РАЗДЕЛ XII. БИОТЕХНОЛОГИИ

Приходько Д.В., Красноштанова А.А.

Исследование функциональных свойств фракций пшеничного глютена

*Российский химико-технологический университет имени Д.И. Менделеева
(Россия, Москва)*

doi: 10.18411/scienceconf-03-2021-30

idsp: scienceconf-03-2021-30

Аннотация

Изучено влияние продолжительности ограниченного протеолиза на функциональные свойства глиадины и глютенина пшеницы. Показано, что варьирование времени протеолиза позволяет получать ферментативные гидролизаты данных белков с заданными функциональными свойствами. Подобраны условия ограниченного протеолиза для получения продуктов с максимальными значениями водоудерживающей, жироудерживающей, эмульгирующей и пенообразующей способностью.

Ключевые слова: функциональные свойства, глютенин, глиадин, ограниченный протеолиз.

Растительный белок давно привлекает внимание производителей пищевых продуктов, поскольку имеет ряд преимуществ по сравнению с животным. Помимо непосредственно пищевой ценности, растительные белки обладают рядом полезных свойств, позволяющих использовать их в качестве ингредиентов при разработке функциональных продуктов питания.

Среди растительных белков, добавляемых в функциональные продукты питания, ведущая роль принадлежит белкам, содержащимся в зерновых и бобовых культурах [1,2].

Один из основных белков, встречающийся в зерновых культурах (пшеница, кукуруза) – глютен. Доля общего белка в составе злаков составляет 7 – 14% [3,4]. В промышленных масштабах глютен получают с помощью глубокой переработки зерна, в результате которой также возможно получение сырья для производства спирта, глюкозно-фруктозных сиропов, аминокислот, биополимеров [5]. Глубокая переработка зерна в России является важной частью импортозамещения и создания безотходных производств.

Растительные белки находят применение при производстве пищевых продуктов в качестве ингредиентов питательной, технологической и лечебно-профилактической значимости благодаря присущим им уникальным функциональным свойствам [6,7].

К наиболее важным функциональным свойствам белков относятся водоудерживающая и жироудерживающая способности (ВУС и ЖУС соответственно), способность стабилизировать дисперсные системы (эмульсии, пены, суспензии) [8]. Однако фракции пшеничного глютена, в частности, глиадин, обладают аллергенностью и у ряда людей вызывают заболевание – целиакию. Для снижения аллергенности белка применяют различные способы его модификации. Одним из наиболее эффективных способов модификации белков является ферментативный гидролиз [9], который помимо снижения аллергенности белка способствует повышению степени выраженности функциональных свойств [10].

В связи с этим, **целью** настоящей работы явилось изучение функциональных свойств (ЖУС, ВУС, эмульгирующая способность (ЭС), пенообразование (ПС)) продуктов, полученных в ходе ограниченного протеолиза глиадиновой и глютениновой фракций пшеничного глютена.

Материалы и методы

В качестве объектов исследования использовали ферментный препарат химотрипсин фирмы ООО "Самсон-Мед" с протеолитической активностью по Ансону – 96 ед./г; ферментный препарат Protex 40e фирмы Genencor с протеолитической активностью по Ансону – 94 ед./г.

Белковую фракцию пшеничного глиаина с содержанием основного вещества не менее 72% получали по ранее разработанной методике, включающей экстракцию из пшеничного глютена 40%-ным раствором этилового спирта при объемном соотношении глютен:этиловый спирт 1:9, температуре 40°C в течение 2 ч с последующим осаждением глиаина ацетоном при объемном соотношении спиртовой экстракт:ацетон 1:5.

Белковую фракцию пшеничного глютенина с содержанием основного вещества не менее 68% получали путем обработки 2%-ным раствором гидроксида натрия в течение 2 ч при температуре 40°C нерастворимого остатка, полученного после извлечения глиаина, с последующим осаждением из водного раствора при pH 5-6.

Для определения жиरोудерживающей способности (ЖУС) в стеклянные центрифужные пробирки емкостью 30 мл помещали 0,5 г исследуемого препарата и добавляли от 0,125 до 0,625 мл растительного масла с интервалом 0,125 мл. Содержимое пробирок перемешивали в течение 10 мин, после чего пробирки с суспензиями препарата выдерживали при перемешивании в течение 15 мин, охлаждали до комнатной температуры и центрифугировали при 1500 об/мин в течение 15 мин. За величину ЖУС принимали максимальное количество добавленного масла, при котором не наблюдалось отделения масляной фазы в процессе испытания, в пересчете на 1 г препарата [11].

Для определения водоудерживающей способности (ВУС) в стеклянные центрифужные пробирки емкостью 30 мл помещали 0,5 г исследуемого препарата и добавляли от 1,5 до 2,5 мл воды с интервалом 0,25 мл. Далее эксперимент проводили аналогично определению ЖУС. За величину ВУС принимали максимальное количество добавленной воды, при котором не наблюдалось отделения водной фазы в процессе испытания, в пересчете на 1 г препарата [11].

Для определения эмульгирующей способности (ЭС) в стеклянные центрифужные пробирки емкостью 30 мл помещали 1 г исследуемого препарата, добавляли 5 мл воды и 5 мл масла. Содержимое пробирок перемешивали в течение 10 мин, после чего проводили операции, аналогичные описанным выше и определяли процентное соотношение объемов отделившихся от эмульсии водной и масляной фаз [12].

Для определения пенообразующей способности (ПС) определяли высоту столба пены, которая формируется при падении водного раствора исследуемой композиции во время его переливания в мерный цилиндр. Для этого в колбы помещали 0,25 г исследуемого образца и добавляли 25 мл воды. Шейкером в течение 30 секунд взбивали полученный раствор. Далее переливали его в мензурку и измеряли высоту столба пены [13].

Результаты и обсуждение

Согласно литературным данным, регулируя глубину и условия гидролиза, можно получать продукты ограниченного протеолиза с заданными функциональными свойствами [14]. В данной работе проводили количественную оценку некоторых функциональных свойств белковых гидролизатов, полученных путем ферментативного гидролиза глиаина и глютенина под действием соответственно ферментных препаратов Protex40E и химотрипсина, которые согласно ранее проведенным исследованиям показали наиболее высокую эффективность при гидролизе данных белков.

Для изучения влияния продолжительности протеолиза на функциональные свойства проводили гидролиз вышеуказанных субстратов при активности ферментных

препаратов в среде 95 ед/л, которая также была установлена в ходе ранее проведенных исследований.

Результаты измерения ВУС для обоих субстратов в зависимости от продолжительности ферментализации представлены на рис.1.

Рис. 1. Изменение ВУС в процессе ферментативного гидролиза глиаина и глютеина в зависимости от продолжительности гидролиза

Как видно из графиков, ВУС при увеличении продолжительности процесса сначала возрастает, а затем уменьшается. Это можно объяснить тем, что в начале процесса происходит гидролиз пептидных связей на поверхности субстрата, что приводит к увеличению площади соприкосновения молекул воды и белка. При длительном гидролизе белки расщепляются на все более короткие фрагменты, которые хорошо растворимы в воде и не способны удерживать влагу. Следует отметить, что для исследуемых белков и их ферментализаторов значения ВУС невысоки в сравнении с другими белками растительного и животного происхождения. Согласно проведенным исследованиям, для получения функциональных ингредиентов с максимальными значениями ВУС рекомендуется проводить гидролиз глиаина в течение 2 ч, а глютеина – в течение 1 ч.

Результаты изменения ЖУС в ходе гидролиза представлены на рис. 2., из которого следует, что ход кривых изменения ЖУС в зависимости от времени ферментализации исследуемых пшеничных белков аналогичен соответствующим кривым изменения ВУС. Также можно отметить, что при проведении продолжительного гидролиза глиаина ЖУС его гидролизатов снижается на 10-12% в сравнении с ее максимальным значением, тогда как для глютеина аналогичная величина составляет около 45%. Гидролизаты глютеина обладают более низкой ЖУС в сравнении с гидролизатами глиаина. Таким образом, для сохранения высокой жиростойкости время гидролиза глютеина не должно превышать 1,5 ч, а глиаина – 2 ч.

Рис. 2. Изменение ЖУС в процессе ферментативного гидролиза глиаина и глютеина в зависимости от продолжительности гидролиза.

При изучении влияния ограниченного протеолиза на ЭС пшеничных белков были получены результаты, представленные на рис. 3, из которого видно, что ЭС для обеих систем проходит через максимум. Это может быть обусловлено амфифильными свойствами белковых молекул, которые снижаются по мере увеличения времени гидролиза.

Рис. 3. Изменение ЭС в процессе ферментативного гидролиза глиадина и глютенина в зависимости от продолжительности гидролиза

ЭС гидролизатов глиадина в 1,75 раза превышает ЭС гидролизатов глютенина. Согласно проведенным исследованиям для того, чтобы добиться максимальной ЭС глиадина необходимо проводить протеолиз в течение не более 1 ч, а глютенина – 2 ч.

Гидролизаты фракций глютена могут быть хорошими пенообразователями, что подтверждают данные, полученные в ходе эксперимента (рис. 4).

В обоих случаях ПС гидролизатов, как глютенина, так и глиадина достигает максимума через 1 ч гидролиза, после чего наблюдается ее незначительное снижение. Большая ПС характерна для гидролизатов глиадина, что обусловлено более развитой площадью поверхности данного субстрата.

Максимальной пенообразующей способностью системы, содержащие глиадин и глютенин, достигают при продолжительности гидролиза 1 ч.

Таким образом, проведенные исследования позволяют рекомендовать наилучшие условия ферментативного гидролиза для получения ингредиентов функционального питания с заданными функциональными свойствами.

Выводы

1. Установлено, что максимальной пенообразующей способностью системы, содержащие глиадин и глютенин, достигают при продолжительности протеолиза 1 ч.
2. Для достижения максимальной эмульгирующей способности протеолиз глиадина необходимо проводить в течение 1 ч, а глютенина – 2 ч.

4. Для достижения максимальной водоудерживающей способности время протеолиза глиаина не должно превышать 2 ч, а глютеина – 1 ч.
5. Для достижения максимальной жирудерживающей способности время протеолиза глютеина не должно превышать 1,5 ч, а глиаина – 2 ч.

1. Garcia M. C., Puchalska P., Esteve C., Marina M. L. //Vegetable foods: A cheap source of proteins and peptides with antihypertensive, antioxidant, and other less occurrence bioactivities. *Talanta*. 2013. V.106. P.328-349.
2. Lei Sha, Youling L.Xiong. Plant protein-based alternatives of reconstructed meat: Science, technology, and challenges. // *Trends in Food Science & Technology*. 2020. V.102. P. 51-61.
3. Vania G. Zuin, Mateus L.Segatto, Luize Z.Ramin. Plants as resources for organic molecules: Facing the green and sustainable future today. // *Current Opinion in Green and Sustainable Chemistry*. 2018. V.9. P. 1-7.
4. Jasthi B., Pettit J., Harnack L. Addition of gluten values to a food and nutrient database. // *Journal of Food Composition and Analysis*. 2020.V.85. P. 103330.
5. Ehsan Afshin, Mehran Kadkhodayan. An experimental investigation into the warm deep-drawing process on laminated sheets under various grain sizes. // *Materials & Design*. 2015. V.87. P. 25-35.
6. Elahe Abedi, Masha Majzoubi, Asgar Farahnaky, Kiana Pourmohammadi, Mohammad Reza Mahmoudi. Effect of ionic strength (NaCl and CaCl₂) on functional, textural and electrophoretic properties of native and acetylated gluten, gliadin and glutenin. // *International Journal of Biological Macromolecules*. 2018. V.120 (B). P. 2035-2047.
7. Andreas Fetzer, Klaus Muller, Markus Schmid, Peter Eisner. Rapeseed proteins for technical applications: processing, isolation, modification and functional properties – a Review. // *Industrial crops and products*. 2020. V.158. P.112986.
8. Cui Du, Yongjian Cai, Tongxun Liu, Lihua Huang, Zhao Long, Mouming Zhao, Yuanhong Zhang, Qiangzhong Zhao. Physicochemical, interfacial and emulsifying properties of insoluble soy peptide aggregate: effect of omogenization and alkaline-treatment. // *Food Hydrocolloids*. 2020. V.109. P.106125.
9. Tassia B. Pessato, Francielli P.R. de Moralis, natalia C. de Carvalho, Anna Carolina M. Figueria, Luis Gustavo R. Fernandes, Ricardo de L. Zollner, Flavia M. Nett. Protein structure modification and allergenic properties of whey proteins upon interaction with tea and coffee phenolic compounds. // *Journal of Functional Foods*. 2018. V.51. P.121-129.
10. Pritti Mudgil, Lina S. Omar Hina, Kamal Bhanu, Priya Kilari, Sajid Maqsood. Multifunctional bioactive properties and enzymatically hydrolysed quinoa and amaranth proteins. // *LWT*. 2019. V.110. P.207-213.
11. Zeynep Akin, Tulay Ozcan. Functional properties of fermented milk produced with plant proteins. // *LWT*. 2017. V.86. P. 25-30.
12. Yu Liu, Bernard P.Binks. Foams of vegetable oils containing long-chain triglycerides. // *Journal of Colloid and Interface Science*. 2020. V. 583. P. 522-534.
13. Jia-yi Zhou, Sai-wu Zhang, Hua-lin Lin, Chun-qi Gao, Xiu-qi Wang. Hydrolyzed wheat gluten alleviates deoxynivalenol-induced intestinal injury by promoting intestinal stem cell proliferation and differentiation via upregulation of Wnt/ β -catenin signaling in mice. // *Food and Chemical Toxicology*. 2019. V.131, P.110579.