



Государственный комитет
СССР
по делам изобретений
и открытий

О П И С А Н И Е ИЗОБРЕТЕНИЯ

К АВТОРСКОМУ СВИДЕТЕЛЬСТВУ

(11) 856426

(61) Дополнительное к авт. свид-ву —

(22) Заявлено 16.11.79 (21) 2841429/23-04

с присоединением заявки № —

(23) Приоритет —

Опубликовано 23.08.81. Бюллетень № 31

Дата опубликования описания 28.08.81

(51) М. Кл.³
А 23 J 3/00
С 07 G 7/00

(53) УДК 547.964.
.07(088.8)

(72) Авторы
изобретения

С. М. Андреев, О. М. Галкин, С. Г. Евдокименко, Е. С. Вайнерман
и С. В. Рогожин

(71) Заявитель

Ордена Ленина институт элементоорганических соединений АН СССР

(54) СПОСОБ ХИМИЧЕСКОЙ МОДИФИКАЦИИ ПИЩЕВЫХ БЕЛКОВ

1

Изобретение относится к способам химической модификации белков, выделенных из природных источников, действием ангидридов алифатических дикарбоновых кислот и может найти применение в пищевой промышленности.

Химическая модификация белков проводится с целью улучшения их функциональных свойств (растворимость, пенообразование, эмульгирование и т. д.).

Известен способ химической модификации белков молока путем их обработки уксусным ангидридом в водной среде при рН 5,0 [1].

Несмотря на то, что уксусный ангидрид является дешевым и доступным реагентом, этот способ не нашел широкого применения для модификации пищевых белков. Это обусловлено низкими функциональными свойствами и низкой пищевой ценностью ацетилированных белков.

Более широкое применение для модификации белков нашли ангидриды алифатических дикарбоновых кислот [2].

Для получения белков, устойчивых в условиях термической обработки, известен

2

способ модификации яичного белка ангидридом 3,3-диметилглутаровой кислоты при рН 9,0; 25°C и мольном соотношении белок-модифицирующий реагент 1:60 [3].

Недостатком способа является использование дорогого и труднодоступного ангидрида 3,3-диметилглутаровой кислоты.

Среди ангидридов алифатических дикарбоновых кислот наиболее широкое применение для химической модификации пищевых белков нашел ангидрид янтарной кислоты. С помощью этого реагента были модифицированы различные пищевые белки, выделенные из природных источников, в частности, белковый изолят сои и белковый изолят дрожжей [4].

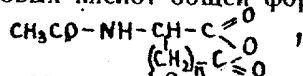
Наиболее близким к предлагаемому является способ химической модификации белкового изолята дрожжей янтарным ангидридом в водной среде при рН 7—8 и весовом соотношении белок-янтарный ангидрид 1:1—10:1 [5].

Этот способ позволяет проводить процесс в мягких условиях и дает конечный продукт с улучшенными по сравнению с исходным белком функциональными свойствами.

Недостатками способа являются незначительное улучшение растворимости модифицированных белков по сравнению с исходными белками в физиологическом интервале рН (4—9) и как следствие трудность его дальнейшего использования [5], а также относительно высокая стоимость янтарного ангидрида — 89,0 руб/кг [6]. Вследствие этого указанный способ является мало пригодным для крупнотоннажного промышленного производства модифицированных пищевых белков.

Цель изобретения — удешевление способа химической модификации пищевых белков и улучшение функциональных свойств модифицируемых белков.

Поставленная цель достигается способом химической модификации пищевых белков, согласно которому белок обрабатывают ангидридами N-ацетил-α-аминодикарбоновых кислот общей формулы



где $n = 1, 2$, при весовом соотношении белок — модифицирующий реагент 1:1 — 5:1.

Модификацию проводят в водной среде при рН 7—8 с последующим выделением модифицированного белка известными методами.

Используемые в предлагаемом способе модифицирующие реагенты — ангидриды N-ацетил-α-аминодикарбоновых кислот могут быть легко получены с высоким выходом из уксусного ангидрида и природных α-аминодикарбоновых кислот [7]. Уксусный ангидрид является дешевым и доступным реагентом, производимым в больших количествах химической промышленностью. α-аминодикарбоновые кислоты получают в настоящее время в больших количествах микробиологическим путем [8]. Для сравнения, стоимость янтарного ангидрида 89,0 руб/кг, а стоимость уксусного ангидрида 1,50 руб/кг, L-глутаминовой кислоты 40,0 руб/кг [6].

Таким образом, предлагаемые модифицирующие реагенты являются более дешевыми и доступными по сравнению с янтарным ангидридом, что особенно важно при крупнотоннажном производстве.

Кроме того, на синтетических пептидных моделях недавно было показано, что связь ε-(γ-глутамил)-лизин легко подвергается расщеплению под действием ферментов желудочно-кишечного тракта [9]. Так как в способе модификации образуется в основном именно этот тип связи, то, повидимому, при такой модификации не происходит снижения пищевой ценности белка.

Пример 1. 3,00 г белкового изолята дрожжей растворяют в 0,1 н. растворе едкого натра. К полученному раствору прибавляют порциями при перемешивании 1,50 г

ангидрида N-ацетил-L-глутаминовой кислоты, поддерживая рН среды в интервале 7—8. Реакционную смесь перемешивают 1 ч в этом интервале рН до полного растворения модифицирующего реагента. Затем осаждают при рН 3,5 добавлением соляной кислоты, отделяют центрифугированием, промывают водой, растворяют в воде при рН 7,5 и выделяют из раствора с помощью лиофильной сушки. В итоге получают 3,0 г модифицированного белка с влажностью 8%, содержанием азота 13,72%, золы 6,25% и растворимостью при рН 9,0 6,88%, при рН 7,00 — 6,22% и при рН 5 — 5,35%.

Пример 2. Аналогично примеру 1 с тем отличием, что в качестве модифицирующего реагента используют ангидрид N-ацетил-L-аспарагиновой кислоты. В итоге получают белок с влажностью 10%, содержанием азота 13,28%, золы 7,00% и растворимостью при рН 9,0 6,78%, при рН 7,0 — 6,18%.

Пример 3. 7,0 г белкового изолята сои растворяют в 0,1 н. растворе едкого натра и к полученному раствору прибавляют порциями при перемешивании 3,5 г ангидрида N-ацетил-глутаминовой кислоты, поддерживая рН в интервале 7—8. Затем реакционную смесь перемешивают 1 ч при рН 7,5 и обрабатывают аналогично примеру 1.

В итоге получают 7,0 г модифицированного белка с влажностью 7,5%, содержанием азота 13,60%, золы 7,19% и растворимостью при рН 9,0 7,10%, при рН 7,0 — 6,48%.

Пример 4. 17,0 г белкового изолята крыла растворяют в 0,1 н. растворе едкого натра. К полученному раствору порциями при перемешивании добавляют 3,4 г ангидрида N-ацетилглутаминовой кислоты при рН 7,5. Затем реакционную смесь перемешивают 1 ч при рН 7,5 и обрабатывают аналогично примеру 1. В итоге получают 16,0 г модифицированного белка с влажностью 7,2%, содержанием азота 13,90%, золы 5,94% и растворимостью при рН 10 13,0%, при рН 7,0 — 5,57%, при рН 6,0 — 5,26%.

Были исследованы следующие функциональные свойства модифицированных белков:

а) растворимость белков в интервале рН 4—11,

б) эмульгирующая способность.

Методика определения растворимости белков.

1 г белка суспендируют в 50 мл дистиллированной воды и к полученной суспензии добавляют при перемешивании 5 н. раствора едкого натра до рН 12,0, выдерживают 0,5 ч при перемешивании. Затем добавлением 0,2 н. раствора соляной кислоты доводят рН до 11,0 и отбирают аликвоту. Аналогично отбирают аликвоты раствора при рН 9,7; 6,0; 5,0; 4,5; 3,5; 3,0; 2,0. Отобранные аликвоты центрифугируют при

15000 об/мин в течение 40 мин при 25°C. Концентрацию белка в супернатантах определяют по биуретовой реакции спектрофото-

метрически на приборе при длине волны 540 нм. Полученные результаты приведены в табл. 1.

Т а б л и ц а 1

Значение pH	Белковый изолят сои, мг/мл		Белковый изолят крыля, мг/мл		Белковый изолят дрожжей, мг/мл	
	исходный	модифиц.	исходный	модифиц.	исходный	модифиц.
2,0	8,73	1,28	7,50	1,40	1,90	0,25
3,0	4,70	0,55	2,75	0,57	0,45	0,14
3,5	6,64	0,42	0,65	0,48	-	0,13
4,0	2,29	0,70	0,50	0,66	0,25	0,22
4,5	0,97	90,00	0,25	2,52	-	27,40
5,0	1,08	108,00	0,45	-	0,25	53,50
6,0	11,33	113,00	2,75	52,60	-	60,50
7,0	11,37	114,00	7,50	55,70	0,60	62,20
9,0	11,13	114,00	8,25	54,80	0,65	68,80
11,0	11,66	115,00	9,50	59,20	1,00	70,10

Методика определения эмульгирующей способности белка.

100 мг белка помещают в 50 мл яйцевидную колбу, добавляют 10 мл дистиллированной воды и перемешивают при pH 7—7,5 до получения раствора или однородной суспензии. Затем добавляют 10 мл рафинированного подсолнечного масла и перемешивают в течение 1 мин при 16000 об/мин. Полученную эмульсию помещают в 10 мл центрифужную пробирку и центрифугируют в течение 5 мин при 1300 об/мин.

Эмульгирующую способность белков рассчитывают по формуле

$$\text{Э.С.} = \frac{B-2A}{B} \cdot 100\%$$

где Э. С. — эмульгирующая способность белка, %;

A — высота водного слоя в пробирке, мм;

B — полная высота эмульгируемой смеси в пробирке, мм.

Полученные результаты приведены в табл. 2.

Т а б л и ц а 2

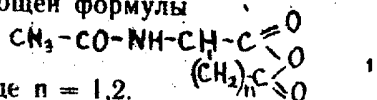
Белковый изолят сои, %		Белковый изолят крыля, %		Белковый изолят дрожжей, %	
исходный	модифиц.	исходный	модифиц.	исходный	модифиц.
21,0	26,5	36,4	53,4	7,25	52,7

Таким образом, предлагаемый способ химической модификации пищевых белков позволяет получать белковые препараты с высокой степенью растворимости в физиологическом интервале pH, что особенно важ-

но для их дальнейшей технологической переработки.

Формула изобретения
Способ химической модификации пищевых белков путем обработки белков ан-

гидридами алифатических дикарбоновых кислот в водной среде в интервале pH 7—8 при весовом соотношении белок — ангидрид алифатической дикарбоновой кислоты 1:1—5:1, отличающийся тем, что, с целью улучшения функциональных свойств белка, в качестве ангидридов алифатических дикарбоновых кислот используют ангидриды N-ацетил- α -аминодикарбоновых кислот общей формулы



где $n = 1, 2$.

Источники информации,

принятые во внимание при экспертизе

1. Патент Англии № 1294664, кл. C 3 H, C 07 G 7/00, 1972.

2. Bellikov W. M., Kharatyan S. G., Besrukov M. G., Wolnowa A. J. Untersuchung des Nährwertes von Selective Acyliertem Casein. — «Die Nahrung», 1975, B. 19, H. 1, S. 65—67.

3. Gandhi S. K., Schultz J. R., Bouhey F. W. Forsythe R. H. Chemical modification of egg

white with 3,3-dimethylglutaric anhydride. — «Food Sci», 1968, V. 33, № 2, p. 163—169.

4. Franzen K. L., Kinsella J. E. Functional properties of succinilated and acetylated soy proteins. — «Agric. Food Chem.», 1976, V. 24, p. 788.

5. Vananuvant P., Kinsella J. E. Preparation of succinilated yeast protein: composition and solubility. — «Biotech. Bioengineer 1978, V. 20, p. 1329—1343 (прототип).

6. Прейскурант № 05—11—45. Оптовые цены на химреактивы и препараты, М., 1971, ч. I.

7. Butas A., Egnell C. Preparation and racemisation de l'anhydride N-acetylglutamique. — «Ann. Chim.», 1965, V. 10, p. 313.

8. Садовникова М. С. и Беликов В. М. Применение аминокислот в промышленности и фармакологии. Обзор. М., 1972, серия IY, с. 62.

9. Waibel P. E., Carpenter K. J. Mechanisms of Heat Damage in Proteins. 3. Studies with ϵ -(γ -L-glutamyl)-L-lysine. — «Br. J. Nutr.», 1972, V. 27, p. 509—515.

Редактор В. Данко
Заказ 7028/2

Составитель Г. Желтухина
Техред А. Бойкас
Тираж 564

Корректор Ю. Макаренко
Подписное

ВНИИПИ Государственного комитета СССР
по делам изобретений и открытий
113035, Москва, Ж—35, Раушская наб., д. 4/5
Филиал ППП «Патент», г. Ужгород, ул. Проектная, 4