

# БІЛКИ. БУДОВА, ВЛАСТИВОСТІ, ПЕРЕТВОРЕННЯ У ХАРЧОВИХ ПРОЦЕСАХ

## План

1. Будова білків, властивості, класифікація
2. Функціональні властивості білків
3. Перетворення білків у харчових технологіях
4. Значення білків у життєдіяльності людини
5. Методи визначення білків

### 1. БУДОВА БІЛКІВ, ВЛАСТИВОСТІ, КЛАСИФІКАЦІЯ

**Білки** – найважливіша складова продуктів харчування. Без білка немає життя – це істина згадується при кожному описанні живої матерії. Існує нескінченний цикл – перетворення азоту для біосинтезу амінокислот і білків.

Тварини використовують у їжу рослини, асимілюють амінокислоти і перетворюють їх у власні білки.

Людина використовує у їжу тваринні і рослинні продукти, перетворюючи амінокислоти їжі у власні тканинні білки.

Після смерті живих організмів органічні молекули розкладаються мікроорганізмами, азот поступає у ґрунт, який асимілюється фіксуєчими бактеріями і перетворюються у органічні речовини і цикл повторюється.

**Білками або протейнами (від грецького слова *protos* – перший, первісний) називають високомолекулярні природні азотовмісні сполуки, молекули яких побудовані із залишків амінокислот.**

Білки – найскладніші речовини із усіх сполук живої тканини.

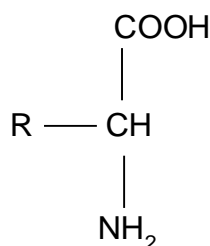
До складу білків входять п'ять елементів: азот, вуглець, кисень, водень, сірка приблизно у таких кількостях(%):

вуглець -50-54, азот – 15-18, кисень -20-23, водень -6-8, сірка -0,3-2,5.

Амінокислоти являються будівельними блоками білків. Білки синтезуються із амінокислот і перетворюються в амінокислоти при перетравлюванні (гідролізі) у шлунково-кишковому тракті.

Природних амінокислот нараховується біля 200, а до складу білків входять лише 20 індивідуальних амінокислот.

Молекули амінокислот містять декілька функціональних груп, які визначають їх властивості: аміногрупа – NH<sub>2</sub>; карбоксильна група – COOH і амінокислотний радикал - R, що має різну будову: від 1 до 7 атомів вуглецю.



## Загальна формула амінокислот

Яким же чином вони зв'язані у молекулі білка?

При вивченні властивостей білків і їх будови вченими було встановлено, що між молекулами амінокислот існує так званий пептидний зв'язок або його ще називають кислотно-амідним зв'язком, завдяки якому утворюються ди-, три-, тетра-, пентапептиди).

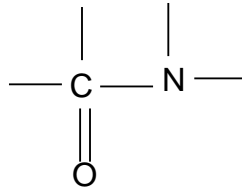


Схема пептидного зв'язку

У білковій молекулі крім поліпептидних є ще дисульфідні зв'язки – S – S -, які з'єднують між собою окремі пептидні ділянки одного і того ж поліпептидного ланцюга, утворюючи спіраль.

Розглянемо деякі властивості амінокислот.

1. У продуктах харчування містяться лише 20 амінокислот. Ці амінокислоти поділяються на замінні і незамінні

## Класифікація амінокислот

Класифікація	Амінокислоти
Незамінні (ессенціальні) амінокислоти	2. Ізолейцин 3. Лейцин 4. Лізин 5. Метіонін 6. Фанілаланін 7. Треонін 8. Триптофан 9. Валін
Замінні амінокислоти	1. Гліцин 2. Глутамінова кислота 3. Аргінін 4. Аспарагінова кислота 5. Пролін 6. Аланін 7. Серин 8. Тирозин 9. Цистеїн 10. Аспарагін 11. Глутамін 12. Гістидин

Замінні амінокислоти можуть синтезуватися в організмі людини, а незамінні повинні надходити у готовому вигляді з білками їжі.

Залежно від вмісту незамінних амінокислот білки поділяються на повноцінні і неповноцінні.

Повноцінні білки є у багатьох продуктах тваринного походження. Більшість же білків рослинного походження, крім білків бобових, горіхів, насіння соняшнику – неповноцінні. Вони містять малу кількість лізину, ізолейцину і треоніну.

Основною функцією амінокислот є участь їх у синтезі білків.

Інтенсивність синтезу білків зумовлена його амінокислотним складом. Чим вища біологічна цінність білка харчових продуктів, що споживаються людиною, тим краще він використовується для синтезу власних білків і функціонування організму.

Якість харчового білка може бути оцінена шляхом порівняння його амінокислотного складу з амінокислотним складом стандартного чи "ідеального білка".

Поняття "ідеальний білок" включає поняття про гіпотетичний білок високої харчової цінності, що задовольняє потреби організму.

Для дорослої людини в якості ідеального білка використовують амінокислотну шкалу Комітету FAO/WHO, яка показує вміст кожної незамінної амінокислоти у 1г стандартного білка.

Для визначення біологічної цінності білків використовують хімічні, біологічні та розрахункові методи.

Хімічні методи засновані на експериментальному визначенні кількості всіх амінокислот, наприклад у амінокислотному аналізаторі, які містяться у досліджуваному продукті.

Отримані дані порівнюють з "ідеальним білком".

Підраховують відсотковий вміст кожної з амінокислот відносно її вмісту в ідеальному білку за формулою:

$$AKЧ = \frac{\text{мг амінокислоти в 1г досліджуваного білка}}{\text{мг амінокислоти в 1г стандартного білка}} \cdot 100, \%$$

Розрахунок виражають у відсотках. Це значення називають амінокислотним числом – скором (скор – рахунок).

Лімітуючою амінокислотою, що обмежує біологічну цінність білка, вважається та, скор (%) якої має найменше значення.

АКЧ білків деяких основних продуктів: куряче яйце – 1; коров'яче молоко – 0,95; соя – 0,55; рис – 0,67; пшениця – 0,53.

Зазвичай розраховують скор для трьох найбільш дефіцитних амінокислот (лізин, метіонін, триптофан 3:3:1).

За шкалою ФАО ідеальний білок містить (мг/г): лейцину – 70; тирозину – 60; лізину – 55; валіну – 50; ізолейцину – 40; треоніну – 40; метіоніну – 35; триптофану – 10.

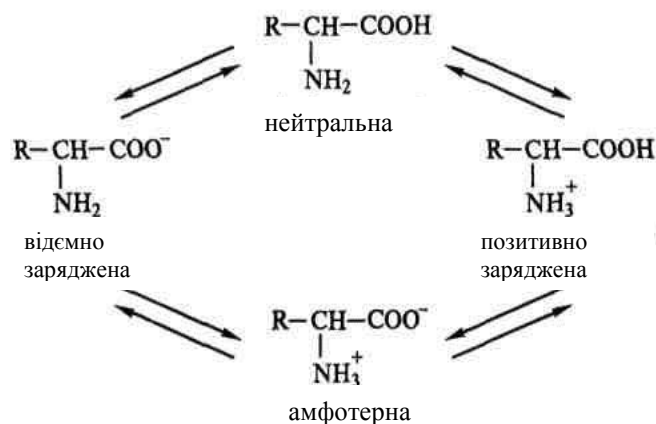
Співвідношення суми незамінних амінокислот (АК) до суми замінних не повинно бути нижчим 0,4.

Розглянемо деякі фізико-хімічні властивості АК.

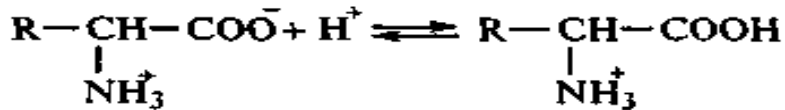
Оскільки АК у своєму складі мають як основні групи ( $-NH_2$ ), так і кислотні ( $-COOH$ ), вони відносяться до амфотерних електролітів, тобто сполукам, що проявляють властивості як кислот, так і лугів (від грецького слова *amphi* – обидві).

Аміногрупа амінокислот іонізована дещо менше, ніж карбоксильна група, і водний розчин амінокислот має слабо кислий характер.

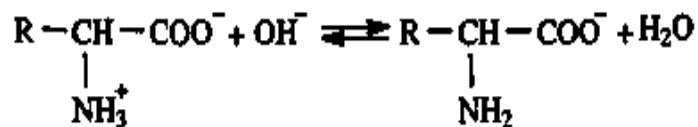
В розчині можливо існування чотирьох електрохімічних форм АК:



На іонізацію АК у водних розчинах впливає рН середовища. У кислому середовищі висока концентрація протонів подавляє дисоціацію карбоксильних груп і амінокислоти заряджаються позитивно – тобто переходять у форму катіонів.



У лужному середовищі при надлишку  $\text{OH}^-$ -іонів АК знаходяться у вигляді аніонів за рахунок дисоціації протонованих аміногруп



Таким чином величина електричного заряду АК знаходиться у тісному взаємозв'язку з рН середовища.

**У розчині з рН між 4 і 9 (водні розчини) АК існують у вигляді цвіттер-іонів.**

**Стан амінокислоти, коли її сумарний електричний заряд дорівнює нулю, називається ізоелектричним, значення рН, що обумовлює цей стан, називається ізоелектричною точкою амінокислоти (рІ).**

В ізоелектричні точці ІЕТ АК мають мінімум розчинності, мінімальну буферну ємність.

З якими хімічними речовинами можуть взаємодіяти АК?

Завдяки наявності карбоксильних і аміногруп АК можуть брати участь у специфічних хімічних реакціях, які використовуються при розділенні, ідентифікації і кількісному визначенні АК.

АК легко утворюють солі, складні ефіри і інші сполуки, гідразиди, азиди, тіоефіри, галогенангідриди: АК можуть взаємодіяти (вступати в реакцію) зі спиртами, утворюючи складні ефіри, з азотистою кислотою ( $\text{HNO}_2$ ), утворюючи оксикислоту і газоподібний азот, з формальдегідом, для ідентифікації і кількісного аналізу АК використовують реакцію з нінгідрином – кольорова реакція.

Але основною реакцією, яка має суттєве значення у технологіях харчових продуктів, є реакція амінокислот з редукуючими речовинами. Ці речовини взаємодіють при нагріванні до температури  $100-105^0 \text{ C}$ , а її реакція одержала назву Майяра (1912 р). Її ще називають реакцією меланоїдиноутворення.

Реакція Майяра остаточно не вивчена, вона складна, протікає через ряд проміжних стадій.

Меланоїдини – важливі компоненти харчових продуктів. Однак, слід наголосити, що реакція Майяра є причиною зменшення цінних компонентів їжі (амінокислот і цукрів) із-за того що меланоїдини практично не засвоюються організмом людини.

Але при кулінарній обробці харчових продуктів меланоїдини беруть участь у формуванні смаку, запаху і кольору харчових продуктів.

Так, колір, аромат свіжовипеченого хліба, колір квасу, пива, кип'яченого молока, м'ясних виробів, що піддані кулінарній обробці, особливо смаженню, колір сушених плодів і овочів – у більшості визначається реакцією меланоїдиноутворення.

Навпаки, у виробництві цукру, меланоїдини не бажані так як вони обумовлюють високу в'язкість уварюваних сиропів і загальмують процес кристалізації у них цукрози.

### **Особливості будови молекул деяких амінокислот**

Амінокислоти у яких амінокислотний радикал представлений циклічною структурою, називаються ароматичними (тирозин, триптофан, фенілаланін).

До складу сірковмісних амінокислот - цистеїна, цистина і метіоніна входить атом сірки.

Деякі АК мають у боковому ланцюгу другий атом азоту (лізин, аргінін, гістидин), що надають АК основних властивостей.

АК, боковий ланцюг яких розгалужений, називаються амінокислотами з розгалуженим боковим ланцюгом (лейцин, ізолейцин, валін).

***За просторовою структурою білки поділяють на глобулярні і фібрилярні.***

***Глобулярні білки*** – складаються з одного чи декількох поліпептидних ланцюгів, щільно звернутих за рахунок (нековалентних чи ковалентних) зв'язків у компактну частку, яка називається глобулою.

Зазвичай вони добре розчиняються у воді. До цієї групи відносяться: ферменти, антитіла, багато гормонів, білки-переносники кисню (міоглобін, гемоглобін, сивороточний альбумін (переносник жирних кислот)).

***Фібрилярні білки*** складаються із витягнутих чи спіралезованих поліпептидних ланцюгів, розташованих паралельно, що утримуються разом за рахунок багаточисельних зв'язків. Поліпептидні ланцюги об'єднані у волокна (фібрили). Такі білки не розчиняються у воді. Із них побудовані волосся, нігті, пір'їни (кератини), сухожилля (колаген), зв'язки (еластин), шовк, павутина (фіброїн).

Слід підкреслити, що більшість білків мають глобулярну форму.

За способом згортання і асоціації поліпептидних ланцюгів, виділено чотири рівні просторової структури білка:

- первинна;
- вторинна;
- третинна;
- четвертинна.

***Первинна структура*** – це каркас білкової молекули, амінокислотні залишки якої лінійно з'єднані між собою кислотно-амідними (пептидними) зв'язками. Для кожного білка послідовність АК в поліпептидних ланцюгах є характерною, унікальною.

Вона визначається генетично і визначає вищі рівні організації даного білка. Заміна навіть одного амінокислотного залишку поліпептидного ланцюга, який складається із сотень АК, може суттєво змінити властивості даного білка і навіть повністю позбавити його біологічної активності.

Пептидний зв'язок за своєю хімічною природою є ковалентний зв'язок, що надає первинній структурі високу міцність. Енергія зв'язку 140-400 кДж/моль, відстань між атомами 0,1-0,2 нм.

**Вторинна структура** білків являє собою укладку поліпептидних ланцюгів в упорядковану форму за рахунок системи водневих зв'язків між –СО і –NH групами. Існує дві форми вторинної структури:  $\alpha$  – спіраль (для уявлення – на циліндр намотана стрічка) і  $\beta$ – конформація (вигляд складчастого аркуша). Цю різновидність ще називають  $\beta$  – структура,  $\beta$  – складковий шар (або аркуш), шарувато-складкова структура.

Складкові структури зустрічають дуже часто: у колагенна, кератина, фіброїна шовку, трипсина, у глобулярних білків ці структури складають 15% і більше, у  $\alpha$  – амілази до 30%. Можливі переходи від  $\alpha$  - структур до  $\beta$  - структур і зворотньо.

Природних білків, які б склалися лише з  $\alpha$  – спіралей, майже немає.

Сукупність  $\alpha$  – спіралей і  $\beta$  – структур являється критерієм за яким можна судити за ступенем упорядкованості структури білкової молекули, її стабільністю при дії фізико-хімічних факторів.

**Третинна структура** – характеризується певною конформацією спіралізованих і лінійних ділянок поліпептидних ланцюгів у просторі.

Для кожного білка характерна своя третинна структура, від якої залежать його біологічні властивості.

Під час формування третинної структури поліпептидні ланцюги укладаються так, що максимальна кількість гідрофільних груп, залишків АК, була розміщена назовні, тобто повернута до водного середовища, а гідрофобні групи розміщуються всередині структури (глобули), яка має еліпсоїдну форму. На конформацію глобули впливає рН середовища, іонна сила розчину, температура, взаємодія білкових молекул з іншими речовинами.

Порушення у вторинній структурі веде до підвищення гідрофобних взаємодій і підсиленню третинної структури. Вторинна структура порушується у точках, де знаходиться АК – пролін і гідросипролін, які утворюють тільки один водневий зв'язок з другими поліпептидними групами.

У цих точках ланцюг перегинається у трьохвимірному просторі. Таким чином між вторинною і третинною структурами виникає збалансоване співвідношення.

Однак третинна структура не може існувати при зруйнованій вторинній структурі. В той же час біологічна функція білка залежить цілком від третинної структури. Її деформація чи руйнування призводять до часткової чи повної втрати цієї функції.

**Четвертинна структура.** Для білків, молекули яких побудовані з одного поліпептидного ланцюга, можливі лише первинна, вторинна і третинна структури. Четвертинна структура характерна лише для тих білків, які складаються з двох, чотирьох і більшої, в основному парної, кількості індивідуальних поліпептидних ланцюгів з власною третинною структурою. Такі поліпептидні ланцюги називаються протомерами, а білки, побудовані з них - олі-

гомерами. Отже, взаємне просторове розміщення протомерів у білковій молекулі і становить її четвертинну структуру.

Вона лежить в основі будови білків – ферментів.

Четвертинна структура білків стабілізується і підтримується в нативному стані в основному за участю нековалентних зв'язків (водневих, іонних або гідрофобних).

При дії на білки з четвертинною структурою різних фізичних або хімічних факторів (органічні розчинники, сечовина, концентровані розчини солей, зміна рН тощо) вони можуть розпадатися на окремі протомери

**Білки класифікують за фізико-хімічними властивостями та хімічним складом. За цими ознаками білки поділяють на дві групи – прості (протеїни) і складні (протеїди).**

**Протеїни** – це білки, до складу яких входять лише залишки амінокислот.

**Протеїди** – складні білки, молекули яких крім залишків АК містять ще і інші компоненти – простетичні групи.

**Прості білки (протеїни)** поділяються на такі класи: - альбуміни, глобуліни, протаміни, гістони, проламіни, глутеліни і протеїноїди. Із названих білків детально зупинимося на чотирьох, які мають важливе значення у технологіях продуктів харчування: альбуміни, глобуліни, глутеліни і проламіни.

**Альбуміни** – входять до складу продуктів харчування: молока, яєць, зерна злакових і бобових культур.

Молекулярна маса альбумінів 35-70 тис. Молекули їх мають еліпсоїдну форму, яка більш компактна і симетрична, ніж у глобулінів. Альбуміни належать до гідрофільних білків, вони добре розчиняються у воді. За хімічним складом альбуміни характеризуються високим вмістом лейцину (15%), а також значним вмістом сірковмісних амінокислот, лізину, аспарагінової і глутамінової кислот і незначним вмістом гліцину.

**Глобуліни** – входять до складу зерна злаків, насіння соняшника, льону, бавовника та бобових рослин. Широко відомі такі глобуліни, як фазеолін квасолі, леугумін гороху, гліцидин сої. У тваринних тканинах найбільш розповсюдженими є лактоглобулін молока, фібриноген крові тощо.

Молекулярна маса глобулінів 0,9-1,5 млн. Вони більш грубодисперсні і менш гідрофільні, ніж альбуміни, що пояснюється меншою стійкістю їх колоїдних розчинів.

Добре розчиняються 10% розчинами солей. За хімічним складом глобуліни дещо відрізняються від альбумінів – містять більше гліцину (5%) і меншу кількість сірковмісних амінокислот.

**Проламіни** – ця група білків досить розповсюджена у рослинному світі. Вони входять до складу насіння злакових культур. Представниками їх є гліадин пшениці, орозеїн рису, гордеїн ячменю, зеїн кукурудзи, авенін вівса тощо. Назва «проламіни» була запропонована в зв'язку з тим, що до їх складу входить значна кількість проліну. Крім проліну проламіни містять також глутамінову кислоту і незначну кількість інших АК. Для проламінів характерним є те, що вони зовсім не містять лізину. Розчиняються у 70% водному розчині спирту.



**Глутеліни** як і проламіни, містяться у зелених частинах рослин і насінні. Характерною особливістю білків є те, що до їх складу входять велика кількість глутамінової кислоти і лізину. Добре розчиняються у лугах.

**Складні білки (протеїди)** складаються з простого білка і сполуки небілкової природи-простетичної групи (від грецького слова prosteto-приєдную, додаю). Залежно від хімічної природи простетичної групи складні білки поділяються на нуклеопротеїди, хромопротеїди, металопротеїди, глікопротеїди, фосфопротеїди і ліпопротеїди.

**Нуклеопротеїди** – це складні білки, простетичною групою яких є нуклеїнові кислоти. Залежно від природи нуклеїнової кислоти нуклеопротеїди поділяються на рибонуклеопротеїди (РНП), якщо до їх складу входить рибонуклеїнова кислота – РНК, а якщо дезоксирибонуклеїнова кислота – ДНК.

**Хромопротеїди** – побудовані з простого білка і забарвленої простетичної групи якою можуть бути похідні каротину, порфірину (гемоглобін, міоглобін, ферменти). Гемоглобін крові – хромопротеїд, міоглобін міститься у м'язах тварин.

**Глікопротеїди** – у складі простетичної групи містять залишки вуглеводів та їх похідні. Входять до складу крові, білків молока, яєць, ферментів, гормонів.

**Металопротеїди** – до складу простетичної групи входять залізо, мідь, кобальт, цинк та інші елементи. До металопротеїдів належить велика група ферментів.

**Фосфопротеїди** – містять у вигляді простетичної групи залишки ортофосфорної кислоти. Ці білки входять до складу білків яєць ( овалбумін), молока (казеїн).

**Ліпопротеїди** – у складі простетичної групи містять ліпіди і їх похідні (тригліцериди, фосфоліпіди, холестерин тощо). Найчастіше простетичною групою є нейтральні жири – тригліцериди. Входять до складу біологічних мембран, крові, лімфи, нервових тканин та інше.

В комплексі з білками ліпіди набувають нових властивостей: вони здатні розчинятися у воді і втрачають здатність розчинятися у органічних розчинниках. Ліпіди ж не розчиняються у воді і розчиняються у органічних розчинниках.

## 2. ФУНКЦІОНАЛЬНІ ВЛАСТИВОСТІ БІЛКІВ

Під функціональними властивостями мають на увазі властивості, які визначають їх зміни при переробленні у харчові продукти та забезпечують певну структуру, технологічні і споживні властивості. До найбільш важливих функціональних властивостей білків належать:

- водозв'язувальна;
- жирозв'язувальна;
- структуроутворювальна (піноутворювальна та драглеутворювальна) здатність.

Здатність білків зв'язувати на своїй контактній поверхні воду – одна із характерних фізико-хімічних властивостей що відіграє важливу роль у технології харчових продуктів.

***З гідрофільністю пов'язані такі процеси, як набухання і розчинність білків, їх осадження і денатурація при дії жорстких фізико-хімічних факторів середовища.***

Гідрофільність являє собою наслідок дії електростатичних сил протягування, що розвиваються між іоногенними і полярними групами білкової глобули і диполями води.

***Набухання.*** Внаслідок великої різниці у швидкості дифузії молекул білків і низькомолекулярного (вода) розчинника на першій стадії процесу розчинення білка молекули розчинника проникають у простір між полімерними ланцюгами білка. Відбувається збільшення об'єму молекули. Це явище називають набуханням, яке переходить у розчинення (необмежене набухання) у тому випадку, коли між поліпептидними ланцюгами відсутні поперечні хімічні зв'язки. Це явище характерне для глобулярних білків. У поліпептидах, що утворюють сітчасту структуру, розчинення неможливе, і процес закінчується набуханням (обмежене набухання). Такі перетворення характерні для деяких фібрілярних білків.

Кількісною характеристикою обмеженого набухання є ступінь набухання  $\alpha_m$ , яку визначають гравіметричним способом: зважують зразок до і після набухання і розраховують за формулою:

$$\alpha_m = \frac{m - m_0}{m_0}$$

$m$  – маса набухлого зразка;

$m_0$  – наважка вихідного зразка.

Ступінь набухання також визначають об'ємним методом, вимірюючи об'єм зразка до і після набухання:

$$\alpha_v = \frac{v - v_0}{v_0}$$

$V$  – об'єм набухлого зразка;

$V_0$  – об'єм вихідного зразка.

Ступінь набухання залежить від різних факторів, у тому числі від природи розчинника.

Розчинення білків – спонтанний процес.

Таким чином, при постійному тиску і температурі він супроводжується зменшенням вільної енергії (енергії Гіббса):

$\Delta G = \Delta H - T\Delta S$ , де

$\Delta G$  – ентальпія;  $\Delta S$  – ентропія;  $T$  – температура.

При обводненні системи на стадії набухання і розчинення білків зміни вільної енергії перевищують зміни вмісту тепла і ентропія системи починає зростати.

Під дією електростатичних сил поверхня білкової глобули покривається гідратною оболонкою. Перший шар молекул води (мономолекулярний шар)

досить міцно адсорбований на поверхні, наступні шари гідратної оболонки, по мірі того як електростатичні сили слабкішають, стають менш упорядкованими.

Виникає ситуація коли характерною ознакою якої є повільний перехід від твердої фази (білкової глобули) до дисперсійного середовища (вода); білкова глобула як би закріплена на "якорях", роль яких виконують диполі води. Оскільки діелектрична проникність води висока, взаємозв'язок між білковою глобулою і водним середовищем досить стабільний.

При контакті з водою сухий білок набухає, молекули води проникають у білкову масу і в результаті гідrataції молекули білка роз'єднуються.

Важливу роль тут відіграють не тільки електростатичні сили, але і сили осмосу.

Набухлий білок можна вважати розчином води у білку; енергія набухання велика. Подальше поглинання води призводить до розчинення білка.

Розчинення пов'язано з хімічною структурою білка. Оскільки амінокислотний склад білків різний, розчинність білків коливається у широких межах і буде визначатись співвідношенням гідрофільних (іоногенних і полярних) і гідрофобних (неполярних) R – груп, специфікою укладання їх у трьохвимірну структуру; чим більше гідрофільних R – груп на поверхні білкової молекули, тим вища її гідрофільність і тим вища розчинність білка; поверхневі гідрофобні R – групи зменшують розчинність.

Глобулярні білки краще розчинні, ніж фібрилярні. Кількість зв'язаної води для різних білків складає біля 0,15-0,35 г на 1 г білка.

Явище набухання широко розповсюджено у харчових технологіях; воно, наприклад, відіграє важливу роль в утворенні пшеничного тіста.

Набухлі білки борошна гліадин і глютенін відомі під назвою клейковина, яка обумовлює пружність, розтяжність і еластичність тіста.

Обмежено набухає колаген – основний компонент сировини і напівфабрикатів м'ясної промисловості.

Частково деструктурований колаген називають желатином, який легко набухає у теплій воді.

При набуханні об'єм і маса зразків збільшується у 10-15 разів.

Якщо набухання переходить у розчинення (необмежене набухання) система переходить у стан геля (студня).

На процес набухання впливає ряд факторів:

1. Додавання електролітів, які гальмують набухання;
2. Швидкість набухання зростає з підвищенням температури;
3. Швидкість і ступінь набухання зростають із збільшенням ступеня подібності полімеру, оскільки зростає поверхня контакту полімеру з розчинником і інтенсивність дифузії молекул. Ці фактори мають важливе значення у харчових технологіях.

Вплив електростатичних сил на розчинність білків залежить від рН середовища. Білки є амфотерними електролітами, оскільки вони містять карбоксильні і амінні групи та можуть дисоціювати і як кислоти, і як луги. Але при рН, близьким до ізоелектричної точки, розчинність білків найменша. В ізо-

лектричній точці спостерігається також найменша в'язкість розчинів білків та найлегше білки осідають з розчинів.

Але сам по собі білок не виділяється у вигляді осаду. Це можна зробити за допомогою нейтральних солей у високих концентраціях (сульфат амонію, фосфат натрію або калію) або органічних розчинників (спирту, ацетону). Процес вилучення білка з розчину під дією солей називається **висолюванням**. Насичення водного розчину спиртом або ацетоном призводить до зневоднення білків, оскільки спирт та ацетон є більш гідрофільними, порівняно з білками. Внаслідок цього білкові глобули злипаються у крупніші частинки і випадають в осад.

Ця властивість використовується у технологіях виготовлення ізолятів та концентратів білків. Суть технології полягає у переведенні білків сировини (соевих білків, соняшникових та інших) у розчин за допомогою кислот чи лугів, а потім – виділення цих білків з розчинів осадженням. Осадження білків краще відбувається при низьких температурах.

Висолювання є зворотнім процесом. Після видалення осаду білки знову можна розчинити. Розчини білків є колоїдними розчинами.

### *Денатурація білків*

Нативна (природня) конформація глобулярного білка, піддається змінам під дією жорстких фізико-хімічних факторів середовища. Ці зміни одержали назву – денатурація (зворачування) білка.

**Денатурація** – це наслідок руйнування нативної структури білків, який супроводжується втратою біологічної активності (ферментативної, гормональної).

З фізичної точки зору – це деструкція білкової молекули без зміни первинної структури (руйнуються вторинна, третинна і четвертинна структури).

Типовим прикладом денатурації є згортання (зкручування) яєчного альбуміну при варінні яєць.

При денатурації поліпептидний ланцюг звертається і перетворюється в безпорядний, хаотичний клубок.

Фактори, що викликають денатурацію білків, можна поділити **на фізичні і хімічні**.

**До фізичних відносяться:** нагрівання, механічне перемішування, ультразвук, ультрафіолетові і іонізуючі промені.

**До хімічних** – кислоти, луги, солі важких металів (Ag, Pb, Hg), сечовина, таннін, трихлороцтова кислота, гуанідин.

Теплова денатурація є одним із характерних ознак білків, але для різних білків температурна денатурація різна. Білки тваринного походження термолабільні: їх денатурація починається уже при 40<sup>0</sup>С і швидко зростає з підвищенням температури. Але відомі білки які стійкі до нагрівання, наприклад трипсин, хімотрипсин,  $\alpha$  - лактоглобулін молока,  $\alpha$  - амілаза деяких бактерій.

Сухі білки більш стійкі до теплової денатурації, ніж білки у розчині. По тій причині концентровані розчини білків більш стійкі у порівнянні з розбавленими розчинами білків.

Часто теплову денатурацію білків ототожнюють з їх коагуляцією. Але ці два процеси суттєво відрізняються за своєю фізико-хімічною суттю. Теплова денатурація білків є причиною їх агрегації і коагуляції (випадання в осад). Однак денатурація не завжди призводить до коагуляції. Денатурований білок при певних умовах може залишатися в розчині.

Наприклад, при нагріванні розчину білка з рН, далеким від ІЕТ, до 100°C білок не завжди коагулює і випадає в осад.

Денатурація виникає при механічному перемішуванні, сильному струшуванні білкових розчинів.

Білки відносяться до поверхнево-активних речовин. При механічному впливу у розчині білка утворюється піна, на поверхні бульбашок якої і розвивається процес денатурації.

Ультразвукові хвилі викликають денатурацію за рахунок як механічного впливу, так і теплових ефектів.

Ефективними хімічними агентами денатурації білків є кислоти і луги. Багато білків денатурують при значеннях рН нижче 2 або вище 12.

Солі важких металів, трихлороцтова кислота, танін навіть у невеликих концентраціях викликають денатурацію білків, утворюючи з ними нерозчинні комплекси.

Деякі хімічні сполуки справляють на білки захисні дії. Так, денатурація гальмується концентрованими розчинами гліцерину, глюкози і інших цукрів, що пов'язано, очевидно, з їх адсорбцією на глобулах білків і утворенням великих гідрофільних комплексів.

Найбільш типовими ознаками денатурації є такі:

1. Зниження гідрофільності і розчинності білків, внаслідок чого зменшується стійкість їх розчинів.
2. Збільшення в'язкості розчинів. Білки втрачають здатність до кристалізації.
3. Зменшення молекулярної маси і зміна форми білка.
4. Молекула переходить у хаотичний стан – поліпептидні ланцюги спочатку розгортаються, проходячи стадію нитки, а потім знову згортаються, але вже по-іншому, тобто проходить зміна конформації молекули білка. При цьому збільшується здатність білка до розщеплення їх ферментами.

Необхідно зазначити, що денатурація не завжди є необоротним процесом. При недовготривалій дії денатуруючого агента білок можна повернути в попередній, нативний стан. Цей процес має назву ренатурації, або пептизації.

Характерним для цього процесу є те, що при ренатурації відновлюється фізіологічна активність білків – ферментів. При ренатурації білків ніяких нових зв'язків і нових властивостей, не властивих нативному білку, не виникає, а відновлюються лише ті, які були для нього характерними.

Процеси денатурації білків відіграють велику роль у технологічних процесах харчових продуктів при їх тепловій обробці. Формування м'якушки хліба, варка сусла з хмелем, бланшування плодів і овочів крутим кип'ятком

чи гострою парою, кипятіння молока, кулінарна обробка м'ясних і рибних продуктів зв'язані з денатурацією білка.

### 3. ПЕРЕТВОРЕННЯ БІЛКІВ У ХАРЧОВИХ ТЕХНОЛОГІЯХ

Будь які зміни умов середовища в технологічних процесах виробництва харчових продуктів впливають на нековалентні зв'язки макромолекул білка і призводять до змін четвертинної, третинної і вторинної структур. Під дією технологічних факторів білки можуть утворювати ізоляти та приймати участь в реакціях, зокрема біохімічних.

Основні перетворення білків полягають у їх денатурації, гідролізі, утворенні токсичних елементів тощо.

Процес денатурації білків викладено у попередньому розділі.

Термічна обробка білків при температурах 40-100<sup>0</sup>С призводить не лише до денатурації, а й прискорює небажані термічні перетворення які були розглянуті раніше.

Термічна обробка білоквмісних продуктів при температурі 100-120<sup>0</sup>С призводить до руйнування макромолекул білка з розщепленням пептидних зв'язків і утворенням H<sub>2</sub>S (сірководень), NH<sub>2</sub> (аміак), CO<sub>2</sub>, диметилсульфіда H<sub>3</sub>C – S – CH<sub>3</sub> та інших сполук небілкової природи.

Так, стерилізація молочних продуктів при температурі вище 115<sup>0</sup>С викликає руйнування цистеїнових залишків з відщеплюванням сірководню, диметилсульфіда і цистеїнової кислоти.

Серед продуктів розщеплення білків зустрічаються сполуки, що надають їм мутагенні властивості.

Мутагени утворюються при обсмажуванні в маслі, коптінні у диму і сушці. Вони містяться в бульйонах, смаженій говядині і свинині, домашній птиці, смажених яйцях, копченій і в'яленій рибі. Деякі із них викликають спадкові зміни в ДНК, і їх вплив на здоров'я людини може бути від незначного до летального.

Токсичні сполуки білків утворюються при термічній обробці вище 200<sup>0</sup>С за рахунок реакції ізомеризації амінокислот із L-форми в D-форму. Такі перетворення можливі при нижчих температурах, але в лужному середовищі.

Руйнування природних білково-ліпідних комплексів також є небажаними, оскільки ліпіди, що звільняються, можуть піддаватися окисненню і здатності ініціювати окисні ланцюгові реакції білків, які призводять до зменшення амінокислот.

**Гідроліз.** Білки піддаються хімічному (під дією кислот і лугів) та біохімічному (ферментативному) гідролізу.

Кислотний та лужний гідролізи здійснюють при кипятінні з сильними кислотами та лугами. Кислотний та лужний гідроліз застосовується у технологіях отримання білкових концентратів та ізолятів для переведення білків у розчинений стан з наступним виділенням білків із розчину шляхом висолювання.

Ферментативний гідроліз здійснюється під дією протеаз, ферментів, які гідролізують пептидні зв'язки, з утворенням більш дрібних фрагментів і амінокислот.

#### 4.ЗНАЧЕННЯ БІЛКІВ У ЖИТТЄДІЯЛЬНОСТІ ЛЮДИНИ

Окремо взятий білок, як речовина з визначеною хімічною будовою, виконує одну вузькоспеціалізовану функцію і в окремих випадках декілька, як правило взаємопов'язаних. Та чи інша молекула білка має строго визначений генетично закодований амінокислотний склад, специфічні фізико-хімічні властивості, специфічну біологічну функцію у живій клітині, що обумовлює цільове призначення білка.

Строго специфічність біологічних функцій білків – основа обміну речовин у живій клітині. Ні один клас біологічно-активних речовин не наділений такими властивостями, як білки. Ні одна біологічна реакція в організмі людини не протікає без прямої чи побічної участі білків.

Оскільки обмін речовин в організмі людини – це сукупність великого числа біохімічних реакцій, в яких безпосередньо приймають участь білки, важко дати вичерпний опис усіх біологічних функцій. Перерахуємо лише головні з них.

1. **Ферментативна (каталітична) функція.** Без неї не протікає ні одна біохімічна реакція у живій клітині. Ферменти – функціональний тип білків. Синтез і розкладання речовин, регуляція хімічних процесів, перенесення хімічних груп і електронів від однієї речовини до іншої здійснюється за допомогою цих специфічних білків. На сьогодні відкрито біля 3 тисяч різних ферментів, кожний із яких служить каталізатором певної хімічної реакції.

На прикладі ферментів ми переконуємося на скільки багатосторонні специфічні біологічні функції білків.  $\alpha$ -амілаза, наприклад, гідролізує крохмаль (найважливіша реакція у харчовій технології); пепсин (важливий фермент харчотравлення) гідролізує білки; цитохромоксидаза (важливий фермент біоенергетики живої клітини) переносить електрони на кисень; амінотрансфераза (важливий фермент в обміні білків) переносить аміногрупу від однієї речовини до іншої.

2. **Гормональна функція.** Забезпечує регулювання обміну речовин в середині клітини та інтеграцію обміну речовин різних клітин цілого організму, наприклад, гормон інсулін регулює вуглеводний, білковий, жировий обміни.

3. **Транспортна функція.** Здійснює зв'язування і транспорт речовин між тканинами через мембрани. До таких білків відносяться ліпопротеїни, які переносять кисень у м'язеві тканини; гемоглобін (джерело вільної хімічної енергії), зв'язує кисень повітря при проходженні його через легені і доставляє його до периферійних тканин, де відбувається окиснення компонентів їжі; пермеази, зв'язують глюкозу, амінокислоти та інші харчові речовини і переносять їх через мембрани в середину клітини.

4. **Хіміко-механічна (скорочувальна) функція.** Білки перетворюють вільну хімічну енергію в механічну роботу. До цих білків відносяться білки

м'язових тканин: міозин, що закріплений у нитках м'язових волокон – міофібриллах, і актин, який міститься у рухливих міофібриллах.

5. **Структурна функція.** Цю функцію виконують білки, які беруть участь у будові різних мембран (плазматичних, мітохондріальних). До них відносяться також білки, які забезпечують міцність опорних тканин: колаген – структурний елемент опорного каркаса кісткової тканини, хрящів, сухожиль – має дуже високу міцність на розрив; кератин – структурна основа шерсті, волосся, пір'я, копит, рогів; еластин – білок здатний розтягуватися у двох вимірах.

6. **Захисна функція.** Захисні реакції організму пов'язані з білками: зокрема антитіла, які утворюються під час надходження в організм сторонніх речовин, є білки. Ці сполуки утворюють із токсинами малоактивні комплекси, які виводяться із організму, отже виконують антитоксичну функцію.

7. **Резервна функція.** Використання білків у якості запасних матеріалів для живлення клітин, що розвиваються. До них відносяться проламіни, глютеліни – білки хлібних культур; альбумін – яєчний білок, що використовується для розвитку зародка; казеїн молока – білок, що використовується для годування новонароджених ссавців.

Резервні білки є найважливішими компонентами рослинної і тваринної їжі.

8. **Спеціальні функція.** Серед білків зі спеціальними функціями слід виділити рецепторні білки, які забезпечують передачу імпульсів між нервовими клітинами і передачу сприйняття світла; білки, що уберігають кров риб, що перебувають у холодних водах, від замерзання.

9. **Енергетична.** При дефіциті вуглеводів і жирів у раціоні білок є джерелом енергії. При окисненні 1 г білка виділяється 4 ккал тепла.

## 5. МЕТОДИ ВИЗНАЧЕННЯ БІЛКІВ

### Якісні реакції на білки

Дуже важливою властивістю білків є забарвлюючі їх реакції, які зумовлені наявністю в білковій молекулі певних хімічних груп. До них відносяться ксантопротеїнова, біуретова, Міллонова реакція, реакція Адамкевича.

Ксантопротеїнова реакція полягає в тому, що при обробленні білка міцною азотною кислотою з'являється жовте забарвлення, зумовлене наявністю в білку бензольних кілець.

Міллонова реакція полягає в обробленні білка міллоновим реактивом (розведеним водою розчином металеві ртуті в азотній кислоті), який реагує з фенольними групами, утворюючи сполуки, що надають білку вишнево-червоного забарвлення.

Біуретова реакція – поява фіолетового чи червоно-фіолетового забарвлення під дією розчину  $\text{CuSO}_4$  у лужному середовищі.

Реакція Адамкевича – поява фіолетового забарвлення при додаванні до розчину білка декількох крапель гліоксилевої кислоти та міцної сірчаної кислоти. Ця реакція залежить від наявності індолевої групи.

### Кількісне визначення білків



1. **Визначення азоту за методом Кельдаля** оснований на повному руйнуванні білка під дією сірчаної кислоти у присутності каталізатора. Азот білка уловлюється у формі сульфату амонію і визначається у вигляді аміаку після перегонки з паром гідролізату, підлученого додаванням концентрованого NaOH. Аміак зазвичай аналізується оберненим титруванням після поглинання у кислотних ловушках.

## 2. Колориметричні методи.

Біуретовий метод оснований на специфічній реакції пептидних зв'язків з іонами міді у лужному середовищі. Методика проста, але малочутлива.

Метод Лоурі. В основі метода лежить реакція відновлення реактиву Фо-ліна мідним похідним білка з утворенням забарвлених продуктів реакції. Інтенсивність забарвлення вимірюють за допомогою фотоелектроколориметра.

3. **Сучасні методи** визначення вмісту білків базуються на використанні амінокислотних аналізаторів за допомогою яких визначається як загальний вміст білка, так і його амінокислотний склад.

## ПИТАННЯ ДЛЯ САМОПЕРЕВІРКИ

1. Дайте визначення білків.
2. Охарактеризуйте елементний склад білків.
3. Що таке пептидний зв'язок?
4. Які функціональні групи входять до складу амінокислот? Що таке амфотерність амінокислот?
5. На основі яких принципів класифікують амінокислоти?
6. Що таке «ідеальний білок»?
7. Як визначається амінокислотне число (скор)?
8. Як впливає рН середовища на іонізацію АК?
9. Що таке ізоелектрична точка?
10. Поясніть, що таке реакція Майяра?
11. Як класифікують білки за просторовою структурою?
12. Охарактеризуйте первинну і вторинну структури білка.
13. Охарактеризуйте третинну і четвертинну структури білка.
14. Як класифікують білки за фізико-хімічними властивостями?
15. Охарактеризуйте групи протеїнів, що розчиняються у воді і солях.
16. Дайте характеристику проламінам і глутелінам.
17. Охарактеризуйте складні білки.
18. Що таке функціональні властивості білків?
19. Поясніть суть набухання білків і їх розчинності?
20. Перерахуйте фактори, що впливають на процес набухання білків?
21. Що таке денатурація білків? Фактори що їх викликають?
22. Охарактеризуйте теплову денатурацію білків.
23. Хімічні фактори, що викликають денатурацію.
24. Які типові ознаки денатурації білків Ви знаєте?
25. Які зміни відбуваються під час термічної обробки білків?
26. Як відбувається ферментативний і кислотний гідроліз білків?
27. Наведіть основні функції білків в організмі.

28. Які забарвлюючі реакції визначення білків Ви знаєте?  
29. Які методи кількісного визначення білків Вам відомі?

### **РЕКОМЕНДОВАНА ЛІТЕРАТУРА**

#### **Основна:**

1. с. 17 – 112
2. с. 14 – 88; с. 181 – 201; с. 349 – 399.
4. с. 51 – 53, с. 8-12

#### **Додаткова:**

1. с. 55 – 67
4. с. 88 - 100