

DOI: <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2023-6-3-317-328>



Поступила 20.03.2023

<https://www.fsjour.com/jour>

Поступила после рецензирования 06.08.2023

Научная статья

Принята в печать 14.08.2023

Open access

© Колпакова В. В., Фан К. Ч., Гайворонская И. С., Чумикина Л. В., 2023

СВОЙСТВА И СТРУКТУРНЫЕ ОСОБЕННОСТИ БЕЛКОВ НАТИВНЫХ И МОДИФИЦИРОВАННЫХ КОНЦЕНТРАТОВ ИЗ БЕЛОГО И КОРИЧНЕВОГО РИСА

Колпакова В. В.^{1,*}, Фан К. Ч.², Гайворонская И. С.¹, Чумикина Л. В.³

¹ Всероссийский научно-исследовательский институт крахмала и переработки крахмалосодержащего сырья — филиал Федерального исследовательского центра картофеля имени А. Г. Лорха, Красково, Московская область, Россия

² Фу Йен университет, Фу Йен провинция, Вьетнам

³ Институт биохимии им. А. Н. Баха, Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии», Москва, Россия

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: АННОТАЦИЯ

протеолиз,
флавоноиды,
молекулярные
массы, вторичная
структура,
дисульфидные
связи, агрегация,
функциональные
свойства, корреляция

Описаны физико-химические свойства и структурные особенности белков концентратов (БК) из белого и коричневого риса. Установлены отличия в степени протеолиза и взаимосвязь функционально-технологических свойств белков с их структурой. Белки из белого риса имели более низкие молекулярные массы (ММ), чем белки из коричневого риса: 1,3–199,5 кДа против 1,5–251,1 кДа. У БК из белого риса большая часть белков сосредоточена в 3 низкомолекулярных фракциях (ММ 11,7–27,5 кДа), тогда как у БК из коричневого риса — в одной с высокой ММ (182–251,1 кДа). В процессе гидролиза ММ белков (ВМ) БК из белого риса понижались с 199,5 до 120,2 кДа с образованием пептидов с ММ < 1,3 кДа, тогда как при гидролизе белков БК из коричневого риса ММ не изменялись. В составе БК из белого риса флавоноиды взаимодействовали с фракциями белков с ММ 131, 10 и 4,0 кДа, а в БК из коричневого риса — только с одной фракцией с ММ 216 кДа. Количество флавоноидов в БК из белого риса в 2,3 раза меньше, чем в БК из коричневого риса. Для БК установлены элементы вторичной структуры белков: α — спираль, 3_{10} — спираль, β — структура, β — изгибы и неупорядоченная форма. Протеолиз белков сопровождался уменьшением α — спиралей, увеличением β — структуры и нерегулярных участков, ослаблением гидрофобных свойств белков и повышением количества S–S связей: БК из коричневого риса характеризовались большим содержанием $-\text{CH}_2$ групп семейства флавоноидов, а также более высокой степенью ненасыщенности групп бензольных ядер, кетонных и сложноэфирных группировок. Выявлена отрицательная корреляция между пенообразующей способностью БК и верхними границами значений ММ ($r = -0,95$), количеством ВМ белков ($r = -0,80$) и константами агрегации ($r = -0,8$ и $-1,0$) и положительная корреляция ($r = +0,8$) — с количеством S–S связей. Высокая пенообразующая способность взаимосвязана с белками с ММ не более 120 кДа. Результаты предназначены для регулирования функциональных свойств белковых продуктов на основе особенностей физико-химических свойств нативных и модифицированных белков.

Received 20.03.2023

Accepted in revised 06.08.2023

Accepted for publication 14.08.2023

© Kolpakova V. V., Fan Q. Ch., Gaivoronskaya I. S., Chumikina L. V., 2023

Available online at <https://www.fsjour.com/jour>

Original scientific article

Open access

PROPERTIES AND STRUCTURAL FEATURES OF NATIVE AND MODIFIED PROTEINS OF CONCENTRATES FROM WHITE AND BROWN RICE

Valentina V. Kolpakova^{1,*}, Quynh Ch. Fan², Irina S. Gaivoronskaya¹, Ludmila V. Chumikina³

¹ All-Russian Research Institute of Starch and Starch-containing Raw Materials Processing — Branch of Russian Potato Research Centre, Kraskovo, Moscow region, Russia

² Phu Yen University, Phu Yen province, Vietnam

³ A. N. Bach Institute of Biochemistry, Federal Research Center «Fundamental Foundations of Biotechnology», of Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

KEY WORDS:

proteolysis, flavonoids,
molecular weights,
secondary structure,
disulfide bonds,
aggregation, functional
properties, correlation

ABSTRACT

The physicochemical properties and structural features of proteins of concentrates (PC) from white and brown rice are described. Differences in a degree of proteolysis and the relationship between the functional and technological properties of proteins and their structure were established. Proteins from white rice had lower molecular weights (MW) than proteins from brown rice: 1.3–199.5 kDa versus 1.5–251.1 kDa. Most proteins were grouped in three low-molecular-weight fractions (MW 11.7–27.5 kDa) in PC from white rice and in one fraction with the high molecular weight (182–251.1 kDa) in PC from brown rice. In the process of hydrolysis, the MW of proteins (high-molecular-weight) of PC from white rice decreased from 199.5 to 120.2 kDa with generation of peptides with a molecular weight of <1.3 kDa, while the MW remained unchanged upon hydrolysis of proteins of PC from brown rice. In the composition of PC from white rice, flavonoids interacted with protein fractions with molecular weights of 131, 10, and 4.0 kDa; while in PC from brown rice, they interacted with only one fraction with a molecular weight of 216 kDa. The quantity of flavonoids in PC from white rice was 2.3 times less than that in PC from brown rice. Elements of protein secondary structure were established for PC: α — helix, 3_{10} — helix, β — structure, β — bends, and irregular shape. Proteolysis of proteins was accompanied by a decrease in the number of α — helices, increase in the proportion of β — structures and irregular regions, weakening of the hydrophobic properties of proteins and an increase in the number of S–S bonds; PC from brown rice was characterized by a higher content of $-\text{CH}_2$ groups from the flavonoid family, as well as by a higher degree of unsaturation of groups of benzene nuclei, ketone and ester groups. A negative correlation was found between the foaming ability of PC and the upper boundaries of molecular weights ($r = -0.95$), quantity of high-molecular-

ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ: Колпакова, В. В., Фан, Ч. К., Гайворонская, И. С., Чумикина, Л. В. (2023). Свойства и структурные особенности белков нативных и модифицированных концентратов из белого и коричневого риса. *Пищевые системы*, 6(3), 317–328. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2023-6-3-317-328>

FOR CITATION: Kolpakova, V. V., Fan, Q. Ch., Gaivoronskaya, I. S., Chumikina, L. V. (2023). Properties and structural features of native and modified proteins of concentrates from white and brown rice. *Food Systems*, 6(3), 317–328. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2023-6-3-317-328>

weight proteins ($r = -0.80$) and aggregation constants, and a positive correlation ($r = +0.8$) with the number of S–S bonds. The high foaming ability is interrelated with proteins with a molecular weight of no more than 120 kDa. The results are intended to regulate the functional properties of protein products based on the characteristics of the physicochemical properties of native and modified proteins.

1. Введение

Рис (*Oriza sativa* L.), занимающий в мировом объеме выращивания зерновых культур второе место после пшеницы, является важнейшим сырьевым источником для производства продуктов питания как в Азии, так и на других континентах [1,2,3,4]. В Европе и России рис пользуется большой популярностью, несмотря на низкое содержание в нем белка (6–8%). Данную культуру употребляют в виде крупы, ее перерабатывают в муку, используют для изготовления кондитерских изделий, применяют в производстве хлеба и лапши как источник белков, микроэлементов, витаминов, минеральных веществ, крахмала [5,1,6,7,8,9]. Содержание белка и его состав считаются очень важными факторами, влияющими на технологические и кулинарные характеристики риса [5]. Для прогнозирования фракционного состава белков (проламин, глобулин, глютелин) рисовой муки предложен метод спектроскопии в ближней инфракрасной области спектра, что важно для разработки безглютеновых изделий. Дополнительное повышение содержания в муке из коричневого риса белка, золы, клетчатки, растворимых волокон, минералов, фенольных соединений, антиоксидантов, крахмала, рибофлавина, пиридоксина, никотиновой кислоты, γ -токотриенола, δ -токотриенола достигалось ферментацией ее дрожжами [1]. Тесто с 40% такой муки имело мягкую консистенцию, большую способность удерживать пузырьки воздуха, более высокий удельный объем, лучшую текстуру. С использованием рисовой муки разработана технология маффина, обогащенного калием, фосфором, кальцием [6]. Изучение фракционного состава крахмала непропаренного риса из Нигерии показало, что в нем содержался резистентный крахмал (1,43–3,13%), а поскольку индекс переваривания всего крахмала коррелировал с быстроусвояемой фракцией ($r = 0,879$), дальнейшей задачей обозначен поиск сортов с менее быстрым ее перевариванием [7].

Для большого набора показателей качества риса идентифицированы/клонированы гены/локусы количественных признаков и разработаны маркеры для облегчения отбора зерна в целях его эффективного применения потребителями и селекционерами для обеспечения урожайности, устойчивости к абиотическим и биотическим стрессам [8]. Авторами источника [9] уделено большое внимание влиянию риса как пищевого продукта на состояние здоровья, а также анализу его качества с точки зрения кулинарии и органолептических свойств, включая аромат изделий из риса.

Рисовые белки готовых пищевых продуктов, как и коммерческих белковых концентратов и изолятов, по биологической ценности занимают одно из ведущих мест среди белков зерновых культур [10,11,12], что делает рисовую муку полезной для питания не только взрослых людей, но и детей. Основная масса белков риса представлена щелочерастворимой глютелиновой фракцией (80–93% от общего содержания) [13], и, в отличие от белков пшеницы, в них содержится мало спирторастворимых проламинов (2,5–3,5%). В связи с этим целесообразно применение рисовых продуктов, включая коммерческие препараты из зерна или отрубей, в гипоаллергенной диете для пациентов с различными заболеваниями [14]. Особенно ценным является зерно коричневого (бурого) риса: в отличие от белого, оно проходит минимальную обработку, включая процесс шлифования, поэтому имеет коричневый цвет и специфический аромат. Из-за незначительного удаления плодовых и семенных оболочек такой рис содержит больше клетчатки, минеральных веществ, витаминов, красящих соединений, рассматриваемых как антиоксидантные ингредиенты, оказывающие благоприятное действие на здоровье людей. Регулярное потребление таких биологически активных веществ с противовоспалительной активностью, способностью снижать холестерин и обеспечивать профилактику сердечно-сосудистых заболеваний уменьшает риск возникновения болезней сердца, диабета, ожирения, повышения артериального давления. Недавние исследования [15,16] показали, что рисовый белок проявляет и противораковую функцию. В ряде работ [17,18] показано, что антиоксидантный потенциал зерна злаковых культур хорошо коррелирует с содержанием полифенолов, поэтому со стороны исследователей сегодня наблюдается повышенный интерес к данным видам соединений [17,18,19,20,21,22]. Красновато-коричневые пигменты зерновок риса по химическому составу представляют смесь фенольных соединений и флавоноидов, среди которых обнаружены трицин, лютеолин, апигенин, кверцетин, изорамнетин, мирицетин [17], смесь сложных

эфиров дигалловой кислоты с глюкозой (пентадигаллоилглюкозы), катехол-танины, катехины. В пурпурных зерновках риса пигментами являлись также антоцианидины и антоцианины, образующиеся из флавоновых и флавонольных соединений. Для рисовых отрубей, например, установлено, что антиоксидантная активность белковых фракций зависит от содержания в них фитатов (данный показатель выше в альбуминах и ниже в проламинах) [17].

Анализ основных компонентов выполнен для непигментированного, красного и черного риса фракции [18]. В непигментированном рисе не было обнаружено конъюгированных протокатеховых и 2,5-дигидроксибензойных кислот, которые присутствовали в черном и красном рисе соответственно. Основными связанными фенольными кислотами являлись феруловая, п-кумаровая, а также 2,5-дигидроксибензойная кислота в красном рисе и протокатеховая и ванилиновая кислоты в черном рисе. Протокатеховая, ванилиновая, сиреневая и феруловая кислоты связаны с флавоноидами и антиоксидантной активностью в растворимой конъюгированной фракции, в то время как протокатеховая и феруловая кислоты коррелировали с активностью нерастворимой связанной фракции [18]. Имеющие пользу для здоровья флавоноиды (трицин, лютеолин, апигенин, кверцетин, изорамнетин, кемпферол, мирицетин) выявлены у риса и авторами работы [19]. Флавоноиды проявляли активность по удалению радикалов, взаимодействию с клеточной мембраной, белком, ингибированию пролиферации клеток, агрегации тромбоцитов, окислению холестерина, активации клеток-киллеров, макрофагов и по ингибированию ангиогенеза.

Исследование профилей соединений рисовых отрубей из шести образцов цветного риса жидкостной хроматографией с фотодиодной матрицей и тандемной масс-спектрометрией с ионизацией электрораспылением показало, что проантоцианидины обнаружены только в отрубях красного риса, но не в отрубях черного риса. Большая часть фенолокислот (83–97%) в окрашенных рисовых отрубях находилась в связанной форме. В связанной фракции красных рисовых отрубей впервые идентифицирован протокатехуальдегид. Антиоксидантная активность несвязанной фракции окрашенных рисовых отрубей обуславливалась проантоцианидинами в красном рисе и антоцианами в черном рисе, в то время как активность связанной фракции — фенольными кислотами [20]. Основными антоцианами в отрубях из фиолетового риса были цианидин-3-глюкозид и пеонидин-3-глюкозид [21]. Пурпурные отруби, в которых накапливались как антоцианы, так и проантоцианидины, содержали больше всего фенолов, флавоноидов и сильнее поглощали радикалы кислорода; за ними следовали красные, коричневые, светло-коричневые и белые отруби. Сделан вывод о том, что с помощью селекции можно вывести новые сорта риса с различным типом и количеством фенольных соединений.

Для приготовления рисовых продуктов с улучшенными питательными свойствами исследованы процессы прорастания коричневого зерна разных сортов [22]. Прорастание влияло на физико-химический и белковый профиль, на пастообразующие свойства и на количество фенольных соединений. Стабильность пены и водопоглотительная способность муки из проросшего зерна были выше по сравнению с мукой из непроросшего зерна. Количество γ -аминомасляной кислоты, гистидина, аргинина, пролина и метионина увеличивалось при прорастании. Феруловая кислота, п-кумаровая кислота и кверцетин присутствовали в обоих видах риса в связанной форме. Проросшее зерно было более качественным для питания, поэтому выявлен сорт риса PB1121 для проращивания из-за больших изменений в содержании белка, незаменимых аминокислот, катехина, хлорогеновой кислоты, протокатеховой, ванилиновой кислот, а также ввиду изменения стабильности пены, необходимой для разрабатываемых качественных рисовых продуктов [22].

Если данные в литературе о влиянии различного типа соединений на здоровье людей уже имеются, то взаимосвязь между содержанием веществ, проявляющих, например, антиоксидантную активность в белковых коммерческих препаратах и их функционально-технологическими свойствами, остается не исследованной. Химическое взаимодействие фенольных и флавоноидных соединений с белками, вероятно, будет оказывать влияние и на структуру, и на физико-химические свойства последних. В целом, данных о зависимости функционально-технологических и пищевых свойств от

особенностей структуры и физико-химических показателей белков в составе препаратов, полученных из различных видов зерновых культур, включая зерно риса, относительно немного [22,23,24,25], поэтому проблема отсутствия таких исследований сегодня довольно актуальна. Такие сведения необходимы для разработки эффективных способов выделения, модификации и регулирования химического состава и функционально-технологических свойств белковых препаратов (растворимость, образование пены, связывание, эмульгирование жира, денатурация и т. д.), характеризующих поведение белков в пищевых системах при производстве продуктов питания. Биохимические и физико-химические характеристики белков рисовых препаратов целесообразно изучать с помощью современных аналитических методов зерновой химии, среди которых преобладают электрофорез, флуоресцентная спектроскопия, хроматография, агрегация и спектроскопия кругового дихроизма. Данные методы ранее использовались преимущественно для целого зерна или полученной из него муки [26,27,28,29].

Целью данной работы является сравнительная характеристика свойств, структурных особенностей белков и функционально-технологических показателей нативных и модифицированных ограниченным ферментативным протеолизом концентратов из белого и коричневого риса.

2. Объекты и методы

В качестве объектов исследования использовали муку, полученную из зерна белого и коричневого риса от компаний «Гао Там» и «Тхай Зьонг» (Вьетнам) соответственно с проходом через сито № 43 ПА-70 (ООО «Зернотехника», Россия) и с выходом 68%, а также белковые концентраты (БК) с массовой долей белка $84,1 \pm 1,12\%$ и $79,0 \pm 0,07\%$ соответственно. БК получали экстракцией из муки при оптимальных параметрах [30]. Муку обрабатывали комплексным ферментным препаратом (ФП) «Фунгамил Супер АХ» (Novozymes, Дания), содержащим скисланазу и амилазу. Концентрация ФП составила 70 ед. ГКА/г муки, время экстрагирования белков — 20 мин, гидромодуль — 1:6, pH — 4,8, температура — 70 °С. Дисперсию центрифугировали, к осадку добавляли 0,01 н HCl при гидромодуле 1:9 и времени экстрагирования 135 мин, затем вновь центрифугировали. Белковые супернатанты от двух стадий объединяли, белки осаждали 0,01н раствором NaOH, осадок промывали дистиллированной водой, лиофильно высушивали (Hochvacuum HVD TG-50, Veb Hochvakuum Dresden, Германия) и получали негидролизованые БК (нативные). Для получения гидролизованных белковых концентратов (ГБК) навеску БК смешивали с водным раствором эндопротеазного ФП Protamex® (Novozymes, Дания) при концентрации субстрата 25%, при температуре 50 ± 1 °С, pH $5,5 \pm 0,1$, при концентрации ФП 1,0 Е/г и продолжительности гидролиза 150 ± 2 мин. Степень протеолиза белков, определенная по методике, изложенной в работе [24], для обоих видов риса составляла $3,95 \pm 0,5\%$. Образцы высушивали лиофильным способом на установке ContinuousFreezeDryer (New Brunswick Scientific Co., INC, США) до влажности $5,0 \pm 1,0\%$. Массовая доля белка в ГБК из белого риса составляла $84,10 \pm 1,20\%$, из коричневого риса — $79,00 \pm 0,60\%$. Содержание белка определяли по методу Кьельдаля (N x 6,25).

Высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ). Для определения молекулярно-вещного распределения белков БК и ГБК методом ВЭЖХ [31] использовали хроматограф «Стайер-SYSTEM» (Аквилон, Россия) с системой внесения образцов Rheodyne 7725i (Rheodyne, США) и детектором UVV104 с колонкой BioSep-SEC-S2000 (Phenomenex, США) размером 300 x 7,8 мм. Подвижной фазой, скорость потока которой составляла $1 \text{ см}^3/\text{мин}$, служил $0,05 \text{ M}$ K-Na фосфатный буфер, pH 7,4, содержащий $0,2 \text{ M}$ NaCl. Поглощение света детектировали при 214 нм. Колонку калибровали с белками-маркерами LMW ColibrationKit (фирмы Phenomenex, США): бычьим сывороточным альбумином (67 кДа), овальбумином (43 кДа), химо-трипсиногеном (25 кДа), рибонуклеазой (13,7 кДа), бацитрацином (1,45 кДа).

Гель-фильтрация белков на сефадексе G-150. Гель-фильтрацию белков выполняли на сефадексе G-150 в колонке размером $81 \times 3,5$ см, которую калибровали с синим декстраном (MM 2 млн Да) и триптофаном (MM 204 Да). На колонку наносили около 50 мг белка БК и ГБК в 10 см^3 растворителя УМЦ, содержащего $0,1 \text{ моль}/\text{дм}^3$ уксусной кислоты, $3,0 \text{ моль}/\text{дм}^3$ мочевины и $0,01 \text{ моль}/\text{дм}^3$ цетилтриметиламмония-N-бромида. Элюирование белков с колонки проводили тем же растворителем со скоростью $15\text{--}18 \text{ см}^3/\text{ч}$. Фракции объемом $2,4 \text{ см}^3$ собирали на коллекторе Minirac fraction collector 17000 (LKB, Швеция) со скоростью $12 \text{ см}^3/\text{ч}$. Регистрацию оптической плотности элюата осуществляли при длине волны 280 нм на спектрофотометре

СФ-102 («Аквилон», Россия). Для определения молекулярной массы белковых фракций колонку маркировали стандартными метчиками с известной молекулярной массой (Serva, Швеция).

Спектроскопическое исследование белков круговым дихроизмом (КД). Спектры КД измеряли на дихрографе Chirascan фирмы Applied Photophysics (Англия). Прибор калибровали по (1S)-(+)-10-камфаросульфоновой кислоте (Sigma C-1395) [32]. Спектры снимали в кварцевых кюветках с длиной пути 0,1 см. Кюветы термостатировали при 20 °С в Пельтье термостате с охлаждением марки LCI-030EL (Daihan Labtech, Корея). Спектральная ширина щели дихрографа — 1 нм, постоянная времени — 3 с, скорость сканирования — около 9 нм/мин. Концентрацию белка определяли по спектрам поглощения, которые измеряли одновременно со спектрами КД. Для этого использовали коэффициенты экстинкции белков при 220, 215, 210, 205 и 200 нм: 11, 15, 20, 31, 45 с применением коэффициентов экстинкции пептидной связи (оптическая плотность в кювете толщиной 1 см при концентрации белка в $1 \text{ мг}/\text{см}^3$), взятые из литературы [33–35].

Средний вес аминокислотного остатка белков (100 Да) определяли, исходя из аминокислотного состава [36]. Спектры представлены в единицах молярной эллиптичности $[\Theta]$, рассчитанной по формуле:

$$[\Theta] = \Theta \frac{M}{c \cdot l \cdot 100} \quad (1),$$

где Θ — экспериментальная эллиптичность в градусах;

M — средний вес одного аминокислотного остатка;

c — концентрация белка, $\text{г}/\text{см}^3$;

l — толщина кюветы, дм.

Для расчетов использовали спектры 32 белков из базы данных 108 глобулярных белков с известной вторичной структурой. Отбор производили по критерию среднеквадратичной близости спектров КД реперных белков со спектрами КД исследуемых белков. С целью определения погрешности проанализировали выборку из 32 белков. Для этого последовательно исключали спектр КД одного белка и для оставшихся 31 спектра рассчитывали коэффициенты регрессии [36], которые использовали для выявления 5 элементов вторичной структуры у исключенного белка. Затем из обучающей выборки исключали второй белок, первый белок включали вновь в выборку и т. д. Дисперсия результатов, максимально возможная ошибка расчета и коэффициенты корреляции для каждого элемента вторичной структуры приведены в Таблице 1.

Таблица 1. Погрешности определения элементов вторичной структуры белков

Table 1. Errors of determination of elements of protein secondary structure

Тип вторичной структуры	Дисперсия	Максимальное отклонение	Коэффициент корреляции
α -спираль	5,0	8,7	0,93
3_{10} -спираль	2,3	5,2	0,48
β -структура	5,8	10,8	0,90
β -изгибы	2,6	6,0	0,60
Нерегулярная	4,5	12,8	0,66

Инфракрасная (ИК) спектроскопия белков. Инфракрасные спектры регистрировали, создавали 30 сканов при разрешении 2 см^{-1} . Образцы для регистрации спектров на ИК-Фурье спектрометре IFS66 v/s (Bruker Optik GmbH, Германия) в области $400\text{--}4000 \text{ см}^{-1}$ готовили в виде таблеток порошка белка, спрессованных с KBr; математическую обработку спектров проводили в программном пакете OPUS-7 [36].

Содержание сульфгидрильных (SH) групп и дисульфидных (S-S) связей. Восстановленные тиоловые группы в БК и ГБК определяли флуоресцентным методом с реактивом TioGlo1 (3Н-нафтол [2,1-б] пиранс-карбоновая кислота) фирмы Calbiochem (США), в основе которого лежит образование флуоресцирующего аддукта с максимумом испускания флуоресценции при 506 нм и длине волны возбуждения 379 нм [37]. К 50 мкдм^3 раствора белка при концентрации $2,5 \text{ мг}/\text{см}^3$ в DMSO (диметилсульфоксид) добавляли 5 мкдм^3 10 мМ раствора TioGlo1 в DMSO и инкубировали при 20 °С в течение 20 мин. Аналогично готовили образцы с добавлением 5 мкдм^3 5%-ного раствора ДДС-Na и 20%-ного раствора меркаптоэтанола. Образцы с ДДС-Na инкубировали 20 мин при 50 °С. Перед измерением пробы разбавляли в 50 раз 10 мМ K-фосфатным буфером, с меркаптоэтанолом — в 5000 раз. Спектры регистрировали на спектрофлуориметре RF-5301 PC (Shimadzu, Япония) при средней скорости сканирования и ширины щели возбуждающего и испускающего света 3 нм. Для пересчета

интенсивности флуоресценции (Е) в содержание –SH-групп использовали калибровочный график, построенный по глутатиону, из которого следовало, что концентрация SH = 1,04 * Е, мкМ.

Агрегирующая способность белков. К 1,0 г БК добавляли 10 см³ 0,05 моль/дм³ CH₃COOH, суспензию встряхивали 1 час и центрифугировали 15 мин при 6000 мин⁻¹. В растворе определяли содержание белка по Лоури и разводили той же кислотой до 0,2% концентрации. К 1,3 см³ 0,02%-ного раствора белка добавляли 1,3 см³ 0,2 моль/дм³ фосфатного буфера с 2 моль/дм³ NaCl (рН 5,6) и измеряли оптическую плотность на СФ при длине волны 350 нм через каждые 5 с в течение 45 с. Константу начального (K × 10⁴) и конечного (τ_{10с}) этапов агрегации определяли по формулам, приведенным в работе [38].

Функционально-технологические свойства БК и ГБК оценивали по водо-, жиросвязывающей, пенообразующей, жироземмулирующей способностям, стабильности пены, стабильности эмульсии [24]. Для определения растворимости БК и ГБК к навеске образца около 0,5 г, добавляли 20 см³ воды, в течение 30 мин встряхивали при 150 об/мин и оставляли на ночь при 4 °С. Дисперсию вновь встряхивали 1 ч и центрифугировали 15 мин при 16 000 об/мин. Центрифугат сливали в мерную колбу на 100 см³. Раствор доводили до метки и определяли содержание белка по методу Кьельдаля, выражая его в процентах от общего содержания в навеске.

Количественное определение флавоноидов. Количество флавоноидов в БК и ГБК определяли спектрофотометрическим методом, основанным на их способности поглощать свет в УФ-области спектра при 276 нм [39]. Навеску концентрата около 1 г, взвешенного с точностью до 4-го знака, помещали в колбу на 100 см³, добавляли 50 см³ 50%-ного этилового спирта; колбу присоединяли к обратному холодильнику и нагревали на кипящей водяной бане 1 ч. Экстракт фильтровали в мерную колбу на 100 см³ через бумажный фильтр, объем раствора доводили 50%-ным этиловым спиртом до метки (раствор А). 5 см³ раствора А помещали в мерную колбу на 100 см³ и объем раствора доводили 50%-ным этиловым спиртом до метки, перемешивали и получали раствор Б. Оптическую плотность раствора Б измеряли при длине волны 276 нм (КФК-2, ЗОМЗ, Россия) в кювете 10 мм с использованием в качестве раствора сравнения 50%-ного этанола. Параллельно определяли оптическую плотность раствора галловой кислоты (КФК-2, ЗОМЗ, Россия). Для приготовления ее раствора около 0,05 г ее помещали в колбу на 100 см³, прибавляли 50 см³ 50%-ного этанола, перемешивали, объем доводили тем же растворителем до метки. 2 см³ полученного раствора помещали в мерную колбу на 100 см³, объем доводили тем же растворителем до метки. Содержание суммы фенолкарбоновых кислот в пересчете на галловую кислоту на абсолютно сухое вещество в процентах (X) вычисляли по формуле:

$$X = \frac{D \cdot m_0 \cdot 2 \cdot 100 \cdot 100 \cdot 100}{D_0 \cdot 100 \cdot 100 \cdot m \cdot 5(100 - W)} \quad (2),$$

где D — оптическая плотность испытуемого раствора;
D₀ — оптическая плотность раствора галловой кислоты;
m — масса навески сырья, г;
m₀ — масса навески галловой кислоты, г;
W — массовая доля влаги, %.

Статистическая обработка данных. Анализы проводились в 3–5 повторностях, результаты представлены как средние арифметические со средними квадратичными ошибками среднего арифметического (M ± m) [40]. Статистическую обработку результатов осуществляли методами дисперсного и корреляционного анализов с программой Statistica 6.0.

3. Результаты и обсуждение

Функционально-технологические свойства (ФТС). Установлено, что ЖСС, ВСС и растворимость БК из белого риса выше на 10–15%, чем аналогичные свойства БК из коричневого риса; ПОС выше почти в 5–6 раз, стабильность пены у БК из коричневого риса отсутствовала (Таблица 2).

Функциональные свойства ГБК из белого и коричневого риса, полученных с ФП Protamex®, отличались от свойств негидролизованых БК. Так, ВСС гидролизата из белого риса на 19% выше, ПОС — в 3 раза больше, тогда как ЖСС, ЖЭС и СЭ, наоборот, меньше на 4–8%, чем у негидролизованых БК. Аналогичная закономерность установлена и для БК из коричневого риса: ВСС выше на 14%, ПОС — в 3,5 раза, а ЖСС, ЖЭС и СЭ у ГБК, наоборот, на 7–15% ниже. Растворимость концентратов из обоих видов риса после гидролиза повышалась в 11–14 раз.

Важно отметить, что ГБК из белого риса обладал всегда более высокими функциональными свойствами, чем ГБК из коричневого

риса: ВСС, ЖСС, ЖЭС и СЭ выше на 7–18%, ПОС — в 5 раз больше, растворимость — на 21% лучше. Пена у ГБК, как и у негидролизованного БК из коричневого риса, нестабильная. Таким образом, пенообразующие свойства и растворимость у ГБК выше, чем у БК; оба вида концентратов из белого риса имели более высокие значения функциональных свойств по сравнению с концентратами из коричневого риса. Особенно это относилось к ПОС и растворимости, что можно было объяснить влиянием фенольных соединений на структуру и свойства белков.

Таблица 2. ФТС концентратов из белого и коричневого риса

Table 2. Functional and technological properties of concentrates from white and brown rice

ФТС	Белый рис		Коричневый рис	
	БК	ГБК	БК	ГБК
Водосвязывающая способность (ВСС), г/г	1,50 ± 0,02*	1,78 ± 0,01*	1,32 ± 0,05*	1,51 ± 0,05*
Жиросвязывающая способность (ЖЭС), г/г	1,42 ± 0,02*	1,32 ± 0,03*	1,27 ± 0,04*	1,10 ± 0,02*
Жироземмулирующая способность (ЖЭС), %	50,0 ± 0,5*	48,0 ± 1,0*	46,0 ± 1,0*	43,0 ± 0,5*
Стабильность эмульсии (СП), %	50,0 ± 0,0*	48,0 ± 0,0*	48,0 ± 0,0*	43,0 ± 0,0*
Пенообразующая способность (ПОС), %	90,0 ± 0,5*	280,0 ± 1,0*	16,0 ± 1,0*	55,0 ± 2,0*
Стабильность пены (СП), %	83,0 ± 1,0	83,0 ± 1,50	0	0
Растворимость, %	3,01 ± 0,15*	42,52 ± 0,06*	2,63 ± 0,03*	35,04 ± 0,20*

Примечание: * достоверные значения при p = 0,05.

Высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ). Для объяснения различий в ФТС концентратов использовали и рисовую муку. При сравнении компонентного состава муки и БК из белого риса видно, что первые фракции белков муки на выходе появлялись на 320 секунде, тогда как белки фракции БК — на 340 (Рисунок 1А). ММ белков муки при этом варьировали от 1,45 до 187 кДа, тогда как у белков БК — от 1,45 до 167 кДа. Эти данные указывали на то, что в процессе получения БК из белого риса наблюдался частичный распад белков муки (ММ 167–187 кДа) с образованием более низкомолекулярных компонентов. Подобных результатов для БК из коричневого риса не наблюдали (Рисунок 1В). Белки муки и БК, полученные из белого риса, делились на две фракции, тогда как белки коричневого риса стекали с колонки одним пиком, что свидетельствовало о более сильном взаимодействии между компонентами коричневого риса и меньшей степени однородности их ММ. Было предположено, что на структуру и агрегативное состояние компонентов влияли красящие вещества риса. Если белки БК из белого риса начинали выходить из колонки на отметке около 400 с, то белки БК из коричневого риса — на 300 с, что также указывало на более высокие ММ компонентов (1,45 ÷ 217 кДа) и на определенную степень агрегации.

Белки ГБК, полученного протеолизом из белого риса, стекали с колонки одной фракцией и позже, чем белки БК, на что указывали более низкие значения ММ (1,45 ÷ 115 кДа против 1,45 ÷ 167 кДа). Белки ГБК из коричневого риса стекали в объеме двух фракций, но диапазон ММ компонентов был таким же, как и у БК — 1,45 ÷ 217 кДа. Второй невысокий пик отражал присутствие компонентов с очень низкой ММ — 4,47 ÷ 7,49 кДа (Рисунок 1В). Таким образом, концентраты из коричневого риса содержали компоненты с более высокой ММ, чем концентраты из белого риса: до 217 кДа против 115 кДа. Белки коричневого риса в меньшей степени подвергались протеолизу под действием эндопротеиназы ФП Protamex. Белки муки из зерна белого риса были более гетерогенные по ММ по сравнению с мукой из коричневого риса. В процессе выделения БК белки муки из белого риса (ММ 167 ÷ 187 кДа) частично распадались на компоненты с более низкой ММ, вероятно, за счет большей доступности для ферментных препаратов.

Гель-фильтрация белков на сефадексе G-150. Метод гель-фильтрации позволил более детально фракционировать белки рисовых БК и ГБК. Учитывая различия в компонентном составе БК, полученных из белого и коричневого риса методом ВЭЖХ, и предположение о влиянии на него красящих соединений, экстинкцию профили элюции фракций измеряли при 280 нм и 405 нм. При длине волны 405 нм свет поглощают флавоноиды типа рутина [41], при длине 280 нм — белки. БК из обоих видов риса включали 13 фракций с различными ММ: для белого риса (Рисунок 3А) — от 1,3 кДа до

199,5 кДа (Таблица 3), для коричневого риса (Рисунок 2В) — от 1,3 кДа до 251,1 кДа (Таблица 3). ММ белков в высокомолекулярной области у БК из белого риса меньше ($69,2 \div 199,5$ кДа), чем у БК из коричневого риса ($77,6 \div 251,1$ кДа) (Таблица 3). Большая часть белков белого риса была сосредоточена в VIII пике (34,4%), тогда как у коричневого — в I пике (45,3%).

Измерением экстинкции фракций при 405 нм установлено, что в БК из коричневого риса флавоноиды присутствовали в I пике вместе с компонентами с средней ММ — 216 кДа (Рисунок 2В, кривая 3). В БК из белого риса данные соединения распределялись между тремя белковыми фракциями и со значительно меньшей ММ: 131 кДа;

10 кДа; 4 кДа (Рисунок 2, кривая 3). Заклучили, что более низкие значения ПОС у БК из коричневого риса (Таблица 4) были обусловлены взаимодействием флавоноидов с высокомолекулярными белками, обеспечивающим такую структуру комплексов, у которой гидрофильные -ОН группы бензольных ядер при помощи водородных связей взаимодействовали с кислородом пептидных групп, а гидрофобные радикалы флавоноидов располагались на поверхности белков и не способствовали взаимодействию БК с водой, удержанию ее на поверхности пенных пленок, тем самым и стабильности.

У белков белого риса, подвергнутых протеолизу (ГБК), обнаружено 18 фракций вместо 13 у БК (Рисунок 2А, кривая 2). Количество

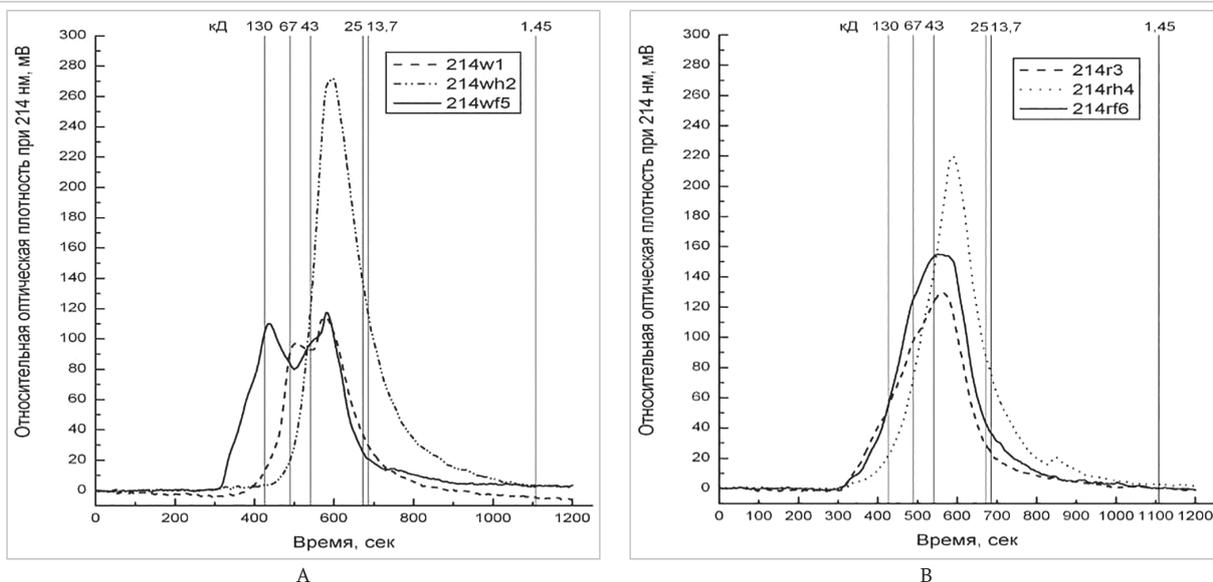


Рисунок 1. Фракционный состав белков: А – белый рис; В – коричневый рис; 214wf5 и 214wf6 – рисовая мука; 214w1 и 214r3 – БК; 214wh2 и 214rh4 – ГБК
 Figure 1. Fractional composition of proteins: А – white rice; В – brown rice; 214wf5 and 214wf6 – rice flour; 214w1 and 214r3 – PC; 214wh2 and 214rh4 – hydrolyzed PC

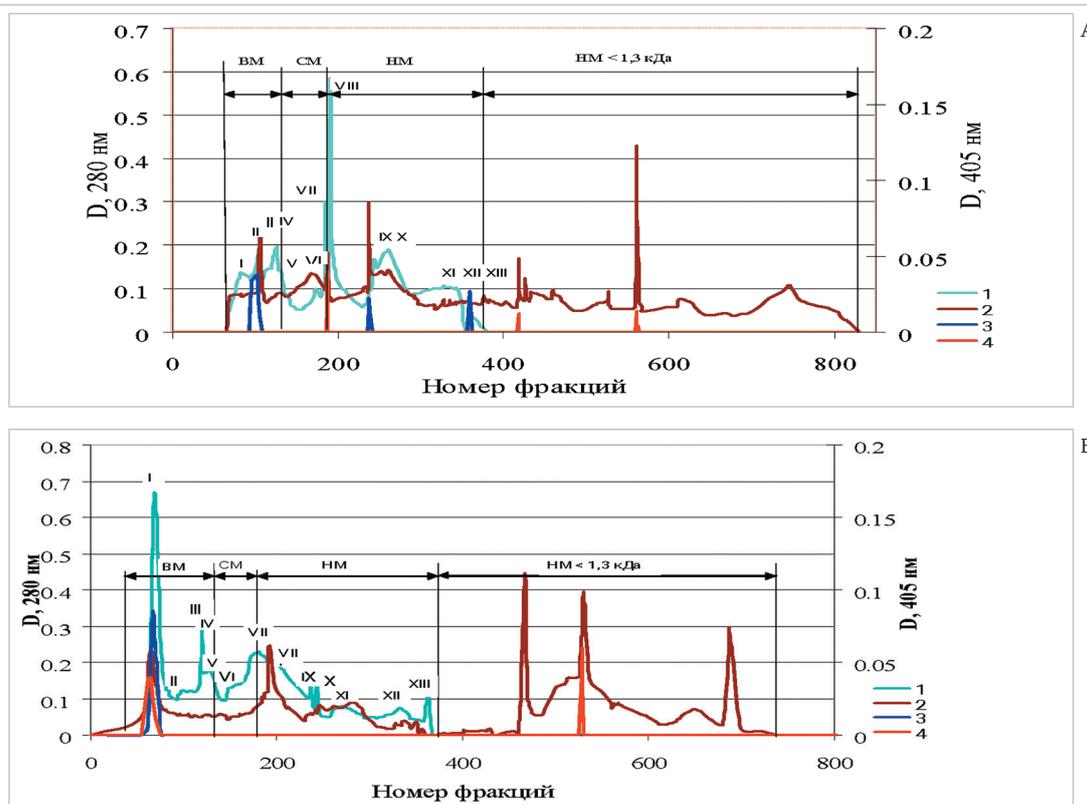


Рисунок 2. Гель-хроматография БК из белого (А) и коричневого (В) риса на сефадексе G-150: экстинкция при 280 нм: 1 – БК; 2 – ГБК; экстинкция при 405 нм: 3 – БК; 4 – ГБК
 Figure 2. Gel chromatography of PC from white (А) and brown (В) rice on sephadex G-150: extinction at 280 nm: 1 – PC; 2 – hydrolyzed PC; extinction at 405 nm: 3 – PC; 4 – hydrolyzed PC

высокомолекулярных компонентов в них уменьшилось почти в 2 раза, низкомолекулярных (ММ 1,3 ÷ 27,5 кДа) — в 2,5 раза, а число компонентов со средней ММ (27,5–63,1 кДа) осталось без изменений (Таблица 2). После гидролиза верхняя граница ММ высокомолекулярных компонентов снизилась с 199,5 кДа до 120,2 кДа, образовались пептиды с ММ менее 1,3 кДа в количестве 52,8% от общей массы компонентов. Если у БК из белого риса флавоноиды распределялись между одной высокомолекулярной фракцией (131 кДа) и двумя низкомолекулярными (ММ 4 и 10 кДа) (Рисунок 2А, кривая 3), то у ГБК — между одной со средней молекулярной массой (ММ 27,5 кДа) и двумя низкомолекулярными фракциями (ММ < 1,3 кДа) (Рисунок 2А, кривая 4).

Таблица 3. Молекулярные массы (ММ) и содержание белковых компонентов БК и ГБК

Table 3. Molecular weights (MW) and the content of protein components of PC and hydrolyzed PC

Компоненты	Белый рис		Коричневый рис	
	ММ, кДа	%, от общей массы	ММ, кДа	%, от общей массы
Компоненты БК				
Высокомолекулярные	69,2–199,5	24,5±1,4*	77,6–251,1	51,3±1,9*
Среднемолекулярные	27,5–69,2	9,0±0,8*	28,5–77,6	18,5±0,6*
Низкомолекулярные	1,3–27,5	66,5±2,1*	1,3–27,5	30,2±1,6*
Низкомолекулярные	0	0	0	0
Компоненты ГБК				
Высокомолекулярные	631–120,2	12,4*	77,6–251,1	12,8±0,6*
Среднемолекулярные	27,5–63,1	8,70*	27,5–77,6	8,7±0,8*
Низкомолекулярные	1,3–27,5	26,1*	1,3–27,5	27,5±2,4*
Низкомолекулярные	< 1,3	52,8*	< 1,3	51,0±1,1*

Примечание: * достоверные значение при p = 0,10.

Таблица 4. Корреляционная взаимосвязь между ПОС концентратов и ММ их белков

Table 4. Correlation between the foaming ability of concentrates and MW of their proteins

№ п/п	Белковые концентраты	ПОС, %	ММ (верхняя граница), кДа	Высокомолекулярные компоненты, % от общих
Белый рис				
1	БК	90,0±1,0	199,5	24,5±0,6
2	ГБК	280,0±2,0	120,2	12,4±1,4
Коричневый рис				
3	БК	15,6±1,0	251,1	51,3±2,7
4	ГБК	55,0±1,5	251,1	12,8±2,0
Коэффициент корреляции, r			- 0,95	- 0,80

Верхняя и нижняя граница значений ММ высокомолекулярных компонентов коричневого риса после гидролиза остались без изменений. ММ всех компонентов выше, чем у ГБК из белого риса, особенно в высокомолекулярной области. Флавоноиды у ГБК из коричневого риса располагались в составе двух белковых фракций: высокомолекулярной (ММ 216 кДа) и низкомолекулярной (ММ < 1,3 кДа) (Рисунок 2В, кривая 4). Следовательно, после гидролиза, как и у белого риса, уменьшалось количество флавоноидов, находящихся во взаимодействии с высокомолекулярными белками, что, вероятно, благоприятно отразилось на ПОС, по сравнению с негидролизованной БК (Таблица 2). Между показателями существовала сильная корреляционная взаимосвязь (Таблица 4).

Более низкая ПОС у БК (15,6%) и у ГБК (55%) из коричневого риса, а также отсутствие стабильности пены (Таблица 2) взаимосвязаны со значениями ММ и с количеством ВМ белковых компонентов. Рисовые белки с высокой ПОС (280%) содержали полипептиды с ММ не более 120 кДа. Чем выше были значения ММ белков и содержание ВМ-фракций (ММ > 120 кДа), тем ниже были пенообразующие свойства концентратов.

В БК из коричневого риса с более низкими значениями ПОС флавоноидов содержалось в 2,3 раза больше, чем в БК и ГБК из белого риса. В нативных БК и ГБК из белого риса их количество — 560±3 и 561±2 мг/100 г на СВ, из коричневого — 1328±3 и 1305±5 мг/100 г на СВ. Таким образом, низкие значения ПОС и стабильности пены концентратов из коричневого риса были взаимосвязаны с наличием флавоноидов и фракциями белков с ММ 77,6 ÷ 251,1 кДа.

Спектроскопия кругового дихроизма (КД) рисовых белков. Для изучения параметров вторичной структуры перестроек в молекулах рисовых белков после их гидролиза и обоснования различий в функциональных свойствах БК и ГБК использовали метод КД [42]. Метод основан на оптических явлениях, связанных с электронными переходами в хиральных молекулах в ультрафиолетовой области (УФ) поглощения. Вид спектра зависит от конформации полипептидной цепи и вторичной структуры [42]. Оказалось, что в области длины поглощения пептидной связи 185 ÷ 245 нм спектры белков из белого и коричневого риса практически идентичны друг другу. Спектры поглощения ГБК несколько отличались от спектров БК (Рисунок 3). У гидролизатов из белого риса наблюдалось увеличение поглощения в области 190 нм, при которой обычно наблюдается максимум поглощения пептидной связи, и уменьшение поглощения в области 225 нм (Рисунок 3А). ГБК из коричневого риса характеризовались несколько меньшим увеличением поглощения в области 190 нм и одновременным отсутствием уменьшения поглощения в области 225 нм (Рисунок 3В). Использование метода определения концентрации белков по коэффициентам экстинкции при 205 нм (максимальное поглощение пептидной связью) оправдано, так как при 5 разных длинах волн метод давал минимальные отличия от результатов поглощения (Таблица 5).

Из Рисунок 4 видно, что спектр КД белков белого риса характеризовался свойственными для α-спирали положительным максимумом при 191 нм и отрицательными полосами — при 208 и 221 нм

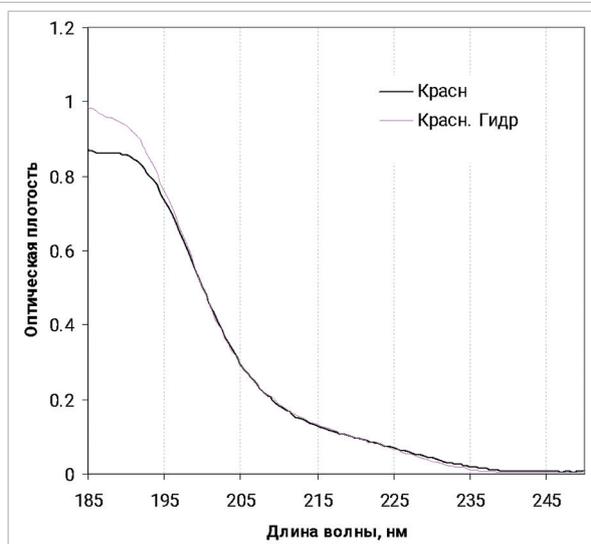
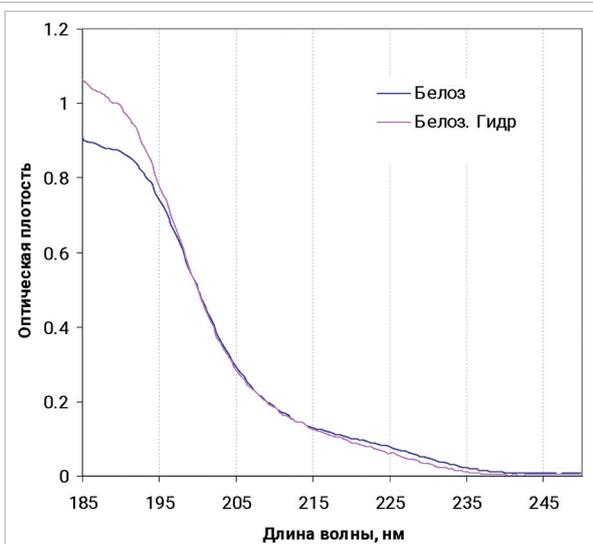


Рисунок 3. Спектры поглощения белков: А — БК из белого риса; В — БК из коричневого риса
Figure 3. Absorption spectra of proteins: А — PC from white rice; В — PC from brown rice

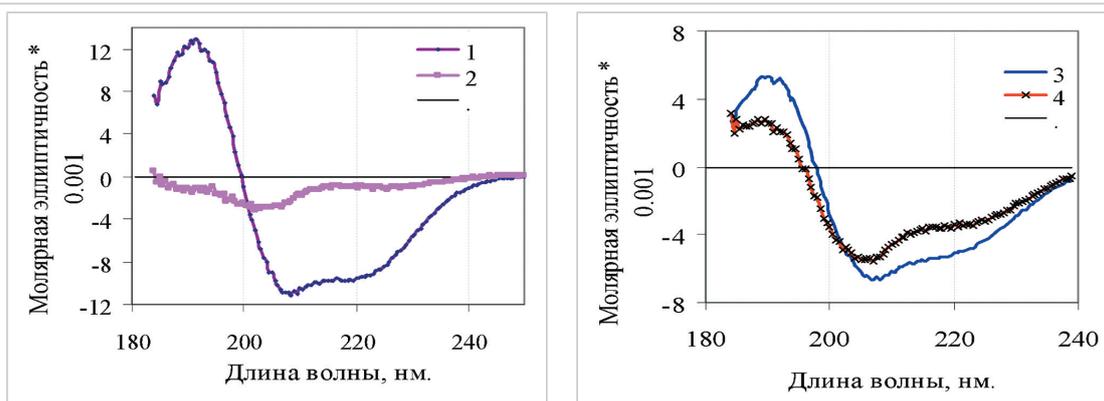


Рисунок 4. Сравнительная характеристика спектров КД концентратов:
А – белый рис; **В** – коричневый рис; **1** – БК; **2** – ГБК; **3** – БК; **4** – ГБК
 Figure 4. Comparative characteristics of circular dichroism spectra of concentrates:
 A – white rice; B – brown rice; 1 – PC; 2 – hydrolyzed PC; 3 – PC; 4 – hydrolyzed PC

[29,37]. Однако точка пересечения спектра с нулевой линией находилась не при 202 нм, характерных для спектра чистой α -спирали, а при 199 нм (Рисунок 4, кривая 1). Это указывало на высокое содержание неспирализованных участков в белках, что подтверждалось и небольшой амплитудой сигнала.

Таблица 5. Концентрация белка в БК и ГБК из белого и коричневого риса

Table 5. Protein concentration in PC and hydrolyzed PC from white and brown rice

Концентраты	Длина волны, нм					Среднеарифметическое значение
	200	205	210	215	220	
Белый рис:						
БК	0,111	0,094	0,092	0,087	0,091	0,095*
ГБК	0,117	0,100	0,095	0,089	0,095	0,099*
Коричневый рис:						
БК	0,123	0,105	0,099	0,092	0,098	0,103*
ГБК	0,129	0,111	0,104	0,096	0,099	0,108*

Примечание: *достоверные значение при $p = 0,05$.

Расчеты показали, что суммарное содержание участков α -спирали и 3_{10} -спирали не достигало и 30% (Таблица 6). Низкое количество 3_{10} -спирали не противоречило литературным данным о незначительном распространении данной формы структуры среди других белков. ГБК характеризовались падением амплитуды сигнала КД, сильной деформацией формы спектра, особенно это отмечено для белого риса (Рисунок 4, кривая 2).

Таблица 6. Вторичная структура белков рисовых концентратов, %

Table 6. Secondary structure of proteins of rice concentrates, %

№ п/п	Вторичная структура	Белый рис		Коричневый рис	
		БК	ГБК	БК	ГБК
1	α – спираль	23±0,03*	2±0,02*	10±0,03*	5±0,01*
2	3_{10} – спираль	5±0,01*	4±0,03*	4±0,01*	4±0,03
3	β – структура	23±0,04*	36±0,05*	31±0,05*	35±0,02*
4	β – изгибы	14±0,02*	9±0,03*	12±0,04*	10±0,01*
5	Нерегулярная структура	36±0,04*	47±0,04*	42±0,04*	46±0,03*
6	Сумма	101±0,03*	98±0,04*	99±0,04*	100±0,04*

Примечание: *достоверные значение при $p = 0,05$.

Вторичная структура ГБК изменялась: почти полностью исчезали α -спиральные участки и одновременно увеличивались β -структуры и нерегулярные участки (в сумме на 94%). Гидролиз белков коричневого риса не приводил к столь значительной деформации спектров КД (Рисунок 4, кривая 4). На 50% уменьшилось количество α -спиральных участков и на 21% увеличилась доля β -структур

и нерегулярных участков, что указывало на большую устойчивость белков БК из коричневого риса к ферментативному гидролизу. Вероятно, что нерегулярность структуры белков данного вида риса и их устойчивость к протеазам обусловлены взаимодействием с флавоноидами, количество которых в этих БК было больше, чем в концентрате из белого риса. Результаты хорошо согласовывались с молекулярно-весовым распределением белков на сефадексе G-150.

Инфракрасная (ИК) спектроскопия БК. Известно, что ИК-спектры возникают в результате колебательного движения молекул в длинноволновой области (> 730 нм) за счет переходов между колебательными уровнями их электронного состояния [43]. По таким спектрам устанавливают строение молекул различных ферментов, алкалоидов, белков и т. д. По числу и положению пиков в ИК-спектрах судят о природе веществ, а по интенсивности полос – об их количестве. ИК-спектры первичных амидов имеют две полосы поглощения, характерные для свободных NH_2 – групп (около 3500 и 3400 cm^{-1}), и две полосы, характерные для группы $C=O$: при $1690-1630$ cm^{-1} (амидная полоса I) и $1620-1590$ cm^{-1} (амидная полоса II) [43]. Для обоих видов БК свойственны типичные спектры полипептидов. Наиболее интенсивными в них были полосы в области $3500-3200$ cm^{-1} , отражающие валентные колебания ассоциированных связей $N-H$, и полосы 1664 и 1531 cm^{-1} , характеризующие амид I и амид II группы $C=O$ в пептидных группах белков (Рисунок 5).

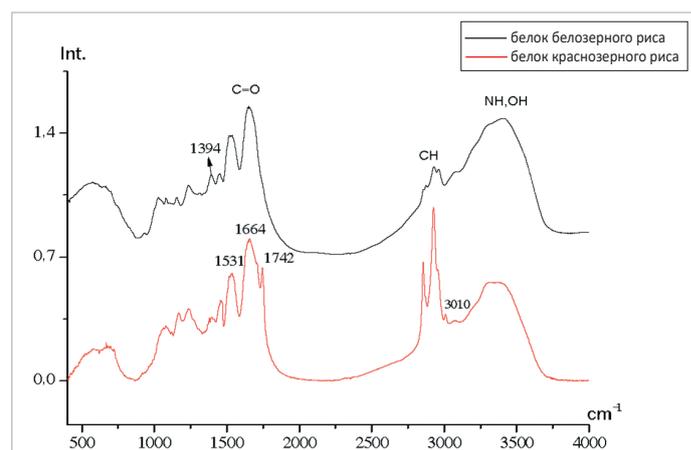


Рисунок 5. Инфракрасные спектры белковых концентратов

Figure 5. Infrared spectra of protein concentrates

Функциональные группы в составе БК двух образцов риса были разные, на что указывали различия в спектрах в области поглощения связей $C-N$ и $C=O$. Высокая интенсивность полос в области $2840-2960$ cm^{-1} , соответствующая валентным колебаниям связей $C-N$ в насыщенных группах $-CH_2$, указывала либо на повышенное содержание лизина в БК из коричневого риса, либо на присутствие групп $-CH_2$ семейства флавоноидов (флаваноны, изофлаваноны, дигидрохалконы с антоцианидинами, антоцианинами катехинами, катехолтанинами) [17,19,20,44]. В этом же спектре отчетливо проявлялась

ненасыщенность функциональных групп (полосы 3010 см⁻¹, 700–740 см⁻¹), которая может быть связана с высоким уровнем неопределенности ароматических секстетов (–C=C) двух бензольных ядер флавоноидов. Помимо бензольных ядер, у флавоноидов ненасыщенной была и трех-углеродная матрица (–C–C–C–), соединяющая ядра [44]. Возможно, что в данном БК также было высокое содержание триптофана [39]. Исключить присутствие таких групп атомов в составе БК из белого риса было невозможно, но содержание их ничтожно мало по сравнению с БК из коричневого риса.

В спектре БК из коричневого риса имелась и отчетливая интенсивная полоса 1742 см⁻¹, характерная либо для кетонной (R₂C=O), либо для сложноэфирной (R–C(=O)–OR₁) группировки. Такая полоса, а следовательно, и такие функциональные группы, не обнаружены в структуре БК из белого риса. Очевидно, что это связано с присутствием в матрице флавоноидов коричневого риса большого количества кето-группировок (=C=O) и метиловых эфиров гидроксигрупп [44], располагающихся либо внутри белковых структур, либо на их поверхности. О наличии свободных карбоксильных групп –R–C(=O)–ОН в белках можно было судить по отчетливому плечу в области 1700см⁻¹ (ν_{C=O}) и по расщеплению широких полос в области 3500–3200см⁻¹ (ν_{OH}). При этом в спектре белков из коричневого риса карбоксильная группа присутствовала в кислой форме, а среди белков из белого риса – в солевой –C(=O)O⁻, на что указывала повышенная интенсивность полосы в областях 1530 и 1394см⁻¹, характерных для карбоксилат-аниона.

После протеолиза в белках происходили незначительные изменения, за исключением изменений в области валентных колебаний ОН– групп и N–H– связей (Рисунок 6).

Интенсивность полос в этой области изменилась, что указывало на дополнительное появление свободных NH₂– групп в белках. Водородные связи при этом перераспределились, что сопровождалось изменением интенсивности полос от групп ОН и N–H– связей. Если в спектрах ГБК из коричневого риса изменения минимальные, то в спектрах из белого риса они более заметные. После гидролиза увеличилось и содержание ионизированных карбоксильных групп, на что указывало усиление интенсивности и сдвиги полос в области 1394–1530 см⁻¹. Следовательно, большая глубина структурных перестроек в белках белого риса подтвердилась и с участием функциональных групп.

Данные ИК-спектроскопии хорошо объяснили результаты КД белков: разрушение правой α-спирали и β-изгибов при гидролизе белков риса увеличивало количество свободных –NH₂ и –COOH групп. Тенденция перераспределения водородных связей заключалась в их разрыве при разрушении α-спирали, β-изгибов с образованием новых при формировании дополнительной складчатой β-структуры и нерегулярных областей. В ГБК из коричневого риса изменения в поглощении функциональных групп менее значительные, чем у ГБК из белого риса, что хорошо согласовывалось с данными КД и молекулярно-весового распределения белков на сефадексе G-150. В составе БК из коричневого риса, вероятно, из-за присутствия кето- и сложноэфирных группировок флавоноидов отмечена

большая степень ненасыщенности и, возможно, более высокое содержание триптофана.

Содержание сульфгидрильных групп и дисульфидных связей. Для определения роли SH– групп и S–S–связей в структуре концентратов определено их количество флуоресцентным методом. Проведены три серии опытов: первая – с белками, растворенными в диметилсульфоксиде (ДМСО), биполярном растворителе; вторая – в 5%-ном растворе ДДС-На; третья – в 20%-ном меркаптоэтаноле, восстанавливающем S–S–связи. Типичные спектры флуоресценции белков (506 нм) при длине волны возбуждения 379 нм для белого риса приведены на Рисунке 7, результаты пересчета интенсивности флуоресценции в количество SH– групп и S–S–связей – в Таблице 7. Количество доступных SH– групп в белках, растворенных в ДМСО, было выше, чем в ДДС-На. Следовательно, в структуре белков электростатические взаимодействия играли большую роль, чем гидрофобные, так как ДМСО разрывает именно эти связи, а ДДС-На больше воздействует на гидрофобность [29]. С учетом данного факта, расчет S–S–связей произведен по SH– группам, выявленным в растворе с ДМСО. Количество свободных SH– групп в нативных БК обоих видов риса практически одинаково, тогда как содержание S–S–связей в БК из белого риса почти на 60% выше, чем в БК из коричневого риса. Это можно связать и с большим значением ПОС (Таблица 3). После гидролиза белков риса с ФП количество SH– групп сократилось на 32%, в то время как в белковых компонентах из коричневого риса этот показатель составил 7%.

Таблица 7. Содержание SH–групп и S–S–связей в концентратах, мкмоль/мг белка

Table 7. Content of SH groups and S–S bonds in concentrates, μmol/mg protein

№ п/п	Концентрат	Реагент			S-S связи
		ДМСО	ДДС-На	Меркапто-этанол	
Белый рис		SH-группы			
1	БК	763,2 ± 1,5*	486,0 ± 3,4*	1287,4 ± 0,8*	262,1 ± 1,3*
2	ГБК	577,3 ± 2,6*	402,9 ± 5,6*	2003,2 ± 1,4*	813,4 ± 0,6*
Коричневый рис		SH-группы			
3	БК	773,9 ± 3,7*	454,2 ± 2,7*	1108,8 ± 3,5*	167,4 ± 0,7*
4	ГБК	721,5 ± 2,7*	328,3 ± 17*	1630,5 ± 2,1*	454,5 ± 1,8*

Примечание 1: ДМСО – диметилсульфоксид; ДДС-На – додецилсульфат Na.
Примечание 2: * достоверные значения при p = 0,05.

Одновременно в образцах увеличилось количество S–S–связей: из белого риса – в 3,1 раза, из коричневого – в 2,7 раза. Эти данные вновь указывали на меньшие структурные перестройки при гидролизе белков из коричневого риса.

Сульфгидрил-дисульфид индуцированная реакция является следствием разрушения α-спиралей и β-изгибов (Таблица 7), которые, вероятно, были скрыты до гидролиза внутри белковых глобул.

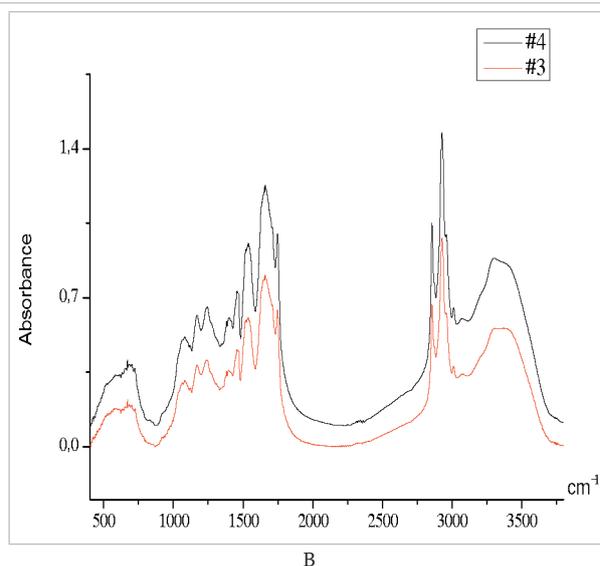
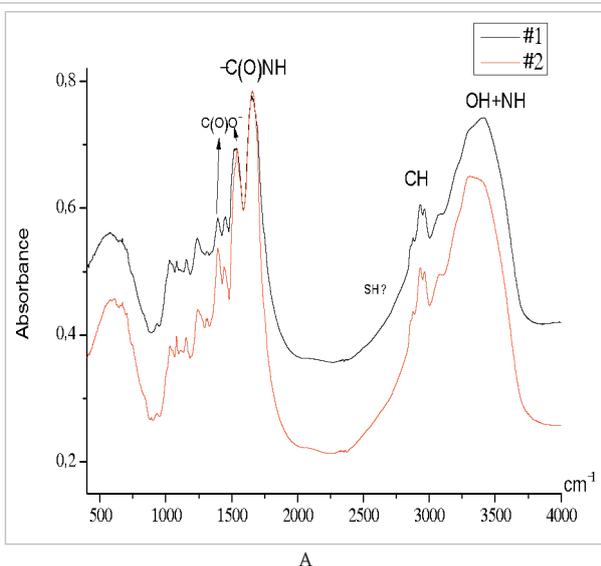


Рисунок 6. ИК-спектры рисовых белковых концентратов: А – белый рис; В – коричневый рис; 1, 3 – БК; 2, 4 – ГБК
Figure 6. Infrared spectra of rice protein concentrates: А – white rice; В – brown rice; 1, 3 – PC; 2, 4 – hydrolyzed PC

Разрыв пептидных связей приводил к увеличению количества доступных SH- групп и к формированию новых связей между молекулами белков в реакции окисления цистеина с образованием S-S мостиков и/или путем S-S-индуцированного S-S перехода. Процессы сопровождались увеличением в белках доли складчатой β -структуры и неупорядоченной структуры. Таким образом, гидролиз белков риса эндопротеазным ФП Protamex сопровождался конформационными переходами в молекулах белков, приводящих к реорганизации вторичной структуры (α -спираль, β -структура, неупорядоченные участки) и к SH/S-S переходам. Сульфгидриль-дисульфидные переходы, как и изменения элементов вторичной структуры, в большей степени протекали в белках из белого риса, чем из коричневого. Структурные изменения в гидролизатах сопровождались положительной корреляцией между ПОС и количеством S-S связей (Таблица 8).

Таблица 8. Корреляционная взаимосвязь между ПОС и содержанием S-S-связей, мкмоль/г

Table 8. Correlation between the foaming ability and the content of S-S bonds, $\mu\text{mol/g}$

№ п/п	Концентраты	ПОС, %	SH- группы	S-S-связи
Белый рис				
1	БК	90,0	763,2	262,1
2	ГБК	280,0	577,3	813,4
Коричневый рис				
3	БК	15,6	773,9	167,4
4	ГБК	55,0	721,5	454,5
Коэффициент корреляции, r			- 0,80	+ 0,80

Агрегирующая способность белков. Одним из важнейших свойств зерновых белков является способность их к агрегации [29,38] (Рисунок 8) с участием гидрофобных связей. Значения констант агрегации белков из коричневого риса во много раз были выше, чем у белков БК из белого риса (Таблица 9). Эта закономерность характерна как для негидролизованых БК, так и для ГБК: у БК константа начального этапа агрегации ($K \times 10^4$) была выше в 67 раз, константа конечного этапа ($\tau_{10\%}$) — в 3 раза, а у ГБК — больше в 167 и 10 раз соответственно. Можно вновь подтвердить участие гидрофобных бензольных ядер и сложноэфирных группировок флавоноидов в структуре белков концентратов из коричневого риса и в различиях ФТС.

Чем выше агрегирующая способность белков, то есть чем сильнее гидрофобные свойства поверхности, тем ПОС ниже. На это указывали высокие коэффициенты обратной корреляции между константами начального ($K \times 10^4$), конечного ($\tau_{10\%}$) этапов агрегации и свойствами образовывать пену ($r = -1,0$ и $-0,8$) (Таблица 9). Константы агрегации значительно ниже у ГБК. Следовательно, гидролиз белков приводил к уменьшению гидрофобных свойств и к повышению доступности гидрофильных групп ($-\text{OH}$, $-\text{SH}$, $-\text{NH}_2$, $-\text{COOH}$ и др.) для взаимодействия с водой. Возможно, что в процессе гидролиза рисовых белков флавоноиды частично или полностью высвобождались

из структуры белковых глобул и оказывали влияние на ФТС и перерабатываемость [45].

Таблица 9. Константы агрегации белков рисовых концентратов

Table 9. Aggregation constants of proteins of rice concentrates

Белковые концентраты	Константы агрегации:		ПОС, %
	$K \times 10^4$	($\tau_{10\%}$)	
Белый рис:			
БК	1,40 \pm 0,05	1,85 \pm 0,05	90 \pm 1,0
ГБК	0,03 \pm 0,01	0,20 \pm 0,01	280 \pm 1,5
Коричневый рис:			
БК	94,60 \pm 0,50	5,60 \pm 0,05	16,0 \pm 0,5
ГБК	5,07 \pm 0,05	1,95 \pm 0,01	55,1 \pm 1,0
Коэффициент корреляции с ПОС, r	- 1,0	- 0,80	

4. Заключение

Выявлены особенности физико-химических свойств и структуры белков концентратов из белого и коричневого риса, установлено присутствие в них флавоноидов, определены отличия в степени протеолиза и взаимосвязь ФТС белков со свойствами и структурой:

- гель-фильтрацией на сефадексе G-150 установлено, что белковые компоненты из белого риса имели меньшую ММ — от 1,3 до 199,5 кДа, в то время как ММ белковых компонентов из коричневого риса составляла от 1,5 до 251,1 кДа. У первого БК большая часть белков представлена низкомолекулярными фракциями (11,7–27,5 кДа), у второго БК — высокомолекулярной фракцией (182–251,1 кДа). В процессе гидролиза БК ММ белков белого риса понижались с 199,5 до 120,2 кДа с образованием пептидов с ММ < 1,3 кДа, ММ белков коричневого риса не изменялись, что указывало на меньшую степень их протеолиза;
- методом КД установлено, что белки в составе БК и ГБК риса находились во взаимодействии с флавоноидами: у белого риса — с тремя относительно низкомолекулярными фракциями (ММ 131, 10, 4 кДа), у коричневого — с высокомолекулярной фракцией (ММ 216 кДа). БК из белого риса содержали в 2,3 раза меньше флавоноидов, чем БК из коричневого риса;
- методом ИК-спектроскопии показано, что белки БК из коричневого риса обладали более высоким содержанием $-\text{CH}_2$ групп, присущих семейству флавоноидов, а также имели более высокую область ненасыщенности бензольных ядер, кетонных соединений и сложноэфирных группировок в сравнении с белковыми компонентами из белого риса. Это объясняет большую степень взаимодействия красящих веществ с полипептидами;
- БК содержали элементы вторичной структуры белков: α -спираль, 3_{10} -спираль, β -структуру, β -изгибы, неупорядоченную форму. После протеолиза белков эндопротеазным ФП уменьшилось количество α -спиралей, но увеличилась β -структура и повысилось количество нерегулярных участков, ослабились гидрофобные

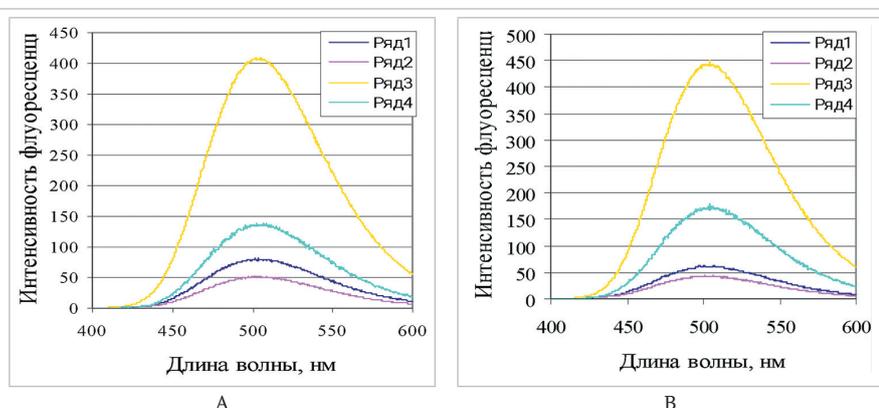


Рисунок 7. Спектры флуоресценции концентратов из белого риса: А — нативный БК; Б — гидролизованный БК; ряд 1 — с ДМСО; ряд 2 — с ДС-На; ряд 3 — с меркаптоэтанолом; ряд 4 — контроль (меркаптоэтанол)

Figure 9. Fluorescence spectra of concentrates from white rice: А — native PC; Б — hydrolyzed PC; ряд 1 — with DMSO; ряд 2 — with SDS; ряд 3 — with mercaptoethanol; ряд 4 — control (mercaptoethanol)

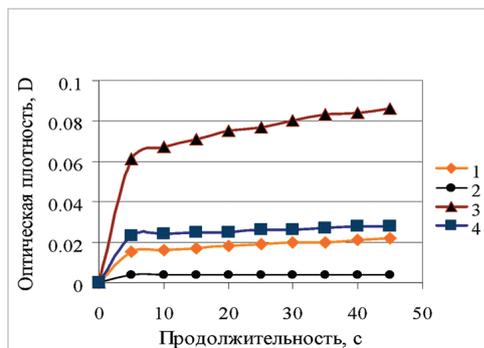


Рисунок 8. Кривые агрегации белков. Белый рис: 1 — БК; 2 — ГБК; коричневый рис: 3 — БК; 4 — ГБК

Figure 10. Curves of protein aggregation. White rice: 1 — PC; 2 — hydrolyzed PC; brown rice: 3 — PC; 4 — hydrolyzed PC

свойства, увеличилось содержание S–S-связей. Степень изменения структуры белков у ГБК из коричневого риса была меньше, чем у белков ГБК из белого риса;

- выявлена отрицательная корреляция ПОС БК с верхними границами значений ММ ($r=-0,95$), с количеством высокомолекулярных фракций ($r=-0,80$) и с константами агрега-

ции ($r=-0,8-1,0$); положительная — с количеством S–S-связей ($r=+0,8$). Высокая ПОС была обусловлена белками с ММ не более 120 кДа.

Результаты предназначены для регулирования ФТС свойств БК с учетом особенностей физико-химических свойств и структуры белков рисового и/или другого вида зернового сырья.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Amanullah, Fahad, S. (2017). Rice — Technology and Production. InTech. Croatian, 2017. <https://doi.org/10.5772/64480>
2. Anugrahati, N. A., Pranoto, Y., Marsono, Y., Marseno D. W. (2017). Physicochemical properties of rice (*Oryza sativa* L.) flour and starch of two Indonesian rice varieties differing in amylose content. *International Food Research Journal*, 24(1), 108–113.
3. WHO. (2021). Production of Rice, paddy: Top 10 producers 2019. Retrieved from <http://www.fao.org/faostat/en#data/QCL/visualize>. Accessed September 24, 2022.
4. Arije, O. O., Adewumi, B. A., Olayanju, T. M. A., Adetifa, B. O. (2019). A comparative study of physical properties of selected rice varieties in Nigeria. *Foods and Raw Materials*, 7(1), 4–9. <https://doi.org/10.21603/2308-4057-2019-1-4-9>
5. Chen, L. Y., Miao, Y., Sato, S., Zhang, H. (2008). Near infrared spectroscopy for determination of the protein composition of rice flour. *Food Science and Technology Research*, 14(2), 132–138. <https://doi.org/10.3136/fstr.14.132>
6. Касимова, М. К., Айтбаева, А. Ж., Орымбетова, Г. Э., Мамаева, Л. А. (2016). Возможность использования рисовой муки при технологии маффин. *Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований*, 12(7), 1282–1286.
7. Odenigbo, A. M., Ngadi, M., Manful, J., Danbaba, N. (2013). Starch fraction profiles of milled, nonparboiled rice varieties from Nigeria. *International Journal of Food Sciences and Technology*, 48(12), 2535–2540. <https://doi.org/10.1111/ijfs.12246>
8. Asante, M. D. (2017). Breeding Rice for Improved Grain Quality. Chapter in a book: *Advances in International Rice Research*. London: InTechopen, 2017. <https://doi.org/10.5772/66684>
9. Bao, J. (2019). Rice: Chemistry and Technology. Eagan, Minnesota: Woodhead and AACR International Press, 2019.
10. Jayaprakash, G., Bains, A., Chawla, P., Fogarasi, M. Fogarasi, S. (2022). A narrative review on rice proteins: Current scenario and food industrial application. *Polymers*, 14(15), Article 3003. <https://doi.org/10.3390/polym14153003>
11. Hoogenkamp, H., Kumagai, H., Wanasundara, J. P. D. (2017). Rice Protein and Rice Protein Products. Chapter in a book: *Sustainable Protein Sources*. Academic Press, 2017. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-802778-3.00003-2>
12. Зеленский, Г. Л. (2016). Рис: Биологические основы селекции и агротехники. Краснодар: КубГАУ, 2016.
13. Зеленская, О. В., Зеленский, Г. Л., Остапенко, Н. В., Туманьян, Н. Г. (2018). Генетические ресурсы риса (*Oryza sativa* L.) с окрашенным перикарпом зерна. *Вавиловский журнал генетики и селекции*, 22(3), 296–303. <https://doi.org/10.18699/VJ18.3563>
14. Pantoa, T., Baricevic-Jones, I., Suwannaporn, P., Kadowaki, M., Kubota, M., Roytrakul, S. et al. (2020). Young rice protein as a new source of low allergenic plant-base protein. *Journal of Cereal Science*, 93(24), Article 102970. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2020.102970>
15. Wongthaweevatana, I., Srinophakun, T. R., Saramala, I., Kasemwong, K. (2021). Production of milk analogues from rice bran protein hydrolysate using the subcritical water technique. *Food Science and Technology*, 41(5), 722–729. <https://doi.org/10.1590/fst.16520>
16. Rathna Priya, T. S., Eliazar Nelson, A. R. L., Ravichandran, K., Usha, A. (2019). Nutritional and functional properties of coloured rice varieties of South India: A review. *Journal of Ethnic Foods*, 6, Article 11. <https://doi.org/10.1186/s42779-019-0017-3>
17. Sumczynsk, D., Kotásková, E., Družb'íková, H., Mlc'ek, J. (2016). Determination of contents and antioxidant activity of free and bound phenolics compounds and *in vitro* digestibility of commercial black and red rice (*Oryza sativa* L.) varieties. *Food Chemistry*, 211, 339–346. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.05.081>
18. Shao, Y., Hu, Z., Yu, Y., Mou, R., Zhu, Z., Beta, T. (2018). Phenolic acids, anthocyanins, proanthocyanidins, antioxidant activity, minerals and their correlations in non-pigmented, red, and black rice. *Food Chemistry*, 239, 733–741. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.07.009>
19. Singh, N. K., Rani, M., Sharmila, R. T., Yadav, A. K. (2017). Flavonoids in rice, their role in health benefits. *MOJ Food Processing Technology*, 4(3), 96–99. <https://doi.org/10.15406/mojfpt.2017.04.00095>
20. Huang, Y. P., Lai, H. M. (2016). Bioactive compounds and antioxidative activity of colored rice bran. *Journal of Food and Drug Analysis*, 24, 564–574. <https://doi.org/10.1016/j.jfda.2016.01.004>
21. Chen, M. H., McClung, A. M., Bergman, C. J. (2017). Phenolic content, anthocyanins and antiradical capacity of diverse purple bran rice genotypes as compared to other bran colors. *Journal Cereal Science*, 77, 110–119. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2017.07.010>
22. Pal, P., Singh, N., Kaur, P., Kaur, A., Viridi, A. S., Parmar, N. (2016). Comparison of composition, protein, pasting, and phenolic compounds of brown rice and germinated brown rice from different cultivars. *Cereal Chemistry*, 93(6), 584–592. <https://doi.org/10.1094/CCHEM-03-16-0066-R>
23. Wang, C., Xu, F., Li, D., Zhang, M. (2015). Physico-chemical and structural properties of four rice bran protein fractions based on the multiple solvent extraction method. *Czech Journal of Food Sciences*, 33(3), 283–291. <https://doi.org/10.17221/462/2014-CJFS>
24. Kolpakova, V. V., Chumikina, L. V., Arabova, L. I., Lukin, D. N., Topunov, A. F., Titov, E. I. (2016). Functional technological properties and electrophoretic composition of modified wheat gluten. *Foods and Raw Materials*, 4(2), 48–57. <http://doi.org/10.21179/2308-4057-2016-2-48-57>
25. Liang, H., Gu, B., Wang, T., Rong, L., Sun, W., Wu, Z. (2022). Relationship between protein structure and eating quality of rice under different nitrogen application rate. *Cereal Chemistry*, 99(3), 692–703. <https://doi.org/10.1002/cche.10530>
26. Zhang, X., Wang, L., Chen, Z., Li, Y., Luo, X., Li, Y. (2019). Effect of electron beam irradiation on the structural characteristics and functional properties of rice proteins. *RSC Advances*, 9(24), 13550–13560. <https://doi.org/10.1039/C8RA10559F>
27. Yao, G., Guo, Y., Cheng, T., Wang, Z., Li, B., Xia, C. et al. (2022). Effect of γ -irradiation on the physicochemical and functional properties of rice protein. *Food Science and Technology (Campinas)*, 42, Article e12422. <https://doi.org/10.1590/fst.12422>
28. Li, T., Wang, L., Chen, Z., Zhang, X., Zhu, Z. (2020). Functional properties and structural changes of rice proteins with anthocyanins complexation. *Food Chemistry*, 331(1), Article 127336. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127336>
29. Kolpakova, V. V., Lukin, N. D., Gaivoronskaya, I. S. (2018). Interrelation of functional properties of protein products from wheat with the composition and physicochemical characteristics of their proteins. Chapter in a book: *Global Wheat Production*. London: InTechopen, 2018. <http://doi.org/10.5772/intechopen.75803>
30. Колпакова, В. В., Чумикина, Л. В., Фан, Ч. К., Арабова, Л. И., Шевякова, Л. В., Бессонов, В. В. (2016). К вопросу об эффективности различных способов ферментативного выделения белковых концентратов из белого и коричневого риса. *Аграрная Россия*, 2, 12–20. <http://doi.org/10.30906/1999-5636-2016-2-12-20>
31. Брун, Е. (2003). Жидкостная хроматография полимеров: настоящее и будущее. *Российский химический журнал*, 47(1), 90–101.
32. Miles, A. J., Wien, F., Wallace, B. A. (2004). Redetermination of the extinction coefficient of camphor-10-sulfonic acid, a calibration standard for circular dichroism spectroscopy. *Analytical Biochemistry*, 335(2), 338–339. <http://doi.org/10.1016/j.ab.2004.08.035>
33. Qudus, K. G., Ma, C. Y. (2003). Study of rice glutelin conformation by using circular dichroism (CD) spectroscopy. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 6(22), 1917–1920. <https://doi.org/10.3923/pjbs.2003.1917.1920>
34. Kelly, S. M., Jess, T. J., Price, N. C. (2005). How to study proteins by circular dichroism. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) — Proteins and Proteomics*, 1751(2), 119–139. <http://doi.org/10.1016/j.bbapap.2005.06.005>
35. Шубин, В. В., Хазин, М. Л., Ефимовская, Т. В. (1991). Определение вторичной структуры глобулярных белков с использованием спектров кругового дихроизма. *Молекулярная биология*, 24(1), 189–201.
36. Xie, L. H., Tang, S. Q., Chen, N., Luo, J., Jiao, G. A., Shao, G. N. et al. (2014). Optimisation of near-infrared reflectance model in measuring protein and amylose content of rice flour. *Food Chemistry*, 142(1), 92–100. <http://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.07.030>
37. Hoff, S., Larsen, F. H., Andersen, M. L., Lund, M. N. (2013). Quantification of proteinthiols using ThioGlo 1 fluorescent derivatives and HPLC separation. *Analyst*, 138(7), 2096–2103. <https://doi.org/10.1039/C3AN36672C>
38. Arakawa, T., Yonezawa, D. (1976). Composition difference of wheat flour gluteins in relation to their aggregation behavior. *Argicultural and Biological Chemistry*, 39(11), 2123–2128. <https://doi.org/10.1080/00021369.1975.10861930>
39. Гаврилин, М. В., Попова, О. И., Губанова, Е. А. (2010). Фенольные соединения наземной части шалфея мускатного (*Salvia sclarea* L.), культивируемого в Ставропольском крае. *Химия растительного сырья*, 4, 99–104.
40. Халафян, А. А., Боровиков, В. П., Калядина, Г. В. (2022). Теория вероятностей, математическая статистика и анализ данных: Основы теории и практика на компьютере. STATISTICA. EXCEL. Более 150 примеров решения задач. М.: Ленанд, 2022.
41. Смирнова, М. М., Яборова, О. В., Накарякова, Н. И., Люст, Е. Н., Олешко, О. А. (2014). Определение суммы флавоноидов в траве пиона. *Фундаментальные исследования*, 12(1), 164–168.
42. Lighezan, L., Meiri, D., Breiman, A., Neagu, A. (2013). Circular dichroism and the secondary structure of the RO_F protein from *Arabidopsis thaliana*. *Journal of Biological Physics*, 39(4), 635–648. <http://doi.org/10.1007/s10867-013-9323-y>
43. Kelly, S. M., Price, N. C. (2000). The use of circular dichroism in the investigation of protein structure and function. *Current Protein and Peptide Science*, 1(4), 349–384. <http://doi.org/10.2174/1589203003381315>
44. Миронов, В. А., Янковский, С. А. (1985). Спектроскопия в органической химии. М.: Химия, 1985.
45. Колпакова, В. В., Лукин, Н. Д., Чумикина, Л. В., Шевякова, Л. В. (2015). Химический состав и функциональные свойства рисовых белковых концентратов. *Вестник Воронежского государственного университета инженерных технологий*, 4(66), 120–124. <http://doi.org/10.20914/2310-1202-2015-4-120-124>

REFERENCE

- Amanullah, Fahad, S. (2017). Rice — Technology and Production. InTech. Croatian, 2017. <https://doi.org/10.5772/64480>
- Anugrahati, N. A., Pranoto, Y., Marsono, Y., Marseno D. W. (2017). Physicochemical properties of rice (*Oryza sativa* L.) flour and starch of two Indonesian rice varieties differing in amylose content. *International Food Research Journal*, 24(1), 108–113.
- WHO. (2021). Production of Rice, paddy: Top 10 producers 2019. Retrieved from <http://www.fao.org/faostat/en#data/QCL/visualize>. Accessed September 24, 2022
- Arije, O. O., Adewumi, B. A., Olayanju, T. M. A., Adetifa, B. O. (2019). A comparative study of physical properties of selected rice varieties in Nigeria. *Foods and Raw Materials*, 7(1), 4–9. <https://doi.org/10.21603/2308-4057-2019-1-4-9>
- Chen, L. Y., Miao, Y., Sato, S., Zhang, H. (2008). Near infrared spectroscopy for determination of the protein composition of rice flour. *Food Science and Technology Research*, 14(2), 132–138. <https://doi.org/10.3136/fstr.14.132>
- Kassymova M. K., Aitbayeva A. Zh., Orymbetova G. E., Mamayeva L. A. (2016). Possibility of use of rice flour in muffin technology. *International Journal of Applied and Fundamental Research*, 12, 1282–1286. (In Russian)
- Odenigbo, A. M., Ngadi, M., Manful, J., Danbaba, N. (2013). Starch fraction profiles of milled, nonparboiled rice varieties from Nigeria. *International Journal of Food Sciences and Technology*, 48(12), 2535–2540. <https://doi.org/10.1111/ijfs.12246>
- Asante, M. D. (2017). Breeding Rice for Improved Grain Quality. Chapter in a book: *Advances in International Rice Research*, London: InTechopen, 2017. <https://doi.org/10.5772/66684>
- Bao, J. (2019). Rice: Chemistry and Technology. Eagan, Minnesota: Woodhead and AACC International Press, 2019.
- Jayaprakash, G., Bains, A., Chawla, P., Fogarasi, M. Fogarasi, S. (2022). A narrative review on rice proteins: Current scenario and food industrial application. *Polymers*, 14(15), Article 3003. <https://doi.org/10.3390/polym14153003>
- Hoogenkamp, H., Kumagai, H., Wanasundara, J. P. D. (2017). Rice Protein and Rice Protein Products. Chapter in a book: *Sustainable Protein Sources*. Academic Press, 2017. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-802778-3.00003-2>
- Zelensky, G. L. (2016). Rice: Biological Principles of Breeding and Farming Practices. Krasnodar: KubSAU, 2016. (In Russian)
- Zelenskaya, O. V., Zelensky, G. L., Ostapenko, N. V., Tumanyan, N. G. (2018). Genetic resources of rice (*Oryza sativa* L.) with colored grain pericarp. *Vavilovskiy Journal of Genetics and Breeding*, 22(3), 296–303. <http://doi.org/10.18699/VJ18.363> (In Russian)
- Pantoa, T., Baricevic-Jones, I., Suwannaporn, P., Kadowaki, M., Kubota, M., Roytrakul, S. et al. (2020). Young rice protein as a new source of low allergenic plant-base protein. *Journal of Cereal Science*, 93(24), Article 102970. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2020.102970>
- Wongthaweevatana, I., Srinophakun, T. R., Saramala, I., Kasemwong, K. (2021). Production of milk analogues from rice bran protein hydrolysate using the subcritical water technique. *Food Science and Technology*, 41(5), 722–729. <https://doi.org/10.1590/fst.16520>
- Rathna Priya, T. S., Eliazer Nelson, A. R. L., Ravichandran, K., Usha, A. (2019). Nutritional and functional properties of coloured rice varieties of South India: A review. *Journal of Ethnic Foods*, 6, Article 11. <https://doi.org/10.1186/s42779-019-0017-3>
- Sumczynsk, D., Kotásková, E., Družb'íková, H., Mlc'ek, J. (2016). Determination of contents and antioxidant activity of free and bound phenolics compounds and *in vitro* digestibility of commercial black and red rice (*Oryza sativa* L.) varieties. *Food Chemistry*, 211, 339–346. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.05.081>
- Shao, Y., Hu, Z., Yu, Y., Mou, R., Zhu, Z., Beta, T. (2018). Phenolic acids, anthocyanins, proanthocyanidins, antioxidant activity, minerals and their correlations in non-pigmented, red, and black rice. *Food Chemistry*, 259, 735–741. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.07.009>
- Singh, N. K., Rani, M., Sharmila, R. T., Yadav, A. K. (2017). Flavonoids in rice, their role in health benefits. *MOJ Food Processing Technology*, 4(3), 96–99. <https://doi.org/10.15406/mojfpt.2017.04.00095>
- Huang, Y. P., Lai, H. M. (2016). Bioactive compounds and antioxidative activity of colored rice bran. *Journal of Food and Drug Analysis*, 24, 564–574. <https://doi.org/10.1016/j.jfda.2016.01.004>
- Chen, M. H., McClung, A. M., Bergman, C. J. (2017). Phenolic content, anthocyanins and antiradical capacity of diverse purple bran rice genotypes as compared to other bran colors. *Journal Cereal Science*, 77, 110–119. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2017.07.010>
- Pal, P., Singh, N., Kaur, P., Kaur, A., Viridi, A. S., Parmar, N. (2016). Comparison of composition, protein, pasting, and phenolic compounds of brown rice and germinated brown rice from different cultivars. *Cereal Chemistry*, 93(6), 584–592. <https://doi.org/10.1094/CCHEM-03-16-0066-R>
- Wang, C., Xu, F., Li, D., Zhang, M. (2015). Physico-chemical and structural properties of four rice bran protein fractions based on the multiple solvent extraction method. *Czech Journal of Food Sciences*, 33(3), 283–291. <https://doi.org/10.17221/462/2014-CJFS>
- Kolpakova, V. V., Chumikina, L. V., Arabova, L. I., Lukin, D. N., Topunov, A. F., Titov, E. I. (2016). Functional technological properties and electrophoretic composition of modified wheat gluten. *Foods and Raw Materials*, 4(2), 48–57. <http://doi.org/10.21179/2308-4057-2016-2-48-57>
- Liang, H., Gu, B., Wang, T., Rong, L., Sun, W., Wu, Z. (2022). Relationship between protein structure and eating quality of rice under different nitrogen application rate. *Cereal Chemistry*, 99(3), 692–703. <https://doi.org/10.1002/cche.10530>
- Zhang, X., Wang, L., Chen, Z., Li, Y., Luo, X., Li, Y. (2019). Effect of electron beam irradiation on the structural characteristics and functional properties of rice proteins. *RSC Advances*, 9(24), 13550–13560. <https://doi.org/10.1039/C8RA10559F>
- Yao, G., Guo, Y., Cheng, T., Wang, Z., Li, B., Xia, C. et al. (2022). Effect of γ -irradiation on the physicochemical and functional properties of rice protein. *Food Science and Technology (Campinas)*, 42, Article e12422. <https://doi.org/10.1590/fst.12422>
- Li, T., Wang, L., Chen, Z., Zhang, X., Zhu, Z. (2020). Functional properties and structural changes of rice proteins with anthocyanins complexation. *Food Chemistry*, 331(1), Article 127336. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127336>
- Kolpakova, V. V., Lukin, N. D., Gaivoronskaya, I. S. (2018). Interrelation of functional properties of protein products from wheat with the composition and physicochemical characteristics of their proteins. Chapter in a book: *Global Wheat Production*. London: InTechopen <http://doi.org/10.5772/intechopen.75803>
- Kolpakova, V. V., Chumikina, L. V., Fan, K. Ch., Arabova, L. I., Shevyakova, L. V., Bessonov, V. V. (2016). To the question about the effectiveness of various methods of enzymatic isolation of protein concentrates from white and brown rice. *Agrarian Russia*, 2, 12–20. <http://doi.org/10.30906/1999-5636-2016-2-12-20> (In Russian)
- Brun, E. (2003). Liquid chromatography of polymers: the present and the future. *Russian Chemical Journal*, 47(1), 90–101. (In Russian)
- Miles, A. J., Wien, F., Wallace, B. A. (2004). Redetermination of the extinction coefficient of camphor-10-sulfonic acid, a calibration standard for circular dichroism spectroscopy. *Analytical Biochemistry*, 335(2), 338–339. <http://doi.org/10.1016/j.ab.2004.08.035>
- Quddus, K. G., Ma, C. Y. (2003). Study of rice glutelin conformation by using circular dichroism (CD) spectroscopy. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 6(22), 1917–1920. <https://doi.org/10.3923/pjbs.2003.1917.1920>
- Kelly, S. M., Jess, T. J., Price, N. C. (2005). How to study proteins by circular dichroism. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) — Proteins and Proteomics*, 1751(2), 119–139. <http://doi.org/10.1016/j.bbapap.2005.06.005>
- Shubin, V. V., Khazin, M. L., Efimovskaya, T. V. (1991). Determination of the secondary structure of globular proteins from circular dichroism spectra. *Molecular Biology*, 24(1), 189–201. (In Russian)
- Xie, L. H., Tang, S. Q., Chen, N., Luo, J., Jiao, G. A., Shao, G. N. et al. (2014). Optimisation of near-infrared reflectance model in measuring protein and amylose content of rice flour. *Food Chemistry*, 142(1), 92–100. <http://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.07.030>
- Hoff, S., Larsen, F. H., Andersen, M. L., Lund, M. N. (2013). Quantification of pro-teinthiols using ThioGlo 1 fluorescent derivatives and HPLC separation. *Analyst*, 138(7), 2096–2103. <https://doi.org/10.1039/C3AN56672C>
- Arakawa, T., Yonezawa, D. (1976). Composition difference of wheat flour gluteins in relation to their aggregation behavior. *Argicultural and Biological Chemistry*, 39(11), 2123–2128. <https://doi.org/10.1080/00021369.1975.10861930>
- Gavrilin, M. V., Popova, O. I., Gubanov, E. A. (2010). Phenolic compounds of the aerial part of clary sage (*Salvia sclarea* L.) cultivated in the Stavropol Territory. *Chemistry of Plant Raw Material*, 4, 99–104. (In Russian)
- Khalafyan, A. A., Borovikov, V. P., Kalaydina, G. V. (2022). Probability theory, mathematical statistics and data analysis: fundamentals of the theory and practice on the computer. STATISTICA. EXCEL. More than 150 examples of problem solving. Moscow: Lenand, 2022. (In Russian)
- Smirnova, M. M., Yaborova, O. V., Nakaryakova, N. I., Lust, E. N., Oleshko, O. A. (2014). Determination of total flavonoids in the grass of the pion. *Basic Research*, 12(1), 164–168. (In Russian)
- Lighezan, L., Meiri, D., Breiman, A., Neagu, A. (2013). Circular dichroism and the secondary structure of the ROF₂ protein from *Arabidopsis thaliana*. *Journal of Biological Physics*, 39(4), 635–648. <http://doi.org/10.1007/s10867-013-9323-y>
- Kelly, S. M., Price, N. C. (2000). The use of circular dichroism in the investigation of protein structure and function. *Current Protein and Peptide Science*, 1(4), 349–384. <http://doi.org/10.2174/1389203003381315>
- Mironov, V. A., Yankovsky, S. A. (1985). Spectroscopy in organic chemistry. Moscow: Chemistry, 1985. (In Russian)
- Kolpakova, V. V., Lukin, D. N., Chumikina, L. V., Shevyakova, L. V. (2015). Chemical composition and functional properties of rice protein concentrates. *Proceedings of the Voronezh State University of Engineering Technologies*, 4(66), 120–124. <http://doi.org/10.20914/2310-1202-2015-4-120-124> (In Russian)

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ	AUTHOR INFORMATION
Принадлежность к организации	Affiliation
<p>Колпакова Валентина Васильевна — доктор технических наук, профессор, главный научный сотрудник, заведующий отделом биотехнологии комплексной переработки крахмалсодержащего сырья, Всероссийский научно-исследовательский институт крахмала и переработки крахмалсодержащего сырья — филиал Федерального исследовательского центра картофеля имени А. Г. Лорха 140051, Московская область, Люберцы, п. Красково, ул. Некрасова, 11 Тел.: + 7–495–557–15–00 E-mail: vniik@arrisp.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-7288-8569 * автор для контактов</p>	<p>Valentina V. Kolpakova, Doctor of Technical Sciences, Professor, Chief Researcher, Head of the Department of Biotechnology for the Complex Processing of Starch-Containing Raw Materials, All-Russian Research Institute of Starch and Starch-containing Raw Materials Processing — Branch of Russian Potato Research Centre 11, Nekrasova Str., 140051, Kraskovo, Lyubertsy, Moscow region, Russia Tel.: + 7–495–557–15–00 E-mail: vniik@arrisp.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-7288-8569 * corresponding author</p>
<p>Фан Куинь Чам — кандидат технических наук, преподаватель, Фу Йен университет, Фу Йен провинция, Вьетнам. 620000, 01 Нгуен Ван Хьюен, округ 9, г. Туй Хоа, — провинция Фу Йен, Вьетнам Тел.: +84–57–384–3025 E-mail: quynhtram221@gmail.com ORCID: https://orcid.org/0009-0008-6870-5839</p>	<p>Quynh Ch. Fan, Candidate of Technical Sciences, Lecturer, Phu Yen University, Phu Yen province, Viet Nam. 620000, 01 Nguyen Van Huyen, Ward 9, Tuy Hoa City, Phu Yen Province, Viet Nam Tel.: +84–57–384–3025 E-mail: quynhtram221@gmail.com ORCID: https://orcid.org/0009-0008-6870-5839</p>
<p>Гайворонская Ирина Сергеевна — младший научный сотрудник отдела биотехнологии комплексной переработки крахмалсодержащего сырья, Всероссийский научно-исследовательский институт крахмала и переработки крахмалсодержащего сырья — филиал Федерального исследовательского центра картофеля имени А. Г. Лорха 140051, Московская область, п. Красково, ул. Некрасова, 11 Тел.: + 7–495–557–15–00 E-mail: vniik@arrisp.ru ORCID: http://orcid.org/0000-0002-4036-1316</p>	<p>Irina S. Gaivoronskaya, Junior Researcher, Department of Biotechnology for Complex Processing of Starch-Containing Raw Materials, All-Russian Research Institute of Starch and Starch-containing Raw Materials Processing — Branch of Russian Potato Research Centre. 11, Nekrasova Str., 140051, Kraskovo, Lyubertsy, Moscow region, Russia Tel.: + 7–495–557–15–00 E-mail: vniik@arrisp.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-4036-1316</p>
<p>Чумикина Людмила Васильевна — кандидат биологических наук, старший научный сотрудник, Институт биохимии им. А. Н. Баха, Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук 119071, Москва, Ленинский проспект, 33 Тел.: + 7–926–355–39–29 E-mail: chumikina@mail.ru ORCID: http://orcid.org/0000-0001-8414-5212</p>	<p>Lyudmila V. Chumikina, Candidate of Biological Sciences, Senior Researcher, A. N. Bach Institute of Biochemistry, Federal Research Center «Fundamental Foundations of Biotechnology», of Russian Academy of Sciences 33, Leninsky Ave, 119071, Moscow, Russia Tel.: + 7–(926–355–39–29 E-mail: chumikina@mail.ru ORCID: http://orcid.org/0000-0001-8414-5212</p>
Критерии авторства	Contribution
Авторы в равных долях имеют отношение к написанию рукописи и одинаково несут ответственность за плагиат	Authors equally relevant to the writing of the manuscript, and equally responsible for plagiarism
Конфликт интересов	Conflict of interest
Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.	The authors declare no conflict of interest.