

УДК 633.854.78:577.122.3

UDC 633.854.78:577.122.3

**РАСПРЕДЕЛЕНИЕ  
ЭЛЕКТРОФОРЕТИЧЕСКИХ ФРАКЦИЙ  
БЕЛКОВЫХ ИЗОЛЯТОВ ИЗ  
ПОДСОЛНЕЧНОГО ЖМЫХА****THE DISTRIBUTION OF  
ELECTROPHORETIC FRACTIONS OF  
PROTEIN ISOLATES FROM SUNFLOWER  
MEAL**

Воронова Наталья Сергеевна  
канд. техн. наук, доцент

Voronova Natalya Sergeevna  
Cand.Tech.Sci., associate professor

Овчаров Даниил Владимирович  
студент факультета перерабатывающих  
технологий  
*Кубанский государственный аграрный  
университет, Краснодар, Россия*

Ovcharov Daniil Vladimirovich  
student of the Faculty of processing technologies  
*Kuban State Agrarian University, Krasnodar, Russia*

Пищевой статус россиян характеризуется дефицитом белка. Перспективным источником пищевого белка являются вторичные ресурсы масложировой промышленности, получаемые при переработке семян подсолнечника, в том числе подсолнечный жмых. К сожалению, особенности технологического процесса на маслодобывающих прессовых исключают возможность получения из них пищевых белковых продуктов без дополнительной обработки, повышающей биологическую ценность и улучшающей технологические характеристики белков. На основании вышеизложенного, исследования белкового комплекса подсолнечного жмыха, разработка способов регулирования его функционально-технологических свойств и повышения биологической ценности является актуальным. В статье представлен анализ влияния ферментативной модификации на распределение электрофоретических фракции модифицированных белковых изолятов

The food status of Russians is characterized by deficiency of protein. Perspective sources of food protein are the secondary resources of the oil and fat industry received when processing seeds of sunflower, including sunflower meal. Unfortunately, the features of technological process at the oil-extracting press exclude a possibility of receiving food protein-containing products from them without the additional processing increasing biological value and improving technical characteristics of proteins. On the basis of the above information, the researches of a protein complex of sunflower cake, development of ways of regulation of its functional and technological properties and increase of biological value is up-to-date. The article presents the analysis of the influence of enzymatic modification on the distribution of electrophoretic fractions of the modified protein isolates

Ключевые слова: БЕЛКОВЫЙ ИЗОЛЯТ,  
ФЕРМЕНТАТИВНАЯ МОДИФИКАЦИЯ,  
ПРОТЕАЗЫ, ФРАКЦИИ

Keywords: PROTEIN ISOLATE, ENZYMATIC  
MODIFICATION, PROTEASES, FRACTIONS

Подсолнечный жмых – побочный продукт маслоэкстракционного производства, получаемый после извлечения масла из семян масличных растений. По аминокислотному составу и биохимической ценности белки подсолнечного жмыха превосходят белки зерновых злаков: они содержат больше лизина, метионина, цистина и триптофана [1]. Значительно больше в них также кальция и фосфора. Подсолнечный жмых беден каротином, но богат витаминами группы В [2,3,4].

Особенности технологического процесса на маслодобывающих прессовых предприятиях – очистка семян от примесей, обрушивание и

отделение плодовой оболочки, а также измельчение, нагрев измельченного материала, отжим масла, и как следствие, глубокая денатурация белков семян - исключают возможность получения из них пищевых белковых продуктов без дополнительной обработки, повышающей биологическую ценность и улучшающей технологические характеристики белков. [3,5]. Для направленного регулирования функциональных свойств белков и повышения биологической ценности применяют различные методы обработки: термоденатурацию, химическую и ферментную модификации. В настоящее время наибольший интерес представляет биомодификация с использованием растительных и микробных протеаз. Ферменты позволяют в мягких технологических режимах и с использованием природных агентов воздействовать на исходные субстраты, получая оптимальные результаты при минимальных затратах (в сравнении с термическими и химическими воздействиями) [5,6].

Цель данной работы – сравнение влияния ферментативной модификации белковых изолятов, полученных из подсолнечного жмыха, на их фракционный состав.

Объектом исследования служил белковый изолят, полученный по модифицированному способу [7] из подсолнечного жмыха, отобранного на маслопрессовом предприятии ООО «Светлый путь», (ст. Платнировская Краснодарского края).

В качестве ферментных препаратов растительной и микробной природы использовали соответственно вытяжку ферментов пророщенных семян подсолнечника (РП) и подсырную молочную сыворотку (ПМС).

Для приготовления ферментной вытяжки РП поверхность семян подсолнечника обеззараживали 0,01% раствором сорбиновой кислоты в соотношении 1:2, увлажняли до влажности 150% (гидромодуль 1:3), затем проращивали при температуре 27<sup>0</sup>С в течение 72 часов. Пророщенные семена измельчали и заливали дистиллированной водой в соотношении 1:5

по массе и выдерживали при температуре 4-6<sup>0</sup>С в течение 60 мин. Полученную суспензию фильтровали. Фильтрат использовали в качестве препарата РП с высокой протеиназной активностью, которым обрабатывали исследуемый белковый изолят из подсолнечного жмыха.

В качестве источника микробных протеаз использовали подсырную молочную сыворотку (ГОСТ Р 53438-2009), полученную на сыродельном комбинате «Ленинградский» (ст. Ленинградская, Краснодарский край). В таблице 1 представлен химический состав подсырной молочной сыворотки, полученной при производстве сыра Российский (ГОСТ 11041-88).

Таблица 1 – Химический состав подсырной молочной сыворотки, %

Показатели	Массовая доля
Сухих веществ, в т.ч.:	8,71 ± 0,44
лактозы	4,6 ± 0,23
белков	0,95 ± 0,05
молочного жира	0,48 ± 0,02
минеральных веществ	0,68 ± 0,03
поваренной соли	2,0 ± 0,1
Кислотность, Т <sup>0</sup>	25 ± 1,25
Плотность, кг/м <sup>3</sup>	23 ± 1,15

Анализ данных таблицы 1 показывает, что за счет содержания поваренной соли в подсырной соленой молочной сыворотки содержится значительное количество сухих веществ. Так же благодаря содержанию поваренной соли, которая является естественным консервантом, соленая сыворотка может храниться достаточное время, без значительного ухудшения качества.

В результате предварительных экспериментов были определены оптимальные условия модификации: температура 25 - 35<sup>0</sup>С и время экспозиции 45-60 минут.

Модификацию белкового изолята проводили экзопротеазами по трем вариантам: ферментной вытяжкой из пророщенных семян подсолнечника (РП); микробными ферментами подсырной молочной сыворотки (включая

сычужные ферменты сыворотки) (ПМС), а также совместным использованием растительных и микробных ферментов (СиРП).

Количественную оценку распределения электрофоретических фракции белковых изолятов проводили методом капиллярного электрофореза на анализаторе Капель – 103Р (фирма «Люмикс», Санкт-Петербург) [4].

Качественную оценку белковых фракций до и после ферментативных модификаций проводили методом капиллярного электрофореза, оценивая площадь пиков на хроматограммах. Электрофоретические спектры, белкового изолята до модификации характеризуются семью близкими по площади фракциями – площади их пиков колеблются от 0,1129 до 0,6771 mAU×сек (рисунок 1). Преобладает фракция, пик которой, появляется на хроматограмме на 17 минуте, площадью 32, 4% от абсолютной площади всех фракций пробы. Первая фракция, представленная тремя пиками общей площадью 18,7%, выходит в хроматограмме на 10 минуте. Остальные минорные фракции присутствуют в минимальных количествах и представлены однотипными пиками появляющимися на хроматограмме на 11, 20 и 22 минутах и имеющими относительные площади 12,09%, 14,11% и 11,34%, соответственно.

На двадцать четвертой минуте выходит заключительная фракция, занимающая 9,01% от общей площади хроматограммы. Общая площадь пиков контрольного образца составляет 2,089 mAU×сек.

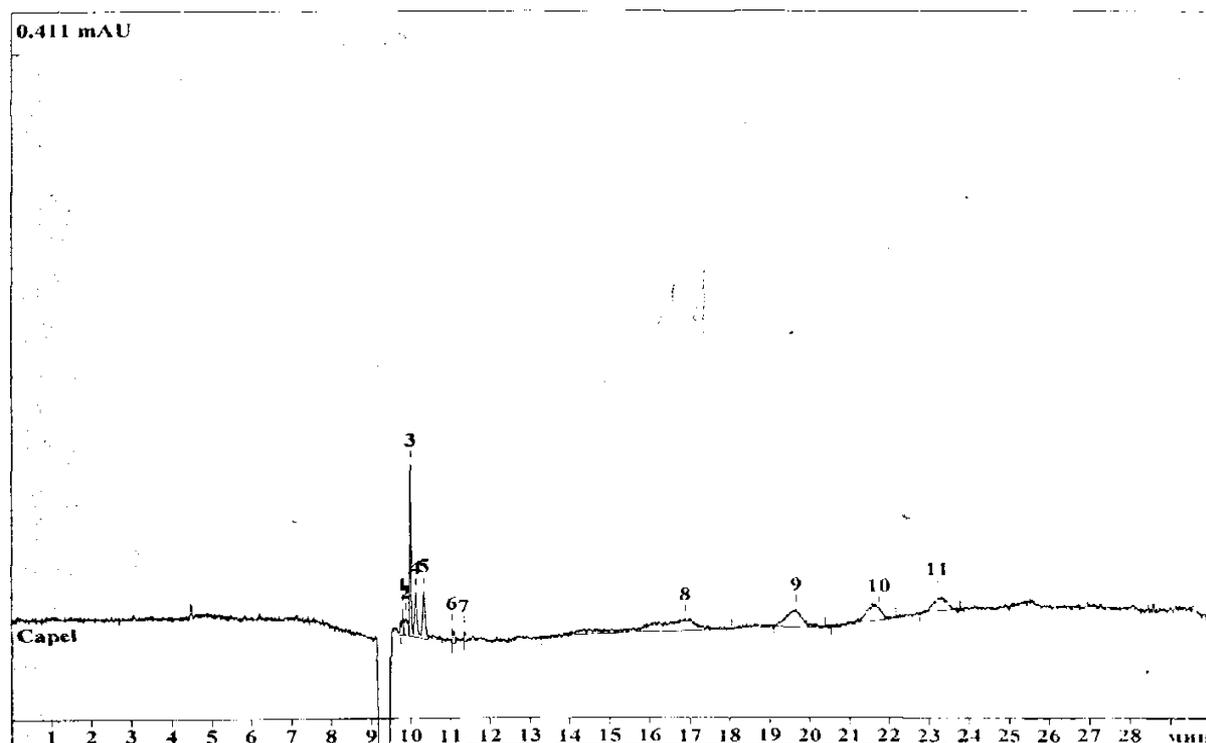


Рисунок 1 – Электрофореграмма распределения электрофоретических фракций белкового изолята до модификации

Как следует из полученных хроматограмм, электрофоретических фракций модифицированных белковых изолятов, существенно отличаются от исходных белковых изолятов. Так число пиков возрастает с 11, площадью  $2,089 \text{ mAU} \times \text{сек}$ , для немодифицированного белкового изолята и до 21 с площадью  $24,203 \text{ mAU} \times \text{сек}$  для белкового изолята, модифицированного СиРП. Хроматограмма белков, модифицированных РП, показала наличие 11 фракций, представленных 17 пиками (общей площадью  $39,65 \text{ mAU} \times \text{сек}$ ) (рисунок 2), в то время, как хроматограмма белкового изолята, модифицированного ПМС (рисунок 3), показала 8 фракций и 19 пиков (общей площадью  $28,73 \text{ mAU} \times \text{сек}$ ), а хроматограмма комплексной ферментативной модификации – 13 фракций и 21 пик (общей площадью  $24,20 \text{ mAU} \times \text{сек}$ ). Таким образом, комплексная ферментативная модификация и модификация РП привела к увеличению скорости разделения пиков на 6 минут, по сравнению с нативным белковым продуктом, а модификация ПМС сократила время на 4,5 минуты.

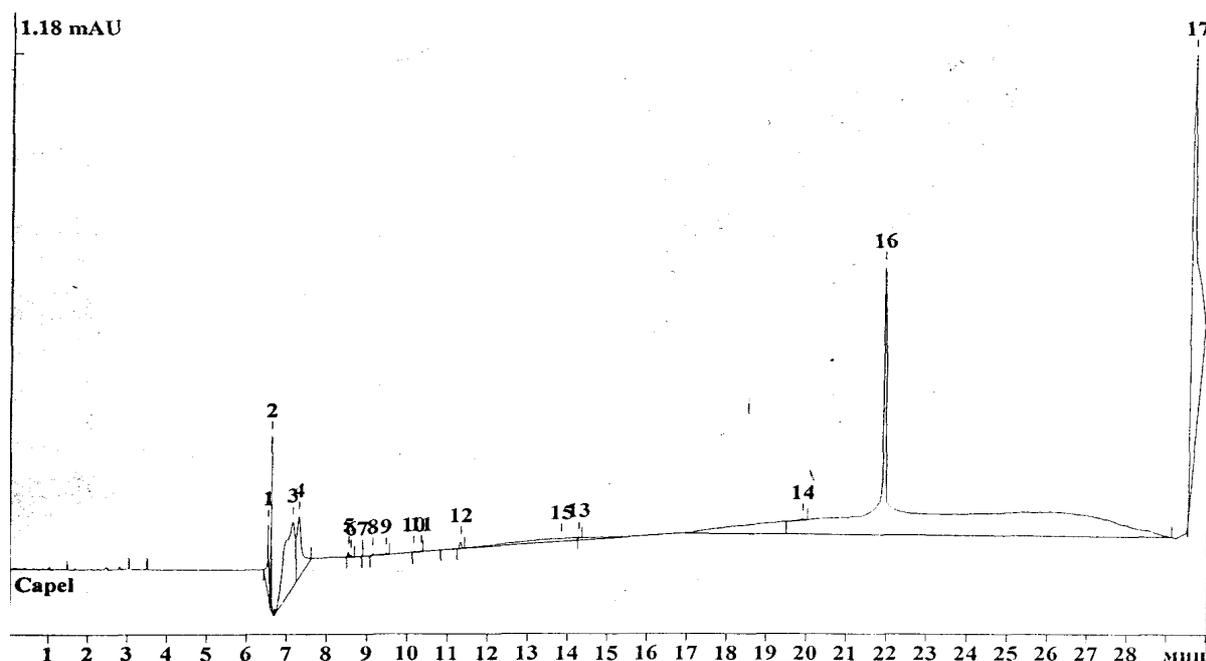


Рисунок 2 – Электрофореграмма распределения электрофоретических фракций белкового изолята модифицированного РП

Для белков, модифицированных РП, время удерживания трех пиков первой высокомолекулярной фракции уменьшилось на 3 минуты, а при комплексной модификации – 5 пиков на 4,5 минуты. Таким образом, комплексная модификация вызвала дифференциацию первой фракции с трех пиков с общей относительной площадью 18,7%, до пяти – площадью 13,6%, от общей относительной площади пиков фракций соответствующего белкового продукта.

Хроматограмма белкового продукта, модифицированного отдельно ПМС, характеризуется меньшим количеством фракций (на 3 фракции) и временем удерживания пиков (на 6 минут) при большем их количестве по сравнению с модификацией белкового изолята РП. При этом важно заметить, что белковый изолят, модифицированный РП, на электрофоретических спектрах представлен наиболее крупной фракцией на пике 16 площадью 25,9058 mAU×сек и заключительной фракцией, появляющейся на 29 минуте площадью 8,3365 mAU×сек. Остальные

минорные фракции присутствуют в минимальных количествах – площадь их пиков колеблется от 0,0048 mAU×сек до 2,5118 mAU×сек.

Хроматограмма белкового изолята, модифицированного ПМС (рисунок 3), характеризуется рядом однотипных по конфигурации и абсолютной площади пиков, отличающихся от хроматограммы белков, модифицированных РП, наибольшей площадью, в пределах от 0,0440 mAU×сек до 5,5930 mAU×сек.

Заключительная фракция, появляющаяся на 19 минуте, имеет относительную площадь 0,15%, причем для всех других описываемых хроматограмм площадь пика заключительной фракции выше и доходит до 21%.

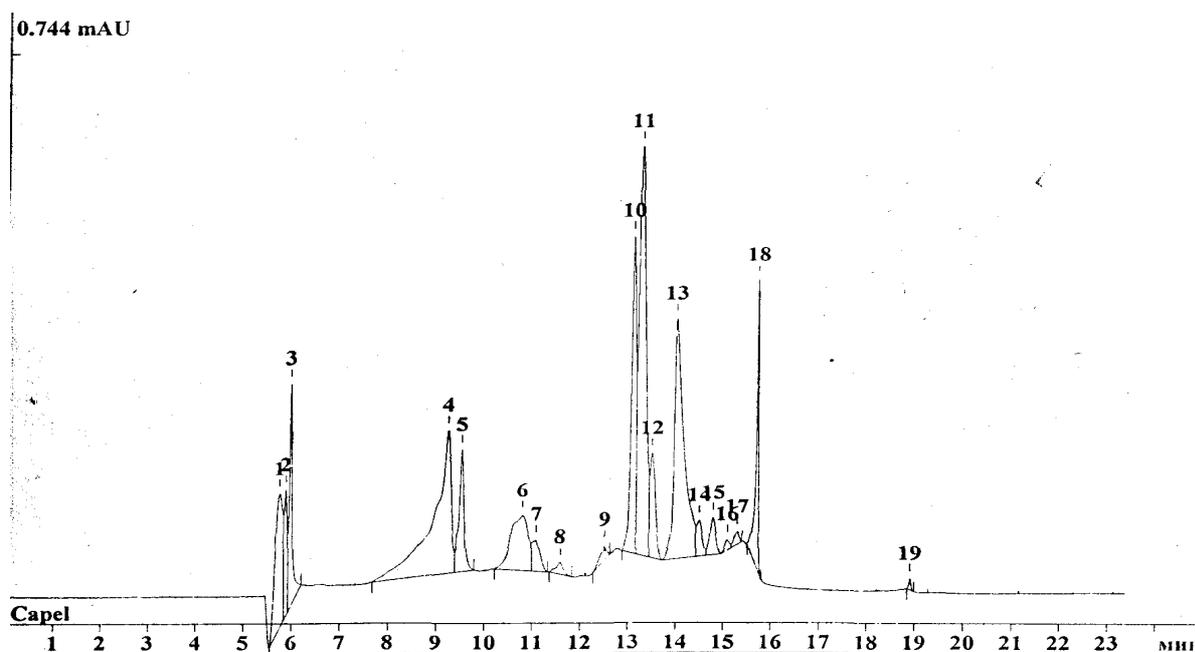


Рисунок 3 –Электрофореграмма распределения электрофоретических фракций белкового изолята модифицированного ПМС

На хроматограмме белкового изолята, модифицированного последовательно СиРП (рисунок 4), наблюдается наибольшее количество пиков и фракций, при одновременном уменьшении площади основных фракций и снижении времени их удерживания, что указывает на углубление гидролитических процессов. Три пика высокомолекулярной фракции нативного белкового продукта при комплексной модификации

дробятся на пять пиков, плотно идущих друг за другом, с сокращением времени выхода на 3 минуты. Первоначально характерны пики, имеющие пологий, сглаженный рельеф среднемолекулярной фракции нативного белкового продукта, после комплексной модификации, растительными и микробными протеазами, характерны вытянутые пики и выходят быстрее уже на 10 минуте против 13 минуты соответствующих пиков нативного белкового продукта.

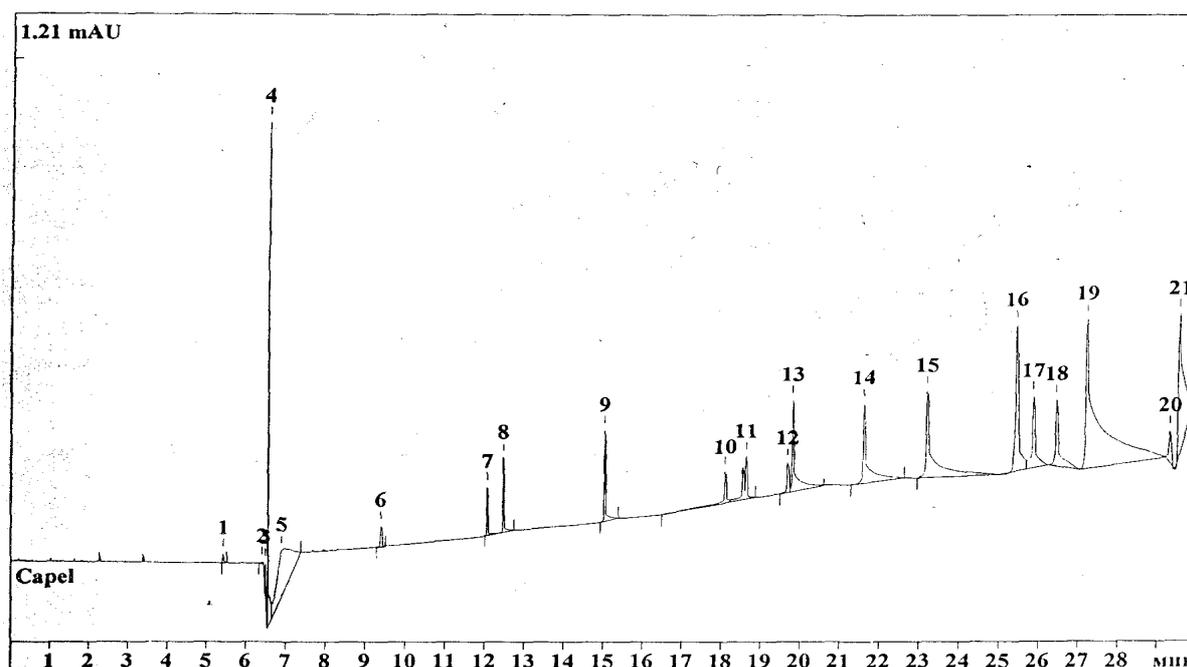


Рисунок 4 – Электрофореграмма распределения электрофоретических фракций белкового изолята модифицированного СиРП

Таким образом, под влиянием комплекса протеаз различного происхождения в белковом продукте появляется значительное количество глубоко гидролизованных белковых фракций, отличающихся от исходных меньшей молекулярной массой и измененным фракционным составом.

#### Литература:

1. Безверхая Н.С. Биологическая ценность семян подсолнечника и продуктов их переработки / А.Н. Бердина, Н.В. Ильчишина, Н.С. Безверхая // Известия вузов. Пищевая технология, №5-6, 2008. – С.44-45.
2. Бердина А.Н. Аминокислотный состав липопротеинов подсолнечника и пшеницы / А. Н. Бердина, Н. В. Ильчишина, Н. С. Безверхая // Известия высших учебных заведений. Пищевая технология. – 2008. – № 2-3. – С. 26-28.

3. Безверхая Н.С. Сравнительная характеристика двух биотипов гибридного подсолнечника с различным жирнокислотным составом запасных липидов / Н. С. Безверхая, Н. В. Ильчишина, С. Г. Ефименко, В. Г. Щебаков // Известия высших учебных заведений. Пищевая технология. – 2010. – № 2-3. – С. 17-19.

4. Черкасов С.В. Технология новых кормовых продуктов на основе вторичных сырьевых ресурсов пищевых производств. Дис. канд. техн. наук. – Краснодар, - 2006. – 99с.

5. Воронова Н. С. Совершенствование технологии получения белковых изолятов из подсолнечного жмыха и их использование для повышения пищевой ценности мучных кондитерских изделий дис. ... канд. техн. наук: 05.18.01 / Воронова Наталья Сергеевна. – Краснодар, 2011. – 133 с.

6. Безверхая Н.С. Влияние ферментативной модификации подсолнечных белковых изолятов на их аминокислотный состав и биологическую ценность / Н.С. Безверхая, Н.В. Ильчишина, А.Н. Бердина // Труды Кубанского государственного аграрного университета, №6 (27), 2010. – С.187-189.

7. Воронова Н.С. Модифицированные белковые изоляты из подсолнечного жмыха / Воронова Н.С. – Saarbrücken: Palmarium Academic Publishing, 2014. – 109 с.

8. Безверхая Н. С. Влияние ферментативной модификации белкового изолята из подсолнечного жмыха на качество мучных кондитерских изделий / Безверхая Н.С., Ильчишина Н.В. // Известия высших учебных заведений. Пищевая технология. – 2011. – № 4 (322). – С. 46-47.

9. Воронова Н. С. Исследование химического состава и функциональных свойств белковых изолятов, полученных из подсолнечных семян и жмыха / Воронова Н.С., Бердина А.Н., Кудлаева Е.С. // Вестник НГИЭИ. 2012. – № 8. – С. 37-45.

## References

1. Bezverhaja N.S. Biologicheskaja cennost' semjan podsolnechnika i produktov ih pererabotki / A.N. Berdina, N.V. Il'chishina, N.S. Bezverhaja // Izvestija vuzov. Pishhevaja tehnologija, №5-6, 2008. – S.44-45.

2. Berdina A.N. Aminokislotnyj sostav lipoproteinov podsolnechnika i pshenicy / A. N. Berdina, N. V. Il'chishina, N. S. Bezverhaja // Izvestija vysshih uchebnyh zavedenij. Pishhevaja tehnologija. – 2008. – № 2-3. – S. 26-28.

3. Bezverhaja N.S. Sravnitel'naja harakteristika dvuh biotipov gibridnogo podsolnechnika s razlichnym zhirnokislotnym sostavom zapasnyh lipidov / N. S. Bezverhaja, N. V. Il'chishina, S. G. Efimenko, V. G. Shhebakov // Izvestija vysshih uchebnyh zavedenij. Pishhevaja tehnologija. – 2010. – № 2-3. – S. 17-19.

4. Cherkasov S.V. Tehnologija novyh kormovyh produktov na osnove vtorichnyh syr'evyh resursov pishhevyyh proizvodstv. Dis. kand. tehn. nauk. – Krasnodar, - 2006. – 99s.

5. Voronova N. S. Sovershenstvovanie tehnologii poluchenija belkovykh izoljatov iz podsolnechnogo zhmyha i ih ispol'zovanie dlja povyshenija pishhevoj cennosti muchnykh konditerskih izdelij dis. ... kand. tehn. nauk: 05.18.01 / Voronova Natal'ja Sergeevna. – Krasnodar, 2011. – 133 s.

6. Bezverhaja N.S. Vlijanie fermentativnoj modifikacii podsolnechnykh belkovykh izoljatov na ih aminokislotnyj sostav i biologicheskiju cennost' / N.S. Bezverhaja, N.V. Il'chishina, A.N. Berdina // Trudy Kubanskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta, №6 (27), 2010. – S.187-189.

7. Voronova N.S. Modificirovannye belkovye izoljaty iz podsolnechnogo zhmyha / Voronova N.S. – Saarbrjukken: Palmarium Academic Pudlising, 2014. – 109 s.

8. Bezverhaja N. S. Vlijanie fermentativnoj modifikacii belkovogo izoljata iz podsolnechnogo zhmyha na kachestvo muchnyh konditerskih izdelij / Bezverhaja N.S., П'chishina N.V. // Izvestija vysshih uchebnyh zavedenij. Pishhevaja tehnologija. – 2011. – № 4 (322). – S. 46-47.

9. Voronova N. S. Issledovanie himicheskogo sostava i funkcional'nyh svojstv belkovyh izoljatov, poluchennyh iz podsolnechnykh semjan i zhmyha / Voronova N.S., Berdina A.N., Kudlaeva E.S. // Vestnik NGIJeI. 2012. – № 8. – S. 37-45.