

УДК 581.19

## ВЛИЯНИЕ ВЛАГОТЕПЛОВОЙ ОБРАБОТКИ НА БЕЛКОВЫЕ ФРАКЦИИ ЗЕРНА ПШЕНИЦЫ

© 2011 г. Н. В. Кораблёва, Т. Д. Касымова

*Институт химии растительных веществ АН РУз им. С.Ю. Юнусова, Узбекистан, Ташкент 100170  
e-mail: nadya1477@rambler.ru*

Поступила в редакцию 09.12.2009 г.

Исследовано влияние различных температурных режимов влаготепловой обработки в диапазоне от 40 до 80°C на белковые фракции зерна пшеницы, выращенной в природно-климатических условиях Узбекистана. Методами обращенно-фазовой и эксклюзионной хроматографии установлено, что проведение влаготепловой обработки вызывает уменьшение экстрактивности и изменение соотношения высоко- и низкомолекулярных компонентов. При этом повышение температуры обработки выше 60°C во всех случаях, за исключением фракции глютеинов, приводило к уменьшению высокомолекулярных компонентов с одновременным увеличением количества низкомолекулярных. Глютеиновая фракция была более подвержена воздействию высоких температур и обладала большей способностью к агрегации, происходящей в основном за счет компонента с молекулярной массой 113.42 кДа. Уменьшение количества свободных сульфгидрильных групп в клейковине пшеницы и ее фракциях при повышении температуры обработки указывало на их окисление с образованием новых межмолекулярных дисульфидных связей, что приводило к агрегации белков и способствовало укреплению клейковины.

Одним из основных процессов подготовки зерна к помолу, качественно улучшающих его продовольственное использование, является обработка зерна влагой и теплом. При этом различные температурные режимы процесса позволяют, в той или иной степени воздействовать на весь технологический комплекс переработки зерна с целью его улучшения, а также обеспечивать наибольший выход готовой продукции – муки и крупы с лучшими показателями качества и наименьшей затратой энергии.

Основным белковым компонентом зерна пшеницы является клейковина, которая представляет собой высокополидисперсную, полимерную систему, состоящую из высоко- и низкомолекулярных белковых компонентов – глиадины и глютеина [1–8]. Наибольший интерес представляет изучение воздействия температуры на белковые компоненты различного размера и структуры.

Определение качественных изменений, происходящих в белках при тепловом воздействии, проводилось с использованием таких методов анализа, как гельфильтрация [9, 10] электрофорез [11, 12, 15] высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ) [12–14, 19]. Так, Сингх и МакРичи, используя ВЭЖХ [12], обнаружили, что в воднодиспергированной клейковине, нагретой до 100°C, только высокомолекулярные глютеины проявляют полимеризацию, а глиадины не образуют олигомеров. К противоположному выводу пришли Лагрейн с соавт. [13]. Изучая воздействие нагрева и охлаждения на физико-химические свойства водно-клейковинной суспензии пшеницы, они отме-

тили, что выдерживание клейковины при 95°C приводило к полимеризации как глютеина, так и глиадины. Большинство исследователей [8–26] указывали также на то, что во время тепловой обработки влажной клейковины происходило уменьшение растворимости и экстрактивности белковых веществ за счет изменения конформационного состояния клейковинных белков и открытия гидрофобных групп.

Воздействие температуры на белки альбуминовой и глобулиновой фракций пшеницы изучено мало. Шомер с соавт. [18] отметили, что низкомолекулярные фракции как альбуминов, так и глобулинов обладают большей устойчивостью к воздействию высоких температур, чем высокомолекулярные, которые склонны к коагуляции при более низкой температуре.

Большая часть исследователей [3–21] проводила изучение изменений, происходящих в изолированных белковых фракциях, водные суспензии которых подвергались нагреву при различной температуре.

Цель работы – определение изменений, происходящих с белковыми фракциями в целом зерне, подвергнутом процессу влаготепловой обработки при различных температурных режимах в условиях, близких к производственным, и влияния состава и соотношения белковых фракций на реологические свойства клейковины.

## МЕТОДИКА

Для исследования использовали мягкую пшеницу *Triticum aestivum* L. выращенную в Узбекистане, сорта Крошка, урожая 2006 и 2008 гг., со следующими показателями качества: влажность — 9.69%, стекловидность — 52%, масса 1000 зерен — 40 г, натура — 780 г/л, содержание клейковины — 25.3%, общий белок ( $N \times 5.7$ ) — 15.2%, зольность — 1.86%.

**Проведение влаготепловой обработки.** Навески зерна пшеницы (100 г) увлажняли до 16%. Необходимое количество воды рассчитывали по формуле [25]. Затем навески зерна выдерживали в течение 10 мин в термостате при температуре 40, 50, 60, 70 и 80°C. Обработанное таким образом зерно пшеницы оставляли в закрытых емкостях при комнатной температуре на 5 ч, после чего измельчали на лабораторной мельничке ЭКМУ 50 (Россия), и использовали для дальнейшего анализа.

**Выделение белковых фракций.** Экстракцию белковых фракций из измельченных образцов пшеницы проводили по методу [27]. Растворимые белки экстрагировали 0.1 М раствором фосфатного буфера, рН 7.0, содержащего 1 М раствор NaCl, с последующим диализом против дистиллированной воды. Глиадиновую фракцию выделяли из осадка, после отделения альбуминов и глобулинов, путем экстракции 70%-ным этанолом. Глютенин выделяли при помощи 0.05 н. раствора NaOH после удаления спиртовой фракции глиадинов. Определение белка в выделенных фракциях проводили по измерению поглощения  $E$  при 260 и 280 нм с расчетом концентрации  $C$  по формуле:  $C_{\text{мг/мл}} = 1.45 E_{280} - 0.74 E_{260}$  [28]. Полученные белковые фракции анализировали методом ВЭЖХ.

**Высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ).** Анализ проводили на приборе марки AT серии 1100, фирмы “Agilent technologist” (США), с использованием дегазатора, насоса для подачи растворителей, автоматического ввода пробы (автосамплер), термостата колонки и диодноматричного детектора (ДМД):

а) *Обращенно-фазовая хроматография.* Колонка — марки Zorbax Agilent Eclipse XDB-C8, фирмы “Agilent technologist” (США), 125 × 2 мм, 5 мкм; подвижная фаза: **раствор А** — дистиллированная вода, содержащая 0.1% ТФУ, **раствор В** — ацетонитрил, также содержащий 0.1% ТФУ. Разделение проводили, используя линейный градиент концентрации раствора В от 15 до 50% в течение 50 мин с возвратом до первоначального уровня (15%) в течение последующих 10 мин. Скорость потока — 1 мл/мин, термостатирование колонки при 50°C. Концентрация белков в растворах — 1 мг/мл. Детектирование пиков проводили при длине волны 210 нм;

б) *Эксклюзионная хроматография.* Колонка — марки Zorbax GF-250, фирмы “Agilent technologist” (США), 4.6 × 250 мм, 4 мкм с использованием предколонки марки Zorbax diol, 4.6 × 12.5 мм, 5 мкм; по-

движная фаза: для растворимых белков (альбумины и глобулины) — 0.1 М натрий-фосфатный буфер, рН, 7.0, содержащий 0.1 М раствор NaCl; подвижная фаза для клейковинообразующих белков (глиадины и глютенины) — 0.1 М натрий-фосфатный буфер, рН 7.0, содержащий 0.1%-ный додецилсульфата натрия (ДДС-Na). Образцы глиадина и глютенина перед анализом разводили в рабочем буфере, но содержащем 2% ДДС-Na. Концентрация белков в растворах — 1 мг/мл. Для всех белковых фракций использовали скорость потока 0.25 мл/мин, термостатирование колонки при 28°C и детектирование пиков при длине волны 210 нм.

Для определения молекулярной массы (ММ) белков колонка предварительно была откалибрована при помощи стандартных растворов белков с известной молекулярной массой (кДа): иммуноглобулин — 160, бычий сывороточный альбумин — 67, овальбумин — 45, ингибитор трипсина — 20. Молекулярную массу определяли путем построения калибровочного графика, используя в качестве параметров зависимость логарифма ММ белков (ось ординат) от их объема удерживания, определяемом, как произведение времени удерживания на скорость потока (ось абсцисс).

**Выделение клейковины.** Клейковину выделяли по стандартной методике [29], отмывая крахмал и оболочку в проточной воде. Реологические свойства клейковины определяли на приборе — измерителе деформации клейковины “ИДК-1” (Россия).

**Определение хлебопекарных свойств муки из зерна, обработанного при различных условиях влаготепловой обработки.** Оценку качества муки, полученной из зерна, обработанного при различных условиях влаготепловой обработки, проводили методом пробной лабораторной выпечки.

**Определение свободных сульфгидрильных групп.** Навески отмытой клейковины 0.1–0.2 г, тщательно суспендировали в 10 мл рабочего буфера (0.05 М натрий-фосфатный буфер, рН 6.5, содержащего 2% об./об. додецилсульфата натрия (ДДС-Na), 3.0 М мочевины и 1 мМ натрий этилендиамин тетраацетат (трилон Б)). В подготовленных образцах клейковины измеряли количество белка по поглощению при 260, 280 нм [28]. Навески 10–20 мг гидрофильно высушенных фракций глиадина и глютенина растворяли в 10 мл рабочего буфера (концентрация белка в растворе 1–2 мг/мл). Свободные сульфгидрильные группы в подготовленных растворах определяли колориметрически при 412 нм после реакции с 5,5'-дитио-бис(2-нитробензойной кислотой) (реактив Элмана) по методике, предложенной Б. Лагрейном с соавт. [13]

**Статистическая обработка данных.** Статистическую обработку данных проводили при помощи компьютерной программы “Microsoft Excel” с использованием общепринятых статистических критериев [30]. Полученные значения достоверно отлича-

**Таблица 1.** Содержание белка (мг/г зерна) в белковых фракциях зерна пшеницы, обработанной при различной температуре проведения влаготепловой обработки ( $n = 6$ )

Фракция	Температура обработки, °С					
	контроль	40	50	60	70	80
Альбумины	15.23 ± 0.37	14.40 ± 0.29	12.87 ± 0.20*	12.90 ± 0.37*	10.90 ± 0.40*	8.83 ± 0.2*
Глобулины	4.83 ± 0.10	6.72 ± 0.26*	8.77 ± 0.32*	6.58 ± 0.19*	5.90 ± 0.23*	4.80 ± 0.12
Глиадины	49.23 ± 0.23	47.10 ± 0.23*	46.62 ± 0.17*	46.02 ± 0.10*	45.27 ± 0.18*	45.30 ± 0.11*
Глютенины	45.16 ± 0.10	42.57 ± 0.12*	41.17 ± 0.27*	34.53 ± 0.14*	33.87 ± 0.18*	31.66 ± 0.24*
Суммарный извлеченный белок, % от общего содержания белка	75.3	72.9	72.08	65.8	63.19	59.45

\* Вероятность ошибочной оценки  $P < 0.05$ .

лись от контрольного показателя при вероятности ошибочной оценки не более чем в 5% случаев —  $P < 0.05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Пшеницу сорта Крошка подвергали влаготепловой обработке в диапазоне от 20 до 80°C и определяли экстрактивность основных белковых фракций. Содержание белка в выделенных фракциях в зависимости от температуры обработки пшеницы приведены в табл. 1. Увеличение температуры воздействия на зерно пшеницы приводило к уменьшению экстрактивности белковых веществ. Суммарное содержание извлеченного белка с повышением температуры обработки снижалось в среднем на 15.9%, что было связано, по-видимому, с изменением конформации белковых фракций и увеличением нерастворимого белкового остатка. На фоне уменьшения экстрактивности белковых фракций в глобулиновой фракции наблюдали сначала увеличение содержания белка до 8.77 мг/г при 50°C с последующим его снижением до 4.8 мг/г при 80°C. Данное явление, возможно, связано с тем, что глобулиновая фракция содержит в своем составе основную часть ферментов, в том числе протеаз, и повышение температуры обработки до 50°C способствует их активизации, сопровождаемой расщеплением и увеличением растворимости ранее не растворимых белковых компонентов. Дальнейшее увеличение температуры приводило к их ингибированию, вызванному частичной тепловой денатурацией. Полученные результаты хорошо согласуются с данными других исследователей, в том числе Буфф и Шофелда [1, 2], отмечающими уменьшение

гидрофобности белковых фракций при тепловой обработке их водных суспензий.

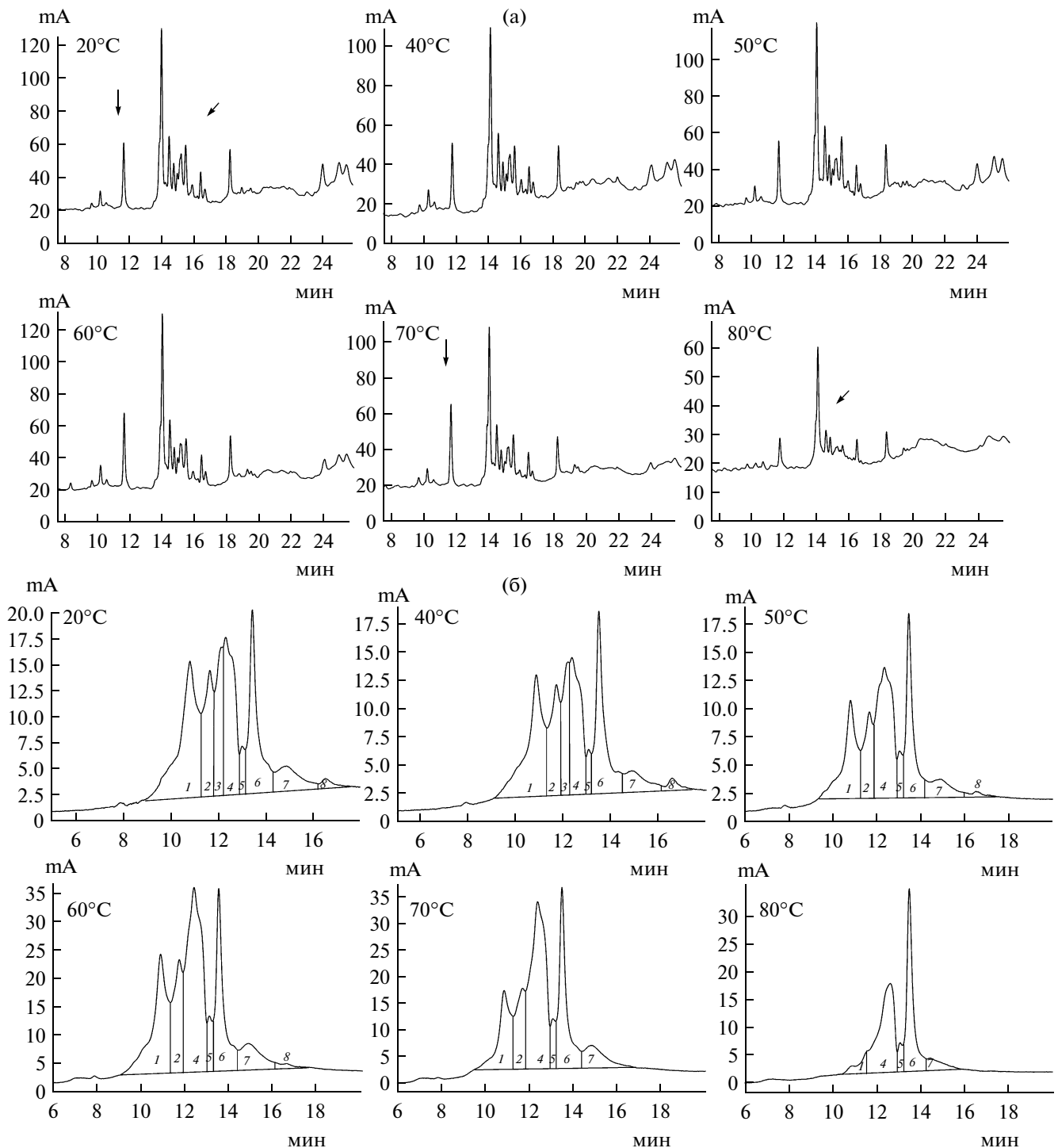
Влияние различной температуры влаготепловой обработки зерна пшеницы на белковые фракции определяли при помощи обращенно-фазовой и эксклюзионной ВЭЖХ.

На рис. 1 приведены хроматограммы профиля элюции альбуминовой фракции при влаготепловой обработке. Увеличение температуры до 60°C не вызывало каких-либо существенных изменений. Однако при 80°C наблюдали резкое уменьшение площади всех основных пиков, а также исчезновение минорных компонентов в диапазоне времени от 8 до 12 мин и от 14 до 16 мин (рис. 1а).

Изменения, происходящие с компонентами альбуминовой фракции различной молекулярной массы под влиянием влаготепловой обработки, приведены на рис. 1б.

Из полученных хроматограмм видно, что компоненты с разной молекулярной массой претерпевают неодинаковые изменения.

Первоначально альбуминовая фракция состояла из 8 компонентов (рис. 1б). В количественном соотношении преобладающими были компоненты с ММ 56.04 и 25.24 кДа. Увеличение температуры обработки от 20 до 80°C вызывало уменьшение содержания высокомолекулярных компонентов с ММ 56.04 кДа с 26.7 до 16.4%, а также приводило к полному расщеплению белков с ММ 42.14 и 27.04 кДа и одновременному увеличению низкомолекулярных — 25.24 и 12.82 кДа, площадь пиков которых увеличилась с 20.6 до 33.05% и от 18.1 до 37.9% соответственно (рис. 1б, табл. 2).



**Рис. 1.** Хроматограммы альбуминовой фракции при различных температурных режимах влаготепловой обработки: а – обращенно-фазовая хроматография; б – эксклюзионная хроматография, ММ компонентов (кДа): 1 – 56.04, 2 – 42.14, 3 – 27.04, 4 – 25.24, 5 – 17.21, 6 – 12.82, 7 – 5.39, 8 – 2.05.

Фракция глобулинов была довольно устойчива к воздействию температуры до 60°C (рис. 2а, 2б). На хроматограммах наблюдали расщепление основных пиков и изменение соотношения гидрофобных и гидрофильных белковых компонентов данной

фракции при увеличении температуры выше 60°C. Изменение температуры обработки пшеницы от 40 до 80°C приводило сначала к возрастанию количества гидрофильных (в области от 20 до 30 мин), а затем гидрофобных (в области от 30 до 40 мин) белко-

**Таблица 2.** Площадь пиков белковых компонентов (1–8) различной молекулярной массы во фракции альбуминов при влаготепловой обработке, % ( $n = 6$ )

Температура обработки, °С	Молекулярная масса компонентов (1–8), кДа							
	1	2	3	4	5	6	7	8
	56.04 ± 0.1	42.14 ± 0.06	27.04 ± 0.03	25.24 ± 0.08	17.21 ± 0.13	12.82 ± 0.1	5.39 ± 0.08	2.05 ± 0.09
Контроль	26.71 ± 0.14	13.10 ± 0.20	9.63 ± 0.26	20.63 ± 0.31	2.10 ± 0.29	18.13 ± 0.20	7.13 ± 0.26	2.70 ± 0.11
40	24.40 ± 0.31*	13.10 ± 0.50	10.60 ± 0.23	19.80 ± 0.17	2.33 ± 0.30	20.87 ± 0.37*	6.40 ± 0.29	2.43 ± 0.20
50	20.86 ± 0.20*	11.76 ± 0.26*		32.73 ± 0.26*	3.50 ± 0.17*	21.47 ± 0.26*	7.16 ± 0.14	2.10 ± 0.20
60	20.53 ± 0.26*	12.17 ± 0.20*		34.43 ± 0.20*	2.70 ± 0.12	17.80 ± 0.32	8.60 ± 0.23*	3.70 ± 0.11*
70	15.53 ± 0.26*	10.86 ± 0.20*		38.13 ± 0.26*	3.00 ± 0.11*	21.13 ± 0.20*	11.16 ± 0.20*	
80	16.40 ± 0.28*			33.05 ± 0.32*	3.70 ± 0.29*	37.90 ± 0.40*	8.90 ± 0.35*	

\* Вероятность ошибочной оценки  $P < 0.05$ .

вых компонентов (рис. 2а), что также согласовалось с результатами по содержанию извлеченного белка в данной фракции, представленными в табл. 1.

На профиле элюции, полученном при помощи эксклюзионной хроматографии (рис. 2б) в данных условиях разделения, глобулиновая фракция необработанной пшеницы была представлена одним пиком с ММ 22.47 кДа. Проведение влаготепловой обработки уже при 40°C приводило к разделению данного пика на два, один из которых соответствовал первоначальному белковому компоненту с ММ 22.47 кДа, а второй – 19.22 кДа. Дальнейшее увеличение температуры вызывало только изменение соотношения данных компонентов. При температуре до 60°C наблюдали увеличение доли белкового компонента с молекулярной массой 19.22 кДа, площадь пика которого составила 42.20%, а при 80°C содер-

жание данного компонента уменьшалось с возрастанием доли более высокомолекулярного компонента с молекулярной массой 22.47 кДа (табл. 3).

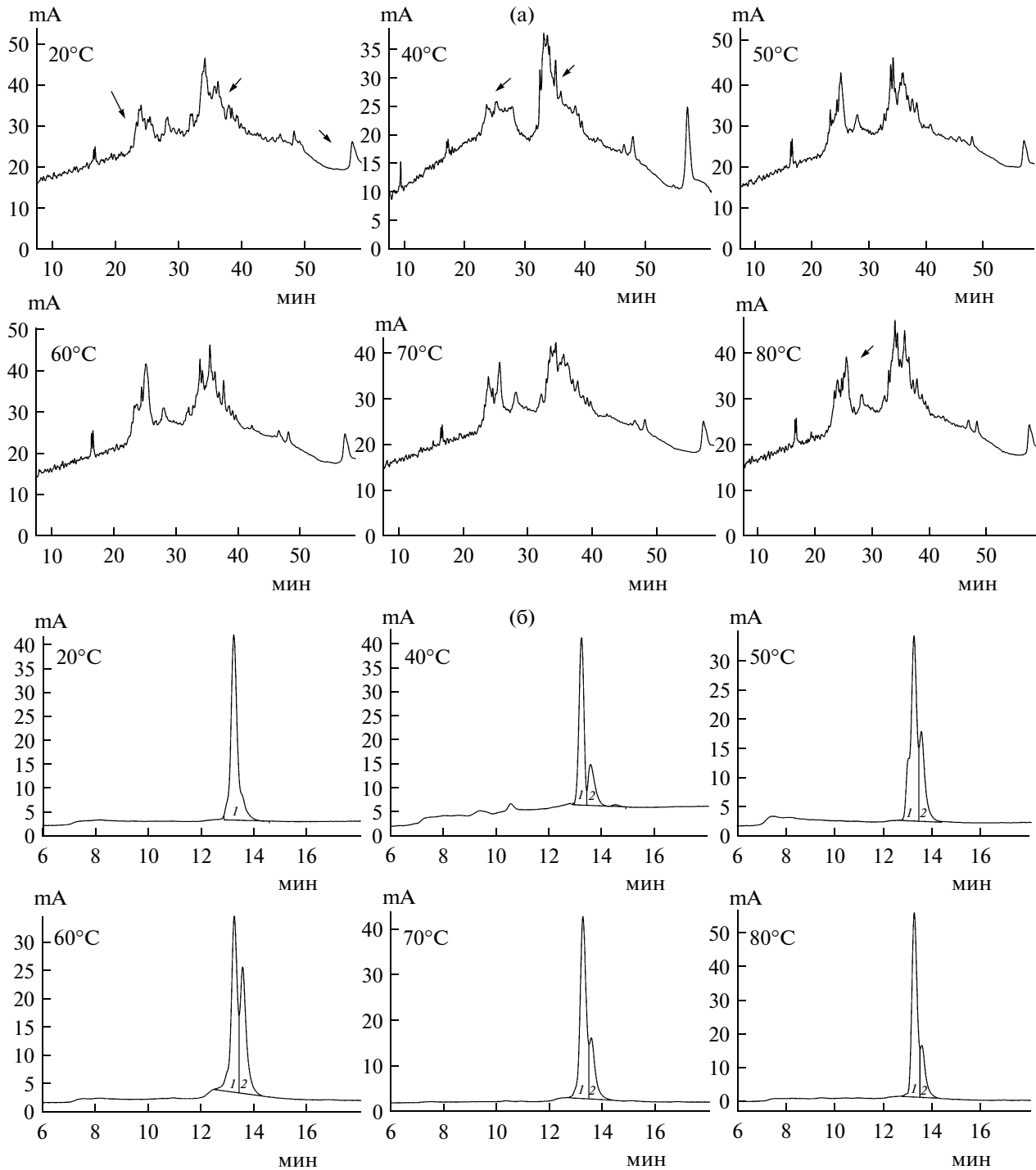
На рис. 3 представлены хроматограммы глиадиновой фракции. Как видно из приведенных данных, обработка зерна уже при 40°C вызывала расщепление основных пиков с образованием большого количества минорных компонентов. Дальнейшее увеличение температуры до 80°C приводило к заметному сглаживанию профиля элюции глиадиновой фракции за счет исчезновения минорных компонентов (рис. 3а).

Эксклюзионную хроматографию глиадиновой фракции проводили с использованием в качестве поверхностно-активного вещества (ПАВ) – додецилсульфата натрия (ДДС-Na). Фракция глиадинов необработанной пшеницы состояла из 3 групп белков с молекулярными массами: 38.15, 27.89 и 24.92 кДа (рис. 3б). Проведение процесса кондиционирования приводило к разделению данной фракции сначала на 4 белковых компонента при 40°C, затем на 5 – при 50°C, 6 – при 60°C и на 7 компонентов – при 70 и 80°C. При этом мы наблюдали агрегацию белковых компонентов с ММ 38.15 кДа и образование новых компонентов с ММ 52.55 кДа, а также появление новых низкомолекулярных компонентов ММ 17.04 кДа. При 50°C количественное соотношение площадей пиков с ММ 52.55 и 38.15 кДа стало практически равным, а пик, соответствующий белковому компоненту 7, разделялся уже на две фракции, одна из которых соответствовала первоначальной молекулярной массе, а другая – 16.20 кДа. Дальнейшее увеличение температуры до 60°C также приводило к появлению нового компонента 2 с ММ 48.53 кДа, образующегося за счет разделения пика, соответствующего компоненту 1. Увеличение температуры обработки до 70–80°C приводило к сокращению площади пика компонента 1 за счет его расщепления на компоненты с меньшей молекулярной массой (рис. 3, 2–5), а также увеличению площади пиков, соответствующих

**Таблица 3.** Площадь пиков белковых компонентов различной молекулярной массы во фракции глобулинов при влаготепловой обработке, % ( $n = 6$ )

Температура обработки, °С	Молекулярная масса компонентов 1, 2, кДа	
	1	2
	22.47 ± 0.02	19.22 ± 0.04
Контроль	100 ± 0.25	–
40	75.06 ± 0.69*	25.00 ± 0.69
50	70.90 ± 0.37*	29.10 ± 0.40*
60	57.80 ± 0.15*	42.20 ± 0.15*
70	76.3 ± 0.43*	23.66 ± 0.44
80	78.90 ± 0.41*	21.07 ± 0.40*

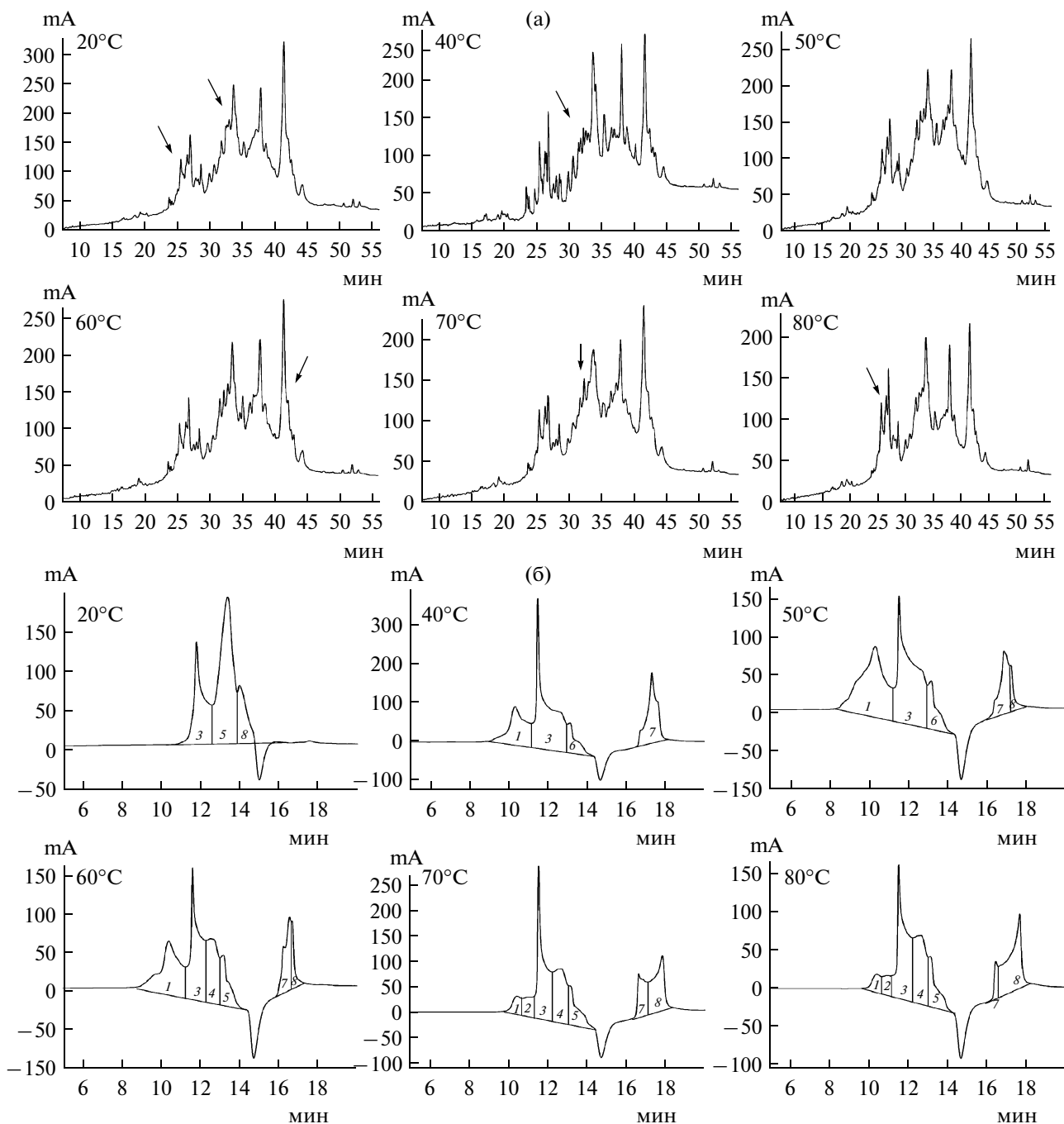
\* Вероятность ошибочной оценки  $P < 0.05$ .



**Рис. 2.** Хроматограммы глобулиновой фракции при различных температурных режимах влаготепловой обработки: а – обращенно-фазовая хроматография, б – эксклюзионная хроматография, ММ компонентов (кДа): 1 – 22.47, 2 – 19.22.

низкомолекулярным компонентам (рис. 3, 7 и 8) (табл. 4). Полученные данные свидетельствовали о конформационных изменениях состояния белковых молекул.

На профиле элюции глютелиновой фракции, полученном при помощи обращенно-фазовой хроматографии (рис. 4а), при увеличении температуры обработки пшеницы до 60°C наблюдалось расщеп-



**Рис. 3.** Хроматограммы глиадиновой фракции при различных температурных режимах влаготепловой обработки: а – обращенно-фазовая хроматография, б – эксклюзионная хроматография, ММ компонентов (кДа): 1 – 52.55, 2 – 48.53, 3 – 38.15, 4 – 33.85, 5 – 27.89, 6 – 24.92, 7 – 17.04, 8 – 16.2.

ление основных пиков в диапазоне времени от 10 до 15 мин и от 30 до 40 мин и последующее сглаживание профиля элюции при 80°C.

Эксклюзионная хроматография позволила разделить глютелиновую фракцию на 6 белковых компонентов (рис. 4б). В количественном соотношении преобладающим был компонент под номером 2 с ММ 42.55 кДа. Увеличение температуры обработки

пшеницы до 80°C приводило к постепенному увеличению доли высокомолекулярного компонента глютелиновой фракции с ММ 113.42 кДа, площадь пика которого возросла с 6 до 14.7% (табл. 5).

При увеличении температуры обработки выше 50°C площадь пика основного белкового компонента 2 с ММ 42.55 кДа уменьшалась с одновременным увеличением доли компонента 3 с ММ

**Таблица 4.** Площадь пиков белковых компонентов (1–8) различной молекулярной массы во фракции глиадинов при влаготепловой обработке, % ( $n = 6$ )

Температура обработки, °С	Молекулярная масса компонентов 1–8, кДа							
	1	2	3	4	5	6	7	8
		52.56 ± 0.29	48.53 ± 0.07	38.15 ± 0.09	33.85 ± 0.1	27.89 ± 0.17	24.92 ± 0.08	17.04 ± 0.19
Контроль			30.49 ± 0.57		61.94 ± 0.54	7.57 ± 0.26		
40	18.40 ± 0.40		36.95 ± 0.15*		7.78 ± 0.29*		36.80 ± 0.43	
50	33.69 ± 0.20*		34.54 ± 0.37*		7.44 ± 0.33*		16.23 ± 0.33*	8.08 ± 0.30
60	28.78 ± 0.15*		26.98 ± 0.30*	17.15 ± 0.43	9.64 ± 0.26*		12.46 ± 0.30*	4.98 ± 0.13*
70	6.94 ± 0.20*	4.15 ± 0.37	28.84 ± 0.30	14.40 ± 0.35	7.56 ± 0.14*		10.64 ± 0.50*	27.40 ± 0.50
80	5.59 ± 0.23*	3.42 ± 0.16	27.88 ± 0.56*	19.09 ± 0.35	7.60 ± 0.23*		3.20 ± 0.14	33.07 ± 0.25

\* Вероятность ошибочной оценки  $P < 0.05$ .**Таблица 5.** Площадь пиков белковых компонентов (1–6) различной молекулярной массы во фракции глютенинов при влаготепловой обработке, % ( $n = 6$ )

Температура обработки, °С	Молекулярная масса компонентов 1–6, кДа					
	1	2	3	4	5	6
		113.42 ± 2.5	42.55 ± 0.05	34.79 ± 0.28	29.06 ± 0.07	24.51 ± 0.07
Контроль	6.01 ± 0.18	60.4 ± 1.40	17.06 ± 0.15	3.20 ± 0.23	8.23 ± 0.43	5.10 ± 0.64
40	6.40 ± 0.20	62.7 ± 1.40	18.50 ± 0.30*	4.20 ± 0.35	5.23 ± 0.72*	2.93 ± 0.55
50	6.56 ± 0.29	61.3 ± 1.45	21.10 ± 0.35*	4.68 ± 0.23*	4.08 ± 0.07*	2.62 ± 0.35*
60	8.83 ± 0.09*	54.43 ± 1.40*	23.80 ± 1.07*	4.90 ± 0.20*	5.13 ± 0.52*	3.13 ± 0.58
70	13.66 ± 0.35*	55.90 ± 2.10	19.40 ± 0.37*	3.90 ± 0.17	3.63 ± 0.26*	3.66 ± 0.23
80	14.70 ± 0.35*	56.33 ± 1.60	18.13 ± 0.49	4.73 ± 0.26*	3.60 ± 0.17*	2.53 ± 0.37*

\* Вероятность ошибочной оценки  $P < 0.05$ .

34.79 кДа. Соотношение низкомолекулярных компонентов с молекулярными массами 29.06, 24.51, и 23.17 кДа в диапазоне от 40 до 80°C оставалось относительно постоянным.

Известно [29], что влаготепловая обработка, проводимая на зерноперерабатывающих предприя-

тиях, влияет на физико-химические свойства клейковины.

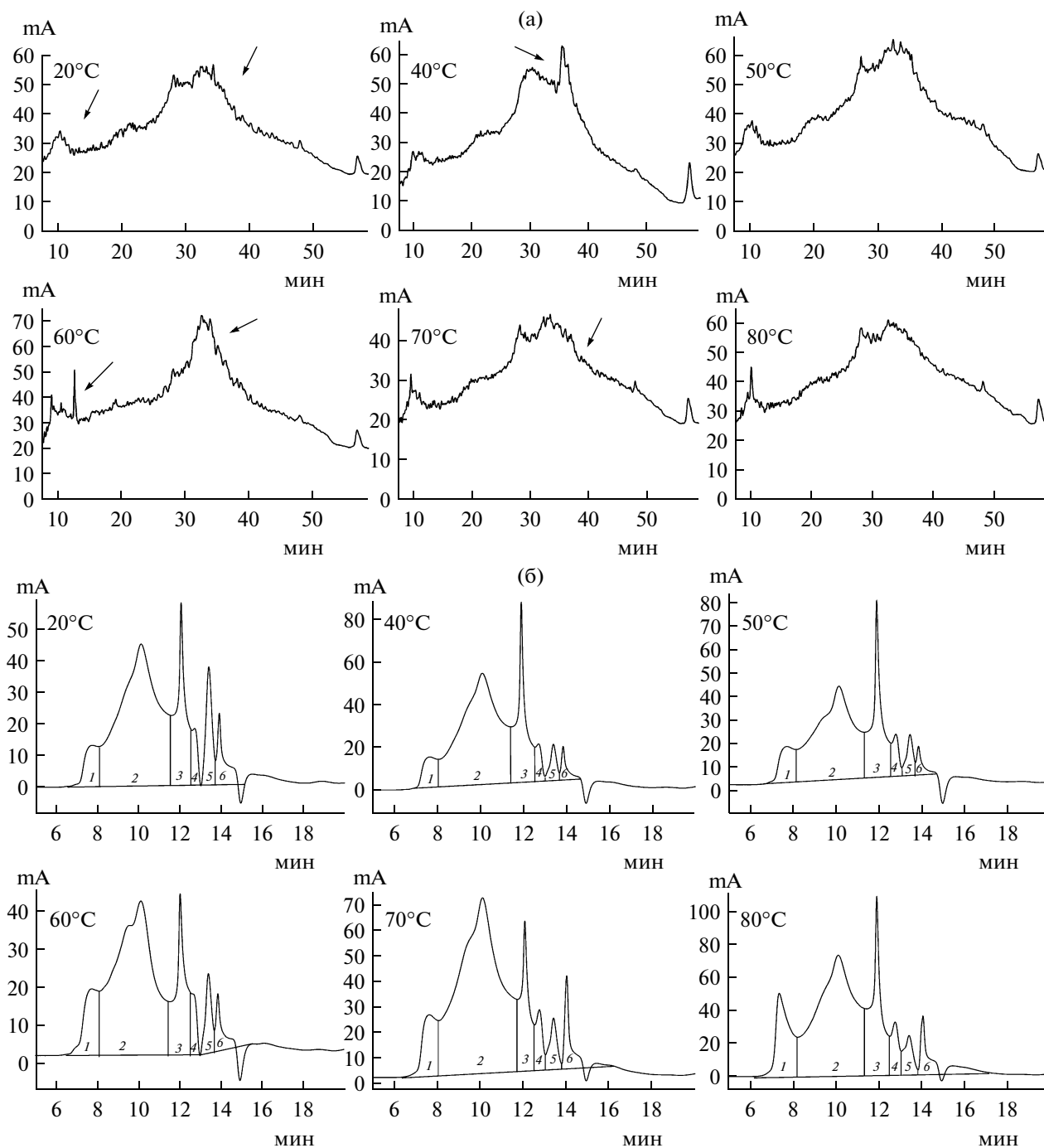
Как видно из данных, представленных в табл. 6, увеличение температуры процесса до 70°C вызывало уменьшение выхода сырой клейковины, а также ее укрепление, выраженное в изменении показате-

**Таблица 6.** Изменение реологических свойств клейковины и показатели качества пробной лабораторной выпечки хлеба при различных температурных режимах влаготепловой обработки ( $n = 6$ )

Температура влаготепловой обработки пшеницы, °С	Содержание клейковины, %	Показатель ИДК, ед.	Группа качества клейковины	Объемный выход хлеба, см <sup>3</sup>	Формо-устойчивость хлеба, Н/D (отношение высоты к диаметру подового хлеба)
Контроль	25.27 ± 0.12	110	III (неудов.)	334	0.19
40	22.03 ± 0.12*	100	III (неудов.)	—	—
50	20.07 ± 0.14*	100	III (неудов.)	404	0.40
60	20.00 ± 0.15*	95	II (удов.)	—	—
70	18.00 ± 0.26*	90	II (удов.)	385	0.30
80	Не отмыв.	—	—	—	—

\* Вероятность ошибочной оценки  $P < 0.05$ .





**Рис. 4.** Хроматограммы глютеиновой фракции при различных температурных режимах влаготепловой обработки: а – обращенно-фазовая хроматография, б – эксклюзионная хроматография, ММ компонентов (кДа): 1 – 113.42, 2 – 42.55, 3 – 34.79, 4 – 29.06, 5 – 24.51, 6 – 23.17.

ля индекса деформации клейковины (**ИДК**) от 110 до 95–90 единиц. Таким образом, влаготепловая обработка пшеницы при 60°C позволяла улучшить реологические свойства клейковины до удовлетворительного качества, что также было подтверждено пробной лабораторной выпечкой хлеба.

Изменение содержания свободных сульфгидрильных групп в клейковине пшеницы и ее белковых фракциях при проведении влаготепловой обработки от 40 до 80°C представлено в табл. 7.

Повышение температуры влаготепловой обработки вызывало уменьшение количества свободных

**Таблица 7.** Изменение содержания свободных сульфгидрильных групп в клейковине пшеницы и ее фракциях, мкМ/г белка при влаготепловой обработке ( $n = 6$ )

Фракция	Температура обработки, °С					
	контроль	40	50	60	70	80
Клейковина	8.03 ± 0.07	6.51 ± 0.30	4.45 ± 0.23*	3.75 ± 0.12*	3.06 ± 0.5*	3.08 ± 0.16*
Глиадин	1.21 ± 0.29	1.54 ± 0.11	2.42 ± 0.30*	1.36 ± 0.50*	1.28 ± 0.44	1.07 ± 0.48
Глютенин	7.76 ± 0.38	7.59 ± 0.16	6.83 ± 0.36	6.67 ± 0.02	6.24 ± 0.14	6.11 ± 0.04

\* Вероятность ошибочной оценки  $P < 0.05$ .

сульфгидрильных групп в клейковине и ее фракциях за счет их окисления с образованием новых, межмолекулярных дисульфидных связей, что приводило к агрегации белков и укреплению клейковины. Это также отражалось в уменьшении экстрактивности клейковины и ее фракций и изменении показателя ИДК от 110 до 95 ед. (табл. 1, 2). Полученные данные согласуются с результатами Б. Лагрейна и П. Вигельса с соавт. [9, 10, 13].

Характерно, что в клейковине содержание свободных сульфгидрильных групп меньше, чем в сумме изолированных фракций глиадина и глютеина. Мы предполагаем, что данное явление вызвано образованием новых дисульфидных связей между молекулами глиадина, глютеина и растворимых белков в процессе формирования клейковины.

Результаты проведенных исследований показали, что при проведении влаготепловой обработки зерна пшеницы в диапазоне от 40 до 80°С наблюдалось уменьшение экстрактивности белковых веществ, а также изменение соотношения компонентов с различной молекулярной массой. При этом повышение температуры обработки пшеницы выше 60°С во всех случаях, за исключением фракции глютеинов, приводило к уменьшению соотношения высокомолекулярных субъединиц и одновременному увеличению количества низкомолекулярных. По-видимому, глютеиновая фракция была более подвержена воздействию высоких температур и обладала большей способностью к агрегации, происходящей в основном за счет компонента с молекулярной массой 113.42 кДа. Уменьшение количества свободных сульфгидрильных групп в клейковине при повышении температуры обработки указывало на их окисление с образованием новых, межмолекулярных дисульфидных связей, способствующих возникновению больших белковых агрегатов.

Полученные данные хорошо согласуются с проведенными нами ранее исследованиями микроstructures клейковины и ее белковых фракций [31].

Таким образом, укрепление клейковины, наблюдаемое при проведении процесса влаготепловой обработки, вызвано изменениями в составе и соотношении белковых фракций зерна пшеницы при повышении температуры обработки.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Booth M.R., Bottomly R.C., Ellis J.R.S., Malloch G., Timms M.F., Shoffeld J. // Ann. Tech. Ag. 1980. V. 29. P. 399–408.
2. Shoffeld J.D., Bottomley R.C., Timms M.F., Booth M.R. // J. Cereal Sci. 1983. V. 1. P. 241–253.
3. Guerrieri N., Alberti E., Lavelli V., Cerletti P. // Cereal Chemistry. 1996. V. 73. P. 368–374.
4. Lefebvre J., Popineau Y., Cornec M. // Gluten Proteins. Detmold: Association of Cereal Research, 1994. P. 180–189.
5. Carceller J.L., Aussenac T. // J. Cereal Sci. 2001. V. 33. P. 134–142.
6. Lemelin F., Aussenac T., Viollean F., Salvo I., Lein V. // Cereal Chemistry. 2005. V. 82. P. 28–33.
7. Stevenson S.G., Preston K.R. // J. Cereal Sci. 1996. V. 21. P. 121–131.
8. Kieffer R., Wieser H. // The Gluten Proteins. Cambridge: Royal Soc. Chem. 2004. P. 235–238.
9. Weegels P.L., de Groot A.M.G., Verhoek J.A., Hamer R.J. // J. Cereal Sci. 1994. V. 19. P. 31–38.
10. Weegels P.L., de Groot A.M.G., Verhoek J.A., Hamer R.J. // J. Cereal Sci. 1994. V. 19. P. 39–47.
11. Stathopoulos C.E., Tsiami A.A., Dobraszchuk B.J., Schofield D.J. // J. Cereal Sci. 2006. V. 43. P. 322–330.
12. Singh H., Mac Richue F. // J. Cereal Sci. 2004. V. 39. P. 297–340.
13. Lagrain B., Brijs K., Wim S.V., Delcour J.A. // J. Cereal Sci. 2005. V. 42. P. 327–333.
14. Wieser H., Antes S., Seilmeier W. // Cereal Chemistry. 1998. V. 75. P. 644–650.
15. Kieffer R., Shurer F., Kohler P., Wieser H. // J. Cereal Sci. 2007. V. 45. P. 285–292.
16. Lagrain B., Brijs K., Delcour J.A. // J. Cereal Sci. 2006. V. 44. P. 49–53.
17. Hayta M., Schofield J.D. // J. Cereal Sci. 2004. V. 40. P. 245–256.

18. *Shomer I., Lookhart G., Salomon R., Vasiliver R., Bean S.* // *J. Cereal Sci.* 1995. V. 22. P. 237–249.
19. *Yinping Wan, Linli Liu, Huixian Zhao* // *J. Cereal Sci.* 2006. V. 44. P. 174–181.
20. *Kim W., Choi S.G., Ken W.L., Jonson J.W., Gaines C.S.* // *J. Cereal Sci.* 2004. V. 40. P. 9–16.
21. *Stathopoulos C.E., Tsiami A.A., Dobraszchuk B.J., Schofield J.D.* // *J. Cereal Sci.* 2008. V. 47. P. 134–143.
22. *Dreese P.C., Faubion J.M., Hosney R.C.* // *Cereal Chemistry*. 1988. V. 65. P. 348–353.
23. *Weegels P.L., Hamer R.J., Schofield J.D.* // *J. Cereal Sci.* 1996. V. 23. P. 1–18.
24. *Tsiami A.A., Bot A., Agterof W.G.M., Groot R.D.* // *J. Cereal Sci.* 1997. V. 26. P. 15–27.
25. *Бутковский В.А., Мельников Е.М.* Технология мукомольного, крупяного и комбикормового производства. М.: Агропромиздат, 1989. 208 с.
26. *Конарев В.Г.* Белки пшеницы. М.: Колос, 1980. С. 11–12.
27. *Бэйли Д.* Методы химии белков. М.: Мир, 1965. С. 266.
28. *Василенко И.* Справочник по качеству зерна. М.: Агропромиздат, 1987. С. 84.
29. *Казаков Е.Д., Кретович В.Л.* Биохимия зерна и продуктов его переработки. М.: Агропромиздат, 1989. С. 302–309.
30. *Лакин Г.Ф.* Биометрия. М.: Высшая школа, 1990. 352 с.
31. *Кораблёва Н.В., Касымова Т.Д.* // Докл. АН РУз. 2008. № 5. С. 62–67.

## Influence of a Moist-Heat Treatment on Protein Fractions of Wheat

N. V. Korableva and T. D. Kasymova

*Yunusov Institute of the Chemistry of Plant Substances, Uzbekistan Academy of Sciences, Tashkent, 100170 Uzbekistan*  
*e-mail: nadya1477@rambler.ru*

Received December 9, 2009

**Abstract**—Influence of different temperature modes of a moist-heat treatment on the protein fractions of wheat, grown in Uzbekistan, has been studied within a temperature range from 40 to 80°C. Using inverted phase and exclusion chromatography, we have revealed that moist-heat treatment reduces the extract content and causes some changes in the ratio between high- and low-molecular components. If the treatment temperature exceeded 60°C, then, in all cases, except the glutenin fraction, the content of high-molecular components decreased, whereas the content of low-molecular components increased. The glutenin fraction was more subjected to heat influence and demonstrated a higher ability to aggregation, occurring mainly due to the component whose molecular weight was 113.42 kDa. Reduction of the number of free sulfhydryl groups in wheat gluten and its fractions in the case of a temperature increase indicates the oxidation of these groups with formation of new intermolecular disulphide bonds, which, in turn, results in the aggregation of proteins and strengthening of gluten. The obtained results agree with data of our earlier studies of gluten microstructure and fractioning during a moist-heat treatment.