РАЗДЕЛ I. БИОТЕХНОЛОГИИ

Шульц Л.В., Красноштанова А.А.

Исследование влияния ферментативного гидролиза трипсином на функциональные свойства белка кукурузной муки

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

doi: 10.18411/scienceconf-06-2021-01

Аннотация

Исследована возможность получения белкового изолята из кукурузной муки методом щелочной экстракции и осаждения в изoeлектрической точке. Показано, что данный метод является эффективным. Исследовано влияние продолжительности гидролиза полученного белкового изолята трипсином на функциональные свойства: ВУС, ЖУС, пенообразующую и эмульгирующую способности. Показано, что гидролиз отрицательно влияет на ВУС и ЖУС, пенообразующая способность не претерпевает существенных изменений в рассматриваемом диапазоне времени гидролиза, эмульгирующая способность имеет ярко выраженный максимум.

Ключевые слова: кукурузная мука, экстракция, белковые изоляты, функциональные свойства, ферментативный гидролиз.

Белки являются одними из ключевых компонентов продуктов питания. Кроме непосредственно питательной ценности важной функцией белков в пищевых продуктах является структурная функция и способность предавать продуктам определённые физико-химические характеристики. Способность белка выполнять данную функцию определяется его функциональными свойствами.

Кукуруза является одной из наиболее распространённых злаковых культур в мире. Она широко используется для получения крахмала. Кукурузная мука содержит в среднем около 82% крахмала и 7% белка в расчёте на сухое вещество [1]. Как видно, содержание белка в кукурузной муке невелико, при этом она богата крахмалом. Поэтому актуальным является вопрос комплексной переработки кукурузной муки с получением крахмала в качестве основного продукта и белка в качестве побочного.

Согласно литературным данным [2], наибольшее содержание в белке кукурузной муки имеют глютелиновая и проламиновая фракции (около 40% и 30% соответственно). Данные фракции имеют высокую растворимость в сильнощелочной водной среде при pH выше 11 [3, 4], из чего можно сделать вывод о том, что белок кукурузной муки имеет высокий выход при экстракции растворами гидроксида натрия. Также ранее было показано, что экстракция кукурузного белка в сильноокислой и слабощелочной среде при нагревании до 80°C не может дать выход более 52% [5].

Целью данной работы является подбор условий выделения белкового изолята из кукурузной муки и изучение влияния ограниченного протеолиза на его функциональные свойства.

Материалы и методы

Объектом исследования являлась кукурузная мука производства ООО «Гарнец» с содержанием сырого протеина 8% и влажностью 12%. В работе был использован ферментный препарат трипсин производства ООО «Диаэм» с удельной активностью 196 ед/г белка и содержанием белка 20%.

Содержание сырого протеина определяли методом Къельдаля, содержание белка в растворе определяли микробиуретовым методом, протеолитическую активность ферментного препарата определяли модифицированным методом Ансона.

Перед проведением исследования экстракции белка для снижения интерферирующего действия крахмала кукурузная мука была предварительно отмыта от части крахмала путём трёхкратного суспендирования в дистиллированной воде со сливом надосадочной жидкости. При этом содержание сырого протеина в отмытой муке составило 14%.

Результаты и обсуждение

Как было указано выше, кукурузный белок имеет высокую растворимость в сильнощелочной среде, поэтому на первом этапе исследовали эффективность экстракции белка из кукурузной муки растворами гидроксида натрия. Экстракцию проводили при комнатной температуре в течение 30 мин растворами с концентрациями 0,05 М и 0,1 М при содержании муки в суспензии 10%. Полноту экстракции оценивали по содержанию белка в экстракте. При экстракции 0,05 М раствором NaOH выход белка составил 69% от сырого протеина (СП), экстракция 0,1 М раствором показала выход свыше 95% от СП.

Как видно, экстракция белка 0,1 М раствором гидроксида натрия существенно более эффективна по сравнению с кислотной экстракцией, представленной в [5], так как обеспечивает более высокий выход белка при меньшей продолжительности и энергозатратности процесса.

Далее исследовали выделение белка из полученного щелочного экстракта. Экстракт отделяли от осадка путём центрифугирования при 6000 об/мин в течение 15 мин. Выделение белка производили путём осаждения белка в изoeлектрической точке. Для этого к полученному экстракту по каплям добавляли 1 М раствор соляной кислоты, доводя pH до значений в диапазоне от 3,0 до 9,0. Полноту осаждения оценивали по концентрации белка в надосадочной жидкости. Полученные результаты представлены на рис. 1.

Рис. 1 – Влияние pH на степень осаждения кукурузного белка из щелочного экстракта

Как видно из рис. 1, наибольшая степень осаждения 76% достигается при pH 6,0. Полученный осадок белка отделили от надосадочной жидкости центрифугированием при 6000 об/мин в течение 15 мин, высушили на воздухе. Содержание сырого протеина в полученном белковом изоляте, измеренное микрометодом Къельдаля, составило 95%.

Таким образом, были подобраны следующие условия получения белкового изолята из кукурузной муки: экстракция 0,1 М раствором гидроксида натрия в течение 30 мин при комнатной температуре при содержании муки в суспензии 10%, отделение экстракта от осадка центрифугированием, осаждение белка в ИЭТ при pH 6,0.

На следующем этапе оценили зависимость степени ферментативного гидролиза полученного белкового изолята от содержания трипсина в растворе. Гидролиз проводили при pH 8,2, 40°C в течение 1 часа. Степень гидролиза оценивали по содержанию низкомолекулярной белковой фракции в растворе после остановки реакции 50% раствором трихлоруксусной кислоты. Полученные результаты представлены на рис. 2.

Рис. 2 - Зависимость степени гидролиза кукурузного белка от содержания трипсина

Как видно из рис. 2, при содержании трипсина в растворе более 0,35 ед/мл степень гидролиза практически перестаёт расти. Поэтому для получения белковых изолятов брали концентрацию трипсина 0,35 ед/мл.

Далее получили ряд гидролизатов полученного белкового изолята, полученных при времени ферментализации 15, 30, 60, 90, 120 мин. Исследовали следующие функциональные свойства гидролизатов: ВУС, ЖУС, пенообразующую способность, эмульгирующую способность. Результаты представлены на рис. 3, 4, 5, 6.

Рис. 3 – зависимость ВУС от времени гидролиза

Рис. 4 – Зависимость ЖУС от времени гидролиза

Рис. 5 – зависимость пенообразующей способности от времени гидролиза

Рис. 6 – зависимость эмульгирующей способности от времени гидролиза

Как видно из рис. 3 и 4, гидролиз отрицательно влияет на ВУС и ЖУС кукурузного белка. В случае ВУС это, видимо, связано с разрушением глобул белка и увеличением количества гидрофобных функциональных групп, находящихся внутри глобул, которые контактируют с водой. В случае ЖУС это, вероятно, можно объяснить разрушением гидрофобных участков молекул белка и уменьшением количества гидрофобных связей.

Пенообразующая способность, как можно видеть из рис. 5, колеблется в пределах 40-60% и в целом не претерпевает существенных изменений. Возможно, данная продолжительность гидролиза недостаточна для того, чтобы средняя длина белковых и пептидных цепочек стала достаточно короткой, чтобы снизить пенообразующую способность.

Эмульгирующая способность по рис. 6 имеет ярко выраженный максимум при продолжительности гидролиза от 30 до 60 мин и достигает 22%. По-видимому, это связано с тем, что при данной продолжительности гидролиза образуется наибольшее количество пептидов, имеющих как гидрофильные, так и гидрофобные функциональные группы, то есть обладающих наибольшей поверхностной активностью и способных образовывать мицеллы или глобулы, тогда как при более длительном гидролизе данные пептиды разрушаются.

Выводы

1. Подобраны условия получения белкового изолята из кукурузной муки: экстракция 0,1 М раствором NaOH в течение 30 мин при комнатной температуре при содержании муки в суспензии 0,1 г/мл, отделение экстракта от осадка центрифугированием, осаждение белка в ИЭТ при pH 6,0.

2. Установлено, что ферментативный гидролиз трипсином отрицательно влияет на ВУС и ЖУС кукурузного белка; пенообразующая способность белка не претерпевает существенных изменений при продолжительности гидролиза до 120 мин; эмульгирующая способность достигает максимальных значений при гидролизе от 30 до 60 мин.

1. Ананских В.В., Шлеина Л.Д. О возможности получения мальтодекстринов из кукурузной муки // Хранение и переработка сельхозсырья. – 2017. – № 11.
2. Казаков Е.Д., Карпиленко Г.П. Биохимия зерна и хлебопродуктов К 14 (3-е переработанное и дополненное издание) — СПб.: ГИОРД, 2005. — 512с.
3. Гурковская Е.А., Клячко Ю.А. Сравнительный анализ молекулярно-массового распределения белков злаков в тонкослойной эксклюзионной хроматографии // Сорбционные и хроматографические процессы. – 2005. – Т. 5. – №. 5. – С. 641-658.
4. Li S. et al. Fabrication and characterization of starch/zein nanocomposites with pH-responsive emulsion behavior // Food Hydrocolloids. – 2021. – Vol. 112.
5. Шульц Л.В., Красноштанова А.А. Оптимизация процесса экстракции белка из кукурузной муки // Успехи в химии и химической технологии: сб. науч. тр. Том XXXIV. – 2020. – С. 19.