

УДК 664.959.2

## МЕТОДЫ РЕГУЛИРОВАНИЯ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ СВОЙСТВ ИЗОЛИРОВАННЫХ МИОФИБРИЛЛЯРНЫХ БЕЛКОВ С ЦЕЛЬЮ РАСШИРЕНИЯ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ИХ В ПИЩЕВЫХ СИСТЕМАХ

*Павлова Л. А., Дамшкан Л. Г., Вайнерман Е. С.,  
Рогожин С. В.*

Систематизирован материал, характеризующий особенности химической, ферментативной, механической и комплексной модификации миофибриллярных белков с целью расширения возможностей применения их в пищевых системах.

Основное внимание уделено рассмотрению механизмов ферментативных и химических реакций с пищевыми белками миофибриллярной природы, осуществляемых с целью регулирования конкретных функциональных свойств белковых систем.

Обсуждается проблема токсичности, биологической ценности, биодоступности и путей метаболизма модифицированных пищевых белков.

Показаны перспективы и ограничения ферментативной и химической модификации миофибриллярных белков.

Библиография — 194 ссылки.

### ОГЛАВЛЕНИЕ

I. Введение	2090
II. Ферментативная обработка белков	2091
III. Химическая модификация	2093
IV. Комплексная химическая и ферментативная модификация белков	2100
V. Физико-химические методы модификации	2101
VI. Питательная ценность и биодоступность модифицированных пищевых белков	2103

### I. ВВЕДЕНИЕ

Для успешного решения продовольственной проблемы важно своевременно учесть и оценить возможность использования новых источников пищевого белка, в том числе тех, которыми ранее пренебрегали [1, 2]. Помимо нетрадиционных источников белка растительного происхождения, которым уделяется достаточно много внимания [3, 4], богатые ресурсы белков высокой питательной ценности представляют различные объекты мирового океана: антарктический криль [5—10], некоторые виды рыб, в частности миктофовые [11—13], а также рыба пониженной товарной ценности [14—18].

Белковые рыбные изоляты, освобожденные от саркоплазматических белков и липидов, не имеют специфического вкуса и запаха и могут использоваться в любых пищевых системах от деликатесных рыбных продуктов и заменителей мяса вплоть до десертных блюд [5—6, 19, 20]. Выделение белковых изолятов из нетрадиционных источников требует дополнительных стадий, связанных с освобождением от токсичных, балластных или антипитательных компонентов (специфических пигментов, протеолитических энзимов, трудноотделимых липидов и пр.). Миофибриллярные белки более чувствительны к химическим и физическим воздействиям, чем растительные. Поэтому получаемые из мышечной ткани изоляты не отвечают современным требованиям с точки зрения функциональных свойств. В то же время, именно от уровня функциональных свойств зависит возможность широкого применения белков этого рода в продуктах питания.

Функциональными свойствами (ФС) называют комплекс физико-химических характеристик индивидуального белка, который определяет

его поведение в водных средах (набухаемость, растворимость, гелеобразование и т. п.), в гетерофазных системах типа вода — масло, масло — вода (эмульгирующая способность) или вода — газ (пенообразующая способность), а также во многокомпонентных смесях. Функциональные свойства белка проявляются в зависимости от его природы и характера взаимодействия с другими компонентами данной пищевой системы.

Исследованиями, определяющим взаимосвязь между структурой белка и его ФС, отводится едва ли не главная роль в современной химии пищевого белка [21—25]. Химическая модификация белков вносит значительный вклад в решение этой проблемы, позволяя проследить корреляцию между некоторыми физико-химическими параметрами белка и проявлением того или иного функционального свойства.

При выборе способа регулирования ФС пищевого белка следует учитывать все особенности его строения и характер изменений, которые влечет за собой тот или иной тип модификации.

Функциональные свойства белка определяются многими факторами:

а) Главным образом, его поверхностными характеристиками, которые обусловлены четвертичной структурой белка (размер, форма белковой молекулы, ее суммарный поверхностный заряд и поверхностная гидрофобность). Стабильность белка зависит от типа связей между субъединицами и легкости их диссоциации.

б) Соотношение межмолекулярных и внутримолекулярных связей различных типов (водородные, ионные, гидрофобные, электростатические, Ван-дер-Ваальса) характеризует гибкость молекулы, т. е. способность к конформационным изменениям без разрушения нативной структуры белка.

в) Аминокислотная последовательность диктует закон распределения заряда в молекуле и способ упаковки пептидных цепей, т. е. геометрическое расположение гидрофобных участков.

г) Вторичная и третичная структуры белка определяют в конечном счете стерическую доступность и степень реакционной способности функциональных групп белка.

Совокупность перечисленных факторов в основном и определяет индивидуальные особенности белка [26].

Любой вид модификации приводит к изменению целого комплекса физико-химических свойств белка, эти процессы и подлежат детальному рассмотрению, так как открывают путь к направленному регулированию функциональных свойств пищевых белковых систем.

Цель данного обзора заключается в систематизации сведений, касающихся способов обработки пищевых белков, изолированных из мышечной ткани, для регулирования их функциональных свойств. Узкий выбор объекта позволяет проследить тенденцию изменений тех или иных свойств белка в зависимости от типа воздействия на него.

Можно выделить три основных направления по регулированию функциональных свойств пищевых белков: ферментативная обработка, химическая модификация и физико-химические методы воздействия. Эти процессы не являются взаимоисключающими и могут успешно применяться комплексно.

## II. ФЕРМЕНТАТИВНАЯ ОБРАБОТКА БЕЛКОВ

Процессы регулирования функциональных свойств пищевых миофибриллярных белков с помощью ферментов (чаще всего протеолитических) широко обсуждаются в литературе [27—36].

Посредством частичного гидролиза белка можно достигнуть повышения растворимости, эмульгирующей активности, пенообразующей способности, способности белка стабилизировать эмульсии и пены.

Первоначально для воздействия на мышечную ткань протеазами использовали микроорганизмы: *Thamnidium sp.* с целью размягчения мяса и *Aspergillus glaucus* для изменения консистенции и вкуса рыбы [37]. По-видимому, протеазы, продуцируемые микроорганизмами, в первую

очередь разрушают структуру саркомеров, повышая таким образом мягкость тканей, но вместе с тем увеличивая вязкость и липкость продукта. Данный способ не нашел широкого применения в связи с большими потерями продукта.

Наиболее эффективный метод повышения растворимости белка — ферментативный гидролиз. Протеолитические ферменты расщепляют специфические пептидные связи, дробя белковую молекулу на определенные фрагменты, причем этот процесс в отличие от кислотного или щелочного гидролиза не сопровождается никакими побочными реакциями. Миозин как главный компонент миофибрилл, обладающий наиболее сложным строением, чаще всего используется для детального изучения поведения мышечных белков. Достаточно подробно изучен механизм гидролиза миозина пищеварительными ферментами ряда пептидаз [38].

Трипсин, например, сначала расщепляет молекулу миозина на два крупных фрагмента: тяжелый меромиозин (м.в. 200 000) и легкий меромиозин (м.в. 150 000). Затем от тяжелого меромиозина отщепляются глобулярные фрагменты или «головки» миозина (м.в. 120 000), остается субфрагмент С-2 (м.в. 100 000).

Папаин прежде всего отщепляет головки миозина, действуя затем аналогичным образом.

Высокая степень гидролиза белка, достигаемая действием таких активных ферментов, как пепсин, папаин, проназа [39—41], нежелательна, так как часто ведет к потере эмульгирующей и пенообразующей способности [42] и появлению ощутимого горького вкуса, обусловленного пептидами гидрофобного характера [41, 43]. Добиться оптимизации данного процесса довольно сложно [44].

В ряде случаев в ферментативной обработке прибегали для того, чтобы солиubilизировать гомогенаты мышечной ткани перед экстракцией белка [45, 46]. Этот метод особенно удобен при получении белковых изолятов из мелкой океанической рыбы. Рыбу измельчают целиком, затем подвергают ферментализу, при этом частично гидролизованный белок удастся экстрагировать с большей полнотой. На рыбных объектах использовали амилосубтилин и протосубтилин [45], а для аналогичной обработки скелетной мышечной ткани крупного рогатого скота — папаин и фицин [46].

Удачный вариант ферментативной модификации рыбных белковых изолятов *Rockfish* осуществлен с применением препарата «Rhozyme Р-11» [47, 48]. После 15-минутного гидролиза при pH 6,5—6,7 и температуре 30°С (соотношение энзим: субстрат=1:75) была достигнута эмульгирующая активность, превышающая контрольный показатель для исходного изолята почти в 1,5 раза. При более высоких степенях гидролиза эмульгирующая активность снижалась, а стабильность эмульсий возрастала (максимум при 30—60-минутном гидролизе), но затем тоже падала. Растворимость полученного рыбного гидролизата в воде достигала 20%. О горьком привкусе авторы не упоминали [47].

Интересно отметить, что слабое гидролитическое воздействие на изолят белка *Rockfish* бромелином (10 мин при pH 7; температура 25°С) лишь незначительно уменьшало его эмульгирующую и пенообразующую способность, тогда как приводило к резкому повышению указанных свойств тех же изолятов, предварительно подвергнутых ацилированию [49—51] (подробно в гл. IV).

Традиционное использование мясных белков в пищевых системах предъявляет к ним свои требования. Для них не столь существенна растворимость, как высокая эмульгирующая способность, гелеобразование и способность к связыванию высоко- и низкомолекулярных компонентов системы.

При обработке миофибриллярных белков скелетных мышц быка папайном удалось повысить их эмульгирующую способность на 40% с получением высокостабильных эмульсий [46].

Из-за низкого уровня функциональных свойств не находят применения белковые изоляты сердечной мышечной ткани крупного рогатого

скота, несмотря на высокую биологическую ценность. Модификация с использованием фицина позволила применять такие изоляты в качестве полноценной добавки для замены говядины в мясных системах (до 30%) без ухудшения их питательных и органолептических свойств [52].

Для повышения эмульгирующей и гелеобразующей способности миофибриллярных белков из скелетных мышц домашней птицы испытывали действие препарата «Milezyme AFP-2000». Отмечают, что по мере увеличения степени гидролиза растворимость белков растет, но способность к гелеобразованию при этом быстро падает [53]. Можно получать модифицированный продукт, рекомендуемый для добавки в качестве активного эмульгатора к мясным системам [54].

Ферментативные процессы в плане модификации миофибриллярных белков практически не выходят за рамки протеолиза. Имеется несколько сообщений по использованию трансфераз, которые могут служить активаторами для ковалентного присоединения к белкам аминокислот или эфиров аминокислот [55, 56] (см. гл. IV).

Как можно судить по представленным данным, спектр функциональных свойств, которые удастся улучшить путем ферментативного воздействия на миофибриллярные белки, пока относительно невелик. Главный фактор, определяющий уровень требуемых функциональных свойств модифицируемого объекта,— степень гидролиза белка. В то же время основная сложность при проведении протеолитических процессов заключается в осуществлении контроля за глубиной распада белковых молекул.

Достаточно давно прогнозировалось применение иммобилизованных ферментов [57], но этот вариант до сих пор не нашел применения на практике.

Несмотря на сложность управления ферментативными процессами в промышленных масштабах, некоторые авторы считают это направление модификации наиболее перспективным, основываясь на том, что данная обработка не влечет за собой потери питательных свойств, более того, повышает усвояемость белковых изолятов [3, 5, 58].

На наш взгляд эффективно использование ферментативных процессов на изолятах, предварительно подвергнутых химической модификации (подробнее в гл. IV).

### **III. ХИМИЧЕСКАЯ МОДИФИКАЦИЯ**

В плане регулирования функциональных свойств мышечных белков большой интерес представляет химическая модификация [21, 58—67]. Химическая модификация имеет значительно больше возможностей для преобразования белков, чем ферментативная. Помимо простейших операций, связанных с деструкцией пептидных цепей, гидролиза амидных группировок аспарагина и глутамина, она позволяет изменять структуру белка путем создания новых ковалентных или ионных связей.

С помощью химических реагентов можно вводить в белковую молекулу гидрофильные и гидрофобные группировки, обогащать белок дефицитными аминокислотами, присоединять полиаминокислотные цепочки. Учитывая природу вводимых радикалов и регулируя степень модификации, можно направленно изменять суммарный заряд и гидрофобность белковой системы, что фактически определяет ее функциональные свойства.

#### **1. Щелочной и кислотный гидролиз белков**

Одним из простейших способов солюбилизации белков является щелочной и кислотный гидролиз. Начиная с 1970 г. щелочной гидролиз широко применялся с целью улучшения функциональных свойств рыбных белковых концентратов [68—70]. Обычно такая обработка приводит к повышению растворимости, эмульгирующей и пенообразующей способности.

Воздействие на миофибриллярные белки щелочей и кислот с целью расщепления пептидных связей вызывает глубокие необратимые денатурационные изменения и сопровождается протеканием ряда побочных реакций. При щелочном гидролизе имеют место деструкция щелочелавильных аминокислот, частичная рацемизация аминокислот, процесс  $\beta$ -элиминирования с участием окси- и меркаптосодержащих аминокислот с образованием дегидроаланина, легко взаимодействующего с лизином, цистеином, орнитином, аммиаком [71—74]. Продуктами этих реакций являются соответственно лизиноаланин, лантионин, орнитоаланин,  $\beta$ -аминоаланин. Это приводит к уменьшению питательной ценности за счет обеднения белка незаменимыми аминокислотами, частичной потери усвояемости из-за межмолекулярных сшивок и накоплению антипитательных веществ. Вопрос о токсичности или безвредности для человека производных дегидроаланина пока остается открытым [3, 72].

Сравнительно недавно экспериментально (на скелетных мышцах рыбы) продемонстрировано, что лизиноаланин образуется только в очень жестких щелочных условиях при pH 12 и выше и температурах не ниже 90°С [75]. Таким образом, возможность применения относительно мягкого щелочного гидролиза для пищевых белков в настоящее время не отвергается [3, 36].

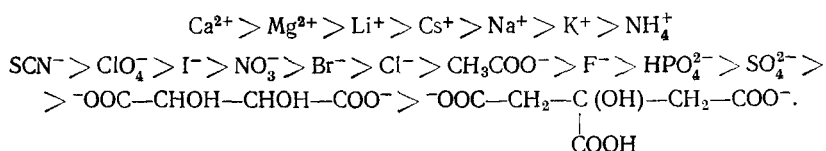
Кислотный гидролиз миофибриллярных белков не получил широкого распространения, хотя по мнению некоторых специалистов [5] он имеет преимущества по сравнению со щелочным главным образом из-за меньшей степени рацемизации аминокислот.

Один из главных недостатков гидролитических процессов — образование горьких пептидов (даже при низких степенях гидролиза белка), что особенно характерно для рыбных белковых изолятов [20, 42].

## 2. Солюбилизация белков путем солеобразования

Белки, являясь полимерными амфолитами, обладают характерной способностью взаимодействовать с катионами и анионами. Причем возможны два вида взаимодействия: образование солевых «мостиков» и специфическая сорбция ионов на поверхности белка.

По своему положительному влиянию на растворимость белка катионы и анионы располагаются в следующем порядке [76]:



Протеинаты имеют значительно более высокую растворимость по сравнению с обессоленными белками. Изменение растворимости белков связывают со специфическим взаимодействием ионов (не только электростатической природы), которое влечет за собой изменения поверхностного заряда белка и его конформации, обеспечивающие более высокую степень гидратации. Повышению растворимости белка способствует также изменение ионной силы раствора [3, 76, 77].

Использование солевых компонентов в пищевых белковых системах ограничивается их токсичностью и стоимостью. Наиболее широко употребляемыми добавками являются хлористый натрий и неорганические фосфаты [78—85].

С помощью солей часто регулируют влагоудерживающую способность мясных систем, для ее повышения обычно вводят хлористый натрий, пирофосфат или триполифосфат натрия [78, 86]. Сродство миозина к различным неорганическим фосфатам неоднозначно. Это показано на примере взаимодействия миозина с пирофосфатом (ПФ), триполифосфатом (ТПФ) и гексаметафосфатом (ГФ) натрия [83, 84]. Из них ГФ имеет наибольшее сродство к миозину, характер связывания его с миозином отличается от других низших фосфатов. В присутствии катионов

$\text{Na}^+$  и, особенно,  $\text{Mg}^{2+}$  или  $\text{Ca}^{2+}$  аффинность ТПФ и ПФ к миозину резко возрастает. Точнее, сродство миозина к этим металл-фосфатным комплексам выше, чем к самим фосфатам. На ГФ эта закономерность не распространяется, наоборот, присутствие  $\text{NaCl}$  ингибирует взаимодействие миозина с ГФ [83, 84]. Эти данные свидетельствуют о высокой степени специфичности ионных взаимодействий миофибриллярных белков.

Современная концепция о влиянии фосфат- и хлор-анионов на растворимость миофибриллярных белков сводится, в основном, к электростатическим эффектам. В результате взаимодействия анионов с миозиновыми филаментами возникают силы электростатического отталкивания, ослабляющие связывание филаментов. Предполагают, что при критической солевой концентрации в растворе некоторые типы связывания филаментов (как правило, в зонах М- и Z-линии) могут разрушаться. Кроме того, ослабляется связывание головок миозина с актином вплоть до полной диссоциации. Таким образом, введение анионов способствует деполимеризации толстых филаментов с высвобождением молекул миозина [76]. Вообще, как оказалось, неорганические фосфаты являются универсальными полифункциональными добавками к белковым изолятам мышечных тканей. Например, ГФ натрия вводят для полноты осаждения рыбного белка в виде фосфатного комплекса [47], добавка ТПФ натрия к рыбному изоляту рекомендуется для оптимизации процесса сушки [87]. Фосфаты выгодно использовать для модификации миофибриллярных белков, поскольку они обладают еще и антиденатурационным [88—90], антисептическим [82, 91—93] и антиокислительным действиями [82, 87, 94]. Фосфаты зарекомендовали себя как активные синергисты по отношению к антиоксидантам фенольного типа [94]. С другой стороны, присутствие полифосфатов повышает аффинное связывание карбонилсодержащих соединений, образующихся при окислительном распаде липидов, с актомиозином, поэтому не следует добавлять фосфаты к белковым изолятам, подлежащим обезжириванию [95].

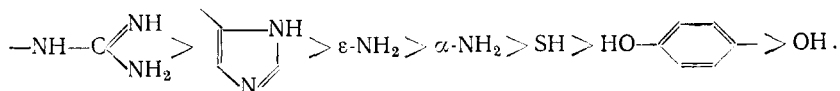
Следует также отметить способность некоторых анионов защищать актомиозин от криоденатурации. С этой целью при хранении миофибриллярных белков при низких температурах наряду с фосфатами используют глутамат, тартрат, малеат [96—98].

### 3. Ацилирование миофибриллярных белков

Один из самых распространенных приемов химической модификации пищевых белков — ацилирование [21, 59, 61, 63, 64, 99, 100]. Из ацилирующих агентов наиболее употребляемыми являются уксусный и янтарный ангидриды. Они дешевы, удобны в применении, относительно безвредны, не образуют токсичных производных с белками, отличаются высокой активностью. Реакцию ацилирования обычно осуществляют при пониженной или комнатной температуре при щелочных значениях pH.

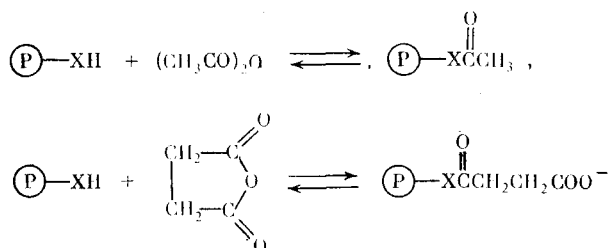
Степень участия в реакции различных нуклеофильных групп белка изменяется в зависимости от условий (главным образом от pH), характера ангидрида и влияния ингибирующих добавок.

В ряду убывающей нуклеофильности функциональные группы боковых цепей аминокислотных остатков располагаются в соответствии с их константой диссоциации:



Но на их реакционную способность могут оказывать влияние соседние по пептидной цепи группы, с которыми возможны донорно-акцепторное или электростатическое взаимодействия, либо образование водородных связей [77].

Реакции белка с уксусным и янтарным ангидридами в общем виде могут быть представлены схемами



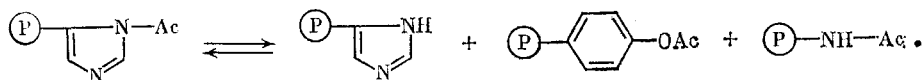
$\text{X} = \text{NH}, \text{O}, \text{S}; \textcircled{\text{P}} - \text{протеин}.$

Принципиальное различие между этими процессами заключается в том, что группировки, образующиеся в результате взаимодействия белка с уксусным ангидридом, компактны и электронейтральны. Реакцией же с янтарным ангидридом в молекулу белка вводятся более объемные отрицательно заряженные заместители. Последняя реакция вызывает более резкий сдвиг изоэлектрической точки модифицируемого белка в область кислых pH и более глубокие конформационные изменения, чем в случае ацетилирования. Этим и объясняется причина больших возможностей даже при низких степенях модификации для улучшения растворимости, эмульгирующей и пенообразующей способностей путем сукцинирования по сравнению с ацетилированием.

В принципе с ангидридами карбоновых кислот могут взаимодействовать все типы основных групп белка. Практически же главными реакционными центрами являются  $\epsilon$ - и  $\alpha$ -аминогруппы, меркаптогруппы и наиболее активные оксигруппы белка.

Высокоосновные гуанидиновые группировки аргининового остатка не ацилируются, поскольку в условиях проведения реакции (обычно pH не выше 9,5) находятся в протонированном состоянии [77].

N-Ацилимидазолпроизводные гистидинового остатка настолько активны, что сами выступают в роли ацилирующих агентов, т. е. происходит миграция N-ацильной группы с имидазольного кольца на соседние стерически доступные амино- или феноксигруппы белка [63, 64]:



Период полураспада N-Suc-имидазола при pH 8,5 составляет одну минуту [101].

Легко ацилируются концевые аминогруппы белка,  $\epsilon$ -аминогруппы лизина, SH-группы цистеина, OH-группы тирозина, менее реакционноспособны оксигруппы серина и треонина [100]. Образующиеся амидные связи стабильны, O- и S-ацильные связи, относительно устойчивые в кислой среде, быстро гидролизуются в слабощелочной (уже при pH 8,0). Особенно лабильны производные тирозина. Например, N-оксисукцинимидный эфир тирозина (O-Suc-тирозин) спонтанно дезацилируется при pH 8,0—8,5 [100, 102].

С помощью реакции с салициловым альдегидом установлено, что в нативном миоине доступные и активные  $\epsilon$ -аминогруппы лизина составляют всего лишь 2,5% от общего числа  $\epsilon$ -аминогрупп лизина, остатки средней активности — порядка 30%, прочие стерически недоступны и способны реагировать с модифицирующим агентом только после денатурации белка [103].

Влияние ацилирования на конформацию миофибриллярных белков подробно изучено на миоине и актине [104—111]. При модификации только поверхностных  $\epsilon$ -аминогрупп лизина конформация миоина не изменяется [104, 105]. Проведение сукцинирования в условиях, исключаяющих денатурацию миоина (pH 7,0; 0° C), показало, что такое хи-

мическое воздействие вызывает лишь диссоциацию легких цепей миозина, в остальной структура миозина остается интактной [106]. При аналогичном ацетилировании миозина эти наблюдения были подтверждены. Выделены и идентифицированы фракции с молекулярным весом 17 000, 19 000 и 20 000, которые представляют собой легкие цепи миозина, нековалентно связанные с субфрагментом С-1 [107, 108].

При степени модификации выше 3% молекулы миозина приобретают более развернутую конформацию, уменьшается степень спиральности [107]. При сукцинировании до 50% и выше конформации белков наносится серьезный ущерб [112].

Что касается биологической активности, то при сукцинировании (даже при низких степенях) миозином утрачивается АТФ-азная активность и способность связываться с F-актином [107].

Ацилированный миозин отличается высокой термостабильностью, т. е. устойчивостью к термокоагуляции [107].

По мнению авторов [105, 108]  $\epsilon$ -аминогруппы лизина, лежащие на поверхности (самые доступные), являются ответственными за термостабильность миозина. При модификации специфическим для аминогрупп реагентом —  $\beta$ -нафтохинон-4-сульфоновой кислотой термическая устойчивость миозина линейно повышалась с увеличением степени замещения аминогрупп от 0 до 2,5%. Вероятно, блокирование поверхностных  $\epsilon$ -аминогрупп лизина снижает способность тяжелых цепей миозина к агрегации в процессе термокоагуляции [76, 109, 110].

Исследования по влиянию химической модификации на свойства актина свидетельствуют о том, что в реакции сукцинирования, например, способны участвовать до 30% аминогрупп и до 40% SH-групп, в результате чего актин становится биологически инертным, теряя способность к полимеризации и к связыванию с миозином. Интересно, что селективное блокирование меркаптогрупп F- и G-актина не нарушает их биологической активности [111]. По-видимому, для актина так же, как и для миозина, главная роль в биореакциях отводится  $\epsilon$ -аминогруппам лизина.

Моделирование биохимических реакций показывает, насколько специфичны и сложны процессы изменения конформации белков мышечной ткани. Например, ферментативное фосфорилирование легких цепей миозина (ЛЦ-2) изменяет только пространственную ориентацию головок субфрагмента миозина С-1 [113, 114].

В работах, которые рассмотрены ниже, химической модификации подвергались белковые изоляты животного происхождения, содержащие в основном различные компоненты структурных белков. Саркоплазматические белки и липиды, как правило, удаляют, чтобы избежать окислительной порчи изолятов при хранении и лишить их специфического запаха и вкуса. Итак, главные компоненты белковых изолятов — миозин, актин, тропомиозин, минорные составляющие — тропонин и актинин [76]. По данным [76] миозин имеет всего около 17% аминокислотных остатков основного характера, 38% полярных функциональных групп, актин — 13% основных и 33% полярных, тропомиозин — 19% основных и 50% полярных. Остатки цистеина сосредоточены преимущественно в миозине (65% всех SH-групп) и актине (29% SH-групп). Доступность перечисленных группировок для химических реагентов различна в зависимости от степени денатурации модифицируемой белковой системы и природы выбранного агента.

Состав белковых изолятов зависит от объекта, рода мышечных тканей, методов выделения и обработки, степень их денатурации — от условий проведения каждой стадии процесса. Поэтому сопоставлять представленные литературные данные по модификации белковых изолятов можно в достаточной степени условно.

В работе [100] исследовалось влияние условий реакции ацилирования на свойства белковых рыбных изолятов, причем осуществлялся количественный контроль функциональных групп белка, участвующих в реакции. Установлено, что скорость ацилирования зависит главным об-



разом от pH среды. Например, при 0°С и pH 9,5 ацетируется 90% всех  $\epsilon$ -аминогрупп лизина, при pH от 8 до 8,5—85% [115], при pH 7,5—75%, при pH 6,5—65%. Тем не менее, при больших избытках уксусного ангидрида и более продолжительном времени полнота ацилирования достигается даже при pH 6,5 [100].

Скорость реакции между уксусным ангидридом и полярными группами белка SH и OH при снижении pH значительно падает. Если при pH 9,5 ацетируется 35% всех полярных групп (SH и OH), при pH 7,5—25%, то при pH 6,5 — не более 20%. Причем, меркаптогруппы цистеинового остатка подвергались модификации даже при низких концентрациях уксусного ангидрида, а скорость ацилирования тирозина возрастала лишь при высоких концентрациях ангидрида. В интервале pH 7,5—9,5 ацетировалось более 50% SH-групп цистеина, 30—40% OH-групп тирозина и порядка 20% оксигрупп серина и треонина. При сукцинировании наблюдались те же пропорции, но доля участия всех групп была несколько ниже в связи с меньшей активностью янтарного ангидрида.

Внесение ингибирующей добавки — сульфита натрия — изменяет картину ацетилирования рыбного белка: участие  $\epsilon$ -аминогрупп снижается на 20%, SH-групп — на 60%, OH-групп серина и треонина — вдвое, тирозин при этом не ацетируется совсем [100]. В процессе сукцинирования сульфит натрия сильнее всего ингибирует SH-группы, не влияя на реакционную способность OH-групп серина и треонина; O-Сустирозин не был обнаружен [100]. Следует помнить, что он легко дезацилируется [102].

Как видно, независимо от условий ацилирования, главными реакционными центрами (помимо концевых  $\alpha$ -аминогрупп) являются  $\epsilon$ -аминогруппы лизина, поэтому степень модификации белка путем ацилирования принято считать по проценту замещенных  $\epsilon$ -NH<sub>2</sub>-групп (за 100% принимают число доступных  $\epsilon$ -NH<sub>2</sub>-групп лизина в данной белковой системе).

Существуют биологические, микробиологические и химические методы определения доступного лизина в белках [116—119]. Один из самых надежных и достоверных химических способов основан на реакции первичных аминогрупп с тринитробензолсульфокислотой [119].

Изучению функциональных свойств ацилированных рыбных изолятов посвящены работы [50, 51, 87, 120—125]. Эмульгирующая активность сукцинированного изолята *Rockfish* возрастала пропорционально степени модификации. Например, при 30% модификации она составляла 1,3 г на 1 мг белка, при 77% степени модификации увеличилась вдвое [120]. Белковые изоляты хека в результате сукцинирования приобретали эмульгирующие свойства, превосходящие желатин, особенно подчеркивалась стойкость полученных эмульсий [121]. Важно отметить, что изменения эмульгирующей способности сукцинированных изолятов при разных значениях pH и введении моно- и бивалентных катионов (Na<sup>+</sup>, Ca<sup>2+</sup>) носили принципиально иной характер по сравнению с немодифицированными белками [121].

Ацетилирование и особенно сукцинирование значительно повышало пенообразующую способность рыбных белков, однако стабильность пен уменьшалась по сравнению с контрольной [51].

Подвергая ацетилированию одновременно с сукцинированием гомотенаты растительных и животных тканей, получают белковые продукты с высокими эмульгирующими и пенообразующими свойствами, наряду с высокой растворимостью и водопоглощением. Такие продукты рекомендуют использовать в качестве пищевых поверхностно-активных веществ [122—124]. Ацилированные миофибриллярные белки имеют характерный профиль растворимости: практически нерастворимы в кислой среде ниже изоэлектрической точки белка. Изоэлектрическая точка сдвинута в сторону кислых значений pH пропорционально степени модификации белка. Это связано с уменьшением количества свободных  $\epsilon$ -аминогрупп лизина. Растворимость резко возрастает при нейтральных

Таблица 1

Функциональные свойства ацетилированных и сукцинированных рыбных белков (степень модификации равноценна и составляет 50÷60%) [87]

Свойства	Ac	Suc
Эмульгирующая активность (% эмульсии) при концентрации белка 5 мг/мл	61	97
Эмульгирующая способность (г масла/100 мг белка)	53	132
Способность к гелеобразованию (минимальная концентрация белкового раствора в % для получения стабильного геля)	4	3
Пенообразующая способность (объем пены в мл)	550	600
Стабильность пены (синерезисный объем в мл)	71	32
Водопоглощение (мл воды/1 г белка)	15	20

и слабощелочных pH именно вследствие смещения изоэлектрической точки [121].

Водопоглощение изолятов *Rockfish* при ацетилировании возрастает вдвое, при сукцинировании — в 5 раз [51].

Сукцинирование приводит к повышению регидратационной способности изолятов и термостабильности белка (он не коагулировал даже при 100° С) [120].

Замечено, что ацилирование несколько снижает, но не нарушает способность к гелеобразованию: 3%-ные растворы ацетилированного белка и 7%-ные сукцинированного образовывали такие же гели, как 2%-ный раствор желатины [51].

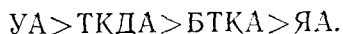
Предложен способ получения вязкоупругих гелей на основе сукцинированных в низкой степени (до 10%) белков рыбы, прочность гелей коррелирует со степенью модификации (обратная зависимость) [125].

Становится очевидным, что ацилирование рыбных белковых изолятов дает возможность использовать их в качестве мощных эмульгирующих и пенообразующих добавок к пищевым системам (табл. 1).

Поскольку сукцинированный рыбный белок по своим пенообразующим и пеностабилизирующим качествам не уступает даже яичному альбумину, по мнению авторов [87], он может заменить до 50% яичного белка в кондитерских изделиях, например, конфетах или взбитых десертных блюдах, может применяться во фруктовых десертах вместо желатины [51], в мороженом вместо казеина [50].

Добавка сукцинированного рыбного белка в мясные продукты в количестве 10—20% не ухудшает их органолептических свойств [87].

В работах по модификации мясных структурных белков методом ацилирования получены аналогичные результаты [58, 126]. Ацетилированные и сукцинированные белки сердечной мышцы крупного рогатого скота показали хорошую растворимость в водных средах при малой ионной силе и более высокую эмульгирующую активность даже при pH 6,0, чем у нативного белка при pH 7,4, что существенно для мясных систем [126]. Кроме того, для модификации были использованы ангидриды более сложного строения, такие, как 1,2,4-бензотрикарбонный ангидрид (БТКА) и 2,3,4,5-тетракарбонный диангидрид (ТКДА). В ряду реакционной способности они занимают промежуточное состояние между укусным (УА) и янтарным ангидридами (ЯА):



Все представленные ангидриды, исключая УА, значительно медленнее реагировали с SH- и OH-группами белка, чем с аминогруппами. При самых высоких избытках ангидрида в реакцию вступало не более 1/4 всех SH-группировок цистеина, не обнаружено продуктов реакции ЯА с серином и треонином. Во всех случаях отмечено резкое возрастание растворимости производных даже при низких степенях модификации

[126]. К сожалению, не приводится данных по усвояемости новых модифицированных белков.

Суммируя данные по ацилированию миофибриллярных белков, следует подчеркнуть, что в результате ацилирования (в зависимости от природы ацилирующего агента и условий реакции) в различной степени изменяется суммарный заряд макромолекулы, изоэлектрическая точка сдвигается в кислую область. Как правило, уменьшается степень спиральности, что влечет за собой повышение гидрофобности. Возрастает склонность к диссоциации на субъединицы, уменьшается тенденция к специфической полимеризации. Упрощая картину реальных изменений модифицированной белковой системы, со сдвигом гидрофильно-гидрофобного баланса в сторону увеличения гидрофильности обычно связывают повышение растворимости, влагоудерживающей способности, набухаемости; возрастанием гидрофобности часто объясняют повышение эмульгирующей и пенообразующей способности.

Набор химических реагентов, применявшихся для модификации миофибриллярных пищевых белков, к сожалению, чрезвычайно беден. В литературе, касающейся мышечных белковых изолятов, нет сведений о таких перспективных методах, как например фосфорилирование, дезаминирование, этерификация.

При сравнении химических средств регулирования функциональных свойств с ферментативными важно отметить следующее. Химическая модификация не приводит к потере связывающих и желирующих свойств белков, что наблюдается при ферментативных реакциях. Степень протеолитического распада сильнее влияет на функциональные свойства белковой системы, чем степень химической модификации. В то же время заданный уровень химической модификации легче обеспечить, чем строго определенную глубину протеолиза. С точки зрения получения высокофункциональных изолятов, стабильных при хранении и в процессе обработки в конкретной пищевой системе, химическая модификация имеет преимущества по сравнению с ферментативной (см. гл. VI). Однако некоторые виды химической модификации в различной степени снижают питательную ценность пищевых белков и их усвояемость, чего не происходит при ферментативной обработке.

#### IV. КОМПЛЕКСНАЯ ХИМИЧЕСКАЯ И ФЕРМЕНТАТИВНАЯ МОДИФИКАЦИЯ БЕЛКОВ

В ряде случаев весьма эффективно была применена комплексная химическая и ферментативная обработка пищевых мышечных белков [50, 51]. Слабое гидролитическое воздействие бромелина на сукцинированный белок *Rockfish* позволяет получать превосходные по объему и стабильности пены при концентрациях белка 3—4% в широком диапазоне рН. Стабильность этих пен была выше, чем полученных на основе яичного и соевого белков [50]. Максимальный положительный эффект по улучшению пенообразующих свойств был достигнут мягким протеоллизом сукцинированных на 40—50% рыбных белков [51, 127].

Однако эта же процедура во всех опробованных режимах приводила к снижению эмульгирующей активности, гелеобразования и набухаемости [51, 127].

Авторы [20] сообщают, что независимо от последовательности проведения процессов ацилирования и протеолиза рыбных белков получают продукты с аналогичными функциональными свойствами. Хотя, в принципе, результаты не должны быть однозначными. Если на первом этапе осуществлять химическую модификацию, а затем ацилированные белки подвергать протеолизу, то в этом случае протеолиз протекает медленнее, а некоторые пептидные связи не расщепляются совсем. Таким образом должны получаться более крупные фрагменты белковых молекул, химически модифицированные в меньшей степени. Если при прочих равных условиях указанные процессы поменять местами, то протеолиз протекает беспрепятственно, образовавшиеся фрагменты белка,

имеющие большее число доступных реакционных групп, вступают в химическую реакцию. Этот путь должен приводить к более глубоким химическим превращениям меньших по размеру белковых фрагментов.

Исходя из этих предположений, можно рекомендовать первый способ для активации поверхностных свойств белка, а второй — для повышения его растворимости. С точки зрения сохранения питательной ценности белка первый метод предпочтительнее второго.

Другой аспект удачного применения комплексной химической и ферментативной модификации белка — ковалентное привязывание аминокислот или их эфиров с помощью ферментов [55, 56, 127, 128]. Используя папанн, авторы [127] осуществили ковалентное присоединение алкиловых эфиров лейцина к сукцинилизированному рыбному белку. Варьируя длину углеводородной цепочки алкилового эфира лейцина, они получили суперактивные эмульгаторы и пенообразователи: алкил  $C_4-C_8$  соответствует максимальной пенообразующей активности, а  $C_{10}-C_{12}$  — максимальной стабильности пен и эмульгирующей активности.

Для ковалентного «пришивания» аминокислот к белку часто используют трансклутаминазу [55, 56, 128, 129]. Эффективность реакции присоединения аминокислотного остатка возрастает, если аминокислотные группы атакуемого белка предварительно ацилированы. Тогда не происходит межмолекулярных сшивок, которые снижают перевариваемость белка. После ферментативной обработки аминокислотные группы могут быть регенерированы. Для обратимого ацилирования используют малеиновый, 2,3-диметилмалеиновый и цитраконовый ангидриды, N-ацильные остатки которых отщепляются в кислой среде. Этот способ рекомендуется для повышения растворимости и эмульгирующей способности белковых изолятов из растительного и животного сырья [55, 56].

В качестве пищевого антифризного агента предлагается использовать рыбные белки, к которым ферментативным методом «пришиты» эфиры гидрофобных аминокислот (лейцина, норлейцина, аланина). Алкильный остаток эфирной группы тоже должен быть гидрофобен  $R=C_8-C_{16}$ . Антифриз такого рода нетоксичен и очень эффективен при хранении пищевых продуктов в свежем виде при низких температурах [129].

## В. ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ МОДИФИКАЦИИ

Физико-химические методы воздействия на изолированные пищевые белки включают следующие приемы: комплексообразование с природными биополимерами (белками, полисахаридами и т. п.), а также с мономерными соединениями (углеводами, липидами); механическое воздействие разного рода, термическую обработку и т. д.

Обширные исследования в этом плане проведены Толстогузовым и соавт. на белках растительного происхождения [3, 130].

Изменения функциональных свойств пищевых белков можно добиться, варьируя гидрофильно-гидрофобный баланс белковой системы за счет специфических белок-белковых взаимодействий. Достаточно большой интерес вызывают работы по изучению конъюгатов миозина с растительными белками [131—138]. Замечено, что при нагревании смешанных растворов миозина и 11S глобулинов сои образуются агрегаты-гибриды [131]. К взаимодействию способны субъединицы основного характера, образующиеся при частичной диссоциации 11S глобулинов, и тяжелые цепи миозина. Причем, степень связывания повышается при возрастании температуры в интервале от 85 до 100°С. Вследствие термоденатурации происходит конформационная перестройка субъединиц, сопровождающаяся агрегацией с образованием качественно новых энергетически выгодных белковых комплексов. Существенную роль в этом процессе играют гидрофобные взаимодействия [132].

Аналогичным образом при температурах выше 85°С миозин способен агрегировать с  $\beta$ -конглицинином [133]. Образование смешанных конъюгатов можно фиксировать с помощью гель-электрофореза. Полученные агрегаты отличались высокой растворимостью и термостабильностью.

Последнее свойство позволило подвергать пастеризации мясные системы с добавками соевого белка [134, 135].

При нагревании растворов актомиозина с фракцией соевого белка «СІF» наблюдали образование прочных гелевых структур нового типа [136, 138]. Денатурированный соевый белок определенным образом ассоциировался с актомиозиновой сеткой, причем по данным электронной сканирующей микроскопии получаемая структура значительно отличалась от структуры термогелей, образуемых индивидуальными компонентами. По предположению авторов, в данном случае возможно образование дисульфидных связей между двумя белковыми партнерами [136].

Гибридные белковые комплексы могут быть также получены путем межмолекулярной кросс-сшивки. Исследована возможность ковалентного связывания миоина с глобулярными белками, такими как белок сои, казеин, глютен за счет образования амидной связи между  $\gamma$ -карбоксильными группами глутаминовой кислоты и  $\epsilon$ -аминогруппами лизина, как в присутствии, так и в отсутствие фермента-активатора (трансглутаминазы) [55, 56, 128, 137]. Оптимальные условия связывания зависят от природы обоих компонентов. Процент связывания миоином соевого белка и клейковины увеличивался при повышении pH среды и температуры, связыванию казеина благоприятствовали повышение температуры и понижение pH. При участии фермента с 1 г миоина максимально связывается: 0,58 г казеина, 0,30 г глютена и 0,15 г соевого белка [128].

Комплексообразование по типу белок-белкового взаимодействия нашло практическое применение прежде, чем получило научное толкование. Еще в работе [87] было отмечено, что совместное высушивание белков различной природы приводит не только к получению высокопитательных белковых смесей, но и к сохранению их функциональных свойств на высоком уровне. Например, вместо добавления хлористого натрия и фосфатов к рыбным белкам для оптимизации сушки более выгодно высушивать смеси рыбных и зерновых белков, что наряду с выигрыванием функциональных свойств белкового концентрата дает положительный экономический эффект. Зерновыми добавками (от 10 до 30 мас.%) могут служить пшеница, рис и практически любая мука [87, 139].

Добавки растительных белков к мясным полуфабрикатам благодаря комплексообразованию обеспечивают минимальную потерю влагоудерживающей способности системы при термообработке [140].

Высокими функциональными свойствами, как правило, обладают конъюгаты белков с углеводами. Давно известна способность углеводов предохранять мышечные белки от денатурации как при низкотемпературных режимах, так и при термообработках [19]. Антиденатурационная способность сахаридов по отношению к рыбным белкам падает в ряду: мальтоза > сорбит > сахароза  $\approx$  мальтит > глюкоза > лактит. Причем, при отрицательных температурах углеводы обладают высоким защитным действием при более низких концентрациях [141—143]. При совместном высушивании рыбных белков с моносахаридами получают комплексы, отличающиеся высокой гидрофильностью. Растворимость таких комплексов пропорциональна процентному содержанию сахара и зависит от природы последнего. По влиянию на растворимость аддукта с рыбным белком испытанные моносахариды соотносятся следующим образом: глюкоза  $\gg$  сахароза > фруктоза [19]. Аналогичными свойствами обладают глицерин и частично гидролизованный крахмал [19]. Растворимость конъюгатов рыбного белка с крахмалом составляет 25% от растворимости свежевыделенного белка.

Высушивая рыбный белок с 10%-ми добавками глюкозы, сорбитола или сахарозы, получают комплексы с высокой эмульгирующей активностью и повышенной термостабильностью. Однако они частично теряют свою питательность вследствие протекания реакции Майяра [19].

С помощью комплексообразования (например, с углеводами) можно улучшить способность к гелеобразованию ацилированных миофибриллярных белков. Например, агрегирование сукцинированных рыбных

белков с глюконо-дельта-лактоном приводит к получению гелей, отличающихся высокой прочностью и образующихся даже в системах, содержащих масла [121].

Добавки глюконо-дельта-лактона и лимонной кислоты способствуют лучшему сохранению функциональных свойств измельченной говядины [86].

Наряду с нуклеотидами от денатурации предохраняют связанные с миофибриллярными белками липиды. Механизм защитного действия требует дальнейшего изучения [62, 144, 145].

Некоторые функциональные свойства мясных систем можно изменять такими простыми приемами, как тепловая обработка. Подбором оптимальных режимов (температуры и давления) регулируют влагоудерживающую способность, нежность, сочность и прочие свойства образцов мяса различного качества [146—148]. Происходящие изменения свойств объясняют частичным или полным разрушением отдельных составляющих миофиламентов: коннектина и небулина [148].

Известно, что простая механическая обработка белков, как животных так и растительных, например измельчение на вибромельнице, позволяет улучшить их растворимость и влагоудерживающую способность вследствие механической деградации саркомеров [148, 149].

Намного эффективнее комплексная механо-химическая модификация. При различных режимах обработки рыбных гомогенатов уксусным или янтарным ангидридом в вибромельнице удастся значительно повысить их влагоудерживающую способность, пенообразующую способность и способность стабилизировать пены [149, 150].

Можно предположить, что из физико-химических методов воздействия наиболее перспективным является путь комплексообразования: он не имеет выраженных недостатков или ограничений, как химическая или ферментативная модификация (с точки зрения токсичности или потери питательной ценности). Вообще, как показывает практика, лучшие результаты по преобразованию функциональных свойств пищевых белков могут быть достигнуты при умелом комбинировании различных приемов модификации, например химической с ферментативной или химической с комплексообразованием.

## **VI. ПИТАТЕЛЬНАЯ ЦЕННОСТЬ И БИОДОСТУПНОСТЬ МОДИФИЦИРОВАННЫХ ПИЩЕВЫХ БЕЛКОВ**

Среди всех перечисленных способов модификации пищевых белков химическая обработка вызывает особые опасения с точки зрения токсичности и биодоступности белка. Главным недостатком химической модификации считается снижение питательной ценности пищевых белков. Действительно, воздействие химических реагентов приводит к определенной потере биодоступности белка (различной для каждого вида химической модификации и природы модифицируемого объекта). Вместе с тем, блокирование наиболее реакционноспособных групп белка приводит к получению хотя и менее питательных, но зато более стабильных нетоксичных продуктов.

Потеря питательной ценности и снижение усвояемости белковых продуктов — это те негативные явления, которые сопровождают любой традиционный процесс обработки белка (сушка, консервирование, кулинарная обработка и даже процесс хранения) [36, 151]. Они обусловлены участием в тех или иных химических превращениях активных боковых функциональных группировок, принадлежащих незаменимым аминокислотам. К разряду наиболее реакционноспособных групп белка относятся  $\epsilon$ -аминогруппы лизина и SH-группы цистеина. Например, в процессе хранения как мороженой рыбы, так и сухих рыбных изолятов, происходит образование нежелательных побочных продуктов, одним из которых является формальдегид. Он легко реагирует с амино-, меркапто-, оксигруппами белка, в меньшей степени — с амидными группами, снижая усвояемость белка [152, 153]. Имеет место взаимодействие миозина с некото-

рыми свободными аминокислотами даже при минус 20° С, причем реакции белка с таурином, лизином и гистидином приводят к ускорению денатурационной агрегации белка [97].

При окислительной деградации липидов процент утилизируемого белка (рыбы или мяса) может снизиться вдвое, максимальный ущерб при этом наносится триптофану, лизину, гистидину, метионину и цистеину [36, 154, 155].

В процессе тепловой обработки рыбы при температурах, начиная с 50° С, происходит интенсивное окисление меркаптогрупп цистеина с образованием дисульфидных связей. Причем большее снижение усвояемости наблюдали на тощей рыбе по сравнению с жирной. По-видимому, SH-группы, ответственные за связывание с липидами, оказываются защищенными от окисления [156]. При нагревании белков от 80° С и выше возможно также взаимодействие ε-аминогрупп лизина с доступными карбоксильными группами глутаминовой и аспарагиновой аминокислот [157, 158]. Эта же реакция может инициироваться не термическим, а ферментативным воздействием [159], что, естественно, приводит к снижению доступного лизина.

Отмечено смещение изоэлектрической точки белка рыбных концентратов с pH 5,0 до 4,5 в результате лиофильной сушки, это неоспоримое свидетельство участия ε-аминогрупп во внутри- и межмолекулярных сшивках белка [19].

При консервировании рыбы не только не удастся избежать снижения усвояемости белка, примерно на 15% [160], но требуется осуществлять постоянный контроль за накоплением потенциально токсичных соединений, образующихся вследствие протекания реакции Майяра в процессе стерилизации, как это показано на примере лосося и камбалы [161].

В ряду аминокислот лизин — самый активный участник реакции с сахарами [162]. Для целого ряда пищевых белков найдена линейная зависимость снижения усвояемости вследствие потери доступного лизина, именно из-за реакции Майяра [74]. В связи с этим рекомендуют уделять серьезное внимание анализу пищевых систем с относительно высоким содержанием углеводов, если они подвергаются термообработкам [74, 163]. Показано, например, что если в системе, основу которой составляет рыбный белок 18%-ной влажности, добавлено 10% глюкозы, то за 19 дней при температуре 35° С произойдет потеря половины доступного лизина [163]. Для ингибирования реакции Майяра используют добавки типа сульфита натрия (или SO<sub>2</sub>), но эта мера не является универсальной [153].

Ацилирование белков значительно снижает возможность протекания этой нежелательной реакции, а также других побочных реакций, которым подвергается немодифицированный белок в процессах щелочной и термической обработки, при хранении и сушке [36, 153, 157, 158, 164, 165].

Отдельные виды модификации пищевых белков, особенно химическая, приводят к глубоким изменениям структуры белка. В связи с этим исследования биодоступности, усвояемости, путей метаболизма модифицированных систем выступают на первый план наряду с другими комплексными медикобиологическими проблемами относительно токсичности, канцерогенности и мутагенности новых пищевых продуктов [166—169].

В последние годы наметилась определенная тенденция к снижению содержания поваренной соли в продуктах питания человека [58]. При использовании пищевых белков в виде протеинов должен быть найден оптимальный предел содержания неорганических ионов, не отражающийся на здоровье человека. В тех случаях, когда для солюбилизации белков применяют метод щелочного гидролиза, необходимо проводить обессоливание продукта [87, 170—172].

В работе [173] подробно исследовались питательные свойства белкового изолята из мышечной ткани цыпленка в сравнении с механически отделенной мышечной тканью в виде гомогената. Показано, что процесс щелочной экстракции с последующим кислотным осаждением не нано-

сит сколько-нибудь ощутимого ущерба питательной ценности белка, тогда как функциональные свойства его при этом значительно ухудшаются [173].

Что касается химически модифицированных пищевых белков, то больше всего информации в плане медико-биологических испытаний относится к ацилированным белкам. Поскольку имеющиеся в литературе данные носят довольно противоречивый характер, то, по-видимому, целесообразно сопоставить сведения, относящиеся к ацилированным белкам различной природы.

Как известно, в процессе ацилирования белка снижается содержание доступного лизина. Роль лизина в питании человека и животных чрезвычайно важна. Дефицит этой незаменимой аминокислоты вызывает серьезные нарушения обменных процессов, в первую очередь — липидного обмена [174]. Несмотря на то, что набор методов по определению доступного лизина *in vivo* вполне удовлетворителен [2], интерпретация полученных экспериментальных данных часто бывает осложнена побочными эффектами [172]. От того, насколько корректно осуществляются биологические испытания, зависят перспективы химической модификации пищевых белков. Главным образом дискутируется вопрос об усвояемости лизина из его  $\epsilon$ -амидных производных. Деацилазная активность изучалась на животных достаточно детально. Еще в 1943 г. были получены данные о частичном усвоении  $\epsilon$ -Ас-лизина молодыми крысами [175]. Скорость роста подопытных животных, получавших  $\epsilon$ -Ас-лизин перорально, уступала контрольным показателям. Но при удвоении дозы  $\epsilon$ -Ас-лизина разница в росте крыс была неотличима. При внутрибрюшинном способе введения  $\epsilon$ -Ас-лизина также было отмечено частичное усвоение лизина животными [175]. Эти данные согласуются с выводами целого ряда работ в том плане, что из рациона, содержащего  $\epsilon$ -Ас-лизин, крысами усваивается примерно 50% лизина, мышами — около 30% [157, 158, 176—178].

Используя ди-, три- и тетрапептиды, содержащие  $\epsilon$ -Ас- и  $\epsilon$ -Сус-лизиновый остатки, в качестве моделей фрагментов ацилированного белка, исследовали их протеолиз *in vitro* под действием ферментов желудочно-кишечного тракта [179, 180]. Все  $\alpha$ -пептидные связи, граничащие с модифицированным лизином, в отличие от  $\epsilon$ -амидной связи, расщеплялись в соответствии с природой испытуемого фермента. Однако начальные скорости протеолиза были ниже при атаке  $\epsilon$ -Ас- и особенно  $\epsilon$ -Сус-пептидов [179].

Одним из малоисследованных аспектов процесса усвоения ацилированных белков является этап всасывания продуктов их гидролиза. В экспериментах на изолированной тонкой кишке цыпленка показано, что  $\epsilon$ -Ас-лизин всасывается клетками слизистой оболочки почти так же легко, как свободный лизин, а  $\epsilon$ -Сус-лизин — значительно хуже. Лизин, модифицированный производными жирных кислот или глутаминовой кислоты, практически не транспортируется через тонкую кишку цыплят [180].

Результаты работы [181] демонстрируют избирательную активность почечных ацилаз животных: дезацилированию подвергаются только  $\epsilon$ -формил- и  $\epsilon$ -Ас-производные лизина. Дезацетилирование  $\epsilon$ -Ас-лизина тканевым гомогенатом почек цыплят происходит довольно интенсивно (в течение 4 ч отщепляется 30%  $\epsilon$ -Ас-групп). Приведенные данные свидетельствуют о том, что, хотя  $\epsilon$ -ацилированные белки биodeградебельны, с точки зрения истинной утилизации ацетилированные производные имеют несомненные преимущества по сравнению со всеми прочими ацилированными белками.

С помощью микробиологического теста убедительно показано, что ацилирование окси- и меркаптогрупп казеина не снижает его питательной ценности. В тех случаях, когда были ацилированы  $\epsilon$ -аминогруппы лизина, биологическая ценность белка падала с ростом ацильного радикала. Биологическая ценность казеина снижалась со 100 до 48% при ацетилировании (степень модификации 35%) и до 12% при сукцинили-



ровании (степень модификации 74%) [182]. Низкая и средняя степень сукцинилирования казеина и лактальбумина почти не снижают их питательной ценности, как показано ферментативным путем *in vitro* и ростовыми тестами на крысах [183, 184]. Сообщается, что мыши, выкармливаемые ацетилованным в высокой степени казеином, росли, развивались и размножались [178]. Однако они были мельче и хуже контрольных животных, имели меньший по численности помет. Цыплята, получавшие ацетилованный яичный альбумин (степень модификации 67%) и сукцинилованный яичный альбумин (степень модификации 55%), по мере роста давали привес, больший в первом варианте, меньший во втором. Но обе группы уступали по скорости роста контрольным животным. В том случае, когда к ацетилованному яичному альбумину добавляли лизин, рост цыплят нормализовался [172].

Биодоступность сукцинилованного белка одноклеточных снижалась в 10 раз, оценку осуществляли *in vitro* с использованием ферментной системы пепсин — панкреатин [185].

При ацетиловании белков, дефицитных по лизину, снижение биологической ценности мало ощутимо. При полном ацетиловании белкового изолята из *Vicia-faba* не было замечено падения питательной ценности [186]. Сопоставим эти данные со сведениями, касающимися питательной ценности ацилированных мышечных белков.

Гронингер и соавт. [115] исследовали *in vitro* атакуемость рыбного белка, ацетилованного на 50% и сукцинилованного на 40%, пепсином и трипсином. Они сообщили, что скорость протеолиза пепсином не изменилась по сравнению с немодифицированным белком. Трипсин же в меньшей степени гидролизует сукцинилованный и еще хуже ацетилованный белок, что согласуется с данными [187].

В работе [121] оценивали биодоступность сукцинилованного на 90% рыбного белка по проценту лизина, высвобождающегося под действием панкреатина *in vitro*. Биодоступность модифицированного белка упала в 10 раз.

На нескольких поколениях крыс и мышей показано, что употребление ацетилованных и сукцинилованных рыбных белков [87], а также как и ацетилказеина, не оказывает вреда [188]. Гистологические исследования срезов печени, легких, почек, надпочечников подопытных животных не выявили патологии, никаких изменений самих внутренних органов не было замечено [87, 188].

Процесс метаболизма ацетилованных и сукцинилованных рыбных белков на крысах изучали, вводя радиоактивную метку  $^{14}\text{C}$  в  $\epsilon$ -амидную группу белка [115]. Степень утилизации белка оценивали по распределению  $^{14}\text{C}$  в углекислом газе и моче животных. При введении внутривенно раствора  $\epsilon$ -Suc-лизина или гидролизата Suc-белка с мочой выводится 87% и 93%  $\epsilon$ -Suc-лизина соответственно, при введении их перорально из организма выводилось 75 и 72%  $\epsilon$ -Suc-лизина. По окончательным данным при внутривенном способе введения  $\epsilon$ -Suc-лизин не усваивается совсем,  $\epsilon$ -Ac-лизин усваивается примерно на 25%. При пероральном введении крысами усваивается около 14% лизина из  $\epsilon$ -Ac-лизина и примерно 50% лизина из ацетилованного белка [115]. Отмечают, что метаболизм сукцинилованных производных протекает значительно медленнее, чем ацетильных [115].

Предполагают, что частичная утилизация лизина при пероральном употреблении ацильных производных лизина или ацилированных белков может быть достигнута за счет деятельности кишечной микрофлоры [180, 189, 190].

Усвоение лизина при биодеградации ацилированных белков происходит с более высоким коэффициентом утилизации, чем усвоение лизина из его  $\epsilon$ -амидных производных [166, 190, 191]. Различие механизмов этих процессов подтверждается экспериментально [180]. При моделировании процесса мембранного пищеварения на изолированной тонкой кишке цыпленка замечено, что происходит частичное дезацетилирование  $\epsilon$ -Ac-лизинсодержащих пептидов, хотя отщепления  $\epsilon$ -Ac-группы от  $\epsilon$ -Ac-

Таблица 2

## Биологическая ценность ацилированных пищевых белков

Белок	Степень модификации, %	Коэффициент эффективности белка, %	Ссылки
Казеин	0	100	—
Ас-Казеин	35	48	[182]
Suc-Казеин	74	12	[182]
Ас-Казеин	100	64	[188]
Suc-Казеин	100	12	[188]
РБК *	0	110	[120]
Suc-РБК	30—40	79	[120]
РБК	0	101	[115]
Ас-РБК	50	103	[115]
Ас-РБК	75	85	[115]
Suc-РБК	25	96	[115]
Suc-РБК	40	73	[115]
Suc-РБК	75	35	[87]
РБК	0	41	[121]
Suc-РБК	90	4	[121]
Казеин	—	2,5**	[58]
Миофибриллярный белок сердечной мышцы быка (МБСМБ)	—	2,83**	[58]
Ацетилованный МБСМБ	—	2,55**	[58]
Сукцинилованный МБСМБ	—	2,36**	[58]

\* РБК — рыбный белковый концентрат.

\*\* В г/г привеса.

лизина в тех же условиях не наблюдалось [180] (табл. 2).

Что касается утилизации белков с ковалентно пришитыми аминокислотами, то этот аспект требует дополнительного изучения. Метаболизм таких белков несомненно затруднен [117], поскольку образованная изопептидная связь не расщепляется пищеварительными ферментами, а сами изопептиды не всасываются в кровь, как это показано на примере глутамилсодержащих изопептидов [180]. С точки зрения авторов [64—66] биодоступность белков с изопептидными фрагментами определяется природой пришитых аминокислот и их стерической доступностью для фермента.

На наш взгляд вместо ковалентного привязывания аминокислот более рационально обогащение белковых изолятов добавками полиаминокислот. Превосходное усвоение полилизина служит основанием для такой рекомендации [66, 192].

Сомнение вызывает биодоступность гибридных белковых конъюгатов, полученных сшивкой остатков глутаминовой кислоты и лизина [128, 137]. Однако по мнению авторов [137, 193, 194] глутамиллизин-сшитые белки полностью усваиваются в кишечнике, хотя, как правило, скорость метаболизма предельно низка.

Объективная оценка и своевременное внедрение перспективных методов модификации белковых изолятов позволят интенсифицировать использование пищевых белков из традиционных и нетрадиционных источников для получения новых продуктов массового потребления.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Химия и обеспечение человечества пищей/Под ред. Л. Шимилта. М.: Мир, 1986. 189 с.
2. Высоцкий В. Г., Тутельян В. А.//Обз. инф. ВНИИ мед. и мед.-техн. инф. Гигиена. 1987 № 1. С. 1.
3. Толстогузов В. Б. Новые формы белковой пищи. М.: Агропромиздат. 1987. 303 с.
4. Микеладзе Г. Г.//Пищ. и перерабат. промышл-сть. 1987. № 10. С. 42.
5. West S. I.//J. Chem. Technol. and Biotechnol. 1984. V. 34. № 3. P. 176.
6. Чанева М., Георгиева Ф., Далев П.//Биотехнология и биотехника. 1986 № 4. С. 34.
7. Рогожин С. В.//Вестн. АН СССР. 1986. № 1. С. 73.

8. Черногорцев А. П.//Рыбное хозяйство. 1984. № 5. С. 68.
9. Гамуйло А. П., Кузьмичева Г. М.//Комплексная переработка промысловых беспозвоночных. Калининград, 1986. С. 83.
10. Соломко Г. И., Майструк П. Н., Соколова А. Г.//Рацион. питание. Киев, 1983. № 18. С. 9.
11. Байдалинова Л. С., Кузьмичева Г. М., Перова Л. И.//Исследования по технологии рыбных продуктов. Калининград, 1980. С. 36.
12. Байдалинова Л. С., Кузьмичева Г. М., Юркина Е. А. и др.//Использование биоресурсов Атлантического океана на пищевые цели. Калининград, 1983. С. 95.
13. Соломко Г. И.//Рыбное хозяйство. 1986. № 8. С. 62.
14. Соколова А. Г.//Рациональное питание. Киев, 1980. № 15. С. 47.
15. Борисочкина Л. И.//Рыбное хозяйство. 1985. № 7. С. 1.
16. Борисочкина Л. И.//Там же. 1987. № 2. С. 61.
17. Piclet G.//Can. nutr. et diét. 1987. V. 22. № 4. P. 317.
18. Mai J., Shetty J. K., Kan T.-M. et al.//J. Agric. Food Chem. 1980. V. 28. № 4. P. 884.
19. Spinelli J., Koury B., Miller R.//J. Food Sci. 1972. V. 37. № 4. P. 599.
20. Spinelli J., Groninger H., Koury B. et al.//Progress Biochemistry. 1975. V. 10. P. 31.
21. Kinsella J. E.//CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition. 1976. V. 7. № 3. P. 219.
22. Kinsella J. E.//Food Chem. 1981. V. 7. P. 273.
23. Kinsella J. E.//Food Protein Deterioration: Mechanisms and Functionality/Ed. J. P. Cherry, Washington, DC: ACS Symposium Ser., Amer. Chem. Soc. 1982. P. 301.
24. Kinsella J. E.//Food Proteins. Proc. Kellogg Found Int. Symp. Cork. 21—24 Sept. 1981./Eds P. F. Fox, J. J. Condon L. et al.: Appl. Sci. Publ., 1982. P. 51.
25. Nakai S.//J. Agric. Food Chem. 1983. V. 31. № 4. P. 676.
26. Курузова Г. Д., Угарова Н. Н., Березин Н. В.//Успехи химии. 1984. Т. 53. В. 11. С. 1852.
27. Whitaker J. R.//Food Proteins. Improvement through Chemical and Enzymatic Modification./Eds R. E. Feeney, J. R. Whitaker. Washington, DC: Amer. Chem. Soc. 1977. P. 95.
28. Richardson T.//Ibid. 1977. P. 185.
29. Whitaker J. R., Puigserver A. J.//Modification of Proteins Food Nutritional and Pharmacological Aspects/Eds R. E. Feeney, J. R. Whitaker. Adv. Chem. Ser. 198. Washington, DC: Amer. Chem. Soc. 1982. P. 57.
30. Haard N. F., Feltham L. A. W., Helbig N. et al.//Ibid. 1982. P. 223.
31. Richardson T.//Food Protein Deterioration: Mechanisms and Functionality/Ed. J. P. Cherry. ACS Symp. Ser. Washington, DC: Amer. Chem. Soc. 1982. P. 31.
32. Matheis G., Whitaker J. R.//J. Food Biochem. 1984. V. 8. № 3. P. 137.
33. Комиссарова Н. Ю., Судьина Н. М.//Рыбное хозяйство. 1984. № 3. С. 17.
34. Борисочкина Л. И.//Там же. 1976. № 5. С. 47.
35. Kusayama Y.//Up-to-Date Food Progress. 1987. V. 22. № 5. P. 32.
36. Richardson T., Kester J. J.//J. Chem. Educ. 1984. V. 61. P. 325.
37. Whitaker J. R.//Food Technology. 1978. V. 32. № 5. P. 175.
38. Lowey S.//Fibrous Proteins: Scientific, Industrial and Medical Aspects/Eds D. A. D. Parry, L. K. Creamer. L.: Acad. Press. 1979. P. 1.
39. Hale M. B.//Food Technol. 1969. V. 23. P. 107.
40. Chéftel C., Ahern M., Wang D. et al.//J. Agric. Food Chem. 1971. V. 19. P. 155.
41. Sampedro G., López-Benito M., Pastoriza L.//Inf. téchn. Inst. invest. pesq. 1983. № 108. P. 20.
42. Hermansson A. M., Sivik B., Skjoldebrand C.//Lebensm. Wiss. Technol. 1971. B. 4. S. 201.
43. Guigor Y., Solms J.//Chemical Senses and Flavour. 1976. V. 2. P. 71.
44. Bressani R.//J. Amer. Oil Chem. Soc. 1981. V. 58. № 3. P. 392.
45. Орлова Т. А., Флейдер К. А.//Технология рыбных продуктов. Мурманск, 1981. С. 107.
46. Du Bois M. W., Anglemier A. F., Montgomery M. W.//J. Food Sci. 1972. V. 37. № 1. P. 27.
47. Spinelli J., Koury B., Miller R.//Ibid. 1972. V. 37. № 4. P. 604.
48. Spinelli J., Koury B. Пат. 3826848 США/РЖХим. 1975. 8Р203П.
49. Groninger H. S., Miller R.//J. Fish. Res. Board Can. 1974. V. 31. P. 477.
50. Groninger H. S., Miller R.//J. Food Sci. 1975. V. 40. P. 327.
51. Miller R., Groninger H. S.//Ibid. 1976. V. 41. P. 268.
52. Smith D. M., Brekke C. J.//Ibid. 1984. V. 49. P. 1525.
53. Smith D. M., Brekke C. J.//J. Agric. Food Chem. 1985. V. 33. № 4. P. 631.
54. Smith D. M., Brekke C. J.//J. Food Sci. 1985. V. 50. № 2. P. 308.
55. Chiba H., Yoshikawa M., Ikura K. et al.//Res. Food Sci. and Nutr. Proc. VI Int. Congr. Food Sci. and Technol./Ed. J. V. McLoughlin et al. Dublin: Boole Press, 1983. V. 2. P. 57.
56. Мотоки Масао, Фунао Сикки, Такисаки Коити. Заявка 59-21 0097 Япония//РЖХим. 1985. 240252.
57. Viniestra G. C.//Proc. IX Int. Nutr. Cong. 1975. V. 3. P. 91.
58. Brekke C. J., Eisele T. A.//Food Technology. 1981. V. 35. № 5. P. 231.
59. Means G. E., Feeney R. E. Chemical Modification of Proteins. San Francisco: Holden-Day, Inc., 1971.
60. Shukla Triveni P.//Food Protein Deterioration: Mechanisms and Functionality/Ed. J. P. Cherry. ACS Symp. Ser. Washington, DC: Amer. Chem. Soc. 1982. P. 275.

61. *Schwenke K. D.*//Nahrung. 1978. B. 22. № 1. S. 101.
62. *Ryan D. S.*//Adv. Chem. Ser. 1977. V. 160. P. 67.
63. *Feeney R. E.*//Ibid. 1977. V. 160. P. 3.
64. *Feeney R. E., Jamasaki R. B., Geoghegan K. F.*//Ibid. 1982. V. 198. P. 3.
65. *Puigserver A. J., Gaertner H. F., Sen L. C. et al.*//Ibid. 1982. V. 198. P. 149.
66. *Whitaker J. R.*//Protein Tailoring for Food and Medical Uses/Eds. R. E. Feeney, J. R. Whitaker. N. Y.: Acad. Press, 1987. P. 41.
67. *Arai S., Watanabe M., Hirao N.*//Ibid. 1987. P. 75.
68. *Tannenbaum S. R., Ahern M., Bates R. P.*//Food Technol. 1970. V. 24. № 5. P. 604.
69. *Tannenbaum S. R., Bates R. P., Brodfeld L.*//Ibid. 1970. V. 24. № 5. P. 607.
70. *Moorjani M. N., Vasantha M. S.*//J. Food Sci. and Techn. 1973. V. 10. № 1. P. 3.
71. *Nashef A. S., Osuga D. T., Lee H. S. et al.*//J. Agric. Food. Chem. 1977. V. 25. № 2. P. 245.
72. *Finot P. A.*//Adv. Chem. Ser. 1982. V. 198. P. 91.
73. *Whitaker J. R., Feeney R. E.*//CRC Crit. Rev. Food Sci. and Nutr. 1983. V. 19. № 3. P. 173.
74. *Chung Si-Yin, Swaisgood H. E., Catignani G. L.*//J. Agric. Food Chem. 1986. V. 34. P. 579.
75. *Miller R., Spinelli J., Babbit J. K.*//J. Food Sci. 1983. V. 48. № 1. P. 296.
76. *Morrissey P. A., Mulvihill D. M., O'Neil E. M.*//Developments in Food Proteins-5/Ed. B. J. F. Hudson. L. ets.: Elsevier Appl. Sci., 1987. P. 195.
77. *Калоус В., Павличек З.* Биофизическая химия. М.: Мир, 1985. 446 с.
78. *Helendoorn E. W.*//Food Technol. 1962. V. 16. № 9. P. 119.
79. *Hamm R.*//Ibid. 1982. V. 36. № 11. P. 105.
80. *Offer G., Trinik J.*//Meat Sci. 1983. V. 8. P. 245.
81. *Synowiecki J., Sikorski Z. E.*//Przemysl Spozywczy. 1984. V. 38. № 2. P. 56.
82. *Halliday D. A.*//Process Biochem. 1978. № 7. P. 6.
83. *Yasui T., Sakanishi M., Hashimoto Y.*//J. Agric. Food Chem. 1964. V. 12. № 5. P. 392.
84. *Yasui T., Fukazawa T., Takahashi K. et al.*//Ibid. 1964. V. 12. № 5. P. 399.
85. *Kenney P. B., Henrickson R. L., Clypool P. L. et al.*//J. Food Sci. 1985. V. 50. № 2. P. 277.
86. *Bantan A.*//Technol. mesa. 1987. V. 28. № 2. P. 56.
87. *Spinelli J., Koury B., Groninger H. et al.*//J. Food Techn. 1977. P. 184.
88. *Hiroshi Y., Masahiro S., Atsuh W. et al.*//Bull. Jap. Soc. Sci. Fish. 1985. V. 51. № 4. P. 667.
89. *Woyewoda A. D., Bligh E. G.*//J. Food Sci. 1986. V. 51. № 4. P. 932.
90. *Basu Subrata, Das K. P., Chatteraj D. K.*//J. Food Sci and Techn. 1985. V. 22. № 3. P. 194.
91. *Barbut S., Tanaka N., Cassens R. G. et al.*//J. Food Sci. 1986. V. 51. P. 1136.
92. *Nelson K. A., Busta F. F., Sofos J. N. et al.*//J. Food. Prof. 1983. V. 46. P. 846.
93. *Madril M. T., Sofos J. N.*//J. Food Sci. 1986. V. 51. P. 1147.
94. *Голант Б. Я., Петров Н. А.* Повышение стойкости жиров и жиросодержащих продуктов. М.: Пищепромиздат, 1958. 103 с.
95. *Damodaran S., Kinsella J. E.*//J. Agric. Food Chem. 1983. V. 31. № 4. P. 856.
96. *Rao S. B.*//Fish. Techn. 1984. V. 21. № 1. P. 29.
97. *Jiang S.-T., Lee T.-C., Chichester C. O.*//Res. Food Sci. and Nutr. Proc. VI Int. Congr. Food Sci. and Technol./Eds. J. V. McLoughlin et al. Dublin: Boole Press, 1983. V. 1. P. 68.
98. *Fuyuo O., Yasuo O.*//Bull. Jap. Soc. Sci. Fish. 1985. V. 51. № 12. P. 2079.
99. *Sikorski Z. E.*//Przemysl Spozywczy. 1983. V. 37. № 6. P. 253.
100. *Lee K.-H., Groninger H. S., Spinelli J.*//Marine Fish Rev. 1981. V. 43. № 3. P. 14.
101. *Allen G., Harris J. I.*//Eur. J. Biochem. 1976. V. 62. P. 601.
102. *Gounaris A. D., Perlmann G.*//J. Biol. Chem. 1967. V. 242. P. 2739.
103. *Muhlrad A., Ajtai K., Fabiani F.*//Biochim. Biophys. Acta. 1970. V. 205. P. 342.
104. *Shuji K., Kunihiko K., Ven-ichi A. et al.*//Bull. Jap. Soc. Sci. Fish. 1985. V. 51. № 4. P. 651.
105. *Ito T., Ando N.*//Agric. Biol. Chem. 1974. V. 38. № 8. P. 1423.
106. *Oppenheimer H., Bárány K., Hamoir G. et al.*//Arch. Biochem. Biophys. 1966. V. 115. № 1. P. 233.
107. *Oppenheimer H., Bárány K., Hamoir G. et al.*//Ibid. 1967. V. 120. № 1. P. 108.
108. *Locker R. H., Haguard C. J.*//Ibid. 1967. V. 120. № 2. P. 454.
109. *Ito T., Ando N.*//Agric. and Biol. Chem. 1975. V. 39. № 3. P. 575.
110. *Habeeb A. F. S. A., Cassidy H. G., Singer S. J.*//Biochim. Biophys. Acta. 1958. V. 29. № 3. P. 587.
111. *Muhlrad A., Corsi A., Granata A. L.*//Ibid. 1968. V. 162. № 3. P. 435.
112. *Tayyab S., Qasim M. A.*//J. Biochem. 1986. V. 100. № 5. P. 1125.
113. *Боровиков Ю. С., Коколя И., Щенсна Д. и др.*//Биохимия. 1986. Т. 51. Вып. 4. С. 691.
114. *Боровиков Ю. С., Левицкий Д. И., Шувалова Л. А. и др.*//Там же. 1987. Т. 52. Вып. 12. С. 2061.
115. *Groninger H. S., Miller R.*//J. Agric. Food Chem. 1979. V. 27. № 5. P. 949.
116. *Пятницкая И. Н., Воробьева Н. А.*//Вопросы питания. 1972. № 3. С. 3.
117. *Finley J. W., Friedman M.*//Cereal Chem. 1973. V. 50. № 1. P. 101.
118. *Hoinard C., Maingault P., Crouzat-Reynes G. et al.*//J. Chromatogr. 1986. V. 355. P. 350.
119. *Kakade M. L., Liener I. E.*//Anal. Biochem. 1969. V. 27. P. 273.

120. Groninger H. S.//J. Agric. Food Chem. 1973. V. 21. № 6. P. 978.
121. Chen L.-F., Richardson T., Amundson C. H.//J. Milk. Food Techn. 1975. V. 38. № 2. P. 89.
122. Mieth G., Lange E., Proll J. et al. Пат. 240831 ГДР//РЖХим. 1987, 12Р24.
123. Hatano M., Takano H., Takama K. et al.//Bull. Jap. Soc. Sci. Fish. 1979. V. 45. P. 861.
124. Hatano M., Takano H., Takama K. et al.//Ibid. 1979. V. 45. P. 951.
125. Sun Chao-Tung//Res. Food Sci. and Nutr. Proc. VI Int. Cong. Food Sci. and Technol./Eds J. V. McLoughlin et al. Dublin: Boole Press, 1983. V. 1. P. 165.
126. Eisele T. A., Brekke C. J.//J. Food Sci. 1981. V. 46. № 4. P. 1095.
127. Watanable M., Arai S.//Adv. Chem. Ser. 1982. V. 198. P. 199.
128. Ikura K., Yoshikawa M., Sasaki R. et al.//Agric. Biol. Chem. 1981. V. 45. P. 2587.
129. Arai S., Watanable M. Заявка 60-226588 Япония//РЖХим. 1986, 20Р391.
130. Толстогузов В. Б., Браудо Е. Е., Гринберг В. Я. и др.//Успехи химии. 1985. Т. 54. Вып. 10. С. 1738.
131. Peng I. C., Dayton W. R., Quass D. W. et al.//J. Food Sci. 1982. V. 47. P. 1984.
132. Kawai Yuji, Hatano Mutsuo, Zama Koichi//Bull. Fac. Fish. Hokkaido Univ. 1983. V. 34. № 2. P. 131//РЖХим. 1984, 4Р334.
133. King N. L.//J. Agric. Food Chem. 1977. V. 25. № 1. P. 1001.
134. Peng I. C., Dayton W. R., Quass D. W. et al.//J. Food Sci. 1982. V. 47. P. 1976.
135. Peng I. C., Nielsen S. S.//Ibid. 1986. V. 51. № 3. P. 588.
136. Haga S., Ohashi T.//Agric. Biol. Chem. 1984. V. 48. № 4. P. 1001.
137. Kurth L., Rogers P. J.//J. Food Sci. 1984. V. 49. № 2. P. 573.
138. Shiga Katsuji, Yasutomi Naramura, Yasuhiro Taki//Jap. J. Zootechn. Sci. 1985. V. 56. № 11. P. 897//РЖХим. 1986, 14Р108.
139. Семенов Г. В., Горшков И. К., Картошкин В. П.//Холодильн. техника. 1987. № 5. С. 19.
140. Журавская Н. К., Тюгай И. М., Бухтеева Ю. М. и др.//Мясн. индустрия СССР. 1987. № 5. С. 39.
141. Ogizumi T., Hashimoto K., Ogura J. et al.//Bull. Jap. Soc. Sci. Fish. 1981. V. 47. № 7. P. 901.
142. Fuyuo O., Yasuo O.//Ibid. 1985. V. 51. № 12. P. 2079.
143. Matsumoto Ikushi, Arai Kenichi//Ibid. 1986. V. 52. № 11. P. 2033.
144. Okada Takeshi, Inoue Norio, Akiba Minoru//Ibid. 1986. V. 52. № 1. P. 121.
145. Быков В. П.//Изменения мяса рыбы при холодильной обработке. М.: ВО Агро-промиздат, 1987. С. 152.
146. Findlay C. J., Stanley D. W., Gullett E. A.//Meat Sci. 1986. V. 16. № 1. P. 57.
147. Seuss I., Honikel K.-O.//Ernähr.-Umschau. 1987. B. 34. № 10. S. 343.
148. Locker R. H., Wild D. Y. C.//Meat Sci. 1984. V. 11. № 2. P. 89.
149. Kroll J., Gassmann B., Proll J. et al.//Nahrung. 1984. V. 28. № 4. S. 389.
150. Kroll J., Mieth G., Gassmann B. et al. Пат. 212740 ГДР//РЖХим. 1985, 12Р254.
151. Kirk J. R.//J. Chem. Education. 1984. V. 61. № 4. P. 364.
152. Spinelli J., Koury B.//J. Agric. Food Chem. 1979. V. 27. № 5. P. 1104.
153. Feeney R. E., Blankenhorn G., Dixon H. B. F.//Adv. Protein Chem./Eds. C. B. Anfinsen et al. N. Y. ets.: Acad. Press, 1975. V. 29. P. 136.
154. Matoba T., Yonezawa D., Nair B. M. et al.//J. Food Sci. 1984. V. 49. № 4. P. 1082.
155. Devadasan K., Nair P. G., Viswanathan A. P. D.//Fish. Technol. 1985. V. 22. № 1. P. 70.
156. Opstvedt J., Miller R., Hardy R. W. et al.//J. Agric. Food Chem. 1984. V. 32. № 4. P. 929.
157. Bjarnason J., Carpenter K. J.//Brit. J. Nutr. 1969. V. 23. № 4. P. 859.
158. Bjarnason J., Carpenter K. J.//Ibid. 1970. V. 24. P. 313.
159. Maticic S. S., Loewy A. G.//Biochim. Biophys. Acta. 1979. V. 576. № 2. P. 263.
160. Ganowiak Zenon, Lipka Eulalis//Bromatol. i chem. toksikol. 1979. V. 12. № 2. P. 97.
161. Krone Cheryl A.//Environ. Health. Perspect. 1986. V. 67. P. 75.
162. Ashoor S. H., Zent J. B.//J. Food Sci. 1984. V. 49. № 4. P. 1206.
163. Schinckels R. A., Warmbier H. C., Labuza T. P.//J. Agric. Food Chem. 1976. V. 24. № 5. P. 901.
164. Friedman M., Noma A. T.//Ibid. 1986. V. 34. P. 497.
165. Friedman M., Masters P. M.//J. Food Sci. 1982. V. 47. P. 760.
166. Kies C.//J. Agric. Food Chem. 1981. V. 29. № 3. P. 435.
167. Черников М. П.//Вопросы питания. 1986. № 5. С. 68.
168. Зилова И. С., Широкова О. Н.//Там же. 1986. № 3. С. 56.
169. Sikka K. G., Singh R., Gupta D. P. et al.//J. Agric. Food Chem. 1979. V. 27. № 5. P. 946.
170. Blaxland J. D.//Vet. J. 1946. V. 102. P. 157.
171. Savage J. E.//Poultry Sci. 1972. V. 51. P. 35.
172. King A. J., Ball H. R., Garlich J. D.//J. Food Sci. 1981. V. 46. № 4. P. 1107.
173. Ozimek G., Jelen P., Ozimek L. et al.//Ibid. 1986. V. 51. № 3. P. 748.
174. Окунев В. Н., Голицыко О. Н.//Вопросы питания. 1984. № 1. С. 12.
175. Neuberger A., Sanger F.//Biochem. J. 1943. V. 37. P. 515.
176. Boggs R. W.//Nutritional Improvement of Food and Feed Proteins Ed. N. Y. Fieldman. N. Y.: Plenum Press, 1978. P. 571.
177. Finot P. A., Mottu F., Bujard E. et al.//Nestle Research News. 1980/81. P. 131.
178. Friedman M., Gumbmann M. R.//J. Nutr. 1981. V. 111. № 8. P. 1362.

179. Андреев С. М., Галкин О. М., Самойлова Н. А. и др.//Биоорган. химия. 1986. Т. 12. № 6. С. 725.
180. Кушак Р. И., Тарвид И. Л., Басова Н. А. и др.//Изв. АН ЛатвССР. 1987. № 7. С. 74.
181. Leclerc J., Benoiton L.//Can. J. Biochem. 1968. V. 46. P. 471.
182. Belikow W. M., Kharatyan S. G., Besrukow M. G. et al.//Nahrung. 1975. B. 19. S. 65.
183. Siu M., Thompson L. U.//J. Agric. Food Chem. 1982. V. 30. P. 1179.
184. Siu M., Thompson L. U.//Ibid. 1982. V. 30. P. 743.
185. McElwain M. P., Richardson R., Amundson C. H.//J. Milk Food Technol. 1975. V. 38. P. 521.
186. Uhlig J., Proll J., Noak R. et al.//Nahrung. 1980. B. 24. № 9. S. 899.
187. Li C.-H., Bertsch L.//J. Biol. Chem. 1960. V. 235. P. 2638.
188. Creamer L. K., Roeper J., Lahrey E. H.//J. Dairy Sci. Technol. 1971. V. 6. P. 107.
189. Tanaka M., Lee T., Chichester C. O.//J. Nutr. 1975. V. 105. P. 989.
190. Finot P., Bujard E., Arnaud M.//Adv. Exp. Med. Biol. 1977. V. 86. P. 51.
191. Young V. R., Scrimshaw N. S., Bier D. M.//J. Agric. Food Chem. 1981. V. 29. № 3. P. 440.
192. Newman C. W., Jaynes J. M., Sands D. C.//Nutr. Rep. Int. 1980. V. 22. P. 707.
193. Gorman J. J., Folk R.//J. Biol. Chem. 1980. V. 255. P. 419.
194. Hurrel R. F., Carpenter K. J.//Protein Cross-linking Nutritional and Medical Consequence/N. Y.: Plenum Press, 1977. P. 225.

Институт элементоорганических  
соединений им. А. Н. Несмеянова  
АН СССР, Москва