

Авторефер
С

ОДЕССКИЙ ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЙ ИНСТИТУТ
ИМЕНИ М.В. ЛОМОНОСОВА

Для служебного пользования

экз. № 116

На правах рукописи

Аспирант З.К. СУПОТАЕВА

ИССЛЕДОВАНИЕ БЕЛКОВ КУКУРУЗНОГО
ЗАРОДЫША ДЛЯ ОЦЕНКИ ИХ ПИТАТЕЛЬНЫХ
СВОЙСТВ

374 - технология зерновых, бобовых и
крупяных культур

А в т о р е ф е р а т
диссертации на соискание ученой степени
кандидата технических наук

Одесса - 1967

Автореферат
с 89

ОДЕССКИЙ ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЙ ИНСТИТУТ
имени М.В. ЛОМОНОСОВА

Для служебного пользования

экз. № 116

На правах рукописи

Аспирант З.К. СУПОТАЕВА

ИССЛЕДОВАНИЕ БЕЛКОВ КУКУРУЗНОГО
ЗАРОДЫША ДЛЯ ОЦЕНКИ ИХ ПИТАТЕЛЬНЫХ
СВОЙСТВ

374 - технология зерновых, бобовых и
крупяных культур

А в т о р е ф е р а т

диссертации на соискание ученой степени
кандидата технических наук

ОНАХТ 24.09.10
Исследование белков



v017815

v017815
ОНАХТ
БИБЛИОТЕКА

~~ОДЕССКИЙ ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЙ~~ Одесса - 1967

~~имени М.В. ЛОМОНОСОВА~~

~~БИБЛИОТЕКА~~

Работа выполнена на кафедре биохимии Одесского технологического института имени М.В. Ломоносова.

Научный руководитель – доктор биологических наук профессор РОМЕНСКИЙ Н.В.

Официальные оппоненты:

1. Доктор наук профессор РОЗАНОВ А.Я.
2. Доктор наук профессор МОВСУМ-ЗАДЕ К.К.
3. [] кандидат наук ТАРУТИН П.П.

Ведущее предприятие – Всесоюзный научно-исследовательский институт зерна.

Автореферат разослан " 20 " ноября 1967г.

Защита диссертации состоится " 22 " декабря 1967г. на заседании Совета Одесского технологического института имени М.В.Ломоносова.

Просим Ваши отзывы в двух экземплярах присылать по адресу: г.Одесса-39, ул. Свердлова 112 Технологический институт имени М.В.Ломоносова.

Ученый секретарь совета *Осип* (ЗАПОРОЖЕЦ Л.А.)

ВВЕДЕНИЕ

Коммунистическая партия Советского Союза направляет свою деятельность на мирный прогрессивный труд человека, на всестороннее физическое и духовное развитие его личности. Поэтому в наших условиях задачей технологии зерна является максимальное удовлетворение питательных потребностей человека с максимальным использованием при этом всех природных ресурсов зерна и прогресс техники для решения этих задач.

Технология переработки зерна кукурузы во всех случаях связана с разделением его на части, при этом для мукомольных, крупяных, крахмало-паточных и спиртокуранных производств является обязательным предварительное изолирование зародыша. Зародыш представляет при этом отход и используется маслостойкой промышленностью, где из него получают кукурузное масло; все же другие ценные компоненты зародыша не используются в пищевых целях; они в виде жмыха или шрота направляются в комбикормовое производство. Известно, что зародыш кукурузного зерна составляет в среднем около 11% от общего веса зерна. Он содержит до 22% всего протеина зерна, свыше 83% от общего количества жира и до 80% всего количества минеральных веществ. Кроме того, зародыш богат витаминами Е и группы В. Очевидно, что зародыш кукурузного зерна обладает высокой питательной ценностью.

Подтверждением этого являются исследования Митчеля и Блока /Mitchell H.H., Block R.I., 1946/, показавшие, что питательная ценность белков кукурузного зародыша не уступает белкам говяжьего мяса. О высокой питательной ценности кукурузного зародыша свидетельствуют и работы других авторов /Mertz Edwin, 1960; Davies H.G. 1960 1964; Dobbins F.A., Krider J.L., Hamilton F.S., Ferrill S.W. 1950; Zeleny L. 1935/.

В настоящее время, когда ставится вопрос о повышении белковых ресурсов страны и разрешении проблемы полноценного питания, важным является более полное использование резервов кукурузного зародыша для пищевых целей.

Целью нашего исследования было изучение белков кукурузного зародыша, установление их биологической полноценности и рекомендация целенаправленного использования.

В связи с этим мы поставили перед собой задачу изучить содержание основных биохимических компонентов в цельном зерне и его анатомических частях, фракционный состав белков цельного зерна, его зародыша и эндосперма, исследовать некоторые физико-химические свойства и аминокислотный состав белков зародыша, выделенных из водорастворимой фракции, изучить кинетику их кислотного гидролиза, установить биологическую полноценность и в пределах наших возможностей выявить пригодность белкового препарата из зародыша кукурузного зерна для парентерального азотистого питания.

Диссертационная работа состоит из двух частей: литературного обзора и результатов экспериментальных исследований.

В литературной части описаны питательная ценность биохимических слагаемых кукурузного зерна и их пищевое и промышленное использование, приведены данные, характеризующие белки цельного кукурузного зерна и его зародыша, даны представления о роли белковых гидролизатов, предназначенных для парентерального азотистого питания.

Объем работы - 190 машинописных страниц. В тексте 27 таблиц и 21 рисунок.

В списке литературы приведено 309 работ, из них 240 отечественных авторов.

Экспериментальная часть

1. Изучение содержания биохимических компонентов в цельном кукурузном зерне и его анатомических частях

Нами были исследованы сорта и гибриды используемые в пищевой промышленности: Белая кремнистая 48, Вир 42, ВИР 25, Воронежская 76 и Одесская 10.

Для учета пищевых достоинств отдельных анатомических частей зерна мы предварительно изолировали ядра (эндосперм с семенной оболочкой), зародыши и оболочки. Такое

дифференцирование зерна на анатомические части производили вручную, пользуясь хирургическим скальпелем. В цельном зерне и его анатомических частях исследовалось содержание крахмала, протеина липидов, сырой клетчатки и зольных веществ. Протеин подсчитывали как произведение общего азота по Кьельдалю на коэффициент 6,25; содержание крахмала определяли поляриметрически; липиды - методом Рушковского; зольные вещества - сжиганием без ускорителей; сырую клетчатку - методом Геннеберга - Штомана, модифицированным нашей лабораторией. Определяли весовое соотношение анатомических частей исследуемых образцов кукурузного зерна.

Анализируя биохимические показатели по анатомическим частям зерна каждого сорта и гибрида, приведенным в табл. 1 следует отметить, что основное количество крахмала содержится в эндосперме зерна; протеина, зольных веществ и жира - в зародыше; клетчатки - в оболочках.

Можно предположить, что минеральные соединения, составляющие большую часть зольных веществ зародыша, входят в состав активных белков. Как видно, знание распределения биохимических слагаемых по отдельным анатомическим частям зерна дает полную характеристику сырья, что очень важно для пищевой промышленности.

II. Фракционный состав суммарных белков цельного зерна кукурузы, его зародыша и эндосперма

Определение фракционного состава белков проводили по их растворимости в воде, растворах нейтральных солей, спирта и щелочи.

Известно, что качественный состав белков, т.е. соотношение белковых фракций различной растворимости играет важную роль в оценке пищевой ценности белков зерна. Чем больше белков перейдет в водный раствор, тем полнее и легче они могут быть использованы в пище.

Каждую фракцию мы характеризовали содержанием общего, белкового и небелкового азота. Экстрагировалось до 96% всего содержащегося в зерне кукурузы азота в зависимости

Биохимическая характеристика зерна кукурузы и его анатомических слагаемых

Таблица 1

Наименование сорта	Весов. соотношение отдельных частей зерна	Общий азот %	Белок Мх 6,25	Крах-Клетчатка		Жиры	Зольные вещества
				мал	чатка		

в % на сухое вещество

Белая кремнистая 48

1. Целное зерно	100	1,86	11,63	68,2	2,17	5,15	1,37
2. Эндосперм	81,63	1,71	10,68	81,6	0,62	0,85	0,25
3. Зародыш	11,64	3,15	19,69	6,0	4,57	33,30	9,15
4. Оболочка	6,53	0,87	5,44	3,5	17,52	-	0,94

Вир 42

1.	100	1,87	10,54	69,1	2,46	4,25	1,22
2.	82,36	1,56	9,75	82,4	0,71	0,80	0,28
3.	10,45	2,93	19,31	8,6	5,01	31,60	9,17
4.	7,19	1,14	7,11	5,2	18,65	-	0,70

Вир 25

1.	100	1,97	12,41	70,6	2,54	4,54	1,31
2.	82,65	1,78	11,13	83,6	0,69	0,89	0,28
3.	11,12	3,30	20,62	9,6	5,12	31,89	10,11
4.	6,28	1,22	7,60	6,0	22,35	-	1,04

Воронежская 76

1.	100	1,82	11,38	66,4	2,45	5,05	1,57
2.	81,14	1,63	10,19	80,5	0,68	1,11	0,29
3.	12,60	3,16	19,75	7,9	5,08	30,74	9,97
4.	6,25	1,15	7,20	5,5	20,03	-	1,41

Одесская 10

1.	100	1,94	12,13	67,9	2,41	4,39	1,55
2.	82,08	1,86	11,63	81,6	0,62	0,69	0,41
3.	10,98	3,20	20,00	8,6	5,05	33,11	10,20
4.	6,94	0,88	5,56	4,9	18,07	-	0,88

Фракционный состав суммарных белков зерна кукурузы, его зародыша
и эндосперма

Таблица 2

Наименование сорта	Общий азот N	Извлеч. азот % от общего	Фракция белкового азота, % от извлеченного									Растворимый в 70% этаноле
			растворимый в воде	в том числе в белк. азот		Растворимый в 0,2% NaCl		в том числе в белк. азот		в том числе в белк. азот		
<u>Цельное зерно</u>												
1. Белая кремнистая 48	1,86	96,5	24,8	19,6	5,2	11,0	9,08	1,92	28,3	25,0	3,3	35,9
2. Вир 42	1,67	89,5	21,8	19,6	2,2	26,3	24,85	1,45	22,1	20,6	1,5	29,8
3. Вир 25	1,97	83,2	27,1	24,4	2,7	15,7	12,2	3,5	27,3	22,6	5,7	29,9
4. Воронежская 76	1,82	93,9	25,2	21,7	3,5	15,8	12,4	3,4	30,5	27,1	3,4	28,4
5. Одесская 10	1,94	89,7	18,7	16,3	2,4	13,1	9,8	3,3	27,1	23,8	3,3	41,1
<u>Зародыш</u>												
1. Белая кремнистая 48	3,15	94,5	84,7	77,8	6,9	8,8	7,2	1,6	5,4	4,8	0,6	1,07
2. Вир 42	2,93	74,0	74,2	58,7	15,5	7,7	6,3	1,4	16,5	12,2	4,3	1,4
3. Вир 25	3,30	95,6	85,8	76,3	9,5	8,5	7,5	1,0	4,7	4,2	0,5	1,0
4. Одесская 10	3,20	98,1	88,9	83,4	5,5	5,4	4,0	1,4	4,7	4,1	0,6	1,0
<u>Эндосперм</u>												
1. Белая кремнистая 48	1,71	96,8	16,1	15,1	1,0	12,7	11,2	1,5	23,6	22,3	1,3	35,7
2. Вир 42	1,56	92,5	14,5	13,3	1,2	21,6	20,3	1,3	11,7	10,2	1,5	61,1
3. Вир 25	1,78	98,2	12,0	11,0	1,0	19,7	16,4	3,3	29,0	27,8	1,2	39,3
4. Воронежская 76	1,63	94,6	19,3	18,1	1,2	24,2	22,8	1,4	22,4	21,0	1,4	33,3
5. Одесская 10	1,86	87,8	12,8	11,7	1,1	21,9	19,5	2,4	24,7	23,5	1,3	30,6

от сорта. Азот фракций выражался в процентах от извлеченного азота.

Результаты исследований фракционного состава белков цельного зерна кукурузы и отдельно его зародыша и эндосперма приведены в табл.2.

В цельном кукурузном зерне на долю спирторастворимых белков (зеина) приходится от 28,4 до 41,1% азота, водорастворимых же (альбуминов) - в пределах от 18,7 до 27,1%. Установленные различия в количественном соотношении отдельных фракций исследуемых образцов являются следствием как их сортовых различий, так и влияния условий выращивания.

Большую часть белков эндосперма составляет спирторастворимая фракция белков - от 30,6 до 61,1% водорастворимой же в эндосперме очень мало - от 12,0 до 19,3%, на долю солерастворимой фракции (глобулинов) приходится от 12,7 до 24,2% и щелочерастворимой (глютелинов) - от 11,7 до 24,7% всех извлекаемых белков эндосперма.

Наибольший интерес представляют данные по фракционному составу белков зародыша. Соотношение отдельных белковых фракций в зародыше, как показывают наши исследования, наиболее благоприятны для их пищевого использования. Из данных эксперимента следует, что водорастворимых белков в зародыше от 74,2 до 88,9%, а спирторастворимых - от 1 до 1,4%. Это свидетельствует о том, что белки зародыша легкоусвояемы организмом, так как они в большей своей части переходят в водный экстракт. Солерастворимых белков содержится в зародыше от 5,4 до 8,8%, а щелочерастворимых - от 4,7 до 16,5%.

В связи с фракционным исследованием зародышевых белков интересно отметить их биологическую роль. Обладая ферментативными функциями, они регулируют процесс обмена веществ на первых стадиях онтогенеза (при прорастании семени). Следовательно, белковые вещества зародышей семян принадлежат к функциональным белкам. Об этом свидетельствуют данные по исследованию ферментативных активностей отдельных белковых фракций цельного зерна, зародыша и эндосперма. Нами исследовалась активность окислительно - восстановительных ферментов - каталазы, пероксидазы и амилолитическая активность.

Таблица 3

Ферментативная активность водорастворимой фракции цельного зерна, его зародыша и эндосперма

Сорт или гибрид кукурузы	Каталаза		Пероксидаза		Амилаза	
	в мл 0,1 н. КМпО ₄	в мг пурпургалина образовавшегося за 5 мин.	в мг пурпургалина образовавшегося за 5 мин.	в мг мальтозы	в мг мальтозы	в мг мальтозы
	в пересчете на 1г сухого вещества					
	цельное зерно	эндосперм	зародыш	цельное зерно	эндосперм	зародыш
Белая кремнистая 48	15,9	13,6	118,2	1,5	1,3	8,2
В и р 42	25,0	12,9	87,2	4,4	1,9	2,5
В и р 25	12,5	7,7	44,1	2,6	1,0	12,8
Воронежская 76	25,4	20,7	66,4	2,0	1,7	3,6
						23,4
						10,0
						8,0
						22,0
						36,0
						12,5

Высокой ферментативной активностью обладают белки водорастворимой фракции, солерастворимые же белки проявляют очень слабую активность, а последующие фракции не проявляют никаких ферментативных свойств. То же наблюдали ранее и другие исследователи (М.И. Иконникова, 1958г).

Активность каталазы выражали в мл. 0,1 н. КМпО₄, последнего на титрование по методу Баха и Опарина.

Активность пероксидазы выражали в мг пурпургалина, образовавшегося за 5 мин. и определенного фотометрическим методом. При этом стандартом служил пурпургалин, полученный нами при действии ферментной вытяжки из хрена на 5%-ный пирогаллол в присутствии 3%-ной перекиси водорода.

Активность амилазы выражали в мг мальтозы, образовавшейся в процессе осахаривания им 2%-ного крахмала в буферном растворе рН = 5,5 при температуре 37°С в течение 1 часа.

В таблице 3 представлены данные, характеризующие ферментативную активность водорастворимой фракции белков.

Белковые вещества эндосперма наряду с тем, что имеют характер резервных веществ, проявляют, как видно из приведенных данных, ферментативные свойства. Это обстоятельство отмечено В.Л. Кретовичем с сотрудниками (1954) показавшими, что "запасные" белки семян растений не являются инертными веществами, а обладают ферментативными свойствами, представляя собою физиологически активные вещества.

Следует указать на высокую ферментативную активность водорастворимых белков зародыша.

Таким образом, результаты наших исследований показывают, что белки зародыша представлены в основном водорастворимыми белками, проявляющими высокую ферментативную активность.

Ш. Состав и свойства альбуминов зародыша кукурузного зерна

В соответствии с целями и задачами исследований нами были выделены альбумины из водорастворимой фракции зародыша путем препаративной обработки, изучен их аминокислотный состав и некоторые физико-химические свойства, а

также установлена их биологическая полноценность. Акцентируя свои исследования на белках зародыша кукурузного зерна, мы задались целью выяснить целесообразность их пищевого использования. Заслуживает внимания возможность их применения в ветеринарной и медицинской клинике.

1. Материалы и методы

Кукурузные зерна вручную освобождали от оболочек, затем отделяли зародыш, измельчали и обезжиривали серным эфиром в аппарате Сокслета.

Обезжиренную зародышевую муку четырехкратно экстрагировали дистиллированной водой на шюттель - аппарате с последующим центрифугированием; вытяжку фильтровали через бумажную мезгу. Из полученной водорастворимой фракции белков выделяли альбумины путем высаливания $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$. При этом для дифференцирования водо- и водосолеустойчивых белков применяли полунасыщенные и насыщенные концентрации сульфата аммония. После двухкратного переосаждения этой солью альбуминовые белки диализировали в коллоидных мешочках против дистиллированной воды до удаления SO_4^{--} . Коллоидные мешки готовили по способу L. Michaelis /Рона, 1934/.

Диализ проводили ультрафильтрацией под вакуумом по методу Воскобойникова Г.В. и Сидоровой Н.Ф. (1965).

Альбумины из замороженного состояния высушивали под вакуумом (лиофилизацией) на заводе бакпрепаратов при институте эпидемиологии и микробиологии им. И.И. Мечникова. Работу по выделению белка производили в зимнее время.

Для хроматографического исследования аминокислотного состава исследуемые альбумины подвергали гидролизу в запаянных ампулах 6-н. соляной кислотой в солевой бане при температуре 105°C в течение разного периода времени: 4, 8, 12, 18 и 24 часа. Эти исследования показали, что оптимальным условием кислотного гидролиза альбуминов является восьмичасовой гидролиз их 6н. HCl при температуре 105°C .

Растворителем служила система н-бутан - ледяная уксусная кислота - вода в соотношении 4:1:5. Хроматограммы ставились в нисходящем направлении, что позволило полу-

чать хорошее разделение исследуемых аминокислот (без перекрытия пятен). Использовалась хроматографическая бумага марки "Б" Ленинградской бумажной фабрики № 2, предварительно промытая 8-оксихинолином по методу Т.С.Пасхиной (1964). После шестикратного пропускания растворителя хроматограммы проявляли вингидрином. Для количественного определения аминокислот элюаты фотометрировали на ФЭКН-57 при светофильтре № 5,536 мкм, в кюветах 3 мм.

Содержание триптофана в альбумине определяли по методу Фишел (Fischl J., 1960), модифицированному А.Ф. Сысоевым (неопубликованные данные).

Вязкость белковых растворов определяли в вискозиметре типа ВК системы Пинкевича с диаметром капилляра 0,8 мм. Исследования проводили при постоянной температуре $23,0^\circ\text{C} \pm 0,05^\circ$. Растворителем был 0,1М раствор NaCl . Изoeлектрическую точку исследуемого белка определяли методом, широко описанным в руководствах по биохимии, основанным на том, что в изоэлектрической точке белки наименее стойки и легко коагулируют.

Для ферментативного гидролиза альбуминов нами был приготовлен ферментный препарат из свиной поджелудочной железы по методу Т.И. Голубева (1960). Гидролиз проводил при температуре $37,0^\circ\text{C} \pm 0,05^\circ$ в течение трех суток. По окончании переваривания неочищенный гидролизат белка нагревали при 100°C в течение 15 мин., в результате чего полностью удалялись антисептики и инактивировались ферменты. При этом вследствие коагуляции и осаждения растворимых белков гидролизат стал более прозрачным. Отцентрифугировав, белковый гидролизат подвергли холодной стерилизации путем фильтрации (дважды) через асбестоцеллюлозную пластинку, так называемый стерилизующий фильтр ("СФ"), при помощи аппарата Зейца в стерильных условиях (в боксе) и разлили в стеклянные ампулы на 30 мл. Запаянные ампулы подвергли кипячению. Для проверки на стерильность препараты в ампулах выдерживали в термостате 4 дня. Критерием к положительной оценке служила при этом полная прозрачность гидролизата.

Физиологические исследования ставились на животных, подопытными были белые мыши, морские свинки и кролики.

Для определения первичной токсичности препарата были взяты 30 белых мышей, каждая весом 20-25 г. Белковый гидролизат им вводили внутривенно в хвостовую вену по 0,5 мл. Для расширения вены, хвост мыши предварительно на 5 мин. опускали в теплую воду (37°C).

Пирогенные свойства проверялись на 3 кроликах-самках, весом от 2,7 до 3,0 кг. Исходная температура устанавливалась в предшествующие опыту пять суток. Препарат в объеме 10 мл вводили в ушную вену кролика. Температуру тела подопытных животных измеряли на протяжении 5 часов (через каждый час).

Исследования анафилактической реакции белкового гидролизата проводили на 6 морских свинок. С целью их sensibilization под кожу морским свинкам вводили испытуемый раствор из расчета содержания в нем азотистых веществ, соответствующих 0,02 г. белка. В срок наивысшей sensibilization организма, на четырнадцатый день в яремную вену морских свинок вводили разрешающую дозу препарата.

Исследования проводились при строгом соблюдении требований, необходимых для апробации лечебных препаратов, предназначенных для инъекций.

2. Аминокислотная характеристика альбуминов зародыша кукурузного зерна.

С целью оценки полноценности исследуемых белков мы установили их аминокислотный состав.

Mitchell H.H. а. Block R.I. /1946/ показали связь между аминокислотным составом белков и их питательной ценностью. Многие исследователи при обсуждении потребности человека в аминокислотах для поддержания азотистого баланса указывают, что питательная ценность белков определяется главным образом фракцией незаменимых аминокислот.

В исследуемых альбуминах нами были идентифицированы следующие аминокислоты: цистин, лизин, гистидин, аспарагиновая кислота, треонин, аланин, тирозин, метионин, валин, фенилаланин, изолейцин + лейцин и определено содержание триптофана. В таблице 4 приводим данные по содержанию аминокислот в препаратах белка, выделенных из зародыша четырех сортов и гибридов кукурузного зерна.

Таблица 4

Аминокислотный состав альбуминов зародышей кукурузного зерна
/ мг аминокислот в 100 мг сухого белка /

Аминокислоты	Белая кремнис- тая 48	Вир 42	Вир 25	Воронежская 76
Цистин	6,3	следы	следы	следы
Лизин	3,3	2,9	1,6	2,6
Гистидин	17,4	1,5	следы	6,8
Аргинин	6,4	9,2	4,2	5,5
Аспарагиновая кислота	19,1	10,9	17,1	12,7
Серин	следы	следы	2,4	2,9
Глутаминовая кислота	7,4	8,3	9,6	6,8
Треонин	3,1	5,4	следы	2,3
Аланин	7,0	8,4	7,5	8,7
Тирозин	1,6	18,7	20,5	11,5
Триптофан	7,4	6,5	7,4	5,9
Метионин	5,1	4,8	5,1	следы
Валин	следы	5,1	следы	4,0
Фенилаланин	6,7	следы	15,6	следы
Изолейцин + лейцин	8,1	14,4	следы	13,3
	99,4	86,1	91,0	83,0

Из представленных результатов следует, что белки зародыша богаты незаменимыми аминокислотами: они содержат много гистидина, треонина, тирозина, триптофана, метионина, фенилаланина и изолейцин + лейцина.

3. Вязкостный эффект и изоэлектрическая точка альбуминов

Вязкость белковых растворов зависит от ряда факторов: молекулярного веса, формы молекулы и концентрации раствора.

Нами были определены кинематическая вязкость V , относительная вязкость V/V_0 , удельная вязкость и поправка на кинематическую энергию K/t при концентрации белковых растворов от 0,4 до 2% в 0,1M солевом растворе. Результаты исследования показывают, что с увеличением концентрации белкового раствора возрастают кинематическая вязкость, относительная вязкость и удельная вязкость. На основе этих данных мы вычислили логарифмические числа вязкости $\ln V_0/C$ и установили предельное число вязкости ПЧВ. Установлено, что при минимальной концентрации белкового раствора $C_{\text{мин}} = 0,004$ г/мл, логарифмическое число вязкости равняется 5,627; а при максимальной концентрации $C_{\text{макс}} = 0,019$ г/мл $\ln \frac{V}{V_0} / C$ равно 7,980.

Результаты исследований приведены графически на рис.1, где дана зависимость логарифмического числа вязкости от концентрации раствора, выражающаяся уравнением

$$\frac{\ln \frac{V}{V_0}}{C} = f(C)$$

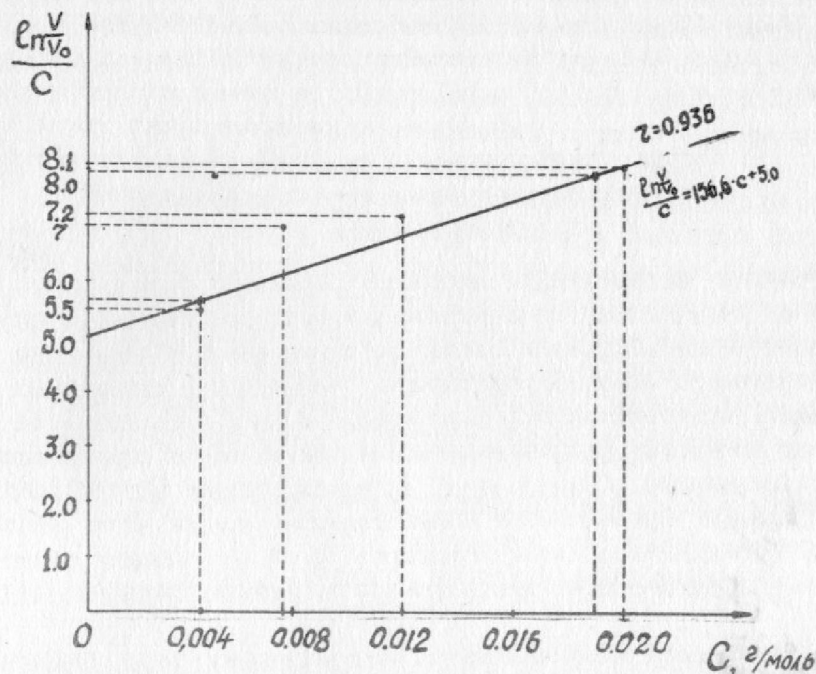


Рис. 1.

Зависимость логарифмического числа вязкости от концентрации раствора альбуминов зародыша кукурузного зерна

Экстраполяцией к нулевой концентрации белка нашли предельное число вязкости. На графике ПЧВ представлено как отрезок на оси $\ln V_0/C$, отсекаемый прямой, которая отвечает уравнению:

$$\frac{\ln \frac{V}{V_0}}{C} = 156,6 \cdot C + 5,0$$

Зная предельное число вязкости альбуминов (ПЧВ=5), можно косвенно судить об относительных размерах их молекул, которые имеют небольшие размеры, следовательно молекулярные веса альбуминов должны быть невысокими.

Изоэлектрическую точку характеризовали реакцией белкового раствора на среду с различным рН. Проверяли оптическую плотность и устанавливали максимальное помутнение, соответствующее изоэлектрической точке исследуемого белка - рН=5,0

4. Оценка биологической полноценности альбуминов зародыша и рекомендации их использования

При оценке питательной ценности пищевого белка часто исходят из процентных отклонений содержания незаменимых аминокислот в исследуемом белке по сравнению с белками цельного куриного яйца. Потребность человека в отдельных незаменимых аминокислотах определена в рекомендациях по азотистому питанию, разработанных Комитетом по продовольствию и земледелию /Food and Agriculture Organization, 1953/ при Организации Объединенных наций. Эти рекомендации, носящие название стандарта ФАО, позволяют контролировать биологическую полноценность белков пищевых продуктов.

С целью оценки полноценности исследуемых нами белков приводим сравнительные данные в табл. 5, где содержание аминокислот выражено в мг на 1г азота. Из этого сравнения видно, что альбумины зародыша по содержанию незаменимых аминокислот могут равняться цельному яйцу и значительно превышают стандарт ФАО.

Таблица 5

Аминокислоты	Цельное яйцо	Стандарт ФАО	Альбумины кукурузного зародыша
1. Изолейцин	398	270	960
2. Лейцин	563	305	360
3. Лизин	381	270	198
4. Метионин + цистин	344	270	320
5. Фенилаланин + тирозин	638	360	1246
6. Треонин	306	180	360
7. Триптофан	69	90	433
8. Валин	437	270	340

Это свидетельствует о том, что альбумины зародыша кукурузного зерна могут удовлетворять потребность организма человека в незаменимых аминокислотах. Альбумины зародыша кукурузного зерна представляют собой легкую порошкообразную массу белого цвета с содержанием до 8% влаги и 15% азота. По вкусу они напоминают альбумины куриного яйца и очень быстро тают во рту.

Данные о высоком процентном содержании альбуминов в зародыше, их легкой гидролизуемости и высокой биологической полноценности дали нам основание рекомендовать их для использования в парентеральном азотистом питании. Кроме того, как полноценный белковый препарат можно их рекомендовать для энтерального лечебного питания, а также в некоторых особых случаях /в питании космонавтов и геологов/ для поддержания азотистого баланса организма.

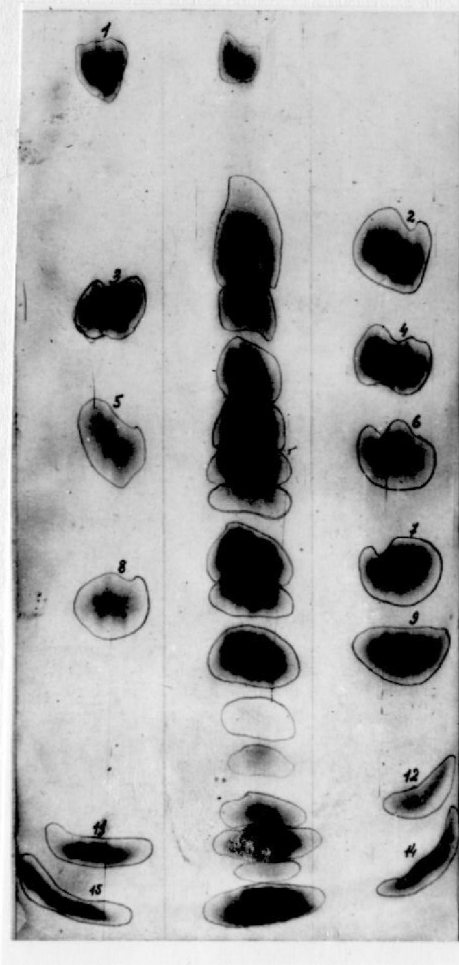
5. Ферментативный гидролизат альбуминов кукурузного зародыша, его аминокислотный состав и некоторые физиологические свойства

Мы задались целью в пределах наших возможностей выяснить пригодность белкового препарата из зародыша кукурузного зерна для парентерального азотистого питания. Для решения этого вопроса мы выделили альбумины из производственных образцов кукурузного зародыша, поступающих на Одесский завод косточковых масел. Предварительно зародышевый продукт мы измельчали и экстрагировали сухим серным эфиром. Из обезжиренной зародышевой муки получали альбумины изложенным выше методом. Затем подвергали их перевариванию ферментами поджелудочной железы, обладающими высокой протеолитической активностью. Приготовленный гидролизат после холодной стерилизации расфасовывали в ампулы. Готовый препарат имел светло-соломенный цвет.

Аминокислотный состав белкового гидролизата проверялся нами хроматографическим разделением при многократном повторном пропускании растворителя ранее указанной системы.

✓ 017815
ОНАХТ
БИБЛИОТЕКА

~~2165~~
Одесский технологический институт
ул. М. В. Водяникова



- 1 - цистин
- 2 - лизин
- 3 - гистидин
- 4 - аргинин
- 5 - аспарагиновая кислота
- 6 - серин
- 7 - глутаминовая кислота
- 8 - треонин
- 9 - аланин
- 10 - тирозин
- 11 - триптофан
- 12 - метионин
- 13 - валин
- 14 - фенилаланин
- 15 - лейцин + изолейцин
- 16 - лейцин + изолейцин

Рис. 2.

Разделение гидролизата альбуминов кукурузного зародыша.

На левой и правой стороне хроматограммы - разделение модельных аминокислот /свидетелей/.

Растворитель пропускали 6 раз.

На рис. 2 приведена хроматограмма исследуемого белкового гидролизата, обработанная нингидрином. Нами были идентифицированы 15 аминокислот. Лейцин и изолейцин представлялись одним пятном. Количественная характеристика аминокислотного состава гидролизата представлена в табл.6.

Таблица 6

Аминокислоты	Концентрация аминокислот в мг% / N = 0,168г в 100 мл/
1. Цистин	182,4
2. Лизин	108,6
3. Гистидин	106,9
4. Аргинин	117,6
5. Аспарагиновая кислота	72,9
6. Серин	60,9
7. Глутаминовая кислота	279,3
8. Треонин	47,6
9. Аланин	169,1
10. Тирозин	61,2
11. Триптофан	88,4
12. Метионин	29,8
13. Валин	65,5
14. Фенилаланин	60,4
15. Изолейцин + лейцин	170,3

Как видно из таблицы в гидролизате содержится полный набор незаменимых аминокислот. Обращает на себя внимание равномерность их содержания.

Белки являются веществами, обмен которых лежит в основе всех жизненных процессов организма. Недостаточность белка в питании вызывает серьезные нарушения в организме: возникают глубокие изменения в печени, нарушается деятельность некоторых желез внутренней секреции /щитовидных, половых/, изменяется белковый состав крови, снижаются иммунобиологические свойства организма, повышается чувстви-

тельность к инфекционным заболеваниям и пр. / Я.О. Парнас, 1947; Ю.М. Гефтер, 1949; С.Я. Капланский, 1949; Сэгьюн, 1954/. При ряде заболеваний, когда оральное питание является невозможным или противопоказанным, для предотвращения белковой недостаточности применяют парентеральное азотистое питание. В настоящее время с этой целью используется изогенная кровь и отдельные ее составные части — плазма, альбумины, гетерогенные плазменные белки, видово-неспецифическая сыворотка; гидролизаты различных белков и смеси кристаллических аминокислот / R. Elman, 1948; Н.Г. Беленький, 1950; И.Р. Петров; Л.Г. Богомолова, З.А. Чаплыгина, 1952; Калмыков и Т.И. Голубев, 1956/.

Практикуется использование белков растительного происхождения, с успехом заменяющих догоростоящие сыворотку и плазму человеческой крови. В частности, применяют аминокоррастин / Т.В. Знаменская, 1965/, представляющий собой гидролизат из белков семян фасоли. Важным преимуществом белков растительного происхождения является их дешевизна и широкое распространение.

Нами вычислено процентное соотношение между количеством отдельных аминокислот в исследуемом гидролизате и проведено сравнение с таковым в сыворотке крови здорового человека (по данным Харатьян А.М., Фейгин Г.А., 1965).

Результаты расчета графически представлены на рис.3.

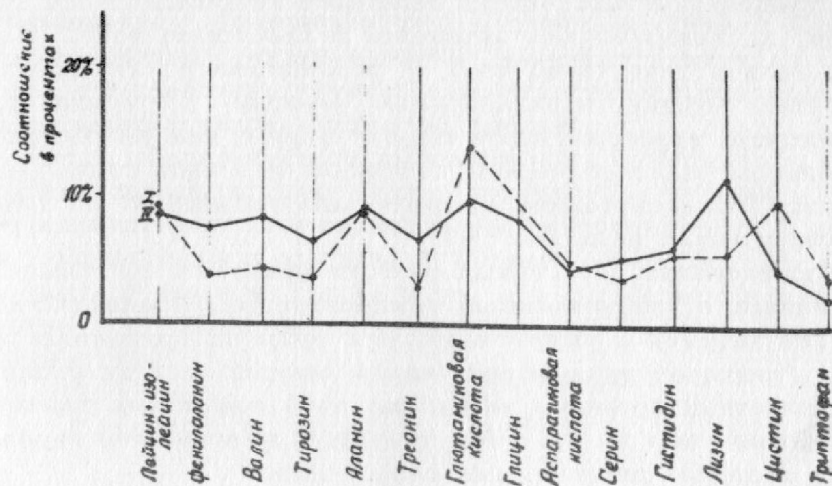


Рис. 3. Процентное соотношение между аминокислотами содержащими в исследуемом белковом гидролизате из зародышей кукурузного зерна, и аминокислотами, находящимися в свободном состоянии в сыворотке крови здорового человека / условно суммарное содержание аминокислот принято за 100% /

I — гидролизат альбуминов кукурузных зародышей,
II — сыворотка крови здорового человека

Анализ диаграммы показывает, что соотношение отдельных аминокислот в исследуемом гидролизате и в сыворотке крови здорового человека отличаются не намного. Такие расхождения допустимы при использовании белковых гидролизатов для парентерального азотистого питания.

Физиологические опыты нами ставились на животных с целью выяснения токсичности, пирогенного действия и анафи-

лактической реакции испытуемого гидролизата.

Определение токсичности белкового гидролизата мы производили на белых мышах инъекцией в хвостовую вену. Наблюдения вели в течение 40 дней. У подопытных не наблюдалось каких-либо общих отрицательных реакций /похудение, потеря аппетита, взъерошенность шерсти и др./, они находились в нормальном физиологическом состоянии и скоро стали размножаться. Следовательно, испытуемый гидролизат не содержал токсических веществ.

Исследования пирогенных свойств препарата производили на кроликах с установленными температурами. Препарат гидролизата вводили в ушную вену. При этом на протяжении пяти часов /температуру измеряли через каждый час/ ни у одного из подопытных кроликов не наблюдалось повышения температуры более чем на $0,3^{\circ}$. Мы пришли к выводу, что гидролизат не обладает пирогенными свойствами.

Анафилактическая реакция исследуемого гидролизата испытывалась на морских свинках, сенсibilизированных этим же препаратом. Повторная инъекция разрешающей дозы гидролизата в яремную вену животных не вызвала анафилактического шока.

Животные продолжали находиться в нормальном физиологическом состоянии, вплоть до размножения. Из этого следует, что испытуемый белковый гидролизат не обладает анафилактическими свойствами.

Данные экспериментальных исследований дают основание говорить о безвредности в физиологическом отношении испытуемого белкового гидролизата при его парентеральном введении.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Обобщая изложенное, следует отметить, что в зародыше кукурузного зерна содержится около 20% белков, которые в основном представлены водорастворимыми белками /75-80%/, проявляющими высокую ферментативную активность. Нами было установлено, что альбумины, выделенные из водорастворимой фракции зародыша, обладают легкой гидролизруемостью, по содержанию незаменимых аминокислот не уступают яйцу и значительно превышают стандарт ФАО, имеют низкое ПЧВ (5). Следовательно, альбумины представляют собой низкомолекуляр-

ные белки, отличающиеся высокой биологической полноценностью. Как показывают наши исследования, ферментативный гидролизат альбуминов не проявляет пирогенных действий, не обладает анафилактическими свойствами и не токсичен, что свидетельствует о возможности его использования в парентеральном азотистом питании.

Таким образом, из изложенного ясна возможность использования в пищевых целях белков кукурузного зародыша. При этом важным фактором является распространенность и дешевизна зародышевого продукта (1 тонна стоит 58 руб). Преимуществом является также и то, что сырье не обладает сезонностью, обезжиренный зародышевый продукт может долго храниться.

ВЫВОДЫ

1. Установлено при исследовании химического состава цельного зерна и его отдельных анатомических частей разных сортов и гибридов кукурузы (Белая Кремнистая 48, Вир 42, Вир 25, Воронежская 76 и Одесская 10), что в зародыше содержится от 19 до 21% белка.

2. Изучен фракционный состав цельного зерна, зародыша и эндосперма, который показывает их качественные различия:

а) в зародыше преимущественно преобладают водорастворимые белки - от 74 до 83%;

б) большая часть белков эндосперма приходится на зерновую фракцию - от 30 до 61%.

Как показывают наши исследования, соотношение отдельных белковых фракций в зародыше наиболее благоприятно для пищевого их использования, так как они в большей части переходят в водный экстракт.

3. Выделены альбумины из водорастворимой фракции белков зародыша, определены их вязкостные характеристики и изоэлектрическая точка.

Хроматографическим методом исследован их аминокислотный состав.

4. В результате исследования кинетики кислотного гидролиза альбуминов установлены оптимальные условия их гид-

ролиза 8 - часовой кислотный гидролиз в н.НСI при температуре 105°C. Следовательно, альбумины относятся к легкогидролизуемым белкам и поэтому легкоусвояемым человеческим организмом.

5. Из данных вязкостной характеристики (ПЧВ = 5) и легкой гидролизуемости (8 - часовой) следует, что размеры молекул альбуминов небольшие.

6. Альбумины содержат в достаточном количестве незаменимые аминокислоты: гистидин - до 17,4%, тирозин - до 20,5%, триптофан - до 7,4%, метионин - до 5,1%, фенилаланин - до 15,6%, изолейцин + лейцин - до 14,4%.

7. Сравнение аминокислотного состава альбуминов зародыша кукурузного зерна с таковым цельного куриного яйца и со стандартом ФАО показывает, что исследуемые белки не уступают цельному яйцу и превышают стандарт ФАО по некоторым незаменимым аминокислотам в полтора-два раза.

8. Был приготовлен ферментативный гидролизат альбуминов зародыша для выяснения возможности использования его в парентеральном питании.

9. Сравнение соотношения отдельных аминокислот в исследуемом гидролизате и в сыворотке крови здорового человека показывает, что имеющиеся при этом расхождения являются допустимыми при парентеральном введении белковых гидролизатов.

10. Физиологическими исследованиями на лабораторных животных установлено, что ферментативный гидролизат альбуминов зародыша кукурузного зерна не обладает антигенными свойствами, не оказывает пирогенного действия и не токсичен.

11. Предлагаемый нами белковый гидролизат с экономической точки зрения выгоднее гидролизатов животного происхождения (стоимость его в десятки раз дешевле).

12. Решение поставленных задач направлено на совершенствование комплексной технологической переработки кукурузного зерна, когда из зародышевого продукта следует получать не только масло, но и ценный по набору аминокислот белковый гидролизат.

По материалам диссертационной работы опубликовано:

1. Фракционный состав белков некоторых сортов и гибридов кукурузы. "Известия высших учебных заведений. Пищевая технология", № 1, 1966.

2. Фракционный и аминокислотный состав белков кукурузного зерна. XXУП научная конференция Одесского технологического института им. М.В. Ломоносова (тезисы докладов). Одесса, 1965.

3. Ферментативная активность белковых веществ кукурузного зародыша. Первый Украинский биохимический съезд (тезисы докладов). Черновцы, 1965.

Неопубликованные материалы диссертации зафиксированы за № 1026609/31-16 "Препарат для парентерального азотистого питания", от 30.XI.1965г. и № 1063671/30-15 "Способ оценки степени облучения γ - радиацией зернопродукта" от 8.IV.1966 г. в Госкомитете по делам изобретений и открытий СССР.

По вопросам, рассматриваемым в диссертации, автором сделаны доклады:

1. На XXУI и XXУП научных конференциях профессорско-преподавательского состава Одесского технологического института им. М.В. Ломоносова, Одесса, 1964 и 1965.

2. На заседании Одесского отделения Всесоюзного Биохимического общества АН СССР, сентябрь 1967 г.