

## УЛЬТРАЗВУКОВАЯ ЭКСТРАКЦИЯ БЕЛКОВЫХ КОМПЛЕКСОВ ИЗ СЕМЯН БОБОВЫХ КУЛЬТУР

Е.В. Ожимкова, В.В. Орлов

Тверской государственный технический университет, г. Тверь

В настоящее время все более актуальной задачей становится разработка и внедрение эффективных технологий переработки растительного сырья. Ультразвуковую экстракцию рассматривают как перспективный метод получения разнообразных биологически активных веществ из растительного материала. Однако, несмотря на большое разнообразие доказательств эффективности использования ультразвукового воздействия для интенсификации экстракционных процессов и большой потенциал применения данного метода в промышленности, актуальными являются научные исследования, позволяющие разрабатывать эффективные ресурсосберегающие методики получения различных классов биологически активных веществ из конкретного растительного сырья. В данной работе экспериментально подобраны условия ультразвукового воздействия, обеспечивающие максимальный выход белковых комплексов из семян бобовых культур.

**Ключевые слова:** *ультразвуковая экстракция, бобовые, белковые комплексы.*

В последние годы установлено положительное влияние на здоровье человека белковых компонентов растительного происхождения [1,2,3-5]. Эти свойства схожи со свойствами, которые ранее приписывались пептидам, выделенным из молока и молочных продуктов, а также из других продуктов животного происхождения - рыбы, мяса, яиц. Доказано [6-7], что пептиды различных размеров и даже интактные растительные белки, особенно из богатых белком семян, таких как бобовые, оказывают благотворное воздействие на организм человека, в частности, влияют на здоровье костей, сердечно-сосудистой системы, могут рассматриваться как средство для профилактики онкологических заболеваний, для разработки препаратов для контроля массы тела. Кроме того, белки бобовых влияют на чувствительность клеток к инсулину, на активность иммунных клеток и усвоение минеральных соединений. Белки из семян бобовых культур включены в категорию "нутрицевтиков" (или "функциональных компонентов") [8-9].

Еще одна причина стабильного роста потребительский спроса на растительные белки - альтернатива мясным белкам в рационе [10]. Белки бобовых культур не только обладают уникальными питательными и функциональными свойствами, но и успешно используются в качестве

эмульгаторов и при инкапсулировании биологически активных соединений. Область применения белковых изолятов из бобовых культур достаточно широка: для обогащения пищевых продуктов, в качестве структурообразователей в хлебобулочных, кондитерских и колбасных изделиях, пенообразователей в аэрированных продуктах, а также в качестве заменителей животного белка и т.д.

Кроме того, белки бобовых культур можно подвергать различной модификации (физическими, ферментативными и химическими методами), использовать комбинации белков с полисахаридами (гликано-протеиновые комплексы). Комбинации бобовых белков с полисахаридами улучшают их эмульгирующие свойства и стабильность при различных рН, температуре и ионной силе растворов [11]. В состав белков бобовых культур (гороха, фасоли, бобов и чечевицы) входят глобулины и альбумины, кроме того, обнаружены белково-гликановые комплексы, которые рассматриваются как один из перспективных классов биологически-активных веществ. Белковые фракции семян бобовых культур специфичны по аминокислотному составу [12-13]. Содержание незаменимых аминокислот в семенах бобовых овощных культур в среднем составляет 54,3-77,5 г/кг семян. Белки бобовых по содержанию незаменимых аминокислот соответствует рекомендованным стандартам Комитета по продовольствию ООН и Всемирной организации здравоохранения [8].

В данной работе изучена ультразвуковая экстракция белковых комплексов из семян бобовых культур, а также исследованы основные свойства полученных изолятов.

#### **Методы и методики**

В качестве растительного материала для проведения исследований использовались образцы коммерчески торговых марок зеленого и желтого гороха, белой и красной фасоли, красные бобы и зеленая чечевица. Концентрацию белка в полученных экстрактах определяли бицинхонатным и биуретовым методами.

Для получения белковой пасты без использования ультразвукового воздействия 20 г исследуемой бобовой культуры измельчали до образования муки с диаметром частиц не более 150 мкм и диспергировали в 100 мл дистиллированной воды. Белок экстрагируется при рН 8,5, поддерживаемом добавлением 0,5 н раствора едкого натра в количестве 1-4 мл в зависимости от используемого материала. Белковый раствор отделяли от нерастворимого остатка центрифугированием (3500 об/мин, 25 мин). Путем добавления 1,2 н раствора соляной кислоты, рН белкового раствора довели до 4,3, выпавший осадок отделяли центрифугированием (4500 об/мин, 30 мин) и затем для хранения высушивали лиофильно.

Для получения белковой пасты с использованием ультразвука генератор IKASONIC U 50 control настраивали по интенсивности

воздействия, навеску измельченного до образования муки с диаметром частиц не более 150 мкм растительного сырья (20 г) насыпали в химический стаканчик и заливали 100 мл дистиллированной воды, добавляли 0,5 н раствор едкого натра в до рН=8,5, после чего насадку генератора погружали в стаканчик и проводили обработку сырья. Во время ультразвуковой обработки среда нагревается до 32 – 35<sup>0</sup>С ( в зависимости от мощности ультразвука и продолжительности воздействия), что не приводит к инактивации белков. Путем добавления 1,2 н раствора соляной кислоты рН белкового раствора довели до 4,3, выпавший осадок отделяли центрифугированием (4500 об/мин, 30 мин) и затем высушивали лиофильно.

Для разделения альбуминов и глобулинов белковых фракций к 2 мл исследуемому раствору белка приливали равный объем насыщенного раствора сульфата аммония и перемешивали и через 5 минут фракцию глобулинов, выпавшую в осадок, отфильтровывали. В фильтрате остается альбумины. Для высаливания альбуминов к фильтрату добавляли кристаллический сульфат аммония до полного насыщения, т.е. пока новая порция соли остается нерастворенной. Выпавший осадок альбуминов отфильтровывали.

Одна из причина стабильного роста потребительского спроса на белки бобовых культур - не только их уникальные питательные и функциональные свойства, но и возможность успешного использования в качестве эмульгаторов при производстве целого ряда пищевых продуктов. Следовательно, целесообразным является анализ пенообразующей способности белков бобовых культур и анализ стабильности получаемых пен.

В мерный стакан на 500 мл наливали 50 мл исследуемого раствора белка (1%) и перемешивали с помощью лабораторной мешалки в течение 5 мин. Затем измеряли объем образовавшейся пены по мерным делениям на стакане. Испытание проводят параллельно на трех образцах. Пенообразующую способность (П) в процентах вычисляют по формуле:

$$П=(V_0/V_p)*100 \quad (1)$$

где  $V_0$ -объем образовавшейся пены, см<sup>3</sup>;  
 $V_p$ -исходный объем раствора, см<sup>3</sup>

Устойчивость пены (У) в процентах вычисляют по формуле:

$$У=(V_{30}/V_0)*100 \quad (2)$$

где  $V_{30}$ -объем пены после 30 минут наблюдения, см<sup>3</sup>;  
 $V_0$ -первоначальный объем пены, см<sup>3</sup>

За результат испытаний принимают среднее арифметическое результатов трех параллельных определений. Допускаемое расхождение

между результатами трех параллельных определений не должно превышать  $\pm 10\%$  среднего арифметического значения. За окончательный результат испытания принимают среднее арифметическое результатов трех последних определений.

### Результаты и обсуждения

Результаты определения содержания белковых комплексов, полученных из семян бобовых культур без использования ультразвуковой экстракции приведены в таблице 1.

Таблица 1.

Выход белковых комплексов из семян бобовых культур  
(без использования ультразвука)

| Растительное сырье      | Содержание белка в пробе<br>(изолят белка), мг/мл |
|-------------------------|---|
| Зеленый горох           | 1,8 $\pm$ 0,05                                    |
| Желтый горох            | 1,8 $\pm$ 0,05                                    |
| Зел.гор.+жел.гор. (1:1) | 1,7 $\pm$ 0,05                                    |
| Белая фасоль            | 1,8 $\pm$ 0,05                                    |
| Красная фасоль          | 1,7 $\pm$ 0,05                                    |
| Красные бобы            | 1,7 $\pm$ 0,05                                    |
| Зеленая чечевица        | 1,8 $\pm$ 0,05                                    |

В ходе поисковых экспериментов были проведены опыты по получению белковой пасты из семян бобовых при ультразвуковой экстракции. Был исследован диапазон мощностей от 12,5 Вт/см<sup>2</sup> до 460 Вт/см<sup>2</sup>, однако полученные результаты свидетельствуют о том, что при использовании ультразвука с интенсивностью ниже 230 Вт/см<sup>2</sup> обеспечивает низкий выход и крахмалов, и белковых изолятов из семян бобовых.

Наибольшие выходы (Таблица 2) целевых компонентов отмечены при ультразвуковой обработке в течение 25 минут и интенсивности 460 Вт/см<sup>2</sup>. Дальнейшее увеличение времени вызывает больший нагрев обрабатываемой среды, что может привести к денатурации белковых комплексов. Кроме того, увеличение продолжительности ультразвуковой обработки требует дополнительных затрат электроэнергии, что в свою очередь повысит затраты на техническую реализацию ультразвуковой экстракции.

Таблица 2.

Наибольший выход белковой пасты из культур исследуемых бобовых культур

| Наименование растительного сырья | Выход белковой пасты, % | Выход белковой пасты (УЗ экстракция), % |
|----------------------------------|-------------------------|---|
|                                  |                         |   |

|                  |         |         |
|------------------|---------|---------|
| Зеленая чечевица | 2,8±0,1 | 10±0,1  |
| Белая фасоль     | 1,4±0,1 | 8,6±0,1 |

Данные о распределении белков по фракциям для образцов, полученных как экстракций с использованием ультразвука, так и без него, приведены в таблицах 3 и 4.

Белки исследуемых бобовых культур состоят в основном из глобулинов (в среднем, около 83%) и альбуминов (в среднем, около 9,5%). Анализ результатов экспериментов по определению распределения белков по фракциям для образцов, полученных как экстракций с использованием ультразвука, так и без него, позволяет сделать вывод о том, соотношение фракций альбуминов и глобулинов сохраняется постоянным при всех используемых методах экстракции.

Таблица 3

- Распределение белков по фракциям

(для образцов, полученных без использования ультразвука)

| Сырье, из которого получен белок | Альбумины, % | Глобулины, % |
|----------------------------------|--------------|--------------|
| Зеленый горох                    | 9,6±0,5      | 87±0,5       |
| Желтый горох                     | 9,8±0,5      | 87,2±0,5     |
| Зел.гор.+жел.гор. (1:1)          | 9,6±0,5      | 87±0,5       |
| Белая фасоль                     | 10,2±0,5     | 80,3±0,5     |
| Красная фасоль                   | 10,1±0,5     | 80,1±0,5     |
| Красные бобы                     | 8,2±0,5      | 76,2±0,5     |
| Зеленая чечевица                 | 8,1±0,5      | 86±0,5       |

Таблица 4.

Распределение белков по фракциям  
(для образцов, полученных при ультразвуковой экстракции)

| Сырье, из которого получен белок | Альбумины, % | Глобулины, % |
|----------------------------------|--------------|--------------|
| Зеленый горох                    | 9,5±0,5      | 87±0,5       |
| Желтый горох                     | 9,7±0,5      | 87,1±0,5     |
| Зел.гор.+жел.гор. (1:1)          | 9,5±0,5      | 86,8±0,5     |
| Белая фасоль                     | 10,0±0,5     | 80,1±0,5     |
| Красная фасоль                   | 10,0±0,5     | 80,2±0,5     |
| Красные бобы                     | 8,4±0,5      | 76,4±0,5     |
| Зеленая чечевица                 | 8,0±0,5      | 86,1±0,5     |

Важнейшим фактором, определяющим выбор растительного сырья для получения белковых изолятов, является не только массовая доля белка и его биологическая ценность, но и функциональные свойства. Данные о пенообразующей способности белковых изолятов для образцов, полученных как экстракций с использованием ультразвука, так и без него, приведены в таблицах 5 и 6.

Таблица 5.

Пенообразующая способность и стабильность получаемых пен  
(для образцов, полученных без использования ультразвука)

| Сырье, из которого получен белок | Пенообразующая способность, % | Устойчивость пены, % |
|----------------------------------|-------------------------------|----------------------|
| Зеленый горох                    | 95±1                          | 80±1                 |
| Желтый горох                     | 98±1                          | 80±1                 |
| Зел.гор.+жел.гор. (1:1)          | 94±1                          | 75±1                 |
| Белая фасоль                     | 120±1                         | 90±1                 |
| Красная фасоль                   | 110±1                         | 93±1                 |
| Красные бобы                     | 92±1                          | 70±1                 |
| Зеленая чечевица                 | 120±1                         | 95±1                 |

Таблица 6.

Пенообразующая способность и стабильность получаемых пен  
(для образцов, полученных при ультразвуковой экстракции)

| Сырье, из которого получен белок | Пенообразующая способность, % | Устойчивость пены, % |
|----------------------------------|-------------------------------|----------------------|
| Зеленый горох                    | 93±1                          | 75±1                 |
| Желтый горох                     | 94±1                          | 76±1                 |
| Зел.гор.+жел.гор. (1:1)          | 95±1                          | 74±1                 |
| Белая фасоль                     | 110±1                         | 83±1                 |
| Красная фасоль                   | 106±1                         | 90±1                 |
| Красные бобы                     | 90±1                          | 64±1                 |
| Зеленая чечевица                 | 112±1                         | 91±1                 |

Следует отметить, в современной пищевой промышленности востребованы дешёвые, доступные по сырьевой базе, эффективные пенообразователи с высокой пищевой ценностью. Однако, пенообразователи, используемые в настоящее время в пищевой промышленности, не всегда удовлетворяют этим требованиям: некоторые из них производятся в ограниченном количестве, у других высокая стоимость, многие импортного производства. Использование белковых комплексов из семян бобовых культур в качестве пенообразователей и стабилизаторов сдерживается недостатком данных об их технологических свойствах.

#### Заключение

Семена бобовых культур характеризуются высоким содержанием белка. Предложенное в работе низкочастотное ультразвуковое воздействие позволяет повысить выход белковой пасты в несколько раз (в 3,5 при использовании в качестве сырья чечевицы и в 6 раз при использовании белой фасоли) по сравнению с экстракцией без использования ультразвука. Пенообразующая способность и стабильность получаемых пен, полученных из белковых комплексов семян бобовых позволяет рассматривать их в качестве функциональных компонентов для расширения ассортимента высококачественных продуктов питания, создания продуктов диетического и лечебно-профилактического назначения, совершенствования технологии известных пищевых продуктов, повышением эффективности комплексной переработки сельскохозяйственного сырья.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (грант № 19-08-00336).

### Список литературы

1. Birt D.F., Boylston T., Hendrich S., Jane J.L. // *Advances in Nutrition*. 2013. V.4. P. 587–601
2. Bajaj P.R., Tang J., Sablani S.S. // *Food and Bioprocess Technology*. 2015. V.8 (12). P.2418–2428
3. Benjamin O., Silcock P., Beauchamp J., Buettner A. // *Journal of Food Science*, 2014. V.79 (10). P.2014–2022
4. Joshi M., Adhikari B., Aldred P., Panozzo J.F., Kasapis S., Barrow C.J. // *Food Chemistry*. 2012. V. 134 (3). P.1343–1353
5. Karaca A.C., Low N.H., Nickerson M.T. // *Trends in Food Science and Technology*, 2015. V.2 (1). P.5–12
6. Nutritive quality and protein production from grain legumes in a boreal climate / C.I. Lizarazo [etc]//*Journal of the Science of Food and Agriculture*. 2015. V. 10. P. 2053–2064.
7. Sweetie R., Arjun K., Sharma A. Antioxidant and antimicrobial activity of legume hulls // *Food Research International*. 2011. V.44. P. 3182–3187.
8. Manners R., Varela-Ortega C., Ettend J. // *European Journal of Agronomy*. 2020. V. 113. P.125974.
9. Bajaj P.R., Tang J., Sablani S.S. // *Food and Bioprocess Technology*. 2015. V. 8 (12). P. 2418–2428
10. Lalegab K., Barron C., Cordellec S., Schlich P., Walrand S. // *LWT - Food Science and Technology*. 2017. V. 79. P. 471–478
11. Carbonaro M., Maselli P, Nucara A. // *Food Research International*. 2015. V. 76 (1), P. 19–30
12. Nazanin F., Arash K., Mehdi V. // *Food Hydrocolloids*. 2018. V. 79. P. 498–508
13. Lafarga T., Alvarez C., Bobo G., Aguilo-Aguayo I. // *LWT - Food Science and Technology*. 2018. V. 98. P. 106–112

#### *Об авторах:*

ОЖИМКОВА Елена Владимировна – кандидат химических наук, доцент, доцент кафедры Биотехнологии, химии и стандартизации, Тверской государственный технический университет, e-mail: [eozhimkova@mail.ru](mailto:eozhimkova@mail.ru)

ОРЛОВ Владимир Владимирович – аспирант 2 года обучения, Тверской государственный технический университет, e-mail: [v.v.orlov95@gmail.com](mailto:v.v.orlov95@gmail.com)



## ULTRASONIC EXTRACTION OF PROTEIN COMPLEXES FROM SEEDS OF LEGUME CROPS

**E.V. Ozhimkova, V.V. Orlov**

Tver State Technical University, Tver

In recent years, the development and implementation of effective technologies for processing plant raw materials has become an increasingly urgent task. Ultrasonic extraction is considered as a promising method for obtaining a variety of biologically active substances from plant material. However, despite the wide variety of evidence of the effectiveness of the use of ultrasonic exposure to intensify extraction processes and the wide potential for the application of this method in industry, scientific research is relevant, allowing the development of effective resource-saving methods for obtaining various classes of biologically active substances from specific plant raw materials. In this work, the conditions of ultrasonic exposure have been experimentally selected to ensure the maximum yield of protein complexes from legume seeds.

**Keywords:** *ultrasonic extraction, legumes, protein complexes.*