

УДК 664.76

ПОЛУЧЕНИЕ И ОЦЕНКА ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ СВОЙСТВ БЕЛКОВЫХ ИЗОЛЯТОВ И ГИДРОЛИЗАТОВ ИЗ РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ

© *А.А. Красноштанова**, *Л.В. Шульц*

*Российский химико-технологический университет имени Д.И. Менделеева,
Миусская пл., 9, Москва, 125047 (Россия), e-mail: aak28@yandex.ru*

Ключевую роль в питании человека играет животный белок как наиболее сбалансированный по аминокислотному составу, однако его потребление часто вызывает аллергические реакции. Заменой животному белку служит растительный. Наиболее перспективными источниками растительного белка являются семена зерновых, бобовых, масличных и злаковых культур. Цель исследования – подбор условий получения белковых изолятов и ферментативных гидролизатов, обладающих заданными функциональными свойствами, из различных видов растительного сырья. Подобраны условия извлечения белковых веществ из льняной, кукурузной, овсяной и гороховой муки с выходом высокомолекулярной фракции белка не менее 70% от содержания сырого протеина в сырье. Подобраны условия осаждения белковых изолятов с получением препаратов, содержащих не менее 85% белка. Подобран тип ферментного препарата для проведения гидролиза – панкреатин. Установлено, что для повышения водо- и жиросодерживающей способности для горохового изолята возможен гидролиз продолжительностью не более 15 мин, для всех остальных изолятов гидролиз нежелателен. Наилучшими эмульгирующей и пенообразующей способностями обладают льняные гидролизаты после 60 и 90 мин гидролиза соответственно. Показано, что ферментативный гидролиз способствует снижению аллергенности растительных белков. Полученные гидролизаты растительных белков могут быть использованы в качестве ингредиентов для функциональных продуктов, а также для получения продуктов с пониженной аллергенностью.

Ключевые слова: функциональные свойства, аллергенность, растительный белок, белковый изолят, ферментативный гидролиз.

Введение

С увеличением численности населения, а также ухудшением экологической обстановки и ростом цен на энергоресурсы все острее становится проблема дефицита белка. Общий дефицит белка на планете оценивается в 15–30 млн т в год. В России суточное потребление белка, по данным РАМН, составляет не более 40 г/сутки при норме от 70 до 100 г/сутки, а общий дефицит белка в России достигает порядка 1 млн тонн в год [1].

Ключевую роль в питании человека играет животный белок как наиболее сбалансированный по аминокислотному составу, однако его потребление часто вызывает аллергические реакции. Эти факторы, а также необходимость значительных экономических затрат на содержание скота, обуславливают актуальность поиска альтернативных источников этому ресурсу. Заменой животному белку служит растительный, который обладает рядом преимуществ: быстрое накопление биомассы растений, наличие витаминов и пищевых волокон, меньшая аллергенность [2, 3].

Наиболее перспективными источниками растительного белка являются орехи, зеленая масса и семена зерновых, бобовых, масличных и злаковых культур.

Состав белков в растительном сырье характеризуется неоднородностью и многообразием их групп. В зависимости от растворимости выделяют четыре основных группы растительных белков: альбумины, глобулины, проламины, глютелины. Альбумины и легкие глобулины растворимы в воде в интервале значений

Красноштанова Алла Альбертовна – доктор химических наук, доцент, профессор кафедры биотехнологии,
e-mail: aak28@yandex.ru
Шульц Леонид Викторович – магистрант,
e-mail: aak28@yandex.ru

pH 4.5–8.5 и слабых солевых растворах, осаждаются нейтральными солями при 100%-ном насыщении и содержатся во всех видах растительного сырья. Глобулины плохо растворимы в воде, од-

* Автор, с которым следует вести переписку.

нако растворяются в солевом растворе, осаждаются в менее концентрированных (50% от насыщения), чем альбумины растворах солей. Проламины растворимы в спирте, малорастворимы в кислотах и щелочах, нерастворимы в воде, солевых и водно-спиртовых растворах. Глютелины хорошо растворимы в слабых растворах щелочей и кислот и нерастворимы в воде, растворах солей и этанола [4, 5].

Одним из перспективных источников белка среди масличных культур является лен. Мировые площади, занятые под культуру льна, составляют 4–5 млн га [6]. Белок льна содержит 7 аминокислот, относящихся к незаменимым – фенилаланин, лейцин, изолейцин, метионин, валин, треонин, лизин, а также аргинин и гистидин, что доказывает его высокую биологическую ценность [7, 8].

Среди злаковых культур, которые можно использовать для получения белка, в настоящее время все большую популярность приобретает овес за счет высокой усвояемости, значительного содержания незаменимых аминокислот (триптофана, лейцина, изолейцина, треонина, лизина, валина и фенилаланина), а также низкой аллергенности [9, 10].

Также перспективным источником растительного белка среди злаковых растений является кукуруза за счет низкого содержания глютена [11–13].

Среди бобовых культур перспективной высокобелковой культурой, растущей практически на всей территории РФ, обладающей высокой урожайностью и значительным содержанием белка, является горох [14–16]. Белки гороха хорошо сбалансированы по всем незаменимым аминокислотам, особенно по аргинину и лизину, его содержание составляет почти 9% от общей массы белка [17, 18].

Состав фракций растительных белков, исследованных в работе, приведен в таблице 1.

На основе растительного сырья получают несколько типов белковых продуктов: мука, текстурированные белки, концентрат с содержанием 60–65% белка, изолят с содержанием более 90% белка. Изоляты и концентраты растительных белков с обезличенным запахом и вкусом являются наиболее перспективными формами белкового продукта, допускающие использование их в больших дозировках [19].

Однако практически все растительные белки содержат фракции, являющиеся аллергенными (в основном это проламины), что ограничивает их применение в пищевой промышленности. Одним из путей снижения аллергенности растительных белков является их гидролиз до низкомолекулярных пептидов. Помимо низкой аллергенности (или ее отсутствия) гидролизаты растительных белков обладают и другими преимуществами, а именно: легче усваиваются организмом, имеют более высокую растворимость, термоустойчивость и др. Эти свойства позволяют использовать гидролизаты растительных белков в продуктах лечебного и диетического питания.

Перспективным направлением применения гидролизатов растительных белков является получение на их основе ингредиентов для функционального питания. Гидролизаты белков, как правило, обладают улучшенными функциональными свойствами в сравнении с исходными белками [20].

Под функциональными свойствами белков понимают их физико-химические характеристики, определяющие их поведение при переработке в пищевые продукты и обеспечивающие определенную структуру, технологические и потребительские свойства. К наиболее важным функциональным свойствам белков относятся растворимость, водоудерживающая и жиродерживающая способности (ВУС и ЖУС соответственно), эмульгирующая и пенообразующая способности (ЭС и ПС соответственно) [21].

Гидролиз белка позволяет получить гидролизаты с различными комбинациями функциональных свойств, что позволяет их использовать в разных продуктах питания. Например, высокая растворимость белка необходима для образования эмульсий и пен, но нежелательна для теста; высокая пенообразующая способность важна для взбитых кондитерских изделий: кремов, мороженого и т.п., но нежелательна для напитков, не имеющих пены [22].

Таким образом, целью данной работы явился подбор условий получения белковых изолятов и ферментативных гидролизатов, обладающих заданными функциональными свойствами, из различных видов растительного сырья.

Таблица 1. Характеристика фракционного состава растительных белков [7, 10, 11, 15]

Наименование источника белка	Содержание белковых фракций, %			
	Глобулины	Альбумины	Проламины	глютелины
Лен	21.5	43.7	21.0	13.8
Овес	28.3	15.1	8.2	48.4
Горох	70.0	10.0	18.0	2.0
Кукуруза	5.0	25.0	30.0	40.0

Экспериментальная часть

Объектами исследования в работе являлись: гороховая мука производства ООО «ФаворитТ» с содержанием сырого протеина – 44,3%; льняная мука производства ООО НПО «Компас Здоровья» с содержанием сырого протеина – 36%; овсяная мука производства ООО «Гарнец» с содержанием сырого протеина 11%; кукурузная мука производства ООО «Гарнец» с содержанием сырого протеина 8%.

Для получения ферментативных гидролизатов белков использовали ферментные препараты с удельной протеолитической активностью, измеренной методом Ансона [23]: химотрипсин производства ООО «Самсон-Мед» – 960 ед./г белка; Protex 40E производства Genencor – 940 ед./г белка; протосубтилин ГЗх производства ООО ПО «Сиббиофарм» – 392 ед./г белка, панкреатин производства ПАО «Биосинтез» – 177 ед./г белка; трипсин производства ООО «Диаэм» – 7500 ед./г белка; пепсин говяжий производства ОАО «МЗСФ» – 7500 ед./г белка.

Количественное содержание белка в исследуемых образцах определяли модифицированным методом Лоури с отдельным определением высокомолекулярной и низкомолекулярной фракций белка (ВМФ и НМФ) путем предварительного осаждения ВМФ 50%-ной трихлоруксусной кислотой. Определение сырого протеина осуществляли методом Кьельдаля. Общую протеолитическую активность измеряли модифицированным методом Ансона, основанном на гидролизе казеината натрия исследуемым ферментным препаратом, с последующей инактивацией фермента и осаждением негидролизованного белка трихлоруксусной кислотой [23].

Для определения жироудерживающей способности (ЖУС) в стеклянные центрифужные пробирки помещали 0,5 г исследуемого препарата и добавляли от 0,125 до 0,625 мл растительного масла с интервалом 0,125 мл. Содержимое пробирок перемешивали в течение 10 мин, после чего пробы выдерживали при перемешивании в течение 15 мин, после чего охлаждали до комнатной температуры и центрифугировали при 1500 об./мин в течение 15 мин. За величину ЖУС принимали максимальное количество добавленного масла, при котором не наблюдалось отделения масляной фазы в процессе испытания, в пересчете на 1 г препарата [24].

Для определения водоудерживающей способности (ВУС) в стеклянные центрифужные пробирки емкостью помещали 0,5 г исследуемого препарата и добавляли от 1,5 до 2,5 мл воды с интервалом 0,25 мл. Далее эксперимент проводили аналогично определению ЖУС. За величину ВУС принимали максимальное количество добавленной воды, при котором не наблюдалось отделения водной фазы в процессе испытания, в пересчете на 1 г препарата [24].

Для определения эмульгирующей способности (ЭС) в стеклянные центрифужные пробирки помещали 1 г исследуемого препарата и добавляли 5 мл воды и 5 мл масла. Содержимое пробирок перемешивали в течение 10 мин, после чего проводили операции, аналогичные описанным выше, и определяли процентное соотношение объемов отделившихся от эмульсии водной и масляной фаз [25].

При определении пенообразующей способности (ПС) измеряли высоту столба пены, которая формируется при падении водного раствора исследуемой композиции во время его переливания в мерный цилиндр. Для этого в колбы помещали 0,25 г исследуемого образца и добавляли 25 мл воды. Шейкером в течение 30 секунд взбивали полученный раствор. Далее переливали его в мерный цилиндр и измеряли высоту столба пены [26].

Для извлечения белков из растительного сырья использовали метод экстракции. В процессе подбора условий экстракции варьировали температуру экстракции, рН среды, продолжительность процесса и объемное соотношение муки и экстрагента. В ходе процесса экстракции через определенные промежутки времени отбирали пробы суспензии, твердую фракцию отделяли центрифугированием при 2000 g. В полученных экстрактах определяли содержание ВМФ и НМФ белка модифицированным методом Лоури.

Осаждение изолятов белка из белковых экстрактов проводили в изоэлектрической точке, которую определяли экспериментально путем установления в образцах экстрактов соответствующих значений рН среды с последующим выдерживанием полученных суспензий при пониженной температуре (2–8 °С) в течение 1,5–4,5 ч. Полученные осадки изолятов отделяли центрифугированием при 2000 g. В надосадочной жидкости оценивали остаточное содержание белка с последующим расчетом степени осаждения. Влажные изоляты белков были высушены на воздухе, после чего в них определяли содержание основного вещества методом Лоури.

Ферментативный гидролиз белковых изолятов (концентрация белка в растворе – 10 мг/мл) проводили в течение 2 ч, активности ферментных препаратов 250 ед./г белка, температуре и рН среды оптимальных для соответствующего ферментного препарата. Модифицированным методом Лоури измеряли концентрацию продуктов гидролиза в надосадочной жидкости. Степень гидролиза белка определяли как отношение концентрации НМФ белка в гидролизате к исходной концентрации белка.

С целью исследования влияния времени ферментативного гидролиза на функциональные свойства на основе полученных изолятов белка были приготовлены гидролизаты, отвечающие разному времени ферментации. Для этого 1 г изолята смешивали с водой в соотношении 1 : 25 и добавляли ферментный препарат из расчета 250 ед./г гидролизуемого белка. Гидролиз проводили при оптимальных температуре и рН среды для данного ферментного препарата в течение 15, 30, 60, 90 и 120 мин. Образцы гидролизатов высушивали при температуре 50 °С, после чего исследовали их функциональные свойства: ВУС, ЖУС, ЭС, ПС по вышеописанным методикам.

Количественное определение аллергенности полученных белковых изолятов и гидролизатов проводили в соответствии с требованиями стандарта ALINORM 08/31/26 для пищевых продуктов методом иммуноферментного анализа с использованием моноклональных антител R5 [27]. В соответствии с требованиями стандарта ALINORM 08/31/26, подготовленного Комитетом Алиментариус по питанию и пищевым продуктам, аллергенность растительных белков оценивается в расчете на глютен. При этом низкий уровень аллергенности соответствует содержанию глютена не 20 мг/кг готового продукта; а умеренный – 20–100 мг/кг.

Обсуждение результатов

На первом этапе работы из вышеперечисленных источников растительного сырья извлекали белковые изоляты на основе всех фракций содержащегося в них белка путем экстракции водными растворами. На рисунке 1 приведены данные по влиянию температуры, а на рисунке 2 – по влиянию рН среды на суммарный выход белков в экстракт, а также на выход ВМФ. Рисунок 3 иллюстрирует влияние соотношения мука : экстрагент на выход белковых веществ в экстракт.

В результате проведенных экспериментов были подобраны условия экстракции белка, обеспечивающие максимальный выход его ВМФ. Обобщение полученных результатов приведено в таблице 2.

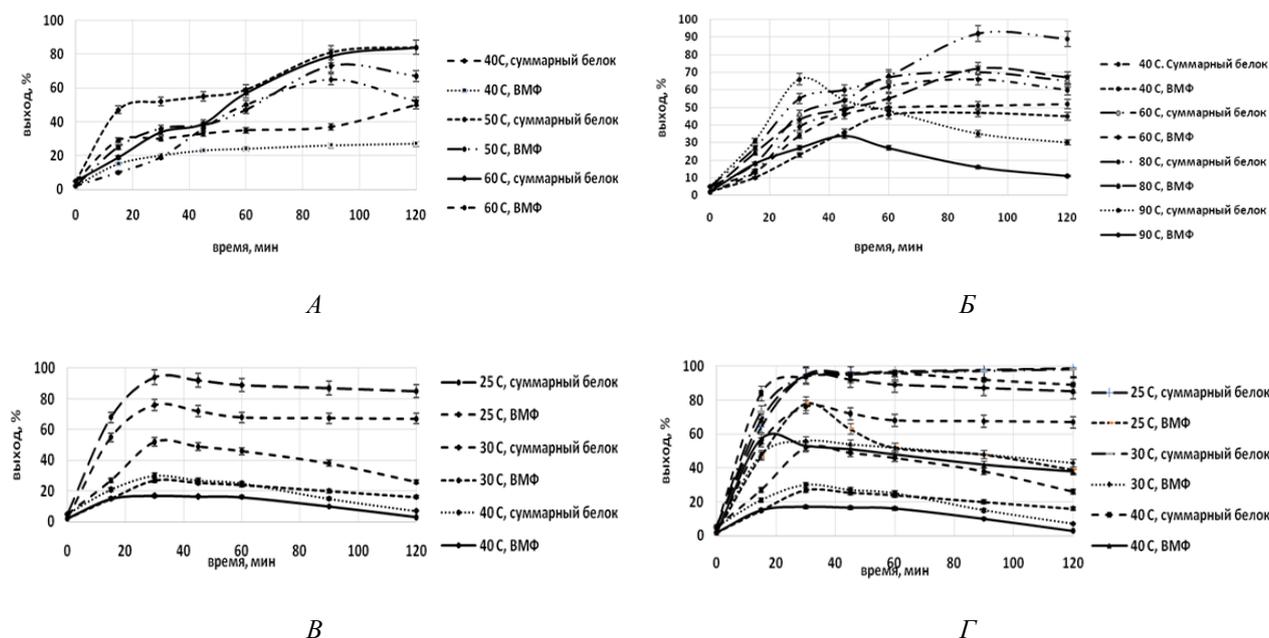


Рис. 1. Влияние температуры на выход суммарного белка и его ВМФ из различных видов муки: А) овсяной, Б) гороховой, В) льняной, Г) кукурузной

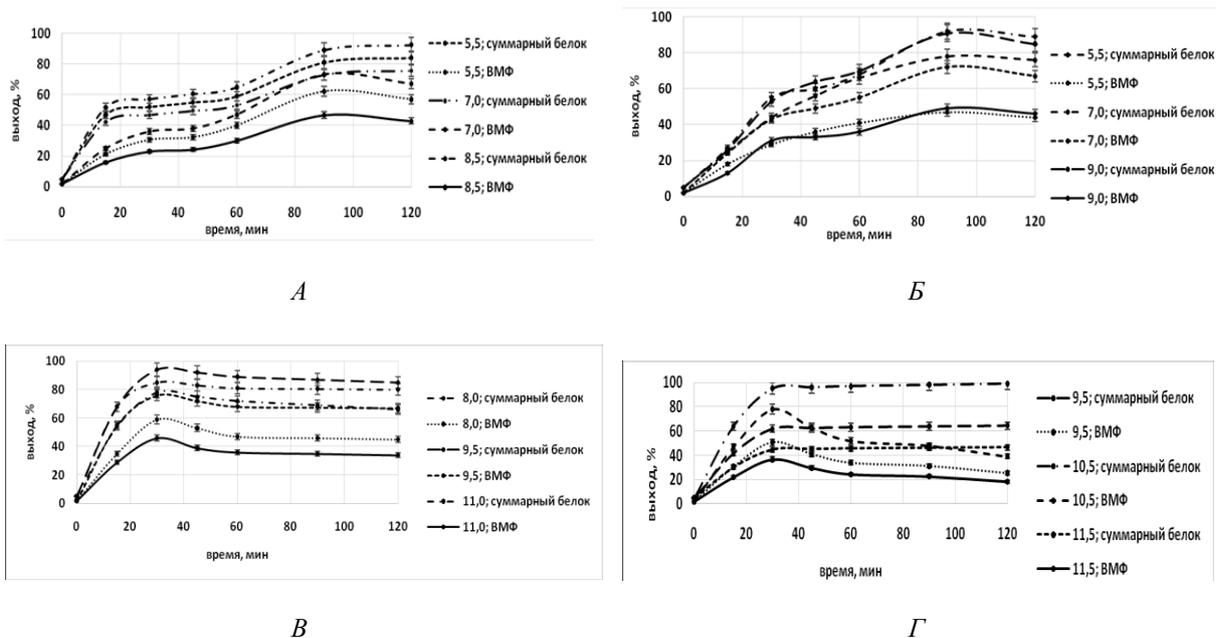


Рис. 2. Влияние pH среды на выход суммарного белка и его ВМФ из различных видов муки: А) овсяной, Б) гороховой, В) льняной, Г) кукурузной

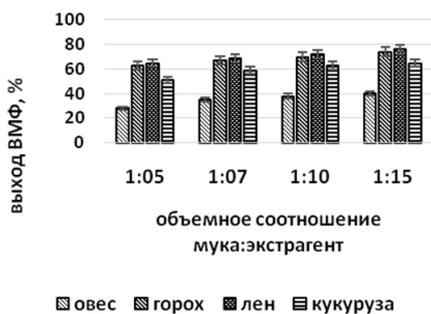


Рис. 3. Влияние объемного соотношения муки: экстрагент на выход ВМФ белка

Таблица 2. Условия экстракции белковых веществ из растительного сырья, обеспечивающие максимальный выход ВМФ белка

Наименование растительного сырья	Оптимальные условия экстракции				Выход белковых веществ, % от сырого протеина		
	Температура, °С	pH	Соотношение мука : экстрагент	Продолжительность, мин	Всего	ВМФ	НМФ
Гороховая мука	80	7.5	1 : 10	90	91±4	72±3	19±1
Льняная мука	25	9.5	1 : 10	30	93±5	76±3	17±1
Овсяная мука	50	7.0	1 : 10	90	86±4	73±3	12±1
Кукурузная мука	25	10.5	1 : 10	30	95±5	78±3	21±1

Из представленных данных следует, что подобранные условия экстракции обеспечивают достаточно полное, от 86% (овсяная мука) до 95% (кукурузная мука) извлечение белковых веществ из рассматриваемых видов муки. При этом выход ВМФ белка, которая является основой белкового изолята, приходится от 72% (гороховая мука) до 78% (кукурузная мука). Различия в условиях извлечения белков обусловлены соотношением в каждом из типов муки белковых фракций, различающихся по своим физико-химическим свойствам.

Наиболее часто используемые в промышленности способы выделения изолятов из экстрактов белка основаны на снижении их растворимости – высаливание или осаждение в изоэлектрической точке. В данной работе для извлечения белка было выбрано осаждение в изоэлектрической точке. Зависимость степени осаждения ВМФ белка от pH среды приведена на рисунке 4, а обобщенные данные по условиям получения и качеству белковых изолятов представлены в таблице 3.

Из представленных данных следует, что из всех полученных белковых экстрактов удается получить белковый изолят при степени осаждения от 54% (льняная мука) до 76% (кукурузная мука) от общего содержания белка в экстракте. Более высокие значения степени осаждения не могут быть достигнуты, так как, во-первых, часть белковых веществ экстракта (до 20%) представлена НМФ, а, во-вторых, некоторые фракции белков растительного сырья (прежде всего альбумины) хорошо растворимы во всем диапазоне значений pH среды. Следует отметить, что во всех случаях содержание основного вещества в полученных изолятах составляет не менее 86%, что соответствует требованиям, предъявляемым к белковым изолятам.

С целью улучшения функциональных свойств получаемых изолятов, снижения их аллергенности на следующем этапе работы из изолятов были получены ферментативные гидролизаты.

Был проведен выбор наиболее эффективного ферментного препарата среди наиболее доступных и применяемых в промышленности ферментных препаратов. Полученные результаты приведены на рисунке 5.

На основе полученных данных для каждого из 4 белковых изолятов был подобран ферментный препарат, обеспечивающий максимальную степень гидролиза. Для всех рассматриваемых белковых изолятов наиболее эффективным оказался панкреатин, использование которого позволило достичь степени гидролиза белка 60–70%.

Известно, что функциональные свойства белковых гидролизатов зависят от степени гидролиза белка, которая определяется его продолжительностью. Поэтому далее было проведено исследование влияния продолжительности ферментативного гидролиза на функциональные свойства белковых гидролизатов.

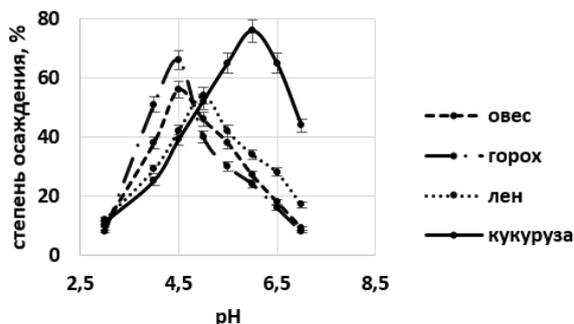


Рис. 4. Влияние pH среды на степень осаждения ВМФ белка

Таблица 3. Условия получения и содержание основного вещества в белковых изолятах из разных видов растительного сырья

Вид изолята	Условия осаждения		Степень осаждения, %	Содержание основного вещества в изоляте, %
	pH	Время инкубации при 2–8 °С, ч		
Овсяный изолят	4.5	3.0	56±3	86±5
Гороховый изолят	4.5	1.5	66±4	91±6
Льняной изолят	4.8	4.5	54±3	95±6
Кукурузный изолят	6.0	1.5	76±4	95±6

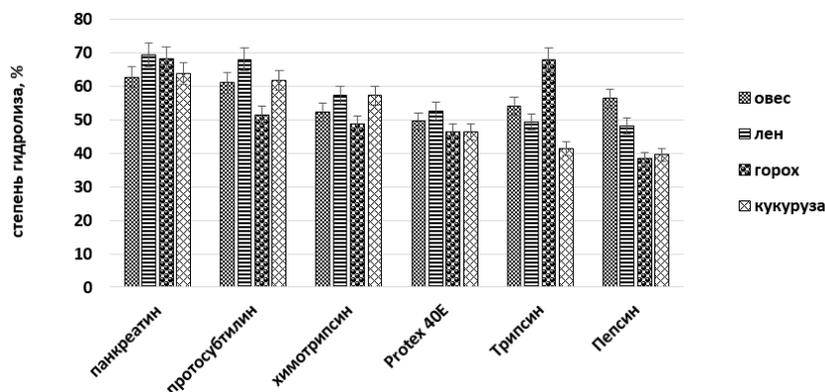


Рис. 5. Полнота гидролиза белковых изолятов на основе растительного сырья в зависимости от используемого ферментного препарата

Полученные результаты измерения функциональных свойств ферментализатов и исходных изолятов представлены на рисунке 6. Как следует из полученных данных, водоудерживающая способность уменьшается при увеличении продолжительности ферментализа за счет более высокой растворимости получаемых пептидов в сравнении с белками. Наименьшей ВУС обладают гидролизаты кукурузного белка, а наибольшей – льняного. Таким образом, для функциональных добавок с высоким ВУС целесообразно использовать гороховый белковый изолят или его гидролизат, полученный при продолжительности гидролиза, не превышающей 15 мин. Жирудерживающая способность гидролизатов уменьшается аналогично ВУС с увеличением продолжительности ферментализа за счет снижения гидрофобных взаимодействий, которые являются основополагающими для поддержания ЖУС. Почти во всех случаях резкое изменение ЖУС происходит в первые 15 мин, что ведет к резкому снижению данного функционального свойства. Однако в случае изолятов белка льняной муки вплоть до 60 минут проведение гидролиза не вызывает потери жирудержания, однако более продолжительный ферментализ приводит к резкому падению ЖУС. Следует отметить, что все исследованные белковые изоляты и гидролизаты обладают низкой ЖУС, поэтому использовать их для повышения ЖУС функциональных продуктов возможно только в виде негидролизованых продуктов.

Эмульгирующая способность для всех образцов возрастает с увеличением времени ферментативного гидролиза в течение первых 60 мин, после чего незначительно снижается в случае льняного и горохового гидролизатов и значительно в случае кукурузного. При этом кукурузный изолят белка и его гидролизаты не проявляли заметной эмульгирующей способности. Согласно проведенным исследованиям, для того чтобы добиться максимальной эмульгирующей способности льняного, горохового или овсяного белковых изолятов, целесообразно проводить ферментализ в течение не более 90 мин.

Что касается пенообразующей способности, то она во всех случаях в начале гидролиза увеличивается, а затем снижается. Максимальной пенообразующей способностью обладают гидролизаты белка кукурузной муки при продолжительности гидролиза 30 мин.

Таким образом, в результате проведенных исследований было установлено, что белковые изоляты кукурузы, овса, льна и гороха пригодны для получения ингредиентов для функционального питания.

Как отмечалось выше, ферментативный гидролиз также способен снизить уровень аллергенности растительных белков. Результаты анализа также представлены на рисунке 6, из которого следует, что во всех случаях ферментативный гидролиз приводит к снижению аллергенности по крайней мере до умеренного уровня, а при продолжительности гидролиза более 60 мин – до низкого. Это позволяет рекомендовать использовать полученные в работе ферментативные гидролизаты в качестве низкоаллергенных ингредиентов, обладающих эмульгирующей и пенообразующей способностями для функционального питания.

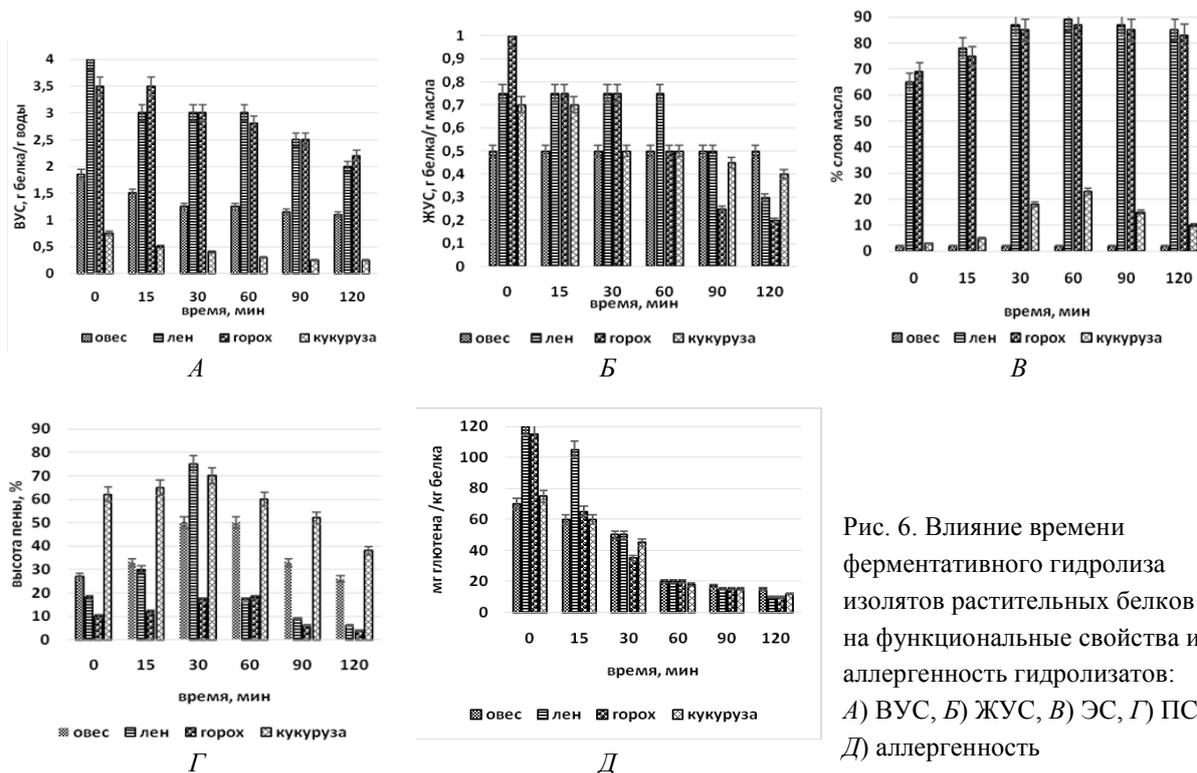


Рис. 6. Влияние времени ферментативного гидролиза изолятов растительных белков на функциональные свойства и аллергенность гидролизатов: А) ВУС, Б) ЖУС, В) ЭС, Г) ПС, Д) аллергенность

Выводы

1. Подобраны условия извлечения белковых веществ из льняной, кукурузной, овсяной и гороховой муки с выходом не менее 90%, при этом выход высокомолекулярной фракции белка составляет не менее 70% от содержания сырого протеина в исходном сырье. Подобраны условия осаждения белковых изолятов в изоэлектрической точке с получением препаратов, содержащих не менее 85% основного вещества, что соответствует требованиям качества белковых изолятов.

2. Для льняного, кукурузного, горохового и овсяного белковых изолятов подобран ферментный препарат, обеспечивающий максимальную полноту гидролиза – панкреатин. Изучено влияние продолжительности ферментативного гидролиза на функциональные свойства и аллергенность получаемых гидролизатов. Установлено, что для повышения водо- и жиросодерживающей способности гидролиз овсяного, льняного и кукурузного изолятов нецелесообразен, а для горохового возможен гидролиз продолжительностью не более 15 мин.

3. Показано, что ферментативный гидролиз в течение 60–90 мин способствует увеличению пенообразующей и эмульгирующей способностей гидролизатов. Наилучшими эмульгирующей и пенообразующей способностями обладают льняные гидролизаты после 60 и 90 мин гидролиза соответственно.

4. Показано, что ферментативный гидролиз способствует снижению аллергенности растительных белков. Установлено, что высоким уровнем аллергенности (более 100 мг глютена/кг белка) обладают белковые изоляты льна и гороха, а изоляты белка кукурузы и овса – умеренным (20–100 мг глютена/кг белка). Проведение ферментативного гидролиза в течение 30 мин приводит к снижению уровня аллергенности до умеренного для всех исследованных растительных белков. Увеличение времени ферментативного гидролиза до 60 мин и более позволяет получить белковые гидролизаты с низким уровнем аллергенности (менее 200 мг глютена/кг белка), что позволяет рекомендовать полученные ферментоллизаты в качестве ингредиентов для функционального питания для получения низкоаллергенных продуктов.

Список литературы

1. Дебелый Г.А., Мерзликин А.С. Зернобобовые и пшеница в решении проблемы белка для продовольствия и кормов в РФ // Зерновые и бобовые культуры. 2016. №2(18). С. 74–79.
2. Бычкова Е.С., Рождественская Л.Н., Погорова В.Д., Госман Д.В., Бычков А.Л. Технологические особенности и перспективы использования растительных белков в индустрии питания. Часть 2. Способ снижения антипитательных свойств растительного сырья // Хранение и переработка сельхозсырья. 2018. №3. С. 46–54.
3. Хабибулина Н.В., Красноштанова А.А., Адучиева В.Д. Получение очищенной альбуминовой фракции гороховой муки методом ультраконцентрирования с использованием плоских мембран // Apriori. 2016. №1. С. 1–10.
4. Sa A.G.A., Moreno Y.M.F., Carciofi B.A.M. Plant proteins as high-quality nutritional source for human diet // Trends in Food Science & Technology. 2020. Vol. 97. Pp. 170–184. DOI: 10.1016/j.tifs.2020.01.011.
5. Ntatsi G., Gutiérrez-Cortines M.E., Karapanos I., Barros A., Weiss J., Balliu A., dos Santos Rosa E.A., Savvas D. The quality of leguminous vegetables as influenced by preharvest factors // Scientia Horticulturae. 2018. Vol. 232. Pp. 191–205. DOI: 10.1016/j.scienta.2017.12.058.
6. Parajuli R., Thoma G., Matlock M.D. Environmental sustainability of fruit and vegetable production supply chains in the face of climate change: A review // Science of The Total Environment. 2019. Vol. 650. Pp. 2863–2879. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2018.10.019.
7. Панкратов Г.Н., Мелешкина Е.П., Витол И.С., Кандроков Р.Х., Жильцова Н.С. Особенности продуктов переработки двухкомпонентных смесей пшеницы и льна // Хлебопродукты. 2018. №12. С. 42–46. DOI: 10.32462/0235-2508-2018-0-12-42-46.
8. Jiménez-Munoz L.M., Tavares G.M., Corredig M. Design future foods using plant protein blends for best nutritional and technological functionality // Trends in Food Science & Technology. 2021. Vol. 113. Pp. 139–150. DOI: 10.1016/j.tifs.2021.04.049.
9. Kumar L., Sehrawat R., Kong Y. Oat proteins: A perspective on functional properties // LWT. 2021. Vol. 152. 112307. DOI: 10.1016/j.lwt.2021.112307.
10. Зенкова А.Н. Овсяные крупа и хлопья – продукты повышенной пищевой ценности // Хлебопродукты. 2012. №11. С. 60–63.
11. Матвеева Ю.А., Чернова Е.В., Баженова И.А., Доморощенкова И.Л., Демьяненко Т.Ф. Исследование фракционного состава белков кукурузного жмыха // XXI век: итоги прошлого и проблемы настоящего плюс. 2019. Т. 8. №2. С. 140–144.
12. Singh U., Kaur D., Mishra V., Krishania M. Combinatorial approach to prepare antioxidative protein hydrolysate from corn gluten meal with dairy whey: Preparation, kinetics, nutritional study and cost analysis // LWT. 2021. Vol. 153. 112437. DOI: 10.1016/j.lwt.2021.112437.

13. Wu J., Zhang X., Wang R., Wang M., He Z., Tan Z., Jiao J. Replacing corn grain with corn gluten feed: Effects on the rumen microbial protein synthesis, functional bacterial groups and epithelial amino acid chemosensing in growing goats // *Animal Feed Science and Technology*. 2020. Vol. 270. 114684. DOI: 10.1016/j.anifeeds.2020.114684.
14. Шульвинская И.В., Лобанов В.Г., Минакова А.Д., Демченко С.В., Овсянникова О.В. Белково-полисахаридные продукты из растительного сырья как компонент биологически активных добавок и функциональных продуктов питания // *Известия вузов. Пищевая технология*. 2012. №5–6. С. 37–40.
15. Турченков С.С., Хлебцова Е.Б., Пучков М.Ю. Современные перспективы применения гороха посевного (*Pisum Sativum L.*) в качестве лекарственного растительного сырья // *Фундаментальные исследования*. 2013. №6(2). С. 407–410.
16. Зеленев А.Н., Шелепина Н.В., Мамаева Н.В. Особенности аминокислотного состава белка листовых мутантов гороха // *Зернобобовые и крупяные культуры*. 2013. №1(5). С. 21–25.
17. Banjac V.V., Colovic R.R., Vukmirovic D.M. et.al. Protein enrichment of sunflower meal by air classification // *Food and Feed Research*. 2013. Vol. 40. Pp. 77–83.
18. Adebisi A.P., Aluko R.E. Functional properties of protein fractions obtained from commercial yellow field pea (*Pisum sativum L.*) seed protein isolate // *Food Chemistry*. 2011. Vol. 128. Pp. 902–908. DOI: 10.1016/j.foodchem.2011.03.116.
19. Sosalagere C., Kehinde B.A., Sharma P. Isolation and functionalities of bioactive peptides from fruits and vegetables: A reviews // *Food Chemistry*. 2021. Vol. 366. 130494. DOI: 10.1016/j.foodchem.2021.130494.
20. Римарева Л.В., Фурсова Н.А., Соколова Е.Н., Волкова Г.С., Борщева Ю.А., Серб Е.М., Кривова А.Ю. Биодеструкция белков зернового сырья для получения новых хлебобулочных изделий // *Вопросы питания*. 2018. №6. С. 67–74. DOI: 10.24411/0042-8833-2018-10068.
21. Malik M.A., Saini C.S. Rheological and structural properties of protein isolates extracted from dephenolized sunflower meal: Effect of high intensity ultrasound // *Food Hydrocolloids*. 2018. Vol. 81. Pp. 229–241. DOI: 10.1016/j.foodhyd.2018.02.052.
22. Kahraman G., Harsa S., Lucisano M., Cappa C. Physicochemical and rheological properties of rice-based gluten-free blends containing differently treated chickpea flours // *LWT*. 2018. Vol. 98. Pp. 276–282. DOI: 10.1016/j.lwt.2018.08.040.
23. ГОСТ 20264.2-88. Препараты ферментные. Методы определения протеолитической активности. М., 1988. 15 с.
24. Камиллов Ф.Х., Галимов Ш.Н., Аглетдинов Э.Ф., Князева О.А., Абдуллина Г.М., Карягина Н.Т., Байгильдина А.А., Валиев А.Г., Сагидуллин Ф.А., Кулагина И.Г., Кидрасова Р.С., Меньшикова И.А., Бикметова Э.Р. Биохимический практикум: пособие для самостоятельной аудиторной работы студентов, обучающихся по специальности 20400.62 – Биология, профиль Микробиология. Ч. 2. Уфа, 2014. 99 с.
25. Евдокимова О.В., Гримина Е.Б., Толкунова Н.Н., Прянишников В.В. Функционально-технологические свойства белковых препаратов // *Известия вузов. Пищевая технология*. 2006. №2–3. С. 73–74.
26. Артемова Е.Н. Формирование пенных структур пищевых продуктов, содержащих белки и пектины // *Известия вузов. Пищевая технология*. 2001. №4. С. 20–23.
27. МУК 4.1.2880-11. Методы определения глютена в продовольственном сырье и пищевых продуктах. Методические указания. М., 2011. 32 с.

Поступила в редакцию 4 февраля 2022 г.

После переработки 19 марта 2022 г.

Принята к публикации 8 мая 2022 г.

Для цитирования: Красноштанова А.А., Шульц Л.В. Получение и оценка функциональных свойств белковых изолятов и гидролизатов из растительного сырья // *Химия растительного сырья*. 2022. №4. С. 299–309. DOI: 10.14258/jcrpm.20220410952.

*Krasnoshtanova A.A.**, *Shul'ts L.V.* PREPARATION AND EVALUATION OF THE FUNCTIONAL PROPERTIES OF PROTEIN ISOLATES AND HYDROLYSATES FROM PLANT RAW MATERIALS

Russian University of Chemical Technology named after D.I. Mendeleev, Miusskaya pl., 9, Moscow, 125047 (Russia), e-mail: aak28@yandex.ru

Animal protein plays a key role in the human diet as the most balanced amino acid composition; however, its consumption often causes allergic reactions. Plant protein serves as a substitute for animal protein. The most promising sources of plant protein are the seeds of cereals, pulses, oilseeds and cereals. Research aim: selection of conditions for obtaining protein isolates and enzymatic hydrolysates having the desired functional properties from different types of vegetable raw materials. Pea, corn and oat flour LLC "Favorit"; linseed flour LLC NGO "Compass Health". Enzyme preparations: chymotrypsin LLC "Samson-Med"; Protex 40E Genencor; protosubtilin G3x produced by PO "Sibbiofarm" LLC; pancreatin PJSC "Biosintez"; trypsin LLC "Di-aem"; beef pepsin OJSC "MHSF". Crude protein content was determined by Kjeldahl method, protein substances - by modified Lowry method. Fat-holding, water-holding, emulsifying and foaming capacities, as well as allergenicity of protein isolates and hydrolysates were determined. Conditions for protein substances extraction from flax, corn, oat and pea flour with the yield of high-molecular protein fraction not less than 70 % of raw protein content were selected. The conditions of protein isolates precipitation to produce preparations containing not less than 85% of protein have been selected. The type of enzyme preparation for hydrolysis - pancreatin - was selected. It was found that in order to increase water- and fat-holding capacity of pea isolate, hydrolysis is possible with duration not exceeding 15 min, for all other isolates hydrolysis is undesirable. The best emulsifying and foam-forming capacities are possessed by linseed hydrolysates after 60 and 90 min of hydrolysis, respectively. Enzymatic hydrolysis was shown to reduce the allergenicity of plant proteins. The obtained hydrolysates of vegetable proteins can be used as ingredients for functional products, as well as for obtaining products with reduced allergenicity.

Keywords: functional properties, allergenicity, vegetable protein, protein isolate, enzymatic hydrolysis.

References

1. Debelyy G.A., Merzlikin A.S. *Zernovyye i bobovyye kul'tury*, 2016, no. 2(18), pp. 74–79. (in Russ.).
2. Bychkova Ye.S., Rozhdestvenskaya L.N., Pogorova V.D., Gosman D.V., Bychkov A.L. *Khraneniye i pererabotka sel'khozsyrya*, 2018, no. 3, pp. 46–54. (in Russ.).
3. Khabibulina N.V., Krasnoshtanova A.A., Aduchiyeva V.D. *Apriori*, 2016, no. 1, pp. 1–10. (in Russ.).
4. Sa A.G.A., Moreno Y.M.F., Carciofi B.A.M. *Trends in Food Science & Technology*, 2020, vol. 97, pp. 170–184. DOI: 10.1016/j.tifs.2020.01.011.
5. Ntatsi G., Gutiérrez-Cortines M.E., Karapanos I., Barros A., Weiss J., Balliu A., dos Santos Rosa E.A., Savvas D. *Scientia Horticulturae*, 2018, vol. 232, pp. 191–205. DOI: 10.1016/j.scienta.2017.12.058.
6. Parajuli R., Thoma G., Matlock M.D. *Science of The Total Environment*, 2019, vol. 650, pp. 2863–2879. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2018.10.019.
7. Pankratov G.N., Meleshkina Ye.P., Vitol I.S., Kandrov R.Kh., Zhil'tsova N.S. *Khleboprodukty*, 2018, no. 12, pp. 42–46. DOI: 10.32462/0235-2508-2018-0-12-42-46. (in Russ.).
8. Jiménez-Munoz L.M., Tavares G.M., Corredig M. *Trends in Food Science & Technology*, 2021, vol. 113, pp. 139–150. DOI: 10.1016/j.tifs.2021.04.049.
9. Kumar L., Sehrawat R., Kong Y. *LWT*, 2021, vol. 152, 112307. DOI: 10.1016/j.lwt.2021.112307.
10. Zenkova A.N. *Khleboprodukty*, 2012, no. 11, pp. 60–63. (in Russ.).
11. Matveyeva Yu.A., Chernova Ye.V., Bazhenova I.A., Domoroshchenkova I.L., Dem'yanenko T.F. *XXI vek: itogi proshlogo i problemy nastoyashchego plyus*, 2019, vol. 8, no. 2, pp. 140–144. (in Russ.).
12. Singh U., Kaur D., Mishra V., Krishania M. *LWT*, 2021, vol. 153, 112437. DOI: 10.1016/j.lwt.2021.112437.
13. Wu J., Zhang X., Wang R., Wang M., He Z., Tan Z., Jiao J. *Animal Feed Science and Technology*, 2020, vol. 270, 114684. DOI: 10.1016/j.anifeeds.2020.114684.
14. Shul'vinskaya I.V., Lobanov V.G., Minakova A.D., Demchenko S.V., Ovsyannikova O.V. *Izvestiya vuzov. Pishchevaya tekhnologiya*, 2012, no. 5–6, pp. 37–40. (in Russ.).
15. Turchenkov S.S., Khlebtsova Ye.B., Puchkov M.Yu. *Fundamental'nyye issledovaniya*, 2013, no. 6(2), pp. 407–410. (in Russ.).
16. Zelenov A.N., Shelepina N.V., Mamayeva N.V. *Zernobobovyye i krupyanyye kul'tury*, 2013, no. 1(5), pp. 21–25. (in Russ.).
17. Banjac V.V., Colovic R.R., Vukmirovic D.M. et al. *Food and Feed Research*, 2013, vol. 40, pp. 77–83.
18. Adebisi A.P., Aluko R.E. *Food Chemistry*, 2011, vol. 128, pp. 902–908. DOI: 10.1016/j.foodchem.2011.03.116.
19. Sosalagere C., Kehinde B.A., Sharma P. *Food Chemistry*, 2021, vol. 366, 130494. DOI: 10.1016/j.foodchem.2021.130494.
20. Rimareva L.V., Fursova N.A., Sokolova Ye.N., Volkova G.S., Borshcheva Yu.A., Serba Ye.M., Krivova A.Yu. *Voprosy pitaniya*, 2018, no. 6, pp. 67–74. DOI: 10.24411/0042-8833-2018-10068. (in Russ.).
21. Malik M.A., Saini C.S. *Food Hydrocolloids*, 2018, vol. 81, pp. 229–241. DOI: 10.1016/j.foodhyd.2018.02.052.
22. Kahraman G., Harsa S., Lucisano M., Cappa C. *LWT*, 2018, vol. 98, pp. 276–282. DOI: 10.1016/j.lwt.2018.08.040.
23. *GOST 20264.2-88. Preparaty fermentnyye. Metody opredeleniya proteoliticheskoy aktivnosti*. [GOST 20264.2-88. Enzyme preparations. Methods for determining proteolytic activity]. Moscow, 1988, 15 p. (in Russ.).

* Corresponding author.

24. Kamilov F.Kh., Galimov Sh.N., Agletdinov E.F., Knyazeva O.A., Abdullina G.M., Karyagina N.T., Baygil'dina A.A., Valiyev A.G., Sagidullin F.A., Kulagina I.G., Kidrasova R.S., Men'shikova I.A., Bikmetova E.R. *Biokhimicheskiy praktikum: posobiye dlya samostoyatel'noy auditornoy raboty studentov, obuchayushchikhsya po spetsial'nosti 20400.62 – Biologiya, profil' Mikrobiologiya. Ch. 2.* [Biochemical workshop: a manual for independent classroom work of students studying in the specialty 20400.62 – Biology, profile Microbiology. Part 2]. Ufa, 2014, 99 p. (in Russ.).
25. Yevdokimova O.V., Griminova Ye.B., Tolkunova N.N., Pryanishnikov V.V. *Izvestiya vuzov. Pishchevaya tekhnologiya*, 2006, no. 2–3, pp. 73–74. (in Russ.).
26. Artemova Ye.N. *Izvestiya vuzov. Pishchevaya tekhnologiya*, 2001, no. 4, pp. 20–23. (in Russ.).
27. *MUK 4.1.2880-11. Metody opredeleniya glyutena v prodovol'stvennom syr'ye i pishchevykh produktakh. Metodicheskiye ukazaniya.* [MUK 4.1.2880-11. Methods for the determination of gluten in food raw materials and food products. Methodical instructions]. Moscow, 2011, 32 p. (in Russ.).

Received February 4, 2022

Revised March 19, 2022

Accepted May 8, 2022

For citing: Krasnoshtanova A.A., Shul'ts L.V. *Khimiya Rastitel'nogo Syr'ya*, 2022, no. 4, pp. 299–309. (in Russ.). DOI: 10.14258/jcprm.20220410952.

