

Автор ер.
В 48

МИНИСТЕРСТВО ВЫСШЕГО И СРЕДНЕГО СПЕЦИАЛЬНОГО ОБРАЗОВАНИЯ
У С С Р
ОДЕССКИЙ ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЙ ИНСТИТУТ ПИЩЕВОЙ ПРОМЫШЛЕННОСТИ
ИМЕНИ М.В. Ломоносова

На правах рукописи

ВИННИКОВА ЛЮДМИЛА ГРИГОРЬЕВНА

БИОХИМИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА БЕЛКОВЫХ ГИДРОЛИЗАТОВ
И ИХ ПРИМЕНЕНИЕ

/03.00.04. - биохимия/

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

Одесса - 1973 г.

МИНИСТЕРСТВО ВЫСШЕГО И СРЕДНЕГО СПЕЦИАЛЬНОГО ОБРАЗОВАНИЯ
У С С Р
ОДЕССКИЙ ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЙ ИНСТИТУТ ПИЩЕВОЙ ПРОМЫШЛЕННОСТИ
имени М.В.Ломоносова

На правах рукописи

ВИННИКОВА ЛЮДМИЛА ГРИГОРЬЕВНА

БИОХИМИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА БЕЛКОВЫХ ГИДРОЛИЗАТОР
И ИХ ПРИМЕНЕНИЕ

/03.00.04. - биохимия/

Переучет 19, 87 г.

Ф. В. 012 185

Одесский технологический
институт пищевой промыш-
ленности М. В. Ломоносова
Б И Б Л И О Т Е К А

А в т о р е ф е р а т

диссертации на соискание ученой степени кандидата
технических наук

Одесса - 1973 г.

ОНАХТ 05.07.11

Биохимическая характ



v012185

Работа выполнена в Одесском технологическом институте пищевой промышленности им. М. В. Ломоносова (кафедра биохимии и микробиологии), на Одесском консервном комбинате.

Научные руководители - доктор технических наук,

профессор А. Т. Марх

доктор технических наук

профессор А. Л. Фельдман

Официальные оппоненты - член-корреспондент Академии наук МССР

доктор биологических наук,

профессор В. Г. Клименко

кандидат технических наук,

доцент Е. Г. Кротов

Ведущее предприятие - Украинский научно-исследовательский институт консервной промышленности.

Автореферат разослан "22" мая 1973 г.

Защита диссертации состоится "29" июня 1973 г.
на заседании Совета Одесского технологического института пищевой промышленности имени М. В. Ломоносова, г. Одесса, ул. Свердлова, 112.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке института.

Отзыв на автореферат в двух экземплярах, заверенный печатью учреждения, просим направлять в Совет института по адресу:
г. Одесса, 270039, ул. Свердлова, 112.

Ученый секретарь Совета

Л. А. Запорожец

Партия и правительство уделяют большое внимание вопросам улучшения благосостояния советского народа. XXIV съезд КПСС поставил перед работниками пищевой промышленности задачу повысить качество, расширить ассортимент, улучшить питательную ценность и вкусовые достоинства продуктов питания. Производство продукции должно развиваться с учетом ее биологической ценности, необходимой для нормального роста и развития человеческого организма. Особая роль отводится основным пищевым веществам — белкам, потребность в которых еще полностью не обеспечена.

Одним из наиболее перспективных путей уменьшения дефицита белка является сбалансирование аминокислотного состава пищевых продуктов путем введения в них недостающих аминокислот. В связи с этим, особое значение приобретают белковые гидролизаты, вырабатываемые из доступных дополнительных источников белков. В Советском Союзе, а также за рубежом, организовано промышленное производство белковых гидролизатов и проводятся исследования по разработке новых их видов. Гидролизаты апробированы и применяются в качестве добавок к овощным, овощекрупяным, крупяным изделиям и концентратам. Однако, сведения о химическом составе белковых гидролизатов весьма ограничены, в связи с чем разработка обогащенных ими продуктов проводится, главным образом, на эмпирической основе. Отсутствие данных о природе свойственного гидролизатам специфического аромата ограничивает область применения и не позволяет использовать их в значительных количествах.

Эти вопросы легли в основу нашей работы, цель которой — биохимическое исследование белковых гидролизатов отечественного производства из растительного и микробиологического сырья.

Одновременно была поставлена задача изучить возможность применения белковых гидролизатов и некоторых вырабатываемых аминокислот в качестве добавок к овощным консервам, производство которых непрерывно растет. Отличаясь высоким содержанием углеводов, жира, минеральных веществ, витаминов, овощные консервы бедны азотистыми веществами. Обогащение консервов белковыми добавками является актуальным в решении задачи увеличения ассортимента продуктов с повышенной биологической ценностью.

Содержание диссертации изложено на 192 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, экспериментальной части / 4 главы / и выводов.

В работе имеется 27 таблиц и 27 рисунков. Список цитированной литературы включает 183 наименования - 131 на русском, 52 на иностранных языках.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Организация работы и методы исследования

Для исследования были взяты три вида соевых гидролизатов: ферментативный, производства Одесского комбината пищевых концентратов, полученный из сои с помощью гриба *Asp. oryzae*; кислотный, производства Серпуховского комбината пищевых концентратов, вырабатываемый путем гидролиза соевого шрота соляной кислотой (сгущенный гидролизат называется "белковая паста");

ферментативный, под условным названием СД-1, полученный во Всесоюзном научно-исследовательском институте консервной и овощесушильной промышленности по разработанной технологии - гидролиз сое-

вого шрота, содержащего менее 1% жира, проводится комплексными ферментными препаратами, выделенными из культур *Asp. oryzae* и *Asp. terreicola*.

Исследовали также гидролизаты из кукурузного глютена, опытные партии которого получены кислотным способом во ВНИИ Синтез-белок. Для гидролиза дрожжей *Torula* используется протеолитический препарат "Оризин ПК". С 1972 года дрожжевой гидролизат вырабатывают на Пятигорской кондитерской фабрике.

Отбор образцов для анализа производили 3 раза в год, вес каждого - 2 кг.

Изучение возможности применения всех видов исследуемых гидролизатов, а также лимитирующих аминокислот - метионина и лизина в качестве белковых добавок, проводили с овощными консервами 7 наименований: "Перец резаный с фаршем в томатном соусе", "Баклажаны нарезанные кружками с овощной смесью", "Икра кабачковая", "Икра баклажанная", соус томатный "Острый", рагу овощное "Личное", "Кабачки нарезанные кружками в томатном соусе". Консервы вырабатывали на Одесском консервном комбинате. Установленные в лабораторных условиях добавки вносили в томатный соус (заливку). При этом изменяли рецептуру томатного соуса, учитывая внесенное с гидролизатами количество поваренной соли. Все остальные технологические операции проводили согласно инструкции. Исследовали химический состав 49 различных партий консервов. Часть образцов закладывали на хранение при температуре 18⁰С и анализировали через 3-6-9 месяцев.

Общепринятыми методами определяли сухие вещества, титруемую кислотность, рН, жир, золу, хлористый натрий, сахара, общий и белковый азот, витамины В₁ и В₂. При исследовании минерального состава был использован метод спектрального анализа, витамина В₃ -

микробиологический метод. Аминный азот определяли нингидриновым методом Мутинга и Кайзера, пептидный азот - по методике В.Г.Клименко, аммиачный - по методу Конвея, аминокислоты - методом хроматографии на бумаге, количественно - по В.Л.Кротовичу и И.В.Успенской. Показатель цветности устанавливали путем измерения экстинкции водно-спиртового экстракта на ФЭК. Нелетучие органические кислоты разделяли с помощью хроматографии на бумаге по методу С.П.Авакянца, полифенольные соединения - хроматографически по методике Т.А.Шуберт. Разделение летучих веществ гидролизатов проводили методом газо-жидкостной хроматографии, используя методику, разработанную в Молдавском научно-исследовательском институте пищевой промышленности, подготовку проб проводили по методике А.К.Родопуло. Левулиновую кислоту определяли по методике В.М.Резникова, мальтол - по методу Поттер и Паттона.

БИОХИМИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА БЕЛКОВЫХ ГИДРОЛИЗАТОВ

Азотистые компоненты являются наиболее важными веществами белковых гидролизатов с точки зрения их пищевой ценности. Общее содержание азотистых веществ соевых гидролизатов, независимо от способа получения ниже (4,7-5,35% на сухую массу), чем у дрожжевого и глютенового - 8,1%. Основная часть азотистых соединений всех видов гидролизатов представлена аминным и пептидным азотом, причем способ производства существенно влияет на распределение форм азота. В кислотном гидролизате из соевого шрота 75% от общего азота приходится на аминокислотный азот, содержание белкового и пептидного азота незначительно - 2,8% и 6,6% от общего азота соответственно. В гидролизатах из сои и дрожжей, получен-

ных ферментативным способом, количество аминного азота почти на одном уровне и составляет 52,9–58,0% от общего азота, на долю пептидного азота приходится 16,3–21,0%.

Биологическая ценность белковых гидролизатов обусловлена, главным образом, высоким содержанием в них свободных аминокислот. Сравнительное исследование показало, что они имеют почти одинаковый состав свободных аминокислот, в число которых входят: цистин, цистеин, гистидин, лизин, аргинин, аспарагиновая кислота, серин, глутаминовая кислота, треонин, аланин, пролин, тирозин, α -аминомасляная кислота, метионин, валин, фенилаланин, лейцин, изолейцин. В ферментативном гидролизате из сои обнаружен оксипролин.

Данные количественного определения свидетельствуют о том, что гидролизаты растительного происхождения уступают дрожжевому по общему содержанию аминокислот, в том числе некоторых незаменимых — лейцина, изолейцина, валина, фенилаланина и, что особенно важно — лизина, в связи с его недостатком в других гидролизатах (табл. I). В то же время дрожжевой гидролизат лимитирован по треонину и метионину. Соевые гидролизаты, независимо от способа получения, являются хорошими источниками валина, фенилаланина, лейцина и изолейцина, но бедны серусодержащими аминокислотами. При кислотном гидролизе обнаружено больше лизина, аргинина, треонина, метионина, по сравнению с ферментативными гидролизатами, но меньше цистин + цистеина, аспарагиновой кислоты, глицина, аланина.

Азотистые вещества влияют и на вкусовые особенности пищевых продуктов, некоторые пептиды, в частности, могут быть носителями горького вкуса. Исследование аминокислот, находящихся в связанном состоянии, показало значительное увеличение при обработке HCl аспарагиновой и глутаминовой кислот, лизина, глицина, валина, фе-

АМИНОКИСЛОТНЫЙ СОСТАВ БЕЛКОВЫХ ГИДРОЛИЗАТОВ

(мг% на сухую массу)

Таблица I

№ п/п	АМИНОКИСЛОТЫ	Фермен- татив- ный гид- ролизат из сок щроты	Кислот- ный гид- ролизат из сое- вого щрота	Фермен- татив- ный гид- ролизат СЛ-I	Фермен- татив- ный гид- ролизат из дрож- жей	Кислотный гидроли- зат из глютена
1.	Цистин + цистеин	165	120	421	242	следы
2.	Гистидин	39	32	547	221	33
3.	Лизин	216	557	335	765	277
4.	Аргинин	120	500	481	232	63
5.	Аспарагиновая кислота	576	283	525	1135	146
6.	Серин	336	359	618	108	18
7.	Глицин	405	207	668	522	19
8.	Глутаминовая кислота	1107	630	618	1103	60
9.	Треонин	171	378	340	99	18
10.	Аланин	1062	264	402	717	47
11.	Тирозин	36	179	378	167	79
12.	ω-аминомасляная кислота	9	83	93	659	17
13.	Метионин	45	199	132	135	58
14.	Валин	492			723	61
			650	358		
15.	Фенилаланин	180			923	91
16.	Лейцин + изолейцин	552	723	734	1635	311

нилаланина, лейцина и изолейцина. Четыре последние аминокислоты входят в состав "горьких" пептидов, причем лейцин отмечается в литературных источниках, как концевая аминокислота. Преобладание в гидролизатах "горьких" пептидов должно оказывать отрицательное воздействие на их вкусовые свойства, по-видимому, особенно сильное у дрожжевого гидролизата, в котором обнаружено наибольшее количество валина, фенилаланина, лейцина и изолейцина в связанном состоянии.

Наряду с азотсодержащими соединениями, биологическую ценность гидролизатов определяют витамины, минеральные вещества, органические кислоты, фенольные соединения. В связи с тем, что эти компоненты гидролизатов почти не изучены, исследование их представляет интерес.

В белковых гидролизатах определяли витамины B_1 , B_2 и B_3 . Богатым источником этих витаминов, как и можно было ожидать, является дрожжевой гидролизат, в котором содержится 2,06 мг% (на сухую массу) тиамин, 3,91 мг% рибофлавина, 22 мг% пантотеновой кислоты. Количество витаминов в соевых гидролизатах меньше: тиамин 0,120-0,164 мг%, рибофлавин 1,47-3,62 мг%, пантотеновой кислоты 2,1-3,2 мг% на сухую массу. В кислотном гидролизате из соевого шрота пантотеновая кислота не обнаружена, что вызвано разрушением ее при гидролизе. Наименьшим содержанием витаминов группы В отличается гидролизат из кукурузного глютена - 0,028-1,03 мг%.

Изучен минеральный состав гидролизатов. Количественно определены магний, марганец, кремний, железо, алюминий, титан и медь (табл.2). Установлено значительное количество таких особо важных макроэлементов, как магний и железо. Высоким содержанием их отличаются кислотный и ферментативный соевые гидролизаты. Наличие в

Содержание микро- и макроэлементов в белковых гидролизатах

Таблица 2

	Магний		Марганец		Кремний		Железо		Алюминий		Титан		Медь	
	в золе %	про- дук- те мг%	в золе %	про- дук- те мг%	в золе %	про- дук- те мг%	в золе %	про- дук- те мг%	в золе %	про- дук- те мг%	в золе %	про- дук- те мг%	в золе %	про- дук- те мг%
Ферментатив- ный гидроли- зат из соев	1,2	370	$1 \cdot 10^{-2}$	$3,15$	$3,6 \cdot 10^{-2}$	$11,3$	$1,6 \cdot 10^{-1}$	$50,4$	$7,4 \cdot 10^{-3}$	$2,3$	$2 \cdot 10^{-3}$	$0,63$	$1,5 \cdot 10^{-3}$	$0,472$
Кислотный гидролизат из соевого молочка	1,5	700	$4,4 \cdot 10^{-2}$	$10,5$	$1,25 \cdot 10^{-1}$	$58,4$	$8 \cdot 10^{-2}$	$37,3$	$1,7 \cdot 10^{-3}$	$6,5$	$2 \cdot 10^{-3}$	$0,65$	$1,8 \cdot 10^{-3}$	$0,680$
Ферментатив- ный гидроли- зат из соево- го шрота	1,7	295	$1,1 \cdot 10^{-2}$	$1,93$	$1,25 \cdot 10^{-1}$	$12,0$	$7 \cdot 10^{-2}$	$12,3$	$2,7 \cdot 10^{-2}$	$4,6$	$2 \cdot 10^{-3}$	$0,35$	$1,7 \cdot 10^{-3}$	$0,299$
Ферментатив- ный гидроли- зат из дрож- вей	1,4	212	$1,6 \cdot 10^{-2}$	$2,43$	$2,2 \cdot 10^{-1}$	$33,4$	$1 \cdot 10^{-1}$	$15,2$	$2,6 \cdot 10^{-2}$	$4,2$	$2 \cdot 10^{-3}$	$0,30$	$1,5 \cdot 10^{-3}$	$0,182$
Кислотный гидролизат из кукурузно- го глютена	$2,8 \cdot 10^{-1}$	103	$3,4 \cdot 10^{-2}$	$12,4$	$9,6 \cdot 10^{-2}$	$31,8$	$2 \cdot 10^{-2}$	$74,0$	$2 \cdot 10^{-3}$	$0,74$	$2 \cdot 10^{-3}$	$0,74$	$2,1 \cdot 10^{-3}$	$0,840$

гидролизатах микроэлементов — марганца, титана, меди, дефицит которых в рационе установлен в настоящее время, повышает ценность их минерального состава.

Методом распределительной хроматографии на бумаге были определены нелетучие органические кислоты, играющие важную роль в процессах обмена веществ. В гидролизатах обнаружены щавелевая, лимонная, молочная, яблочная, винная, фумаровая кислоты и несколько неидентифицированных соединений. Результаты количественного определения представлены в таблице 3.

Таблица 3.

Органические кислоты белковых гидролизатов
(мг% на сухую массу)

	Лимонная	Винная	Молочная	Яблочная
С о я	1,443	0	0,149	0,121
Кислотный гидролизат из соевого шрота	0,364	0,542	0,773	0,127
Ферментативный гидролизат из сои	0,478	0,312	0,688	0,209
Ферментативный гидролизат из соевого шрота СД-I	0,131	следы	2,554	0,140
Ферментативный гидролизат из дрожжей	0,960	следы	1,903	следы
Кислотный гидролизат из кукурузного глютена	1,272	1,358	3,517	0,414

Обращает на себя внимание большое количество кислот молочной, винной, лимонной, яблочной в гидролизате из кукурузного глютена. Основную часть органических кислот дрожжевого гидролизата составляют молочная и лимонная кислоты.

Сопоставление с сырьем, проведенное для гидролизатов из сои, показывает, что органические кислоты подвергаются значи-

тельными изменениям в ходе технологического процесса их производства. Причины подобных изменений различны и зависят от способа гидролиза. При кислотном гидролизе — участие в реакциях неферментативного потемнения или освобождение из связанных форм; при ферментативном — результат жизнедеятельности микроорганизмов. Накопление значительного количества молочной кислоты в ферментативном гидролизате СЛ-I, полученном из почти полностью обезжиренной сои, можно объяснить тем, что жирные кислоты цельных соевых бобов подавляют кислотообразующие функции бактерий.

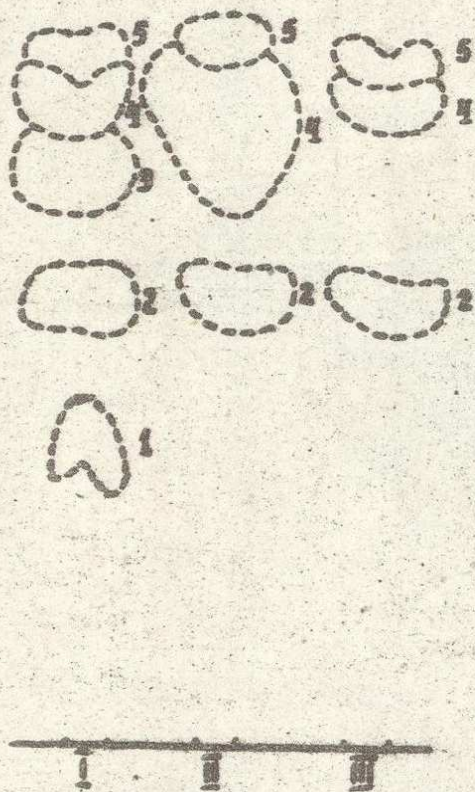


Рис. I. Хроматограмма полифенольных соединений соевых белковых гидролизатов.

Кислоты: I—транс-феруловая;
3—кофейная; 4—*n*-кумаровая;
5—кумарин; 2—неидентифицированное соединение.

Гидролизаты: I—ферментативный;
II—кислотный; III—ферментативный СЛ-I.

У гидролизатов из различных видов сырья обнаружены значительные отличия в составе нелетучих полифенольных соединений, которые, наряду с важными физиологическими функциями, оказывают влияние на органолептические свойства продуктов. В дрожжевом гидролизате установлено 7 соединений (идентифицированы кофейная и ванилиновая кислоты), в глютенном — всего два, одно из них — ванилиновая кислота. Во всех соевых гидролизатах, независимо от технологии получения, содержатся *n*-кумаровая кислота, кумарин, одно неизвестное соединение, а в ферментативном также кофейная и транс-феруловая кислоты (Рис. I). В сое эти соединения не найдены.

Мы предположили, что в сое могут находиться в связанном состоянии

n-кумаровая и кумариновая кислоты в виде эфиров кислот или гликозидов. Освобождаясь при гидролизе, *n*-кумаровая кислота, как устойчивое соединение, накапливается в гидролизате, а кумариновая лактонизируется в кумарин. Наше предположение подтверждают результаты гидролиза полифенольных соединений сои, при котором образовались кумарин и *n*-кумаровая кислота.

Таким образом, в процессе производства гидролизатов, качественный состав полифенольных соединений сырья изменяется, при этом способ гидролиза оказывает влияние на содержание полифенольных веществ.

АРОМАТИЧЕСКИЕ ВЕЩЕСТВА БЕЛКОВЫХ ГИДРОЛИЗАТОВ. РОЛЬ РЕАКЦИЙ МЕЛАНОИДИНООБРАЗОВАНИЯ В ФОРМИРОВАНИИ АРОМАТА.

Исследование белковых гидролизатов показало, что в них содержится ряд веществ, благодаря которым можно значительно повысить пищевую ценность обогащенных ими продуктов. Однако, специфический вкус и запах не позволяют использовать их в достаточном объеме. В связи с этим, выяснение природы вкусовых и ароматических особенностей белковых гидролизатов отечественного производства является актуальным, причем, до настоящего времени подобных исследований не проводилось.

Ароматические вещества разделены на 43^{х)} хроматографические фракции у кислотного гидролизата из соевого шрота, 35- у ферментативного гидролизата из сои, 30 - у ферментативного гидролизата СЛ-І, 30 - у ферментативного гидролизата из дрожжей,

х) В сумме с кислотами жирного ряда.

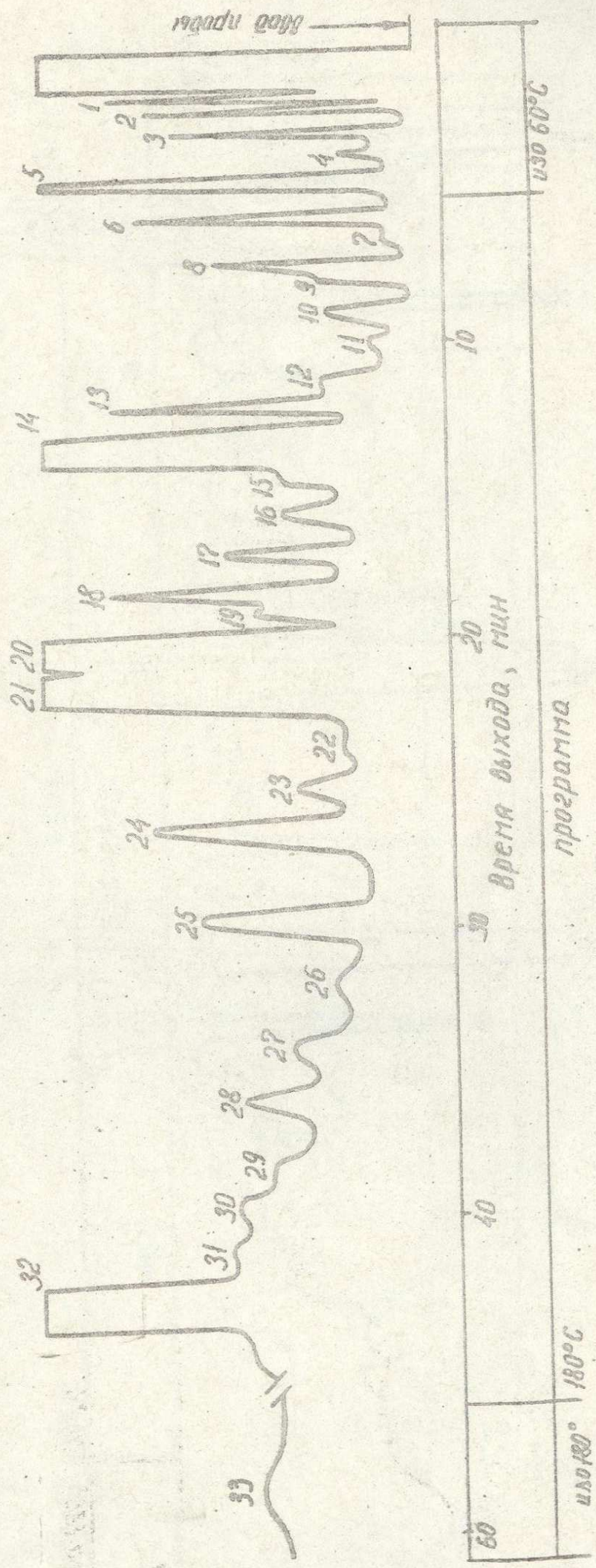
36 - у кислотного гидролизата из кукурузного глютена. Отдельно определяли мальтол, обнаруженный во всех гидролизатах, за исключением дрожжевого, и левулиновую кислоту, найденную в кислотных гидролизатах - соевом и глютенном.

Рассматривая гидролизаты, полученные из сои, можно отметить, что большую часть ароматических веществ исходного сырья составляют спирты: амиловый, гептавол, гексанол, октанол. Обнаружен также большой пик каприлового альдегида и несколько неидентифицированных соединений. Ароматические вещества соевых гидролизатов, представленные на рис.2-4, отличаются от бобов сои.

Одним из основных путей возникновения ароматических веществ являются сахаро-аминные реакции, которые имеют место при получении гидролизатов любым способом (сырье богатое азотистыми компонентами и содержащее углеводы, тепловое воздействие и т.д.). Однако, различные условия технологического процесса производства гидролизатов определяют разнообразие промежуточных реакций; каждая из которых дает характерные для нее соединения. Основные из них - фурфурол и оксиметилфурфурол образуются при кислотном гидролизе, вероятнее всего, через основания Шиффа, а при ферментативном - через озоны. Кислотный гидролиз способствует превращению оксиметилфурфурола в левулиновую кислоту, обнаруженную только в этом гидролизате. Фурфурол, как соединение с сравнительно низкой реакционной способностью, остается почти без изменений, образуя небольшое количество фурфуролового спирта (Рис.2).

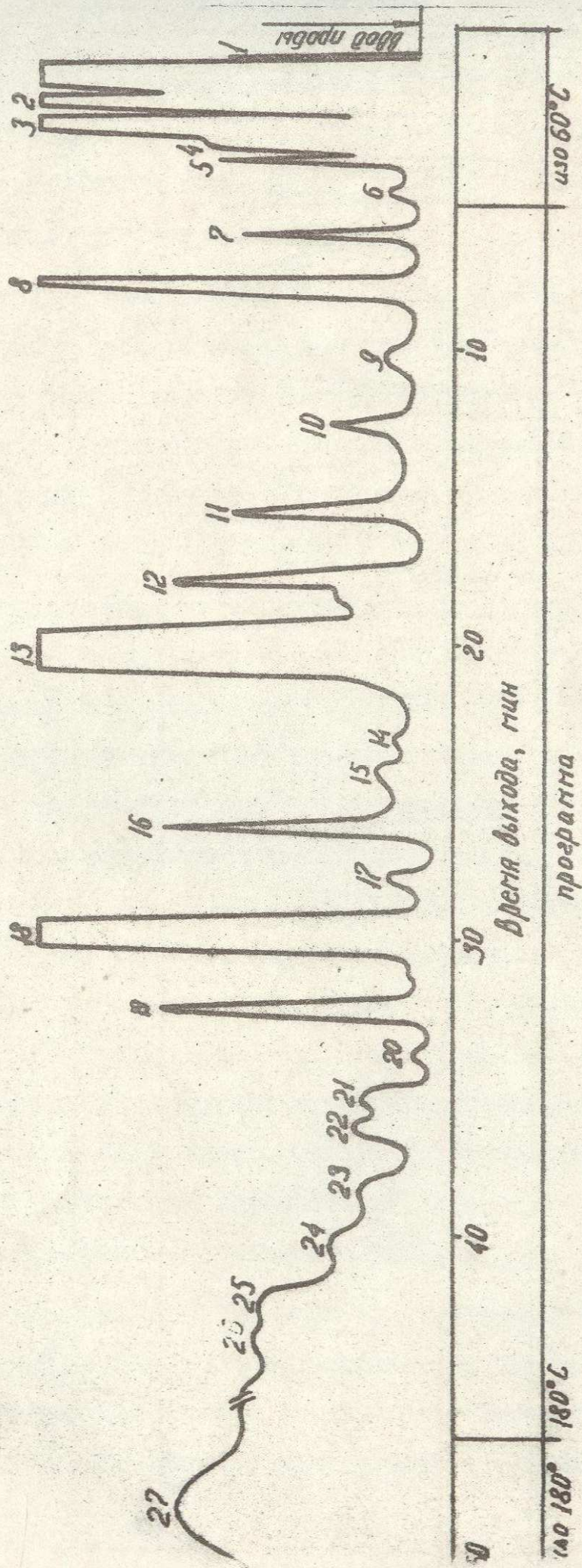
При ферментативном гидролизе фурфурол полностью восстанавливается в фурфуроловый спирт ферментами плесневых грибов. Оксиметилфурфурол при этом не претерпевает изменений и накапливается в гидролизате (Рис.3). При гидролизе ферментными препара-

Рис. 2. Хроматограмма летучих веществ кислотного соевого гидролизата



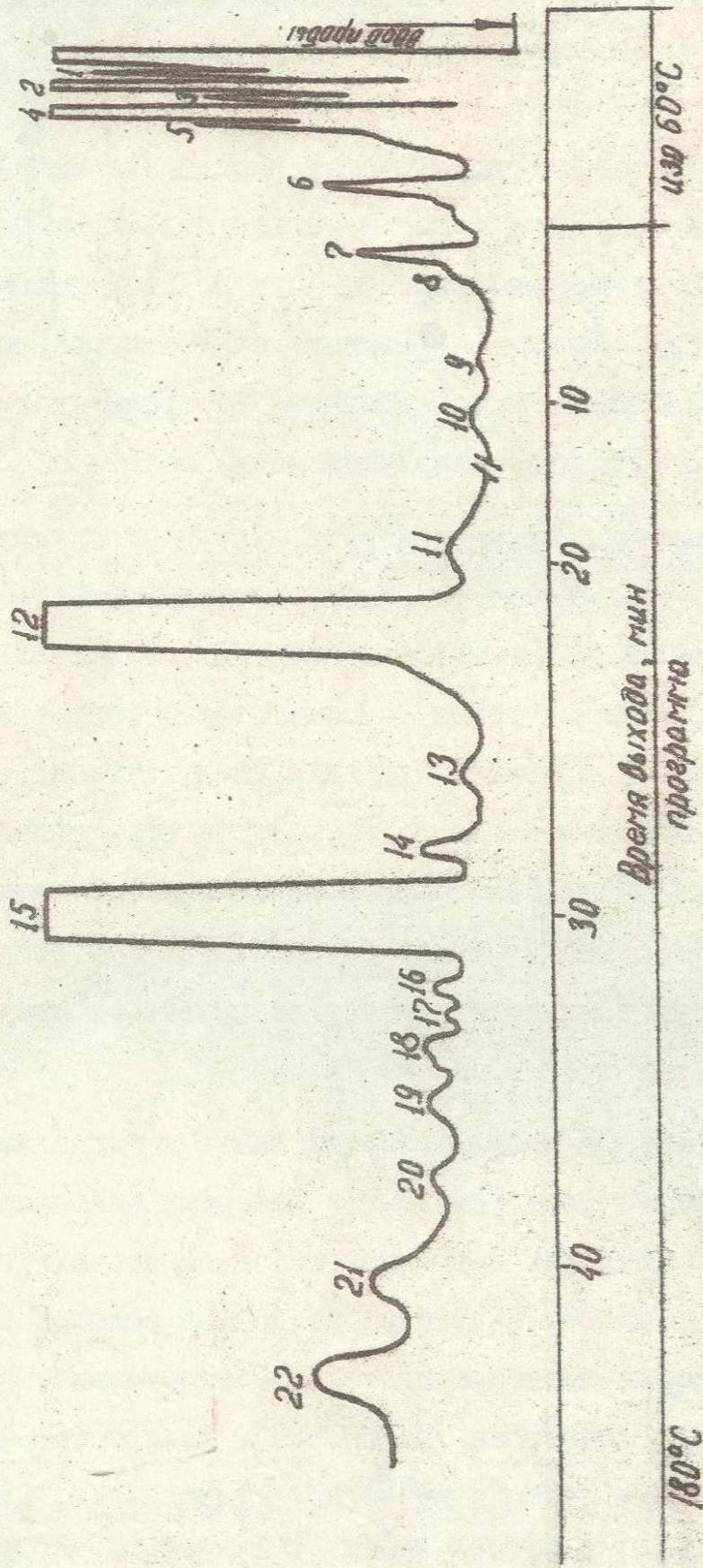
1 - ацетон; 2 - этилацетат; 3 - метанол; 4 - этанол; 6 - этилизовалерат; 9 - масляный альдегид; 10 - изоамиловый спирт; 11 - валериановый альдегид; 14 - амиловый спирт; 20 - гепта-нол; 21 - фурфурол; 24 - бензальдегид; 25 - фурфуроловый спирт; 27 - этилфенилацетат; 28 - гваякол; 29 - коричный альдегид; 30 - фенол; 31 - п-крезол; 33 - оксиметилфурфурол.

Рис. 3. Хромотограмма летучих веществ ферментативного соевого гидролизата.



1 - ацетальдегид; 2 - этилацетат; 3 - метанол; 4 - метилпропионат; 5 - этанол; 7 - этилбутират;
 8 - бутилацетат; 13 - гептанол; 16 - бензальдегид; 18 - фурфуриловый спирт; 19 - оксибензальде-
 гид; 21 - этилфенилацетат; 22 - гваякол; 24 - фенол; 25 - п-крезол; 27 - оксиметилфурфурол.

Рис. 4. Хромотограмма летучих веществ ферментативного соевого гидролизата СЛ-1.



1 - этилформиат; 2 - ацетон; 3 - метилформиат; 4 - этилацетат; 5 - метанол; 6 - изобутилалцетат;
 9 - изовалериановый альдегид; 10 - валериановый альдегид; 12 - фурфурол; 13 - бензальдегид;
 15 - фурфуриловый спирт; 18 - оксисбензальдегид; 20 - гваякол; 21 - п-крезол; 22 - каприловый альдегид.

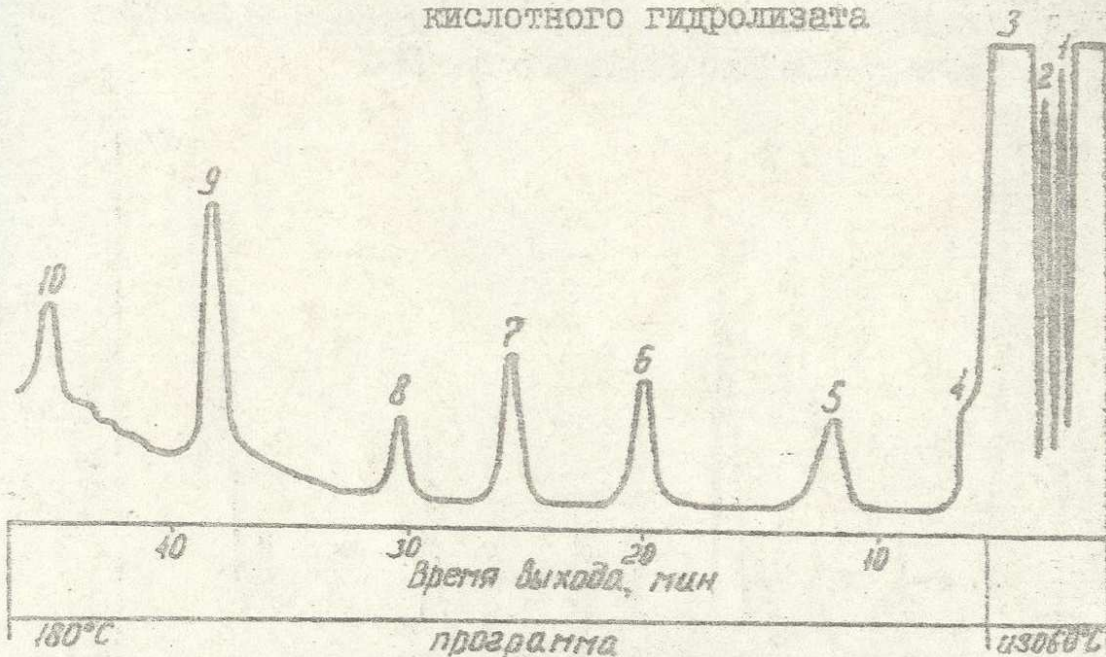
тами (СМ-1) в фурфуроловый спирт восстанавливается только часть фурфурола (Рис.4). Следовательно, различные условия гидролиза оказывают влияние на перераспределение фурфурола и его производных.

Появление в соевых гидролизатах ряда альдегидов и кислот жирного ряда, не найденных в сырье, свидетельствует о том, что одновременно сахаро-аминные реакции идут по пути распада аминокислот по Штрекеру. Вторичные реакции меланоидинообразования протекают в гидролизатах с образованием гетероциклических соединений, что подтверждается наличием в них мальтола.

Среди ароматических компонентов дрожжевого гидролизата обнаружены ацетон, этилацетат, метанол, метилпропионат, изобутилацетат, валериановый альдегид, бензальдегид, гептанол, фурфуроловый спирт, коричный альдегид, оксиметилфурфурол; у глютеносого-метанол, этанол, пропанол, параальдегид, бутанол, изоамиловый спирт, валериановый альдегид, фурфурол, фурфуроловый спирт, левулиновая кислота, мальтол. Присутствие компонентов, общих с ароматическими веществами соевых гидролизатов (см.рис.2-4), свидетельствует об идентичности химических процессов при получении гидролизатов из различного сырья.

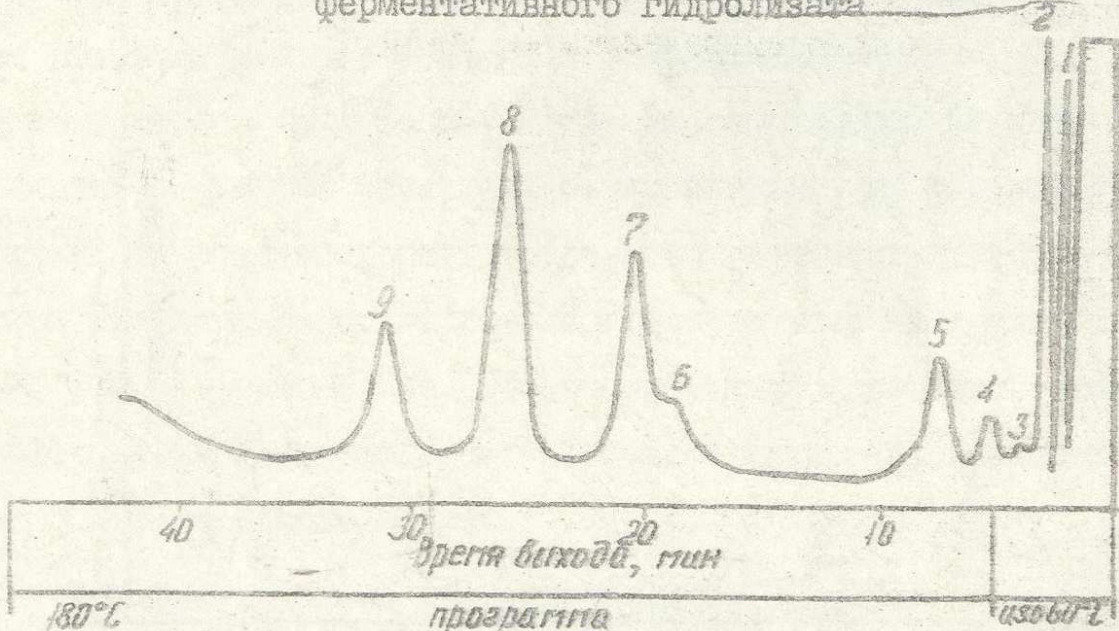
Важной составной частью летучих веществ гидролизатов являются кислоты жирного ряда (Рис.5-9). Динамика накопления и превращения их в гидролизатах довольно сложна. В соевых, где исследовано сырье, часть кислот переходит из сои, в большей степени это наблюдается в при кислотном гидролизе. Обнаруженные в сое пропионовая, капроновая, энантовая, каприловая, пеларгоновая и каприновая кислоты, найдены также в кислотном гидролизате. Одним из путей синтеза кислот может быть окисление альдегидов. Так, ферментатив-

Рис. 5. Хроматорграмма летучих кислот жирного ряда соевого кислотного гидролизата



1-муравьиная; 2-уксусная; 3-пропионовая; 5-каприновая; 8-пеларгоновая; 9-каприновая.

Рис. 6. Хроматограмма летучих кислот жирного ряда соевого ферментативного гидролизата

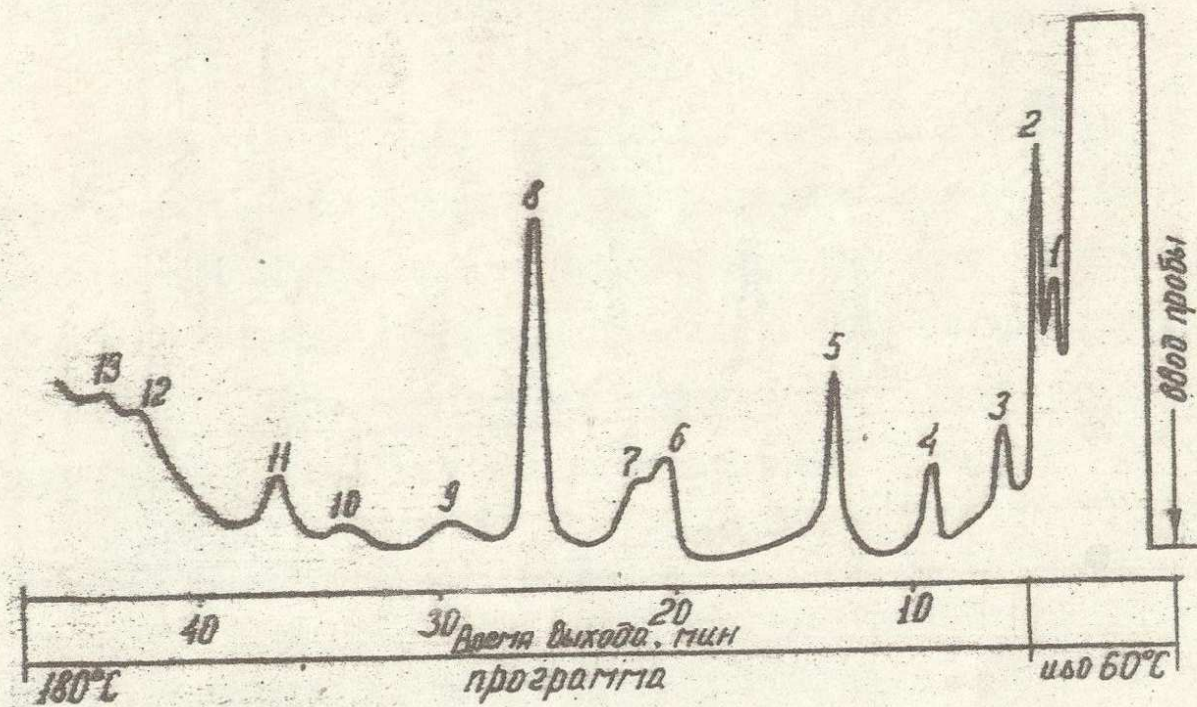


1-уксусная; 2-пропионовая; 3-масляная; 4-изовалериановая; 7-этановая; 8-пеларгоновая; 9-пеларгоновая.

Одесский биохимический институт пищевой промышленности им. В. В. Докучаева
БИБЛИОТЕКА

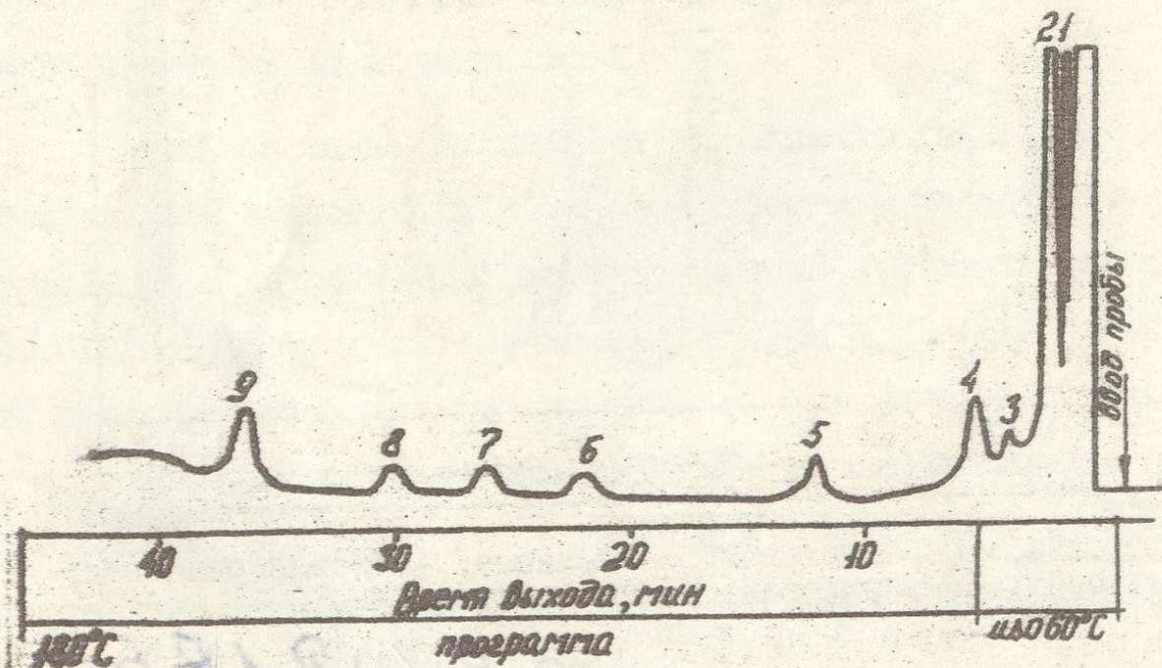
С. 6V012185

Рис. 7. Хроматограмма летучих кислот жирного ряда ферментативного соевого гидролизата СД-1



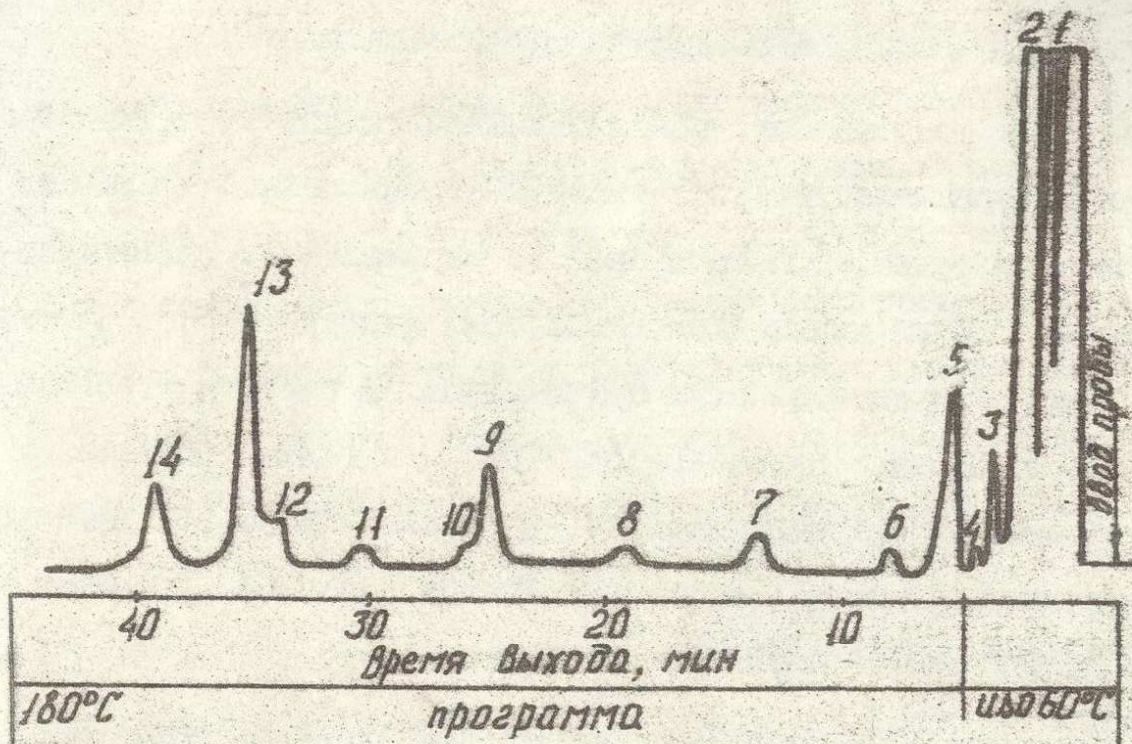
1 - уксусная; 2 - изовалериановая; 3 - валериановая; 5 - капроновая; 8 - каприловая; 9 - пеларгоновая.

Рис. 8. Хроматограмма летучих кислот жирного ряда ферментативного гидролизата из дрожжей.



1 - муравьиная; 2 - уксусная; 3 - масляная; 4 - изовалериановая; 5 - капроновая; 7 - каприловая; 8 - пеларгоновая.

Рис. 9. Хроматограмма летучих кислот жирного ряда кислотного гидролизата из кукурузного глютена



1-муравьиная; 2-уксусная; 3-масляная; 4-изовалериановая; 5-валериановая; 6-капроновая; 7-каприловая; 8-каприновая; 9-каприновая; 10-каприновая; 11-каприновая; 12-каприновая; 13-каприновая; 14-каприновая.

ный гидролизат СЛ-I, полученный из почти полностью обезжиренной сои, содержит в своем составе 13 жирных кислот (Рис. 7.). Часть кислот расходуется на образование сложных эфиров со спиртами. Особенно интенсивно этот процесс происходит при ферментативном гидролизе, о чем свидетельствуют обнаруженные в гидролизатах эфиры. Наиболее богат кислотами гидролизат из кукурузного глютена (Рис.9), накопление которых происходит, вероятно, из-за низкого уровня этерификации: в числе идентифицированных компонентов нет ни одного эфира.

Обращает на себя внимание большое количество летучих фенольных соединений в гидролизатах из сои: гваякол, фенол, п-крезол, а также ароматические альдегиды - коричный, бензальдегид и

оксибензальдегид обнаружены почти в каждом из них. Предшественниками этих фенолов, не найденных в сое, являются, по-видимому, полимерные фенольные соединения, в частности, лигнин.

Значение компонентов, обнаруженных в гидролизатах, в формировании их органолептических свойств неравноценно. К главным относятся соединения, ответственные за карамельный, грибной оттенок аромата. В их число входят мальтол, фурфурол и его производные. Перераспределение этих компонентов обуславливает основные отличия в аромате гидролизатов. Так, мальтол преобладает в ферментативных соевых гидролизатах, фурфурол - в СЛ-I и глютеновом, фурфуриловый спирт - в ферментативном соевом и дрожжевом, оксиметилфурфурол - в дрожжевом.

В создании ароматических свойств гидролизатов принимают участие альдегиды и кислоты жирного ряда. Проведенное нами связывание альдегидов 2,4-динитрофенилгидразином и жирных кислот NaHCO_3 , дало значительное ослабление и смягчение аромата в первом случае, и сильные изменения во втором. С кислотами $\text{C}_1\text{-C}_4$ связан, по-видимому, мясоподобный оттенок аромата гидролизатов. Летучие фенольные соединения, преобладающие в соевых гидролизатах являются, вероятнее всего, носителями специфического запаха, обуславливающего сходство в аромате гидролизатов из сои и отличие их от гидролизатов из других видов сырья.

Таким образом, проведенные исследования позволили установить пути возникновения вкусовых и ароматических веществ белковых гидролизатов и влияние на них различных режимов гидролиза, что может быть использовано для регулирования органолептических свойств гидролизатов и разработки новых их видов.

ОБОГАЩЕНИЕ КОНСЕРВОВ БЕЛКОВЫМИ ГИДРОЛИЗАТАМИ И АМИНОКИСЛОТАМИ

При изыскании оптимальных дозировок белковых добавок, руководствовались следующими соображениями: внести максимальное их количество для наибольшего повышения пищевой ценности консервов с одной стороны, и улучшить или сохранить неизменным натуральный вкус консервов с другой. Испытывали различные дозы добавок (0,15 до 5% от массы нетто консервов), лучшими оказались - 0,15-2,5%. Для сбалансирования аминокислотного состава в гидролизаты добавляли недостающие аминокислоты - метионин, лизин, или комбинировали гидролизаты различных видов.

Исследование химического состава овощных консервов с белковыми добавками показало, что величины показателей, нормируемые ГОСТ, практически не изменяются в результате обогащения.

Анализ показателей, характеризующих эффективность добавления азотсодержащих веществ, свидетельствует о возрастании всех форм азота. Так, содержание общего азота у консервов "Перец резанный с фаршем в томатном соусе" увеличилось почти вдвое, уровень аминного азота повысился с 0,228% в контроле до 0,437% на сухую массу в опытных партиях консервов. Обогащение белковыми добавками консервов "Кабачки нарезанные кружками с овощами в томатном соусе" приводит к увеличению содержания общего азота в пересчете на белок с 3,35% до 8,24-8,79%, количество аминного азота при этом возрастает не менее, чем в два раза. В консервах "Баклажаны нарезанные кружками с овощной смесью" возрастание общего азота составляет 31-119%, "Икра кабачковая" - 80-128%. Аналогичные результаты получены для остальных видов консервов.

Данные по определению аминокислотного состава показывают заметный прирост всех аминокислот, в том числе незаменимых. В частности, количество лизина у консервов "Перец резаный с фаршем в томатном соусе" увеличилось при применении в качестве добавки дрожжевого гидролизата на 85%, метионина - 55%, валина с фенилаланином - 20%, лейцина с изолейцином - 44%. В консервах "Икра кабачковая" с той же добавкой содержание лизина увеличилось по сравнению с контролем с 4 мг% до 25 мг%, метионина - с 7 мг% до 47 мг%, валина - с фенилаланином - с 6 мг% до 30 мг%, лейцина с изолейцином - с 4 мг% до 15 мг%, т.е. не менее чем в 4 раза. В консервах рагу овощное "Южное" при применении в качестве добавки СД-I с метионином и лизином, количество незаменимых аминокислот увеличилось следующим образом: лизина на 40%, треонина - 63%, метионина - 22%, валина с фенилаланином - 66%, лейцина с изолейцином - 67%. Уровень заменимых аминокислот в опытных консервах изменяется по-разному, при общей тенденции к увеличению после обогащения; степень накопления зависит от варианта добавки. Таким образом, в результате обогащения получен продукт, дополненный незаменимыми аминокислотами, общий аминокислотный состав консервов при этом улучшается.

Параллельно с изучением пищевой ценности, проводили органолептический анализ каждой опытной партии консервов. Установили, что гидролизат из кукурузного глютена непригоден для обогащения овощных консервов в связи с отрицательным воздействием на их органолептические качества. Добавки, содержащие дрожжевой гидролизат, СД-I и аминокислоты - метионин и лизин хорошо сочетаются со всеми видами консервов:

1. Гидролизат СД-I - 1,0% , метионин 0,1%
2. Дрожжевой гидролизат 1,0%, метионин 0,1%
3. Гидролизат СД-I 0,5%, дрожжевой гидролизат 0,5%,

метионин 0,1%

4. Метионин 0,1%, лизин 0,1%.

Основная часть образцов обогащенных консервов, представленных на дегустационные совещания Одесского консервного комбината, а также во ВНИИКОП, получила более высокую оценку, чем контрольные варианты.

Анализ органолептических данных показал, что в консервы "Перец резаный с фаршем в томатном соусе" и "Икра баклажанная" целесообразно вносить добавки в количестве 2,0% от массы нетто консервов. С указанными наименованиями консервов была выработана производственная партия, предназначенная для реализации.

Возможность обогащения азотсодержащими соединениями овощных консервов была подтверждена исследованиями влияния длительного хранения обогащенных партий. Установлено, что и после 9 месяцев хранения консервы с добавками обладают более высокой пищевой ценностью и лучшими органолептическими свойствами, чем контрольные образцы. Так, у консервов "Баклажаны нарезанные кружками с овощной смесью" уровень общего азота превышает контроль на 72,4%, "Икра кабачковая" - 114,2%, "Икра баклажанная" - 58,0%. Содержание незаменимых аминокислот в обогащенных консервах при этом выше в два-три раза, чем в контрольных вариантах.

В связи с возможным применением белковых гидролизатов в пищевых продуктах, провели их бактериологический анализ. Исследовали качественный и видовой состав микрофлоры, а также вероятность ее сохранения после стерилизации консервов с белковыми добавками. Исследования показали, что микроорганизмы, содержащиеся в продукте и белковых добавках, после стерилизации уничтожаются.

ОБЩИЕ ВЫВОДЫ

Проведено сравнительное исследование по комплексу биохимических показателей белковых гидролизатов из растительного и микробиологического сырья, полученных по различным технологическим схемам, с применением современных методов анализа (спектрофотометрия, газо-жидкостная хроматография, флуориметрия, хроматография на бумаге). Изучена возможность использования гидролизатов для повышения биологической ценности овощных консервов. На основании полученных данных можно сделать следующие выводы:

1. Общее содержание азотистых веществ в дрожжевом и глютеиновом гидролизатах на 40% выше, чем в соевых. В гидролизатах всех видов преобладают наиболее легко используемые организмом человека формы - аминокислоты и пептиды - 62,3-81,8%. Максимальному накоплению этих соединений способствуют режимы получения кислотного гидролизата из соевого шрота (15% HCl, 127°C, 5 час, давление 2,5 па)

2. В состав гидролизатов входит 19-20 свободных аминокислот. Установлено, что гидролизаты являются хорошими источниками валина, фенилаланина, лейцина и изолейцина, а также глутаминовой и аспарагиновой кислот. Недостающей аминокислотой всех гидролизатов является метионин, растительных - лизин.

Способ гидролиза по-разному влияет на содержание отдельных аминокислот соевых гидролизатов, но общая тенденция к их снижению установлена для гидролизата, полученного с помощью гриба *Asp. oryzae*.

3. Витаминная ценность белковых гидролизатов различна. Наиболее высоким содержанием тиамина, рибофлавина и пантотеновой кислоты отличается гидролизат из дрожжей, самым низким - из кукурузного глютена. Лучшую сохранность витаминов группы В обеспечивает гидролиз ферментными препаратами.

4. В белковых гидролизатах количественно определены магний, марганец, кремний, железо, алюминий, титан, медь. Выявлено, что гидролизаты являются хорошими источниками магния и железа, а также микроэлементов — марганца, меди и титана.

5. Впервые представлены данные по нелетучим органическим кислотам и полифенольным соединениям.

Установлено, что в гидролизатах содержатся кислоты молочная, лимонная, винная, яблочная, щавелевая и фумаровая. Наиболее богат этими соединениями глютеновый гидролизат. Показано, что органические кислоты подвергаются качественным и количественным изменениям в ходе технологического процесса производства соевых гидролизатов, в результате участия в реакциях неферментативного потемнения или освобождения из связанных форм при кислотном гидролизе, либо в результате жизнедеятельности микроорганизмов при ферментативном гидролизе.

6. В белковых гидролизатах обнаружено от 7 (дрожжевой) до 2-х (глютеновый) нелетучих полифенольных соединений. У соевых гидролизатов они представлены, в основном, фенолкарбоновыми кислотами. В их составе имеются кумарин и *n*-кумаровая кислота. Содержание полифенольных соединений гидролизатов из сои зависит от способа гидролиза, наибольшему их накоплению способствует ферментативный гидролиз с использованием микроорганизмов. В процессе производства гидролизатов качественный состав полифенольных веществ сырья изменяется, одной из причин является разрушение связанных форм полифенолов.

7. Впервые получены сведения об ароматических веществах белковых гидролизатов отечественного производства.

Ароматические вещества гидролизатов разделены на 43 хроматографические фракции (в сумме с кислотами жирного ряда) у кис-

лотного соевого гидролизата, 35 - у ферментативного соевого, 35 - у гидролизата СЛ-I, 30 - у дрожжевого, 36 - у глютенowego. В числе 46 идентифицированных компонентов обнаружено 8 спиртов, 10 эфиров, I кетон, II альдегидов, из них 6 - ароматических, 3 фенола, II кислот жирного ряда.

8. Предложена гипотеза возникновения ароматических веществ гидролизатов и установлены некоторые возможные предшественники аромата.

Независимо от исходного сырья, основным источником ароматических веществ гидролизатов являются сахаро-аминные реакции. Направление промежуточных этапов меланоидинообразования зависит от способа гидролиза. По предполагаемой схеме образования основных промежуточных продуктов этих реакций - фурфурола и оксиметилфурфурола идет при кислотном гидролизе через основание Шиффа, а при ферментативном - через озон. Установлено, что кислотный и ферментативный гидролиз по-разному влияют на дальнейшие превращения этих продуктов: кислотный способствует превращению оксиметилфурфурола в левулиновую кислоту, ферментативный - восстановлению фурфурола в фурфуриловый спирт. С деградацией аминокислот по Штрекеру связывается возникновение альдегидов, которые, окисляясь могут быть источником синтеза кислот жирного ряда, особенно в гидролизатах, подвергающихся высушиванию.

9. Выяснена роль значительной части идентифицированных веществ в формировании аромата гидролизатов. Установлено, что ароматические и вкусовые вещества гидролизатов формируются не одним или несколькими соединениями, а комплексом веществ. В качестве главных выделены компоненты, ответственные за карамельный, грибной оттенок аромата - мальтол, фурфурол и его производные.

10. Показана возможность и целесообразность добавления к овощным консервам 7 наименований 4-х видов белковых гидролизатов — дрожжевого, СД-I, белковой пасты, ферментативного соевого. На основе лабораторных и производственных технологических испытаний разработаны режимы обогащения консервов и установлены лучшие варианты добавок для консервов разных видов.

11. Установлены показатели пищевой ценности 49 различных партий овощных консервов с белковыми добавками. Обогащенные консервы обладают лучшими органолептическими свойствами и повышенной биологической ценностью за счет возрастания общего азота на 50-150% и дополнения продукта лимитирующими аминокислотами, количество которых возрастает в два-три раза.

12. Изучено влияние длительного хранения на консервы, обогащенные белковыми гидролизатами и аминокислотами. Установлено, что прирост общего азота на 44-114% и увеличение в 2-3 раза аминокислот, в том числе незаменимых, сохраняется в консервах после длительного хранения. Органолептические и химические показатели при этом мало изменяются.

13. Проведен бактериологический анализ белковых гидролизатов и проверена сохраняемость микрофлоры, вносимой с гидролизатами, в готовых консервах. Установлено, что при обнаруженном уровне обсеменения перед стерилизацией, микроорганизмы, содержащиеся в продукте и белковых добавках, после стерилизации уничтожаются.

Материалы диссертации опубликованы в следующих работах:

1. О повышении содержания белков в овощных закусочных консервах. В журнале Известия Высших учебных заведений "Пищевая технология", № I, 1971.

2. Биохимическая характеристика белковых гидролизатов . В сборнике тезисов докладов 4-й одесской городской конференции по химии молодых ученых и производственников, Одесса, 1970.

3. Полифенольные соединения соевых белковых гидролизатов. В журнале Известия Высших учебных заведений "Пищевая технология", № 2, 1973.

4. Обогащение овощных закусовых консервов,. В сборнике тезисов Второго Всесоюзного биохимического съезда, Ташкент, 1969.

Материалы диссертации доложены на:

1. XXXI, XXXII и XXXIII научных конференциях ОТИШ им.М.В.Ломоносова, Одесса, 1970, 1971, 1972.

2. Конференции молодых биологов и медиков, Одесса, 1971.

3. Заседания Одесского отделения Всесоюзного биохимического общества АН СССР, 1972.