

Изменение количества и активности ингибиторов протеолитических ферментов в процессе их гидротермической обработки

В.Н.КОВБАСА, В.А.ТЕРЛЕЦКАЯ, Е.В.КОБЫЛИНСКАЯ

Украинский государственный университет пищевых технологий

Обзор научно-технической литературы и анализ основных тенденций развития пищевой промышленности в последние годы свидетельствуют о перспективности создания новых продуктов с повышенной пищевой и биологической ценностью, получаемой вследствие обработки зернового и зернобобового сырья с целью снизить содержание в нем антипитательных веществ.

Антипитательными считают те вещества, которые тормозят действие пищеварительных ферментов. В составе зерновых и зернобобовых культур содержится значительное количество антипита-

тельных веществ природного происхождения: некоторые сахара (стахиоза, рафиноза), фитин, сапонин, танин и т.д., а также вещества белковой природы — ингибиторы протеолитических ферментов.

Хорошо исследованы свойства белковых ингибиторов сериновых протеиназ. Ингибиторы тиоловых, металло- и карбоксипротеиназ изучены значительно меньше.

Характерная особенность белковых ингибиторов — высокая специфичность их действия, что проявляется в способности взаимодействовать с

ферментами только одного определенного класса, а иногда даже с одним конкретным ферментом. Специфичность белковых ингибиторов сериновых протеиназ определяется природой аминокислотного остатка в Р1-положении реактивного центра ингибитора: ингибиторы трипсина имеют в Р1-положении остатки аргинина или лизина, ингибиторы химо tripsина — остатки лейцина, изолейцина, фенилаланина, триптофана, тирозина или метионина, ингибиторы эластазы — остатки аланина или валина.

В результате реакции белков-ингибиторов с ферментами образуются стойкие комплексы, которые содержат молекулы ингибитора и фермента. При взаимодействии ингибиторов с несколькими реактивными центрами в состав комплекса могут синхронно входить две или больше молекул фермента. Молекула ингибитора Баумана—Бирки из бобов сои образует в присутствии трипсина и химо tripsина тройной комплекс, который содержит молекулу ингибитора и по одной молекуле каждого фермента.

Комплексы «протеаза—ингибитор» характеризуются высокими значениями констант ассоциации, которые лежат в пределах 10^8 — 10^{10} м⁻¹.

Белковые ингибиторы сериновых протеиназ сгруппированы в семейства. Между ингибиторами одного семейства наблюдается исключительно высокая гомология. Структура реактивных центров для всех семейств белковых ингибиторов сериновых протеиназ практически идентична [1]. Любые факторы, которые нарушают конформацию реактивного центра ингибитора, ведут к резкому уменьшению или даже к уничтожению ингибиторных свойств. Считается, что основная функция молекулы белкового ингибитора состоит в обеспечении оптимальной конформации реактивного центра.

Функциональная роль белковых ингибиторов растительного происхождения до конца не выяснена. Считается, что они играют роль запасных белков, депо серы, а также служат составной частью защитной системы растений, направленной на угнетение протеолитических ферментов патогенных микроорганизмов. Последняя функция влияет на снижение пищевой ценности многих продуктов, поскольку тормозит процессы пищеварения. Поэтому количество белковых ингибиторов в продуктах питания должно быть ограниченным.

Мы исследовали влияние экструзионной обработки на содержание ингибиторов трипсина в зернобобовых культурах. Для исследования использовали зерно гречихи, гречневую крупу, полученную согласно «Правилам организации и ведения технологического процесса крупяного производства», солод гречки, горох, солод гороха и их экструдаты.

Определение ингибиторной активности проводили путем измерения подавления гидролитического действия трипсина на хромогенном субстрате БАПНА (*N*-бензоил-d, *L*-аргинин-пара-нитроанимид). Результаты исследований представлены в таблице.

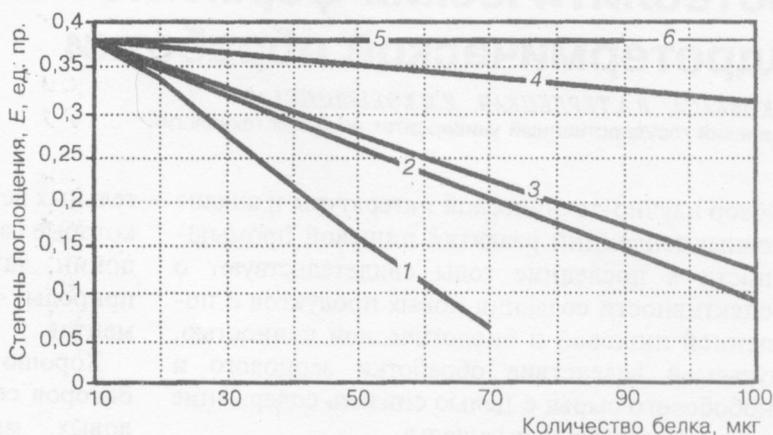
Продукт	Количество ингибитора, г/100 г продукта			
	без обработки	после гидротермической обработки (крупа)	после проращивания (солод)	после экструзии
Гречиха	0,543	0,298	—	0,162
Горох	0,128	0,104	—	0,089

Установлено, что наибольшее количество ингибиторов протеолитических ферментов находится в нативной гречке. В процессе ее переработки в крупу количество ингибитора уменьшается в 1,85 раза, а в образце солода после проращивания гречки ингибиторов не выявлено. Одной из причин такого изменения количества ингибиторов может быть их деградация под действием цистиновой протеиназы. Известны результаты исследований, которые позволяют предположить, что цистиновая протеиназа, содержащаяся в прорастающем зерне, участвует не только в деградации протеина, но и в разрушении эндогенной сериновой протеиназы.

В процессе экструзионной обработки зерна гречихи количество ингибиторов протеолиза снижается в 3,4 раза. Это обусловлено тем, что под действием гидротермической обработки и механического воздействия белки претерпевают значительную денатурацию.

Аналогичные данные получены при изучении ингибиторной активности гороха в процессе его переработки.

Установлено, что с увеличением содержания белка в пробе гидролитическое действие трипсина линейно уменьшается. Это объясняется более



Зависимость гидролитического действия трипсина от присутствия в пробе белка: 1 — зерно гречихи, 2 — горох, 3 — гречневая крупа, 4 — экструдат гречки, 5 — солод гороха, 6 — экструдат солода гречки (этой цифрой 6 авторы обозначили участок кривой 5 в интервале ~95–100 мкг по оси абсцисс — ред.)

эффективно связывает трипсин (см. рисунок). Для образцов зерна гречихи это связывание в 3,1 раза больше, чем для гороха, что объясняется высоким содержанием ингибитора в гречке.

Сравнение ингибиторной активности образцов сырья и продуктов, которые подверглись гидротермическому (крупа) и экструзионному воздействию, позволяет предположить, что ингибиторы протеолитических ферментов зерна гречихи более термостойкие, чем ингибиторы гороха.

После экструзии гидролитическое действие трипсина в экструдате увеличивается в 1,5 раза по сравнению с нативным зерном гречихи, а после

гидротермической обработки — в 1,3 раза.

Таким образом, гидротермическая обработка зерновых, бобовых и их солода представляет собой эффективный способ уменьшения активности ингибиторов ферментов вследствие сложных гидролитических и денатурационных преобразований белковых веществ.

Л и т е р а т у р а

1. Gubor P., Gunther S., Patthy St. Alternation of the specificity of ecotin a *E. coli* serine proteinase inhibitor, by site-directed mutagenesis // FEBS Letters. 1994. № 1, pp. 57—60.