

УДК 606:577.15-027.22

Пшеничный глютен и его гидролизаты. Возможные направления практического использования (Обзор)

© 2018 А.С. АСРАКУЛОВА^{1,*}, Н.В. БУЛУШОВА¹

¹ФГБУ Государственный научно-исследовательский институт генетики и селекции промышленных микроорганизмов Национального исследовательского центра «Курчатовский институт» (НИЦ «Курчатовский институт»–ГосНИИгенетика), 117545 Москва

*e-mail: angeline_backsed@mail.ru

Поступила 31.03.2018 г.

Принята в печать 12.04.2018 г.

Пшеничным глютенем называют группу белков эндосперма пшеницы, нерастворимых в воде. Как сопутствующий продукт крахмального и биоэтанольного производства глютен доступен в достаточно больших количествах. Поэтому поиск промышленного применения глютена является важной экономической задачей. Пищевая промышленность является традиционным направлением использования глютена. Однако изучение его структурно-функциональных свойств позволило расширить область применения глютена благодаря различным модификациям, в частности, ферментативному гидролизу. Гидролизаты глютена обладают лучшими вспенивающими и эмульгирующими свойствами, а также высокой растворимостью в воде в сравнении с нативным глютенем. Также показаны и биологически активные свойства гидролизатов (антиоксидантные, гепатопротекторные свойства, способность к ингибированию ангиотензинпревращающего фермента). Поиск протеолитических ферментов, и выбор их комбинаций, а также оптимизация технологического процесса позволят получить продукты гидролиза с требуемыми характеристиками, расширить сферу их применения в промышленности и снизить себестоимость процесса.

Ключевые слова: глютен, глиадины, глютенины, гидролизаты, протеазы, протеолитический гидролиз, целиакия.

doi: 10.21519/0234-2758-2018-34-4-6-17

Известно, что эффективное использование дополнительных продуктов различных производств позволяет снизить материалоемкость продукции и расширить сырьевую базу промышленности [1]. Данный обзор посвящен рассмотрению возможных путей использования глютена, являющегося дополнительным продуктом при производстве крахмала из пшеницы.

Основная сфера применения пшеничного глютена (клейковины) – хлебопекарная промышленность, где данный продукт используется для улучшения качества муки. На данную отрасль приходится порядка 60% общего объема потребления клейковины [2]. Помимо этого, пшеничный глю-

тен является незаменимым сырьем в работе мясоперерабатывающих предприятий, при производстве кормов для животноводства и рыбоводства, сухих завтраков, молочных продуктов, текстуратов, аналогов морепродуктов и пищевых пен [3].

За последние 25–30 лет рынок сухой пшеничной клейковины вырос в десятки раз. Ежегодное потребление глютена в ЕС составляет порядка 385 тыс. т. Растет производство глютена в нашей стране [2]. Так, в 2016 г. экспорт клейковины из России составил 33127 т, что в денежном эквиваленте соответствует 48778 тыс. долл. (<http://tebiz.ru/news-mi/news-mi-export-selskohozjajstvennoj-produkcii.php>). Однако российский рынок

Список сокращений: АПФ – ангиотензинпревращающий фермент; HMS – высокомолекулярные субъединицы (High Molecular Weight Subunits); LMS – низкомолекулярные субъединицы (Low Molecular Weight Subunits).

клейковины развит слабо. Данный факт связан прежде всего с тем, что глубокая переработка пшеницы в целом является для России новым направлением [2]. Из этого следует, что необходимо искать области применения глютена в отечественном народном хозяйстве, при этом ориентируясь не только на хлебопекарную отрасль промышленности.

СТРУКТУРА И СОСТАВ ГЛЮТЕНА

Глютен выделяют как самостоятельную фракцию при помощи сепарации при отделении крахмала. В сухом виде глютен – это порошок, имеющий нейтральный вкус и запах, при добавлении воды он приобретает специфический серый оттенок. Глютен обладает свойством поглощать воду в количестве в два раза превышающем его массу [2]. Сухой пшеничный глютен содержит приблизительно 75–85% белка, 5–10% влаги, а также крахмал, жиры и некрахмальные полисахариды [4].

Пшеничный глютен (лат. *Gluten* – клей) состоит из множества белковых компонентов, которые представлены либо в виде мономеров, либо в виде олиго- или полимеров, соединенных межцепочечными дисульфидными и нековалентными связями [5]. Белки пшеничного глютена являются основными запасными белками, присутствующими в эндосперме [6]. По растворимости в водно-спиртовых растворах они делятся на глиадины (50–60%) и глютеины (40–50%) [7].

Глиадин представляет собой гетерогенную смесь одноцепочечных (или мономерных) белков,

легко экстрагируемых спиртовыми растворами. Получаемые фракции глиадина классифицируются на основе N-концевой аминокислотной последовательности на α -, β -, γ - и ω -фракции. Все фракции глиадина, кроме ω -глиадинов, имеют в своем составе цистеин, что способствует образованию внутрицепочечных дисульфидных связей [8, 9]. ω -Глиадины имеют наибольшую молекулярную массу, 46000–75000 Да, в то время как молекулярная масса α -, β -, γ - глиадинов составляет 30000–45000 Да [7].

Глютеин состоит из большего количества пептидных цепей (субъединиц), связанных через межцепочечные дисульфидные связи, и растворяется в слабощелочных или слабокислотных растворах [5, 10]. Различают пять основных групп субъединиц глютеина: высокомолекулярные субъединицы х- и у-типа (HMS, 65000–90000 Да), а также низкомолекулярные субъединицы В-, С- и D-типа (LMS, 30000–60000 Да). Отношение содержания высокомолекулярных и низкомолекулярных субъединиц составляет приблизительно 1: 4 [7, 9].

Для аминокислотного состава глютена (табл. 1) характерно большое содержание глутамина, способствующего образованию значительного количества водородных связей [11], и слабая растворимость в воде, обусловленная наличием гидрофобных групп, в частности, пролина, на поверхности молекулы белка (<http://hleb-produkt.ru/biohimiya-zerna/188-gliadin-i-glyutenin-pshenicy.html>). Поэтому для перевода белков глютена в раствор применяют различные растворители:

Таблица 1

Аминокислотный состав коммерческого глютена [3]

Amino acid composition of commercial gluten [3]

Аминокислота	Содержание (г/100 г белка)	Аминокислота	Содержание (г/100 г белка)
Аланин	3,0	Лизин	2,2
Аргинин	4,3	Метионин	2,1
Аспарагин + аспарагиновая кислота*	4,8	Фенилаланин	7,3
Цистеин	2,6	Пролин	14,6
Глутамин + глутаминовая кислота*	39,0	Серин	5,6
Глицин	4,6	Треонин	3,1
Гистидин	2,7	Тирозин	4,3
Изолейцин	4,4	Валин	4,6
Лейцин	8,4		

*90% кислоты находится в форме амидов (90% of acid occur in the form of amides).

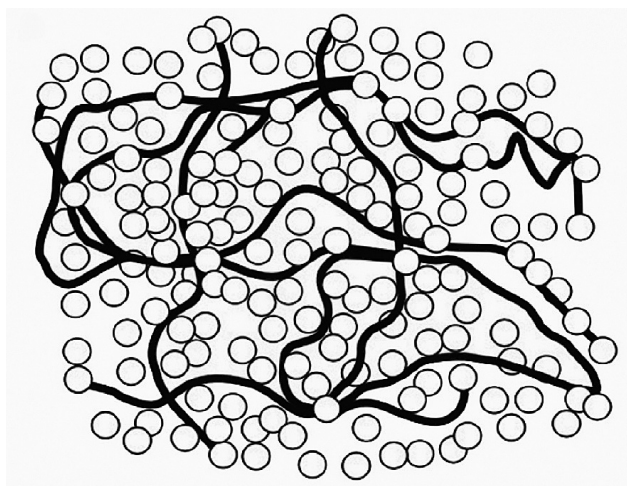


Рис. 1. Схема молекулярной структуры глютена. Изогнутые линии – линейные молекулы (HMS глютенина), сферические молекулы – глобулярные белки (глиадины и LMS глютенина) [7]

Fig. 1. Scheme of gluten molecular structure. Curved lines are linear molecules (HMS glutenin); spherical structures are globular proteins (gliadins and LMS glutenin) [7]

растворы мочевины, молочная кислота, уксусная кислота, соляная кислота, гидроксид натрия, 70%-ный этанол, 2-хлорэтан и др.

Типичная модель молекулярной структуры глютена представляет собой смесь линейных белков (HMS) и глобулярных белков (LMS и мономерные глиадины). При этом HMS глютенина связываются между собой дисульфидными связями и образуют белковую линейную структуру, напоминающую цепь, которая способна взаимодействовать с глобулярными белками посредством S-S-связей и нековалентных Ван-дер-ваальсовых взаимодействий (рис. 1).

В водной среде взаимодействие между глютенинами и глиадинами, способствует образованию губчато-сетчатой структуры.

В образовании сетчатой структуры глютена большую роль играет денатурация белков при термообработке, часто применяемой в промышленности. Ее используют для достижения определенных механических и функциональных свойств глютена. При денатурации белков происходит образование дополнительных S-S-сшивок между белками глютена благодаря наличию относительно высокого содержания остатков цистеина. При термообработке конформация белковых цепей изменяется, и разворачивание белковых молекул приводит к тому, что ранее недоступные

свободные -SH-группы участвуют в полимеризации глютенинов. Известно также, что глютенины образуют поперечные сшивки при температуре выше 70 °С, в то время как глиадины «сшиваются» при температуре выше 90 °С и включаются в глютениновую сеть. При повышении температуры до 90 °С свободные SH-группы глютенинов осуществляют нуклеофильную атаку на атомы серы S-S-связей глиадина, как показано стрелками на рис. 2., и таким образом глютенин «сшивается» с глиадином посредством тиол-дисульфидной реакции обмена. В результате образуется прочная глютеновая сетка.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ГЛЮТЕНА В ПРОМЫШЛЕННОСТИ

Вязкоупругость

Губчато-сетчатая структура определяет характерные вязкоупругие свойства глютена. При этом вязкость такой структуре придают глиадины, а упругость – глютенины [7]. Вязкоупругое свойство глютена находит свое применение в различных отраслях промышленности. В частности, описанное уникальное свойство используется в хлебопечении. Эластичная сетка задерживает пузырьки углекислого газа, образовавшегося в результате дрожжевого брожения и, как следствие, структура продукции выпечки получается воздушной, увеличиваются объем и выход готовых изделий, а также срок их хранения (<http://www.graintek.ru/pererabotka-zerna/klejjkovina-gljuden/>).

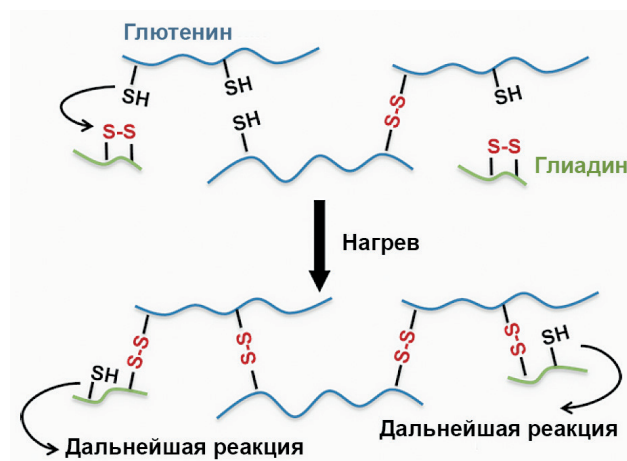


Рис. 2. «Сшивание» белков глютена через тиол-дисульфидную реакцию обмена в ходе термообработки [11]

Fig. 2. Linkage of gluten proteins *via* thiol-disulphide exchange reaction during heat treatment [11]

Жироэмульгирующие и водосвязывающие свойства

Помимо вязкоупругих свойств, глютен обладает и другими полезными свойствами. В частности, жироэмульгирующими, а также жиром (Fat-holding capacity (FHC)) и водосвязывающими свойствами (water-holding capacity (WHC)). В пищевых продуктах WHC и FHC обусловлены физическим удержанием молекул воды и жира белковым матриксом, а также их связыванием соответственно с гидрофильными и гидрофобными аминокислотными остатками молекул белков.

FHC и WHC глютена используются в производстве колбас, кондитерских изделий, майонезов, пищевых концентратов, макарон, пиццы и пельменей. Совместно эти эффекты определяют такие важные органолептические свойства мясных продуктов, как сочность и нежность вкуса готовых изделий [12]. Помимо этого, глютен является функциональным компонентом, повышающим плотность и упругость мясной продукции.

Гелеобразующие свойства

Гелеобразующая способность используется в производстве аналогов мясных продуктов и морепродуктов.

Пенообразующие свойства

Пенообразующая способность глютена и продуктов его переработки применяется в производстве майонезов, бисквитов, взбитых кремов, муссов, пива (<https://www.kleikovina.com/kleikovina-glyuten/>).

Пеноматериалы на основе глютена могут быть использованы в качестве носителей или контейнеров для доставки лекарственных средств, в качестве фильтров, термической и звуковой изоляции. Существуют различные методы получения пеноматериалов на основе глютена. Общая схема их получения выглядит следующим образом. Порошок пшеничного глютена диспергируют в воде и денатурируют белки нагреванием до 90 °С на масляной бане при щелочных значениях pH. Затем смесь вспенивают с помощью гомогенизатора, охлаждают до комнатной температуры и разливают в силиконовые формы. Заполненные формы замораживают в жидком азоте или в морозильной камере, после чего подвергают лиофилизации [10, 11, 13]. При этом стоит добавить, что для улучшения функциональных свойств пеноматериалов на основе глютена на стадии термической обработки используются различные добавки. Так, на-

пример, показано, что полимеризация тетраэтилортосилоксена с денатурированными белками глютена способствует получению пен, отличающихся хорошей огнестойкостью [11]. Для стабилизации структуры пены используют модифицирующие тиолсодержащие агенты. В таких пенах белки глютена ковалентно связаны друг с другом благодаря молекулам, содержащим политиолы [14]. Для повышения механических свойств пен также используются различные волокнистые структуры, например, льняные или целлюлозные волокна [10, 13].

Растворимость и эмульгирующая активность

Отмечена хорошая растворимость и эмульгирующая активность пшеничного глютена при pH 4 и ниже. Эти свойства могут быть использованы в производстве различных продуктов с низким значением pH, таких как майонез и ферментированные молочные продукты.

Получение глютенных пленок как одно из направлений использования глютена

Используют глютен также при производстве биоразлагаемой пластмассы (пеноматериалы), пленок, покрытий, клеев, красок и косметики [3, 15]. Глютенные пленки являются съедобным и биоразлагаемым материалом, способным продлевать срок годности продуктов питания и сохранять их качество [16]. Они могут быть использованы в кондитерской, фруктовой, овощной, мясной и фармацевтической отраслях промышленности, а также в качестве мешков для мусора [17, 18]. Показано, что содержание глютенных в белковой пленке, стабилизирующей пузырьки воздуха, выше, чем глиадинов, и глютеины, вероятно, адсорбируются более эффективно, чем глиадины [19].

Диапазон использования пленок на основе глютена достаточно широк. Так, в работе [20] изучалась возможность использования пленок на основе пшеничного белка в качестве субстратов для выращивания остеобластов. Авторами были исследованы такие характеристики, как механические свойства, деградация в воде и способность пленок поддерживать прикрепление, рост, пролиферацию и жизнеспособность клеточных линий. В ходе работы были получены пленки, различные по своему составу: глютенные, глютеиновые и глиадиновые. Показано, что наилучшее прикрепление и пролиферация остеобластов, а также обширное формирование клеточных отростков отмечается на глютеиновых пленках. В свою

очередь, глиадиновые пленки обладают цитотоксическими свойствами, проявляющимися в подавлении роста и пролиферации клеток. Таким образом, можно сделать вывод о том, что именно пленки на основе глютенина являются перспективным субстратом для тканевой инженерии и других потребностей медицины [20].

ГИДРОЛИЗАТЫ ГЛЮТЕНА И ПУТИ ИХ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ

Получение гидролизатов глютена

Разнообразные направления использования глютена можно расширить благодаря различным модификациям с применением химических, ферментативных и физических методов, в том числе новейших технологий обработки ультразвуком и высоким давлением, позволяющих получить конечный продукт с необходимыми свойствами [3, 21].

Одним из наиболее эффективных методов модификации пшеничного глютена является использование протеолитических ферментов. Ферментативный гидролиз пептидных связей увеличивает растворимость белков пшеничного глютена. Полученные гидролизаты обладают хорошей способностью к вспениванию и эмульгированию [22]. В частности, известно, что гидролизованный глютен оказывает благотворное влияние на реологические свойства теста (упругость, пластичность, эластичность, вязкость). Добавление 1–2% гидролизатов глютена уменьшает время замеса теста и увеличивает объем выпекаемого хлеба столь же эффективно, как и использование цистеина и аскорбиновой кислоты, обычно употребляемых для получения больших объемов хлеба [3, 23].

Для получения определенных органолептических и функциональных продуктов гидролиз глютенов проводят в строго определенных условиях [21], так, чтобы можно было контролировать степень гидролиза исходного продукта и получать пептидные смеси различного состава. При этом степень гидролиза определяется как выраженное в процентах отношение количества образовавшихся свободных аминокрупп (расщепленных пептидных связей) к максимальной концентрации свободных аминокрупп при полном гидролизе,

накопление которых оценивают с помощью специфических реагентов, например тринитробензолсульфоновой кислоты [24].

Для гидролиза глютена, используются различные протеазы; в зависимости от источника выделения различают протеазы животных, растений, бактерий и грибов. В частности, многими авторами используется ряд коммерчески доступных ферментов, таких как папаин, бромелаин, субтилизин (алкалаза¹), пепсин, трипсин и проназа² [22, 25].

Производство пищевых пен и эмульсий в результате неглубокого гидролиза глютена

Получение гидролизатов является перспективным направлением использования глютена. Гидролизаты глютена широко используются в производстве пищевых продуктов, в частности, пищевых пен.

Известно, что пенообразование связано со стабилизацией пузырьков воздуха в водной фазе, причем эта стабилизация вызвана адсорбцией на поверхности раздела фаз поверхностно-активных веществ. Эффективными стабилизаторами пены являются некоторые продукты гидролиза глютена. Полученные с их помощью пищевые пены играют важную структурную и фактурную роль в различных видах продуктов и напитков, таких как бэзе, торты, муссы, бисквиты, шоколад, взбитые молочные продукты и пшеничное пиво [12, 26]. При этом использование растительных белков, в частности гидролизатов пшеничного глютена, является перспективной заменой яичного сырья, открывающей возможность производства пен с низким содержанием холестерина и ограниченной вероятностью заражения сальмонеллезом [27].

Были проведены исследования зависимости пенообразующих свойств гидролизатов глютена и свойств интерфазы жидкость–воздух в образованных ими пенах от специфичности используемой протеиназы, степени гидролиза, рН, наличия добавок, характерных для пищевых продуктов. Так, в работе [28]. были изучены четыре гидролизата, полученные кратковременным и длительным действием трипсина и пепсина. Было показано, что способность к пенообразованию сразу после вспенивания зависит от скорости, с которой компоненты гидролизатов диффундируют в интерфазу. Стабильность пены (объем пены через 60 мин

¹Алкалаза – сериновая протеаза *Bacillus licheniformis*.

²Проназа – смесь протеиназ, выделяемых из внеклеточной жидкости стрептомицета *Streptomyces griseus*. В основном состоит из сериновых протеаз.

после вспенивания) оказалась выше для гидролизатов с меньшей степенью гидролиза при использовании обеих протеиназ. Это качество связано с прочностью пленки в интерфазе пузырьков. Разделение пены и остаточной жидкости, а также анализ их содержимого показывает, что различия в свойстве пены определяется наличием в ней специфических длинных гидрофобных пептидов, которые и стабилизируют интерфазу [12, 28].

Изучение влияния pH показало, что при его нейтральном значении гидролизаты с одинаковой глубиной гидролиза дают пену одинаковой стабильности. При pH 5,0 все гидролизаты образуют нестабильную пену, так как это значение близко к изоэлектрической точке большинства пептидов. При pH 3,0 триптические и пептические гидролизаты дают, соответственно, стабильную и нестабильную пену. Это значение pH, видимо, по-разному влияет на конформационное и агрегационное состояние пептидов, полученных под действием указанных протеиназ [29].

Присутствие сахарозы, часто входящей в состав пеносодержащих продуктов, повышает пенообразование за счет увеличения скорости диффузии пептидов в интерфазу и абсорбции пептидов на ней (аффинности) [30]. В случае этанола, также часто применяющегося для приготовления пеносодержащих напитков, наоборот, абсорбция пептидов интерфазой ухудшается, в следствие чего стабильность пены существенно уменьшается [31].

Как пример практического использования, гидролизаты глютена были включены в рецепт безе в качестве заменителя яичного белка. Полученное безе быстрее взбивалось, и готовый продукт обладал лучшим качеством, чем тот, что был приготовлен на яичном белке. Таким образом, можно сделать вывод, что яичный белок в безе (и, возможно, в других продуктах) можно заменить гидролизатами глютена [32].

Гидролизаты глютена проявляют свои стабилизирующие свойства в эмульсиях, представляющих собой систему масло–вода. Joye и McClements [27] изучили влияние на образование эмульсий гидролизатов глютена, полученных действием алкалазы и трипсина. В первом случае гидролиз проводили при pH 10 и температуре 60 °С, во втором – при pH 8 и температуре 50 °С. Результаты показали, что эмульсии, содержащие триптический гидролизат, более термостабильны (сохранялись в течение более чем 9 дней инкубации при 55 °С) по сравнению с эмульсиями, содержащими гидролизат алкалазы (разрушались через 2 дня при 37 °С). Это можно объяснить

тем, что при гидролизе трипсином образуются более крупные структурированные пептиды, содержащие гидрофобные аминокислоты, способствующие лучшей стабилизации интерфазы, тогда как пептиды, полученные в ходе гидролиза алкалазой, имеют меньший размер и, следовательно, стабилизируют эмульсию в меньшей степени. При изучении влияния ионной силы на стабильность эмульсий показано, что они быстро дестабилизировались после добавления соли (≤ 100 mM NaCl). Кроме того, высокие концентрации соли способствовали высаливанию пептидов, что проявлялось в виде образования хлопьев [27].

Таким образом, по данным, приведенным в цитируемой статье, производство пищевых пен и эмульсий является одним из примеров использования неглубокого гидролиза глютена, в результате которого можно получить крупные гидрофобные пептиды, обладающие стабилизирующими свойствами.

Продукты глубокого гидролиза глютена и их применение

Используя протеазы широкой специфичности, а также комплексы экзо- и эндопротеаз, можно проводить более глубокий гидролиз глютена и получать короткие пептиды и аминокислоты, которые также находят различное применение.

Ряд исследований показал, что среди продуктов гидролиза глютена присутствуют пептиды, имеющие определенные фармакологические свойства, например, способные ингибировать ангиотензинпревращающий фермент (АПФ). АПФ – это экзопептидаза, в норме вырабатываемая в эпителиальных клетках легких и выявляемая в небольших количествах в кровеносных сосудах и почках. Фермент катализирует расщепление декапептида ангиотензина I до октапептида ангиотензина II, который вызывает сужение сосудов и, соответственно, увеличение артериального давления. Ингибиторы АПФ применяются для лечения и профилактики сердечной и почечной недостаточности и для снижения артериального давления [33]. Был разработан метод ультразвуковой обработки глютена пшеницы, который влияет на ход его протеолиза алкалазой [34]. Протеолиз при этом проводили при pH 9 и температуре 50 °С в течение 30 мин. Полученный гидролизат обладал высокой ингибиторной активностью по отношению к АПФ. Ультразвуковая обработка влияет на конформацию белков глютена, межбелковое взаимодействие, содержание дисульфидных связей и способствует лучшему контакту белкового

субстрата с алкалазой [34]. Полученные гидролизаты могут быть использованы для создания препаратов или БАД, понижающих давление.

Наиболее перспективным видом использования гидролизатов глютена в фармакологии является создание гепатопротекторных препаратов. Было показано, что пептиды, обнаруженные в гидролизате пшеничного глютена, полученного в ходе обработки его протеазой из *Aspergillus oryzae*, обладают гепатопротекторными свойствами, в частности, они предохраняют крыс от D-галактозамин-индуцируемого острого гепатита. Гидролизат разделяли с помощью препаративного изоэлектрофокусирования. Биологической активностью обладала фракция кислых пептидов, содержащая, в частности, пироглутамил-лейцин (ругоGlu-Leu-OH). При насильственном кормлении крыс ругоGlu-Leu-OH спустя 30 мин после введения препарата происходило увеличение концентрации ругоGlu-Leu-OH в плазме портальной крови, поступающей в печень. В результате количество АСТ и АЛТ³ в сыворотке уменьшилось до 30% и 20%, соответственно, и приблизилось к их нормальному уровню [35].

Другим направлением использования продуктов глубокого гидролиза глютена является получение свободных гидрофобных аминокислот. Известно, что пшеничный глютен содержит 0,37 молей гидрофобных аминокислот на моль суммарных аминокислот. Особенно велик вклад пролина, на долю которого приходится 0,15 моль/моль. Показано, что после 6 ч обработки смесью проназы и протеазы R⁴ образуется гидролизат, содержащий свободные аминокислоты. При этом на долю свободных гидрофобных аминокислот приходится 0,56 молей на моль суммарного содержания свободных аминокислот, т. е. имеется определенная селективность гидролиза. Гидролиз в течение 24 ч приводит к увеличению количества свободных аминокислот, однако селективность процесса при этом уменьшается: доля гидрофобных аминокислот в гидролизате составляет 0,46 моль/моль. Степень гидролиза при этом составляет более, чем 60% [36]. Полученные гидролизаты можно использовать в качестве белковых добавок в продукты и напитки для спортивного питания, приготовления смесей для культуристов, питания для людей престарелых и страдающих ожирением.

Следующее направление использования продуктов глубокого гидролиза глютена – производство пищевых продуктов с повышенными антиоксидантными свойствами. В пищевой промышленности окислению прежде всего подвергаются жиры и масла, содержащие ненасыщенные жирные кислоты. Пептиды, способные соединяться с ними, перехватывают свободные радикалы и перекиси «спасая» жиры от окисления (прогоркания). Показано, что некоторые гидролизаты, полученные после обработки глютена протеолитическими ферментами, обладают антиоксидантными свойствами и способны нейтрализовать свободные радикалы с низким значением (половины максимальной ингибирующей концентрации). Возможно, что эта активность объясняется способностью пептидов, имеющих на N-конце остатки гидрофобных аминокислот, таких как Ala, Tyr, и Met, взаимодействовать с молекулами липидов. Сообщалось также, что и гистидинсодержащие пептиды обладают антиоксидантным эффектом благодаря способности хелатировать металлы и захватывать свободные радикалы [37].

Показано [38], что гидролизат пшеничного глютена препятствует окислению липидов в свиных котлетах при их хранении. Главным образом, эта способность связана с кислой (pI < 3) и основной (pI ≥ 9) фракциями гидролизата, разделенными изоэлектрофокусированием.

ЦЕЛИАКИЯ И ПЕРСПЕКТИВНЫЕ СПОСОБЫ ЕЕ ТЕРАПИИ

Несмотря на то, что использование глютена столь широко распространено, имеется ряд ограничений по его применению, связанных со случаями пищевой непереносимости этого белка среди населения. Заболевание желудочно-кишечного тракта, характеризующееся нарушением процессов всасывания в кишечнике воды и питательных веществ в результате непереносимости белка клейковины злаковых (пшеница, рожь, ячмень) и приводящее к истощению, носит название целиакия [39]. Выявляется целиакия в среднем с частотой 1 случай на 1000 жителей. Взаимодействие генетически предрасположенного организма с глютеном ведет к активации T- и B-клеточного иммунного ответа, запуску каскада патологических аутоиммунных

³Маркеры, с помощью которых определяется степень нарушения функций печени и форма заболевания.

⁴Протеаза R – протеаза *Rhizopus oryzae*.

реакций, вызывающих и поддерживающих воспаление слизистой оболочки тонкой кишки, и поражение других органов и систем организма [40]. Единственное предлагаемое лечение – строгая диета, исключая все продукты, содержащие глютен [39].

Многие исследования посвящены изучению того, какую роль играют те или иные компоненты глютена в развитии заболевания. В результате было описано множество эпитопов, одни из которых предположительно способствуют увеличе-

нию проницаемости кишечной стенки, а другие оказывают цитотоксическое или иммуномодулирующее воздействие. Следует отметить, что описанные эпитопы в основном обнаруживаются в глиадиновых фракциях [41, 42]. Следовательно, перспективным является поиск путей уменьшения аллергенного действия глиадина на энтероциты, в том числе протеолитического расщепления токсичных и иммуногенных эпитопов.

α -Глиадин имеет следующую первичную структуру:

```

1 MKTFLILALL AIVATTATTA VRVPVQPQP QNPSQPQPQG QVPLVQQQQF PGQQQQFPPQ
61 QPYPQPQFP SQQPYLQLQP FPQPQFPFPQ LPYPQPPF S PQQPYPQPQP QYPQPQPIS
121 QQQAQQQQQQ QQQQQQQQQQ QQILQQILQQ QLIPCRDVLV QQHNIANARS QVLQQSTYQP
181 LQQLCCQQLW QIPEQSRCQA IHNVVHAIL HQQQRQQQPS SQVSLQQPQQ QYPSGQGFQ
241 PSQQNPQAQG SVQPQQLPQF EEIRNLALQT LPRMCNVYIP PYCSTTIAPF GIFGTNYR.
    
```

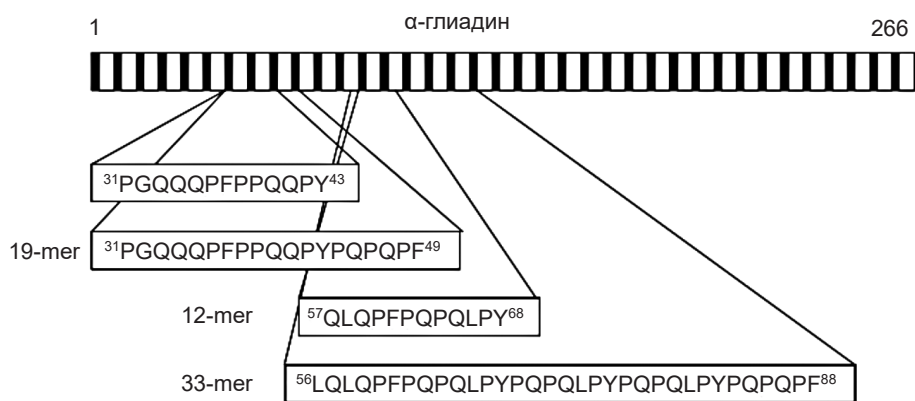


Рис. 3. Схема первичной структуры глютена с указанием иммуногенных и токсичных альфа-глиадиновых пептидов, обогащенных пролином (P) и глутамином (Q) [43]

Fig. 3. Scheme of gluten primary structure with indication of immunogenic and toxic alpha-gliadin peptides enriched by proline (P) and glutamine (Q) [43]

На рис. 3 видно, что α -глиадин содержит большое количество токсичных остатков пролина и глутамин⁵. Пищеварительные протеазы желудочно-кишечного тракта человека не могут гидролизовать пептидные связи, образованные этими остатками, в результате чего в кишечнике накапливаются недогидролизованные пептиды, оказывающие вредное действие на слизистую кишечника [43].

В настоящее время из разных биологических источников выделено несколько протеиназ, способных гидролизовать глютен в кишечнике с разрушением токсичных пептидов. К ним относятся папаиноподобные ферменты [44], дипепти-

дилпептидазы IV из кишечного сока личинок мучного хрущака [45], бактериальные и грибные протеиназы [46]. Из кишечника человека выделены две эластазы CEL3B и CEL2A, эффективно гидролизующие токсичные пептиды глютена [47].

Однако главная проблема заключается в том, что эффективное расщепление пептидов глютена должно происходить до поступления их в кишечник, т.е. уже в желудке, но низкий pH желудочного сока инактивирует большинство указанных протеиназ. В связи с этим данные ферменты можно использовать только для обработки муки и манной крупы до попадания мучных продуктов в организм. Так, воздействием

⁵[https://www.ncbi.nlm.nih.gov/protein/ARJ58939?report=genbank&log\\$=protalign&blast_rank=2&RID=6Y4ETXU9013](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/protein/ARJ58939?report=genbank&log$=protalign&blast_rank=2&RID=6Y4ETXU9013)

протеиназ из грибов и лактобацилл на манную крупу из твердых сортов пшеницы удалось получить манную крупу, не содержащую глютен. Из нее был испечен хлеб, главным достоинством которого было высокое содержание свободных аминокислот и более мелких белков, которые легко перевариваются и усваиваются в ЖКТ, и низкий индекс гидролиза крахмала, также способствующий процессу пищеварения. Кроме того, этот хлеб обладал хорошими вкусовыми качествами [48].

Еще более перспективным нам представляется поиск протеолитических ферментов, способных выдерживать воздействие желудочного сока, для которого характерны кислотные значения pH и присутствие пепсина.

В последнее время было выделено несколько препаратов, удовлетворяющих этим условиям: 1) комбинация ферментов глутаминспецифичной эндопротеазы (EP-B2 из ячменя) и пролилэндопротеазы (SC-PEP из *Sphingomonas capsulata*), а также ряд других ферментов бактериального происхождения [49]; 2) фермент растительного происхождения непентезин (nepenthesin) из семейства пепсинов (кислая протеаза) с низкой специфичностью, способный функционировать при pH 2–3 [50]; 3) пролинспецифичная эндопротеаза из *Aspergillus niger*, способная при кислотных значениях pH полностью расщеплять 33-членный токсичный пептид глютена LQLQFPQPQLPYRQPQLPYRQPQLPYRQPQPF [51]; 4) мутантная протеаза KumaMax, созданная на основе эндопротеазы kumamolysin-As (сериновой эндопротеазы из ацидофильной бактерии *Alicyclobacillus sendaiensis*). Фермент расщепляет пептидную связь справа от дипептида Pro-Gln (PQ-дипептид специфическая активность). Инкубация глютена с ферментом, взятым в соотношении фермент-белок 1:400 в течение 60 мин в условиях, моделирующих желудочный сок (pH 4, присутствие пепсина), приводила к исчезновению 99,5% токсичных эпитопов. При соотношении 1:100 и 30-минутной инкубации данная величина составляла 99,9%. При инкубации 1–2 кусочков хлеба (содержащих около 4 г глютена) с ферментом в концентрации 30 мкг/мл в условиях, моделирующих желудочный сок, инактивировалось более 99% токсичных эпитопов [52]; 5) препарат на основе рекомбинантного белка пшеницы – тритикаин-α, который способен обеспечить гидролиз пептидов глиадины в желудочно-кишечном тракте человека при приеме внутрь. Тритикаин-α относится к ферментам класса папаиноподобных

цистеиновых протеиназ и проявляет устойчивость к расщеплению в кислой среде. Препарат обладает высокой биодоступностью, безопасностью и уже прошел доклинические испытания и доказал свою эффективность в экспериментах с крысами [53] (<https://sechenov.ru/pressroom/news/uchenye-priruchili-glyuten/>).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

При переработке пшеницы с целью получения крахмала в качестве сопутствующего продукта остается пшеничный глютен, или клейковина. Поиски путей использования глютена являются важной практической и экономической задачей.

Глютен представляет собой комплекс нерастворимых в воде белков, присутствующих в эндосперме пшеницы. Его основными белковыми компонентами являются глютенины и глиадины, благодаря тесному взаимодействию которых, глютен обладает характерными для него вязкоупругими свойствами.

Традиционно пшеничный глютен используется при производстве муки и хлебобулочных изделий, а также имеет широкое применение в различных отраслях пищевой промышленности, в производстве кормов для домашних и сельскохозяйственных животных, птицы и рыб и для многих других целей.

Однако область применения глютена смогли расширить благодаря химическим и ферментативным модификациям. Использование протеолиза в настоящее время является перспективным направлением получения гидролизатов глютена. Полученные пептиды, обладают большей растворимостью в сравнении с негидролизованным глютенном. При этом их способность к образованию пены, а также поддержанию ее стабильности находит применение не только в производстве продуктов питания, но и при создании биоразлагаемых пеноматериалов.

Следует выделить отдельное направление возможного использования гидролизатов глютена – производство лекарственных препаратов. Показано, что определенные фракции гидролизатов обладают биологической активностью. Так, у некоторых из них были обнаружены антиоксидантные, гепатопротекторные свойства, а также способность к ингибированию ангиотензинпревращающего фермента. Глубокий гидролиз глютена позволяет получить свободные аминокислоты, которые можно использовать в качестве спортивного и диетического питания.

Наконец, поиск ферментов, способных проводить гидролиз глютена без образования пептидов, опасных для больных целиакией, может способствовать созданию медицинских препаратов для энзимотерапии пищевой непереносимости глютена.

ЛИТЕРАТУРА

1. Балашов А. И. Производственный менеджмент (организация производства) на предприятии. СПб: Питер, 2009, 33–35.
2. Глубокая переработка зерна и производство биотоплива. Инвестиционный меморандум проекта. Разработано на основе маркетингового исследования рынка сырья и продукции глубокой переработки зерна и производства биотоплива, ООО “Навигейт Консалтинг”, 2015, 4–16.
3. Day L., Batey I.L., Wrigley C.W., Augustin M.A. Gluten Uses and Food Industry Needs. Value added wheat CRC project report, 2004, 1–38.
4. Lu B. Evaluation of Vital wheat gluten as a source of protein in extruded diets for juvenile Giant croaker (*Nibea japonica*): Feed technological properties and biological responses. Master Thesis. Norwegian University of Life Sciences, Norway, 2015.
5. Wieser H. Chemistry of gluten proteins. *Food Microbiology*, 2007, 24, 115–119. doi:10.1016/j.fm.2006.07.004
6. Shewry P. R., Halford N.G., Belton P.S., Tatham A.S. The structure and properties of gluten: an elastic protein from wheat grain. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.*, 2002, 357(1418), 133–142. doi: 10.1098/rstb.2001.1024
7. Wang P., Jin Z., Xu X. Physicochemical alterations of wheat gluten proteins upon dough formation and frozen storage – A review from gluten, glutenin and gliadin perspectives. *Trends in Food Sci. Technol.*, 2015, 1–10. doi: 10.1016/j.tifs.2015.10.005
8. Balakireva A.V. Zamyatnin Jr. A.A. Properties of Gluten Intolerance: Gluten Structure, Evolution, Pathogenicity and Detoxification Capabilities – Review. *Nutrients*, 2016, 8 (644), 1–27. doi: 10.3390/nu8100644
9. Cousineau J. Production and characterization of wheat gluten films. Master’s thesis University of Waterloo, Ontario, 2012.
10. Wu Q., Yu Sh., Kollert M., et al. Highly absorbing antimicrobial biofoams based on wheat gluten and its biohybrids. *ACS Sustainable Chem. Eng.*, 2016, 4(4), 2395–2404 doi: 10.3390/nu8100644
11. Wu Q. Biofoams and biocomposites based on wheat gluten proteins. Doctoral thesis KTH Royal Institute of Technology, Sweden, Stockholm, 2017.
12. Wouters A., Rombouts I., Fierens E., et al. Relevance of the functional properties of enzymatic plant protein hydrolysates in food systems. *Comprehensive Rev. Food Science Food Safety*, 2016, 15, 786–800. doi: 101111/1541-433712209
13. Blomfeldt T. O. J., Kuktaite R., Johansson E., Hedenqvist M.S., et al. Mechanical properties and network structure of wheat gluten foams. *Biomacromolecules*, 2011, 12, 1707–1715. doi: 101021/bm200067f
14. Woerdeman D., Veraverbeke W., Verpoest I., et al. Gluten biopolymers. US Patent № 7520929 2009.
15. Day L., Augustin M.A., Batey I.L., Wrigley C.W. Wheat-gluten uses and industry needs. *Trends Food Sci. Technology*, 2006, 17(2), 82–90. doi: 101016/j.tifs.200510003
16. Gontard N., Guilbert S., Cuq J-L. Edible wheat gluten films: influence of the main process variables on film properties using response surface methodology. *J. Food Science*, 1992, 57(1), 190–199. doi: 101111/j1365-26211992tb05453x
17. Zubeldía F., Ansorena M.R., Marcovich N.E. Zubeldía F. Wheat gluten films obtained by compression molding. *Polymer Testing*, 2015, 43, 68–77. doi: 101016/j.polymertesting201502001
18. Herald T.J., Gnanasambandam R., Mcguire B.H., Hachmeister K.A. Degradable wheat gluten films: preparation, properties and applications. *J. Food Science*, 1995, 60(5), 1147–1150. doi: 101111/j1365-26211995tb06311x
19. Takeda K., Matsumura Y., Shimizu M. emulsifying and surface properties of wheat gluten under acidic conditions. *J. Food Science*, 2001, 66(3), 393–399. doi: 101111/j1365-26212001tb16116x
20. Reddy N., Jiang Q., Yang Y. Novel wheat protein films as substrates for tissue engineering. *J. Biomaterials Science, Polymer Edition*, 2011, 22(15), 2063–2077. doi: 101163/092050610X532638.
21. Popineau Y., Huchet B., Larre C., Berot S. Foaming and Emulsifying Properties of Fractions of Gluten Peptides Obtained by Limited Enzymatic Hydrolysis and Ultrafiltration *J. Cereal Science*, 2002, 35, 327–335. doi:101006/jcers20010437
22. Kong X., Zhou H., Qian H. Enzymatic hydrolysis of wheat gluten by proteases and properties of the resulting hydrolysates. *Food Chemistry*, 2007, 101, 615–620. doi: 101016/j.foodchem200606062
23. Wang J., Zhao M., Jiang Y. Effects of wheat gluten hydrolysate and its ultrafiltration fractions on dough properties and bread quality. *Food Technol. Biotechnol.*, 2007, 45(4), 410–414.
24. Adler-Nissen J. Determination of the degree of hydrolysis of food protein hydrolysates by trinitrobenzenesulfonic acid *J. Agric. Food Chem.*, 1979, 27(6), 1256–1262. doi: 101021/jf60226a042
25. Wang J-S., Zhao M-M., Zhao Q-Z., et al. Characterization of hydrolysates derived from enzymatic hydrolysis of wheat gluten. *JFS C: Food Chemistry and Toxicology*, 2007, 72(2), 103–107. doi: 101111/j1750-3841200600247x

26. Львович Ч.Д. Способ получения пищевого продукта с пенообразующими свойствами. Патент РФ № 2536967 2014.
27. Joye J., McClements D.J. Emulsifying and emulsion-stabilizing properties of gluten hydrolysates. *J. Food Chemistry Biochemistry*, 2014, 62, 2623–2630. doi: 101021/jf5001343
28. Wouters A., Rombouts I., Legein M., Fierens E., et al. Air–water interfacial properties of enzymatic wheat gluten hydrolysates determine their foaming behavior. *Food Hydrocolloids*, 2016, 55, 155–162. doi: 101016/jfoodhyd201511017
29. Wouters A., Fierens E., Rombouts I., Brijs K., et al. Exploring the relationship between structural and air–water interfacial properties of wheat (*Triticum aestivum* L) gluten hydrolysates in a food system relevant pH range. *J. Agric. Food Chem.*, 2017 65(6), 1263–1271. doi: 101021/acsfjafc6b05062
30. Wouters A., Fierens E., Rombouts I., Brijs K., et al. Air-water interfacial properties of enzymatically hydrolyzed wheat gluten in the presence of sucrose *Food Hydrocolloids*, 2017, 73, 284–294. doi: 101016/jfoodhyd201707014
31. Wouters A., Fierens E., Rombouts I., Brijs K., et al. Impact of ethanol on the air-water interfacial properties of enzymatically hydrolyzed wheat gluten *Colloids Surfaces A: Physicochemical Engineering Aspects*, 2017, 529, 659–667. doi: 101016/j.colsurfa201706013
32. Wouters A. Air-water interfacial properties of enzymatically hydrolysed wheat (*T. aestivum* L) gluten. Doctoral thesis KU Leuven, Leuven, Belgium, 2017.
33. Dadzie R.G., Ma H., Abano E.E., Qu W., et al. Optimization of process conditions for production of angiotensin I converting enzyme (ace) inhibitory peptides from vital wheat gluten using response surface methodology. *Food Sci. Biotechnol.*, 2013, 22(6), 1531–1537. doi: 101007/s10068-013-0248-9
34. Zhang Y., Li J., Li S., Ma H., Zhang H. Mechanism study of multimode ultrasound pretreatment on the enzymolysis of wheat gluten. *J. Sci. Food Agric.*, 2018, 98(4), 1530–1538 doi: 101002/jfsa8624.
35. Sato K., Egashira Y., Ono S., Mochizuki S., et al. Identification of a hepatoprotective peptide in wheat gluten hydrolysate against D-galactosamine-induced acute hepatitis in rats. *J. Agric. Food Chem.*, 2013, 61(26), 6304–6310. doi: 101021/jf400914e
36. Widyanani W., Sari Y.W., Ratnaningsih E., Sanders J.P., Bruins M.E. Production of hydrophobic amino acids from biobased resources: wheat gluten and rubber seed proteins. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 2016, 100(18), 7909–7920. doi: 101007/s00253-016-7441-8
37. Koo S. H., Bae I.Y., Lee S., Lee D-H., et al. Evaluation of wheat gluten hydrolysates as taste-active compounds with antioxidant activity *J. Food Sci. Technologists*, 2011, 51(3), 535–542. doi: 101007/s13197-011-0515-9
38. Park E.Y., Imazu H., Matsumura Y., et al. Effects of peptide fractions with different isoelectric points from wheat gluten hydrolysates on lipid oxidation in pork meat patties *J. Agric. Food Chem.*, 2012, 60(30), 7483–7488. doi: 101021/jf301532e
39. Лифляндский В. Г., Смолянский Б. Л., Лавренова Г. В., Соловьева В. А. Энциклопедия диагностики и лечения от А до Я. Под ред И. А. Корешкина. М: ОЛМА Медиа Групп, 2013, 186–187.
40. Малолетникова И.М., Зарянкина А.И., Лозовик С.К. Глютенная энтеропатия у детей *Проблемы здоровья и экологии*, 2013, 4(38), 143–147.
41. Serena G., Camhi S., Sturgeon C., Yan S., et al. The role of gluten in celiac disease and type 1 diabetes. *Nutrients*, 2015, 7(9), 7143–7162. doi: 103390/nu7095329
42. Waga J. Structure and allergenicity of wheat gluten proteins – A review. *Polish J. Food . Nutrition Sci.*, 2004, 13/54(4), 327–338. doi: 101371/journalpone0172819
43. Stenman S. Coeliac disease-inducing gluten. Academic Dissertation University of Tampere, Tampere, Finland, 2011.
44. Li Y. Yu. J., Goktepe I., Ahmedna M. The potential of papain and alcalase enzymes and process optimizations to reduce allergenic gliadins in wheat flour. *Food Chemistry*, 2016, 196, 1338–1345. doi: 101016/jfoodchem201510089
45. Tereshchenkova V.F., Goptar I.A., Kulemzina I.A., et al. Dipeptidyl peptidase 4 – An important digestive peptidase in *Tenebrio molitor* larvae. *Insect Biochem. Mol. Biology*, 2016, 76, 38–48. doi: 101016/j.ibmb201607003
46. Stepniak D., Spaenij-Dekking L., Mitea C., et al. Highly efficient gluten degradation with a newly identified prolyl endoprotease: implications for celiac disease. *AJP Gastrointestinal Liver Physiology*, 2006, 291(4), 621–629. doi: 101152/ajpgi000342006
47. Gutiérrez S., Pérez-Andrés J., Martínez-Blanco H., et al. The human digestive tract has proteases capable of gluten hydrolysis *Mol. Metab.*, 2017, 6(7), 693–702. doi: 101016/j.molmet201705008
48. Rizzello C.G., Montemurro M., Gobbetti M. Characterization of the bread made with durum wheat semolina rendered gluten free by sourdough biotechnology in comparison with commercial gluten-free products. *J. Food Sci.*, 2016, 81(9), 2263–2272. doi: 101111/1750-384113410
49. Gass J.D., Chaitan K., Bethune M., Siegel M.J. Combination enzyme therapy for digestion of dietary gluten Patent EP 2136833A1, 2007.
50. Rey M., Yang M., Lee L., et al. Addressing proteolytic efficiency in enzymatic degradation therapy for celiac disease. *Sci. Reports*, 2016. doi: 101038/srep30980
51. Eugster P.J., Salamin K., Grouzmann E., Monod M. Production and characterization of two major *Aspergillus oryzae* secreted prolyl endopeptidases able to efficiently digest proline-rich peptides of gliadin *Microbiology*, 2015, 161(12), 2277–2288. doi: 101099/mic000198

52. Wolf C., Siegel J.B., Tinberg C., et al. Engineering of Kuma030: a gliadin peptidase that rapidly degrades immunogenic gliadin peptides in gastric conditions. *J. Am. Chem. Soc.*, 2015, 137(40), 13106–13113. doi: 101021/jacs5b08325
53. Замятнин А.А., Савватеева Л.В., Гороховец Н.В., и др. Способ получения белков семейства цистеиновых протеаз пшеницы (*Triticum aestivum*) и препарат белка тритикаин-альфа, полученный этим способом. Патент РФ № 2603054С2, 2015

Wheat Gluten and its Hydrolysates. Possible Directions of Practical Use (Review)

A.S. ASRARKULOVA^{1,*}, and N.V. BULUSHOVA¹

¹State Research Institute for Genetics and Selection of Industrial Microorganisms of National Research Center “Kurchatov Institute” (NRC “Kurchatov Institute” – GOSNIIGENETIKA), 117545, Moscow Russia

*e-mail: angeline_backsed@mail.ru

Received March 31, 2018

Accepted April 12, 2018

Abstract – Wheat gluten is a group of water-insoluble proteins of wheat endosperm. As a co-product of the starch and bioethanol production, gluten is available in fairly large quantities. Therefore, the search for optimal ways of its industrial use is an important economic task. The food industry is a traditional area for gluten application. However, the study of its structural and functional properties made it possible to expand the field of the gluten use due to its various modifications, in particular, enzymatic hydrolysis. As compared to native gluten, the gluten hydrolysates have better foaming and emulsifying abilities, as well as higher water solubility. Biologically active properties of hydrolysates (antioxidant, hepatoprotective and angiotensin-converting enzyme inhibiting) were also shown. The search for and selection of proteolytic enzymes or their combinations, as well as optimization of the technological process will permit to obtain the hydrolysis products with the required characteristics, expand their use in industry and reduce the cost of the process for their production.

Key words: gluten, gliadins, glutenins, hydrolysates, proteases, proteolytic hydrolysis, celiac disease.

doi: 10.21519/0234-2758-2018-34-4-6-17