидантов в пищевой промышленности.
22. Какие факторы влияют на скорость окисления липидов?
23. Что такое низкокалорийные жиры? Приведите примеры их использования.

Список использованной литературы

1. Belitz H.-D., Grosch W., Schieberle P. Food Chemistry. – Munchen: Springer Science & Business Media, 2008. – 1070 p.

2. Acevedo N.C., Peyronel F., Marangoni A.G. Nanoscale structure intercrystalline interactions in fat crystal networks // *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.* – 2011. – Vol. 16, P. 374–383.
3. Cheng Z., Li Y. What is responsible for the initiating chemistry of iron-mediated lipid peroxidation: an update // *Chem. Rev.* – 2007. – Vol. 107, P. 748–766.
4. Choe E., Min D.B. Chemistry of deep-fat frying oils // *J. Food Sci.* – 2007. – Vol. 72, P. R77–R86.
5. Destailats F., Angers P. On the mechanisms of cyclic and bicyclic fatty acid monomer formation in heated edible oils // *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* – 2005. – Vol. 107, P. 767–772.
6. Frankel E.N. Recent advances in lipid oxidation // *J. Sci. Food Agric.* – 1991. – Vol. 54, Vol. 495–511.
7. Gertz C. Chemical and physical parameters as quality indicators of used frying oils // *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* – 2000. – Vol. 102, P. 566–572.
8. Korver O., Katan M.B. The elimination of trans fats from spreads: how science helped to turn an industry around // *Nutr. Rev.* – 2006. – Vol. 64, P. 275–279.
9. Leopoldini M., Russo N., Toscano M. The molecular basis of working mechanism of natural polyphenolic antioxidants // *Food Chem.* – 2011. – Vol. 125, P. 288–306.
10. Marmesat S., Velasco J., Dobargaries M.C. Quantitative determination of epoxy acids, keto acids and hydroxy acids formed in fats and oils at frying temperatures // *J. Chromatogr. A.* – 2008. – Vol. 1211, P. 129–134.
11. Seaman V.Y., Bennett D.H., Cahill T.M. Indoor acrolein emission and decay rates resulting from domestic cooking events // *Atmos. Environ.* – 2009. – Vol. 43, P. 6199–6204.
12. Tsuzuki W. Cis-trans isomerization of carbon double bonds in monounsaturated triacylglycerols via generation of free radicals // *Chem. Phys. Lipids.* – 2010. – Vol. 163, P. 741–745.
13. Uprichard J.E., Zeelenberg M.J., Huizinga H., Verschuren P.M., Trautwein E.A. Modern fat technology: what is the potential for heart health? // *Proc. Nutr. Soc.* – 2005. – Vol. 64, P. 379–386.
14. Wright J.S., Johnson E.R., DiLabio G.A. Predicting the activity of phenolic antioxidants: theoretical method, analysis of substituent effects, and application to major families of antioxidants // *J. Am. Chem. Soc.* – 2001. – Vol. 123, P. 1173–1183.
15. Yin H., Xu L., Porter N.A. Free radical lipid peroxidation: mechanisms and analysis // *Chem. Rev.* – 2011. – Vol. 111, P. 5944–5972.

4 АМИНОКИСЛОТЫ, ПЕПТИДЫ И БЕЛКИ

4.1 Введение

В биологических системах главную роль играют белки. Хотя информация об эволюции и биологической организации клеток содержится в ДНК, химические и биохимические процессы, поддерживающие жизнь клетки и организма, выполняют исключительно ферменты, которых известны уже тысячи. Каждый из них катализирует в клетках высокоспецифическую биологическую реакцию. Кроме функционирования в качестве ферментов, белки (например, коллаген, кератин, эластин и др.) выполняют также функцию структурных компонентов клеток и сложных организмов. Функциональное разнообразие белков обусловлено прежде всего их химическим составом [1].

Белки – это высокоорганизованные полимеры, состоящие из аминокислот (их насчитывает 21), соединенных замещенными амидными связями. В отличие от гликозидных и фосфодиэфирных связей (соответственно, в полисахаридах и нуклеиновых кислотах), амидная связь в белках является частично двойной, что еще более подчеркивает структурную сложность этих белковых полимеров. Без такой сложности состава биологические функции, выполняемых белками, были бы невозможны – благодаря этой сложности возможно образование множества трехмерных структурных форм, выполняющих различные биологические функции. Чтобы подчеркнуть их биологическую важность, эти макромолекулы были названы протеинами (от греческого слова *proteois*, означающего «первостепенной важности»).

На элементном уровне белки содержат (по массе) 50-55% углерода, 6-7% водорода, 20-23% кислорода, 12-19% азота и 0,2-3,0% серы. Синтез белка осуществляется рибосомами, а после синтеза цитоплазматические ферменты модифицируют некоторые аминокислотные остатки, меняя элементный состав некоторых белков. Белки, не подвергающиеся в клетках ферментативной модификации, называют *гомопротеинами*, а модифицированные белки или белки в комплексе с небелковыми компонентами называв *сопряженными (конъюгированными) протеинами* или *гетеропротеинами*. Небелковые компоненты довольно часто называют *простетическими группами*. К примерам сопряженных белков можно отнести *нуклеопротеины* (рибосомы), *гликопротеины* (овальбумин и каппа-казеин), *фосфопротеины* (α - и β -казеины, киназы и фосфорилазы), *липопротеины* (протеины яичного желтка и несколько протеинов плазмы крови), а также *металлопротеины* (гемоглобин, миоглобин и некоторые ферменты). Глико- и фосфопротеины содержат ковалентно присоединенные соответственно углеводные и фосфатные группы, тогда как другие сопряженные протеины – нековалентные комплексы, содержащие нуклеиновые кислоты,

липиды или ионы металлов. Эти комплексы в соответствующих условиях могут диссоциировать.

Белки можно также классифицировать по их структурной организации. Так, *глобулярные белки* существуют в сферической или эллипсоидной формах, образованных накладыванием друг на друга полипептидных цепей. *Фибриллярные белки* – это палочкообразные молекулы со скрученными линейными полипептидными цепями (например, тропомиозин, коллаген, кератин и эластин). Эти белки могут также образовываться в результате линейной агрегации небольших глобулярных белков, в частности, актина и фибрина. Большинство ферментов являются глобулярными белками, а фибриллярные белки функционируют как *структурные белки*.

По биологическим функциям белки можно разделить на категории *ферментных катализаторов, структурных белков, сократительных белков* (миозин, актин и тубулин), *гормонов* (инсулин и гормон роста), *транспортных белков* (сывороточный альбумин, трансферрин и гемоглобин), *антител* (иммуноглобулины), *резервных белков* (яичный альбумин и белки семян растений) и *защитных белков* (токсины и аллергены). Резервные белки присутствуют главным образом в яйцах и семенах растений, являясь источниками азота и аминокислот, необходимых для прорастания семян и развития плода. Защитные белки – это неотъемлемая часть защитных механизмов для выживания конкретных микроорганизмов и животных.

Все белки состоят, в основном, из одних и тех же 20 базовых аминокислот, но в некоторых белках все они не присутствуют. Различия в структуре и функциях тысяч белков обусловлены последовательностью амидных связей аминокислот друг с другом. Изменением последовательности аминокислот, их типа и соотношения, а также длины цепи полипептидов можно синтезировать буквально миллиарды белков с уникальными свойствами [2].

Все биологически продуцируемые белки можно использовать в качестве пищевых, однако на практике пищевые белки могут быть легкоусваиваемыми, нетоксичными, нутритивно адекватными, функциональными (используемыми в пищевых продуктах с определенной целью) широко распространенными или восполняемыми с помощью окультуренных растений. Традиционно основными источниками пищевых белков являются молоко, мясо (в том числе рыб и птицы), яйца, злаковые и бобовые культуры, а также семена масличных растений. В животных и растительных тканях это преимущественно резервные белки, играющие роль источника азота для развивающегося зародыша. Из-за повсеместного увеличения численности городского населения необходимо разработать нетрадиционными источники белков для использования в производстве пищевых продуктов. Пригодность таких новых источников белка для использования в производстве пищевых продуктов зависит, однако, от их стоимости и способности

выполнять обычные функции белковых ингредиентов в пищевых продуктах (как промышленного производства, так и приготовленных в домашних условиях).

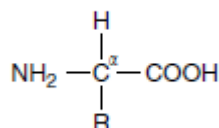
Функциональные свойства белков в пищевых продуктах обусловлены их структурными и другими физико-химическими свойствами. Для повышения роли белков в питании и в условиях конкуренции новых более дешевых источников белка с традиционными необходимо фундаментальное понимание физических, химических, нутритивных и функциональных свойств белков, а также изменений этих свойств в процессе переработки.

4.2 Физико-химические свойства аминокислот

4.2.1 Общие свойства

4.2.1.1 Структура и классификация

Основные структурные единицы белков – это α -аминокислоты, состоящие из α -углеродного атома, ковалентно присоединенного к атому водорода, аминогруппе, карбоксильной группе и боковой группе R (формула 4.1).



(4.1)

Природные белки содержат различные первичные аминокислоты (до 21), соединенные амидными связями. 21-ой, относительно недавно открытой природной аминокислотой является селеноцистеин. Все эти аминокислоты отличаются только по химической природе боковой группы R (рис. 4.1). Физико-химические свойства (электрический заряд, растворимость, реакционная способность и потенциал водородных связей аминокислот) зависят от химической природы R-группы [2].

Алифатические аминокислоты

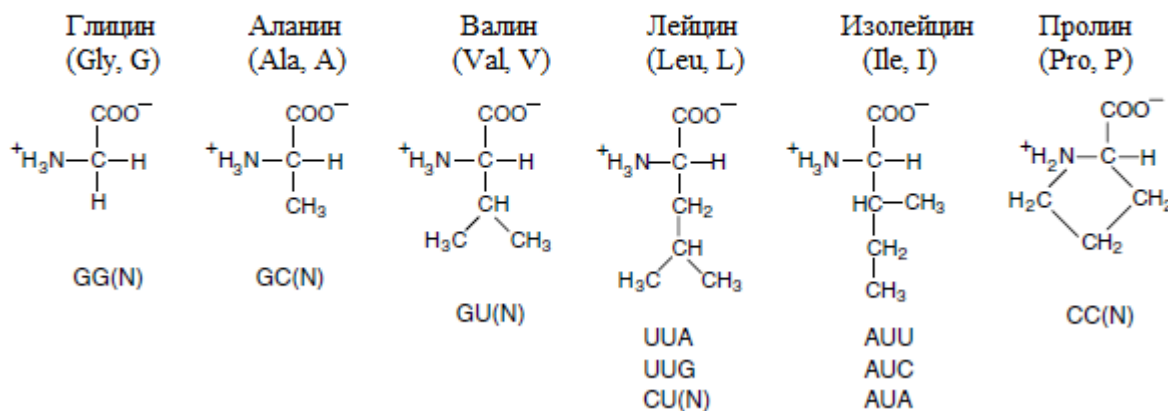
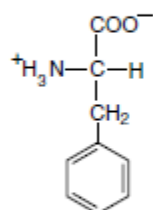


Рис. 4.1. Первичные α -аминокислоты белков. В скобках приведены трех- и однобуквенные обозначения аминокислот. Под каждой формулой указаны коды м-РНК

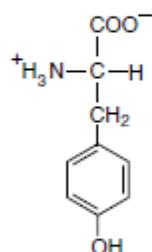
Ароматические аминокислоты

Фенилаоанин
(Phe, F)



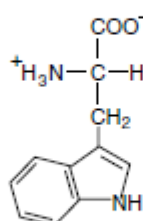
UUU
UUC

Тирозин
(Tyr, Y)



AUA
UAC

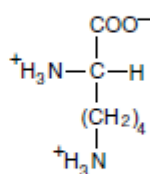
Триптофан
(Trp, W)



UGG

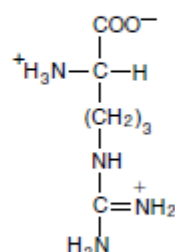
Основные аминокислоты

Лизин
(Lys, K)



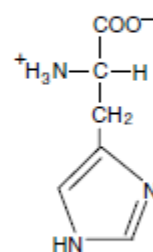
AAA
AAG

Аргинин
(Arg, R)



AGA
AGG
CG(N)

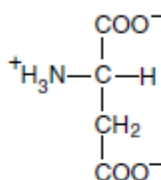
Гистидин
(His, H)



CAU
CAC

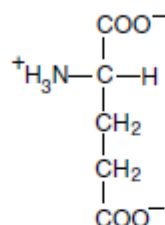
Кислые аминокислоты

Аспарагиновая кислота
(Asp, D)



GAU
GAC

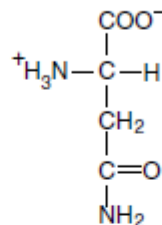
Глутаминовая кислота
(Glu, E)



GAA
GAG

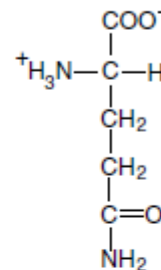
Амидные аминокислоты

Аспарагин
(Asn, N)



AAU
AAC

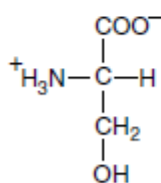
Глутамин
(Gln, Q)



CAA
CAG

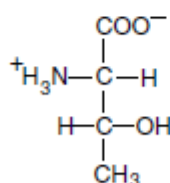
Гидроксиаминокислоты

Серин
(Ser, S)



AGU
AGC

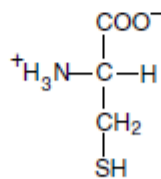
Треонин
(Thr, T)



AC(N)

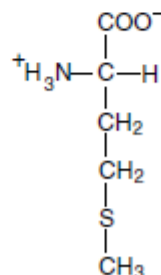
Серосодержащие аминокислоты

Цистеин
(Cys, C)



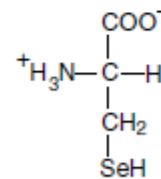
UGU
UGC

Метионин
(Met, M)



AUG

Селеноцистеин
(SeCys)

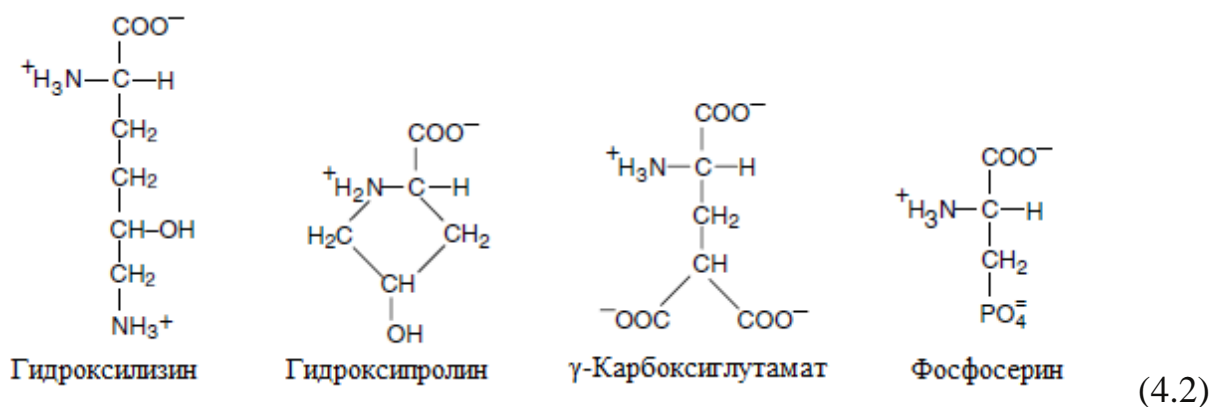


UGA

Рис. 4.1. Продолжение

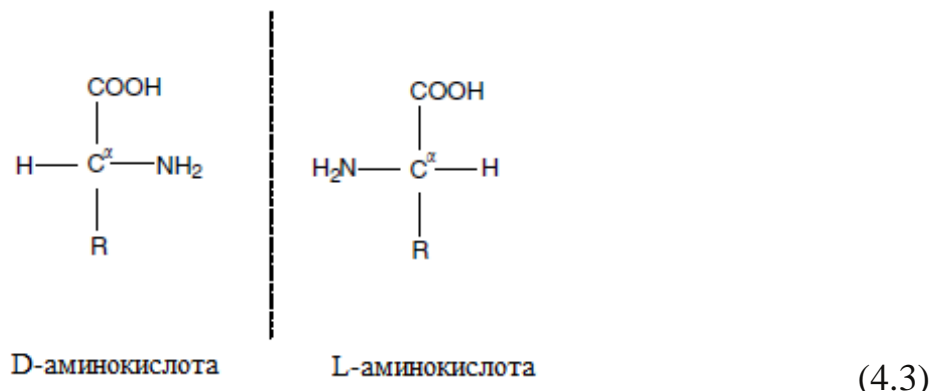
У аминокислот, представленных на рис. 4.1, в том числе у селеноцистеина, есть генетические коды, то есть у каждой из этих аминокислот имеется

специфическая т-РНК, транслирующая при синтезе белка генетическую информацию на м-РНК и в аминокислотную последовательность. Помимо первичных аминокислот, представленных на рис. 4.1, в некоторых белках присутствуют и другие типы аминокислот – производных от первичных. Эти производные аминокислоты являются или сшитыми, или простыми производными отдельных аминокислот. Белки, содержащие производные аминокислот, называются сопряженными (конъюгированными) белками. Хорошим примером сшитой аминокислоты является цистин, присутствующий в большинстве белков. Другие сшитые аминокислоты, в частности, десмозин, изодесмозин, а также ди- и тритипозин обнаружены в структурных белках эластине и резилине. Несколько простых производных аминокислот обнаружены в нескольких белках (например, в коллагене это 4-гидроксипролин и 5-гидроксипролин, являющиеся результатом посттрансляционной модификации при созревании коллагеновых нитей). Фосфосерин и фосфотреонин найдены в нескольких белках, а том числе казеинах. N-метиллизин присутствует в миозине, а γ -карбоксиглутамат – в некоторых факторах свертывания крови и кальций-связывающих белках (формулы 4.2).



4.2.1.2 Стереохимия аминокислот

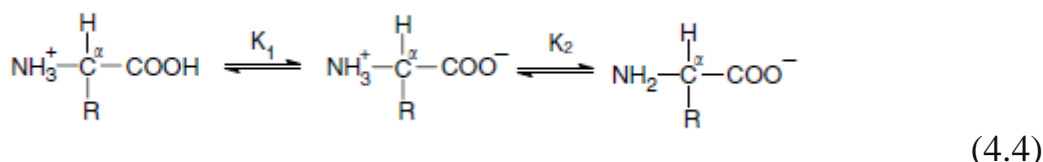
За исключением Gly, α -углеродный атом всех аминокислот – асимметрический, то есть к нему присоединены четыре разные функциональные группы. Из-за этого асимметрического центра аминокислоты обладают оптической активностью, а это означает, что плоскость линейно поляризованного света вращается. Кроме асимметрического α -углеродного атома, у Ile и Thr асимметрические и β -углеродные атомы, и эти аминокислоты могут существовать в виде четырех энантиомеров. Среди производных аминокислот два асимметрических атома углерода имеют также гидроксипролин и гидроксилизин. Все обнаруженные в природе белки содержат только L-аминокислоты. Как правило, L- и D-энантиомеры представляют согласно формуле (4.3):



Эта номенклатура основана на конфигурациях D- и L-глицеральдегида и не соответствует действительному направлению вращения плоскости поляризации. Так, L-конфигурация не обязательно характеризуется левым вращением, как у L-глицеральдегида. Фактически у большинства аминокислот правое, а не левое вращение плоскости поляризации.

4.2.1.3 Кисотно-основные свойства аминокислот

Так как аминокислоты содержат кислотную карбоксильную и основную аминогруппу, они ведут себя как кислоты и основания, то есть являются амфолитами. Например, простейшая из всех аминокислот Gly может существовать в трех различных ионизированных состояниях в зависимости от значения pH раствора (формула 4.4):



При нейтральном значении pH как α-амино-, так и α-карбоксильные группы ионизированы, и молекула представляет собой *диполярный* или цвиттер-ион. Значение pH, при котором такой диполярный ион электрически нейтрален, называется *изоэлектрической точкой* (pI). Когда цвиттер-ион титруют кислотой, COO⁻-группа становится протонированной. Значение pH, при котором концентрации COO⁻ и COOH одинаковы, обозначается pK_{a1} (отрицательный логарифм константы диссоциации кислоты K_{a1}). Аналогичным образом, когда цвиттер-ион титруют основанием, NH₃⁺-группа становится депротонированной, и значение pH, при котором [NH₃⁺] = [NH₂] обозначается pK_{a2}. Типичная кривая потенциометрического титрования для биполярной аминокислоты приведена на рис. 4.2. Помимо α-амино- и α-карбоксильных групп, ионизируемые группы присутствуют также в боковых цепях Lys, Arg, His, Asp, Glu, Cys и Tyr. Значения pK_a всех ионизируемых групп в аминокислотах приведены в табл. 4.1. Изоэлектрические точки аминокислот можно определить по значениям pK_{a1}, pK_{a2} и pK_{a3} с помощью следующих формул:

для аминокислот с незаряженной боковой цепью: $pI = (pK_{a1} + pK_{a2})/2$;

для кислых аминокислот: $pI = (pK_{a1} + pK_{a3})/2$;

для основных аминокислот: $pI = (pK_{a2} + pK_{a3})/2$.

Нижние индексы 1 2 и 3 относятся соответственно к α -карбоксильным, α -аминным и ионизируемым группам боковых цепей.

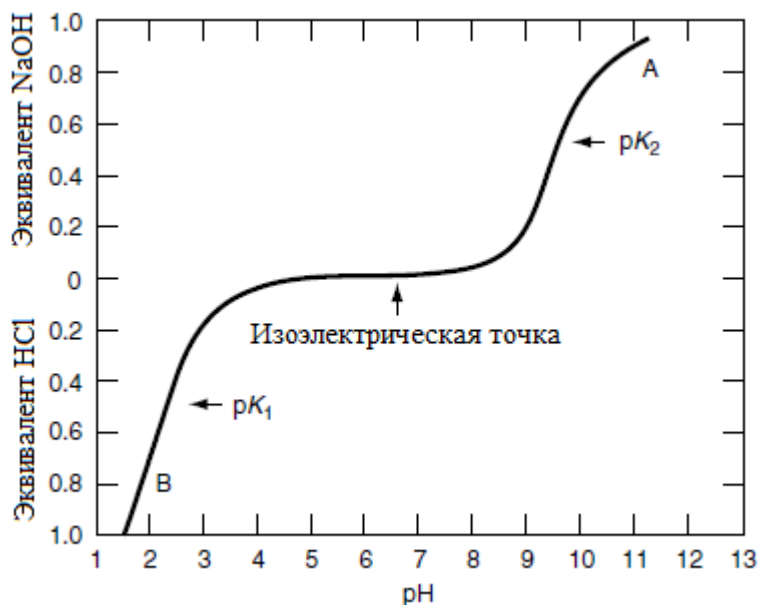


Рис. 4.2. Кривая потенциметрического титрования типичной аминокислоты

Таблица 4.1

Свойства ионизируемых групп свободных аминокислот при температуре 25 °С

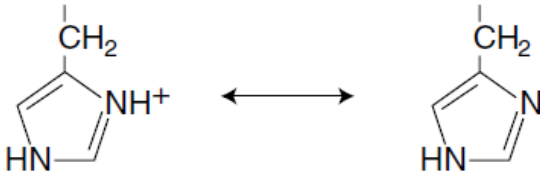
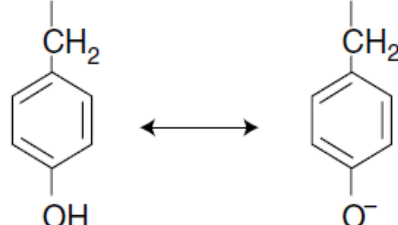
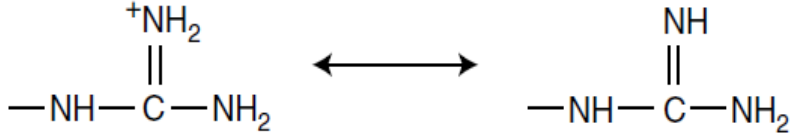
Аминокислота	pK_{a1} (-COOH)	pK_{a2} (-NH ₃)	pK_{a3} (боковая цепь)	pI
Аланин	2,34	9,69		6,00
Аргинин	2,17	9,04	12,48	10,76
Аспаргин	2,02	8,80		5,41
Аспаргиновая кислота	1,88	9,60	3,65	2,77
Цистеин	1,96	10,28	8,18	5,07
Глутамин	2,17	9,13		5,65
Глутаминовая кислота	2,19	9,67	4,25	3,22
Глицин	2,34	9,60		5,98
Гистидин	1,82	9,17	6,00	7,59
Изолейцин	2,36	9,68	-	6,02
Лейцин	2,30	9,60	-	5,98
Лизин	2,18	8,95	10,53	9,74
Метионин	2,28	9,21	-	5,74
Фенилаланин	1,83	9,13	-	5,48
Пролин	1,94	10,60		6,30
Серин	2,20	9,15	-	5,68
Треонин	2,21	9,15	-	5,68
Триптофан	2,38	9,39	-	5,89
Тирозин	2,20	9,11	10,07	5,66

Валин	2,32	9,62	-	5,96
-------	------	------	---	------

В белках α -COOH-группа одной аминокислоты ковалентно соединена с α -NH₂-группой следующей аминокислоты через амидную связь, так что ионизируемыми группами в белках являются N-концевые аминогруппы, C-концевые карбоксильные группы и ионизируемые группы боковых цепей. Значения pK_a ионизируемых групп в белках отличаются от аналогичных значений ионизируемых групп свободных аминокислот (табл. 4.2). Существенный сдвиг значений pK_a в белках по сравнению со свободными аминокислотами обусловлен иным электронным и диэлектрическим окружением указанных групп в белках (это свойство важно для ферментов).

Таблица 4.2

Среднее значение pK_a ионизируемых групп в белках

Ионизируемая группа	pK _a	Кислотная форма ↔ Основная форма
Концевая COOH	3,75	$-\text{COOH} \leftrightarrow -\text{COO}^-$
Концевая NH ₂	7,8	$-\text{NH}_3^+ \leftrightarrow -\text{NH}_2$
Боковая COOH (Glu, Asp)	4,6	$-\text{COOH} \leftrightarrow -\text{COO}^-$
Боковая NH ₂	10,2	$-\text{NH}_3^+ \leftrightarrow -\text{NH}_2$
Имидазольная	7,0	
Сульфгидрильная	8,8	$-\text{SH} \leftrightarrow -\text{S}^-$
Фенольная	9,6	
Гуанидильная	> 12	

Степень ионизации группы при данном значении pH раствора определяется по уравнению Гендерсона-Хассельбаха:

$$\text{pH} = \text{pK}_a + \log \frac{[\text{конъюгированное основание}]}{[\text{конъюгированная кислота}]} \quad (4.5)$$

$$\text{Отрицательный заряд} = -\frac{1}{1 + 10^{(\text{pK}_a - \text{pH})}} \quad (4.6)$$

$$\text{Положительный заряд} = \frac{1}{1 + 10^{(\text{pH} - \text{pK}_a)}} \quad (4.7)$$

После определения степени ионизации отдельных ионизируемых групп с помощью уравнения (4.5) можно рассчитать общий заряд белка при данном значении pH, добавив общее число отрицательных и положительных зарядов.

По природе взаимодействия боковых цепей с водой все аминокислоты можно разделить на несколько категорий. Аминокислоты с алифатическими (Ala, Ile, Leu, Met, Pro и Val) и ароматическими боковыми цепями (Phe, Trp и Tyr) гидрофобны и поэтому ограниченно растворимы в воде. Полярные (гидрофильные) аминокислоты хорошо растворимы в воде, и они либо имеют электрический заряд (Arg, Asp, Glu, His и Lys), либо не имеют (Ser, Thr, Asn, Gln и Cys). Боковые цепи Arg и Lys содержат соответственно гуанидильные и аминогруппы, и тем самым при нейтральном pH они имеют положительный заряд (то есть являются основными). Как основные, так и кислые аминокислоты сильно гидрофильны. Общий заряд белка при физиологических условиях зависит от относительного числа основных и кислотных аминокислотных остатков.

Полярность незаряженных нейтральных аминокислот лежит где-то посередине между гидрофобными и заряженными аминокислотами. Полярная природа Ser и Thr обусловлена присутствием гидроксильной группы, способной образовывать водородную связь с водой. Так как в Tyr также содержится ионизируемая при щелочных значениях pH фенольная группа, Tyr считают полярной аминокислотой, однако по характеристикам растворимости при нейтральном значении pH ее следует относить к гидрофобным аминокислотам. Амидная группа Asn и Gln способна взаимодействовать с водой через образование водородных связей. При кислотном или щелочном гидролизе амидная группа этих аминокислот превращается в карбоксильную с выделением аммиака. Большинство Cys-остатков белков присутствует в виде цистина, представляющего собой димер Cys, полученный окислением тиольных групп с образованием дисульфидной сшивки.

По-своему уникальной аминокислотой является пролин, так как в белках это единственная иминокислота. В пролине пропильная боковая цепь ковалентно связана с α -углеродным атомом и α -аминогруппой, образуя циклическую пирролидиновую структуру.

4.2.1.4 Гидрофобность аминокислот

Один из главных факторов, влияющий на такие физико-химические свойства белков и пептидов, как структура, растворимость, способность связывать жиры и т. д. – это гидрофобность составляющих аминокислотных остатков. Гидрофобность можно определить как избыток свободной энергии водного

раствора по сравнению с раствором в органическом растворителе в тех же условиях.

4.2.1.5 Оптические свойства аминокислот

Ароматические аминокислоты Trp, Tyr и Phe поглощают свет в ближней ультрафиолетовой области спектра (длина волны 250-300 нм). Кроме того, Trp и Tyr в ультрафиолетовой области проявляют флуоресценцию. Максимальные длины волн поглощения и флуоресцентной эмиссии ароматических аминокислот приведены в табл. 4.2. Эти аминокислотные остатки отвечают за способность белков поглощать УФ-излучение в области 250-300 нм с максимумом поглощения для большинства белков при длине волны около 280 нм. Поскольку абсорбционные и флуоресцентные свойства этих аминокислот зависят по полярности их окружения, изменения оптических свойств белков зачастую используют для контроля конформационных изменений в белках.

Таблица 4.2

Спектры ультрафиолетового поглощения и флуоресценции ароматических аминокислот

Аминокислота	λ_{\max} абсорбции, нм	Молярный коэффициент экстинкции, (дм ³ /(моль·см))	λ_{\max} флуоресценции, нм
Фенилаланин	260	190	282 ^a
Триптофан	278	5500	348 ^b
Тирозин	275	1340	304 ^b

^a Возбуждение при 260 нм

^b Возбуждение при 280 нм

4.2.2 Реакционная способность аминокислот

Реакционноспособные группы (амино-, карбоксильная, сульфгидрильная, фенольная, гидроксильная, тиоэфирная (Met), имидазольная и гуанидиновая) свободных аминокислот и белков способны вступать в химические реакции, словно они присоединены к небольшим органическим молекулам. Типичные реакции для различных групп боковой цепи представлены в табл. 4.3. Некоторые из этих реакций можно использовать для изменения гидрофильных и гидрофобных свойств, а также функциональных свойств белков и пептидов. Отдельные реакции можно использовать и для количественного определения аминокислот и некоторых аминокислотных остатков в белках [3]. Например, для количественного определения аминокислот обычно используют реакцию аминокислот с нингидрином, о-фталевым диальдегидом или флуорескамином.

Реакция амингидрином

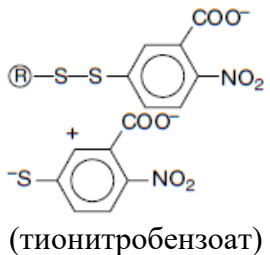
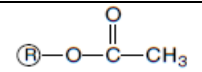
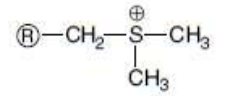
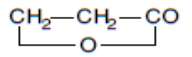
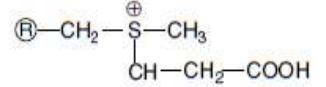
Для количественного определения свободных аминокислот зачастую используют реакцию с нингидрином. При реакции аминокислоты с избыточным количеством нингидрина на каждый моль прореагировавшей кислоты образуется по 1 молю аммиака, альдегида, CO₂ и гидриндантина (уравнение 4.8).

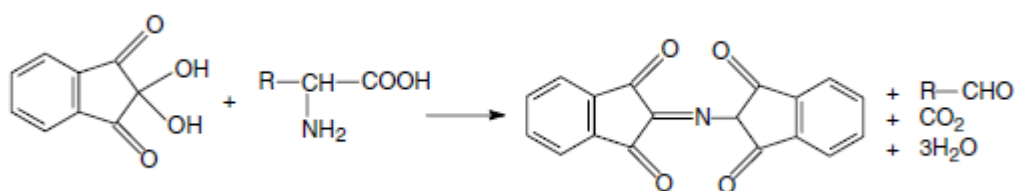
Таблица 4.3

Реакция функциональных групп аминокислот и белков

Тип реакции	Реагент или условия	Продукт реакции	Примечания
А. Аминогруппы			
1. Восстановительное алкилирование	HCHO, NaBH ₄ (формальдегид)		Полезно для радиоактивно меченых белков
2. Гуанидирование	 O-метилизомочевина, рН 10,6, 4 °С в течение 4 сут		Превращение боковой цепи лизина в гомоаргинин
3. Ацетилирование	Уксусный ангидрид		Удаляет положительный заряд
4. Сукцинирование	Янтарный ангидрид		Придает отрицательный заряд остаткам лизина
5. Тиолирование	 тиопараконовая кислота		Удаляет положительный заряд и вводит тиольную группу в остатки лизина
6. Арилирование	1-фторо-2,4-динитробензол (FDNB)		Используется для определения аминокислот
	2,4,6-тринитробензолсульфоновая кислота (TNBS)		Коэффициент экстинкции 1,1 · 10 ⁴ М ⁻¹ ·см ⁻¹ при 367 нм; применяется для определения реакционноспособных остатков лизина в белках
7. Дезаминирование	1,5 М NaNO ₂ в уксусной кислоте, 0 °С	R—OH + N ₂ + H ₂ O	
Б. Карбоксильные группы			

1. Этерификация	Кислота в метаноле	$\text{R}-\text{COOCH}_3 + \text{H}_2\text{O}$	Гидролиз эфира происходит при $\text{pH} > 6,0$
2. Восстановление	Борогидрид в тетрагидрофуране, трифторуксусная кислота	$\text{R}-\text{CH}_2\text{OH}$	
3. Декарбосилирование	Воздействие кислоты, щелочи, нагревания	$\text{R}-\text{CH}_2-\text{NH}_2$	Происходит только с аминокислотами, но не с белками
В. Сульфгидрильные группы			
1. Окисление	Пермуравьиная кислота	$\text{R}-\text{CH}_2-\text{SO}_3\text{H}$	
2. Блокирование	$\begin{array}{c} \text{CH}_2-\text{CH}_2 \\ \\ \text{NH} \end{array}$ этиленамин	$\text{R}-\text{CH}_2-\text{S}-(\text{CH}_2)_2-\text{NH}_3^+$	Вводит аминогруппу
	Йодуксусная кислота	$\text{R}-\text{CH}_2-\text{S}-\text{CH}_2-\text{COOH}$	Вводит одну аминогруппу
	$\begin{array}{c} \text{CH}=\text{CO} \\ \quad \diagup \text{O} \\ \text{CH}=\text{CO} \end{array}$ (малеиновый ангидрид)	$\begin{array}{c} \text{R}-\text{CH}_2-\text{S}-\text{CH}_2-\text{COOH} \\ \\ \text{CH}_2-\text{COOH} \end{array}$	Вводит два отрицательных заряда на каждую заблокированную SH-группу
	<i>n</i> -Меркуробензоат	$\text{R}-\text{CH}_2-\text{S}-\text{Hg}-\text{C}_6\text{H}_4-\text{COO}^-$	Коэффициент экстинкции данного производного при 250 нм (pH 7) составляет $7500 \text{ M}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$; данная реакция используется для определения содержания SH-групп в белках
	N-Этиламин	$\begin{array}{c} \text{R}-\text{CH}_2-\text{S}-\text{CH}-\text{CO} \\ \quad \diagup \text{NH} \\ \text{CH}_2-\text{CO} \end{array}$	Используется для блокировки SH-групп

	5,5'-Дитио-бис-2-нитробензойная (DTNB) кислота	 (тионитробензоат)	Выделяется 1 моль тионитробензоата, его 412 составляет $13600 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$; данная реакция используется для определения SH-групп в белках
Г. Серин и треонин			
1. Этерификация	$\text{CH}_3\text{-COCl}$		
Д. Метионин			
1. Алкилгалогениды	CH_3I		
2. β-пропиолактон			

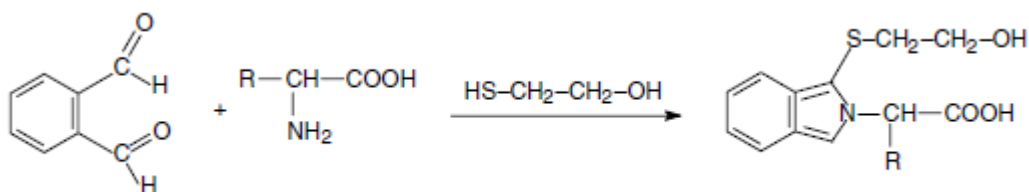


(4.8)

Выделившийся аммиак затем вступает в реакцию с 1 молем нингидрина и 1 молем гидриндантина, образуя продукт пурпурного цвета, известный как «пурпурный Ругеманна», с максимальным поглощением при длине волны 570 нм. Пролин и гидроксипролин дают продукт желтого цвета с максимальным поглощением при 440 нм. Эти реакции окрашивания обеспечивают основу для колориметрического определения аминокислот.

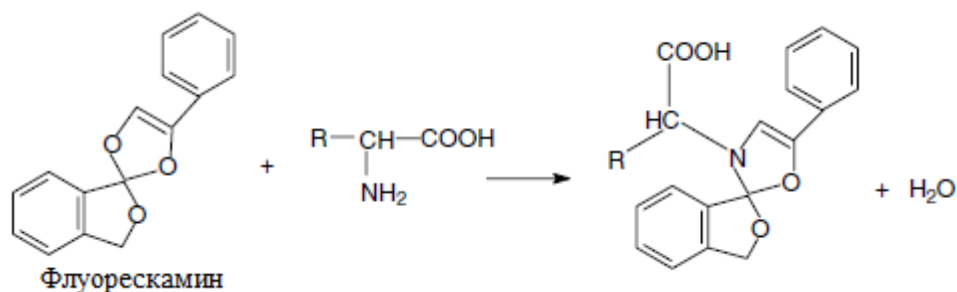
Реакцию с нингидрином обычно используют для определения аминокислотного состава белков. Белок сначала гидролизуют до аминокислот, и свободные аминокислоты затем разделяют и идентифицируют методами ионообменной или гидрофобной хроматографии. Элюаты с колонки реагируют с нингидрином, и количество аминокислот определяют по величине поглощения при длинах волн 570 и 440 нм.

Реакция с О-фталевым диальдегидом. При реакции аминокислот с О-фталевым диальдегидом (1,2-бензолдикарбональ) в присутствии 2-меркаптоэтанола (уравнение 4.9) образуется сильно флуоресцирующее производное с максимумом возбуждения при 380 нм и максимуме флуоресценции 450 нм.



(4.9)

Реакция с флуорескамин. При реакции аминокислот, пептидов и белков с первичными аминами (уравнение 4.10) образуется сильно флуоресцирующее производное с максимумом флуоресценции при 475 нм (при возбуждении при длине волны 390 нм). Данный метод применим для количественного определения аминокислот, белков и пептидов.



(4.10)

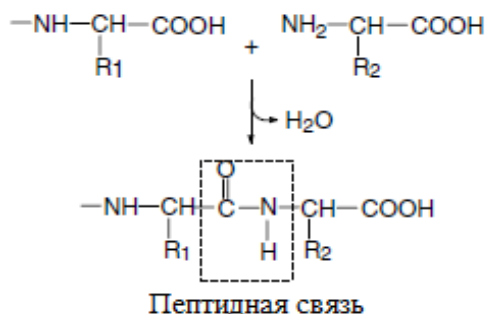
4.3 Структура белка

4.3.1 Структурная иерархия белков

Существует четыре структурных уровня белка: первичный, вторичный, третичный и четвертичный [4].

4.3.1.1 Первичная структура

Первичная структура белка отражает линейную последовательность, в которой составляющие белок аминокислоты ковалентно соединены амидными связями, называемые также пептидными. Такая пептидная связь образуется конденсацией α -карбоксильной группы i -й аминокислоты и α -аминогруппы $(i + 1)$ -й аминокислоты с удалением молекулы воды. В такой линейной последовательности все аминокислотные остатки находятся в L-конфигурации. В белке с n аминокислотных остатков содержится $n - 1$ пептидных связей (уравнение 4.11).

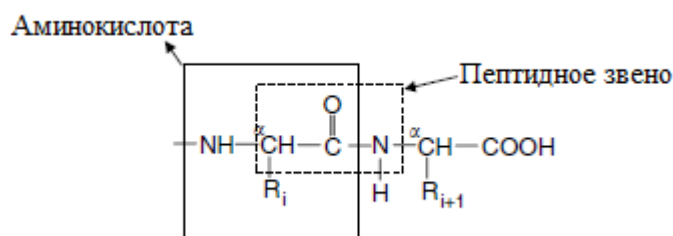


(4.11)

Конец со свободной α -аминогруппой называют N-концом, а конец со свободной α -COOH-группой – C-концом. Когда приводится информация по первичной структуре, то принято считать, что полипептидная цепь начинается с N-конца, а заканчивается C-концом.

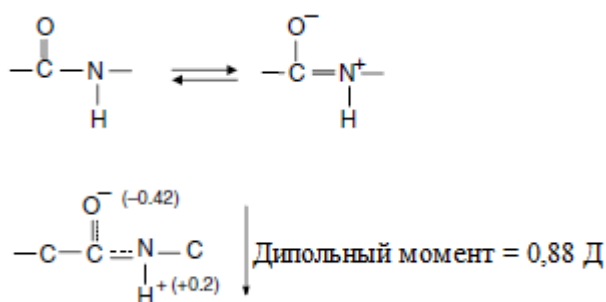
Длина цепи (n) и последовательность, в которой соединены n остатков, определяют физико-химические, структурные и биологические свойства, а также функции белка. Аминокислотная последовательность выступает своего рода кодом при образовании вторичной и третичной структур и однозначно определяет биологические функции белка. Молекулярная масса варьирует от нескольких тысяч дальтон (Да) до более миллиона Да. Например, титин, представляющий собой одноцепочечный белок, обнаруженный в мышечной ткани, имеет молекулярную массу более 1 млн Да, а секретин – около 2300 Да. Молекулярная масса большинства белков находится в интервале от 20 000 до 100 000 Да.

Каркас полипептидов можно представить в виде повторяющихся звеньев -N-C-C $^{\alpha}$ - или - $^{\alpha}$ C-C-N. Запись -NH- $^{\alpha}$ CHR-CO- относится к аминокислотному остатку, а - $^{\alpha}$ CHR-CO-NH- – к пептидному звену (уравнение 4.12).



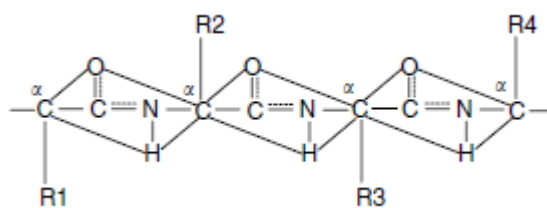
(4.12)

Несмотря на то что связь CO-NH изображена как одинарная ковалентная связь, в действительности у нее частично двойной характер из-за резонансной структуры вследствие делокализации электронов (уравнение 4.13).



(4.13)

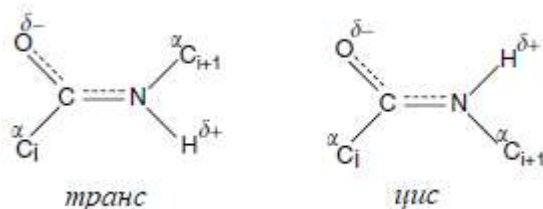
Это предполагает важные структурные особенности белков. Во-первых, резонансная структура препятствует протонированию пептидной N-H-группы. Во-вторых, из-за частично двойного характера пептидной связи вращение CO-NH ограничено максимально до ω -угла в 6° . Из-за этого ограничения каждый шестиатомный сегмент (-C $^\alpha$ -CO-NH-C $^\alpha$ -) пептидного каркаса лежит в своей плоскости. Полипептидный каркас можно представить в виде последовательности (-C $^\alpha$ -CO-NH-C $^\alpha$ -)плоскостей, присоединенных, как показано в формуле (4.14), как C $^\alpha$ атомам:



(4.14)

Так как на долю пептидных связей приходится около трети от общего числа ковалентных связей углеродного каркаса, ограничение их свободного вращения резко понижает гибкость последнего. Свободой вращения обладают лишь связи N-C $^\alpha$ и C $^\alpha$ -C, и это свобода определяется соответственно диэдральными углами ϕ (фи) и ψ (пси), которые называют также торсионными углами главной цепи. В-третьих, делокализация электронов придает атому кислорода карбонильной группы частичный отрицательный заряд, а атому водорода N-H группы – частичный положительный заряд. По этой причине при подходящих условиях возможна водородная связь (диполь-дипольное взаимодействие) между C=O- и N-H-группами пептидного каркаса.

Другое следствие частично-двойной природы пептидной связи заключается в том, что четыре атома, присоединенных к пептидной связи, могут находиться в *цис*- или *транс*-конфигурации (формула 4.15).



(4.15)

Почти все пептидные связи в белках находятся в *транс*-конфигурации, что обусловлено большей термодинамической стабильностью *транс*-конфигурации по сравнению с *цис*-конфигурацией. Так как при переходе от *транс*- к *цис*-конфигурации свободная энергия пептидной связи увеличивается на 8,3 ккал/моль, изомеризации пептидных связей в белках не происходит. Единственное исключение – это пептидные связи с остатками пролина. Поскольку изменение свободной энергии при переходе от *транс*- к *цис*-конфигурации в пептидных связях, содержащих остатки пролина, составляет лишь около 1,86 ккал/моль, то при высоких температурах они иногда претерпевают изомеризацию *транс* > *цис*.

Хотя N-C^α- и C^α-C-связи являются истинными простыми связями, а значение диэдральных углов N и P при свободном вращении может теоретически составлять 360°, в действительности свободное вращение ограничено стерическими препятствиями атомов боковых групп. Это ограничение дополнительно уменьшает гибкость полипептидной цепи.

4.3.1.2 Вторичная структура

Термин «вторичная структура» относится к периодическому пространственному расположению аминокислотных остатков на определенных сегментах полипептидной цепи. Периодическая структура возникает, когда последовательность аминокислотных остатков в сегменте имеет повторяющийся набор торсионных углов φ и ψ. Поворот указанных углов происходит под влиянием соседних или близкодействующих нековалентных взаимодействий между боковыми цепями аминокислот, что приводит к локальному уменьшению свободной энергии. Непериодическая или случайная структура возникает в тех областях полипептидной цепи, в которых последовательность аминокислотных остатков имеет различные значения торсионных углов φ и ψ.

У белков выявлены две формы периодических (регулярных) структур – спиральные (геликальные) и протяженные слоистые (листоподобные) структуры.

Спиральные структуры. Спиральные структуры белков образуются, когда торсионные углы φ и ψ аминокислотной последовательности имеют один и тот же набор значений. Путем подбора различных комбинаций углов φ и ψ теоретически

возможно построить несколько типов спиральных структур различной геометрии, однако в белках выявлены лишь три типа спиралей (геликсов): α -, 3_{10} - и β -спирали.

Из этих трех типов спиралей наиболее распространена у белков α -спираль, наиболее стабильная (рис. 4.3). Высота витка («шаг») этой спирали, то есть увеличение аксиальной длины при вращении, составляет 5,4 Å. На каждый виток спирали приходится 3,6 аминокислотных остатка, причем каждый остаток удлиняет спираль на 1,5 Å. Угол между остатками составляет 100° ($360^\circ/3,6$). Боковые цепи аминокислот ориентированы перпендикулярно оси спирали.

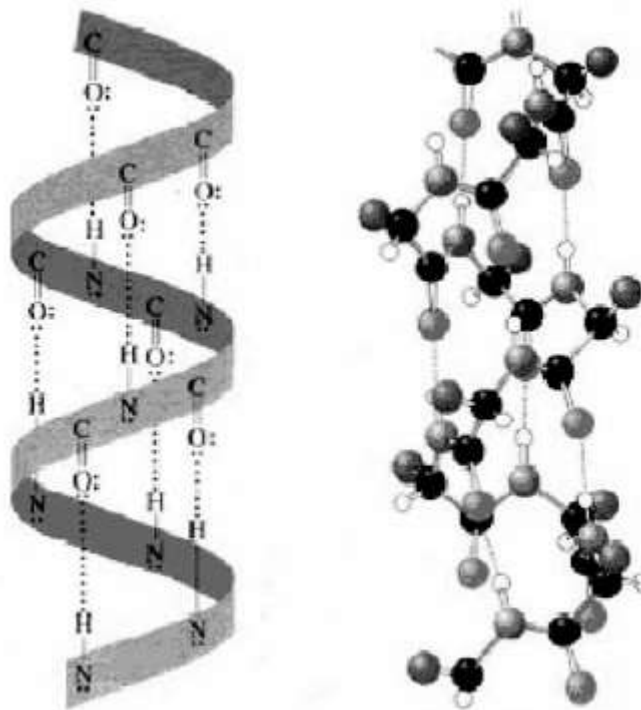


Рис. 4.3. Пространственное расположение полипептидов в α -спирали

α -Спираль стабилизирована водородными связями. Каждая N-H группа связана водородными связями с C=O группой n-4 аминокислотного остатка (четвертого предшествующего). В этой зафиксированной водородными связями петле находятся тринадцать атомов каркаса, в связи с чем α -спираль иногда называют $3,6_{13}$ спиралью (см. рис. 4.3). Водородные связи ориентированы параллельно оси спирали, причем N-, H- и O-атомы водородной связи располагаются на одной прямой, то есть угол водородной связи равен практически нулю. Длина водородной связи, то есть расстояние N-H...O, составляет 2,9 Å, а прочность этой связи -4,5 ккал/моль. α -спирали могут быть право- и левовращающими (правовращающая спираль более стабильна).

Особенности образования α -спирали заданы двоичным кодом аминокислотной последовательности, который кодирует расположение полярных и неполярных остатков последовательности. Полипептидные сегменты с повторяющимися семью аминокислотными последовательностями (гептетами)

-P-N-P-P-N-N-P-, где P и N – соответственно полярные и неполярные остатки, легко образуют α -спирали в водных растворах. Образование α -спирали обусловлено именно двоичным кодом, а не точным воспроизведением гептетной последовательности. Допускаются небольшие вариации в двоичном коде данного гептета, обеспечивающие иные меж- и внутримолекулярные взаимодействия, которые способствуют образованию α -спирали. Например, мышечный белок тропомиозин существует полностью в палочкоподобной форме спирализованных участков α -спирали, и его повторяющаяся гептетная последовательность -N-P-P-N-P-P-P- несколько отличается от вышеприведенной последовательности. Несмотря на эту особенность, тропомиозин существует полностью в форме α -спирали из-за других стабилизирующих взаимодействий в спиралеподобной палочке.

Большинство выявленных в белках α -спиральных структур по своей природе амфифильны, то есть половина поверхности спирали занята гидрофобными остатками, вторая половина – гидрофильными. В большинстве белков неполярная поверхность спирали обращена внутрь молекулы белка и, как правило, участвует в гидрофобных взаимодействиях с другими неполярными поверхностями.

К другим типам спиральных структур белков относятся β -спираль и 3_{10} -спираль. Свободная энергия этих спиралей составляет соответственно около 0,5 и 1,0 ккал/моль, и они менее стабильны, чем α -спираль. Эти спирали существуют лишь в виде коротких сегментов с несколькими аминокислотными остатками, и в большинстве белков они не играют какой-либо особой роли.

Структура β -слоя. β -слой – это протяженная структура со специфической геометрией, приведенной в табл. 4.4. В этой протяженной структуре группы C=O и N-H ориентированы перпендикулярно направлению цепи, в связи с чем образование водородных связей возможно только между отдельными сегментами, но не в рамках одного сегмента. Длина β -нити складывается примерно из 5-15 аминокислотных остатков. У белков две β -нити одной молекулы взаимодействуют через водородные связи, образуя структуру так называемого β -складчатого слоя. В структуре такого слоя боковые цепи ориентированы перпендикулярно (выше и ниже) его плоскости. В зависимости от направления ориентации нитей N→C могут формироваться два типа β -складчатых слоев: параллельный и антипараллельный (рис. 4.4). В параллельном β -слое направления β -нитей совпадают друг с другом, а в антипараллельном противоположны по направлению. Эти различия в направлениях цепи влияют на геометрию водородных связей. В антипараллельных β -слоях атомы N-H ••• O расположены на одной прямой (при нулевом угле H-связи), что повышает стабильность водородной связи, тогда как в параллельных β -слоях они расположены под углом, что снижает стабильность последней. Именно поэтому антипараллельные β -слои стабильнее параллельных.

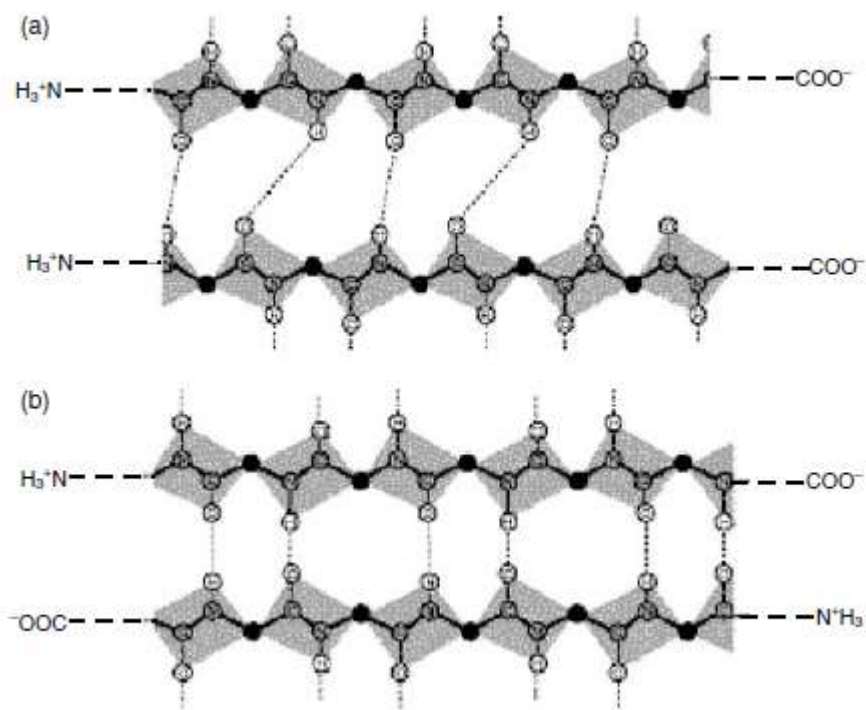


Рис. 4.4. Структура параллельных (а) и антипараллельных (б) β -слоев. Точками обозначены водородные связи между пептидными группами. Боковые цепи при C^α -атомах ориентированы перпендикулярно (вверх или вниз) относительно каркаса

Двоичным кодом, определяющим образование структур β -слоев у белков, является -N-P-N-P-N-P-N-P-. Высокую склонность к образованию структур β -слоя имеют полипептидные сегменты с чередующимися полярными и неполярными остатками. Тенденцию к образовыванию структуры β -слоя имеют также сегменты, богатые гидрофобными боковыми цепями типа Val и Ile. Как и можно было ожидать, в этом коде допускаются некоторые вариации.

Структура β -слоя обычно стабильнее структуры α -спирали. Белки с преобладанием структур типа β -слоя обычно характеризуются высокими температурами денатурации, примерами чего могут служить β -лактоглобулин (51 % структур типа β -слоя) и соевый глобулин 11S (64 % структур типа β -слоя), температуры денатурации которых составляют соответственно 75,6 и 84,5 °С, тогда как температура денатурации бычьего сывороточного альбумина (BSA) с 64 % α -спирализованной структуры составляет лишь 64 °С. При нагревании и охлаждении растворов α -спиралевидных белков α -спираль обычно преобразуется в β -слой. (обратного превращения у белков не наблюдается).

К еще одной распространенной структуре белков относится « β -изгиб» (« β -шпилька»). Эта структура возникает в результате поворота полипептидной цепи, образующей β -слой, на 180°. Обычно β -изгиб включает сегмент из четырех остатков, накладывающихся друг на друга и стабилизированных водородной

связью. В β -изгибах обычно встречаются остатки Asp, Cys, Asn, Gly, Tyr и Pro. Вторичная структура нескольких белков представлена в табл. 4.4.

Таблица 4.4

Содержание вторичной структуры отдельных глобулярных белков^a

Белок	Содержание α -спиралей, %	Содержание β -слоев, %	Содержание β -шпилек, %	Содержание аperiodических структур, %
Деоксигемоглобин	85,7	0	8,8	5,5
Бычий сывороточный альбумин	67,0	0	0	33,0
α_1 -Казеин	15,0	12,0	19,0	54,0
β -Казеин	12,0	14,0	17,0	57,0
κ -Казеин	23,0	31,0	14,0	32,0
Химотрипсиноген	11,0	49,4	21,2	18,4
Иммуноглобулин G	2,5	67,2	17,8	12,5
Инсулин (димер)	60,8	14,7	10,8	15,7
Ингибитор бычьего трипсина	25,9	44,8	8,8	20,5
Рибонуклеаза А	22,6	46,0	18,5	12,9
Яичный лизоцим	45,7	19,4	22,5	12,4
Овомукоид	26,0	46,0	10,0	18,0
Овальбумин	49,0	13,0	14,0	24,0
Папаин	27,8	29,0	24,5	18,5
α -Лактальбумин	26,0	14,0	0	60,0
β -Лактальбумин	6,8	51,2	10,5	31,5
Соевый белок 11S	8,5	64,5	0	27,0
Соевый белок 7S	6,0	62,5	2,0	29,5
Фазеолин	10,5	50,5	11,5	27,5
Миоглобин	79,0	0	5,0	16,0

^a Приведенные в таблице значения соответствуют процентному содержанию от общего числа аминокислотных остатков

4.3.1.3 Третичная структура

Третичная структура описывает пространственное расположение белковой молекулы, когда линейная белковая цепь с сегментами вторичной структуры складывается в более компактную трехмерную форму. Третичные структуры β -лактоглобулина и фазеолина (резервный белок обычной пищевой фасоли) приведены на рис. 4.5.

Трансформация белка из линейной формы (первичная структура) в компактную третичную структуру – процесс довольно сложный. На молекулярном уровне детали образования третичной структуры заложены в аминокислотной последовательности.

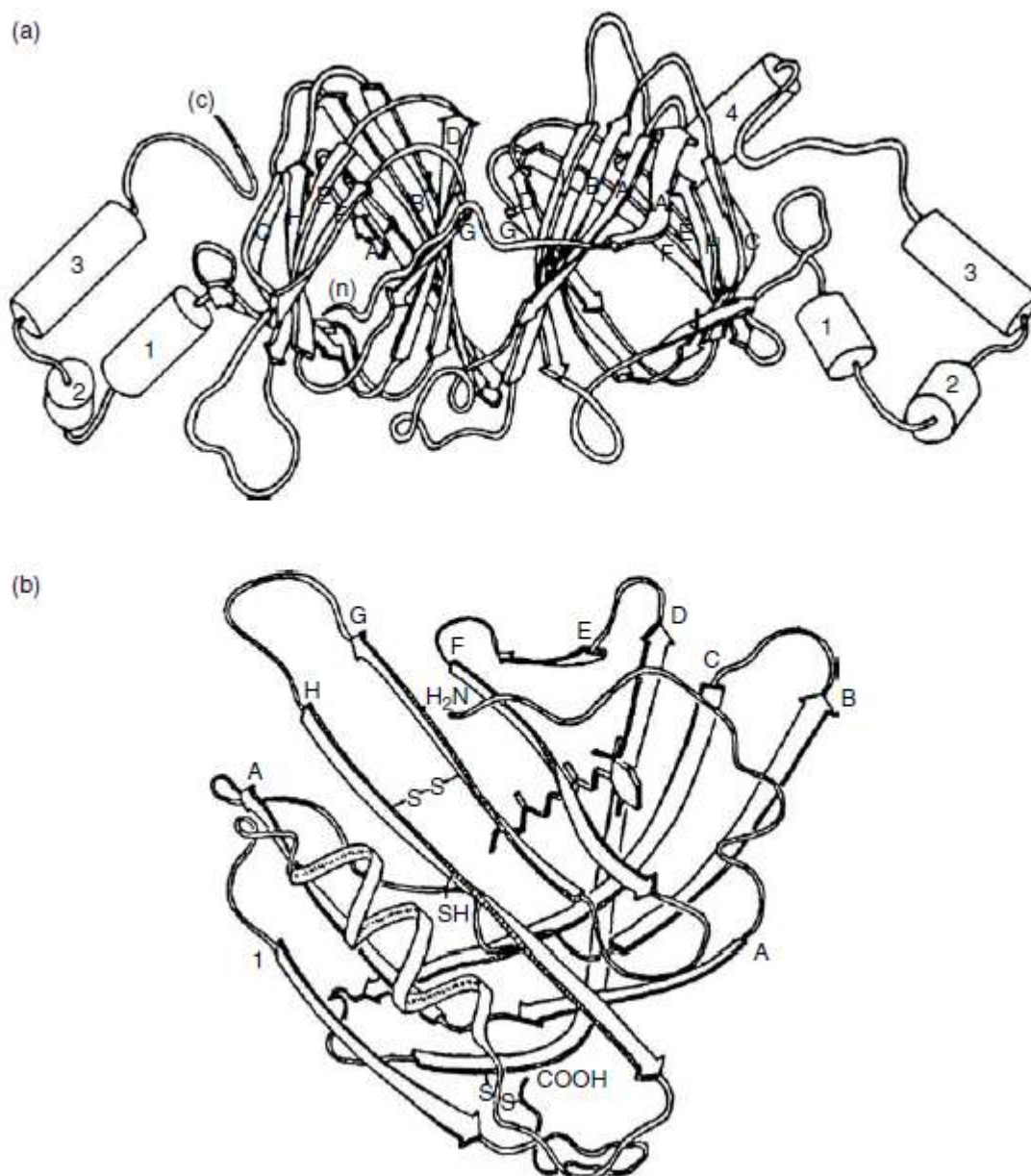


Рис. 4.5. Третичные структуры субъединицы фазеолина (а) и β -лактоглобулина (б). Стрелками обозначены нити β -слоев, а цилиндрами – α -спирали

С термодинамической точки зрения формирование третичной структуры включает оптимизацию различных взаимодействий (гидрофобного, электростатического, ван-дер-ваальсового и водородного связываний) между различными группами белков и конформационной энтропии полипептидной цепи, так что суммарная свободная энергия молекулы снижается до минимально возможного значения. Важнейшей конформационной перестройкой, приводящей к снижению свободной энергии при формировании третичной структуры, является переориентация большинства гидрофобных остатков по направлению от водного окружения внутрь белковой структуры, а гидрофильных остатков, особенно

несущих электрический заряд, – по направлению к границе раздела «белок-вода». Несмотря на сильную общую тенденцию гидрофобных остатков к «заглублению» в белковое окружение, она, как правило, наблюдается лишь частично из-за стерических затруднений. Фактически в большинстве глобулярных белков неполярные остатки занимают около 40-50 % доступной для воды поверхности белковых молекул. Некоторые полярные группы неминуемо «заглублены» внутри белковых молекул, но и они обязательно образуют водородные связи с другими полярными группами так, что их свободная энергия минимизирована неполярным окружением внутренней части белка. Соотношение неполярных и полярных участков поверхности белковой молекулы существенно влияет на некоторые физико-химические свойства белка.

Фолдинг («складывание») белка из линейной в компактную, третичную структуру сопровождается уменьшением площади поверхности контакта белка с водой. Соотношение и распределение гидрофильных и гидрофобных остатков в первичной структуре влияет на ряд физико-химических свойств белка. Например, форма белковой молекулы диктуется его аминокислотной последовательностью. Если у белка много гидрофильных остатков, распределенных в последовательности равномерно, то он примет вытянутую или палочкообразную форму. Это обусловлено тем, что при данной массе у вытянутой формы больше отношение площади поверхности к объему и больше гидрофильных остатков помещается на поверхности. С другой стороны, если в белке много гидрофобных остатков, то он принимает глобулярную (примерно сферическую) форму, благодаря чему минимизируется отношение площади поверхности к объему. Это позволяет большему числу гидрофобных остатков «заглубиться» внутрь молекулы белка. Для глобулярных белков существует общая закономерность: в крупных молекулах содержится большая доля неполярных аминокислот, чем в мелких.

Третичные структуры некоторых низкомолекулярных белков строятся из доменов. Домены – это области полипептидной последовательности, независимо образующие третичную структуру, то есть по сути это «мини-белки» конкретного белка. Стабильность структуры каждого домена, как правило, независима от других. В большинстве низкомолекулярных белков домены образуются независимо и затем взаимодействуют друг с другом с образованием уникальной третичной структуры. У некоторых белков, в частности у фазеолина (рис. 4.5), в третичной структуре может присутствовать два и более отдельных домена (структурных единиц), соединенных сегментом полипептидной цепи. Число доменов у белка, как правило, зависит от его молекулярной массы. Небольшие белки (например, лизоцим, β -лактоглобулин и α -лактальбумин) со 100-150 аминокислотными остатками обычно образуют однодоменную третичную структуру. Крупные белки типа иммуноглобулина содержат несколько доменов. Легкая цепь иммуноглобулина G состоит из двух доменов, а тяжелая – из четырех. Эти домены состоят примерно из 120 аминокислотных остатков. Человеческий

сывороточный альбумин, состоящий из 585 аминокислотных остатков, имеет три гомологичных домена, в каждом из которых содержатся два субдомена.

4.3.1.4 Четвертичная структура

Четвертичная структура касается пространственного расположения белка с более чем одной полипептидной цепью. Некоторые биологически важные белки существуют как димеры, тримеры, тетрамеры и т. д. Любой из этих четвертичных комплексов, называемых олигомерами, может быть построен из белковых субъединиц (мономеров), которые могут быть одинаковыми (гомогенными) или разными (гетерогенными). Например, β -лактоглобулин в диапазоне рН 5-8 существует как димер, при рН 3-5 – как октомер, а при рН выше 8 – как мономер, причем мономерные единицы этих комплексов идентичны. С другой стороны, гемоглобин – это тетрамер, построенный из двух различных полипептидных цепей (α и β).

Образование олигомерных структур – результат специфических межбелковых взаимодействий. Движущими силами такого образования являются в первую очередь, нековалентные взаимодействия – водородное связывание, гидрофобные и электростатические взаимодействия. Гидрофобные аминокислоты усиливают тенденцию к образованию олигомерных белков, причем у белков с более 30 % остатков гидрофобных аминокислот лучше проявляется тенденция к образованию олигомерных структур, чем у белков с меньшей долей таких аминокислотных остатков.

Образование четвертичной структуры происходит в первую очередь под влиянием термодинамического фактора в целях «заглубления» внутрь гидрофобных поверхностей субъединиц. Если доля гидрофобных аминокислотных остатков в белках превышает 30 %, то физически невозможно образовать такую третичную структуру, которая бы «заглубила» все неполярные остатки, и существует большая вероятность присутствия гидрофобных участков на поверхности молекулы. В результате их взаимодействия с соседними мономерами образуются димеры, тримеры и т. д. (рис. 4.6).

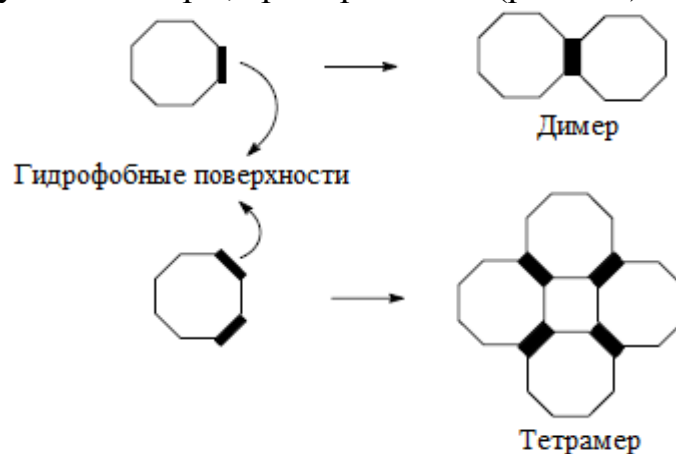


Рис. 4.6. Схематическое представление образования в белках димеров и олигомеров

Многие пищевые белки, особенно злаковых культур, существуют в виде олигомеров с различными полипептидами. Как и следовало ожидать, в этих белках обычно более 35 % гидрофобных аминокислотных остатков (Phe, Leu, Trp, Tyr, Val, Phe и Pro). Кроме того, в этих белках содержится 6-12 % пролина. Как следствие, белки злаковых культур существуют в составе сложных олигомерных структур. Основные резервные белки сои – β -конглицин и глицинии – содержат соответственно около 41 и 39 % гидрофобных аминокислотных остатков. β -конглицин – это белок-тример, состоящий из трех различных субъединиц, причем для него обнаружено явление сложной зависимости «ассоциации-диссоциации» как функции ионной силы и значения pH. Глицинин состоит из 12 субъединиц, шесть из которых – кислые, а шесть – основные. Каждая из основных субъединиц перекрестно сшита дисульфидной связью с кислой субъединицей. Шесть этих кислотно-основных пар удерживаются в виде олигомера нековалентными взаимодействиями. Сложная зависимость «ассоциации-диссоциации» от ионной силы характерна и для глицинина.

4.4 Денатурация белков

Нативная структура белков является результатом действия различных сил притяжения и отталкивания, обусловленных внутримолекулярными силами, а также взаимодействия различных групп белка с окружающим водным раствором. Нативная структура представляет собой преимущественно продукт окружения данного белка и является наиболее термодинамически стабильной с наименьшей свободной энергией.

Любые изменения в окружении, например, значения pH, ионной силы, температуры, состава раствора и т. д., способствуют тому, что молекула принимает новую равновесную структуру. Незначительные изменения в структуре, не меняющие радикально молекулярную архитектуру белка, обычно рассматривают как «изменчивость конформации», тогда как основные изменения во вторичной, третичной и четвертичной структурах без разрушения каркаса пептидных связей – как «денатурацию». Со структурной точки зрения нативная структура белков поддается определению по кристаллографическим данным с указанием расположения каждого атома в молекуле, но это невозможно для денатурированного состояния. Денатурация с применением денатурирующих агентов относится к явлениям с хорошо определенным при нефизиологических условиях первоначальным состоянием, но при этом не учитываются химические изменения белков. В денатурированном состоянии из-за большей степени вращательного движения диэдральных углов полипептидной цепи белки могут принимать несколько конформационных состояний с небольшим различием в свободной энергии. Некоторые белки в денатурированном состоянии обладают остаточной скрученной структурой в большей степени, чем другие. Следует отметить, что даже в полностью денатурированном состоянии обычные

глобулярные белки (за исключением желатина) не представляют собой правильные неупорядоченные кольца. Это объясняется характером частичных двойных амидных связей и локальными стерическими ограничениями объемной стороны цепи, не позволяющими полипептидному каркасу свободно вращаться на 360° .

Характеристическая вязкость $[\eta]$ полностью денатурированного белка является функцией числа аминокислотных остатков и выражается как

$$[\eta] = 0,71n^{0,66}, \quad (4.16)$$

где n – количество аминокислотных остатков в данном белке.

Зачастую денатурация воспринимается негативно из-за потери белками некоторых свойств. Многие биологически активные белки при денатурации теряют свою активность. В случае пищевых белков денатурация обычно приводит к утрате растворимости и некоторых функциональных свойств, однако, что касается использования в пищевых продуктах, то денатурация белков в процессе приготовления не всегда нежелательна, а иногда, наоборот, необходима. Так, частичная денатурация белка на границе раздела фаз «воздух-вода» и «масло-вода» улучшает пенообразование и эмульгирующие свойства, тогда как избыточная термическая денатурация соевого белка их ухудшает. С другой стороны, термическая денатурация значительно облегчает усвояемость белков бобовых культур в результате инактивации их ингибитора – трипсина. Частично денатурированные белки усваиваются лучше, чем нативные. В белковых напитках, где необходима растворимость и дисперсность, даже частично денатурированные белки вызывают хлопьеобразование (флокуляцию) и выпадение осадка при хранении, а значит, нежелательно влияют на органолептические свойства готового продукта. Термическая денатурация является предпосылкой для гелеобразования белков под воздействием тепла. Таким образом, для выбора правильной технологии обработки необходимо знать свойства окружающей среды и другие факторы, влияющие на стабильность структуры белков в пищевых системах.

4.4.1 Термодинамика процесса денатурации

Денатурация представляет собой процесс преобразования определенной скрученной структуры белка, образованной при физиологических условиях, в раскрученное состояние при нефизиологических условиях [5]. Поскольку структура – это параметр, с трудом поддающийся количественному определению, прямые измерения доли денатурированного и нативного белков в растворе невозможны. Вместе с тем конформационные преобразования изменяют некоторые химические и физические свойства белков, например, поглощение в УФ-спектре, флуоресценцию, вязкость, коэффициент осаждения, направление оптического вращения, круговой (циркулярный) дихроизм, реактивность сульфгидрильных групп и ферментную активность. Таким образом, денатурацию белков можно изучать по изменению физических и химических свойств белков.

Если изменение некоторого физического или химического свойства y исследовать как функцию концентрации денатурирующего вещества или температуры, то многие мономерные глобулярные белки подчиняются характерной кривой, приведенной на рис. 4.7. Кривые y_N и y_D – это графическое представление функции y для соответственно нативного и денатурированного состояний белка.

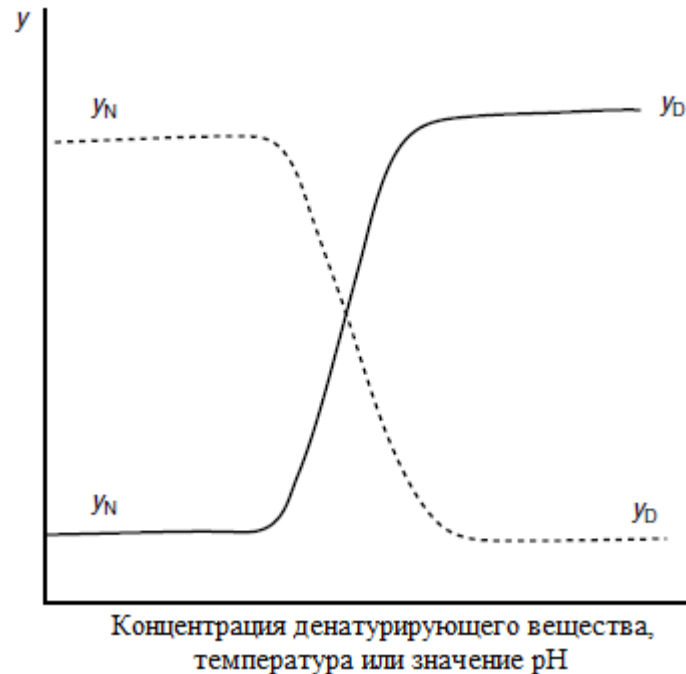
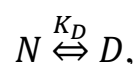


Рис. 4.7. Типичная кривая денатурации белка y соответствует любому физическому или химическому свойству молекулы белка, изменяющемуся при изменении конформации белка. Кривые y_N и y_D представляют значения y соответственно для нативного или денатурированного состояния

Для большинства белков по мере увеличения концентрации денатурирующего вещества или температуры значение y остается неизменным до некоторой критической точки, где в некоторой узкой области концентрации или температуры значение y_N резко изменяется до y_D . Для большинства глобулярных белков такой переход очень резок, что говорит о комплексном характере процесса денатурации. По мере разрушения нескольких взаимодействий или при увеличении концентрации денатурирующего вещества или повышения температуры молекула белка начинает «раскручиваться». Такой комплексный характер раскручивания предполагает, что глобулярные белки могут существовать только в нативном или денатурированном состоянии без каких-либо промежуточных стадий. Такая модель «двухступенчатого перехода» в равновесном состоянии между нативным и денатурированным состоянием в области перехода выражается как



$$K_D = \frac{[D]}{[N]}, \quad (4.17)$$

где K_D — это константа равновесного состояния.

4.4.2 Денатурирующие факторы

Процесс денатурации белков может быть вызван множеством различных факторов. Описана денатурация под действием гидростатического давления, различных химических факторов (изменение значения рН, присутствия органических растворителей, низкомолекулярных добавок, ПАВов, хаотропных солей) [6].

Наиболее распространенным способом денатураций белков при переработке пищевых продуктов и их консервировании является тепловая обработка, в ходе которой белки денатурируются в разной степени. Это влияет на их функциональные свойства в пищевых продуктах, а значит, необходимо знать факторы, влияющие на денатурацию.

При постепенном нагревании раствора белка (выше некоторой критической температуры происходит четкий переход белка из натурального состояния в денатурированное). Температуру в середине зоны перехода, где отношение концентраций белка в нативном и денатурированном состоянии равно 1, называют или температурой плавления T_m или температурой денатурации T_D . При денатурации белков стабильность ковалентных взаимодействий обусловлена прежде всего температурой, и при ее повышении происходит дестабилизация водородных связей и электростатических взаимодействий, экзотермичных по своей природе, а также стабилизация эндотермичных гидрофобных взаимодействий. Гидрофобные взаимодействия наиболее сильны при температуре 70-80 °С. Помимо нековалентных взаимодействий, большую роль в стабильности белка играет температурная зависимость энтропии конформации ($T\Delta S_{conf}$), которая при повышении температуры возрастает, а это благоприятствует «раскручиванию» спиралей молекулы белка. Общая стабильность белка определяется суммарным эффектом этих взаимодействий. Вместе с тем тщательный анализ влияния температуры на различные белковые взаимодействия показал, что в глобулярных белках большинство заряженных групп находится на поверхности молекулы белка и контактирует с водной средой, обладающей большой диэлектрической проницаемостью. Из-за экранирующего действия этой среды силы отталкивания и притяжения между несущими электрический заряд группами сильно ослабевают. Кроме того, при физиологической ионной силе экранирование заряженных белковых групп противоионами приводит к дальнейшему ослаблению электростатических взаимодействий, так что общий эффект электростатических взаимодействий в белках невелик. Поскольку водородные связи в белках в водной среде в целом нестабильны, их стабильность определяется гидрофобными

взаимодействиями, формирующими локальную среду с низкой диэлектрической проницаемостью. Это означает, что при наличии неполярного окружения водородные связи при росте температуры не затрагиваются. Из этого следует, что, хотя температура и влияет на полярные взаимодействия, они не играют большой роли в термической денатурации белков, и стабильность нативного состояния белков зависит от разницы в свободной энергии между гидрофобными взаимодействиями, способствующими «скрученному» состоянию, и энтропией конформационных переходов, обуславливающей «раскручивание» молекулы белка.

Некоторые пищевые белки при низких температурах подвергаются обратимой диссоциации и денатурации. Глицинин (один из резервных соевых белков) при температуре 2 °С агрегируется и осаждается, но при увеличении температуры до комнатной он становится растворимым. При хранении обезжиренного молока при температуре 4 °С из мицелл казеина диссоциирует β -казеин, что изменяет его физико-химические свойства и свойства казеиновых мицелл относительно сычужной свертываемости молока. Некоторые олигомерные ферменты, в частности лактатдегидрогеназа и глицеральдегидфосфатдегидрогеназа, при хранении теряют свою ферментную активность из-за диссоциации субъединиц, однако при выдержке в течение нескольких часов при комнатной температуре они восстанавливают свою структуру и активность.

На стабильность белков влияет и их аминокислотный состав. Белки с высокой долей гидрофобных аминокислотных остатков, особенно Val, Ile, Leu, и Phe, более стабильны, чем более гидрофильные белки. Положительная корреляция существует также между термостабильностью и процентным соотношением некоторых аминокислотных остатков. Например, из статистического анализа 15 различных белков следует, что температура термической денатурации положительно коррелирует ($r = 0,98$) с суммарным содержанием остатков Asp, Cys, Glu, Lys, Leu, Arg, Trp и Tyr, и отрицательно коррелирует ($r = -0,975$) с суммарным содержанием Ala, Asp, Gly, Gln, Ser, Thr, Val и Tyr. Другие аминокислотные остатки слабо влияют на T_D .

Термическая денатурация мономерных глобулярных белков в большинстве случаев обратима. Например, если нагреть мономерные ферменты до 100 °С и затем быстро их охладить до комнатной температуры, то они полностью восстанавливают свою активность. Вместе с тем при длительном нагреве до 90-100 °С даже при нейтральных значениях pH термическая денатурация может стать необратимой, что объясняется некоторыми химическими изменениями в белках – дезамидированием остатков Asn и Gln, разрушением пептидных связей Asp-остатка, разрушением Cys- и цистинового остатков, а также агрегацией. Кроме того, при высоких концентрациях белка (например, >1 мкМ) межмолекулярное взаимодействие между молекулами денатурированного белка приводит к

агрегации и коагуляции, предотвращающей возможность ренатурации и повторного фолдинга белка до его нативной структуры. Свободная энергия белка в агрегированном состоянии меньше, чем в нативном.

Присутствие воды значительно облегчает термическую денатурацию белков. Обезвоженный белок очень стоек к термической денатурации. Значение T_D резко уменьшается, если содержание влаги увеличивается с 0 до 35 г/г белка. При увеличении содержания влаги от 0,35 до 0,75 г/г белка происходит лишь незначительное снижение T_D . При более высоком содержании влаги на 1 г белка значение T_D белка то же, что и для разбавленного раствора белка. Влияние гидратации на термостойкость белка фундаментально обусловлено динамикой белков. В сухом состоянии белки обладают статичной структурой, то есть полипептидные сегменты имеют ограниченную подвижность. По мере увеличения содержания влаги гидратация и частичное проникновение воды в поверхностные пустоты вызывает набухание белка. Такое набухшее состояние, когда белки вместе с водой переходят из аморфного состояния в резиноподобное, при комнатной температуре становится максимальным при содержании влаги 0,3-0,4 г/г белка. Это набухание увеличивает подвижность и гибкость белковой цепи, так что молекула становится структурой более динамичной. При нагревании такая динамичная гибкая структура поставляется больше воды для образования солевых мостиков и пептидных водородных связей, чем у обезвоженного белка, что приводит к снижению T_D .

На термостойкость белков в водных растворах влияет добавление соли и сахара – такие сахара, как сахароза, лактоза, глюкоза и глицерин, делают белки более стойкими к термической денатурации. Добавление к соевым белкам, сывороточному белку и β -лактоглобулину 0,5 М NaCl значительно повысит их T_D .

5.5. Функциональные свойства белков

Пищевые предпочтения человека обусловлены преимущественно такими органолептическими свойствами продуктов, как текстура, вкус и аромат, цвет и внешний вид [7]. Они складываются из целого комплекса взаимодействий между основными и второстепенными компонентами продуктов. Белки существенно влияют на органолептические свойства пищевых продуктов. Например, органолептические свойства хлебобулочных и мучных кондитерских изделий во многом обусловлены вязкопластичностью и тестообразующими свойствами глютена пшеницы, текстура и сочность мясных продуктов – белками мышечной ткани (актином, миозином, актомиозином и некоторыми растворимыми белками мяса), текстура и свертываемость молочных продуктов – уникальной коллоидной структурой мицелл казеина, а структура некоторых кексов, пирожных и взбитых десертов – свойствами яичного белка. Функциональные свойства некоторых белков в различных видах пищевых продуктов приведены в табл. 4.5.

Таблица 4.5

Функциональные свойства белков в пищевых продуктах

Функциональные свойства	Механизм действия	Тип пищевого продукта	Тип белка
Растворимость	Гидрофильность	Напитки	Сывороточные белки
Вязкость	Связывание воды, гидродинамический размер и форма молекулы	Супы, подливы, салатные заправки, десерты	Желатин
Связывание влаги	Водородное связывание, гидратация ионов	Колбасные изделия, кексы, пирожные и хлебобулочные изделия	Мышечные белки, яичный белок
Гелеобразование	Захват и иммобилизация воды, образование сетевой структуры	Мясо, желе, мучные кондитерский и хлебобулочные изделия, сыр	Мышечные белки, яичный и молочный белки
Когезионно-адгезионные свойства	Гидрофобность, водородное и ионное связывание	Мясо, колбасные изделия, макаронные и хлебобулочные изделия	Мышечные белки, яичный белки, сывороточные белки
Эластичность	Гидрофобное связывание, дисульфидные мостики	Мясные и хлебобулочные изделия	Мышечные белки, белки злаковых культур
Эмульгирующие свойства	Адсорбция и пленкообразование на границе раздела фаз	Колбасные изделия, супы, соусы, торты и пирожные	Мышечные белки, яичный и молочный белки
Пенообразующие свойства	То же	Взбитый крем, мороженое, десерты, торты и пирожные	Яичный и молочный белки
Связывание жира и вкусоароматических соединений	Гидрофобное связывание, захват молекул жира и вкусоароматических соединений	Хлебобулочные изделия с пониженным содержанием жира, пончики и пышки	Яичный и молочный белки, белки злаковых культур

Функциональные свойства пищевых белков – это те их физические и химические свойства, которые определяют поведение белков в процессе переработки, хранения, кулинарной обработки и потребления пищевых продуктов.

Органолептические свойства обусловлены комплексными взаимодействиями различных функциональных ингредиентов. Например, органолептическое ощущение от кексов и пирожных обусловлено геле- и пенообразующими способностями, а также эмульгирующими свойствами входящих в их состав ингредиентов. Для использования белка в качестве ингредиента кексов, пирожных и других аналогичных изделий он должен обладать многими функциональными свойствами. Белки животного происхождения (например, молочные (казеины),

яичный и мышечные) широко применяются в промышленном производстве пищевых продуктов. Эти белки представляют собой смесь нескольких белков с широким набором физико-химических свойств, которая обладает различными функциональными свойствами. Например, яичный белок обладает гелеобразующей, эмульгирующей и пенообразующей способностями, может связывать воду и коагулировать при нагревании, что делает его желательным компонентом во многих продуктах. Свойства яичного белка обусловлены комплексным взаимодействием составляющих его белков, а именно овальбумина, кональбумина, лизоцима, овомуцина и других альбуминоподобных белков. Растительные (например, соевый и белки других бобовых и масличных культур) и другие белки (в частности, сывороточные), в производстве традиционных пищевых продуктов используются меньше. Несмотря на то, что эти белки также представляют собой смесь нескольких белков, они не столь функциональны, как животные белки. Конкретные молекулярные особенности белков, отвечающих за различные характерные свойства продуктов, изучены еще недостаточно.

К физическим и химическим свойствам, обуславливающим характерные функциональные свойства белков, относятся размер и форма их молекул, состав аминокислот и их последовательность, общий заряд и его распределение гидрофобность/гидрофильность, наличие вторичных, третичных и четвертичных структур, гибкость или жесткость молекулы, а также способность взаимодействовать с другими компонентами. Так как белки обладают многими свойствами, описать роль каждого из этих свойств применительно к конкретной функции довольно сложно.

Эмпирически различные функциональные свойства белков можно рассматривать как проявление трех молекулярных аспектов, гидратации, поверхностных и гидродинамических (реологических) свойств (табл. 4.6). Хотя о физико-химических свойствах некоторых белков известно уже довольно много, прогнозирование их функциональных свойств на основе молекулярных возможно далеко не всегда. В модельных системах белков установлены некоторые эмпирические соотношения между их молекулярными и функциональными свойствами. Однако такие модельные системы не всегда правильно отражают реальное поведение белков в пищевых продуктах. Это проявляется, в частности, и в денатурации белков. Степень денатурации зависит от значений pH, температуры, других технологических параметров, а также от характеристик продукта. Как правило, в реальных продуктах белок взаимодействует со многими другими ингредиентами жирами, сахарами, полисахаридами, солями и минорными компонентами, которые изменяют функциональные свойства белков. Несмотря на эти трудности, в понимании взаимосвязи различных физико-химических свойств белковых молекул и функциональными свойствами белков достигнут значительный прогресс.

Связь между физико-химическими и функциональными свойствами белков в пище

Базовые свойства	Функциональные свойства
Гидратация	Растворимость, диспергируемость, смачиваемость, набухание, загустевание, влагоудерживающая способность (ВУС)
Поверхностная активность	Эмульгирующие и пенообразующие свойства, связывание вкусоароматических и красящих соединений
Гидродинамические (реологические)	Пластичность, вязкость, когезионная способность, разжевываемость, адгезия, липкость, геле- и тестообразование, текстуризация

4.5.1 Гидратация белка

Важнейшим компонентом пищевых продуктов является вода. Реологические свойства и текстура пищевых продуктов во многом зависят от взаимодействия воды с другими ингредиентами, особенно с макромолекулами белков и полисахаридами. Под действием влаги физико-химические свойства белков меняются. Так, под пластифицирующим действием воды на полукристаллические и аморфные белки меняются температуры стеклования и денатурации (T_D). При температуре стеклования осуществляется переход хрупких аморфных твердых тел (типа стекла) в гибкое резиноподобное состояние, а при температуре плавления кристаллическое твердое тело приобретает разупорядоченную структуру [8].

Многие функциональные свойства белков (диспергируемость, смачиваемость, набухание, растворимость, загустевание (увеличение вязкости), влагоудерживающая способность, гелеобразование, коагуляция, эмульгирующие и пенообразующие свойства) зависят от взаимодействий белков с водой. В пищевых продуктах с небольшим или средним содержанием влаги (например, в хлебобулочных изделиях и продуктах из мясного фарша) способность белков связывать воду очень важна для потребительских свойств этих продуктов, а способность белков обеспечивать сбалансированность взаимодействий «белок-белок» и «белок-вода» очень важна для их гелеобразующих свойств.

Молекулы воды связываются в белках с несколькими группами. К таким группам относятся группы, несущие электрический заряд (ион-дипольные взаимодействия), пептидные группы каркаса, амидные группы Asn и Gln, гидроксильные группы Ser, Thr и Tyr-остатков (диполь-дипольные взаимодействия), а также неполярные замещенные группы (взаимодействия «диполь-индуцированный диполь» и гидрофобная гидратация).

Влагосвязывающую способность белков определяют в граммах связанной воды на грамм белка при насыщении обезвоженного белка водяным паром при относительной влажности 90-95%. Данные по этой влагосвязывающей способности (иногда ее называют гидратационной способностью) различных полярных и неполярных аминокислотных остатков белков приведены в табл. 4.7. Аминокислотные остатки с заряженными группами связывают примерно 6 М воды

на один заместитель, незаряженные полярные остатки – примерно 2 М на остаток, а неполярные группы – примерно 1 моль на остаток. Гидратационная способность белков обусловлена их аминокислотным составом: чем больше заряженных остатков, чем выше гидратационная способность, которую можно рассчитать по аминокислотному составу.

Таблица 4.7

Гидратационная способность аминокислотных остатков^a

Аминокислотные остатки	Гидратация H ₂ O/остаток, М/М	Аминокислотные остатки	Гидратация H ₂ O/остаток, М/М
Полярные		Ионные	
Asn	2	Asp ⁻	6
Gln	2	Gln-	7
Pro	3	Tyr ⁻	7
Ser, The	2	Arg ⁺	3
Trp	2	His ⁺	4
Asp (неионизированный)	2	Lys ⁺	4
Glu (неионизированный)	2	Неполярные	
Tyr	3	Ala	1
Arg (неионизированный)	3	Gly	1
Lys (неионизированный)	4	Phe	0
		Val, Ile, Leu, Met	1

^a Отражает незамороженную воду, связанную с аминокислотными остатками; по данным ЯМР-анализа полипептидов

Экспериментально полученные величины гидратационной способности некоторых глобулярных белков хорошо согласуются с рассчитанными по вышеприведенному уравнению, но расходятся со значениями для олигомерных белков. Так как олигомерные структуры включают частично «заглубленные» участки поверхности белка на границе раздела «субъединица-субъединица», рассчитанные значения обычно больше экспериментальных. С другой стороны, экспериментальные значения гидратационной способности казеиновых мицелл (около 4 г воды/г белка) намного превышают данные расчета, что объясняется огромными пустотами в структуре казеиновых мицелл, поглощающими воду под действием капиллярных сил и путем физического захвата.

На макроскопическом уровне связывание воды с белком происходит постепенно. Ионные группы обладают высоким сродством к воде и сольватируются первыми при низкой активности воды, после чего сольватируются полярные и неполярные группы. Последовательность стадий при увеличении активности воды представлена на рис. 4.8. Изотермы сорбции белков, то есть количество связанной воды на 1 г белка как функция относительной влажности, имеют вид сигмоидальной кривой. У большинства белков насыщенный монослой гидратационной воды образуется при значениях активности воды (a_w) около 0,7-0,8, а мультислой воды образуется при $a_w > 0,8$. Насыщенный монослой воды

сначала связывается с ионными, полярными и неполярными группами на поверхности белка. Эта вода не замерзает и не действует в химических реакциях как растворитель, так что зачастую ее называют «связанной водой», что следует понимать как «вода с ограниченной подвижностью». При гидратации с 0,07 до 0,27 г/г энергия, необходимая для десорбции воды от поверхности белка, составляет при температуре при 25 °С около 0,18 ккал/моль, тогда как кинетическая энергия воды при 25 °С – около 1 ккал/моль, что больше, чем свободная энергия десорбции, и поэтому молекулы воды в монослой умеренно подвижны.

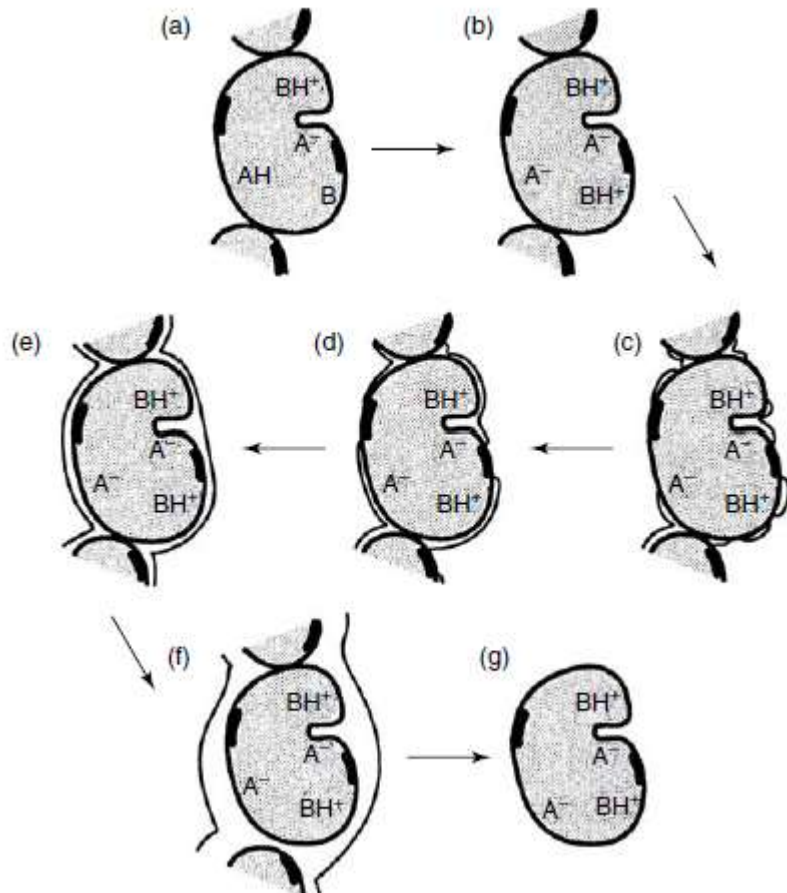


Рис. 4.8. Последовательность стадий гидратации белка: а – негидратированный белок; б – начальная гидратация заряженных групп; в – образование кластеров воды вблизи полярных и заряженных частиц; г – завершение гидратации на полярных поверхностях; д – гидрофобная гидратация неполярных участков, завершение гидратационного монослоя; е – образование мостиков между водой, связанной с белком, и объемной водой; ж – завершение гидродинамической гидратации

При значении a_w 0,9 белки связывают около 0,3-0,5 г воды/г белка (табл. 4.8). При $a_w > 0,9$ жидкая (объемная) вода конденсируется в изломах и углублениях молекул белка или в капиллярах нерастворимых белковых систем типа миофибрилл. Свойства такой воды не отличаются от свойств объемной воды.

Такую воду называют гидродинамической, и она перемещается вместе с молекулой белка.

На связывание воды белками влияют такие условия окружающей среды, как рН, ионная сила, температура, тип соли и конформация белка. Белки меньше всего гидратированы в их изоэлектрической точке, когда усиленные взаимодействия «белок-белок» обуславливают минимальное взаимодействие с водой. Выше и ниже изоэлектрической точки из-за увеличения общего заряда и сил отталкивания белки набухают и связывают больше воды. Способность большинства белков связывать воду при значениях рН 9-10 выше, чем при любом другом рН, что объясняется ионизацией сульфгидрильного и тирозинового остатков. При рН более 10 положительный заряд 8-аминогрупп лизильных остатков утрачивается, что приводит к уменьшению связывания воды.

Соли в низкой концентрации (< 0,2 М) усиливают связывание воды белками, что объясняется гидратацией ионов соли, особенно анионов, связанных со слабозаряженными белковыми группами. При такой низкой концентрации связывание ионов с белками не влияет на гидратационный слой заряженных групп белка, и усиление связывания воды приходится на воду, связанную с ионами. При высокой концентрации соли с ионами соли связывается почти вся вода, что приводит к гидратации белка.

Таблица 4.8

Гидратационная способность некоторых белков

Белок	г воды/г белка
Чистые белки	
Рибонуклеоза	0,53
Лизоцим	0,34
Миоглобин	0,44
β-Лактоглобулин	0,54
Химотрипсин	0,23
Сывороточный альбумин	0,33
Гемоглобин	0,62
Коллаген	0,45
Казеин	0,40
Овальбумин	0,30
Белковые препараты промышленного изготовления	
Концентраты сывороточного белка КСБ	0,45-0,52
Казеинат натрия	0,38-0,92
Соевый белок	0,33

При повышении температуры связывание воды белками снижается, так как ослабляется водородное связывание и уменьшается гидратация ионных групп. Связывание воды денатурированными белками на 10% выше, чем нативными, что является следствием увеличения площади поверхности относительно массы с выходом на поверхность некоторых «заглубленных» до этого гидрофобных групп.

Если при денатурации происходит агрегация белка, то связывание воды снижается вследствие замещения воды усиленными взаимодействиями «белок – белок». Денатурированные пищевые белки обычно характеризуются низкой растворимостью в воде, однако их влагосвязывающая способность (ВСС) не слишком отличается от ВСС нативного белка. Из-за этого показатель ВСС нельзя использовать для прогнозирования растворимости белков, которая зависит не только от ВСС, но и от других термодинамических факторов.

В производстве пищевых продуктов намного важнее показатель влагоудерживающей способности (ВУС). Понятие ВУС относится к способности белков поглощать и удерживать воду, противодействуя гравитационным силам внутри белкового матрикса (белкового геля, мышечной ткани животных и рыб). Такая вода представляет собой сумму связанной, гидродинамической и физически захваченной воды, однако исследования показали, что ВУС положительно коррелируется с ВСС. Способность белков захватывать воду обуславливает сочность и мягкость продуктов из мясного фарша и желаемую текстуру хлебобулочных и гелеподобных продуктов.

4.5.2 Растворимость

Функциональные свойства белков, особенно загущающие, пенообразующие, эмульгирующие и гелеобразующие, во многом зависят от растворимости. Нерастворимые белки используются в производстве пищевых продуктов очень редко. Растворимость белка представляет собой отражение термодинамического равновесия во взаимодействиях «белок – белок» и «белок – растворитель»:



Агрегация белков в воде, приводящая обычно к их нерастворимости, включает баланс между силами электростатического отталкивания, способствующими сольюбилизации, и ван-дер-ваальсовыми силами притяжения между молекулами белка, способствующими осаждению.

Общее изменение свободной энергии для растворения белка может выразить в виде:

$$E_{\text{общ}} = E_{\text{элек}} + E_{\text{ВДВ}} + E_{\text{гидрофоб}}.$$

Если потенциальная энергия электростатического отталкивания больше («более отрицательна»), чем сумма сил притяжения (положительных) Ван-дер-Ваальса и потенциальной энергии гидрофобности, то есть, если $E_{\text{общ}}$ отрицательна, то белок будет переходить в раствор (растворяться). И наоборот, если $E_{\text{общ}}$ процесса будет положительна, то белок будет агрегировать и выпадать в осадок. Силы Ван-дер-Ваальса и силы гидрофобных взаимодействий – это всегда силы притяжения, так что именно электростатический компонент (и, следовательно, гидрофильность белка) определяет, будет ли белок растворяться при данной значении и рН.

Чем меньше средняя гидрофобность и чем больше частота встречаемости заряда, тем выше растворимость данного белка. Несмотря на то, что эта эмпирическая корреляция верна для большинства белков, она все-таки не абсолютна. Растворимость белка обусловлена гидрофильностью и гидрофобностью тех участков его поверхности, которые контактируют с окружающей водой, а не средней гидрофобностью и частотой заряда молекулы в целом. Поскольку большинство гидрофобных остатков заглублены во внутреннюю часть молекулы белка, на растворимость будут влиять лишь те неполярные группы, которые находятся на поверхности. Чем меньше будет число гидрофобных областей на поверхности, тем выше будет растворимость.

По своей способности к растворению белки подразделяют на четыре категории:

- *альбумины*, растворимые в воде при рН 6,6 (в частности, сывороточный альбумин, овальбумин и α -лактальбумин);
- *глобулины*, растворимые в слабых солевых растворах при рН 7,0 (в частности, глицинии, фазеолин и β -лактальбумин);
- *глутелины*, растворимые только в кислых (рН 2) и щелочных (рН 12) растворах (в частности, глутелины пшеницы);
- *проламины*, которые растворимы в 70%-ном этаноле (в частности, зеин и глиадины).

Проламины и глутелины представляют собой сильно гидрофобные белки.

Помимо этих внутренне присущих белкам физико-химических свойств на их растворимость влияют условия раствора – значение рН, ионная сила, температура и присутствие органических растворителей.

4.5.2.1 Значение рН

При значениях рН выше и ниже изоэлектрической точки белки имеют общий положительный или отрицательный заряд. Солюбилизации белков способствуют также силы электростатического отталкивания и гидратация несущих заряд остатков. При построении зависимости «растворимость – значение рН» у большинства белков получается U-образная кривая. Минимум растворимости приходится на изоэлектрическую точку белков. Большинство пищевых белков имеют кислотную природу, то есть суммарное число остатков Asp и Glu больше, чем суммарное число Lys, Arg и His-остатков. Следовательно, минимум растворимости приходится на значение рН 4-5 (изоэлектрическая точка), а максимум – на щелочные значения рН. Минимальная растворимость вблизи изоэлектрической точки объясняется преимущественно недостаточными силами электростатического отталкивания, что приводит к агрегации и осаждению посредством гидрофобных взаимодействий. Некоторые пищевые белки, в частности β -лактоглобулин (рI 5,2) и бычий сывороточный альбумин (рI 5,3), в изоэлектрической точке хорошо растворимы. У этих белков на поверхности

молекулы велико соотношение числа гидрофильных остатков и числа неполярных групп. Не следует забывать, что, хотя белки при рН электрически нейтральны, на поверхности их молекулы имеется равное число положительных и отрицательных зарядов, что обуславливает гидрофильность белков. Если гидрофильность и силы гравитационного отталкивания, возникающие из-за наличия заряженных остатков, превышают гидрофобные взаимодействия «белок – белок», то белок в изоэлектрической точке растворим.

Поскольку большинство белков хорошо растворимы при щелочных значениях рН (8-9), экстракцию белков из растительного сырья (например, из соевой муки) можно проводить при этих значениях рН.

При тепловой денатурации профиль кривой «рН – растворимость» у белков меняется (рис. 4.9). Натуральный изолят белка сыворотки (ИБС) при рН 2-9 полностью растворим, но при нагревании до 70 °С в течение 1-10 мин он дает обычную U-образную кривую растворимости с минимумом при рН 4,5. Эти изменения кривой растворимости при тепловой денатурации вызваны увеличением гидрофобности поверхности белковой молекулы вследствие ее раскручивания, что, в свою очередь, изменяет равновесие во взаимодействиях «белок – белок» и «белок – растворитель» в пользу первого.

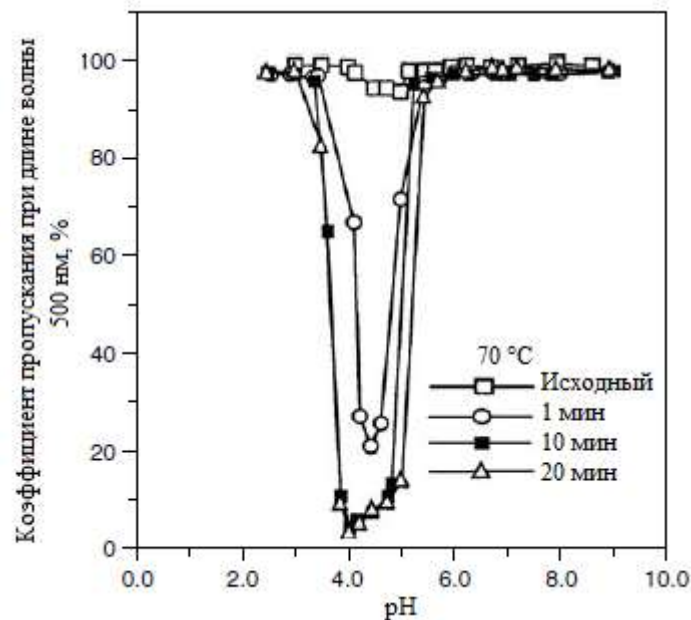


Рис. 4.9. Кривая «рН-растворимость» растворов изолята белка сыворотки, нагретых до 70 °С за различное время

4.5.2.2 Ионная сила

Ионная сила солевого раствора вычисляется по уравнению

$$\mu = 0,5 \sum C_i Z_i^2, \quad (4.19)$$

где C_i – концентрация данного иона; Z_i – его валентность.

При малой ионной силе ($< 0,5$) ионы нейтрализуют заряды на поверхности молекул белков [5]. Такой эффект экранирования заряда влияет на растворимость двумя разными способами в зависимости от характеристик поверхности молекулы белка. Для белков с большой долей неполярных участков растворимость уменьшается; а для белков с небольшой их долей она увеличивается. Первый тип характерен для соевых белков, а второй – для β -лактоглобулина. Если снижение растворимости связано с усилением гидрофобных взаимодействий, то ее увеличение – с повышением ионной активности макроионов белков. При ионной силе выше 1 соли действуют на растворимость белков специфически. По мере увеличения концентрации соли сульфаты и фториды снижают растворимость (высаливание), а бромиды, йодиды, тиоцианаты и перхлораты ее повышают (всаливание). При постоянной ионной силе относительная эффективность различных ионов относительно растворимости соответствует ряду Гофмейстера по анионам, повышающим растворимость ($\text{SO}_4^{2-}; < \text{F}^- < \text{Cl}^- < \text{Br}^- < \text{I}^- < \text{ClO}_4^-; < \text{SCN}^-$), и катионам, ее уменьшающим ($\text{NH}_4^+ < \text{K}^+ < \text{Na}^+ < \text{Li}^+ < \text{Mg}^{2+} < \text{Ca}^{2+}$). Такое действие аналогично влиянию соли на термическую денатурацию белков.

4.5.5.3 Температура

При постоянных температуре и ионной силе растворимость большинства белков в диапазоне температур $0..40$ °C увеличивается. Исключение составляют сильно гидрофобные белки типа β -казеина и некоторые белки злаковых культур. При температуре выше 40 °C увеличение термической кинетической энергии приводит к «раскручиванию» структуры молекулы белков (денатурации), выходу наружу неполярных групп, агрегации и осаждению, то есть к снижению растворимости.

4.5.3 Поверхностно-активные свойства белков

Некоторые натуральные и переработанные пищевые продукты представляют собой пену либо эмульсию. Это типы дисперсных систем нестабильны без внесения на границу раздела фаз соответствующего амфифильного вещества. Молекулы белков амфифильны и спонтанно мигрируют к границе раздела фаз «воздух-вода» или «масло-вода». Такая спонтанная миграция из жидкости к границе раздела фаз свидетельствует, что свободная энергия белков на этой границе меньше, чем в объемной водной фазе. При установлении состояния равновесия концентрация белка на границе раздела фаз всегда будет больше, чем в объемной водной фазе. В отличие от низкомолекулярных ПАВов, белки образуют на границе раздела фаз вязкоэластичные пленки, способные противостоять механическим воздействиям при хранении и обработке. Стабилизированные белками пены и эмульсии более стабильны, чем обработанные низкомолекулярными ПАВами, благодаря чему белки нашли здесь широкое применение [9].

Хотя все белки амфифильны, они значительно различаются по своей поверхностной активности, что нельзя отнести на счет различий в соотношении гидрофобных и гидрофильных остатков. Если бы доминирующим фактором в определении поверхностной активности белков была большая разница в отношении «гидрофобность/гидрофильность», то растительные белки с более чем 40 % гидрофобных аминокислотных остатков проявляли бы лучшие поверхностно-активные свойства, чем альбуминоподобные белки (овальбумин и бычий сывороточный альбумин) с менее чем 30% гидрофобных аминокислотных остатков. Вместе с тем у этих животных белков эмульгирующие и пенообразующие свойства лучше, чем у соевого и других растительных белков. Кроме того, средняя гидрофобность большинства белков попадает в довольно узкий диапазон, но при этом различия в их поверхностной активности довольно велики. Эти различия в поверхностной активности следует, в первую очередь, отнести к конформации белков. К таким конформационным факторам относятся стабильность и гибкость полипептидной цепи, легкая адаптация к изменениям условий среды, а также модель распределения гидрофильных и гидрофобных групп на поверхности молекулы белка. Все эти факторы взаимосвязаны и совместно обуславливают сильное влияние на поверхностно-активные свойства белков.

Известно, что белки с желаемыми поверхностно-активными свойствами должны быть способны:

- быстро адсорбироваться к границе раздела фаз;
- быстро «раскручиваться» на границе раздела фаз и переориентироваться;
- взаимодействовать на границе раздела фаз с соседними молекулами и образовывать стабильную когезионную вязкоэластичную пленку, противодействующую механическим и термическим воздействиям.

Для образования и стабилизации пен и эмульсий необходимо присутствие ПАВа, способного уменьшить поверхностное натяжение между водной и воздушной (жировой) фазами. Для этого используют либо низкомолекулярные ПАВ типа лецитина, моноацилглицерина и т.п. или высокомолекулярные белки. При равной концентрации на границе раздела фаз белки менее эффективны относительно уменьшения поверхностного натяжения, чем низкомолекулярные ПАВы. Обычно большинство белков снижают поверхностное натяжение в насыщенном монослое на границе раздела фаз «воздух-вода» или «масло-вода» примерно на 15 мН/м, а низкомолекулярные ПАВ – на 30-40 мН/м. Неспособность белков сильно снижать поверхностное натяжение объясняется их сложной структурой. Несмотря на то что в структуре белков присутствуют и гидрофильные, и гидрофобные группы, у этих групп нет четкой гидрофильной головки и гидрофобного хвоста, как у лецитина или моноацилглицерина. Эти группы в первичной структуре распределены неупорядоченно, а в четвертичной свернутой

конформации некоторые гидрофобные остатки образуют на поверхности молекулы белка отдельные участки, а большинство гидрофобных остатков «заглублены» внутрь молекулы.

Модель распределения гидрофильных и гидрофобных участков по поверхности молекулы белка влияет на скорость адсорбции на границе раздела фаз «воздух-вода» и «масло-вода». Если поверхность молекулы белка очень гидрофильна и содержит небольшое количество гидрофобных участков, то закрепление белка на границе раздела фаз может не происходить, поскольку в водной фазе поверхность молекулы будет иметь меньшую свободную энергию, чем на границе раздела фаз. По мере увеличения числа гидрофобных участков спонтанная адсорбция к границе раздела фаз становится более вероятной (рис. 4.10).

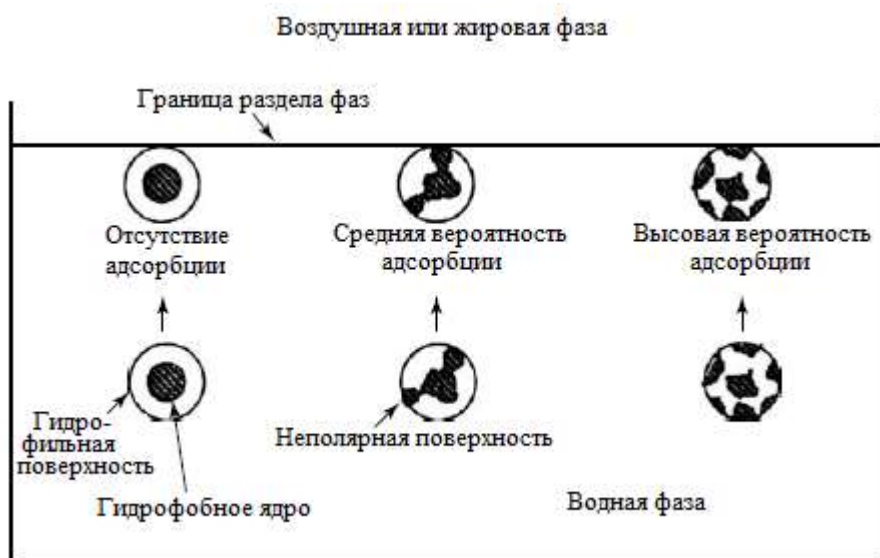


Рис. 4.10. Схематическое изображение влияния гидрофобных участков поверхности молекулы белка на вероятность адсорбции белков к границе раздела фаз «воздух-вода»

Только гидрофобные остатки, случайным образом распределенные по поверхности молекулы белка, не образуют ни гидрофобного участка («пятна»), ни обладают достаточной энергией для закрепления белка на границе раздела фаз. Даже если неполярные остатки занимают более чем 40 % доступной поверхности обычного глобулярного белка, они не увеличат адсорбцию до тех пор, пока они не агрегируются. Другими словами, характеристики поверхности молекулы белка существенно влияют на способность белка спонтанно адсорбироваться к границе раздела фаз и на их эффективность как стабилизаторов дисперсий.

Адсорбция белков к границе раздела фаз отличается от адсорбции низкомолекулярных ПАВ. У таких ПАВ, как фосфолипиды и моноацилглицерины, отсутствует конформационное сопротивление адсорбции и ориентации, поскольку гидрофильные и гидрофобные участки находятся на разных сторонах молекулы. У белков же распределение гидрофильных и гидрофобных участков на поверхности

молекулы и ее структурная жесткость препятствует адсорбции и ориентации. Из-за объемной природы свернутой молекулы белка однажды адсорбированные молекулы остаются в объемной фазе, и лишь малая их доля закрепляется на границе раздела фаз (рис. 4.11). Сила сцепления таких «закрепленных» молекул зависит от количества закрепленных пептидных сегментов и энергии взаимодействия между этими сегментами и границей раздела фаз. Белок закрепится на границе только в том случае, если сумма изменения негативной свободной энергии взаимодействия сегментов намного превышает тепловую кинетическую энергию молекулы белка. Количество пептидных сегментов, закрепившихся на границе раздела фаз, зависит, в частности, от конформационной гибкости молекулы. Такие очень гибкие молекулы, как казеин, при адсорбции на межфазной границе могут быстро изменять конформацию, позволяя связываться с границей раздела фаз дополнительным сегментам полипептидов. Жесткие глобулярные белки, например, лизоцим и соевый белок, не проявляют на границе раздела фаз существенных конформационных изменений.

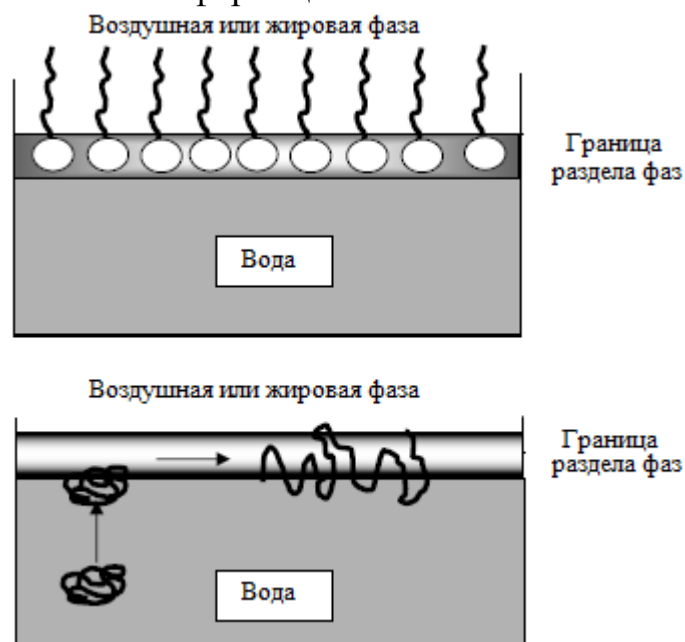


Рис. 4.11. Различие в адсорбции низкомолекулярных ПАВ (сверху) и белков (снизу) на границе раздела фаз «воздух-вода» или «масло-вода»

Полипептидные цепи на межфазной границе принимают три различные конфигурации: «цепочки», «петли» и «хвосты» (рис. 4.12). Цепочки – это сегменты, полностью находящиеся на границе раздела фаз, петли – это сегменты полипептидов, суспендированные в водную фазу, а хвосты – это N- и C-концевые сегменты белков, обычно расположенные в водной фазе. Относительное распределение этих трех конфигураций зависит от конформационных характеристик белков. Чем больше доля полипептидных сегментов в цепочечной конфигурации, тем сильнее связывание и тем меньше поверхностное натяжение.

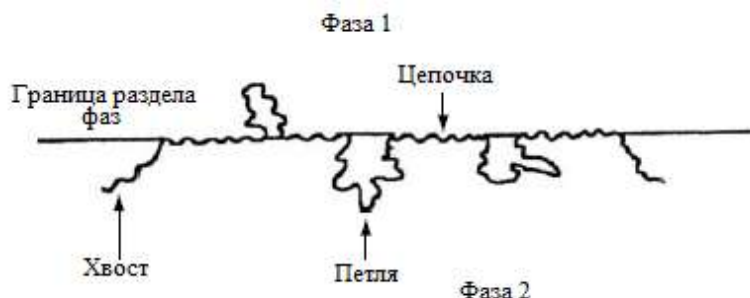


Рис. 4.12. Различные конфигурации гибких полипептидов на границе раздела фаз

Единственным значимым показателем, влияющим на поверхностно-активные свойства белков, является их молекулярная гибкость, помогающая быстро менять конформацию при миграции из одной среды в другую (например, из объемной водной фазы на границу раздела фаз). В качестве меры молекулярной гибкости зачастую используют адиабатическую сжимаемость белков. Исследования разных по структуре белков показали, что динамика поверхностно-активных свойств белков, то есть уменьшение поверхностного натяжения под действием 1 мг белка на 1 см² при адсорбции из объемной фазы к границе раздела фаз «воздух-вода», имеет линейную положительную корреляцию с адиабатической сжимаемостью белков. Быстрое конформационное изменение на границе раздела фаз весьма существенно для переориентации гидрофобных и гидрофильных остатков по направлению к жировой и водной фазам и для обеспечения максимального контакта и распределения остатков в этих двух фазах, что обеспечивает быстрое снижение поверхностного натяжения, особенно на начальной стадии образования эмульсии.

Механическая прочность белковой пленки на границе раздела фаз зависит от межмолекулярных когезионных взаимодействий, к которым относятся электростатические силы, силы водородного связывания и гидрофобные взаимодействия. Кроме того, межфазная полимеризация адсорбированных белков через дисульфидные и сульфгидрильные реакции улучшает вязкоэластичные свойства. Концентрация белка в межфазной пленке составляет около 20-25 % масс/об., причем белок находится почти в гелеподобном состоянии. Для стабильности и вязкоэластичности этой гелеподобной пленки очень важна сбалансированность различных нековалентных взаимодействий. Например, при слишком сильных гидрофобных взаимодействиях могут произойти межфазная агрегация, коагуляция, и, возможно, осаждение белка, что отрицательно сказывается на целостности пленки. Если силы электростатического отталкивания намного превышают силы притяжения, то это препятствует образованию толстой когезионной пленки. Это означает, что должен существовать некий баланс между силами притяжения и отталкивания с одной стороны, и гидратацией для образования стабильной вязкоэластичной пленки, с другой. Различные

молекулярные процессы в ходе адсорбции и образования белковой пленки на границе раздела фаз представлены на рис. 4.13.

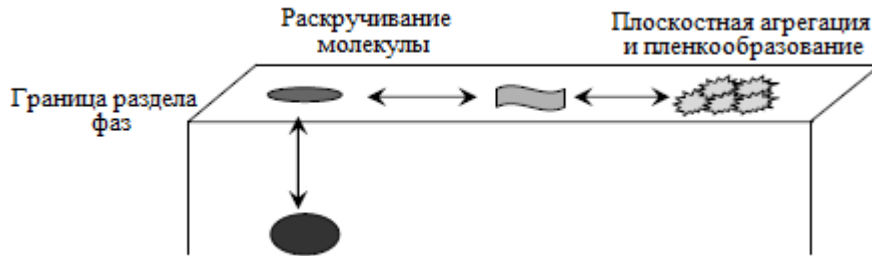


Рис. 4.13. Различные молекулярные процессы в белковой пленке на границе раздела фаз

Те же принципы лежат в основе образования и стабильности пен и эмульсий, однако из-за различий в энергетике границ раздела фаз на этих границах необходимо проявление других функций белков. Другими словами, белки, являющиеся хорошими эмульгаторами, могут не быть хорошими пенообразователями.

Следует осознавать, что на границе раздела фаз поведение белков очень сложно и изучено еще недостаточно, в связи с чем последующее изложение эмульгирующих и пенообразующих свойств пищевых белков будет иметь, как правило, описательный характер.

4.5.3.1 Эмульгирующие свойства

Некоторые натуральные и переработанные пищевые продукты (молоко, кокосовое и соевое молоко, яичный желток, сливочное масло, маргарины, майонезы, спреды, замороженные десерты, сосиски и колбасные изделия, кексы и пирожные) являются продуктами эмульсионной природы, и в них белок выполняет функцию эмульгатора [10]. В натуральном молоке мембраны жировых глобул состоят из липопротеинов, стабилизирующих глобулы жира. В гомогенизированном молоке белковая пленка состоит из казеиновых мицелл, а липопротеиновые мембраны заменены сывороточными белками. Гомогенизированное молоко более стойко к взбиванию, чем натуральное, поскольку пленка из казеиновых мицелл и сывороточных белков более стойкая, чем натуральные липопротеиновые мембраны.

4.5.3.1.1 Методы определения эмульгирующих свойств белков

Эмульгирующие свойства пищевых белков оценивают разными методами, в частности, путем определения распределения размеров образованных жировых капель, эмульгирующей способности, эмульгируемого объема (ЭО) и стабильности эмульсии.

Показатель эмульгирующей способности. Физические и органолептические свойства эмульсий, стабилизированных белками, зависят от размера образованных капель и общей площади поверхности образовавшейся границы раздела фаз.

Средний размер капель в эмульсиях определяется методами световой микроскопии (этот метод не очень надежен), электронной микроскопии, светорассеяния (фотонной корреляционной спектроскопии) или с использованием счетчика Коултера (Coulter). Зная размер капель, общую площадь поверхности раздела фаз можно получить из уравнения

$$A = \frac{3\phi}{R}, \quad (4.20)$$

где ϕ – объемная доля дисперсной фазы (жира); R – средний радиус частиц эмульсии.

Если массу белка обозначить m , то показатель эмульгирующей способности (ПЭС), то есть площадь раздела фаз, приходящаяся на единицу массы белка, рассчитывается как

$$A = \frac{3\phi}{Rm}. \quad (4.21)$$

Другой простой и более практичный метод определения ПЭС – это турбидиметрический метод. Мутность эмульсии (T) вычисляется по формуле

$$T = \frac{2,303A}{l}, \quad (4.22)$$

где A – светопоглощение, l – длина пути луча света.

Эмульгируемый объем (ЭО) – это объем жира (см^3), который можно эмульгировать одним граммом белка до инверсии фаз (изменения эмульсии «масло-в-воде» на эмульсию «вода-в-масле»). При данном методе масло или растопленный жир добавляют (при постоянной скорости и температуре) непрерывно перемешиваемый водный раствор белка. Момент инверсии фаз определяют по резкому изменению вязкости или цвета (обычно в масло добавляют краситель), а также по увеличению электрического сопротивления. Для стабилизированных белками эмульсий фазовая инверсия наступает, когда ϕ достигает значения примерно 0,65-0,85. Инверсия фаз – процесс не мгновенный, ему предшествует образование двойной эмульсии «вода-в масле-в воде». Так как ЭО выражается через объем эмульгированного жира на грамм белка, он увеличивается с уменьшением концентрации белка до значения, когда неадсорбированный белок накапливается в водной фазе. Для сравнения ЭО различных белков строят зависимость ЭО от концентрации белка.

Стабильность эмульсии. Стабилизированные белком эмульсии стабильны несколько суток, то есть обычно при хранении образца на воздухе не обнаруживается заметного разделения фаз. Для оценки стабильности эмульсии зачастую применяют хранение при повышенных температурах или центрифугирование. В последнем случае стабильность эмульсии выражается или как процент уменьшения площади раздела фаз (мутности), или как объемный процент отделенной взбитой части, или как содержание жира во взбитой части. Чаще всего стабильность эмульсии (СЭ) выражают как

$$СЭ = \frac{\text{Объем взбитого слоя}}{\text{Общий объем эмульсии}} \cdot 100, \quad (4.23)$$

где объем взбитого слоя вычисляют при стандартном центрифугировании (центрифугирование известного объема в градуированной пробирке центрифуги, 1300 g в течение 5 мин). После этого измеряют отделенный объем взбитой жидкости и выражают его в процентах от общего объема.

4.5.3.1.2 Факторы, влияющие на эмульгирование

На свойства эмульсий, стабилизированных белком, влияют несколько факторов – как внутренние (значение рН, ионная сила, температура, присутствие низкомолекулярных ПАВ, сахаров, объемной жировой фазы, тип белка и точка плавления жира), так и внешние (тип оборудования, темпы подвода энергии и скорость сдвига). Стандартного метода для систематической оценки эмульгирующих свойств белков не существует, а значит, результаты, полученные в разных лабораториях, не подлежат точному сравнению. Это препятствует более точному пониманию молекулярных факторов, влияющих на эмульгирующие свойства белков [11].

Для эмульгирующих свойств важна растворимость, но 100%-ная растворимость является отнюдь не необходимым условием. Белки с крайне низкой растворимостью вообще не обладают эмульгирующей способностью, а в диапазоне растворимости 25-80% не существует надежного соотношения между растворимостью белка и его эмульгирующими свойствами. Вместе с тем, поскольку стабильность белковой пленки на границе раздела фаз зависит от желаемых взаимодействий с жировой и водной фазой, то для эмульгирующих свойств необходима некоторая степень растворимости белка. Минимальное значение растворимости для различных белков разное. В эмульгированных мясных продуктах (например, сосисках) солубилизация миофибриллярных белков в 0,5 М NaCl усиливает их эмульгирующие свойства. Некоторые коммерчески выпускаемые изоляты соевых белков, получаемые путем тепловой обработки, характеризуются слабыми эмульгирующими свойствами именно из-за их низкой растворимости.

Образование и стабильность эмульсий, стабилизированных белком, зависят от значения рН. Как правило, высокорастворимые в изоэлектрической точке белки (например, сывороточный альбумин, желатин и яичный белок) при этом значении рН характеризуются максимальной эмульгирующей способностью и ЭО. Отсутствие в изоэлектрической точке суммарного электрического заряда и сил электростатического отталкивания способствует максимальной белковой нагрузке на границе раздела фаз и образованию высокоэластичной пленки, что благоприятно сказывается на стабильности эмульсии. Вместе с тем отсутствие сил электростатического отталкивания между частицами эмульсии в некоторых

случаях способствует флокуляции и коалесценции, что снижает стабильность эмульсии.

4.5.3.2 Пенообразующие свойства

Пена состоит из двух фаз – дисперсионной водной и воздушной дисперсной [12]. Многие переработанные пищевые продукты являются по сути пенами – это относится, например, ко взбитым сливкам, мороженому, меренгам, хлебобулочным изделиям, кексам, суфле, муссам и маршмеллоу. Уникальные текстура этих продуктов и ощущение от них во рту являются следствием наличия в них диспергированных мельчайших пузырьков воздуха. В большинстве этих продуктов основными поверхностно-активными веществами, способствующими образованию и стабильности дисперсной газовой фазы, являются белки.

Как правило, пены, стабилизированные белком, получают путем барботирования, взбивания или встряхивания раствора белка. Пенообразующие свойства белков обусловлены их способностью образовывать тонкую прочную пленку на границе раздела фаз «газ-жидкость», так что в продукт может быть включено и стабилизировано большое количество пузырьков воздуха. Пенообразующие свойства оценивают разными способами. Способность белков к пенообразованию зависит от площади образуемой ими поверхности раздела фаз, которую можно рассчитать несколькими способами – определением взбитости (объема стабилизированной пены) или показателя вспенивания. Взбитость рассчитывается как

$$\text{Взбитость} = \frac{\text{Объем пены}}{\text{Объем исходной жидкости}} 100 \%. \quad (4.24)$$

Показатель вспенивания – это:

$$\text{Показатель вспенивания} = \frac{\text{Объем газообразной фазы}}{\text{Объем жидкой фазы}} 100 \%. \quad (4.25)$$

Показатель вспенивания обычно возрастает до максимального значения по мере увеличения концентрации белка и зависит от технологии получения пены. При заданной концентрации белка показатель вспенивания зачастую используют как базу для сравнения пенообразующих свойств различных белков (его значения для различных белков при pH 8,0 приведены в табл. 4.9).

Таблица 4.9

Показатель вспенивания растворов различных белков

Белок	Показатель вспенивания (по упавнению 4.20) при концентрации белка 0,5 %масс./%об.
Бычий сывороточный альбумин	280
Изолят сывороточного белка	600
Яичный альбумин	240
Овальбумин	40
Белок бычьей плазмы крови	260
β-Лактоглобулин	480

Фибриноген	360
Соевый белок, гидролизованный ферментами	500
Желатин (из свиной кожи кислотной обработки)	760

Пеностойкостью называют способность белков стабилизировать пену относительно гравитационного и механического воздействия. Зачастую ее выражают как время, за которое пена теряет 50 % жидкой фазы, или как время уменьшения объема пены на 50 %. Этот метод очень эмпиричен и не дает нужной информации о факторах, влияющих на стойкость пены. Прямой метод измерения пеностойкости отражает уменьшение площади поверхности границы раздела фаз за определенное время.

Понятия *прочность* и *жесткость* пены относятся к максимальному весу столба пены, при котором она не разрушается. Оценить их можно путем измерения вязкости пены.

4.5.3.2.1 Условия, влияющие на пенообразование и стойкость пены

Значение рН. В некоторых работах было показано, что пены, стабилизированные белками, более стабильны в изоэлектрической точке, чем при любом другом значении рН (при условии, что данный белок при рI растворим). При значениях рН, близких к рI, отсутствие сил отталкивания способствует взаимодействиям «белок-белок» и образованию на границе раздела фаз вязкой пленки. Кроме того, при возрастании количества белка он адсорбируется при рI на границе раздела из-за более слабых сил отталкивания между границей раздела фаз и адсорбирующимися на ней молекулами. Эти два фактора способствуют и пенообразованию, и стойкости пены. Если белок при рI слабо растворим (что относится к большинству белков), то в пенообразовании будет участвовать только растворимая белковая фракция. Поскольку ее концентрация очень мала, количество образующейся пены будет мало, но она будет очень стойкой. Хотя нерастворимых белковых частиц может стабилизировать пену (возможно, за счет увеличения когезионных сил в белковой пленке). Как правило, адсорбция гидрофобных частиц повышает стойкость пены. При значениях рН, отличных от рI, пенообразующая способность белков выше, а стойкость пены ниже. У яичного белка хорошие пенообразующие свойства наблюдаются при рН 8-9 и при его изоэлектрической точке 4-5.

Содержание солей. Влияние солей на пенообразующие свойства белков зависит от типа соли и растворимости белка в данном солевом растворе. Пенообразующие свойства и стойкость пены у большинства глобулярных белков (бычий сывороточный белок, яичный альбумин, глютен и соевые белки) с ростом концентрации NaCl повышаются, что обусловлено нейтрализацией зарядов ионами соли. Вместе с тем для некоторых белков (в частности, сывороточных) характерен обратный эффект, а именно пенообразующие свойства и стойкость

пены с увеличением концентрации NaCl снижаются (табл. 4.10), что объясняется всаливанием сывороточных белков, особенно β -лактоглобулина. Белки, которые высаливаются в данном солевом растворе, характеризуются более высокими пенообразующими свойствами, и наоборот. Двухвалентные катионы (Ca^{2+} и Mg^{2+}) при концентрации 0,02-0,4 М резко повышают пенообразование и стойкость пены, что обусловлено прежде всего перекрестной сшивкой белковых молекул и образованием пленок с более высокими вязкоэластичными свойствами.

Таблица 4.10

Влияние NaCl на пенообразующие свойства изолята сывороточного белка и стойкость пены

Концентрация NaCl, М	Площадь поверхности границы раздела фаз, $\text{см}^2/\text{см}^3$ пены	Время сокращения исходной площади границы раздела фаз на 50%, с
0,00	333	510
0,02	317	324
0,04	308	288
0,06	307	180
0,08	305	165
0,10	287	120
0,15	281	120

Содержание сахаров. Добавление в белковые растворы сахарозы, лактозы и других сахаров зачастую ухудшает пенообразование, но повышает стойкость пены. Положительное влияние сахаров объясняется увеличением вязкости объемной фазы, что снижает темпы потерь жидкости ламеллами. Снижение взбитости обусловлено прежде всего более стабильной структурой белка в сахарных растворах, из-за чего молекулы белка хуже раскручиваются при адсорбции на границе раздела фаз. Это уменьшает способность белков снижать силы поверхностного натяжения на границе раздела фаз, увеличивать площадь поверхности этой границы и давать большой объем пены при взбивании. В пенообразные сахарные кондитерские изделия (меренги, суфле, зефир и т. п.) сахар предпочтительнее вносить по возможности после взбивания – это позволит молекулам белка адсорбироваться на границе раздела фаз, раскручиваться и образовать стабильную пленку, а внесение сахара повысит стойкость пены благодаря увеличению вязкости жидкости в ламеллах.

Содержание жиров. Жиры, особенно фосфолипиды, в концентрации более 0,5 % значительно ухудшают пенообразующие свойства белков. Поскольку липиды более поверхностно-активны, чем белки, они быстро адсорбируются на границе раздела фаз «воздух-вода» и препятствуют адсорбции белков при пенообразовании. Поскольку у липидных пленок хуже когезионные и вязкоэластичные свойства, необходимые для противодействия внутреннему давлению пузырьков пены, эти пузырьки при взбивании быстро расширяются и лопаются. Таким образом, обезжиренные сывороточные концентраты и изоляты,

соевые белки и яичный белок (без присутствия желтка) характеризуются более высокими пенообразующими свойствами, чем белковые препараты с примесями жиров.

Концентрация белка. Некоторые свойства пен зависят от концентрации белка – чем выше его концентрация, тем жестче пена. Жесткость пены обусловлена малыми размерами пузырьков и высокой вязкостью. Стойкость пены при повышении концентрации белка увеличивается из-за повышения вязкости и облегчения формирования многослойной когезионной белковой пленки на границе раздела фаз. Пенообразующие свойства белков максимальны при определенной их концентрации. Некоторые белки, в частности сывороточный альбумин, могут образовывать относительно стойкую пену при концентрации белка 1 %, тогда как изоляты соевого белка и соевые белки – при концентрации не менее 2-5 %. Как правило, максимальная пенообразующая способность большинства белков наблюдается при концентрации 2-8 %. Концентрация белка в пене на границе раздела фаз составляет около 2-3 мг/м³.

4.5.4 Вязкость

Приемлемость для потребителя некоторых жидких продуктов и продуктов эмульсионной природы (подлив, соусов, супов, напитков и т. п.) зависит от их вязкости и консистенции. Вязкость раствора определяется его сопротивлением течению при данном усилии сдвига. Для идеального раствора усилие сдвига (то есть сила на единицу площади, F/A) прямо пропорционально скорости сдвига (градиенту скорости между слоями жидкости, dv/dr):

$$\frac{F}{A} = \eta \frac{dv}{dr}. \quad (4.26)$$

Константа пропорциональности η – это коэффициент вязкости, а жидкости, подчиняющиеся этому уравнению, называют ньютоновскими.

Течение растворов во многом определяется типом растворенного вещества. Высокомолекулярные растворимые полимеры намного увеличивают вязкость даже в небольших концентрациях. Она зависит также от таких молекулярных свойств, как размер, форма, гибкость и гидратация молекул. Растворы с неупорядоченными скрученными макромолекулами более вязкие, чем растворы с компактно упакованными макромолекулами той же молекулярной массы.

Большинство макромолекулярных растворов, включая белковые, не являются ньютоновскими жидкостями, особенно при высоких концентрациях белка. Для таких систем коэффициент вязкости при возрастании скорости сдвига уменьшается. Такое поведение называют *псевдопластичным*, и оно подчиняется уравнению

$$\frac{F}{A} = m \left(\frac{dv}{dr} \right)^n, \quad (4.27)$$

где m – коэффициент консистенции; n – показатель степени, известный как «индекс текучести».

Псевдопластичное поведение белковых растворов обусловлено склонностью белковых молекул ориентироваться относительно основной оси направления течения, а также диссоциацией слабо связанных димеров и олигомеров до мономеров. При прекращении сдвига или течения вязкость может как вернуться, так и не вернуться к первоначальному значению в зависимости от скорости возврата белковых молекул к случайной ориентации. Растворы тканевых белков (например, желатина и актомиозина) обычно остаются ориентированными, и поэтому они медленно возвращаются к первоначальной вязкости, тогда как растворы глобулярных белков (соевых и сывороточных) при остановке течения быстро возвращаются к исходной вязкости. Такие растворы названы тиксотропными.

4.5.5 Гелеобразование

Гель – это промежуточная фаза между твердым и жидким состоянием, определяемая как «значительно разбавленная система с отсутствием признаков стабильного течения». Гель образуется из поперечно сшитых ковалентными или нековалентными связями полимеров, образующих сетевую структуру, которая способна удерживать воду и другие низкомолекулярные вещества [13].

Гелеобразование белков относится к переходу от золя к гелеподобному состоянию, который при определенных условиях облегчается нагреванием, действием ферментов или двухвалентными катионами. К образованию сетевой структуры приводят все эти факторы, однако у них различные механизмы образования сети и типы ковалентных или нековалентных взаимодействий.

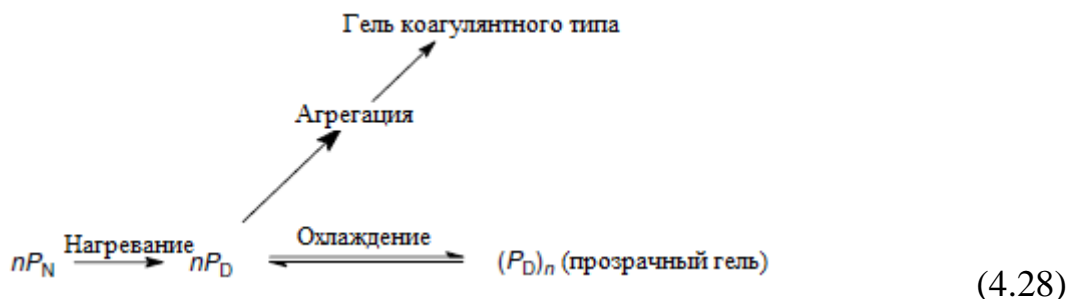
Большинство пищевых белковых гелей получают нагреванием растворов белков средней концентрации. При таком типе гелеобразования белок из состояния золя сначала денатурируется до состояния «предгеля» (иногда его называют «прогелем»). Для золя характерно наличие ограниченного числа нековалентно связанных групп, доступных для образования сетевой структуры, тогда как «предгель» обычно представляет собой вязкую жидкость из уже до некоторой степени денатурированного и полимеризованного белка. В этом состоянии (в предгеле) некоторое критическое число функциональных групп с водородными связями и гидрофобных групп, способных образовывать межмолекулярные нековалентные связи, настолько «выступают» из молекулы, что может начаться второй этап, а именно образование сетевой белковой структуры. Преобразование золя в прогель необратимо, поскольку между «раскрученными» молекулами белка происходят многочисленные межмолекулярные взаимодействия. При охлаждении предгеля до комнатной температуры или температуры холодильного хранения уменьшение термической кинетической энергии облегчает образование стабильных нековалентных связей между

«выступающими наружу» функциональными группами различных молекул, что и подразумевает гелеобразование.

В процессе гелеобразования участвуют главным образом водородные связи, а также гидрофобные и электростатические взаимодействия. Относительная роль этих сил зависит от типа белка, степени денатурации, условий нагревания и окружающей среды. Водородное связывание и гидрофобные взаимодействия обуславливают больший вклад в образование сетевой структуры, чем электростатические взаимодействия (за исключением случаев участия в поперечной сшивке мультивалентных ионов). Поскольку у белков обычно имеется собственный заряд, между молекулами белков наблюдается электростатическое отталкивание, что, как правило, неблагоприятно сказывается на образовании сетевой структуры, но эти заряженные группы необходимы для взаимодействий «белок-вода» и влагоудерживающей способности геля.

Сетевая структура геля, обеспечиваемая прежде всего нековалентными взаимодействиями, термически обратима, то есть при повторном нагревании она превращается обратно в предгель, что и наблюдается в общеизвестном примере желатина. Особенно это проявляется в том случае, если основную роль в структуре геля играют водородные связи. Поскольку гидрофобные взаимодействия при повышенных температурах сильны, сетевые гелевые структуры, изначально образованные в основном гидрофобными взаимодействиями, термически необратимы (пример – гели из яичного белка). Белки с цистеиновыми и цистиновыми группами при нагревании могут подвергаться полимеризации путем сульфидрильно-дисульфидных реакций, образуя при последующем охлаждении непрерывную ковалентную сеть. Такие гели обычно термически необратимы (примеры – овалбумин, β -лактоглобулин и гели из сывороточных белков).

Белки образуют два типа гелей – коагулянтные (непрозрачные) и полупрозрачные гели. Тип образующегося белкового геля зависит от молекулярных свойств и условий раствора. Белки с большим количеством неполярных аминокислотных остатков подвергаются при денатурации гидрофобной агрегации:



где P_N – нативное состояние молекулы; P_D – ее раскрученное состояние; n – количество белковых молекул, участвующих в сшивке.

Такие нерастворимые агрегаты затем случайным образом ассоциируют и образуют необратимый гель коагуляционного типа. Поскольку скорость агрегации

и образования сетевой структуры выше, чем скорость денатурации, то белки данного типа легко образуют гелевые структуры даже при нагревании. Непрозрачность таких гелей обусловлена светорассеянием в неупорядоченной (изотропной) сети из нерастворимых белковых агрегатов. Гели коагулянтного типа обычно непрочные и подвержены синерезису.

Белки с небольшим количеством неполярных аминокислотных остатков образуют при денатурации растворимые комплексы. Поскольку скорость ассоциации этих комплексов ниже, чем скорость денатурации, а гелевая структура образована преимущественно водородными связями, она зачастую не переходит в гель без нагревания с последующим охлаждением (при этом обычно используют 8-12 %-ные белковые растворы). При охлаждении небольшая скорость ассоциации этих растворимых комплексов облегчает образование прозрачной упорядоченной гелевой сети.

На молекулярном уровне у гелей коагулянтного типа способность к геолообразованию проявляется при суммарной концентрацией Val, Pro, Leu, Ile, Phe и Trp-остатков более 31,5 мол%. При меньшем содержании этих гидрофобных остатков и при использовании в качестве растворителя воды обычно образуется прозрачный гель. Вместе с тем при использовании в качестве растворителя солевого раствора это не так. Например, при содержании гидрофобного β -лактоглобулина 32 мол% он образует с водой прозрачный гель, но при использовании раствора поваренной соли (NaCl) концентрацией всего 50 мМ образуется гель коагулянтного типа. Это происходит из-за нейтрализации заряда солью, что способствует гидрофобной ассоциации при нагревании. Таким образом, можно сказать, что от баланса между силами притяжения гидрофобных взаимодействий и электростатическими силами отталкивания зависит механизм гелеобразования и внешний вид геля. Эти две силы контролируют также равновесие между взаимодействиями «белок-белок» и «белок-растворитель». Если первые намного сильнее вторых, то может образоваться осадок, а при преобладании вторых гелеобразование вообще может не произойти. Образование геля коагулянтного типа или прозрачного геля зависит от того, какова величина сил гидрофобного и гидрофильного взаимодействия между этими двумя крайними значениями.

Белковые гели представляют собой сильно гидратированные системы с содержанием иногда до 98 % воды. Вода в структуре геля обладает химическим потенциалом (активностью), сходным с разбавленным водным раствором, но она утрачивает текучесть и с большим трудом может быть извлечена. Механизм, с помощью которой жидкая вода удерживается в гелях в связанном «полужидком» состоянии, до конца не ясен. Вместе с тем, из того, что прозрачные гели, образованные преимущественно водородными связями, удерживают больше воды, чем гели коагулянтного типа, и меньше склонны к синерезису, можно предположить, что большая часть воды связана водородными связями с C=O- и N-

Н-связями пептидных групп и ассоциирована с заряженными группами в форме своего рода «гидратационной оболочки» и/или существует в виде обширных водородно-связанных сетей («вода-вода»), подобных льду. Возможно также, что внутри пространственно ограниченной области гелевой микроструктуры вода может служить средством перекрестной водородной сшивки между С=О- и N-H-группами пептидных сегментов. Это может ограничивать текучесть воды внутри каждой ячейки сети, причем тем больше, чем меньше размеры данной ячейки. Вполне вероятно, что некоторая часть воды (так называемая «капиллярная») может удерживаться в порах гелевой структуры, особенно в гелях коагулянтного типа.

Стойкость сетевой гелевой структуры к термическим и механическим воздействиям зависит от количества и типов образованных перекрестных сшивок, приходящихся на один мономер цепи. Термодинамически структура геля будет стабильна только при том условии, что суммарная энергия взаимодействий мономеров в геле больше, чем их общая кинетическая тепловая энергия. Это зависит как от внутренних (форма и размер молекул, общий заряд и т. д.), так и внешних факторов (значение рН, температура, ионная сила и т. д.). Зависимость корня квадратного прочности белкового геля от молекулярной массы линейна. Глобулярные белки с молекулярной массой менее 23 000 Да не могут образовывать при нагревании гели при любых концентрациях белка, за исключением того случая, когда у них имеется хотя бы одна свободная сульфгидрильная группа или дисульфидная связь. Эти сульфгидрильные группы облегчают полимеризацию, и в результате эффективная молекулярная масса полипептидов возрастает до значений, превышающих 23 000 Да. Желатиновые препараты с эффективной молекулярной массой менее 20 000 Да гелей не образуют.

Еще одним важным фактором является концентрация белка. Для образования стабильной гелевой структуры без нагревания требуется некоторая минимальная концентрация белка (LCE, Least concentration endpoint). Для соевых белков она составляет 8%, для яичного альбумина – 3%, а для желатина – 0,6%.

К образованию геля приводит также ферментативная перекрестная сшивка белков при комнатной температуре. Для получения таких гелей зачастую применяют фермент транскляминазу, который катализирует образование ϵ -(γ -глутамил)лизильной перекрестной сшивки между глутамином и лизильными группами молекул белка. При использовании ферментативной перекрестной сшивки получают высокоэластичные необратимые гели даже при низкой концентрации белка.

Для образования белковых гелей используют также двухвалентные катионы (например, Ca^{2+} и Mg^{2+}). Эти ионы образуют перекрестную сшивку отрицательно заряженных групп белковых молекул (пример гелей такого типа – тофу из соевого белка). Таким способом получают также альгинатные гели. Типовая технологическая схема получения тофу приведена на рис. 4.14.

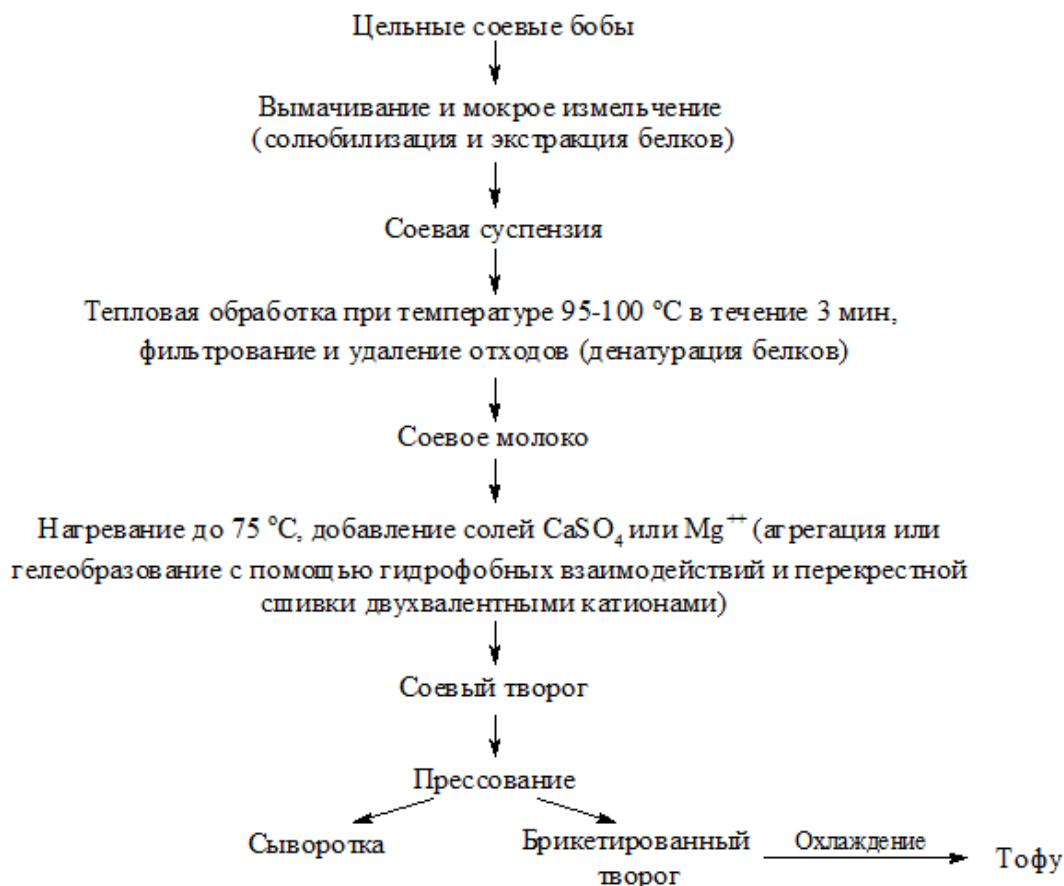


Рис. 4.14. Типовая технологическая схема получения тофу

4.5.6 Текстуризация

Текстуризация подразумевает переход белков от глобулярного состояния в волокнистую структуру, дающую во рту ощущение волокон мяса. Текстурированные белковые продукты должны обладать различными функциональными свойствами, в том числе эластичностью, мягкостью, сочностью и пережевываемостью. В качестве источника белка для текстуризации зачастую используют растительные белки. Текстурированные растительные белки получают двумя разными способами – фильерным (*spun-fiber texturization*) и экструзией [14].

4.5.6.1 Фильерная текстуризация

По этой технологии сильно концентрированный (около 20 %масс./об.) раствор изолята соевого белка доводят до значения рН 12-13 и выдерживают до тех пор, пока его вязкость не увеличится до 50 000-100 000 сПз в результате денатурации белка и перекрестной сшивки под действием щелочи. Эту очень вязкую пасту затем прокачивают через фильерный аппарат, пластина которой содержит тысячи микронных отверстий. Полученный волокнистый экструдат пропускают затем через ванну с фосфорной кислотой и солью (значение рН 2,5). В

этой ванне белок мгновенно коагулирует и превращается в волокнистую массу, которую протягивают через стальные валки, где она уплотняется и растягивается, благодаря чему повышается прочность. Волокно затем пропускают через промывочную ванну, где удаляется избыток кислоты и соли. После этого промытое волокно пропускают через последовательность резервуаров с жирами, вкусоароматическими веществами, пищевыми красителями и связующим (в зависимости от цели использования продукта). Затем его нагревают до 80-90 °С в целях инициирования гелеобразования белков связующего (в качестве связующего зачастую используют яичный белок, поскольку он отлично коагулируется при нагревании). Готовый продукт сушат и делят на порции. Технологическая схема фильерной текстуризации представлена на рис. 4.15.

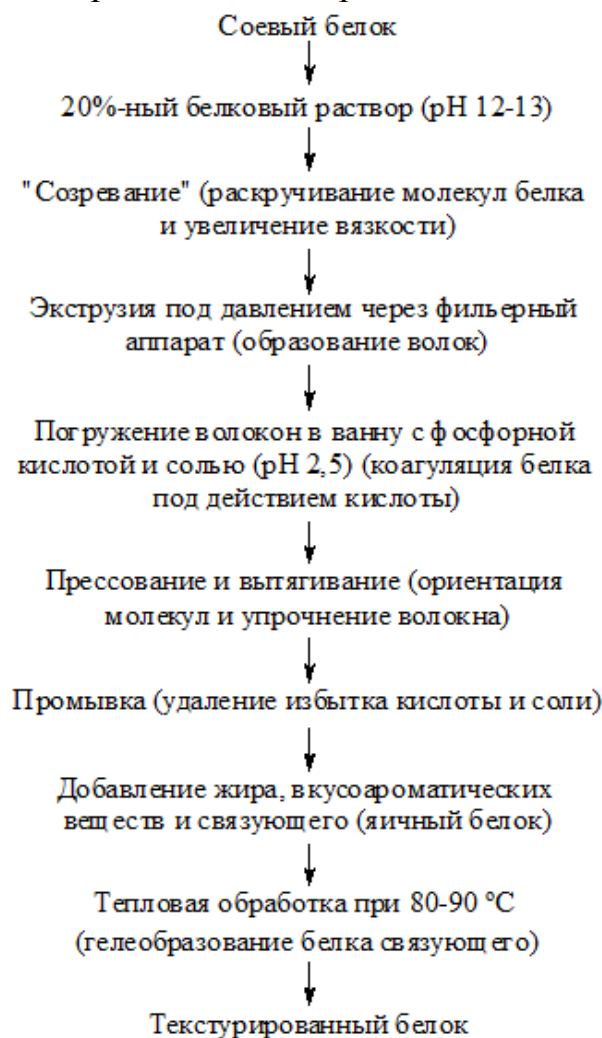


Рис. 4.15. Типовая технологическая схема фильерной текстуризации соевых белков

4.5.6.2 Текстуризация экструзией

При текстуризации экструзией обезжиренная соевая мука или концентрат соевого белка с высоким индексом растворимости белка (PSI) обрабатывают паром так, чтобы содержание влаги составило 20-25 %. Затем твердую массу подают в

экструдер, представляющий собой вращающийся шнек в цилиндрическом корпусе, в котором зазор между шнеком и корпусом вдоль оси шнека постепенно сужается. По мере прохождения белковой массы через шнек она быстро нагревается до 150-180 °С. Такая высокая температура и увеличение давления по мере прохождения массы напоминает процесс приготовления пищи в скороварке, и в результате она расплавляется, а белок денатурируется. С технической точки зрения этот процесс является термопластичным плавлением. Денатурированные белки по мере прохождения массы через шнек приобретают форму волокон. При выходе массы из экструзионной головки давление быстро падает, и вода испаряется, в результате чего продукт «взрывается». Это «взрывание» контролируется путем регулирования температуры и давления. Если необходимо получить плотный продукт, то перед выходом из головки экструдера массу охлаждают, экструдированную массу нарезают на кусочки и перерабатывают в зависимости от назначения. Типовая технологическая схема текстуризации белков экструзией представлена на рис. 4.16.

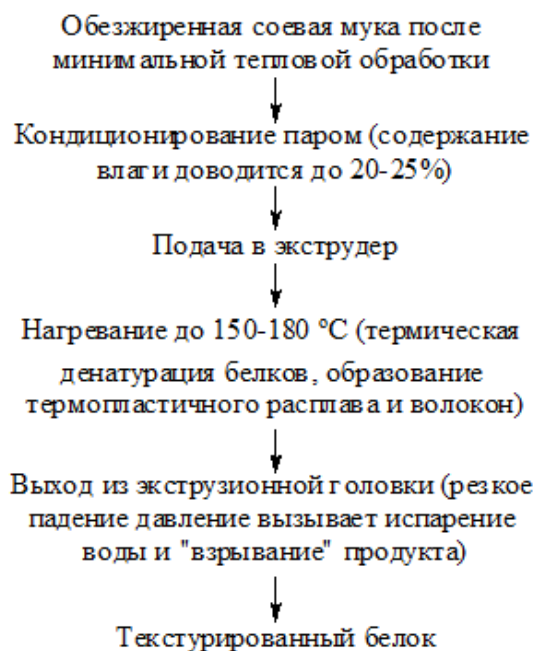


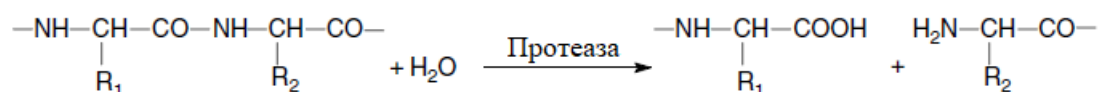
Рис. 4.16. Текстуризация соевой муки экструзией

Основные принципы этих двух методов включают термическую и щелочную денатурацию белков, придание денатурированному белку формы волокон, связывание волокон с использованием связующего и придание готовому продукту требуемого вкуса и аромата. Текстурированные растительные белки все чаще используют для полной или частичной замены мяса в изделиях из фарша (в пирожках с мясом, котлетах, соусах и т. д.).

4.6 Белковые гидролизаты

Одним из важных способов улучшения функциональных свойств белков – растворимости, диспергируемости, пенообразующих и эмульгирующих – является частичный гидролиз белка под действием протеолитических ферментов. Белковые гидролизаты находят применение в производстве пищевых продуктов специального назначения – для пожилых, детского питания без аллергенов, спортивных напитков и диетических продуктов. Поскольку гидролизаты белков легко перевариваются, они особенно полезны для детского питания и продуктов для пожилых людей [15].

Протеолиз – это ферментативный гидролиз пептидных связей белков:



В этой реакции при расщеплении ферментом одной пептидной связи высвобождается по 1 молю карбоксильной и аминогрупп. По завершении реакции конечный продукт представляет собой смесь всех составляющих данный белок аминокислот. Неполный протеолиз дает смесь полипептидов первоначального белка. Функциональные свойства белковых гидролизатов зависят от степени гидролиза (DH) и физико-химических свойств полипептидов гидролизата – размера молекулы, растворимости и т. д. Степень гидролиза определяется как доля расщепленных полипептидных связей и выражается в процентах:

$$DH, \% = \frac{n}{n_T} 100,$$

где n_T , – общее количество (в молях) пептидных связей в 1 моле белка; n – количество разрушенных пептидных связей в 1 моле белка.

Если молекулярная масса белка неизвестна или образец белка – это смесь различных белков, то показатели n и n_T относятся к числу пептидных связей в 1 г белка.

Степень гидролиза обычно контролируют методом рН-титрования. Этот метод основан на том, что при гидролизе пептидных связей вновь образованные карбоксильные группы полностью ионизируются при $pH > 7$, что приводит к росту концентрации ионов H^+ . В области рН 7-8 число молей высвободившихся ионов H^+ эквивалентно числу молей гидролизованных пептидных связей. При рН-титрометрии значение рН белкового раствора поддерживается постоянным путем титрования с $NaOH$. Число молей израсходованного $NaOH$ эквивалентно числу молей разрушенных пептидных связей.

4.6.1 Функциональные свойства белковых гидролизатов

Функциональные свойства белковых гидролизатов зависят от типа используемых для их получения ферментов (из-за различий размера и других

физико-химических свойств молекул полипептидов, высвобождающихся в процессе гидролиза). Как правило, растворимость большинства белков после гидролиза улучшается независимо от использовавшегося фермента. Чем выше степень гидролиза, тем более растворим гидролизат, однако общее повышение растворимости зависит от типа используемого фермента. Следует отметить, что растворимость казеина в изоэлектрической точке после неполного гидролиза значительно возрастает [16]. Такое поведение свойственно и другим белкам. Повышенная растворимость особенно важна для производства кислых белковых напитков, для которых нежелательно выпадение осадка.

Поскольку растворимость белка важна для пенообразующих и эмульгирующих свойств, частично гидролизованные белки обычно характеризуются улучшенными пенообразующими и эмульгирующими свойствами. Это, однако, зависит от типа используемого фермента и степени гидролиза. Как правило, пенообразующие и эмульгирующие свойства при значениях ДН < 10% улучшаются, а при ДН > 10% ухудшаются. С другой стороны, стойкость пен и эмульсий, полученных с использованием белковых гидролизатов, как правило, меньше, чем с применением негидролизованного белка. Одна из причин этого заключается в неспособности низкомолекулярных полипептидов образовывать когезионные вязкоэластичные пленки на границе раздела фаз «воздух – вода» и «масло – вода».

Гидролизаты белка при тепловой обработке обычно не образуют гели. Исключением является желатин, получаемый при кислотном или щелочном гидролизе коллагена. Желатин представляет собой гетерогенную смесь полипептидов, средняя молекулярная масса которых в желатине зависит от степени гидролиза, что сильно влияет на прочность геля. Чем больше эта средняя молекулярная масса, тем более прочен гель. Образец желатина со средней молекулярной массой полипептидов < 20 000 Да не образует геля при любой концентрации желатина. Гелеобразующие свойства промышленно выпускаемых видов желатина оценивают по Блуму с использованием соответствующим образом градуированного пенетрометра. Прочность геля по Блуму – это сила (г), необходимая для погружения стержня пенетрометра на 4 см в желатиновый гель (6,67 %масс./об.), предварительно выдержанный на водяной бане при 10 °С в течение 17 ч. Основные показатели прочности гелей по Блуму для различных пищевых продуктов на основе желатина приведены в табл. 4.11.

Таблица 4.11

Требования к прочности по Блуму для некоторых продуктов на основе желатина

Пищевой продукт	Прочность геля по Блуму, г	Массовая доля желатина, %
Желейные конфеты	220	7-8
Фруктовое желе	100-120	10-12
Маршмеллоу	220	2-3
Пастилки	50-100	1

4.6.2 Аллергенные свойства

Некоторые пищевые белки, включая молочные и соевые белки, глютен, яичный белок, белки арахиса, могут вызывать у взрослых и детей аллергические реакции. Среди лиц, имеющих аллергию на молочный белок, около 60 % реагируют на казеин, 60-80 % – на β -лактоглобулин, и 50 % – на α -лактоальбумин. Вместе с тем гидролизаты этих белков обладают более низкими аллергенными свойствами по сравнению с нативными белками [17].

Аллергенность нативных белков обусловлена наличием антигенных участков (эпитопов), связывающихся с иммуноглобулином E (*IgE*). В белковых гидролизатах эти эпитопы в ходе протеолиза разрушаются. Например, гидролиз казеина панкреатином (смесь панкреатических ферментов) до степени гидролиза 55 % снижает его аллергенность на 50%. Аналогичным образом гидролизаты сывороточного белка со степенью гидролиза 12,9-16,1 % характеризуются меньшим числом аллергических реакций (при испытаниях на морских свинках, сенсibilизированных нативным сывороточным белком). С учетом этого для маленьких детей и детей, предрасположенных к аллергическим реакциям на пищевые белки, белковые гидролизаты являются более предпочтительными источниками белка и аминокислот.

Степень снижения аллергенности белковых гидролизатов зависит от типа используемой протеазы. Неспецифические протеазы или смеси протеаз более эффективно снижают аллергенность белков, чем специфические. Кроме того, выявлена зависимость протеаз на снижение аллергенности белков используется «Индекс снижения аллергенности» (ARI), который определяется как отношение снижения аллергенности (%) к степени гидролиза (%).

4.6.3 Горькие пептиды

Одним из самых нежелательных свойств белковых гидролизатов является их горечь, которую придают им некоторые образующиеся при гидролизе пептиды. Имеются явные свидетельства, что эта горечь пептидов обусловлена гидрофобностью. Пептиды со средней гидрофобностью остатков менее 1,3 ккал/моль не дают горького привкуса, тогда как пептиды со средней гидрофобностью остатков более 1,4 ккал/моль – горькие. По этой причине среднюю гидрофобность пептидов зачастую рассчитывают по свободной энергии перехода аминокислотных остатков из этанола в воду. Образование горьких пептидов в белковых гидролизатах зависит от состава и последовательности аминокислот, а также типа используемых ферментов. Гидролизаты сильно гидрофобных белков – казеина, соевых белков и кукурузного белка (зеина) – очень горькие, тогда как гидролизаты гидрофильных белков (например, желатина) менее горькие. Казеины и соевые белки, гидролизованные некоторыми промышленными протеазами, дают горькие пептиды, горечь которых можно снизить или вообще

удалить с помощью смеси эндо- и экзопептидаз, разрушающих горькие пептиды на фрагменты со средней гидрофобностью менее 1,3 ккал/моль.

4.7 Нутритивные свойства белков

Белки обладают разной биологической ценностью, и эти различия обусловлены такими факторами, как содержание незаменимых (эссенциальных) аминокислот и усвояемость. Следовательно, суточная норма потребления белка зависит от типа и состава белков в рационе [18].

4.7.1 Качество белка

Характеристика «качество белка» относится, главным образом, к содержанию в них эссенциальных аминокислот и усвояемости данного белка. Высококачественные белки – это белки, содержащие все эссенциальные аминокислоты в количестве, превышающем эталонный уровень, установленный Организацией ООН по вопросам продовольствия и сельского хозяйства (ФАО), Всемирной организацией здравоохранения (ВОЗ) и Университетом ООН (УООН), усвояемость которых сопоставима или выше усвояемости яичного или молочного белков. С учетом этого «качество» белков животного происхождения выше, чем растительных белков.

Белки большинства зерновых и бобовых культур зачастую лимитированы, по крайней мере, одной из эссенциальных аминокислот. Если белки таких зерновых культур, как рис, пшеница, ячмень и кукуруза, богаты метионином и содержат очень мало лизина, то в семенах бобовых растений и масличных культур, напротив, содержится недостаточно метионина, но зато они богаты лизином или содержат его в достаточном количестве, однако в белках арахиса мало и метионина, и лизина. Эссенциальные аминокислоты, содержание которых в тех или иных белках ниже, чем в эталонном белке, называют *лимитирующими*. Взрослые, потребляющие только белки злаковых или бобовых культур, испытывают проблемы со здоровьем, а у детей младше 12 лет, потребляющих с пищей только белки из этих источников, снижается скорость роста. Содержание эссенциальных аминокислот в различных пищевых белках приведено в табл. 4.12.

В белках как животного, так и растительного происхождения, как правило, содержится достаточное или избыточное количество гистидина, лейцина, изолейцина, фенилаланина и тирозина, а также валина. Эти аминокислоты в пищевых продуктах обычно не являются лимитирующими, к которым чаще всего относятся лизин, треонин, триптофан и серосодержащие аминокислоты. Биологическую ценность белка, в котором наблюдается дефицит незаменимых аминокислот, можно исправить путем его сочетания с другими белками, в которых их больше. Так, сочетание белков зерновых и бобовых культур обеспечивает полный и сбалансированный уровень незаменимых аминокислот, то есть рацион, состоящий из соответствующего количества зерновых и бобовых, как правило,

Таблица 4.12

Содержание эссенциальных аминокислот, мг/г белка и биологическая ценность различных пищевых белков

Аминокислота и биологическая ценность	Источник белка												
	Яичный белок	Коровье молоко	Говядина	Рыба	Пшеница	Рис	Кукуруза	Ячмень	Соевые бобы	Кормовой горох, вареный	Зеленый горошек	Арахис	Фасоль
Гистидин	22	27	34	35	21	21	27	20	30	26	26	27	30
Изолейцин	54	47	48	48	34	40	34	35	51	41	41	40	46
Лейцин	86	95	81	77	69	77	127	67	82	71	70	74	78
Лизин	70	78	89	91	23*	34*	25*	32*	68	63	71	39*	65
Метионин + цистеин	57	33	40	40	36	49	41	37	33	22**	24**	32	26
Фенилаланин + тирозин	93	102	80	76	77	94	85	79	95	69	76	100	83
Треонин	47	44	46	46	28	34	32	29**	41	33	36	29**	40
Триптофан	17	14	12	11	10	11	6**	11	14	8*	9*	11	11
Валин	66	64	50	61	38	54	45	46	52	46	41	48	52
Общее содержание эссенциальных аминокислот	512	504	480	485	336	414	422	356	466	379	394	400	430
Содержание белка, %	12	3,5	18	19	12	7,5	-	-	40	32	28	30	30
Химическая оценка, % (по данным ФАО/ВОЗ)	100	100	100	100	40	59	43	55	100	73	82	67	-
PER	3,9	3,1	3,0	3,5	1,5	2,0	-	-	2,3	-	2,65	-	-
BV (на крысах	94	84	74	76	65	73	-	-	73	-	-	-	-
NPU	94	82	67	79	40	70	-	-	61	-	-	-	1

* - первично лимитирующие кислоты; ** - вторично лимитирующие кислоты; PER, protein efficiency ratio – коэффициент эффективности белка; BV, biological value – биологическая ценность; NPU, net protein utilization – чистая усвояемость белка

достаточен для обеспечения роста и жизнедеятельности организма. Биологическую ценность белков низкого «качества» можно повысить путем обогащения их свободными незаменимыми аминокислотами, содержание которых в данном белке недостаточно. Например, обогащение (саплементация) бобовых метионином, а злаковых культур – лизином обычно повышает их нутритивное качество.

Биологическая ценность белков или их смеси идеальна в том случае, когда в них содержатся все эссенциальные аминокислоты, причем в таком соотношении, которое обеспечивает оптимальные жизнедеятельность и темпы роста (табл. 4.13). Тем не менее, так как реальная потребность в незаменимых аминокислотах для каждого человека в данной группе населения зависит от его пищевого и физиологического статуса, в качестве безопасного уровня для всех возрастных групп рекомендуется придерживаться норм относительно эссенциальных аминокислот для детей дошкольного возраста (от 2 до 5 лет).

Таблица 4.13

Рекомендуемые нормы потребления эссенциальных аминокислот с пищевыми белками

Аминокислота	Рекомендуемая норма, мг/г белка			
	Дети в возрасте до 2 лет	Дети в возрасте от 2 до 5 лет	Дети в возрасте 10-12 лет	Взрослые
Гистидин	26	19	19	16
Изолейцин	46	28	28	13
Лейцин	93	66	44	19
Лизин	66	58	44	16
Метионин + Цистеин	42	25	22	17
Фенилаланин + Тирозин	72	63	22	19
Треонин	43	34	28	9
Триптофан	17	11	9	5
Валин	55	35	25	13
Всего	434	320	222	111

Избыточное потребление какой-то аминокислоты может привести к «антагонизму аминокислот» и пищевому отравлению. Чрезмерное потребление аминокислот зачастую приводит в результате к увеличению потребности в других эссенциальных аминокислотах (вследствие конкуренции аминокислот за участки всасывания в кишечнике). Так, повышенное содержание лейцина снижает всасывание изолейцина, валина и тирозина, даже если в рационе эти аминокислоты присутствуют в достаточном количестве, что приводит к увеличению потребности организма в этих трех аминокислотах. Избыточное потребление других аминокислот может также замедлять развитие и приводить к развитию тех или иных патологий.

4.7.2 Усвояемость

Хотя содержание эссенциальных аминокислот является основным показателем качества белка, истинное его качество зависит также от степени усвояемости данного белка организмом, то есть и от усвояемости и биологической ценности аминокислот. Усвояемость различных белков приведена в табл. 4.14. Пищевые белки животного происхождения усваиваются лучше, чем растительного.

Таблица 4.14

Рекомендуемые нормы потребления эссенциальных аминокислот с пищевыми белками

Источник белка	Усвояемость, %	Источник белка	Усвояемость, %
Яйцо	97	Просо	79
Молоко, сыр	95	Зеленый горошек	88
Мясо, рыба	94	Арахис	94
Кукуруза	85	Соевая мука	86
Рис (шлифованный)	88	Изолят соевого белка	95
Пшеница цельнозерная	86	Фасоль	78
Пшеничная мука высшего или первого сорта	96	Кукуруза (зерно)	70
Пшеничный глютен (клейковина)	99	Пшеница (зерно)	77
Овсяные хлопья	86	Рис (зерно)	75

4.7.2.1 Конформация белка

Гидролиз белков протеазами зависит от структурного состояния белка. Нативные белки, как правило, гидролизуются меньше, чем частично денатурированные. Например, обработка фазеолина (белка фасоли) смесью протеаз обуславливает лишь частичное расщепление белка, высвобождая в основном полипептиды с молекулярной массой 22 000 Да. Если денатурированный в ходе тепловой обработки фазеолин подвергнуть расщеплению в тех же условиях, то он полностью гидролизуется до аминокислот и дипептидов. Как правило, нерастворимые фибриллярные и полностью денатурированные глобулярные белки с трудом гидролизуются.

4.7.2.2 Факторы, снижающие биологическую ценность (антипитательные)

Большинство изолятов и концентратов растительного белка содержат ингибиторы трипсина и химотрипсина (типа Кунитца и типа Баумана-Бирка), а также лектины. Эти ингибиторы препятствуют полному гидролизу белков из бобовых и масличных культур панкреатическими протеазами. Лектины, представляющие собой гликопротеины, связываются с клетками слизистой кишечника и препятствуют всасыванию аминокислот. Лектины и ингибиторы протеаз типа Кунитца термолабильны, тогда как ингибиторы типа Баумана-Бирка

термостойки. Таким образом, белки бобовых и масличных культур после тепловой обработки лучше усваиваются, чем изоляты нативных белков (несмотря на некоторое остаточное содержание в них ингибитора типа Баумана-Бирка). Растительные белки содержат и другие вещества, снижающие биологическую ценность, а именно танины и фитаты. Танины, являющиеся продуктами конденсации полифенолов, ковалентно связываются с ϵ -аминогруппами остатков лизина, что препятствует катализируемому трипсином расщеплению полипептидов на сайтах связывания лизина.

4.7.2.3 Промышленная переработка

Скорость и полноту гидролиза снижает также взаимодействие белков с полисахаридами и пищевыми волокнами, что важно при экструзии пищевых продуктов в условиях высоких температур и давления. Вследствие подверженности остатков лизина воздействию высоких температур и щелочного диапазона рН белки претерпевают некоторую химическую перестройку, снижающую их усвояемость. Усвояемость лизина снижается также из-за реакции редуцирующих сахаров с ϵ -аминогруппами.

4.7.3 Оценка биологической ценности белков

Поскольку биологическая ценность белков может значительно различаться и зависит от многих факторов, очень важно пользоваться проверенными методами определения их качества. Оценка качества белка позволяет определить его количество, необходимое для обеспечения безопасного уровня потребления эссенциальных аминокислот для поддержания жизнедеятельности и темпов развития организма, а также контролировать изменение биологической ценности белков при переработке пищевых продуктов в целях подбора таких технологических режимов, при которых качество белка снижается в минимальной степени. Биологическую ценность белков можно оценивать различными биологическими, химическими и ферментативными методами [19].

4.7.3.1 Биологические методы

Биологические методы основаны на анализе темпов прироста массы тела или ретенции азота подопытными животными, получающими белковый корм, по сравнению с контрольной группой, получающей безбелковый корм. Для оценки качества белка, как правило, используется протокол ФАО/ВОЗ. Обычно подопытными животными служат крысы, но иногда применяют и испытания на людях. Для подтверждения того, что количество потребляемого белка ниже суточной нормы, используют рацион с содержанием белка около 10% (по сухой массе), причем энергетическая ценность данного рациона обеспечивается. В этих условиях пищевые белки усваиваются в максимальной для развития организма степени. Количество подопытных животных должно быть достаточным для

получения достоверных статистических результатов. Как правило, эксперимент длится 9 сут., и ежедневно в таблицу заносят количество потребленной каждым животным пищи (в граммах), для анализа на азот собирают экскременты и мочу.

Полученные данные затем используют для расчета качества белка несколькими способами. Коэффициент эффективности белка (*PER*) определяют как прибавку массы тела (в граммах) на 1 г потребленного белка. Применяют и другой показатель – коэффициент чистой эффективности белка (*NPR, Net protein ratio*), который рассчитывают по следующей формуле:

$$NPR = \frac{\text{(увеличение массы тела)} - \text{(потеря массы тела у безбелковой группы)}}{\text{количество усвоенного белка}}. \quad (4.29)$$

Данные по *NPR* дают информацию о способности белка к поддержанию жизнедеятельности и роста. Поскольку крысы растут гораздо быстрее, чем человек, а для развития ребенка требуется больший процент белка, чем для крыс, встает вопрос о применимости для человека значений *PER* и *NPR*, полученных в опытах на крысах. Несмотря на обоснованность данного аргумента, разработана соответствующая процедура корректировки результатов.

Еще один подход к оценке качества белка основан на расчете потребления и потерь азота. С его помощью можно рассчитать два важных параметра качества белка. *Кажущаяся усвояемость белка* (или *коэффициент усвоения белка*) рассчитывают по разнице между количеством усвоенного азота и его количеством в фекалиях, однако поскольку общее количество азота в фекалиях включает метаболический или эндогенный азот для получения *истинной усвояемости белка* (*ИУ, TD*) необходимо ввести поправку:

$$TD = \frac{I - (F_N - F_{k,N})}{I} \cdot 100, \quad (4.30)$$

где *I* – количество усвоенного азота; T_N – общее количество азота в фекалиях; $F_{k,N}$ – эндогенный азот в фекалиях. Значение $F_{k,N}$ рассчитывают по безбелковому рациону.

Показатель *ИУ (TD)* дает информацию о проценте всасываемого азота в организме, но никак не свидетельствует о том, какое количество этого всасываемого азота фактически удержано или утилизировано организмом.

Показатель биологической ценности (*BV*) рассчитывают по формуле

$$BV = \frac{I - (F_N - F_{k,N}) - (U_N - U_{k,N})}{I - (F_N - F_{k,N})} \cdot 100, \quad (4.31)$$

где U_N и $U_{k,N}$ – это соответственно потери общего и эндогенного азота с мочой.

Таким образом, показатель *NPU* (чистой утилизации белка) определяется как процентное отношение поглощенного и удержанного в организме белка. Рассчитывают его как произведение *TD* на *BV*, то есть,

$$NPU = TD \cdot BV = \frac{I - (F_N - F_{k,N}) - (U_N - U_{k,N})}{I} \cdot 100. \quad (4.32)$$

Значение показателей PER, BV и NPU для различных пищевых продуктов приведены в табл. 4.12.

К другим биопробам, иногда применяющимся для оценки качества белка, относятся биопробы на ферментативную активность, на изменение содержания эссенциальных аминокислот в плазме крови, на содержание мочевины в плазме крови и мочи, на скорость насыщения плазмы крови белками, а также на темпы увеличения массы тела подопытных животных, получавших ранее безбелковый корм.

4.7.3.2 Химические методы

Биологические методы – очень дорогостоящие и требуют значительного времени. Быстро оценить биологическую ценность белков можно путем определения содержания в них аминокислот и сопоставления полученных данных с идеальной комбинацией эссенциальных аминокислот. Идеальная комбинация эссенциальных аминокислот белков (по эталонному белку) для детей в возрасте от 2 до 5 лет приведена выше в табл. 4.13. Она используется в качестве стандарта для всех возрастных групп за исключением новорожденных. Каждый эссенциальной аминокислоте в анализируемом белке дается химическая оценка (скор), которую получают по следующей формуле:

$$\frac{\text{Содержание аминокислоты, } \frac{\text{мг}}{\text{г}} \text{ испытываемого белка}}{\text{Содержание той же аминокислоты, } \frac{\text{мг}}{\text{г}} \text{ эталонного белка}} \cdot 100. \quad (4.33)$$

Эссенциальные аминокислоты с минимальным химическим скором являются наиболее лимитирующими аминокислотами данного белка. Химический скор данной лимитирующей аминокислоты определяет химический скор анализируемого белка. Как мы уже отмечали, зачастую лимитирующими аминокислотами пищевых белков являются лизин, тирозин, триптофан и серосодержащие аминокислоты, так что для оценки биологической ценности белка достаточно знать химический скор этих аминокислот. Он позволяет рассчитать, какое количество анализируемого белка или смеси белков обеспечивает требуемое суточное потребление лимитирующих аминокислот. Расчет проводят по формуле

$$\text{Требуемое потребление белка} = \frac{\text{Рекомендуемое потребление яичного белка}}{\text{Химический скор белка}} \cdot 100. \quad (4.34)$$

Одним из преимуществ этого метода является его простота, а также то, что он позволяет определить комплементарные эффекты белков в рационе. Кроме того, с его помощью можно составлять рационы с высококачественными белками путем комбинирования различных белков для разных диетических программ. Вместе с тем у данного метода есть и некоторые недостатки. В его основе лежит допущение, что все анализируемые белки усваиваются полностью и одинаково, то есть все эссенциальные аминокислоты всасываются полностью. Поскольку это допущение зачастую не выполняется, не удастся получить хорошую корреляцию результатов

с результатами, полученными биологическими методами (ее можно повысить, если в расчетах химического сора учитывать усвояемость белка). Кажущуюся усвояемость белка можно быстро определить *in vitro* при использовании комбинации трех-четырех ферментов (например, трипсина химотрипсина, пептидазы и бактериальной протеазы).

Еще одним недостатком метода химического сора является то, что в нем не учитывается различие *D*- и *Z*-аминокислот. Так как животными усваиваются только *L*-аминокислоты, метод химического сора дает завышенную оценку биологической ценности белков (особенно в условиях высоких значений рН обуславливающих рацемизацию). С помощью химического сора нельзя также спрогнозировать негативные влияния высокой концентрации одной из аминокислот на биодоступность других эссенциальных аминокислот, а также эффект таких «антиалиментарных» факторов, как действие ингибиторов протеаз и лектинов, которые могут присутствовать в рационе. Несмотря на эти недостатки, последние полученные данные свидетельствуют, что химический скор белков с коррекцией на усвояемость хорошо коррелируют с данным биологической оценки белков, у которых показатель BV выше 40 % (если он ниже, то корреляция плохая).

4.7.3.3 Ферментативные и микробиологические методы

Для определения усвояемости и высвобождения эссенциальных аминокислот применяются ферментативные методы *in vitro*. По одному из таких методов допытываемый белок сначала расщепляют пепсином, а затем панкреатином (сухим экстрактом панкреатина сублимационной сушки). По другому методу белки в стандартных условиях анализа разлагаются тремя ферментами – трипсином поджелудочной железы, химотрипсином и свиной кишечной пептидазой. Помимо информации об усвояемости белков эти методы полезны для выявления изменения в качестве белков в ходе промышленной переработки.

Для определения биологической ценности белков применяют также микробиологические методы, в частности анализ роста и размножения некоторых микроорганизмов (*Streptococcus zymogenes*, *Streptococcus faecalis*, *Leuconostoc mesenteroides*, *Clostridium perfringens*) и простейших (*Tetrahymena pyriformis*). Особенно полезны *Tetrahymena pyriformis*, поскольку их потребность в аминокислотах сходна с потребностями крыс и человека.

Контрольные вопросы

1. Перечислите аминокислоты, относящиеся к заменимым и к незаменимым.

2. Что представляет из себя цвиттер-ион? Запишите переход ионизированных состояний на примере глицины. Какое из ионизированных состояний соответствует изоэлектрической точке?

3. Какие химические превращения аминокислот используют для их количественного определения?
4. Что представляет из себя пептидная связь? Почему считается, что пептидная связь имеет частично двойной характер? Как это отражается на структурных особенностях белков?
5. Дайте определение торсионному углу. Какой торсионный угол вращения пептидной связи?
6. Какая вторичная структура белков более прочная: спиральная или структура β -слоя? Ответ обоснуйте.
7. Опишите движущую силу процесса фолдинга белков.
8. Приведите примеры белков, которые образуют димерные и тетрамерные четвертичные структуры.
9. Какие структуры разрушаются в процессе денатурации белков?
10. Опишите термодинамику процесса денатурации белка.
11. Приведите примеры денатурации белка под действием физических факторов.
12. Опишите связь между физико-химическими и функциональными свойствами белков в пище.
13. Через какие этапы проходит белок в процессе гидратации?
14. Проклассифицируйте белки с точки зрения их способности к растворению.
15. Какой растворимостью будет обладать белок в его изоэлектрической точке?
16. Какими характеристиками должен обладать белок, чтобы проявлять желаемые поверхностно-активные свойства?
17. Сравните способность к образованию дисперсных систем ПАВы с низкой молекулярной массой и белки.
18. Как влияет добавление сахаров, жиров и солей на способность белков к пенообразованию и на стойкость получаемой пены.
19. Опишите этапы процесса фильерной текстуризации и текстуризации экструзией.
20. Какие функциональные свойства белковых гидролизатов?
21. Какой белок считается идеальным с точки зрения его биологической ценности?
22. Опишите факторы, влияющие на усвояемость белка.

Список использованной литературы

1. Adachi M., Takenaka Y., Gidamis A.B., Mikami B., Utsumi S. Crystal structure of soybean proglycinin A1aB1b homotrimer // J. Mol. Biol. – 2001. – Vol. 305, P. 291–305.

2. Adachi M., Kanamori J., Masuda T., Yagasaki K., Kitamura K., Mikami B., Utsumi S. Crystal structure of soybean 11S globulin: glycinin A3B4 homohexamer // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* – 2003. – Vol. 100, P. 7395–7400.
3. Belton P.S. New approaches to study the molecular basis of the mechanical properties of gluten // *J. Cereal. Sci.* – 2005. – Vol. 41, P. 203–211.
4. Cooke R. The sliding filament model: 1972-2004 // *J. Gen. Physiol.* – 2004. – Vol. 123, P. 643–656.
5. Don C., Lichtendonk W.J., Plijter J.J., Hamer R.J. Understanding the link between GMP and dough from glutenin particles in flour towards developed dough // *J. Cereal. Sci.* – 2003. – Vol. 38, P. 157–165.
6. D'Ovidio R., Masci S. The low-molecular-weight subunits of wheat gluten // *J. Cereal. Sci.* – 2004. – Vol. 39, P. 321–339.
7. Finnie S.M., Jeannotte R., Faubron J.M. Quantitative characterization of polar lipids from wheat whole meal, flour, and starch // *Cereal Chem.* – 2009. – Vol. 86, P. 637–645.
8. Geeves M.A., Holmes K.C. The molecular mechanism of muscle contraction // *Adv. Protein Chem.* – 2005. – Vol. 71, P. 161–194.
9. Gianibelli M.C., Larroque O.R., MacRitchie F., Wrigley C.W. Biochemical, genetic, and molecular characterization of wheat glutenin and its component subunits // *Cereal Chem.* – 2001. – Vol. 78, P. 635–646.
10. Guo S.-T., Ono T. The role of composition and content of protein particles in soymilk on tofu curdling by glucono- δ -lactone or calcium sulfate // *J. Food Sci.* – 2005. – Vol. 70, P. C252–C262.
11. Huff-Lonergan E., Lonergan S.M. Mechanisms of water-holding capacity of meat: the role of postmortem biochemical and structural changes // *Meat Sci.* – 2005. – Vol. 71, P. 194–204.
12. Johansson E., Malik A.H., Hussain A., Rasheed F., Newson W.R., Plivelic T., Hedenqvist M.S., Gallstedt M., Kuktaite R. Wheat gluten polymer structures: the impact of genotype, environment, and processing on their functionality in various applications // *Cereal Chem.* – 2013. – Vol. 90, P. 367–376.
13. Kemp C.M., Sensky P.L., Bardsley R.G., Buttery P.J., Parr T. Tenderness – an enzymatic view // *Meat Sci.* – 2010. – Vol. 84, P. 248–256.
14. Lakemond C.M.M., de Jongh H.H.J., Hensing M., Gruppen H., Voragen A.G.J. Soy glycinin: influence of pH and ionic strength on solubility and molecular structure at ambient temperatures // *J. Agric. Food Chem.* – 2000. – Vol. 48, P. 1985–1990.
15. Lindsay M.P., Tamas L., Appels R., Skerritt J.H. Direct evidence that the number and location of cysteine residues affect glutenin polymer structure // *J. Cereal Sci.* – 2000. – Vol. 31, P. 321–333.
16. Lucey J.A. Formation and physical properties of milk protein gels // *J. Dairy Sci.* – 2002. – Vol. 85, P. 281–294.

17. Maruyama N., Adachi M., Takahashi K., Yagasaki K., Kohno M., Takenaka Y., Okuda E., Nakagawa S., Mikami B., Utsumi S. Crystal structures of recombinant and native soybean β -conglycinin β homotrimers // *Eur. J. Biochem.* – 2001. – Vol. 268, P. 3595–3604.
18. Maruyama N., Salleh M.R.M., Takanashi K., Yagasaki K., Goto H., Hontami N., Nakagawa S., Utsumi S. The effect of the N-linked glycans on structural features and physicochemical functions of soybean β -conglycinin homotrimers // *Journal of the American Oil Chemists' Society* – 2002. – Vol. 79, P. 139–144.
19. McMahon D.J., Oommen B.S. Supramolecular structure of the casein micelle // *J. Dairy Sci.* – 2008. – Vol. 91, P. 1709–1721.

Рекомендуемая литература

1. Новокшанова, А. Л. Пищевая химия: учебник для вузов / А. Л. Новокшанова. – Москва: Издательство Юрайт, 2023. – 307 с.
2. Пищевая химия. Добавки: учебное пособие для среднего профессионального образования / Л. В. Донченко, Н. В. Сокол, Е. В. Щербакова, Е. А. Красноселова; ответственный редактор Л. В. Донченко. – 2-е изд., испр. и доп. – Москва: Издательство Юрайт, 2023. – 223 с.
3. Пищевая химия: учебник / А. П. Нечаев, С. Е. Траубенберг, А. А. Кочеткова, В. В. Колпакова. – 6-е изд. – Санкт-Петербург: ГИОРД, 2015. – 672 с.
4. Тутельян Виктор Александрович. Химический состав и калорийность российских продуктов питания: справочник / В. А. Тутельян. – М.: ДеЛи плюс, 2012. – 284 с.
5. Уайтхерст Р.Дж., М. ван Оорст. – Пер. с англ. д-ра хим. наук С.В. Макарова. – СПб: Профессия, 2013. – 408 с.
6. Химия пищевых продуктов: научное издание / ред., сост.: Ш. Дамодаран, К. Л. Паркин, О. Р. Феннема. – СПб.: Профессия, 2012. – 1040 с.
7. Химия пищи / Рогов И.А., Антипова Л.В., Дунченко Н.И. – М.: КолосС, 2007. – 853 с.

Еремеева Наталья Борисовна

Пищевая химия

Учебное пособие

В авторской редакции

Редакционно-издательский отдел Университета ИТМО

Зав. РИО

Н.Ф. Гусарова

Подписано к печати

Заказ №

Тираж

Отпечатано на ризографе

Редакционно-издательский отдел
Университета ИТМО
197101, Санкт-Петербург, Кронверкский пр., 49, литер А