

ВСЕРОССИЙСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ
КРАХМАЛА И ПЕРЕРАБОТКИ КРАХМАЛСОДЕРЖАЩЕГО СЫРЬЯ –
ФИЛИАЛ ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО БЮДЖЕТНОГО
НАУЧНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ «ФЕДЕРАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ЦЕНТР КАРТОФЕЛЯ ИМЕНИ А.Г. ЛОРХА»

На правах рукописи

КУЛИКОВ ДЕНИС СЕРГЕЕВИЧ

**КОМПЛЕКСНАЯ БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКАЯ ПЕРЕРАБОТКА
ГОРОХОВОЙ МУКИ С ПОЛУЧЕНИЕМ БЕЛКОВЫХ КОНЦЕНТРАТОВ**

Специальность: 4.3.5 «Биотехнология продуктов питания и биологически
активных веществ»

Диссертация на соискание ученой степени
кандидата технических наук

Научный руководитель:
доктор технических наук, профессор
Колпакова Валентина Васильевна

Красково 2023

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	6
ГЛАВА 1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	13
1.1 Современные проблемы переработки зернобобовых культур с получением различных видов белковых продуктов.....	13
1.2 Состояние производства зернобобовых культур в России.....	15
1.3 Пищевая ценность и медико-биологические аспекты использования зернобобовых культур и продуктов их переработки.....	17
1.4 Технологические процессы и биотехнологические способы производства белковых продуктов из зернобобовых культур	23
1.5 Функциональные свойства нативных и модифицированных белковых продуктов из зернобобовых культур	27
1.6 Биотрансформация вторичных продуктов переработки сырья в белковые препараты различного назначения	36
1.7 Применение белковых продуктов из зернобобовых культур в продуктах питания и кормах.....	39
1.8 Выводы по литературному обзору.....	45
ГЛАВА 2 ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ	48
2.1 Объекты и материалы исследований.....	48
2.2. Методы исследований.....	49
2.2.1 Химический состав сырья, продуктов переработки и белковых концентратов.....	49
2.2.2 Определение фракционного состава белков гороховой муки.....	50
2.2.3 Ультразвуковая обработка гороховой мучной суспензии.....	50
2.2.4 Определение молекулярных масс белков методом гель-электрофореза в SDS-ПААГ.....	51
2.2.5 Углеводный состав вторичных продуктов переработки муки.....	51
2.2.6 Аминокислотный состав, скор и активность уреазы белковых концентратов.....	52

2.2.7 Микро- и макроэлементы белковых концентратов.....	52
2.2.8 Определение перевариваемости белков <i>in vitro</i>	52
2.2.9 Определение функциональных свойств белковых концентратов.....	53
2.2.10 Спектроскопическое исследование белков круговым дихроизмом.....	53
2.2.11 Количество фенолокарбоновых кислот и их производных (ФККиП)....	53
2.2.12 Методика проведения гидролиза белковых концентратов.....	54
2.2.13 Выращивание биомассы из вторичных продуктов переработки муки....	54
2.2.14 Определение жирнокислотного состава липидов дрожжей.....	55
2.2.15 Определение нуклеиновых кислот и микробиологических показателей концентратов.....	55
2.2.16 Методика кормления крыс и цыплят-бройлеров.....	55
2.2.17 Методы математического планирования и статистическая обработка экспериментальных данных.....	56
ГЛАВА 3 РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ.....	57
3.1 Разработка биокаталитического способа получения пищевых белковых концентратов.....	57
3.1.1 Химический и биохимический состав муки зернобобовых культур.....	57
3.1.2 Растворимость гороховых белков и перевод их в экстракт.....	59
3.1.2.1 Растворимость белков под влиянием карбогидраз и оптимизация технологических режимов экстракции.....	59
3.1.2.2 Выбор протеолитического ферментного препарата и влияние технологических факторов на растворимость белков.....	63
3.1.2.3 Влияние ультразвукового воздействия (УЗВ) на растворимость белков.....	65
3.1.3 Разработка способа осаждения гороховых белков из экстракта.....	66
3.1.3.1 Определение изоэлектрической точки белков.....	66
3.1.3.2 Молекулярные массы белков на различных стадиях ферментации и при выделении их из раствора.....	67
3.1.3.3 Осаждение белков сыворотки диализом с использованием	

полиамидной оболочки.....	69
3.1.3.4 Осаждение белков солями кальция и микробной трансглутаминазой (мТГ).....	69
3.1.4 Химический состав и функциональные свойства пищевых белковых концентратов.....	71
3.2 Перевариваемость белковых концентратов <i>in vitro</i>	79
3.3 Биоконверсия вторичных продуктов переработки гороховой муки...	80
3.3.1 Биоконверсия сыворотки с консорциумом микроорганизмов.....	80
3.3.2 Гидролиз крахмалобелкового остатка и биоконверсия его с сывороткой.....	86
3.3.3 Химический, биохимический состав и кормовая ценность дрожжей.....	88
3.4 Технологическая схема и баланс биотехнологической переработки гороховой муки на белковые концентраты.....	92
3.5 Способ получения и рецептура кисломолочного продукта с гороховым концентратом.....	94
3.6 Оценка безопасности кормовых дрожжей в составе комбикорма для крыс линии «Wistar».....	97
3.7 Исследование кормовых дрожжей в комбикормах для цыплят-бройлеров кросса «Росс 308».....	98
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	102
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ	104
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ	105
Приложение 1. Акт испытаний по кормлению цыплят-бройлеров кросса «Росс 308» комбикормом с кормовыми дрожжами.....	137
Приложение 2. Акт проведения технологического процесса получения концентрата белкового из гороховой муки.....	140
Приложение 3. Протокол исследований по совместному культивированию штаммов дрожжей родов <i>Saccharomyces cerevisiae</i> и	

<i>Geotrichum candidum</i>	142
Приложение 4. Технологическая инструкция по производству концентрата белкового горохового пищевого и дрожжей кормовых.....	144
Приложение 5. Технические условия на концентрат белковый гороховый пищевой.....	145
Приложение 6. Технические условия на дрожжи кормовые из зернобобового сырья.....	146
Приложение 7. Экономическая эффективность комплексной переработки гороховой муки на белковый концентрат и кормовые дрожжи.....	147
Приложение 8. Копии патента, дипломов, сертификатов.....	149

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы. Пищевая и перерабатывающая промышленность ежегодно используют 110–115 млн. т растительного сырья, для эффективного использования которого требуются технологии глубокой переработки с выработкой, наряду с традиционной продукцией, конкурентоспособных пищевых белковых препаратов. Несмотря на то, что структура питания улучшается, потребление белоксодержащих продуктов населением мира не соответствует нормам. По данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) число голодающих достигло трети всего населения Земли при дефиците полноценного белка в количестве 25–30 %. Возрастает интерес к белковым препаратам из зернобобовых культур из-за их высокой биологической ценности и относительно низкой стоимости. Бобовые культуры являются вторым по важности источником пищи для человека после злаковых. Концентраты и изоляты в нашей стране используются, в основном, импортного производства и производятся они, как правило, с использованием растворов щелочи, изменяющей структуру и органолептические свойства белков, иногда отрицательно влияющих на поведение пищевых систем, здоровье человека и животных. Существуют технологии переработки бобовых культур, например, с растворами солей, требующие мембранных установок, которые, как известно, трудные в обслуживании. Сведений об использовании ферментных препаратов для получения безопасных пищевых белковых продуктов недостаточно. Образующиеся побочные продукты требуют их утилизации с получением безопасных продуктов, включая белковые. Итак, дефицит полноценного белка, увеличение цен на животные продукты питания и политика импортозамещения отечественных белковых продуктов определяют **актуальность** разработок безопасных технологий и способов биотехнологической глубокой переработки зернобобового сырья в востребованные белковые препараты для пищевой и кормовой продукции.

Степень разработанности проблемы. Значительный вклад в исследование процессов переработки растительного сырья и биоконверсии

отходов перерабатывающих предприятий в белковые препараты различного назначения внесли отечественные и зарубежные ученые: Красильников В.Н., Толстогузов В.Б., Панфилов В.И., Браудо Е.Е., Грачева И.М., Иванова Л.А., Нечаев А.П., Римарева Л.В., Градова Н.Б., Сеницын А.П., Канарский А.В., Гернет М.В., Ермолаева Г.А., Колпакова В.В., Волкова Г.С., Борисенко Е.Г., Сербя Е.М., Шелепина Н.В., Singhal A., Khan A., Souza F.P.F., Bajaj R.P., Xu J.C., Karaca C.A., Pasupuleti V.K., Roy F. и др. Однако, в литературе недостаточно сведений о комплексной переработке зернобобовых культур в белковые концентраты безопасными биотехнологическими способами и приемами.

Цель работы – Разработка комплексной биотехнологической переработки гороховой муки с получением безопасных биологически полноценных пищевых и кормовых белковых концентратов с заданными функциональными и органолептическими свойствами.

Задачи работы:

- научно обосновать использование гороховой муки для биотехнологии белковых концентратов (БК) и кормовых дрожжей (КД) без применения щелочи;
- разработать способ переработки гороховой муки с ферментными препаратами (ФП) различного действия для получения биологически полноценных БК с заданными функциональными и органолептическими свойствами;
- разработать способ биоконверсии вторичных продуктов переработки (ВПП) гороховой муки в белоксодержащие КД;
- исследовать возможность использования БК и КД в пищевом и кормовом продуктах;
- провести апробацию биотехнологических стадий получения БК и КД;
- разработать нормативные документы на комплексную биотехнологию белковых концентратов и рассчитать экономическую эффективность их производства.

Научная новизна:

Впервые установлены:

- закономерности растворимости белков гороховой муки под влиянием гидролитических ФП различного действия в зависимости от гидромодуля, продолжительности реакции, концентрации; разработана математическая модель зависимости растворимости от факторов с выявлением их оптимальных параметров;

- большее сродство к гороховым белкам у ФП Alcalase 2,4, чем ФП Distizym Protacid: константа Михаэлиса для первого – $16,7 \times 10^{-7}$, второго – $10,0 \times 10^{-7}$ моль/дм³, чем можно объяснить более высокий переход белка в раствор с ФП Alcalase 2,4;

- положительное влияние лактата кальция с микробной трансглутаминазой (МТГ) на стадии осаждения белка в изоэлектрической точке на его выход;

- корреляционная взаимосвязь между цветом муки и белковых препаратов с количеством фенолокарбоновых кислот и их производных (ФККиП) в сырье ($r=0,897$). Пенообразующая способность БК взаимосвязана с количеством ФККиП и элементами вторичной структуры белков: чем больше в муке ФККиП, параллельной β -структуры, и всех видов антипараллельных 3_{10} -спиралей, тем показатель выше;

- математическая модель для регулирования оптимальных параметров биоконверсии сыворотки и целесообразность трансформации ВПП (сыворотка, нерастворимый остаток) с симбиозом дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* 121 и гриба *Geotrichum candidum* 977 в биологически полноценные КД с усвоением глюкозы, ксилозы, арабинозы, галактозы.

Теоретическая и практическая значимость:

Результаты закономерностей процессов впервые использованы для разработки биотехнологии пищевых белковых концентратов из гороховой муки с ФП без использования щелочи и биоконверсии ВПП в кормовые дрожжи.

Методами математической обработки данных определены оптимальные параметры растворимости белков: температура, концентрация ФП, гидромодуль, мощность ультразвукового воздействия (УЗВ), амплитуда волны, продолжительность; дозировка лактата кальция и мТГ с выходом до 74,79 % от содержания в сырье и массовой доли белка в препарате – 74,40–83,22 %.

Определены параметры выхода дрожжей *S. cerevisiae* 121 и гриба *G. candidum* 977: температура, рН, количество посевного материала с массовой долей белка в биомассе из сыворотки 61,68±0,47 %, из сыворотки с нерастворимым остатком – 51,43±3,76 %.

Использование КД в новой рецептуре для кормления цыплят-бройлеров кросса «Росс 308» апробировано в НВЦ «Новые биотехнологии», г. Волгоград (Приложение 1); осуществлена проверка их безопасности на крысах линии «Wistar» – в виварии «ФИЦ «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН. Технологические процессы получения БК апробированы в ООО «Биопрогресс» –ВНИТИ биологической промышленности», пос. Биокомбината, Московская обл. (Приложение 2), а культивирование штаммов дрожжей родов *S. cerevisiae* 121 и *G. candidum* 977 на ВПП – в ЦКП «ФИЦ «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН (Приложение 3).

Разработана нормативная документация (ТИ – Приложение 4, ТУ на пищевой белковый концентрат – Приложение 5, на кормовые дрожжи – Приложение 6), рецептура нового кисломолочного продукта с гороховым БК и рецепт комбикорма для кур-бройлеров с КД. Рассчитана ориентировочная экономическая эффективность комплексной переработки гороховой муки на БК и КД (Приложение 7). Получен патент «Способ получения кормового концентрата» RU № 2791226 от 06.03.2023 г (Приложение 8). Проведены совместные испытания с ООО «Уралхим Инновация» для отработки технологии получения БК (в соответствии с Сертификатом конкурса от 02.12.2021 г – Приложение 8).

Методология и методы исследования. В основе использованы научно-практические основы российских и зарубежных ученых для дальнейшего

развития биотехнологий комплексной переработки зернобобового сырья в биологически полноценные БК. Используются стандартные и специальные методы анализа: хроматографические (углеводный, аминокислотный, жирнокислотный составы), кругового дихроизма, электрофореза, функциональных свойств белков, перевариваемости, токсичности, математические методы планирования и обработки данных; результаты получены на современном оборудовании.

Основные положения, выносимые на защиту:

- биокаталитический способ получения из гороховой муки биологически ценных БК пищевого назначения с ФП без использования щелочи;
- кислотно-гидролитический способ подготовки ВПП (нерастворимого остатка, сыворотки) для их биоконверсии;
- биоконверсионный способ получения кормовых дрожжей из ВПП гороховой муки с *S. cerevisiae* 121 и *G. candidum* 977;
- химические и физико-химические характеристики биологически полноценных БК комплексной биотехнологии и их использование на конкретных примерах.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности.

Диссертация соответствует пунктам 1, 5, 6, 8, 10, 15, 16, 21, 25, 26, 29, 30 Паспорта специальности 4.3.5 «Биотехнология продуктов питания и биологически активных веществ».

Степень достоверности результатов подтверждается использованием современных физико-химических, биохимических, микробиологических методов анализа, актами получения горохового белка в ООО «Биопрогресс» – ФГБНУ «ВНИТИ биологической промышленности», по совместному культивированию *S. cerevisiae* 121 и *G. candidum* 977 ВПП гороховой муки в ЦКП «ФИЦ «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН и кормления цыплят-бройлеров в виварии НВЦ «Новые биотехнологии». Анализы проведены в ВНИИК и лабораториях институтов: микробиологии им. С.Н. Виноградского и биохимии им. А.Н. Баха «ФИЦ «Фундаментальные основы

биотехнологии» РАН, Поволжского НИИ производства и переработки мясомолочной продукции, «ФИЦ питания, биотехнологии и безопасности пищи», «ФНЦ пищевых систем им. В.М. Горбатова» РАН. Результаты экспериментов представлены как средние при 3–5-кратной повторности. Используются методы математической статистики и программы TableCurve 2D 5.1, TableCurve 3D 4.0, Mathematica 10.3 и Statistica 10 с определением доверительного интервала среднего арифметического для $p = 0,05$.

Личный вклад диссертанта заключается в сборе и анализе литературных данных, планировании и выполнении эксперимента, обобщении результатов и представлении их в виде докладов и научных публикаций в стране и за рубежом.

Апробация результатов. Результаты доложены в виде устных докладов и обсуждены на: XII Международной научно-практической конференции «Интенсификация пищевых производств: от идеи к практике» (п. Красково, 2018 г., Диплом); XIII Международной научно-практической конференции «Перспективные исследования и новые подходы к производству и переработке сельскохозяйственного сырья и продуктов питания» (г. Углич, 2019 г., Диплом); IX Международном научно-практическом симпозиуме «Перспективные ферментные препараты и биотехнологические процессы в технологиях продуктов питания и кормов» (г. Москва, 2019 г.); Международной конференции GEOLINKS Conference International Conference on Geo Sciences (г. Афины, Греция, 2019 г. – Сертификат); Форуме «ПротеинТек-2020» (г. Москва, 2020 г.); Международном смотре-конкурсе лучших инновационных разработок (AGRITECH III-2020, Красноярск–Волгоград – Диплом 1 ст.), Международной конференции GEOLINKS Conference International Conference on Geo Sciences (г. Пловдив, Болгария, 2021 г. – Сертификат); XIV Международной научно-практической конференции «Современные пищевые тенденции глазами молодых ученых: перспективы, инновации и прогрессивные технологии» (г. Санкт-Петербург, 2021 г. – Приз за лучшую научную работу); Международной научно-исследовательской конференции по достижениям в биологической

науке и технологии (Барнаул, 2021–2022 –Сертификаты), «Роговские чтения–2022» (г. Москва); VII Международной научной конференции «Современное состояние, проблемы и перспективы развития аграрной науки» (г. Симферополь, 2020–2022) и др.

Публикации материалов исследований. По материалам диссертации опубликована 31 статья, в том числе 9 – в журналах, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ, 11 – в журналах и сборниках международных баз WoS и Scopus, 11 – в сборниках научных трудов, материалов конференций.

Объем и структура работы. Диссертация включает введение, 3 главы, заключение, список литературы, 8 приложений. Основной текст работы изложен на 136 страницах, содержит 40 таблиц и 31 рисунок. Список литературы включает 253 источника, из них 147 – иностранных.

ГЛАВА 1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Современные проблемы переработки зернобобовых культур с получением различных видов белковых продуктов

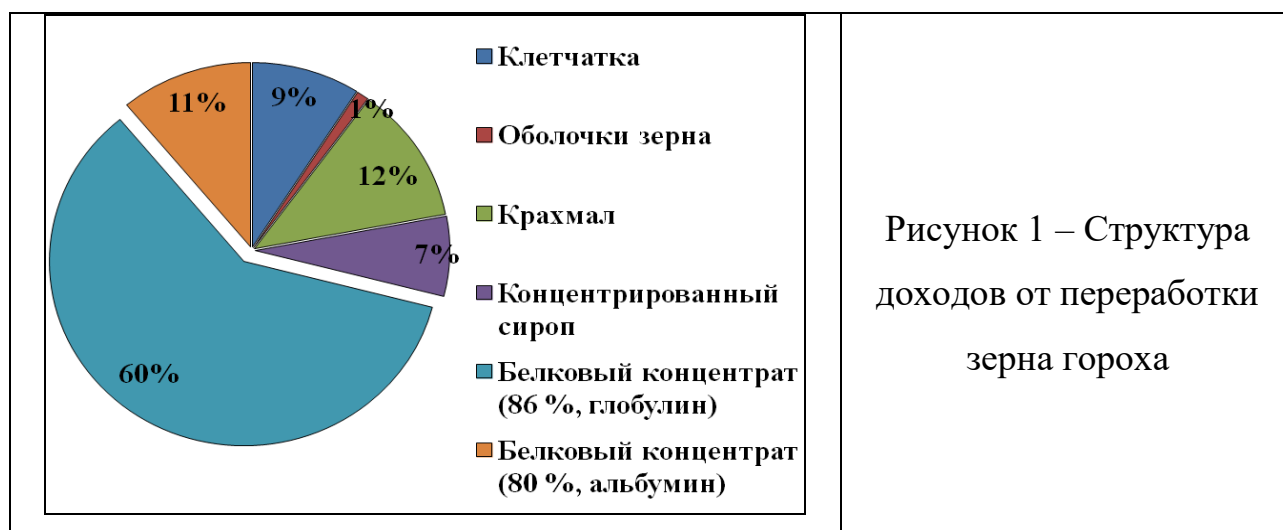
По оценкам экспертов, потребность в животном белке в России достигает 2,9 млн. т., из которых около 1,9 млн. т. – отечественные ресурсы, 0,45 млн. т. – импортные, остальные – дефицит [1]. В структуре импорта пищевых продуктов 25 % от их стоимости занимает продукция мясной и молочной промышленности, импортируется около 25 % мяса, мясопродуктов, рыбы, рыбопродуктов, более 20 % молока и молокопродуктов. Зерновые культуры содержат несбалансированные по составу белки (лизин, треонин, триптофан), поэтому целесообразно решать задачи повышением качества белковых продуктов через технологии альтернативных полноценных источников их белка. К таким задачам относится разработка технологий глубокой переработки зернобобового сырья биотехнологическими и другими способами [1].

Бобовые культуры издавна используются в рационе людей, включая тех, которые, по тем или иным причинам, не употребляют мясо [2]. Особый интерес для создания технологий белковых концентратов (БК), муки, изолятов и побочных продуктов вызывает традиционная культура – горох [2, 3]. По данным [1], расход воды на производство 1 кг гороха составляет 1 л, что в пять раз меньше, чем для сои, в 11 раз – для курятины и в 43 раза – говядины. При этом выбросов CO₂ в 2,5 раза меньше, чем при производстве продуктов, например, из сои. Гороховый белок является популярным, благодаря статусу «без ГМО», из-за отсутствия гипоаллергенности и, наоборот, – экологичности, производство которого осуществляется без обезжиривания сырья гексаном.

Желтый горох содержит меньше ингибиторов трипсина, по сравнению с соей, благодаря чему имеет и лучшую усвояемость [4]. Растения гороха переносят низкие температуры во время роста, их выращивание является альтернативой для регионов, не пригодных для выращивания сои. Горох выращивается в 84 странах, составляя 36 % от общего объема производства

зернобобовых с демонстрацией непрерывного роста в последние 30 лет [5].

В последнее время возрос интерес и к другой зернобобовой культуре – нуту. В условиях повторяющейся засухи и глобального потепления, стойкая к жаркому климату, данная культура также представляет интерес из-за высокого содержания белка (18,89–28,75 %) [2, 6-9]. Бобовые культуры имеют глубокую корневую систему, способность фиксировать азот, синтезировать достаточное количество белка [10]. Но гороху принадлежит более высокий удельный вес в структуре валового сбора зернобобовых культур (77 %), с ежегодным темпом роста мирового производства из него белка 15 %. По прогнозам к 2025 году его производство достигнет 680 тыс. т [1]. По данным бюро «Авиган» при переработке зерна гороха на долю производства белковых продуктов приходится более 70 % доходов (Рисунок 1). Выработка белковых продуктов из такого сырья по отечественным технологиям позволяет исключить их импорт.



Большая часть известных технологий белковых продуктов предусматривает использование щелочных растворов, которые, как известно, ухудшают органолептические свойства, разрушают структуру белка с образованием новых ковалентных связей, отрицательно влияющих на здоровье человека и животных [11]. Поэтому ставится задача разработки рациональных технологий, с точки зрения биологической ценности белковых продуктов, цвета, запаха и высоких функционально-технологических свойств (ФТС).

Рост объема белковой продукции сопровождается увеличением выхода вторичных продуктов переработки (ВПП) сырья, часто инфицированных микроорганизмами и опасными для окружающей среды. Перспективным направлением устранения негативного влияния ВПП на окружающую среду, является их биологическая модификация с получением пищевых и иных продуктов [12, 13]. С учетом химического состава ВПП зернобобовых культур, базидиомицеты и дрожжи служат биорегуляторами состава питательной среды, и с помощью биосинтеза на питательной среде получают новые виды пищевых добавок и кормов с регулируемым ФТС и качеством. Биосинтетическая переработка возобновляемых ресурсов с микроорганизмами позволяет решать проблему исключения негативной нагрузки на биосферу и улучшения кормовой базы для продуктов питания и пищевых ингредиентов.

1.2 Состояние производства зернобобовых культур в России

Горох и нут – зернобобовые культуры, имеющие продовольственное и кормовое значение. По данным на 2021 г. в РФ собрано 2 940,4 тыс. тонн гороха, что на 7,3 % больше, чем в 2020 году, но на 11,8 % меньше, чем в рекордном 2017 году (Рисунок 2). Несмотря на падение роста в 2018 году, в целом по России наблюдается рост производства гороха [14].

Посевные площади гороха в 2021 году находились на уровне 1445,3 тыс. га. За год они выросли на 10,0 %, за 5 лет – на 35 %, за 10 лет – на 26 %, что свидетельствует об их стабильном росте. В 2021 году крупнейшими по размеру площадей являлись регионы, тыс. га: Ставропольский край – 358,7; Ростовская область – 255,8; Краснодарский край – 244; Омская область – 170,5; Алтайский край – 164,6. Это составило, соответственно, 12,2 %; 8,7 %; 8,3 %; 5,8 %; 5,6 % от общего количества земель. Средняя урожайность гороха в 2021 году составила 21,8 ц/га, в 2017 году – 25,3 ц/га, в 2013 году – 16,8 ц/га, в 2008 году – 19,8 ц/га, в 2001 году – 19,7 ц/га. Среднегодовая урожайность гороха в России в 1991-2000 гг. достигала 11,5 ц/га, в 2001-2010 гг. – 16,7 ц/га, в 2011-2020 гг. – 18,6 ц/га. Следовательно, наблюдается стабильный рост урожайности гороха в

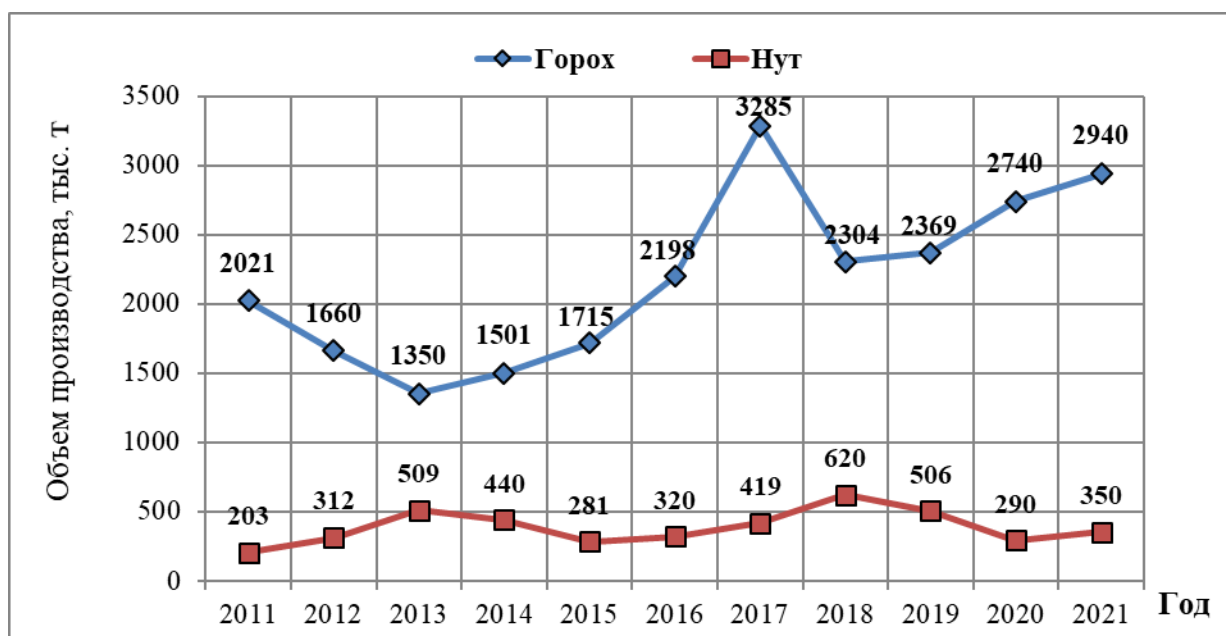


Рисунок 2 – Динамика производства гороха и нута в России

России. Наибольшая среднегодовая урожайность гороха в 2018 году отмечена в Орловской (30,8 ц/га), Тамбовской (21,3 ц/га), Новосибирской (19,2 ц/га) областях, Краснодарском (21,1 ц/га), Алтайском (17,8 ц/га) краях, Республике Башкортостан (16,3 ц/га) [14].

Производство нута в 2021 году в России находилось на уровне 350 тыс. т. Это больше на 20,7 % (на 60 тыс. т), чем в 2020 году, но меньше, по сравнению с рекордным 2018 годом, на 77,1 % (Рисунок 2). Несмотря на некоторые колебания в сторону уменьшения, среднегодовой урожай нута также имеет тенденцию к росту [15]. Посевные площади нута в 2018 году составили 851,2 тыс. га. За год они выросли на 71,6 % (на 355,2 тыс. га), за 5 лет – на 26,5 % (на 178,1 тыс. га). Крупнейшими регионами по размеру площадей нута в 2018 году являлись, тыс. га: Саратовская область – 266,6; Волгоградская – 191,3; Оренбургская – 114,6; Самарская – 88,5; Ростовская – 74,1, что составляло, соответственно, %: 31,3; 22,5; 13,5; 10,4; 8,7 от общей площади посевов нута. Средняя урожайность нута в России в 2018 году составила 7,6 ц/га убранной площади, что на 17,4 % меньше, чем в 2017 году. По отношению к 5-летней давности, урожайность нута снизилась на 3,4 %, что свидетельствовало о некоторых проблемах в выращивании зерна или почвенно-климатических

условиях. Среди регионов наибольшая среднегодовая урожайность нута в 2018 году отмечена в Воронежской (13,1 ц/га), Белгородской (11,7 ц/га), Самарской (10,5 ц/га) областях, Краснодарском крае (10,4 ц/га) [16]. В целом же, данные свидетельствуют о достаточной суммарной сырьевой базе зернобобовых культур (2,9–3,7 млн. т в год) для организации в РФ производства белковых препаратов различных форм, состава и назначений.

В 2021 году компанией «Уралхим» с Фондом «Сколково» проведен конкурс «Pea Challenge» по переработке гороха в направлениях селекции, модификации белков, утилизации ВПП, производстве продуктов питания. В конкурсе выиграла заявка ВНИИ крахмала и переработки крахмалсодержащего сырья с биоконверсией ВПП гороховой муки в БК повышенной ценности. Установка перерабатывает 200 кг/ч муки с получением до 30 т изолята в год [17]. Первый же завод по переработке 40 тыс. т гороха, нута, сои, люпина в год запущен в г. Тольятти (Самарская обл.) компанией «Евро Технологии» в 2018 г [18]. Запуск предприятий и опытных установок продолжается.

1.3 Пищевая ценность и медико-биологические аспекты использования зернобобовых культур и продуктов их переработки

Химический состав гороха, % на сухое вещество (СВ), по данным Шелепиной Н.В. и др. [19], следующий: белок – 23,33...28,12; зола – 2,73...3,35; жир – 1,63...2,48; углеводы – 50,3...68,9; нута, в % на СВ: белок – 22,19...32,3; зола – 2,76...3,60; жир – 4,1...7,2; углеводы – 20,0...70,0 [20].

Различия в содержании белка в культурах связаны с различиями в генотипах, фенотипических факторах, применении удобрений во время роста и развития растений. Гороховый белок становится все более популярным в мировой пищевой промышленности благодаря своей доступности, низкой стоимости, питательной ценности и пользе для здоровья. Разрабатываются и вводятся новые линии гороха с содержанием белка 28–30 % с ранними сроками созревания, крупными семенами, хорошей устойчивостью к болезням [5]. Зернобобовые культуры обладают большим потенциалом сглаживания

недостатка белка с дефицитными незаменимыми аминокислотами (НАК). В отличие от зерновых, белок зернобобовых культур содержит повышенное количество треонина, изолейцина, лейцина, валина, фенилаланина, лизина, триптофана [6]. Среди них важную роль играет лизин, содержание которого в гороховом белке около 7 г в 100 г продукта, а в нутовом – более 7 г в 100 г. Нут также является привлекательным сырьем для производства белковых препаратов, биологическая ценность последнего иногда превышает ценность гороха (Таблица 1). Дефицитными НАК являются серосодержащие аминокислоты и валин, если учитывать состав эталонного белка, опубликованного в документах ФАО/ВОЗ в 1973 г. [21] и практически отсутствие дефицита по данным состава эталонного белка, предложенного ФАО в 2011 г [22].

Таблица 1 – Массовая доля НАК в гороховом, нутовом, эталонном белках (г/100 г) и скор НАК, %

НАК	Эталонный белок [21] (1973 г.)	Гороховый белок [23]	Нутовый белок [24]	Скор НАК белка, % 1973 г		Эталонный белок [22] (2011 г.)	Скор НАК белка, % 2011 г	
				горохового [23]	нутового [24]		горохового [23]	нутового [24]
Trp	1,0	0,94	0,94	94	94	0,7	134	134
Thr	4,0	3,59	3,95	89	98	2,5	144	158
Pe	4,0	3,33	4,14	83	103	3,0	111	138
Leu	7,0	6,58	6,58	94	94	6,1	108	108
Lys	5,5	6,84	7,62	124	138	4,8	143	159
Met+ Cys	3,5	2,58	3,12	73	89	2,3	112	136
Phe+ Tyr	6,0	7,35	7,58	122	126	4,1	179	185
Val	5,0	3,89	4,06	77	81	4,0	97	102
His	-	2,30	1,94	-	-	1,6	144	121

Фракционный состав белков гороха у различных сортов следующий: альбумины – 8...21,5 %, глобулины – 58.6...76,6 %, глютелины – 10.0...19,8 % [23]. Спирторастворимые проламины и нерастворимые склеропротеины белков входят в состав зерна гороха в незначительных количествах [25]. Глобулины являются основными запасными белками зернобобовых культур, они диссоциируют на субъединицы при экстремальных значениях рН и ионной силы. На основании коэффициентов седиментации глобулины делятся на два типа (11S легумин и 7S вицилин). Белки нута, к примеру, до 97 % представлены

глобулинами с шестью компонентами легумина, вицилина и альбуминами [9, 24, 26]. Отношение легумина к вицилину в бобовых близко к 2:1, последний содержит меньше серосодержащих аминокислот. Различия на единицу белка в составе и структуре между легумином и вицилином проявляются как в питательных, так и в функциональных свойствах, зависящих от их ассоциации-диссоциации и свойств поверхностных структур.

Легумин (11S) – гексамерный белок с молекулярной массой (ММ) 320–400 кДа из шести субъединиц. Каждая субъединица состоит из полипептидов с ММ 40 кДа (кислые) и 20 кДа (основные), соединенные дисульфидными связями (–S–S–). α - и β - Цепи легумина также связаны –S–S– мостиками, гидрофильные α -цепи расположены на поверхности молекулы, а гидрофобные участки скрыты внутри, что сводит к минимуму их контакт с водой [27].

Вицилин (7S) – это тримерные белки (150-180 кДа), включающие конвицилин полиморфного типа (7S с ММ 70 кДа и 8S с 180–210 кДа). Вицилин не содержит –S–S– связи из-за отсутствия остатков цистеина. Субъединица вицилина (50 кДа) гликозилирована, имеет более чувствительную гидрофильную поверхность, чем легумин, и расщепляется на низкомолекулярные фрагменты. Субъединица конвицилина (70 кДа) содержит заряженную N-концевую область и не расщепляется *in vivo*. Вицилин, в отличие от конвицилина, содержит аминокислоту цистеин.

Альбумин (2S) растворим в воде и является метаболическим и ферментативным белком с цитозольной функцией. Компоненты альбумина имеют низкую молекулярную массу (5–80 кДа) и более высокое содержание цистеина, метионина, чем глобулины [27]. Охарактеризованы два альбумина гороха с малой ММ (РА1а и РА1b), первый имеет 53 аминокислоты (ММ 6 кДа), а второй – 37 аминокислот с ММ 4 кДа. Соотношение между глобулином и альбумином в белках гороха может изменяться из-за различных генотипов и/или методов обработки, влияющих на их физико-химические свойства.

Альбумин гороха содержит биоактивные компоненты, в том числе ингибитор Боумена-Бирка, который может проявлять противовоспалительные

свойства в желудочно-кишечном тракте человека. Значительное количество данного ингибитора не переваривается в желудке и достигает толстой кишки. При исследовании профилактического эффекта экстрактов альбумина гороха при колите, вызванном декстрансульфатом натрия у мышей, обнаружено, что белок способен облегчать течение колита. У мышей, получавших экстракты белка гороха, в плазме увеличивалось количество антител IgG2, что указывало на целесообразность их использования при иммунотерапии для снижения степени аллергии, вызванной, например, арахисом [28].

В семенах гороха проламины присутствуют в небольших количествах. Они характеризуется высоким содержанием глутамина, пролина, растворяются в спиртовых растворах (70–80 %), слабокислых, щелочных растворах. Проламины не коагулируют при нагревании, но могут гидролизоваться с образованием пролина и аммиака. В небольших количествах в семенах гороха присутствуют и глютелины, которые богаты гидрофобными аминокислотами (фенилаланин, валин, тирозин, пролин).

Легумин, вицилин, конвицилин гороха различаются по аминокислотным профилям. Глобулины содержат много аргинина, фенилаланина, лейцина, изолейцина, альбумины – триптофана, лизина, треонина, что отражается на различиях в питательной ценности и свойствах белковых продуктов [5]. Белковые препараты из гороха необходимы для роста мышц и популярны в питании людей с высокой физической нагрузкой [1].

Наряду с питательными белками, в состав зернобобовых культур входят антиалиментарные вещества – ингибиторы протеаз, лектины, понижающие ценность белковых продуктов [26, 29]. Ингибиторы протеаз подавляют действие ферментов желудочно-кишечного тракта (трипсин, химотрипсин и др.). Лектины способны вызывать агглютинацию (склеивание) эритроцитов крови, клеток, бактерий путем их связывания с углеводными компонентами. Поэтому в технологии производства белковых продуктов из зернобобовых культур требуется использование приемов, соблюдающих санитарно-гигиенические требования по снижению активности антипитательных веществ

в готовой продукции. Активность ингибиторов протеаз достигается обработкой паром, вымачиванием, кипячением, другими методами. Условия инактивации лектинов являются более мягкими, чем ингибиторов протеаз – нагревание при 80 °С [25]. Известно, что зерна гороха содержат антипитательных веществ значительно ниже, чем другие зернобобовые культуры. Так, в горохе, по сравнению с соей, полностью или практически отсутствуют, соответственно: ингибитор трипсина (0,20–0,45 и 11,2–38,0 мг/г), ингибитор химотрипсина (0,0 и 15,10 мг/г), ингибитор пепсина (0,0 и 4,32–9,12 мг/г). Активность уреазы в зерне гороха также значительно ниже – 0,0–0,12 ед. рН, тогда как в сое – 2,20–2,23 ед. рН [30–32].

Зернобобовые культуры являются источником как биологически ценных белков, так и липидов, пищевых волокон, антиоксидантов, витаминов Е, В₁, В₆, РР, макро-, микроэлементов [3, 8, 33]. Медико-биологические аспекты использования белков с таким составом в пище заключаются в улучшении кровоснабжения, снижении риска сердечно-сосудистых, онкологических заболеваний [34, 35]. Лизин этих культур необходим для выработки коллагена и карнитина, играющих важную роль в «сжигании» жира [3, 12, 33]. В сочетании с пектином и овсяными волокнами гороховый белок снижает холестерин и липопротеины низкой плотности [25].

Антиоксиданты усиливают иммунитет, выводят из организма токсины, защищают мозг от старения [33–35]. Белковые гидролизаты, например, нута из-за высокого содержания гидрофобных аминокислот (38,94 %) и гидрофобности (125,62 ккал/моль) проявляли сильную антиоксидантную активность [27]. Экстракты и низкомолекулярные фракции фенолов и танинов из зерна гороха и нута также обладают антиоксидантной активностью. Они проявляют желчегонные, гипогликемические, гипоазотермические, антивирусные и противоопухолевые свойства. Ситостерины бобовых образуют нерастворимые комплексы, снижающие риск развития сердечно-сосудистых и онкологических заболеваний. Сапонины обладают тонизирующим эффектом, положительно влияя на метаболизм липидов, улучшают половую функцию, сперматогенезис,

повышают иммунитет и понижают давление крови [36–38].

В фармацевтической промышленности зернобобовые культуры используются для получения лечебно-профилактических препаратов, содержащих фитостероиды, лектины, ингибиторы протеиназ. Они используются в небольших количествах и получают их до выделения белковых продуктов. Лектины, гемагглютинины, ингибиторы ферментов, в определенных количествах, снижают уровень глюкозы в крови и тормозят процессы ожирения [27]. Ингибиторы протеиназ угнетают пролиферацию раковых клеток в культуре *in vitro* [36]. С другой стороны, присутствие ингибиторов в препаратах регламентируется из-за отрицательного воздействия их на работу желудочно-кишечного тракта.

Гороховые белки меньше, чем соевые, содержат аллергены и рекомендуются для диетического питания людей, страдающих ожирением [9, 26]. Описаны аллергены гороха: Pis s1 (вицилин 50 кДа), Pis s2 (конвицилин 64 кДа), Pis s5 (профилин), Pis s6 (белок PR10 17 кДа), альбумин Pis s (26 кДа) и агглютинин с ММ 30 кДа [5, 39]. Основным аллергеном гороха (Pis s1) на 60–65 % имеет одинаковую последовательность с аллергеном Ara h1 арахиса. Сходство глицининов у гороха с арахисом и соей составляет 62–72 %. Горох имеет перекрестную реактивность с нуттом, чечевицей, лимской фасолью и др. Аллерген Pis 1 из гороха имеет общие эпитопы, которые ответственны за перекрестную реактивность, с аллергеном Len s 1 из чечевицы и Ara h 1 из арахиса.

Аллергенность, индуцированная различными белками бобовых, демонстрирует высокую степень иммунологической перекрестной реактивности. Но известна также и низкая перекрестная реактивность между глобулинами гороха и белками арахиса, что позволяет предположить, что глобулины гороха потенциально могут применяться в иммунотерапии аллергии на арахис. Проращивание зерна в течение 3 суток при 20 °С снижает аллергическую реактивность у гороха до 70 %, а при удалении семядолей – до 99,8 %. Отсюда, проращивание семян и удаление семядолей может быть одним

из подходов к производству продуктов из гороха для людей, страдающих пищевой аллергией [39].

Знание описанных выше особенностей химического и биохимического состава зерна гороха и нута, значения их для здоровья людей является обязательным условием при разработке новых биотехнологий белковых продуктов с целью расширения ассортимента продуктов питания массового, функционального, специального или диетического назначения. Появляется и возможность получения отдельных ингредиентов как биологически активных добавок, включая и кормовые [25].

1.4 Технологические процессы и биотехнологические способы производства белковых продуктов из зернобобовых культур

Процессы производства белковых продуктов (мука, изоляты, концентраты) разделяют на «сухие» и «жидкостные». «Сухие» процессы включают помолы и воздушную сепарацию разделения частиц зерен бобовых культур по размеру и плотности на две фракции: легкую (белковая) и тяжелую (крахмальную). Легкая (мелкая) фракция является белковым концентратом, тяжелая (крупнодисперсная) – крахмалосодержащей фракцией. После фракционирования крахмальную фракцию повторно сепарируют и получают вторую белковую и более «очищенную» крахмальную фракцию. Эффективность отделения белка от крахмала определяется содержанием его во фракциях, выраженного в процентах от общего содержания белка в сырье [25, 40]. При сухих методах сохраняется функциональность белков, требуется меньше энергии, не используется вода, но отмечается низкий выход белков (40...75 %) [41]. Во ВНИИ крахмала и переработки крахмалсодержащего сырья пневмокласификацией гороховую муку разделили на белковую фракцию с массовой долей белка 60–40 % и выходом 8,5–9,5 %, крахмальную – с массовой долей полисахарида 68,5–71,1 % и выходом 90,5–91,5 % [42].

Концентраты и изоляты, полученные жидкостными методами, содержат массовую долю белка 70–90 % и выше. Растворимость белков зависит от

химической природы растворителя, рН, ионной силы, температуры, размера частиц, отношения растворителя к массе белков и/или к массе сырья. Предпочтительными являются способы извлечения с максимальным выходом белков, без потери функциональности и биологической ценности [25, 33, 43].

Жидкостные методы подразделяются на кислотные, щелочные, солевые, фильтрационные, ферментативные. Одной их первых в 1820 г. зарегистрирована кислотная обработка. Для коммерциализации процессов потребовалось несколько десятилетий, и сегодня в данном способе используется соляная, серная кислоты, но, преимущественно, – для получения гидролизатов белков как усилителей вкуса. Часть белковых продуктов получают с кислотами после обработки ферментными препаратами, с удалением соли нанофильтрацией или с помощью ионообменных смол [25, 42].

При кислотной обработке незаменимые аминокислоты (триптофан, метионин, цистин, цистеин) могут разрушаться, а глутамин и аспарагин – превращаться в глутаминовую, аспарагиновую кислоты, соответственно. При этом возможен частичный гидролиз белков до аминокислот или пептидов.

В процессе щелочного выделения белков продукты помола зерна обрабатывают растворами гидроксидов металлов (рН 9–11), после чего сепарацией отделяют нерастворимые вещества, осаждают белки в изоэлектрической точке, центрифугируют [25]. Щелочная обработка белка может окислять полифенолы, в частности хлорогеновую кислоту с превращением ее в о-хиноны или другие о-дигидроксистеруктуры. Такие соединения образуют ковалентные связи с тиоловыми ($-SH$) или аминогруппами ($-NH_2$) белков, а также нековалентные связи (водородные) при низком рН и осаждении в изоэлектрической точке. Комплексы придают белковой муке и изолятам коричневый цвет и/или горький вкус [9].

Чем выше рН щелочной обработки, тем больше белковые молекулы сырья денатурируются с уменьшением процентного содержания β -структуры [44] и отражением на свойствах продукта. Предварительно белки иногда солубилизируют нагреванием при температуре 27–55°C. Обработку

продолжают в течение нескольких часов, продукт выпаривают, пастеризуют и сушат распылением [45]. Несмотря на то, что некоторые аминокислоты (серин, лизин, треонин) могут разрушаться из-за их рацемизации, усвояемость белка снижается, все же концентраты с содержанием белка более 70 % или изоляты с 90–95 % белка и выходом 60–80 %, полученные с применением щелочи, часто используются в промышленности [25]. Однако сегодня продолжается некоторое совершенствование процессов обработки и улучшения свойств белков путем замены растворов щелочи другими агентами, в частности ферментами, или другими приемами [33].

К способам совершенствования технологий относят солевую обработку с отделением глобулинов от альбуминов. Белки растворяли в водном растворе 0,3–0,5 моль/дм³ NaCl при нейтральном pH, осаждали их либо разбавлением водой для понижения ионной силы, либо удаляли соль диализом [25]. Однако продукты, полученные щелочной обработкой, из зерна гороха и нута, имели более высокую массовую долю белка (85,4–88,8 %), по сравнению с теми, которые получали солевой обработкой (81,1–81,6 %) [46]. В то же время, другие авторы [9] показали, что обработка сульфитом натрия зерна двух сортов нута обеспечила более высокую массовую долю белков в изолятах, по сравнению с щелочной и спиртовой обработкой (96,3–98,6 %, против 91,5–94,9 %).

Эффективным методом выделения (осаждения) белков является фильтрация на мембранах с давлением в качестве движущей силы разделения. Микрофильтрацию использовали для отделения макромолекул размером более 0,1 мкм, ультрафильтрацию – для частиц 0,001–0,02 мкм. После щелочной или кислотной обработки для повышения количества извлеченного белка часто используют оба метода [47]. Осажденные белковые продукты могут отличаться более высокими функциональными свойствами и меньшим количеством антипитательных веществ, по сравнению с теми, которые выделены в изоэлектрической точке. Метод ультрафильтрации обеспечивал и несколько более высокую массовую долю белка в продукте – 83,9 %, против 81,7 % [25].

Термическая обработка, изменение рН, ионной силы, соли, детергенты изменяют структуру белков. Нагревание может привести к разупорядочению вторичной структуры белков за счет воздействия на дисульфидные и водородные связи. Вторичная структура белков бобовых культур включает β -структуры и β -изгибы; α -спирали присутствуют в меньшем количестве. Бобовые белки с относительно более высоким содержанием β -структур (параллельные, антипараллельные складки, изгибы) термически более стабильные и белки денатурируются при более высоких температурах, по сравнению с белками, содержащими больше α -спиралей. Преобладание β -структур во вторичной структуре снижает усвояемость бобовых белков, так как ограничивается доступ к ним протеолитических ферментов [27].

В кислой среде (рН 3–5) уменьшалось содержание регулярной и нерегулярной α -спиралей вицилинов, в то время как экстремально щелочные условия (рН 9–11) уменьшали количество в них α -спиралей и β -структур. В присутствии солей (хлорид натрия, бромид натрия, йодид натрия, тиоцианат натрия) структура белка переходила от упорядоченной к неупорядоченной, на что указывает меньшее содержание β -структуры и большее – нерегулярных спиралей [27].

Одним из современных способов перевода белков в раствор является ферментация, без термической обработки, кислот и щелочей. Бактериальные, грибные протеазы облегчают отделение полипептидов с разной молекулярной массой от компонентов, с ними взаимосвязанных (клетчатка, гемицеллюлозы, т.д.); выход белков при этом повышается. Ферментация уменьшает и антипитательные вещества в белках и поглощение органическими кислотами минералов с образованием комплексов. Комплексы делают минеральные вещества не доступными для взаимодействия с фитатами [45].

Протеазы, полученные из животных, растений, микроорганизмов, часто используют для получения гидролизатов белков. Доказана способность горохового белка поглощать радикалы кислорода и образовывать антиоксидантные пептиды с применением протеазы Alcalase 2.4 L [48]. Условия

гидролиза более мягкие, ферменты более специфичные, чем химические агенты, поэтому производители могут контролировать степень гидролиза и адаптировать продукцию для конечных потребителей. Протеолиз может быть достигнут с помощью одной ферментативной реакции или ряда последовательных реакций с несколькими ферментами различного действия. Выбор фермента зависит от целей производителя и от природы белков. Например, если белки имеют большое количество гидрофобных аминокислот, то фермент расщепляет связи с остатками таких аминокислот, а если большое количество гидрофильных, тогда фермент расщепляет пептидную связь, образованную гидрофильными аминокислотами [45, 49].

Биотехнологические способы выделения белковых препаратов с ФП более эффективные, чем кислотные, щелочные, и с точки зрения сохранения аминокислотного состава и регулирования функциональных свойств. За счет специфичности ФП можно регулировать как одно, так и несколько ФТС, в зависимости от направления использования белковых препаратов.

Важно отметить, что сведений об использовании гидролаз (протеазы, карбогидразы, эстеразы) и ферментов других классов при разработке биотехнологий белков из зернобобовых культур для получения высокого выхода, надлежащих функциональных свойств и биологической ценности, недостаточно. Поэтому дальнейшая разработка безопасных, эффективных технологий белковых продуктов с применением различных видов ферментных препаратов является актуальной.

1.5 Функциональные свойства нативных и модифицированных белковых продуктов из зернобобовых культур

Под *функциональными свойствами* белковых продуктов понимают физико-химические показатели: растворимость, жирозэмульгирующая, водо-, жиросвязывающая способность, пенообразование, стабильность пены, гелеобразование, способность к текстурированию и т.д. *Свойства нативных и модифицированных белковых продуктов*, оказывают влияние на показатели

качества продукции и определяют ее конкурентоспособность. Функциональные свойства белков разных культур различаются из-за особенностей свойств, структуры белков сырья и способов их обработки (температура, рН, ионная сила и т.д.) [26, 43, 50–53].

Растворимость белка играет важную роль в различных пищевых системах, и от нее, как правило, зависят другие функциональные свойства. Она варьируется от 20 % для коммерческих изолятов и до 90 % для лабораторных образцов. Более низкая растворимость продуктов взаимосвязана с температурной денатурацией или агрегацией во время распылительной или другого вида сушки. В целом же, свойство определяется балансом гидрофильных и гидрофобных остатков аминокислот в их структуре. Гидрофобные участки, как правило, препятствуют растворимости, гидрофильные, как и заряд на их поверхности (дзета-потенциал), напротив, повышают растворимость [27]. Гидрофобные группы белков могут освобождаться при растворении и осаждении, что приводит к усилению в них взаимодействий и понижению растворимости.

Кроме поверхностного заряда, растворимость гороховых белков зависит от рН, типа и концентрации солей. Растворимость в кислых и щелочных средах повышается, около изоэлектрической точки она понижается (рН 4–5) [5]. Исследование пяти бобовых культур (горох, нут, соя фасоль, чечевица,) показало более высокую растворимость белков, полученных щелочной обработкой (85,9 %), по сравнению с теми, которые получали солевой обработкой (61,5 %). При щелочной обработке самую низкую растворимость имел изолят фасоли (61,4 %), самую высокую – изолят сои (96,5 %), изоляты гороха, чечевицы, нута имели промежуточное значение (более 90,0 %) [25].

Низкую растворимость белковые изоляты имели при жестких условиях обработки (высокая температура сушки, отбеливание продукта спиртом) [54–57]. Обработка паром улучшала растворимость, эмульгирование, пенообразование, гелеобразование белков и их смесей. Возможно, что при этом изменялось соотношение $-S-S-$ связей и $-SH-$ групп и синтезировались

сшитые композитные белки из двух и более источников белка [58]. Регулирование рН в сочетании с тепловой обработкой и охлаждением «разворачивало» белковые молекулы и модифицировало белки. Обработку паром с высоким давлением и регулировкой рН также использовали для создания модифицированных белков, их композитов и улучшения функциональных свойств [59].

Водосвязывающая (ВСС) и жиросвязывающая (ЖСС) способность – это способность белков связываться с водой и жиром, соответственно. Свойства необходимы для обеспечения таких качеств продукта, как текстура, органолептические свойства, срок годности. ВСС белковых продуктов из бобовых обусловлена гидрофильными полярными и заряженными боковыми цепями белков, наличием углеводов, имеющих сродство к молекулам воды [27]. Неспособность белка связывать воду может привести к хрупкости и сухости продукта [25]. Значения ВСС способности для белковых концентратов из различных зернобобовых культур (горох, фасоль, чечевица, нут) находятся в диапазоне 1,6–4,9 г/г продукта, при этом вид культуры, как и способ ее переработки, влияют на способность поглощать воду. Белки гороха и нута характеризуются высокой ВСС, как и растворимостью [43, 45].

ЖСС обусловлена взаимодействием неполярных боковых цепей аминокислот с алифатическими цепями масел/жиров [27]. Свойство зависит от вида, сорта, метода обработки культуры и находится в пределах 1,0–3,96 г/г продукта [25]. При исследовании ЖСС и ВСС белков из двух сортов нута, полученных щелочной, спиртовой и солевой обработкой, установлено, что меньшая способность связывать масло, но наибольшая их ВСС, наблюдалась у изолятов, выделенных с использованием соли [9].

Белки обладают жироземмульгирующей способностью (ЖЭС), формируя эмульсионную систему с уменьшением межфазного натяжения и предотвращением коалесценции жира, благодаря способности адсорбироваться на поверхности раздела и образовывать эластичные слои вокруг капель масла. Эмульсия, характеризующаяся как дисперсия/суспензия несмешивающихся

жидкостей масло/жир и воды, термодинамически неустойчива из-за повышенного межфазного поверхностного натяжения. Белки способствуют стабильности эмульсии (СЭ) за счет увеличения вязкости непрерывной фазы и снижения скорости движения капель масла в системе. Доказана связь между поверхностной гидрофобностью, межфазным натяжением и эмульгирующими свойствами белков гороха [27]. Кроме того, как и гидрофобность, заряд на поверхности белков оказывает влияние на адсорбцию белков на поверхности раздела фаз. При этом заряд должен быть высоким, чтобы справляться с силами притяжения, приводящими к стабилизации электростатических сил отталкивания между каплями масла. В изоэлектрической точке белки имеют нулевой суммарный заряд.

Состав и молекулярная гибкость белков бобовых у разных культур различная. Из работы [27] следует, что высокой ЖЭС обладали вицилины гороха в силу их большой растворимости и гидрофобности. Стабилизирующие свойства белков в составе эмульсий как термодинамически нестабильных систем объяснили образованием вязкоупругой пленки около капель масла. Как и растворимость, эти свойства эмульсии зависели от природы белков (горох, нут, фасоль, соя, чечевица) и метода их обработки (щелочная или ультрафильтрация) [47].

Из различных форм белковых продуктов изолят имел наименьшую ЖЭС при значениях рН, близких к изоэлектрической точке, но она повышалась при значениях рН выше 7 [60]. Отношение высоты слоя эмульсии к общей высоте слоя жидкости, по которому оценивалось ЖЭС, равнялось 38–46 %, стабильность эмульсии – 43–100 %. На ЖЭС влияло как изоэлектрическое осаждение, так и солевая обработка, так как изменялось соотношение глобулин/альбумин или легумин/вицилин [46]. При ультразвуковом воздействии на эмульсию из масла культуры чиа с гороховым белком повышалась стабильность (до 7 дней) и тормозились процессы окисления [61].

Пенообразующая способность (ПОС) белков – это их способность образовывать пену. Как и эмульсии, пены имеют две несмешивающиеся фазы:

водную и газовую. Белки в растворе адсорбируются на границе раздела газ–жидкость с образованием вязкоупругой пленки, помогающей противостоять разрыву и слиянию пузырьков. Выявлена положительная связь ПОС с величиной дзета-потенциала и растворимостью белковых изолятов у различных сортов гороха [27]. Чем сильнее заряд на поверхности белков, тем выше ПОС за счет ослабления гидрофобных взаимодействий, повышения растворимости и гибкости белков. Это позволяло белкам быстро растекаться и инкапсулировать частицы воздуха по поверхности раздела фаз. Альбумины бобовых имели большую ПОС и стабильность пены (СП), по сравнению с глобулинами, которые отличались пониженной способностью переориентироваться на границе раздела фаз.

Как и для растворимости, белки зернобобовых культур (фасоль, горох, нут) имели более высокое пенообразование при кислом и щелочном рН и меньшее – около изоэлектрической точки. Для захвата пузырьков воздуха, как и капель масла, белки должны быть растворимы, чтобы они могли быстро мигрировать к границе раздела и перестраиваться для образования эластичной пленки [27].

При исследовании ПОС белковых продуктов из гороха и нута, полученных методом ультрафильтрации и щелочной обработки, обнаружено, что способность образовывать пену у концентрата гороха не зависела от метода обработки [35, 53]. При этом концентрат нута, полученный с использованием щелочи, обладал более высокой ПОС, но более низкой стабильностью пены. Пенообразующие свойства изолята гороха выше, чем у сухого обезжиренного молока, пшеничной муки, соевого изолята [62], поэтому он часто используется в качестве стабилизатора в пенных системах (безе, взбитые десерты, муссы и т.д.) [63].

Белки зернобобовых культур при концентрации 15–25 % имеют тенденцию к образованию очень вязких растворов и образованию гелей, тогда как, например, в эмульсиях из-за склонности к образованию высоковязких растворов содержание белков ограничивается 10 % [64]. Гелеобразование – это

процесс взаимодействия белков с образованием трехмерной сети молекулярных структур в системах «белок–вода», «белок–жир», «белок–белок», зависящей от концентрации, рН, температуры, ионной силы, добавок, эндогенных, экзогенных ферментов. Сорт гороха, состав белков и методы обработки влияют на гелеобразующие свойства. Температура гелеобразования бобовых белков зависит от их термической стабильности, при этом она выше температуры термической денатурации. Так, для белковых изолятов из различных сортов фасоли и гороха температура гелеобразования находилась в диапазоне 87,4–94,5 °С и 84,0–93,1 °С, а температура денатурации – 85,7–93,3 °С и 82,7–85,5 °С, соответственно. Более высокая температура гелеобразования у изолятов фасоли, чем у изолятов гороха, взаимосвязана с более высоким содержанием в нем β-структуры, большей площадью поверхности и большими межмолекулярными взаимодействиями [27].

Температура денатурации дисульфид-связанных кислых и основных субъединиц легумина гороха, в зависимости от их соотношения, равнялась 69–77 °С, тогда как температура денатурации совместно с агрегацией – 75–85 °С. При этом происходила диссоциация олигомеров легумина и их перегруппировка за счет гидрофобных взаимодействий и реакций обмена сульфгидрильными/дисульфидными связями [65]. Скорость нагревания горохового изолята не влияла на гелеобразование, скорость охлаждения, наоборот, оказывала влияние [66]. Щелочная обработка понижала гелеобразование, по сравнению с методом концентрирования белков [67]. Плотный гель горохового изолята образовался при 0,3 М NaCl и рН 4,0 [27]. Таким образом, свойства нативных белков зависят от многих факторов.

Функциональные свойства модифицированных белковых продуктов. Белки зернобобовых культур содержит реакционноспособные группы аминокислот, поэтому для них возможны реакции химической, ферментативной и физико-химической модификаций. Из химических методов известны реакции дезамидирования (удаление амидных групп глутамина, аспарагина), ацилирования аминокрупп янтарным ангидридом

(сукцинирование), ацелирование уксусным ангидридом и фосфорилирования [5, 29].

Реакции ацилирования приводят к повышению суммарного отрицательного заряда молекулы из-за ковалентного присоединения остатков янтарной и уксусной кислот к ϵ -группам остатков лизина. Степень ацилирования возрастает за счет гидроксильных групп серина, треонина, тирозина. Электростатическое отталкивание одноименно заряженных групп приводит к структурным изменениям в белках и даже распаду 11S белков на субъединицы, разворачиванию их глобулярной структуры. Благодаря изменению пространственной структуры и заряда на молекулах белков усиливаются гидрофобные свойства, следовательно, улучшаются эмульгирующие, пенообразующие свойства, изменяются растворимость и гелеобразование. Полипептиды формируют гели при меньших значениях концентрации, рН и температуры, чем нативные белковые глобулы.

Сукцинированные и ацелированные легумины образуют высокоустойчивые эмульсии «масло в воде». Стабилизации структуры геля способствуют ковалентные сшивки модифицированных белков. С возрастанием степени модификации прочность гелей уменьшается, поэтому для ацелированных белков необходима средняя степень модификации [5, 29].

Фосфолирование изолятов по гидроксигруппам серина, треонина при рН 12, температуре 70 °С и 7,0 % трифосфата натрия в смеси повышало растворимость, ЖЭС, ЖСС, ПОС и СЭ [68]. Структура модифицированного горохового изолята, по данным сканирующей электронной и инфракрасной спектроскопии, имела однородную ламеллярную структуру с повышенным содержанием α -спирали, β -структуры, меньшим количеством β -изгибов и нерегулярных спиралей. Использование данного изолята с 0,4 % ксантановой камеди уменьшало количество сливок при изготовлении тортов на 20 %.

Дезамидирование – это химическая реакция, в которой амидная функциональная группа боковых цепей аминокислот аспарагина и глутамина удаляется из молекулы белка. Реакция обеспечивает деградацию белков,

изменение длины пептидной цепи и улучшение функциональности [69]. Гликозилирование белка – химическая модификация, представляющая собой присоединение линейных или разветвленных олигосахаридных цепей к белку с получением гликопротеинов. Поскольку олигосахариды имеют гидрофильную природу, их ковалентное добавление к белку изменяло их полярность и растворимость [70].

К физико-химическим методам модификации горохового белка относится гомогенизация под давлением (микрофлюидизация), снижающая размер частиц, повышающая его растворимость до 86 % [71] и стабильность эмульсии [72]. Другим подходом к улучшению растворимости и термостабильности белка является образование их растворимых комплексов с полисахаридами на основе сил электростатического притяжения [73]. Для улучшения растворимости горохового белка доказано образование таких комплексов с гуммиарабиком, альгинатами [55, 74, 75] и пектином со степенью этерификации более 50 % [76]. Текстурирование изолятов гороха с высоким содержанием незаменимых аминокислот, как и изолятов сои, маша, арахиса, клейковины, улучшало ВСС, ЖСС, ЖЭС белков и делало их приемлемыми для получения аналогов мяса [77].

Функциональные свойства белков бобовых могут быть улучшены с помощью *биотехнологических модификаций*, таких как ограниченный ферментативный протеолиз с ферментами животного происхождения (трипсин, химозин и т.д.) и микробиологического. Ферментативное расщепление белка имеет преимущества из-за мягких условий обработки, специфичности по отношению к субстратам, меньшего количества побочных реакций, безопасности. Свойства ферментативных гидролизатов зависят от степени гидролиза, вида (эндо-, экзопротеазы) и природы ферментов.

Реакция гидролиза горохового изолята с трипсином, например, приводила к частичному разворачиванию белковых молекул, расщеплению пептидных связей α -цепей, понижению ММ белка с 340 до 240 кДа и появлению большего количества гидрофобных групп, взаимодействующих с каплями масла.

Молекулы белка становились более компактными, сферическими, термодинамически стабильными с улучшенными эмульгирующими и пенообразующими свойствами [5, 78]. Гидролизаты обладали высокими физико-химическими и антиоксидантными свойствами [79].

Химозин, как член семейства протеаз A1, сходный по специфичности с пепсином А, также использовался для улучшения свойств горохового изолята. После обработки его химозином улучшилась ПОС изолята, при этом наблюдалась положительная корреляция ($r = 0,74$) между растворимостью и эмульгирующей способностью [80]. Другие авторы [81] изолят обрабатывали ферментом в течение 10–30 минут при различных значениях рН и наблюдали улучшение растворимости в кислой среде (рН 2,0–5,0).

Сегодня увеличивается производство микробных протеаз из-за их широкой специфичности, низкой цены, времени производства и отсутствия отходов, по сравнению с ферментами животного происхождения [82]. Гидролиз гороховых белков с микробными протеазами, наряду с повышением растворимости, снижал вязкость и улучшал качество гелей [5]. Обработка щелочными и нейтральными протеиназами белков бобовых культур увеличивала выход продукта. Однако многие белковые гидролизаты имеют горький вкус за счет пролиновых остатков и некоторых гидрофобных аминокислот, поэтому важной задачей является разработка методов исключения или уменьшения горечи. Одним из решений этой проблемы является использование специфических пролилэндопептидаз, относящихся к группе сериновых протеиназ, способных вести ограниченный протеолиз по пролиллейциновым пептидным связям и гидрофобным аминокислотам [82].

Интерес представляют и реакции ферментативного синтеза белков из пептидов (пластеиновый синтез), а также из белков различной химической природы, которые целесообразно применять для введения в состав композитов незаменимых аминокислот или их производных с целью улучшения растворимости, поверхностно-активных свойств и биологической ценности [29].

1.6 Биотрансформация вторичных продуктов переработки сырья в белковые препараты различного назначения

Для пищевой и перерабатывающей промышленности актуальным является устранение отрицательного воздействия на биосферу жидких продуктов переработки растительного сырья, которые без очистки сливаются в канализацию или на сельскохозяйственные поля. При производстве белковых продуктов из зернобобовых культур образуются сывороточные воды, которые, практически, не утилизируются. Известные технологии очистки жидких отходов предусматривают механические (фильтрация, осаждение, флотация), химико-физические (коагуляция, нейтрализация и др.) и биологические (аэротехники, биофильтры) методы [25, 45, 83–89]. При этом теряется часть полезных органических и минеральных компонентов сырья. Более эффективными являются технологии с биологическими агентами, при которых в процессе рециклизации вторичных продуктов используются микромицеты с получением белковой биомассы пищевого и/или кормового назначения [12, 90, 91]. Микроорганизмы на определенных питательных средах обладают высокой скоростью роста и способностью синтезировать широкий спектр питательных соединений: белков, липидов, углеводов, каротиноидов и др. [92, 93].

При этом основой для культивирования биомассы микроорганизмов часто служат побочные продукты пищевой промышленности и сельского хозяйства. В пищевой промышленности из одноклеточных организмов белковые добавки используются ограниченно из-за высокого содержания нуклеиновых кислот и плохого переваривания клеточной стенки. Введение биомассы микроорганизмов в состав продуктов возможно только после дополнительного фракционирования или модификации, позволяющих получать препараты, максимально безопасные и адаптированные к организму человека.

Выявлен быстрый рост культуры *Pleurotus sapidus* на субстрате из сточных вод и яблочном жмыхе. После 4 суток культивирования биомасса содержала 21 % белка, незаменимые аминокислоты, полиненасыщенные жирные кислоты и до 115 мкг витамина D₂, синтезирующегося из эргостерола

гриба. При этом ВСС биомассы была на уровне соевого изолята, а ЖСС значительно превышала значения многих известных растительных белков [94].

Значительный интерес представляет выделение из биомассы микроорганизмов различных фракций белков и их использование для получения целевых продуктов [90–93]. Так, на основе побочного продукта экстракции горохового белка с мицелиальными грибами синтезирован пищевой компонент для замены мяса. Исследования проведены с 5 штаммами грибов (*Aspergillus oryzae*, *Fusarium venenatum*, *Micrelenchus purpureus*, *Neurospora intermedia*, *Rhodotorula oryzae*), которые ферментировали при 35 ± 2 °С в течение 48 ч. Содержание белка в биомассе грибов, выращенной на отходах переработки гороха, достигало 43,13–59,74 %. При внедрении данного процесса в переработку гороха планируют получать около 680 кг грибной биомассы с 38 % белка из 1 т побочного продукта [90].

Биомасса микроорганизмов используется в составе рационов сельскохозяйственных животных и птицы для повышения продуктивности. Так, для этих целей на отходах помола зерна сорго, риса и производства сахара получена биомасса с монокультурами *Trichoderma longibrachiatum*, *Asp. terreus* и биомасса с ассоциацией культур *Asp. species* и *Trich. viride* с массовой долей белка 19,0–43,7 % на СВ [95–99]. Продукт с массовой долей белка 19,8–36,0 % получен и трансформацией сточных вод, образующихся от производства вина, с культурами *Trich. viride*, *Asp. niger* и *Asp. oryzae* [100]. Ферментация сточных вод с грибом *Asp. oryzae* другим авторам [101, 102] позволила получить биомассу с 38–45 % белка, предназначенную также для кормовых целей. На отходах производства пальмового масла синтезирована кормовая биомасса с *Asp. terreus* уни МАРАА-1 с урожайностью 1,68 г/дм³ при 15 % посевного материала [103].

Из отходов производства кукурузы и сахарной мелассы ферментацией культур *Arachniotus species* и *Candida utilis* получена биомасса с 16 аминокислотами, включая все незаменимые [104]. Микробным синтезом обоснована возможность применения и рисовой мучки для получения новых

видов кормовых белковых добавок [105]. Биомасса микроорганизмов значительно улучшает кормовую ценность рецептов. Препарат, полученный, например, ферментацией стеблей кукурузы сахаромицетами или консорциумом сахаромицетов *Lactobacillus plantarum* и *L. casei*, оказывал положительное влияние на обмен веществ в организме животных с одновременным обеспечением безопасности окружающей среды [106, 107]. Дрожжи в составе корма кур-бройлеров в количестве 0,8 % также повышали эффективность использования корма [108]. При изучении микробиоты фекальных образцов на 21 и 42 день, проведенного с помощью полимеразной реакции, добавка положительно влияла на микрофлору птиц. Введение дрожжей *S. cerevisiae* в корма жвачных животных повышало усвояемость волокон и увеличивало популяцию целлюлолитических бактерий *R. flavefaciens* рубца [109, 110]. Добавление в рацион крупного рогатого скота *S. cerevisiae* и/или *Asp. oryzae* увеличивало надои и жирность молока [111–114].

Кормовые добавки с каротиноидами, полученные из трудно перевариваемого кофейного шлама [115] и спиртовой барды с пшеничными отрубями выращиванием дрожжей *Sacch. diastaticus* и *R. species*, содержали 41 % белка и все НАК [116]. Синтезирована кормовая добавка с каротиноидами, липидами и выращиванием дрожжей *R. glutinis*, *R. mucilaginosa* и *R. gracilis* на питательной среде из депротеинизированных сточных вод, полученных от переработки картофеля и отходов глицерина [117]. Из биомассы дрожжей *Kluveromyces marxianus* Y-4570 *C. parapsilosis* D-18, полученной на отходе лузге подсолнечника, российскими учеными [118] разработана технология кормового концентрата с содержанием протеина 60 %, перевариваемостью более 95 % и пищевого концентрата на основе штамма *K. Y-4557* с 65 % белка, количеством липидов и нуклеиновых кислот не более 2 % [119]. Предназначаются они для обогащения продукции незаменимыми аминокислотами.

В производстве сыров используют микромицеты рода *Geotrichum* [120–122] для созревания, формирования вкуса и аромата. Способность данных

грибов к синтезу физиологически активных соединений используется и в других областях биотехнологии [123–126]. Так, выполнены работы по производству белка со штаммами *G. candidum* MIUG и *G. candidum* LPMOs на отходах целлюлозосодержащего сырья производства бумаги [127, 128] и на спиртовой барде по получению пенообразующей добавки с *G. candidum* C3-106 (ВКПМ F-220) и *G. candidum* Б (ВКПМ F-267) [129].

Другой штамм культуры *G. candidum* AN-Z4, выделенный из загрязненной территории, вызывал глубокую деструкцию тринитротолуола в условиях интенсивной аэрации и рекомендован для обеззараживания загрязненных территорий [130]. Грибы рода *Geotrichum* перспективно использовать и для переработки вторичных продуктов, образующихся при производстве крахмала (экстракты, замочные воды) с модификацией химического состава для исключения вреда окружающей среде и получения добавок. Биоконверсия вторичных продуктов переработки зерна тритикале, например, проведена нами с дрожжами *S. cerevisiae* [131] и грибом *Pleurotus* [132]. При переработке сахарного тростника из винного отхода получена грибная биомасса *Asp. niger* с липидами для биодизельного топлива [133]. На жидких отходах ликероводочных заводов при полной утилизации моносахаридов также получена грибная биомасса с *Asp. niger* с урожайностью 35 г/дм³ [117].

Таким образом, жидкие побочные продукты переработки зернобобовых целесообразно использовать методом биоконверсии, так как он является естественным способом восстановления пищевых ресурсов и ресурсов для кормления животных в целях увеличения мясной, молочной продукции при одновременном снижении нежелательной нагрузки на биосферу [134, 135].

1.7 Применение белковых продуктов из зернобобовых культур в продуктах питания и кормах

В последнее время интерес к использованию белков из бобовых культур в различных продуктах из-за их питательной ценности, доступности, низкой

стоимости, надлежащих функциональных свойств и полезного влияния на здоровье возрастает [25, 35, 53]. Белковые концентраты и изоляты из гороха применяются в производстве хлебобулочных, макаронных изделий, напитков, имитационного молока, творога, йогурта, мясных аналогов, колбас, детского, спортивного питания, пищевых добавок и др. При этом белки не оказывают негативного влияния на качество продукции [136–138].

Коммерческие продукты из *горохового белка*, в основном, представляют собой «изоляты» с содержанием белка ~ 85% на СВ [54, 139]. В отличие от зерновых белков, гороховый изолят не содержит «глютена» и полезен для производства продуктов со свойствами, не уступающими продуктам из пшеницы [27]. Так, на основе горохового белка с различными штаммами дрожжей *Sacch. cerevisiae* изготовлен хлеб, аналогичный по органолептическим характеристикам контрольному из пшеницы [140]. Добавление горохового белка в количестве 10 % к массе муки в хлебе из гречневой и льняной муки повышало в нем содержание всех НАК и α -линоленовой кислоты [141]. Известны и другие хлебобулочные изделия со стимулирующим и терапевтическим эффектом с высоким содержанием НАК [142–146]. Добавление термически модифицированных белков гороха повышало ВСС, усвояемость пшеничного хлеба и бисквита [147]. Применение горохового изолята, в сочетании с люпиновой мукой, улучшало структуру изделий, в отличие от рисового и картофельного изолятов [148]. Гороховые концентрат и изолят в составе эмульсии применяли не только в производстве пшеничного хлеба [149], съедобных упаковочных пленок пищевых продуктов [150, 151], но и при получении высокобелковых макаронных изделий [152–154]. Обогащение спагетти гороховым белком понижало твердость сырой лапши и сокращало время её приготовления [155].

Из зерна гороха получены белковые компоненты для «сухих завтраков» с высокой энергетической ценностью [156], продуктов быстрого приготовления (хлопья) с витаминами [157], чипсов с овощными и фруктовыми компонентами [158].

Благодаря высоким ВСС, ЖСС, гелеобразованию, эмульгированию и пенообразованию гороховый белок представляет собой новый тип растительных белков для функциональных пищевых продуктов и в других различных рецептурах [55, 139, 159]. Так, ЖЭС и СЭ белков зернобобовых культур играют важную роль в формировании колбас и мясных аналогов для имитации продуктов. Введение модифицированного белкового продукта в состав колбасного фарша улучшало функциональные и структурно-механические показатели [136]. Бобовые белки заменяли до 80–100% куриного мяса в колбасе с уменьшением потерь ингредиентов и созданием прочной структуры изделий [160]. Известны и другие добавки из бобовых для повышения количества белка в говяжьем фарше, колбасных изделиях [161–163] в продуктах с высоким содержанием балластных веществ (80 %) и низким – крахмала (< 12 %) [164]. Гороховый белок включали в состав говяжьих котлет [165], салатных заправок [166] и инкапсулированных порошкообразных ингредиентов [138] для улучшения их функциональных свойств. Добавление белка к говяжьему фаршу делали котлеты более мягкими и нежными, чем котлеты из цельной говядины [165]. Рынок аналогов мяса пользуется большим спросом, особенно среди вегетарианцев, веганов и людей, которые не едят мясные продукты из-за религиозных или культурных обычаев [25].

Получены белковые гороховые компоненты как эмульгаторы для молочных продуктов с углеводами, ненасыщенными жирами, НАК, макро-, микроэлементами [167–169], веганских йогуртов и заменителей молочного белка в лечебных напитках и порошках [170].

Эмульгирование используется не только в эмульсиях, но и для микрокапсулирования масла – процесса, при котором биологически активные соединения заключаются в защитную оболочку для повышения стабильности при хранении, производстве и переработке [171]. К эмульсиям, стабилизированным компонентами пищевого назначения, растет интерес в фармацевтике. Этот тип эмульсии называется эмульсией Пикеринга, которая может обеспечить физическую и химическую стабильность липидной фазы и

инкапсулировать биологически активные вещества [172]. Снижая поверхностное натяжение между водой и маслом, белки стабилизируют эмульсии с образованием жесткой мембраны [173, 174] для контролируемого высвобождения биологически активных соединений из микронаночастиц, наночастиц, волокон, пленок, гидрогелей. С эмульсиями белков инкапсулируются биологически активные вещества (ω -3-жирные кислоты, фитостеролы, каротиноиды) [138, 175–179]. Изолят из гороха применяли в качестве матричного материала для микрокапсулирования β -каротина [180], аскорбиновой кислоты, α -токоферола [181, 182]. Микрокапсулирование линолевой кислоты с белком показало эффективную ее стабилизацию в течение 2-х месяцев хранения при комнатной температуре [183, 184], а микрокапсулирование экстракта прополиса – бактериостатическое и бактерицидное действие микрочастиц в отношении *Staphylococcus aureus* и *Listeria monocytogenes* [185]. Инкапсуляция белком нута улучшила стабильность фолиевой кислоты в продуктах [186].

Гороховый белок является не только хорошим эмульгатором, но и пенообразователем. Способность белка образовывать стабильную пену является важным свойством для тортов, суфле, взбитых начинок, помадки и т.д. [155]. Гороховый изолят, высушенный лиофильно, имел ПОС от 78 до 143 %, а СП составляла 79–98 % [187].

Особо интересным является применение горохового белка в обогащенных напитках (коктейли; смеси протеиновых соков; яблочный, морковный соки) [188]. Наиболее важными функциональными свойствами, связанными с обогащением напитка белком, являются растворимость и термическая стабильность [189]. Протеиновые напитки и их смеси обычно производят при рН 4–6, чтобы исключить терпкость вкуса [190]. В процессе подкисления белок теряет свой отрицательный заряд, приобретая нейтральный, и гидратацию вблизи молекул в изоэлектрической точке (рН 4,8). Следовательно, гороховый белок должен был быстро агрегироваться и осаждаться, особенно при нагревании напитков, предусмотренного для увеличения срока годности. В

фруктовых напитках гороховый белок стабилизируется образованием растворимых комплексов с высокоэтерифицированным пектином при соотношении 1:1 [76].

Протеины бобовых культур целесообразно использовать в продуктах для занятий спортом [191]. Гороховый белок является отличным источником НАК с разветвленной алифатической цепью (лейцин, изолейцин, валин), которые способствуют росту мышц. После 12-недельных тренировок с силовыми нагрузками, в сравнении с плацебо, обнаружено большее увеличение толщины мышц. От сывороточных белков не было отличий, следовательно, гороховый белок может быть альтернативой продуктам, содержащим молочный белок [192].

Известны рыборастворительные фаршевые продукты с гороховым белком повышенной пищевой ценности, пониженной калорийности [193], гели из белков гороха при этом имели менее жидкую текстуру и большую вязкость, чем гели из рыбы капской мерлузы [194]. На основе дисперсий с полифенолами черноплодной рябины, с повышенной антиоксидантной активностью при участии нековалентных связей, разработаны также напитки, батончики, смузи, йогурты, пудинги, замороженные десерты [195]. Созданы белково-углеводные композиты для лечебных, эколого-профилактических диет, космических рационов [196], гидролизаты горохового белка для усиления вкуса и уменьшения соли или глутамата натрия в пищевых продуктах [197].

Нутовые белки применялись в композициях с пшеничной, соевой мукой для мучных изделий, соевого творога (тофу), а в модифицированном виде из пророщенного зерна – для повышения биологической ценности продукта [25, 37, 198–202]. Нутовый изолят и мука (белок 20–40 %) использовались в качестве наполнителя в колбасах [27]. Термически обработанные белки нута тормозили окисление липидов, повышали стабильность цвета, антиоксидантную способность и содержание белка [203].

С учетом высокой растворимости белка нута изготовлено детское сухое и имитационное молоко. Имитационное молоко с изолятом белка чечевицы

имело то же качество, что и молоко из изолята соевого белка [204]. С белками нута, гороха, содержащими высокое количество НАК и обладающими повышенной ВСС и растворимостью, разработаны желеобразные растительные десерты [205], сыры [206], энтеральная композиция для питания лиц пожилого возраста [207], заменитель желатина для осветления виноградного сусла и вин [196].

Нутовый белок в говяжем фарше в количестве 15 % не ухудшал органолептические свойства продукта [45], в злаковых продуктах улучшалось качество белка и текстура готовых изделий за счет увеличения способности связывать воду. Применение изолята нута совместно с трансглутаминазой и ксантановой камедью в кексах из проса стабилизировало реологические свойства теста, за счет белковых сшивок и повышало качество изделий.

Среди различных компонентов биоразлагаемых полимеров бобовые белки считаются эффективной альтернативой продуктам на нефтяной основе. Пленки на основе горохового протеина получали из дисперсий при рН 7 и рН 10 компрессионным формованием при 140 °С. Пленки сочетали прочность (5,0–7,5 МПа) и высокое удлинение при разрыве (150 %). Разработаны также биоразлагаемые пленки из горохового белка с поглощением ультрафиолетового излучения для исключения его попадания в продукт с термической стабильностью до 150 °С. Составы пленок способствовали стабилизации биологически активных соединений, что продлевало срок годности скоропортящихся упакованных продуктов и повышало их антиоксидантные свойства [208, 209].

При сравнительном исследовании пленкообразующих свойств белковых изолятов фасоли, гороха, амаранта установлено, что свойства связаны с молекулярной массой, зарядом вторичной, третичной структурой. Белки гороха явились наиболее эффективными для формирования пленок, так как последние имели высокую прозрачность и прочность при растяжении. С увеличением рН повышалась прозрачность пленок, при нагревании – прочность на разрыв и водостойкость, но уменьшалась проницаемость водяного пара и растворимость

в воде. Свойства зависели от природы белка и степени упорядоченности его вторичной структуры [2].

Питательные и функциональные свойства белков зернобобовых культур широко используются и в *кормовых добавках*. Кормовая ценность гороха выше, чем белков зерновых культур: содержание сырого протеина (г/кг) – 207, лизина – 14,4, метионина и цистина – 4,0, в то время как белков пшеницы, соответственно, 125; 3,5; 5,0 г/кг. Высокая кормовая ценность белковых продуктов обусловлена и свободными аминокислотами, легко усваиваемыми организмом. Растворимость и усвояемость белка бобовых у животных в 1,5–3 раза выше, чем белка зерновых культур, при этом повышается усвоение белка и других культур при совместном использовании [210], поэтому он является ценным компонентом при производстве полноценных комбикормов.

Установлено, что кормление животных 100 кг гороха эквивалентно 45 кг соевых шротов с добавкой 55 кг ячменя [211]. Благодаря высокому содержанию протеина, продукты из бобовых культур удовлетворяют потребность свиней и птицы в аминокислотах и могут заменить соевый шрот и рыбную муку. При замене в рационе индюшат четверти животного белка гороховым белком себестоимость 1 ц прироста массы тела снижалась на 7 %, а введение в рацион свиней гороховых продуктов обеспечивало среднесуточный прирост 502 г на одну голову при их перевариваемости 76,8 % [212]. Гороховый белок, обработанный фитоиммуномодулятором, в рационах бычков, повышал переваримость питательных веществ корма и мясную продуктивность, улучшал качество мяса [213].

Таким образом, использование белков бобовых культур в системах доставки питательных веществ в организме человека и животных соответствует современным социально-экономическим тенденциям в области производства продуктов питания, ветеринарии и фармацевтики [176].

1.8 Выводы по литературному обзору

В мировой пищевой промышленности наблюдается растущий интерес к

белковым продуктам из зернобобовых культур – как альтернативным компонентам животных белков или дополняющих последние из-за их гипоаллергенности, экологичности и относительно низкой стоимости. В Российской Федерации ежегодно производится более 3 млн. т зернобобовых культур, что указывает на наличие сырьевой базы для производства белковых продуктов различного назначения.

Достигнуты успехи в исследованиях состава, структуры, физико-химических свойств белков зернобобовых культур. По сравнению с белками зерновых, они имеют хорошо сбалансированный аминокислотный профиль и высокую биологическую ценность. В качестве основных белков в них содержатся глобулины (вицилины, легумины), обладающими высокими функциональными свойствами, что делает их конкурентоспособными для производства пищевых продуктов. Белки проявляют нутрицевтические, гипоаллергенные, антиоксидантные свойства, поэтому рекомендуются для снижения риска хронических заболеваний (гипертония, сердечно-сосудистые заболевания, ожирение, диабет, аллергия) и поддержания здоровья. Для исключения из их состава антипитательных веществ (ингибиторы протеаз, лектины) предусматриваются специальные технологические приемы.

С целью производства белковых продуктов разрабатываются способы и технологические решения выделения белков с современными биотехнологическими и физико-химическими процессами. При использовании «сухих» методов не достигается высокой массовой доли в продуктах, применение же кислотной или щелочной обработки разрушает структуру и состав белковых фракций сырья. Солевая обработка, ультрафильтрация предусматривают внедрение дополнительных процессов (обессоливание, замена фильтров). Биотехнологические процессы с использованием ФП лишены этих недостатков: условия ферментации мягкие, ферменты специфичны и эффективны для сохранения структуры белков, аминокислотного состава, безопасности и регулирования их функциональных свойств.

Функционально-технологические свойства (растворимость, водо-, жиросвязывающая, пенообразующая, эмульгирующая способность и т.д.) зависят от состава, особенностей структуры (вторичной и др.) и условий обработки сырья. Для расширения ассортимента и направлений использования белковых продуктов проводят модификацию ФТС химическими, физико-химическими и ферментативными (ограниченный протеолиз, пластеиновый синтез) способами. Преимущества остаются за биотехнологическими из-за их безопасности, эффективности, меньшей трудоемкости и специфичности ФП.

Производство пищевых и кормовых белковых продуктов с высокой биологической ценностью перспективно организовывать и с использованием ВПП зернобобовых культур, остающихся после выделения белков, с различными видами грибных, бактериальных энзимов и/или микроорганизмов. Биоконверсия с протеканием биосинтетических процессов трансформации компонентов сырья в белковые препараты является эффективным процессом, как с точки зрения химического состава, экологии, экономики, так и расширения ассортимента белоксодержащих компонентов, в которых особенно нуждается общество.

С повышением осведомленности потребителей о преимуществах белков бобовых культур (биологическая ценность, функциональные свойства, польза для здоровья) наращивается мировой рынок их производства для применения в хлебобулочных, макаронных, кондитерских изделиях, напитках, твороге, йогурте, сухих завтраках, мясных аналогах, детском, спортивном питании, соусах, пищевых, кормовых добавках, фармацевтических препаратах, съедобных упаковочных пленках и других продуктах.

2 ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

2.1 Объекты и материалы исследований

Объектами исследований служили: гороховая мука из зерна сорта «Ямал» (Алтайский край – 2018-2020 гг.); товарная нативная и экструдированная гороховая мука (ООО «Юг России»); нутовая нативная и экструдированная мука (сорт зерна «Волжанин», Волгоградская область, 2018 г.); изолят горохового белка Roquette Nutralys S85F (Франция) и Cosucra Pisane C9 (Бельгия).

Для растворения белков использовали уксусную (ГОСТ 61-75), соляную (ГОСТ 3118-77) кислоты, хлорид натрия (ГОСТ 13830-97), этанол (ГОСТ 18300-72), гидроксид натрия (ГОСТ 2263-79); ФП компании "Novozymes" (Дания): Shearzym 500 L с ксиланазной ктивностью 500 ед/г, Viscoferm L с целлюлолитической активностью 600 ед/г; Fungamyl 800 L – источник α -амилазы; AMG 300 L 2500 – источник глюкоамилазы; Alcalase 2,4 L FG – источник протеаз и Distizym Protacid – протеаза фирмы «Erbslon». Все реактивы – химически чистые.

Гидролиз белков проводили с ФП Protamex и Flavourzyme 500 MG с активностью 125 ед/г и 85 ед/г, соответственно. Для осаждения белков использовали трехзамещенный цитрат кальция ($\text{Ca}_3(\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7)_2$ -(ГОСТ Р 54538-2011) – E₃₃₃(iii)), лактат кальция ($\text{CH}_3\text{CH}(\text{OH})\text{COO}$)₂Ca*5H₂O) (ГОСТ 31905-2012) – E₃₂₇ и трансглутаминазу фирмы «Фарма Ингредиентс» с активностью 100 ед.

Для биоконверсии вторичных продуктов переработки (ВПП) гороха использовали дрожжи *Saccharomyces cerevisiae* 121 и микромицет *Geotrichum candidum* 977 из коллекции Института микробиологии им. С.М. Виноградского. Филогенетическое положение штамма микромицета установлено в ФГБУ ГосНИИгенетика (рег. № ВКПМ У-300). Гидролиз ВПП проводили с HCl (1:8), температура 95 °С, 4 ч, перемешивание при 4000 мин⁻¹. Массовая доля СВ в сыворотке – 3,5 %, общий белок (Nx6,25), % на СВ – 28,35 %, истинный белок – 11,06±0,23 %, небелковый азот – 17,28 %

Кисломолочный напиток готовили из пастеризованного коровьего молока «Эковакино» с массовой долей жира 2,5 % (ТУ 9222-001-37851997-16), масла подсолнечного «Кубанское» (ГОСТ 1129-2013); комплекса пробиотиков «Эвиталия» из штаммов *Lactococcus lactis*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus helveticus*, *Propionibacterium freudenreichii* ssp. *Shermanii* (ТУ 10.89.19-001-72003049-2016). Медико-биологические исследования кормовых дрожжей проводили на 20 крысах-самцах «Wistar» весом 40 г в виварии Института биохимии им. А.Н. Баха и на 30 цыплятах-бройлерах кросса «Росс 308» в виварии НВЦ «Новые биотехнологии».

2.2 Методы исследований

Исследования проводили по трем направлениям, в соответствии со схемой эксперимента (Рисунок 3):

- разработка биокаталитического способа получения из гороховой муки биологически ценных БК пищевого назначения с ФП без использования щелочи;
- разработка способа подготовки ВПП (нерастворимого остатка, сыворотки) для их биоконверсии;
- разработка биоконверсионного способа получения белоксодержащих кормовых дрожжей из ВПП гороховой муки.

2.2.1 Химический состав сырья, продуктов переработки и белковых концентратов

Массовую долю влаги в муке, ВПП и белковых концентратах определяли по методам [214]; общего белка – по методу Кьельдаля (Nx6,25) [215], истинного белка – по методам Барнштейна, Лоури [216, 217]; крахмала – [218]; клетчатки – [219]; золы – [220]; жира – с диэтиловым эфиром [221]; углеводов – по разнице между 100 % и суммой остальных компонентов; растворимые, нерастворимые волокна – по методу [222].

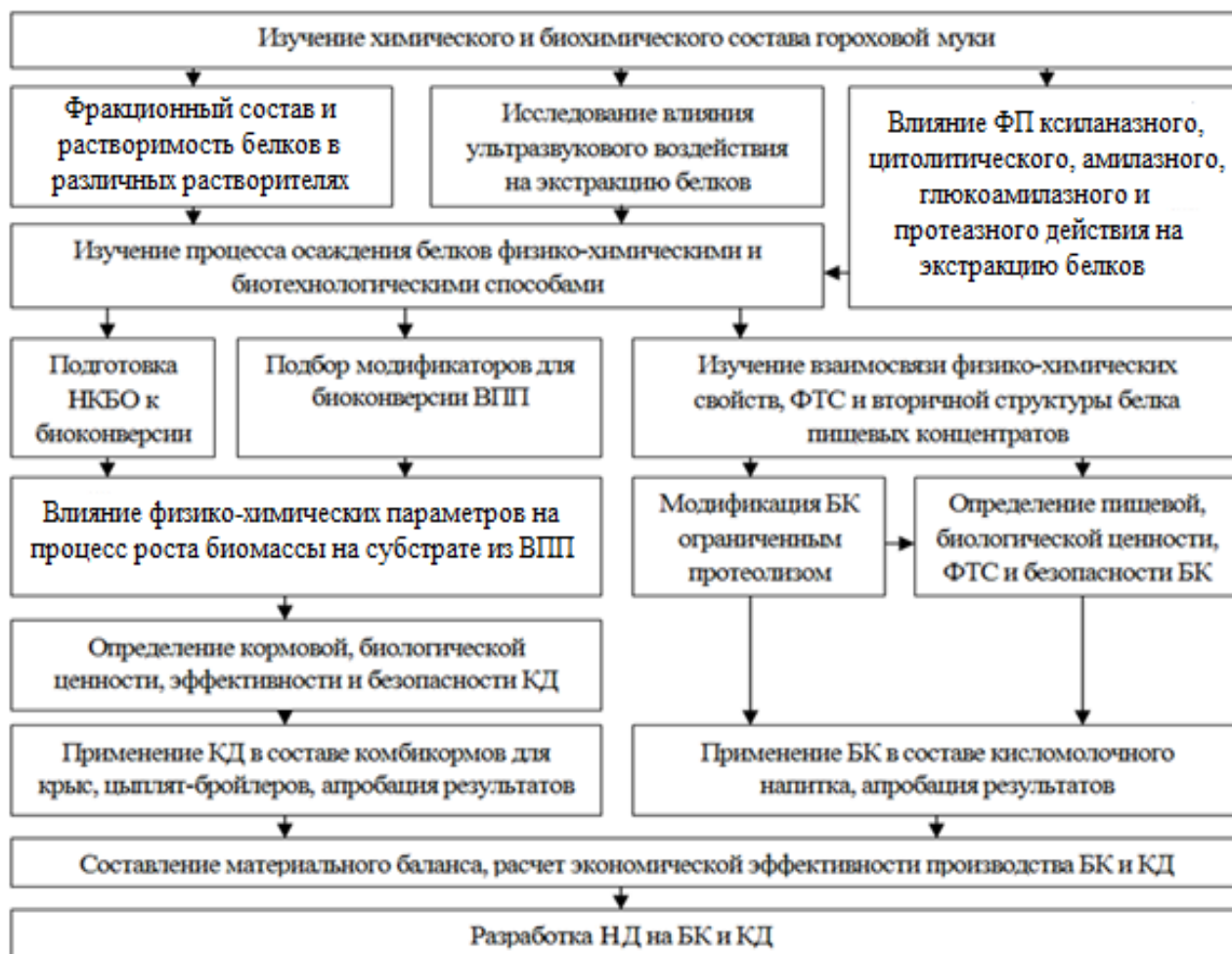


Рисунок 3 – Схема проведения исследований

2.2.2 Определение фракционного состава белков гороховой муки

Фракционный состав определяли по методу Осборна в модификации Бушука [223]. При температуре 22 ± 2 °С муку дважды последовательно встряхивали с дистиллированной водой при гидромодуле 1:25, затем с 5 %-ным NaCl, с 70 %-ным этанолом, 0,1 М CH_3COOH и 0,02 М раствором NaOH для перевода в раствор, соответственно, альбуминов, глобулинов, проламинов, растворимых, нерастворимых глютелинов. Суспензию муки 15 минут центрифугировали при 6000 мин^{-1} и определяли в них содержание белка по Кьельдалю.

2.2.3 Ультразвуковая обработка гороховой мучной суспензии

УЗ-обработку суспензии проводили на аппарате Soniprep 150 ME (Mse Ltd., Великобритания). В стаканчики наливали 80 мл гомогенной мучной суспензии, помещали в камеру с ванной со льдом, в которую опускали зонд.

После обработки суспензию центрифугировали при 6000 мин^{-1} и определяли белок по методам Лоури или Къельдаля.

2.2.4 Определение молекулярных масс белков методом геле-электрофореза в SDS-ПААГ

Белковые пробы муки, экстрактов, сыворотки в количестве около 50 мкг смешивали с буфером в соотношении 1:1. Буфер готовили из 60 см^3 глицерина, 1 мг бромфенолового синего (рН до 6,8). В раствор добавляли 5 см^3 β-меркаптоэтанола, объем доводили до 100 см^3 . Пробы и растворы белков-маркеров в количестве 102 мкг/30 мкл нагревали 2 мин при 95-100 °С. Для приготовления 15 % разделяющего геля смешивали $4,5 \text{ см}^3$ раствора АБ (навеску 29,6 г акриламида растворяли в небольшом количестве воды, добавляли 0,4 г бисакриламида, доводили объем до 100 см^3), $2,5 \text{ см}^3$ трис-НСl буфера, рН 8,8, 3 см^3 воды, 20 мкл ТЕМЕД, 160 мкл персульфата аммония (ПСА). Для приготовления концентрирующего геля смешивали 1 см^3 раствора АБ, 1 см^3 трис-НСl буфера, рН 6,8, 3 см^3 воды, 20 мкл ТЕМЕД, 160 мкл ПСА. Буферы заливали в прибор, между пластинами помещали гребенку и формировали лунки для проб. Электрофорез вначале проводили при напряжении 50-60 В, далее – при 120 В для разделения компонентов. Электрофореграммы окрашивали кумасси ярко-синим и сканировали [224].

2.2.5 Углеводный состав вторичных продуктов переработки муки

Углеводный состав продуктов исследовали на хроматографе марки ShimadzuGCMS 2010 (Япония) с масс-спектрометрическим детектором. Образец (1–2 мг) растворяли в 1 см^3 пиридина, к раствору добавляли 100 мкл раствора Supelco. Пробы выдерживали 1 ч при 70 °С и разделяли на капиллярной неполярной колонке Optima-1 (Macherei-NagelDBR) с гелием в качестве носителя. Идентификацию пиков проводили по библиотеке масс-спектров NIST 11. В качестве стандартов использовали арабинозу, глюкозу, галактозу, ксилозу, раффинозу, мальтозу, стахиозу и др.

2.2.6 Аминокислотный состав, скор и активность уреазы белковых концентратов

Аминокислотный состав белков определяли на хроматографе модели L-8800 фирмы “Hitachi” (Япония) с катионообменником – сульфированным сополимером стирола с дивинилбензолом [225]. Для кислотного гидролиза 3–5 мг образца помещали в стеклянную ампулу, добавляли 300 мкл (0,3 см³) гидролизующей смеси (соляная, трифторуксусная кислоты в соотношении 2:1 с 0,1 % β-меркаптоэтанолом). Образец замораживали в жидком азоте, вакуумировали, заправляли. Гидролиз проводили при 155 °С 1 ч. Ампулу вскрывали, удаляли гидролизующую смесь упариванием на CentriVar Concentrator LABCONCO (US). К гидролизату добавляли 0,1 н HCl, перемешивали, центрифугировали 5 мин при 8000 об/мин на центрифуге Microfuge 22R (Beckman-Coulter, US). Данные обрабатывались в online системе «МультиХром 1.52» для Windows 98 (Россия). При расчете аминокислотного скоры использовали шкалу эталонного белка ФАО/ВОЗ (2011 г.) [22]. Активность уреазы концентратов определяли по ГОСТ 13979.9-69 [226].

2.2.7 Микро- и макроэлементы в белковых концентратах

Макро- и микроэлементы в концентратах определяли методом пламенной атомной абсорбции после сухого озоления образцов на спектрофотометре Z 5300 (Hitachi, Япония) с зеемановской коррекцией [227], свинец и кадмий – по методике, изложенной в руководстве [228].

2.2.8 Определение перевариваемости белков *in vitro*

Перевариваемость белков БК определяли по методу А.А. Покровского и И.Д. Ертанова [229], моделируя процесс в желудочно-кишечном тракте на первом этапе в кислой среде с пепсином (рН 2,2), на втором – в щелочной среде (рН 8,4) с панкреатином. Растворимые белки определяли по методу Лоури [217]. Степень перевариваемости оценивали по отношению количества продуктов гидролиза в растворе после действия ферментов, выраженных в мг белка, к общему его количеству в навеске образца. Перевариваемость белков

КД определялась по ГОСТ 24230-80 [230].

2.2.9 Определение функциональных свойств белковых концентратов

Функциональные свойства БК исследовали по методикам, изложенным в работах [231, 232]. Точку гелеобразования определяли на вискозиметре Брукфелда DV-II + Pro (шпиндель S02, вращение – 100 мин⁻¹) при концентрации БК 1–25 % к массе суспензии и температуре 90 °С.

2.2.10 Спектроскопическое исследование белков круговым дихроизмом

Спектры кругового дихроизма измеряли на дихрографе Chirascan фирмы Applied Photophysics (Великобритания). Прибор калибровали по (1S)-(+)-10-камфаросульфоновой кислоте (Sigma C-1395) [233]. Спектры снимали в кварцевых кюветах с длиной пути 0,1 см. Кюветы термостатировали при 20 °С. Спектральная ширина щели дихрографа – 1 нм, постоянная времени – 3 сек., скорость сканирования – около 9 нм в минуту. Коррекция базовой линии, измеренной по кювете с растворителем, проводилась автоматически.

2.2.11 Количество фенолокарбоновых кислот и их производных (ФККиП)

Количество ФККиП в муке и концентратах определяли спектрофотометрическим методом при 276 нм на спектрофотометре СФ-2000 (Россия) [234]. Навеску концентрата около 1 г (с точностью до 4-го знака) помещали в колбу на 100 см³, добавляли 50 см³ 50 %-ного этанола; колбу присоединяли к обратному холодильнику, нагревали на кипящей водяной бане 1 ч. Экстракт фильтровали в колбу на 100 см³ через бумажный фильтр, объем доводили 50 %-ным спиртом до метки (раствор А). 5 см³ раствора А помещали в мерную колбу, объем доводили 50 %-ным этанолом до метки, перемешивали (раствор Б). Оптическую плотность раствора Б измеряли на спектрофотометре при длине волны 276 нм. Параллельно измеряли оптическую плотность раствора галловой кислоты. Для приготовления раствора кислоты 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 раствора помещали в мерную колбу на 100 см³, объем доводили тем же

растворителем до метки. Содержание суммы ФККиП, в пересчете на галловую кислоту в % (X), вычисляли по формуле (1):

$$X = \frac{D \cdot m_0 \cdot 2 \cdot 100 \cdot 100 \cdot 100 \cdot 100}{D_0 \cdot 100 \cdot 100 \cdot m \cdot 5(100 - W)} \quad (1)$$

где: D – оптическая плотность испытуемого раствора; D_0 – оптическая плотность раствора галловой кислоты; m – масса навески сырья, в г; m_0 – масса навески галловой кислоты в г, W – массовая доля влаги в %.

2.2.12 Методика проведения гидролиза белковых концентратов

1 г Белкового концентрата смешивали с дистиллированной водой при гидромодуле 1:3 и гидролитическими ФП в различных концентрациях, после чего материал выдерживали 210 мин при температуре 60–70 °С. Гидролизаты высушивали лиофильно на установке Hochvacuum HVDTG-50 (Германия) в вакууме при -80 °С до влажности 4–9 %. Белок в гидролизате определяли по методу Къельдаля (Nx6,25).

2.2.13 Выращивание биомассы из вторичных продуктов переработки муки

Музейные культуры *S. cerevisiae* 121 и *G. candidum* 977 с сусла-агара пересеивали в пробирку с ВПП муки и культивировали 24 ч. Для приготовления питательной среды использовали сыворотку с pH 6,0–6,5 и нерастворимый крахмало-белковый остаток (НКБО). Сыворотку стерилизовали при давлении 0,1 МПа и охлаждали. В субстрат вводили суспензию культур в количестве 1–4 % от общей массы, биомассу выращивали на шейкере при скорости вращения 150 мин⁻¹ и температуре 27±1 °С в течение 24–48 ч. Суспензию инактивировали при 95±5 °С в течение 10–15 мин, охлаждали 10–15 мин при 22±2 °С. Биомассу от культуральной жидкости отделяли центрифугированием при 4000 мин⁻¹ в течение 10 мин и получали дрожжи КД-1, из биомассы с культуральной жидкостью – КД-2. Образцы сушили лиофильно на установке Hochvacuum HVDTG-50 (Германия) в вакууме при -80 °С. Морфологические особенности и физиологическое состояние мицелия гриба анализировали с помощью микроскопа марки Axioskop 40 FL Zeiss при увеличении x100

цифровой камерой AxioCamMRc.

2.2.14 Определение жирнокислотного состава липидов дрожжей

Исследования проводили на хроматографе с масс-детектором Simadzu GCMS-QP 2010 Ultra при 120 °С. Температура инжектора – 200 °С; интерфейса – 205 °С, детектора – 200 °С на колонке SLB-IL82 (30 м, 0,20 мкм, d = 0,25 мм) с носителем гелием при скорости потока 35,6 см/сек, делении потока 1:10. Градиентный режим изменялся от 120 °С до 260 °С со скоростью 5 °С/мин в течение 2 минут. Липиды из КД выделяли по методу Фолча [235], смесь упаривали на ротационном испарителе, растворяли в хлороформе, добавляли солянокислый метанол (SupelcoMethanolic-HCl 0,5 N), закрывали в вials и нагревали 1 ч при 90 °С.

2.2.15 Определение нуклеиновых кислот и микробиологических показателей концентратов

Массовую долю нуклеиновых кислот в дрожжах определяли по методу Спирина [236]. Микробиологические показатели концентратов и кисломолочного напитка проводили в соответствии с СанПиНом 2.3.2.1078-01: общее количество мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов – по [237], бактерии группы кишечной палочки – по [238], патогенные микроорганизмы, в т.ч. сальмонеллы – по [239], дрожжи и плесневые грибы – по [240].

2.2.16 Методика кормления крыс и цыплят-бройлеров

Кормление крыс проводили на самцах линии Wistar с массой тела 40 г в виварии Института биохимии им. А.Н. Баха РАН. Животных содержали при 19–20 °С по 5 особей в клетке и ежедневно давали комбикорм в расчете 40–50 г на особь. Опытная группа получала в составе комбикорма 5 % кормовых дрожжей (КД). Фекалии животных перетирали, взвешивали, образцы помещали в стерильные пробирки, гомогенизировали в физиологическом растворе, разводили в соотношении 1:1–1:4. Образцы высевали на питательные среды и определяли количество мезофильных аэробных и факультативно анаэробных

микроорганизмов (КМАФАнМ) на мясопептонном агаре, молочнокислых бактерий (МКБ) – на среде МРС [241], бактерий группы кишечных палочек (БГКП) – на среде Эндо. Микрофлору опытных и контрольных крыс исследовали перед началом кормления КД и в конце – на 25 сутки. Посевы анализировали после 48 ч культивирования при 37 °С. Число колоний микроорганизмов выражали в КОЕ/г.

Цыплята-бройлеры контрольной группы получали стандартные рационы, согласно возрастным периодам откорма (1–10, 11–24 и 25–35 дней). В опытных рационах соевый шрот заменили на 5 % кормовых дрожжей из ВПП гороховой мука. Кормление осуществлялось полнорационными комбикормами ПК 5-1, ПК 5-2, ПК 6. Массу цыплят определяли еженедельным взвешиванием с ежедневным учетом потребления кормов. Анатомическая разделка тушек и органолептическая оценка вареного мяса и бульона проводились по методике ФНЦ «ВНИТИП» РАН (2013) в ГНУ НИИММП, качественные показатели мяса и мясных продуктов определяли по методикам, описанным в СанПиН 2.3.2.1078-01, гигиенические требования безопасности и пищевой ценности продуктов – по руководству [242], состав белого мяса – по ГОСТам [243–248].

2.2.17 Методы математического планирования и статистическая обработка экспериментальных данных

Статистическую обработку результатов анализов 3–5 повторностей проводили методами дисперсного и корреляционного анализов с программами TableCurve 2D 5.1, TableCurve 3D 4.0, Mathematica 10.3, Statistica 10. Доверительный интервал среднего арифметического результата рассчитывали с критерием Стьюдента на уровне значимости $p = 0,05$.

3 РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

3.1 Разработка биокаталитического способа получения пищевых белковых концентратов

3.1.1 Химический и биохимический состав муки зернобобовых культур

Для выбора сырья из зернобобовых культур исследован химический состав сортовой и товарной гороховой и нутовой муки (Таблица 2). Оба вида муки имели типичный состав для данного вида зерна, массовая доля белка в нативной муке составляла 23,67–25,70 %, в экструдированной – меньше на 2,03 %, крахмала – меньше на 6,98 %, что можно объяснить деструкцией полимеров в процессе ее влаготермической обработки. Нутовая мука содержала на 3,43–5,0 % больше жира, чем гороховая.

Таблица 2 – Химический состав муки зернобобовых культур

Влажность, %	Белок, (Nx6,25)	Жир	Зольность	Крахмал	Углеводы
	Массовая доля, % на сухое вещество (СВ)				
Сортовая гороховая мука					
11,6±0,20	25,70±0,87	1,46±0,52	2,67±0,07	51,50±0,83	18,76±2,29
Сортовая экструдированная гороховая мука					
6,6±0,11	23,67±1,12	5,59±0,26	3,18±0,10	44,52±1,04	23,04±2,52
Товарная гороховая мука					
11,0±0,41	24,30±1,40	2,87±0,20	1,58±0,12	50,60±1,10	22,42±3,66
Сортовая нутовая мука					
9,1±0,32	24,54±0,23	4,89±0,31	2,91±0,02	43,82±0,55	23,84±1,10
Сортовая экструдированная нутовая мука					
8,3±0,28	24,82±0,47	5,71±0,37	3,03±0,06	45,67±1,21	20,77±2,11

По данным фракционного состава белков товарная и сортовая гороховая мука содержала водорастворимой фракции 52,28–57,05 %; солерастворимой – 23,04–25,50 %; спирторастворимой – 2,94–4,69 %; кислоторастворимой – 0–0,61 %; щелочерастворимой – 6,67–10,40 % и 5,96–10,86 % склеротических белков (Рисунок 4). Экструдированная мука имела в составе в 2–2,5 раза меньше водо-, соле-растворимых фракций и в 1,6 раза – меньше спирторастворимых белков, по сравнению с нативной, тогда как фракции, растворимой в щелочи, наоборот, было почти в 8 раз больше. Сумма водо- и солерастворимых белков у экструдированной нутовой муки также была



Рисунок 4 – Фракционный состав белков нативной и экструдированной муки меньше в 1,5–3,0 раза, спирторастворимых – в 1,3–1,4 раза, щелочерастворимых также, наоборот, в среднем, было больше в 7,5 раза.

В процессе экструзии у обоих видов муки альбумины и глобулины, вероятно, агрегировались с образованием труднорастворимых белковых фракций [249]. Поэтому, такой вид муки не мог иметь преимуществ перед нативной, так как он требовал бы для выделения белков растворов щелочи. Наибольшее количество истинных белков приходилось на альбумины и глобулины, наименьшее – на проламины и уксуснорастворимые глютелины (Таблица 3). Если щелочерастворимых белков в нативной муке содержалось

Таблица 3 – Фракционный состав истинных белков гороха (метод Лоури)

Мука	Растворитель					Нерастворимые
	Вода	0,5 М NaCl	70 % спирт	0,1 М CH ₃ COOH	0,05 н NaOH	
Сортовая мука						
Нативная	49,79±1,05	15,42±0,52	2,86±0,60	0,26±0,05	6,20±0,46	5,96±0,63
Товарная мука						
Нативная	46,78±0,1	12,53±0,1	2,88±0,75	0,11±0,1	5,44±0,89	10,86±0,54
Экструдат	18,62±1,59	6,53±0,1	2,76±0,14	0,43±0,08	50,88±1,21	4,91±0,71

5,44–6,2 %, то в экструдированной – в 10 раз больше, что подтвердило целесообразность использования не обработанной экструзией муки для выделения белков без использования денатурирующих их растворов щелочи. Использование гороховой муки на данном этапе было предпочтительнее, чем

нутовой, из-за меньшего содержания в ней жира и больших зерновых ресурсов. Поэтому она и выбрана для дальнейших исследований.

3.1.2 Растворимость гороховых белков и перевод их в экстракт

3.1.2.1 Растворимость белков под влиянием углеводов и оптимизация технологических режимов экстракции

Один образец гороховой муки получали помолом зерна на оборудовании ВНИИ крахмала со средневзвешенным размером частиц 237 ± 10 мкм, второй – на оборудовании ВНИИЗа с размером частиц 102 ± 8 мкм. Общий выход белков, полученный по схеме (Рисунок 5), был на 37 % больше для размера частиц муки 102 ± 8 мкм и составлял $93,15 \pm 1,01$ %, против $68,12 \pm 1,02$ % при их размере 237 ± 10 мкм (Таблица 4).

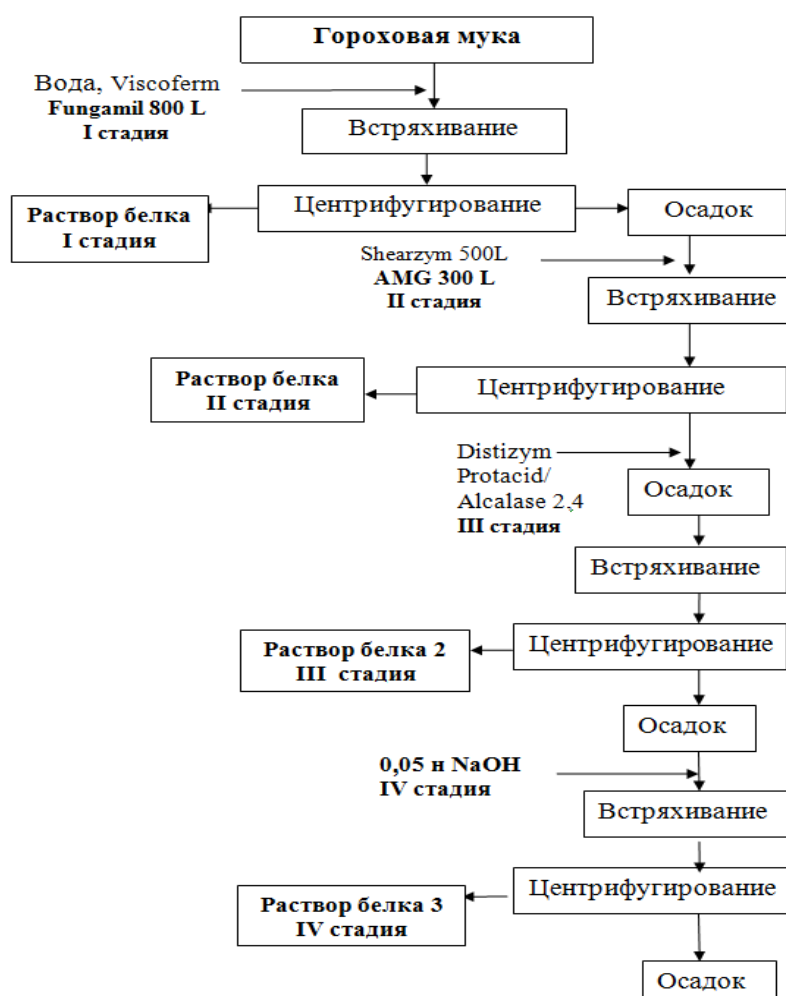


Рисунок 5 – Схема постадийного выделения белков гороховой муки

Таблица 4 – Влияние размера частиц гороховой муки на выход белка, % от общего в навеске

Образец экстракта, ферментные препараты	СВ, %	Средневзвешенный размер частиц муки, мкм	
		237±10	102±8
		Выход белка, %	
Растворы после 1 и 2 стадии обработки (целлюлаза, амилаза, ксиланаза, глюкоамилаза)	0,53÷ 1,00±0,03	21,46±1,02	32,90±1,01
Раствор после 3 стадии (протеазы)	0,70±0,05	16,20±0,08	28,10±0,06
Раствор после 4 стадии (0,05 н р-р щелочи)	1,20±0,04	31,46±1,04	32,15±3,02
Итого		68,12±1,02	93,15±1,01
Осадок	19,7±0,08	30,10±1,07	7,12±1,08
Итого	-	98,22±1,10	100,27±2,02

На следующем этапе более детально исследовано влияние гидролитических ФП подкласса карбогидраз (Shearzym 500 L, Viscoferm L, Fungamyl 800 L, AMG 300 L 2500) на растворимость белков. Для этого составлена матрица планирования эксперимента (Таблица 5), где влияющими факторами были концентрация ФП (%/г белка), продолжительность ферментации (ч) и гидромодуль (вода:мука), выходной параметр – растворимость (%). Для получения уравнения регрессии использованы частные эмпирические зависимости растворимости белка от исследуемых факторов (Рисунок 6). Двухмерные графики указывали на выраженные пики зависимости растворимости белка от факторов (Рисунок 7). Корреляционная зависимость показывала хорошую взаимосвязь с экспериментальными данными ($r=0,94$) (Рисунок 8). По данным вывели уравнение (математическую модель) зависимости растворимости белка от технологических факторов (уравнение 2):

$$R = \frac{-0.382105 \cdot (946.218 + sv) (-8.2675 + \operatorname{Erfc}[0.220767 \cdot (-10.97 + g1)^2])}{142.295 + t \cdot (-8.42623 + t)} \quad (2)$$

где: R – растворимость белка, %; sv – концентрация ФП, %/г белка; t – продолжительность ферментации, ч; g1 – гидромодуль.

Таблица 5 – Матрица планирования эксперимента растворимости горохового белка

№ п/п	Концентрация ФП, ед/г СВ	Продолжительность, ч	Гидроמודуль	Растворимость, % от общего	
				Белок	Азотистые вещества
1	90	1	1:7	17,59	20,97
2	90	2	1:10	19,60	23,44
3	90	3	1:12	23,13	24,03
4	90	4	1:15	21,67	27,95
5	90	5	1:25	18,19	26,23
6	110	1	1:10	20,60	22,14
7	110	2	1:12	16,33	23,53
8	110	3	1:15	22,30	27,37
9	110	4	1:25	19,87	26,21
10	110	5	1:7	15,24	21,46
11	130	1	1:12	23,56	23,98
12	130	2	1:15	18,02	26,11
13	130	3	1:25	19,43	25,17
14	130	4	1:7	14,22	20,51
15	130	5	1:10	21,71	23,88
16	150	1	1:15	26,45	28,69
17	150	2	1:25	20,53	25,84
18	150	3	1:7	13,58	20,89
19	150	4	1:10	23,87	25,05
20	150	5	1:12	22,40	24,57
21	170	1	1:25	23,48	26,79
22	170	2	1:7	17,48	19,88
23	170	3	1:10	22,17	26,01
24	170	4	1:12	23,96	24,90
25	170	5	1:15	26,89	28,32

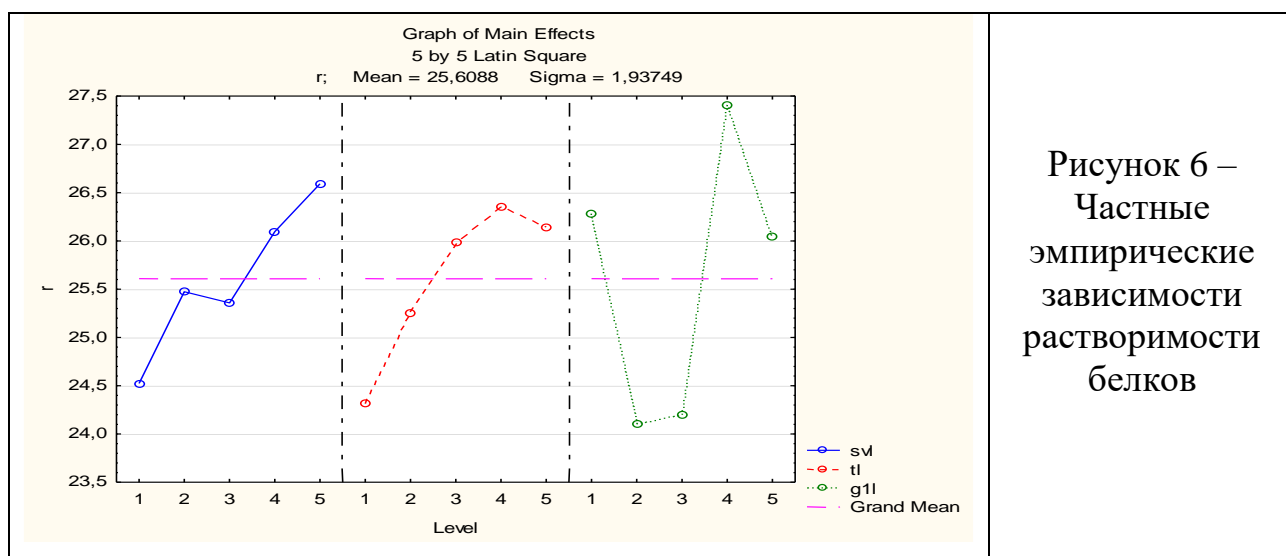


Рисунок 6 –
Частные
эмпирические
зависимости
растворимости
белков

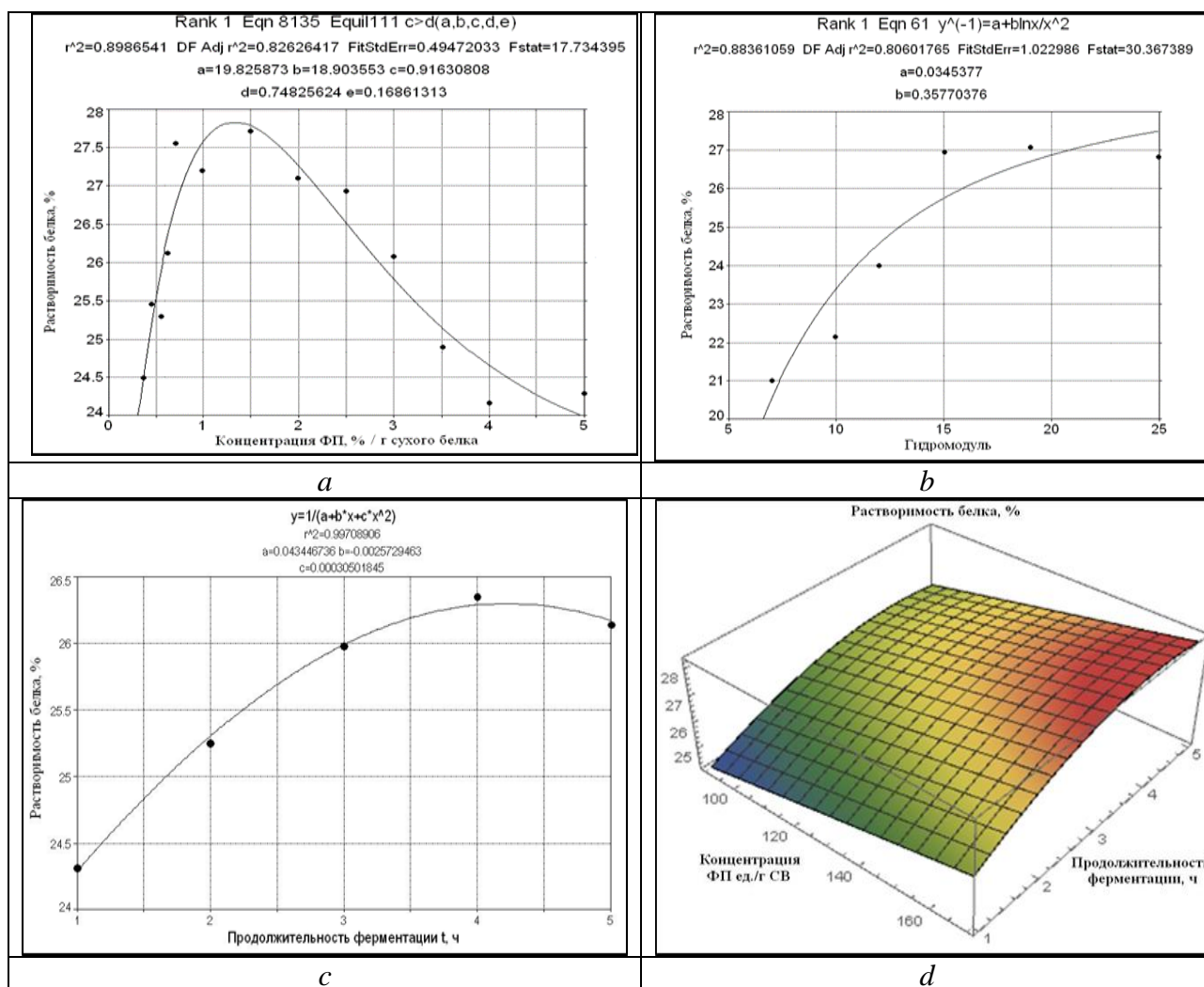
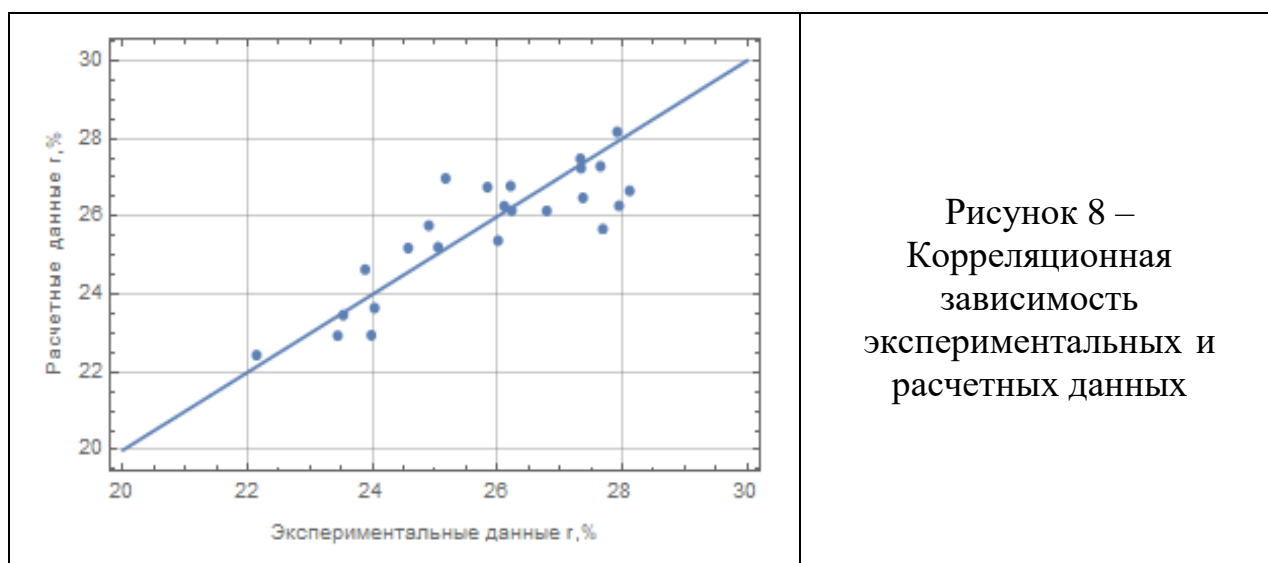


Рисунок 7 – Зависимость растворимости белка от: *a* – концентрации ФП, *b* – гидромодуля, *c* – продолжительности обработки; *d* – от концентрации ФП и продолжительности ферментации (3D)



Из данных получены следующие оптимальные значения факторов с ФП Shearzym 500 L, Viscoferm L, Fungamyl 800 L, AMG 300 L 2500: концентрация ФП (sv) – 1,5 %/г белка, продолжительность процесса (t) – 4,2 ч, гидромодуль (gl) – 15. Они обеспечили растворимость белков в экстракте в количестве $42 \pm 0,5$ %.

3.1.2.2 Выбор протеолитического ферментного препарата и влияние технологических факторов на растворимость белков

Для повышения выхода белков в экстракте обосновали выбор протеолитического ФП. Для этого определили константы Михаэлиса для энзимов ФП Alcalase 2,4 и Distizym Protacid из кривых зависимости массовой доли белка в растворе от массовой доли белка в субстрате (Рисунок 9). Константа Михаэлиса для Alcalase 2,4 равнялась $16,7 \times 10^{-7}$ моль/дм³, для Distizym Protacid – $10,0 \times 10^{-7}$ моль/дм³.

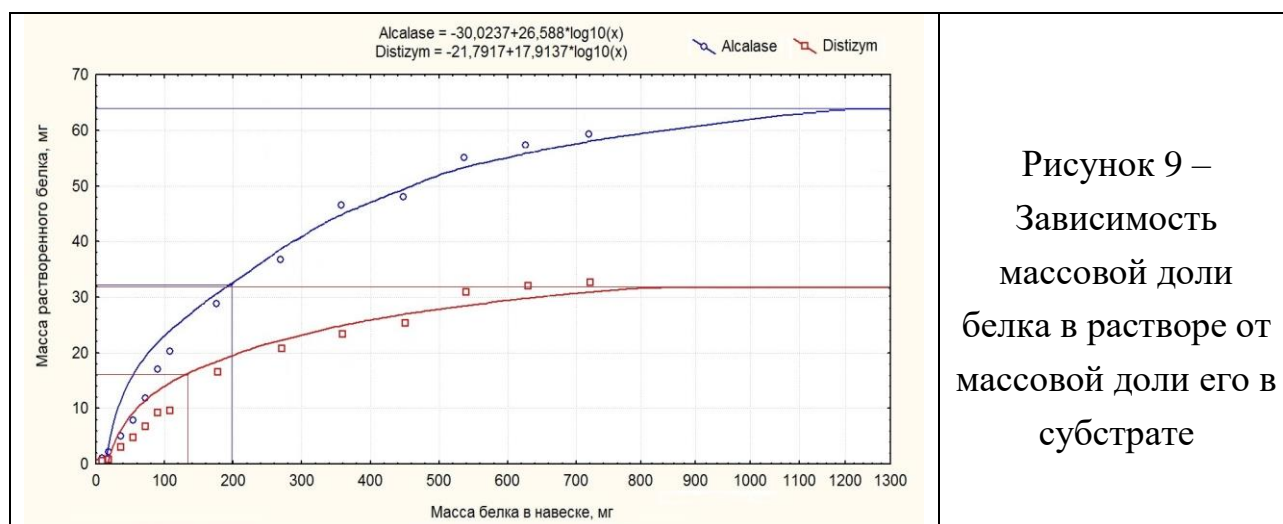


Рисунок 9 –
Зависимость
массовой доли
белка в растворе от
массовой доли его в
субстрате

Учитывая, что у Alcalase 2,4 константа Михаэлиса на 67 % выше, она и выбрана для дальнейших исследований. Определены дозировки Alcalase 2,4 и продолжительность реакции для повышения выхода белков за счет ослабления их взаимодействия с нерастворимыми полисахаридами. Опыты проводили при гидромодуле 1:15 в течение 4 ч (оптимальные параметры) при встряхивании 160 мин^{-1} и $55 \text{ }^\circ\text{C}$. Массовая доля ФП, в % к массе белков составляла: 0,20; 0,65; 1,0; 1,50. При дозировках 1,0 и 1,5 % ФП к массовой доле белка количество последних в экстракте практически было одинаковое (Рисунок 10 А). Выбрана дозировка 1,0 %, с которой далее исследовали влияние продолжительности действия Alcalase 2,4 на массовую долю белка в экстракте (Рисунок 10 Б).

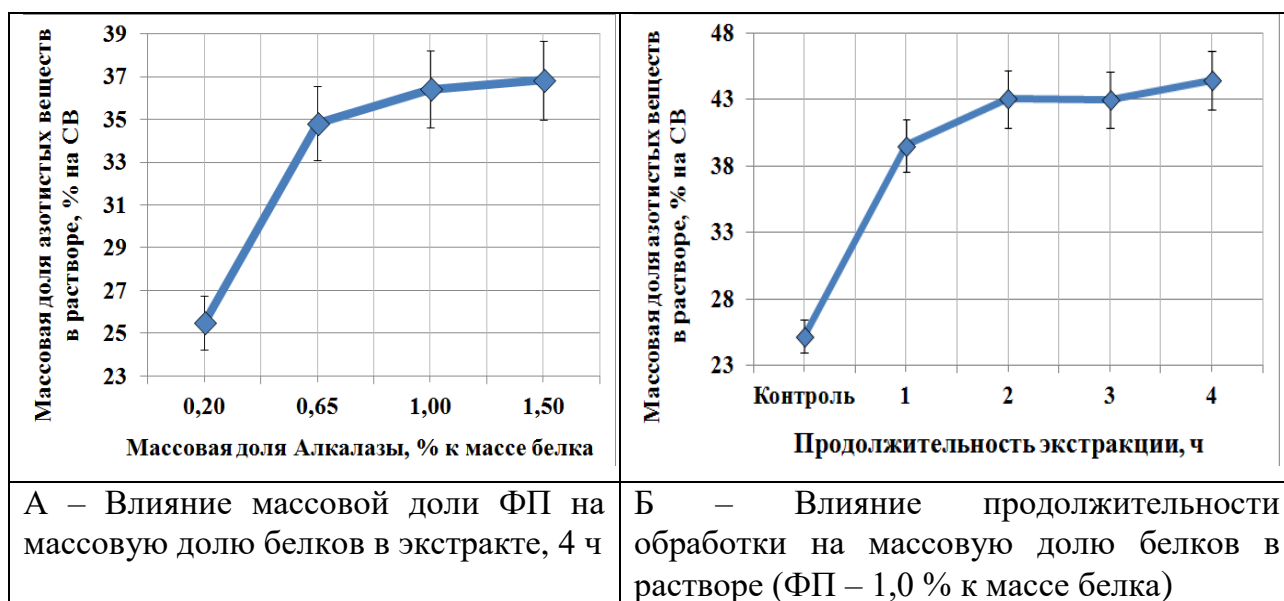
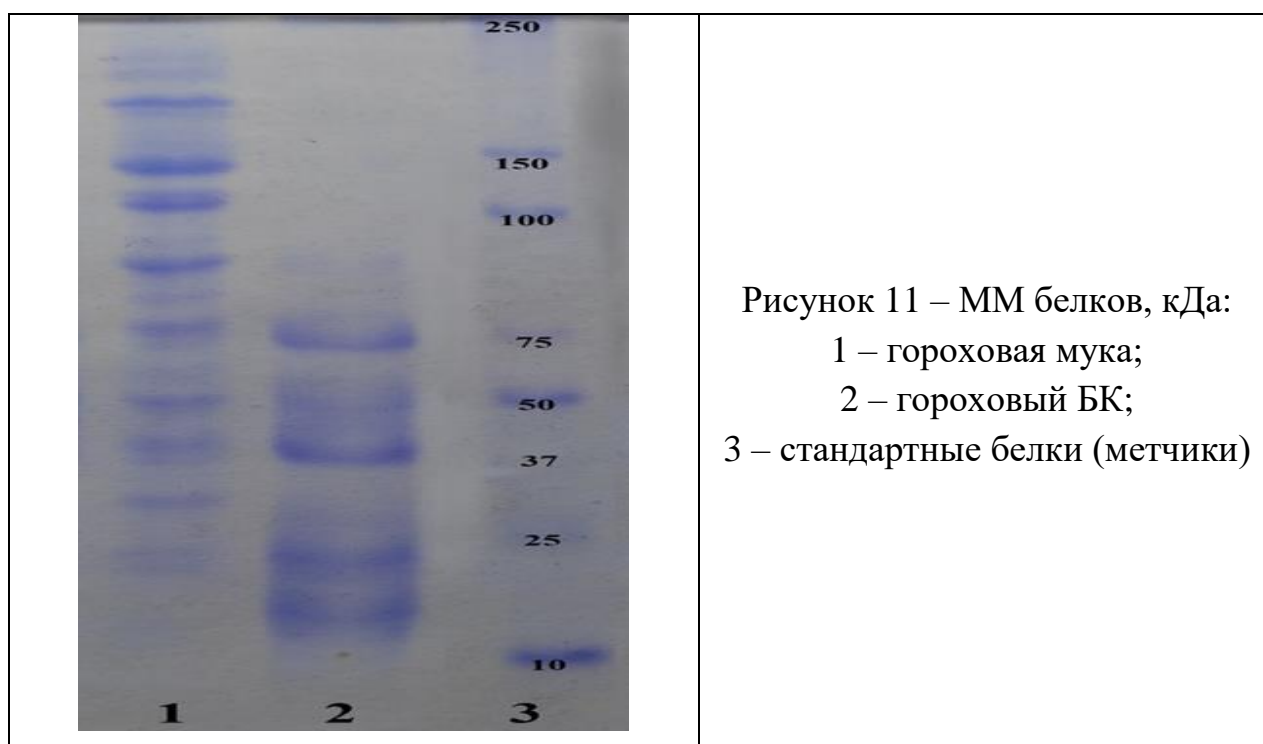


Рисунок 10 – Влияние различных факторов на массовую долю азотистых веществ в растворе (Nх6,25)

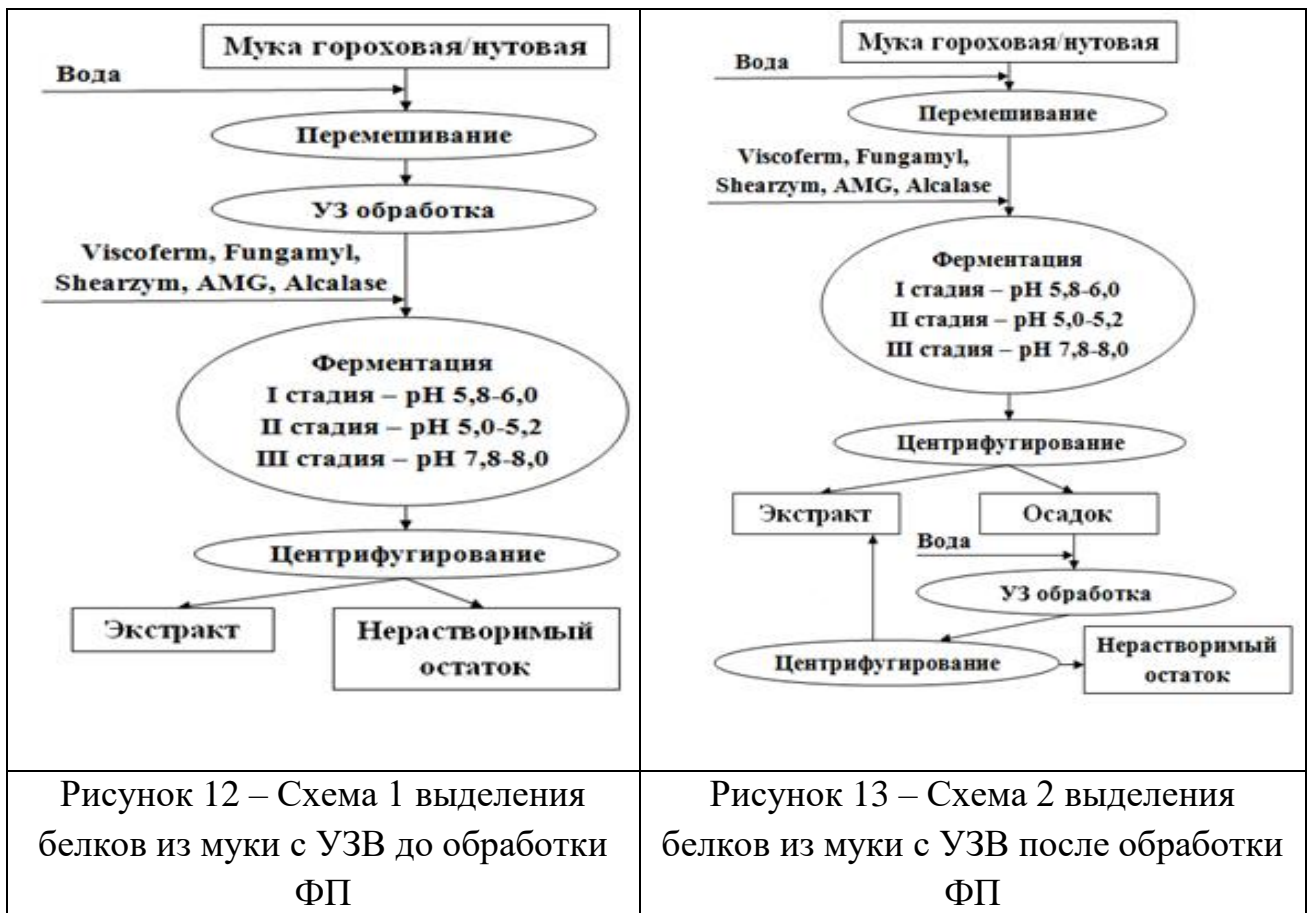
В раствор при этом перешло в 1,72 раза больше белков, чем в опытах с применением одних карбогидролитических ФП. Временем обработки 3 и 4 ч пренебрегли, так как за 2 часа выделилось белка только на 2,0 % меньше, чем при 3 и 4 ч. При воздействии ФП на субстрат в течение 1 ч в раствор перешло белка в количестве $2 \pm 0,03$ мг/см³, при 2 ч – $2,75 \pm 0,06$ мг/см³, а за 4 ч – $2,85 \pm 0,4$ мг/см³. К тому же электрофорезом (Рисунок 11) в 15 % полиакриамидном геле



(ПААГ) при 4 ч обработке гидролиз белков протекал до относительно низкомолекулярных ($15 \div 75-80$ кДа) и следовых количеств высокомолекулярных ($75-80 \div 250$ кДа) компонентов, если сравнить с исходной мукой. Это могло отрицательно повлиять на выход и функциональные свойства белков. В итоге, суммарная растворимость белков со всеми видами ФП составила $60,0 \pm 1,3$ % от общей массы в муке.

3.1.2.3 Влияние ультразвукового воздействия (УЗВ) на растворимость белков

Дальнейшее повышение растворимости белков было достигнуто с использованием УЗВ на мучную суспензию. Обработка выполнялась по двум вариантам: исходной суспензии муки до обработки ее ФП (Рисунок 12) и суспензии нерастворимого остатка, остающегося после удаления белков с ФП (Рисунок 13). Максимальная растворимость белков достигалась при 3-х минутном УЗВ и амплитуде волны 10 мкм (Рисунок 14). Растворимость истинного белка, по сравнению с контролем, повышалась на $19,42 \pm 0,9$ %, общих азотистых веществ – на $20,16 \pm 1,3$ %. При увеличении времени от 4 до 6



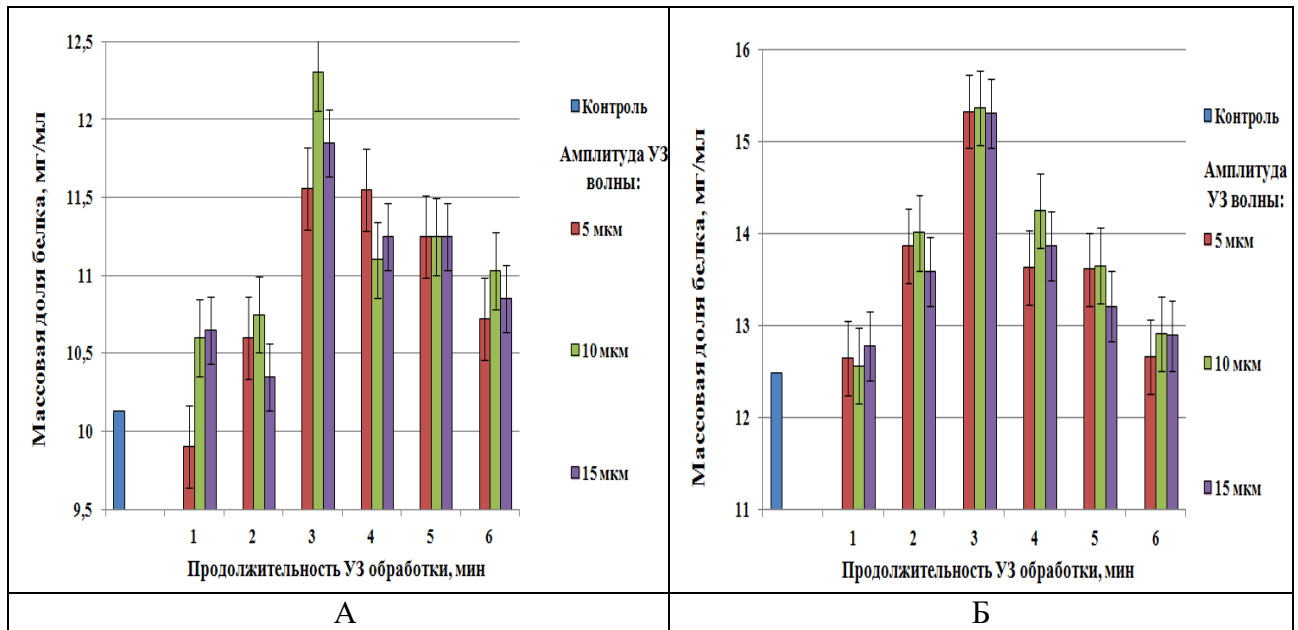


Рисунок 14 – Влияние УЗ обработки мучной суспензии на растворимость: А – истинных белков; Б – общих азотистых веществ

мин и уменьшении до 1–2 мин растворимость белка более низкая, чем при 3 минутной обработке. При значениях УЗВ 5 и 15 мкм растворимость не увеличивалась, как при 10 мкм. В итоге, установлены следующие режимы УЗВ: время – 3 мин, амплитуда волны – 10 мкм. Итоговая растворимость белков муки с ФП и УЗВ составила $84,0 \pm 1,0$ %, с УЗВ нерастворимого остатка, образующегося после обработки мучной суспензии с ФП, растворимость повысилась до 81–84 %. Следовательно, оба варианта обработки УЗ можно рекомендовать для получения белковых препаратов, но во втором варианте дополнительно расходуется вода при гидромодуле 1:15, поэтому данный вариант менее экономичен.

3.1.3 Разработка способа осаждения гороховых белков из экстракта

3.1.3.1 Определение изоэлектрической точки белков

Изоэлектрическая точка белков (pI) – это pH среды, при котором суммарный электрический заряд их равен нулю. Растворы белков в изоэлектрической точке наименее устойчивы, нейтральные молекулы белков легко выпадают в осадок и их осаждение должно быть наиболее полным. Изоэлектрическую точку гороховых белков определяли по коэффициенту

светопропускания (T , %) сыворотки, остающейся после их осаждения, при D_{650} нм (Рисунок 15). Экстракт при различном значении рН помещали в холодильник при $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ на 30 мин для осаждения белков, после чего центрифугировали 20 мин при 5500 мин^{-1} и измеряли коэффициент пропускания на спектрофотометре КФК-2. Значение рН гороховых белков, как и нутовых, соответствовало диапазону 4,0–4,2, при котором коэффициент светопропускания сыворотки достигал 92,8–96,3 %. Значение рН ниже или выше этого диапазона понижало коэффициент светопропускания.

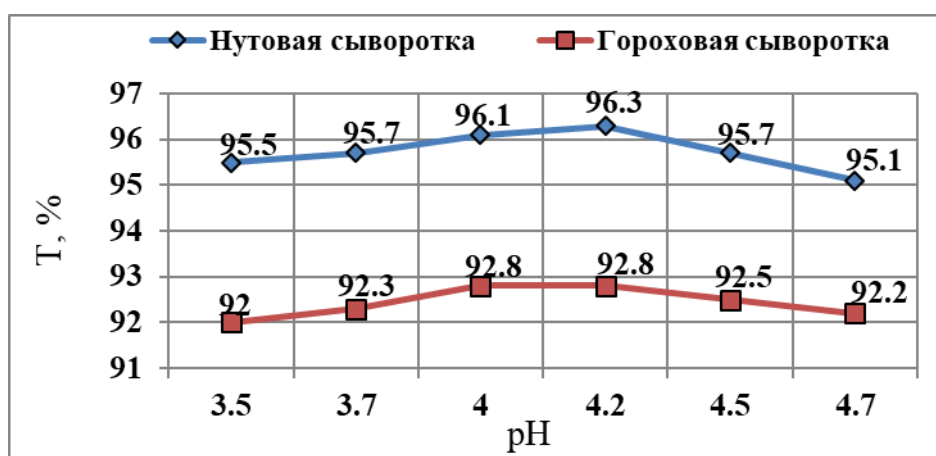


Рисунок 15 – Зависимость коэффициента светопропускания (T , %) сыворотки от рН среды

Степень осаждения белков в изоэлектрической точке составляла 40–44 %. Предположили, что она могла взаимосвязана с ММ белковых компонентов.

3.1.3.2 Молекулярные массы белков на различных стадиях обработки и при выделении их из раствора

Степень осаждения белков из экстрактов могла зависеть от величины их молекулярных масс (ММ), поэтому поставили задачу определение их в целях повышения выхода. ММ определяли электрофоретическим разделением белков на различных стадиях обработки и после осаждения их в изоэлектрической точке (рН 4,2) в оставшейся сыворотке. Выпавшие белки дважды промывали водой, центрифугировали, осадок лиофильно высушивали и определяли присутствие одно-, и многоцепочечных белковых компонентов. Из рисунка 16 видно, что отличаются картины полос, полученных без и с меркаптоэтанолом,

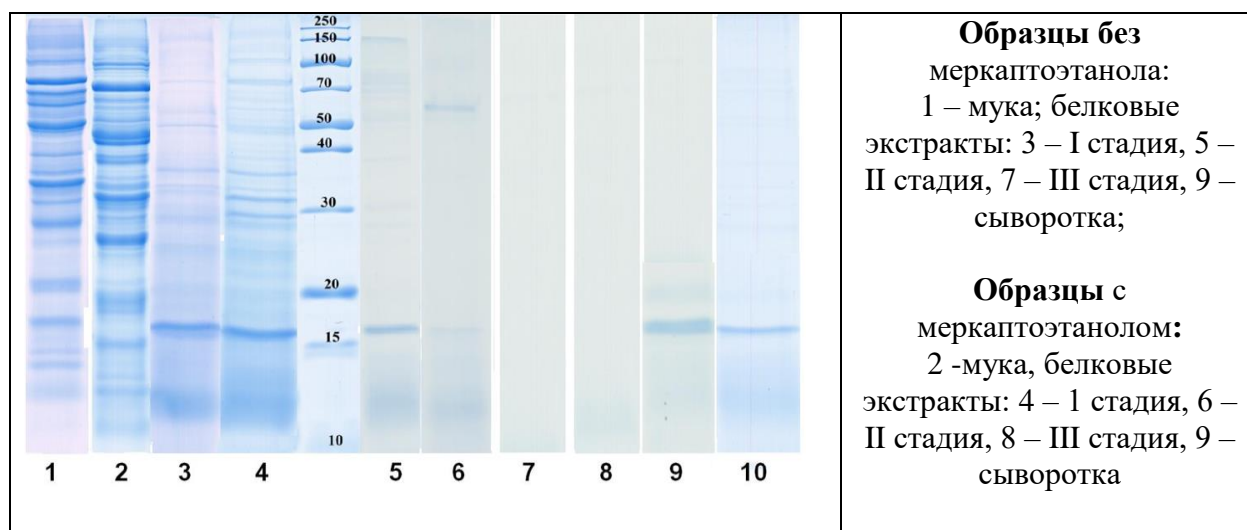


Рисунок 16 – Молекулярные массы гороховых белков и метчиков, кДа

который, как известно, разрывает $-S-S-$ связи в белках и восстанавливает их до $-SH$ групп, что позволяет судить о наличии в них одно-, и многоцепочечных компонентов. Белки исходной муки состояли из 21 субъединицы с ММ от 12 до > 250 кДа. После разрыва $-S-S-$ связей из многоцепочечных компонентов образовывалось 26 одноцепочечных субъединиц, среди которых обнаружены и новые с ММ 70, 50 и 35 кДа.

Экстрагированные белки после I-й стадии с ФП Viscoferm L и Fungamyl 800 L имели ММ 34, 25 и 10–15 кДа. При переходе от I-й ферментативной стадии обработки к II-й с Shearzym 500 L и AMG 300 L и от II-й к III-й с Alcalase 2,4 L FG количество компонентов закономерно уменьшалось, в экстракте 3 – обнаружены полосы с низкой ММ (~ 10 кДа), что можно объяснить частичным гидролизом белков под действием протеолитического ФП. В составе экстрактов после II-й, III-й стадии и в сыворотке количество компонентов постепенно уменьшалось. В состав сыворотки входили компоненты с ММ 16–17 и 18–19 кДа, которые после воздействия на них меркаптоэтанола имели те же ММ (~ 16 кДа), что свидетельствовало о наличии в ней большого количества одноцепочечных трудноосаждаемых полипептидов с низкой ММ. Данные свидетельствуют о необходимости дальнейшей разработки специальных способов/приемов для наиболее полной степени осаждения этих компонентов из экстракта.

3.1.3.3 Осаждение белков сыворотки диализом с использованием полиамидной оболочки

Для выделения низкомолекулярных полипептидов из сыворотки с ММ 16–20 кДа использовали полиамидную оболочку марки Амипак (ГОСТ Р 52196-2011). Для этого проводили диализ в течение 3 суток против дистиллированной воды. В осадок выпадало $24,74 \pm 1,10$ % от общего количества белка сырья, что позволило заключить, что общий выход белков из экстракта, полученного с ФП в изоэлектрической точке (pH_I), и из сыворотки после диализа составил $64,74$ – $71,74$ % (Таблица 6). Способ с использованием мембранных установок на практике может быть и выгодным экономически для обеспечения более высокого выхода белка, однако обслуживание таких установок затруднено из-за их специальной очистки.

Таблица 6 – Баланс осаждения белка сыворотки при диализе, %

Образец	Объем сыворотки, см ³	СВ, %	СВ, г	Белок в сыворотке, г	Белок в осадке, г	Выход белка, % от общего в сырье
pH_I	$62,24 \pm 0,44$	$5,2 \pm 0,1$	$3,3 \pm 0,1$	$1,123 \pm 0,052$	$0,404 \pm 0,031$	$44,96 \pm 2,74$
pH_I + диализ	$62,04 \pm 0,20$	$4,8 \pm 0,1$	$3,0 \pm 0,2$	$0,897 \pm 0,048$	$0,613 \pm 0,033$	$68,24 \pm 3,50$

3.1.3.4 Осаждение белков солями кальция и микробной транскляминазой (мТГ)

После осаждения белков в изоэлектрической точке (pH $4,2 \pm 0,05$) из экстракта с их массовой долей $84,0 \pm 1,0$ % в сыворотке оставалось 37 – 44 % белков с низкой молекулярной массой (16–19 кДа). Для повышения степени осаждения белков использовали другой способ: обработку кальциевыми солями лимонной и молочной кислот, учитывая, что последние могут адсорбироваться на белках или образовывать ионные связи с белковыми группами $-\text{COOH}$, $-\text{OH}$. При добавлении цитрата кальция ($\text{Ca}_3(\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7)_2$), при дозировках $0,5$ – $5,0$ % к массе экстракта, количество белка в сыворотке оставалось таким же, как и в контроле, что указывало на его не эффективность (Таблица 7). С 1 %-ным лактатом кальция белка в осадок выпадало на $38,2$ % больше, чем в контроле,

Таблица 7 – Влияние массовой доли солей кальция на содержание белков в сыворотке и на их выход, %

№ п/п	Массовая доля солей, % к экстракту	Белок в сыворотке, мг/см ³		Выход белков, %	
		Соли кальция			
		Цитрат	Лактат	Цитрат	Лактат
Контроль	0	2,55±0,04	2,04±0,05	100	100
1	0,5	2,68±0,02	1,83±0,04	95,3±0,12	110,3±0,13
2	1,0	2,68±0,06	1,26±0,05	95,2±0,15	138,2±0,22
3	1,5	2,63±0,08	1,65±0,07	96,0±0,90	119,1±0,32
4	2,0	2,60±0,05	1,86±0,06	96,5±0,55	108,8±0,42
5	2,5	2,60±0,11	2,22±0,04	96,6±0,44	95,6±0,52
6	3,0	2,63±0,05	2,20±0,05	95,8±0,35	45,6±0,56
7	5,0	2,70±0,08	2,66±0,03	95,2±0,45	33,8±0,62

общий выход их составил 64,95 % от содержания в сырье. При концентрации соли выше 2 % выход белков закономерно уменьшался, вероятно, из-за их перезарядки и растворения.

Известно, что фермент мТГ, катализирующий образование изопептидной связи между группой γ -карбоксамидов глутаминовых остатков и ε -аминовыми группами лизина в белках, сшивает их в агрегаты [52]. Добавление мТГ к экстракту с содержанием СВ 3,0±0,2 % увеличивало количество белков в осадке на 7,2–27,9 %. Наибольшее увеличение (на 27,9 %) наблюдалось при концентрации ФП 14,88 ед./г СВ экстракта до общего выхода 60,11 % (Рисунок 17).

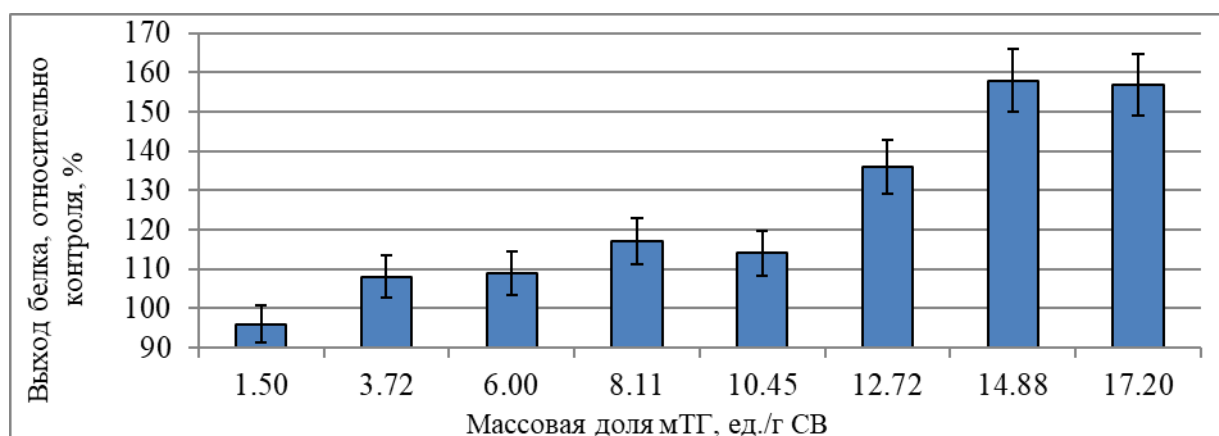


Рисунок 17 – Влияние массовой доли мТГ на выход белков из экстракта

Предполагая, что ионы Ca^{2+} могли выступать в роли активаторов мТГ, установили, что при совместном использовании 1 % лактата кальция и при

концентрации мТГ 4,29 ед./г СВ выход белков из экстракта с СВ = 3,2 % повышался на 30 %, по сравнению с использованием одного лактата кальция, а из сгущенного экстракта с содержанием 20 % СВ, при той же концентрации лактата и концентрации мТГ 8,11 ед./г СВ – на 23 % (Таблица 8).

Таблица 8 – Влияние лактата кальция и мТГ на выход белка при различной массовой доле СВ в экстракте

№ п/п	Массовая доля сухих веществ экстракта, %					
	3,2	20,0	3,2	20,0	3,2	20,0
	мТГ, ед./г СВ		Белок в сыворотке, мг/см ³		Выход белка, %	
Контроль	с 1 % лактата Са		2,20±0,03	15,9±0,04	100	100
1	1,50	1,50	2,36±0,04	15,0±0,03	107±0,34	104±0,21
2	4,29	4,29	1,86±0,03	13,0±0,05	130±0,25	107±0,33
3	6,00	6,00	1,90±0,02	13,9±0,04	115±0,33	110±0,42
4	8,11	8,11	1,70±0,03	12,3±0,03	118±0,41	123±0,56
5	10,45	10,45	2,30±0,04	14,6±0,06	105±0,50	78±0,23
6	12,72	12,72	2,42±0,01	17,0±0,03	110±0,47	72±0,18
7	14,88	14,88	2,36±0,01	17,3±0,04	108±0,35	74±0,27
8	17,20	17,20	2,36±0,03	17,0±0,05	103±0,29	76±0,36

В итоге, к 40–47 % осажденного белка, выделенного в изоэлектрической точке, с лактатом кальция добавилось 17,95 % до 64,95 %, а с 1 %-ным лактатом и 4,29 ед./г СВ мТГ – 37,44 % до общего количества 71,86–84,44 % белка в сырье. Следовательно, появилась возможность получения БК, обогащенных кальцием.

В итоге, по полученным данным определены: средневзвешенный размер частиц муки, параметры ферментативной обработки, УЗВ и осаждения белков из экстракта для получения БК пищевого назначения с выходом 71,86–84,44 % (Таблица 9).

3.1.4 Химический состав и функциональные свойства пищевых белковых концентратов

Химический состав, органолептические и функциональные свойства БК определены в сравнении с гороховыми изолятами, полученными от фирм «Roquette» (Франция), «Cosucra» (Бельгия), а также БК из гороха и нута, полученными обработкой белков раствором 0,05 н NaOH (рН 11). По массовой

Таблица 9 – Технологические параметры получения белкового концентрата

Параметры	Гороховая мука
Подготовка сырья	
Средневзвешенный размер частиц муки, мкм	102±8
УЗ воздействие	
Мощность УЗ, Вт	150
Амплитуда УЗ волны, мкм	10±1
Продолжительность УЗ, мин	3±0,5
Ферментация	
Гидромодуль	1:15
Температура ферментации, °С	55±5
Скорость перемешивания, мин ⁻¹	165±5
Концентрация ФП, % к массе белка / продолжительность ферментации, ч / рН суспензии:	
I стадия (Fungamyl 800 L, Viscoferm L)	1,5/4/5,9
II стадия (Shearzym 500 L, AMG 300 L)	1,5/4/5,1
III стадия (Alcalase 2,4 FG L)	1,0/2/8,0
Осаждение	
Центрифугирование суспензии / экстракта, мин ⁻¹	5750±250
Концентрация лактата кальция, % к массе экстракта	1,0±0,1
Концентрация мТГ, ед./г СВ экстракта	4,29±0,3
рН изоэлектрической точки (P _i)	4,2±0,1

доле белка продукты относились к группе «Концентраты» (Таблица 10). В разработанном гороховом БК, как в нутовом, массовая доля белка была выше, чем в коммерческих изолятах и БК, полученном с раствором щелочи (рН 11),

Таблица 10 – Химический состав белковых продуктов

Способ получения	Влага, %	Массовая доля, % на СВ			
		Белок (Nx6,25)	Зола	Жир	Углеводы
Гороховый БК					
Обработка ФП+ осаждение в рН _I	3,86±0,20	74,40±0,41	3,57±0,07	4,47±0,27	17,56±0,75
Обработка ФП+ осаждение в рН _I с лактатом Са и мТГ	9,14±0,42	86,07±0,19	3,02±0,03	1,76±0,19	9,15±0,41
Обработка 0,05 н NaOH	2,52±0,51	84,28±0,54	2,41±0,04	3,01±0,25	10,30±0,83
Коммерческие гороховые изоляты					
Roquette Nutralys S85F	6,56±0,01	77,58±0,22	4,57±0,05	0,56±0,11	17,29±0,38
Cosucra Pisane C9	6,88±0,01	78,23±2,05	6,29±0,06	0,43±0,07	15,05±2,18
Нутовый БК					
Обработка ФП+ осаждение в рН _I	9,76±0,11	83,22±0,35	0,73±0,04	2,23±0,31	13,82±0,70
Обработка 0,05 н NaOH	1,64±0,47	64,90±1,70	2,67±0,02	20,46±0,1	11,97±1,73

запах и гороховых привкус в разработанных БК отсутствовал.

Обращено внимание на то, что БК, полученные из двух партий муки одного и того же сорта гороха «Ямал», имели различный цвет: из муки урожая зерна 2018 г – темно-коричневый, урожая 2021 г –кремовый. БК из нута имели также разные оттенки цвета (Рисунок 18). БК из обеих культур, экстрагированные раствором щелочи (образцы 4 и 6), имели более темный цвет, по сравнению с БК, полученных биокатализом (образцы 2 и 5). Коммерческие гороховые изоляты (образцы 7 и 8) были более темного цвета, чем БК, полученные с ФП из зерна урожая 2021 года (образцы 2, 3), но светлее, чем БК из муки, смолотой в 2018 году (образец 1). Образец 1 имел темно коричневый цвет, что могло бы ограничить сферы его применения.



Рисунок 18 – Внешний вид БК из: 1, 2 – гороховой муки, 3 – гороховой муки + лактат Са + мТГ, 4 – гороховой муки с обработкой щелочью, 5 – нутовой муки, 6 – нутовой муки с обработкой щелочью, 7 – изолят «Roquette Nutralys S85F», 8 – изолят «Cosucra Pisane C9»

Разница в цвете БК могла быть взаимосвязана: 1 – с реакцией меланоидинообразования между карбонильными группами восстанавливающих сахаров (ВС) и аминокруппами белков и аминокислот; 2 – реакцией меланинообразования при участии –ОН-групп аминокислоты тирозин и фермента тирозиназы; 3 – окислительными реакциями на воздухе –ОН-групп фенольных соединений, в частности фенолокарбоновых кислот и их

производных (ФККиП) [250].

Исходная мука 1 и мука 2 содержала практически одинаковое количество как восстанавливающих сахаров (0,90 и 1,05 % СВ, соответственно), так и аминокислоты лизин – 3,22 и 3,45 г/100 г, что не объясняло различий в цвете за счет реакции меланоидинообразования. Для объяснения механизма потемнения по 2-му варианту белковые экстракты и продукты перед сушкой, кипятили в течение 12–15 минут для инактивации фермента тирозиназы. Улучшения цвета БК при этом не наблюдалось. Для объяснения появления коричневого цвета за счет 3-го типа реакции определили массовую долю ФККиП в муке и БК и установили, что массовая доля ФККиП, выраженная в % на СВ и в мг/г продукта, не коррелировала с цветом БК, тогда как рассчитанная в мг/г белка – отражала эти особенности (Таблица 11).

Таблица 11 – Массовая доля ФККиП в муке и белковых концентратах

Продукт	Цвет продукта	D ₅₉₀ нм	Белок, % на СВ	Массовая доля ФККиП	
				% на СВ	мг/г белка
Гороховая мука и концентраты					
Мука - 1	светло-желтый	0,390	20,38±0,81	1,14±0,03	56,00±0,2
Обработка ФП+ осаждение в рН ₁ – 1	темно- коричневый	0,080	71,78±0,53	1,08±0,01	15,05±0,31
Мука – 2	светло-желтый	0,080	20,20±0,69	0,02±0,01	9,89±0,14
Обработка ФП+ осаждение в рН ₁ – 2	кремовый	0,040	72,80±0,63	0,02±0,01	2,78±0,24
Обработка ФП+ осаждение в рН ₁ с лактатом Са и мТГ	кремовый	0,040	86,07±0,19	0,11±0,02	1,28±0,28
Обработка 0,05 н NaOH	желтый	0,075	84,28±0,54	1,10±0,18	13,1±0,22
Коммерческие гороховые «изоляты»					
Roquette Nutralys S85F	светло- коричневый	0,115	77,58±0,22	11,1±0,11	14,3±0,46
Cosucra Pisane C9	светло- коричневый	0,105	78,23±2,05	10,89±0,14	13,9±0,22
Нутовая мука и концентраты					
Мука – 3	желтый	0,380	19,27±0,42	1,11±0,53	54,49±0,32
Обработка ФП+ осаждение в рН ₁ – 3	желтый	0,080	83,22±0,35	1,17±0,02	14,1±0,41
Обработка 0,05 н NaOH	темно-желтый	0,095	64,90±1,70	1,02±0,08	15,7±0,31
Коэффициент корреляции между D ₅₉₀ нм водного раствора и массой ФККиП мг/г белка (r) = 0,897					

Примечание: Внешний вид и цвет продуктов представлен на рисунке 18

При этом установлено, что чем меньше в муке содержалось ФККиП, тем меньше их было в светлом концентрате (БК-2). В БК-2 и БК с лактатом Са и мТГ кремового цвета, полученном из муки 2, содержащей в 5,6 раза меньше ФККиП, по сравнению с мукой 1, количество ФККиП также в 5,4 раза содержалось меньше, чем в темно-коричневом БК-1.

Гороховый и нутовый БК, белки которых выделены 0,05 н NaOH из тех же сортов муки, имели темный цвет, по сравнению с БК, полученным с ФП. Оптическая плотность их водных растворов выше, как и содержание ФККиП (13,1–15,7, против 2,78–14,1 мг/г белка). Следовательно, в щелочной среде могли протекать окислительные процессы с образованием темноокрашенных соединений. Коммерческие гороховые изоляты также имели более темный цвет и большую оптическую плотность, что указывало, вероятно, на щелочную обработку, либо на повышенное содержание ФККиП в исходном сырье.

Из данных аминокислотного состава горохового БК следовало, что сумма незаменимых аминокислот в нем была равна 26,21 г/100 г (Рисунок 19).

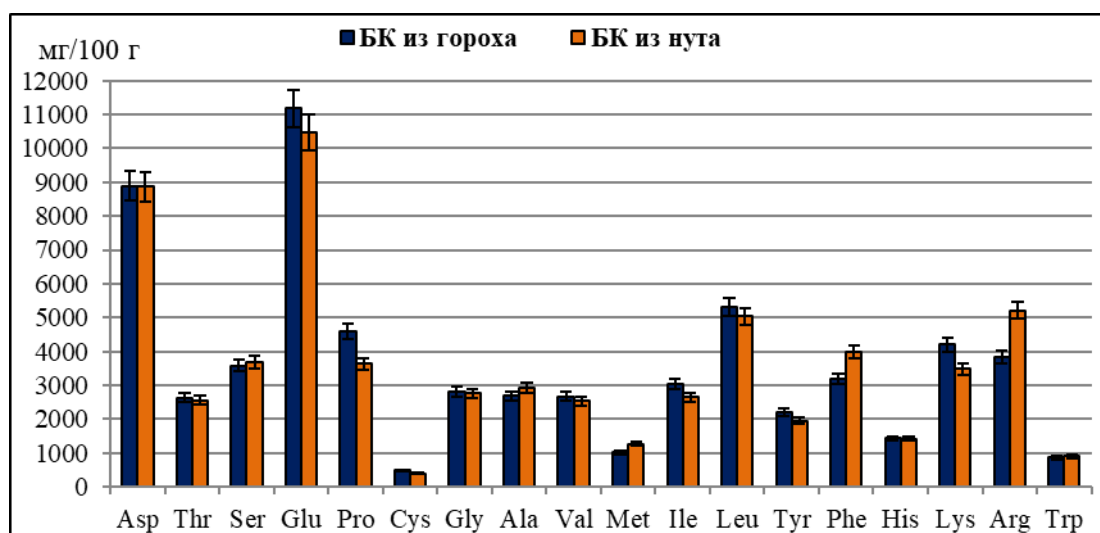


Рисунок 19 – Аминокислотный состав горохового и нутового БК

Значения аминокислотного сора для всех незаменимых аминокислот были выше 100 % (Таблица 12). С поправкой на усвояемость белка (PDCAAS) (88 %), показатель биологической ценности у горохового БК был выше, чем у нутового (96 %, против 76 %), что указывало на высокое качество концентрата.

Активность уреазы, коррелирующая с содержанием ингибиторов протеаз, в гороховых БК равнялась 0–0,01 ед. рН, что указывало на их безопасность [30].

Таблица 12 – Аминокислотный состав и скор белковых концентратов, %

Гороховый концентрат								
Незаменимые аминокислоты, мг/г продукта								
Вал	Гис	Изо	Лей	Лиз	Мет+Цис	Тре	Три	Фен+Тир
26,72	14,32	30,24	53,04	42,03	15,20	26,24	8,66	54,08
Аминокислотный скор, %								
110	144	166	144	145	109	160	212	183
Нутовый концентрат								
Незаменимые аминокислоты, мг/г продукта								
25,38	14,28	26,53	50,42	34,80	16,64	25,66	9,04	59,43
Аминокислотный скор, %								
86	120	120	111	100	100	136	184	195

Из данных минерального состава горохового БК (Таблица 13) следовало, что в нем, по сравнению с мукой, сконцентрировались Na (в 3,1 раза), Ca (в 1,9 раза), Fe (в 16,7 раза), Co (в 7 раз), но уменьшилось содержание K, Mg, Mn; количество токсичных металлов находилось в пределах нормы [251].

Таблица 13 – Содержание макро- и микроэлементов в зерне и БК

№	Элементы	Гороховая мука	Концентрат
1	Натрий, мг/100г	33,0±2,5	103±7
2	Калий, мг/100г	872±10	259±14
3	Кальций, мг/100г	115,2±1,5	219±14
4	Магний, мг/100г	106,5±2,0	10,3±0,7
5	Железо, мг/100г	6,80±1,3	114±8
6	Цинк, мг/100г	3,18±0,31	3,10±0,25
7	Медь, мг/100г	0,74±0,06	0,36±0,02
8	Марганец мг/100г	1,70±0,08	0,51±0,04
9	Кобальт, мкг/100г	13±1	92±2
10	Никель, мкг/100г	242±11	190±16
11	Кадмий, мг/кг	0,026±0,006	0,086±0,005
12	Хром, мг/кг	0,007±0,002	≤0,005
13	Молибден, мг/кг	0,074±0,001	≤0,040
14	Свинец мг/кг	0,750±0,003	≤0,041

Для определения направлений использования концентратов определены функционально-технологические свойства (ФТС) 3-х БК, полученных разными способами, в сравнении с коммерческими «изолятами» (Таблица 14). Показано, что свойства исследуемых БК находились на уровне свойств БК, полученных из зерновых культур (пшеница, рожь, рис) [252, 253]. У светлого БК ВСС была

выше на 12,5–14,3 %, по сравнению с темным БК и концентратом, белки которого осаждали с лактатом кальция+мТГ. Темный БК и коммерческие

Таблица 14 – Функционально-технологические свойства концентратов

Образец	ВСС, г/г	ПОС, %	СП, %	ЖСС, г/г	ЖЭС, %	СЭ, %	Р, %	ФККиП, мг/г белка
Гороховые концентраты								
БК (темный)	2,44±0,03	91±1	10±1	2,25±0,03	56±3	51±3	13±1	15,05±0,71
БК (светлый)	2,79±0,04	48±1	35±1	2,24±0,01	52±2	53±3	11±1	2,78±0,24
БК + лактат Са и мТГ (светлый)	2,48±0,03	63±1	45±1	2,14±0,08	56±2	57±1	14±1	1,28±0,28
Коммерческие гороховые «изоляты»								
Roquette Nutralys S85F	5,47±0,11	81±3	75±2	2,59±0,08	52±1	51±1	30±1	14,3±0,46
Cosucra Pisane C9	6,16±0,03	109±3	82±2	1,88±0,06	48±2	47±2	20±1	13,9±0,22

Примечание: ВСС – водосвязывающая способность; ЖСС – жиросвязывающая способность; ПОС – пенообразующая способность; СП – стабильность пены; ЖЭС – жироземмульгирующая способность; СЭ – стабильность эмульсии; Р – растворимость

изоляты с повышенным содержанием ФККиП имели более высокую ПОС. Меньшие значения ВСС и СП у темного горохового БК согласовывались с данными, полученными другими авторами для БК из коричневого риса, содержащими также повышенное количество ФККиП [253]. Точка гелеобразования у светлого горохового БК равнялась 25 %, у изолята фирмы Roquette – 15 % (Рисунок 20).

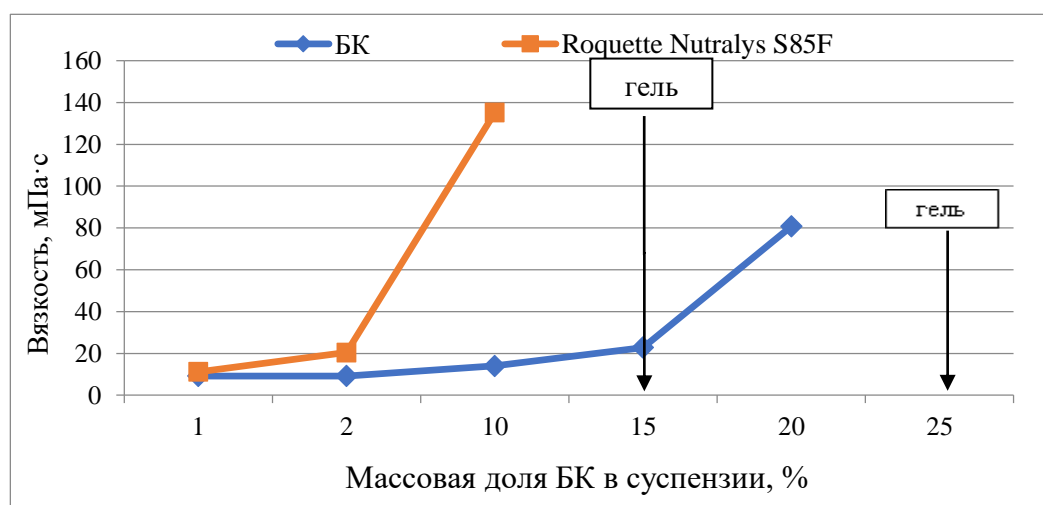


Рисунок 20 – Точка гелеобразования образцов горохового белка

С целью улучшения качества и расширения ассортимента белковых концентратов осуществляли ферментативную модификацию ФТС горохового БК методом ограниченного протеолиза. Ферментативная модификация белков достаточно хорошо себя зарекомендовала для регулирования ФТС других белковых продуктов [252, 253]. Опыты проводились на примере горохового БК с массовой долей белка 74 %. Гидролиз осуществляли в течение 3 ч эндопротеиназным ФП Protamex и в течение 3 ч с Flavourzyme 500 MG – ФП комбинированного эндо- и экзопротеиназного действия. ФП являлись также эффективными регуляторами ФТС белков пшеницы и риса [252, 253].

Для выбора условий ферментации ФП использовали следующие оптимальные параметры: температура 50–55 °С, pH 5,8–6,0, концентрация субстрата 25 %, ФП – 1,5 Е/г [253]. По истечении времени гидролиза дисперсии центрифугировали, сушили лиофильно и определяли ФТС. После протеолиза, с увеличенным в 2,9 раза количеством аминного азота, на 87 % увеличивалась ПОС и в 2 раза – стабильность пены, на 15 % повысилась ЖСС, растворимость – на 27 % (Таблица 15). Остальные свойства не изменялись.

Таблица 15 – Функциональные свойства нативного и модифицированного БК

Образец	Влага, %	Белок (Nx6,25), %	ВСС, г/г	ПОС, %	СП, %	ЖСС, г/г	ЖЭС, %	СЭ, %	Р, %
1	3,86±0,20	74,40±0,41	2,79±0,04	48±1	35±1	2,24±0,01	52±2	53±2	11±1
2	2,42±0,31	79,12±0,29	2,82±0,01	90±1	73±3	2,57±0,02	51±1	47±5	14±1

Примечание: 1 – нативный БК; 2 – модифицированный БК

Учитывая, что ФТС концентратов могли зависеть от особенностей структуры белков [27], для горохового БК, в сравнении с нутовым БК, определены элементы вторичной структуры методом кругового дихроизма и взаимосвязь их с функциональными свойствами. В таблице 16 представлены характеристики вторичной структуры белковых препаратов с практически одинаковым цветом. Измерения проводились в растворе 0,05 М уксусной кислоты при 20 °С и концентрации белков от 0,10 до 0,16 мг/см³. В горохом БК содержалось в 7 раз больше регулярной и нерегулярной α – спиралей и в 2 раза больше

параллельной β – структуры. Однако, нутовый концентрат содержал в 1,26–6,0 раз больше белков с антипараллельными Z_{10} – спиральями (левозакрученная, правозакрученная, релаксированная). Скрученные β – изгибы и другие виды вторичной структуры присутствовали в одинаковых количествах. Следовательно,

Таблица 16 – Элементы вторичной структуры белков горохового и нутового БК, % от суммы структур

Гороховый БК (кремовый)		Нутовый БК (светло-желтый)	
α – Спираль – 7,2±0,3	Регулярная - 3,0±0,1	α – Спираль – 0,1±0,005	Регулярная – 0,1±0,0
	Нерегулярная - 4,2±0,2		Нерегулярная – 0,00
Антипараллельная Z_{10} - спираль – 26,9±0,5	Левозакрученная – 0,8±0,1	Антипараллельная Z_{10} -спираль – 39,2±0,5	Левозакрученная – 4,7±0,1
	Релаксированная – 12,6±0,4		Релаксированная – 17,6±0,4
	Правозакрученная – 13,4±0,5		Правозакрученная – 16,9±0,5
Параллельная β – структура – 7,1±0,3		Параллельная β – структура – 3,0±0,2	
Свернутая β – изгибы – 14,5±0,6		Свернутая β – изгибы – 14,8±0,7	
Другие – 44,3±0,7		Другие – 42,9±0,6	
Пенообразующая способность – 48±0,5 %		Пенообразующая способность – 85±1 %	
Стабильность пены – 35±1%		Стабильность пены – 10±0,5 %	

пониженная пенообразующая способность, но высокая стабильность пены БК, в большей степени была обусловлена параллельной β – структурой, регулярной и нерегулярной α – спиральями и меньшим количеством ФККиП.

3.2 Перевариваемость белковых концентратов *in vitro*

Гороховый БК исследован на перевариваемость *in vitro*, в сравнении с яичным альбумином и нутовым БК. В кислом буферном растворе (рН 2,2) использовали ФП пепсин, в щелочном (рН 8,4) – панкреатин (Рисунок 21). Белки горохового БК в течение 6 часов гидролизировались интенсивнее, чем альбумин, как с пепсином, так и с панкреатином: гороховые в 1,7 раза, нутовые – в 1,5 раза.

Таким образом, обладая свойствами эмульгировать, связывать жир, воду, стабилизировать эмульсию, ограниченно растворяться в водной среде, образовывать гели, хорошо перевариваться и быть безопасным, БК можно использовать в производстве различных видов пищевых изделий: хлебобулочных, кондитерских, молочных, макаронных и т.д.

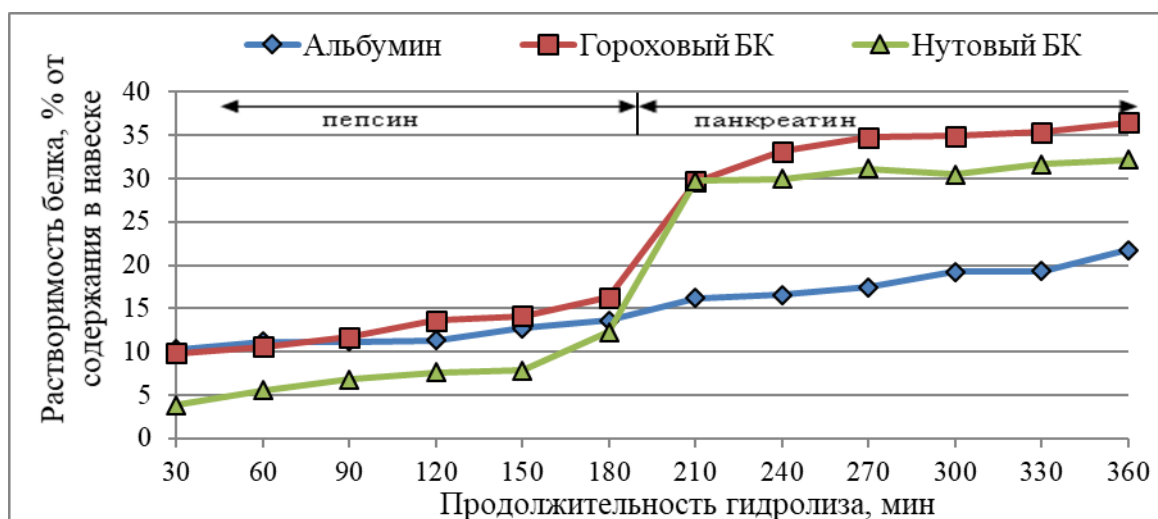


Рисунок 21 – Перевариваемость белковых концентратов и яичного альбумина

3.3 Биоконверсия вторичных продуктов переработки гороховой муки

3.3.1 Биоконверсия сыворотки с консорциумом микроорганизмов

В целях разработки комплексной биотехнологии переработки гороховой муки на белковые концентраты, исследована биоконверсия жидкой сыворотки, остающейся после осаждения белков из экстракта в изоэлектрической точке. Микроорганизмы выбирали из дрожжей родов *Pichia*, *Rhodotorula*, *Hansenula*, *Saccharomyces* и микромицетов *Geotrichum*, *Penicillium*, используемых в сыроделии. Активно росли на сыворотке представители родов *Pichia*, *Saccharomyces*; *Hansenula* развивался слабо. Для исследований выбрали дрожжи *S. cerevisiae* 121 и микромицет *G. candidum* 977 в соотношении 1:1, из которых на 2-х сутки роста формировался консорциум.

Показано, что наиболее эффективным для роста был диапазон pH 6,0–6,5; при более низких pH (4,5–5,0) или более высоких (7,5–8,0) рост микроорганизмов замедлялся. Культура *G. candidum* 977 изменяла pH среды в процессе роста до слабощелочных значений. Морфология клеток монокультур и смешанной культуры представлена на рисунке 22. При отдельном выращивании дрожжей и микромицета на гороховой сыворотке белок синтезировался в количестве, соответственно, 50,23 и 16,39 % на СВ, тогда как при совместном – $57,90 \pm 0,51\%$ на СВ, на нутовой сыворотке – $52,27 \pm 0,72\%$.

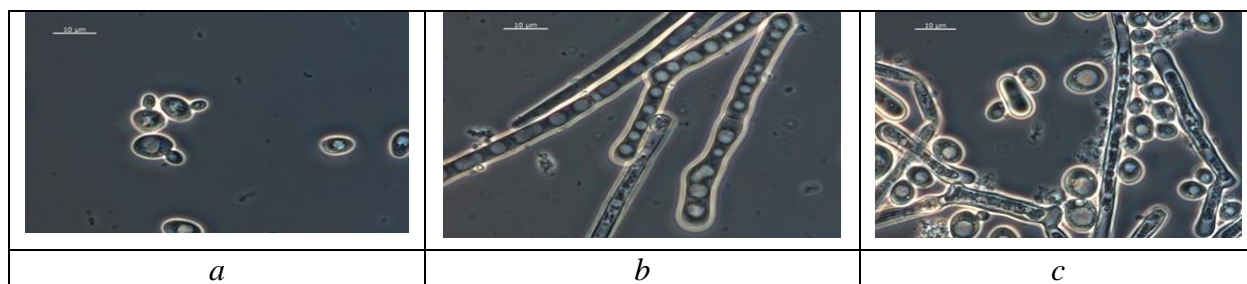


Рисунок 22 – Клетки монокультур и их консорциума: *S. cerevisiae* (a), *G. candidum* 977 (b), *S. cerevisiae* + *G. candidum* 977 (c)

Количество СВ, как и белка, наиболее высокое при культивировании консорциума (1:1) на сыворотке (Таблица 17).

Таблица 17 – Массовая доля белка в биомассе микроорганизмов

Биомасса с культурами	Сухие вещества, %	Массовая доля белка, % на СВ (Nx6,25)
<i>G. candidum</i> 977	17,49±0,21	16,39±0,31
<i>S. cerevisiae</i> 121	19,21±0,34	50,23±0,42
<i>G. candidum</i> 977 + <i>Sacch. cerevisiae</i> 121	18,89±0,41	57,90±0,51

Для выявления оптимальных параметров pH среды, температуры, количества посевного материала на рост биомассы составлен план эксперимента в виде латинских квадратов. Матрица эксперимента приведена в таблице 18.

Таблица 18 – Матрица планирования эксперимента роста культур на сыворотке

№ п/п	pH	Температура, °C	Посевной материал, %	Биомасса, г/дм ³
1	5	20	3	0,611
2	5	25	2	0,816
3	5	30	1	0,757
4	5	35	4	0,570
5	6	20	4	0,776
6	6	25	3	0,774
7	6	30	2	0,711
8	6	35	1	0,573
9	7	20	1	0,791
10	7	25	4	0,811
11	7	30	3	0,708
12	7	35	2	0,413
13	8	20	2	0,616
14	8	25	1	0,751
15	8	30	4	0,553
16	8	35	3	0,313

В таблице 19 приведены значения коэффициентов регрессии и уровень значимости p . Все коэффициенты уравнения значимы ($p \leq 0,05$), коэффициент корреляции $r = 0,9644$, что указывало на адекватное описание данных (Таблица 20). Расчетные данные по уравнению (3), абсолютная ошибка и корреляционный график приведены в таблице 20 и на рисунке 23.

Таблица 19 – Коэффициенты регрессии и уровень значимости p

Factor	Regr. Coefficients; Var.:md; R-sqr=,9644; Adj,93325 (Spreadsheet1) 3 factors, 1 Blocks, 16 Runs; MS Residual=,0014517 DV: md					
	Regressn Coeff.	Std.Err.	t(8)	P	-95, % Cnf.Limt	+95, % Cnf.Limt
Mean/Interc.	-2,93662	0,593210	-4,95040	0,001120	-4,30457	-1,56868
(1) pH (L)	0,54434	0,133016	4,09228	0,003475	0,23760	0,85107
pH(Q)	-0,03563	0,009525	-3,74006	0,005705	-0,05759	-0,01366
(2)t(L)	0,18057	0,023871	7,56456	0,000065	0,12553	0,23562
t(Q)	-0,00304	0,000381	-7,99191	0,000044	-0,00392	-0,00217
(3) cm (L)	-0,14700	0,054163	-2,71404	0,026492	-0,27190	-0,02210
cm(Q)	0,02756	0,010471	2,63238	0,030067	0,00342	0,05171
1L by 2L	-0,00447	0,001739	-2,57322	0,032962	-0,00849	-0,00046

Таблица 20 – Экспериментальные, расчетные данные и абсолютная ошибка

№ п/п	Данные		Абсолютная ошибка
	Эксперимент	Расчет	
1	0,611	0,647450	-0,036450
2	0,816	0,762500	0,053500
3	0,757	0,780425	-0,023425
4	0,570	0,554225	0,015775
5	0,776	0,756350	0,019650
6	0,774	0,793900	-0,019900
7	0,711	0,734325	-0,023325
8	0,573	0,577625	-0,004625
9	0,791	0,775625	0,015375
10	0,811	0,809175	0,001825
11	0,708	0,672100	0,035900
12	0,413	0,437900	-0,024900
13	0,616	0,631775	-0,015775
14	0,751	0,734825	0,016175
15	0,553	0,593750	-0,040750
16	0,313	0,282050	0,030950

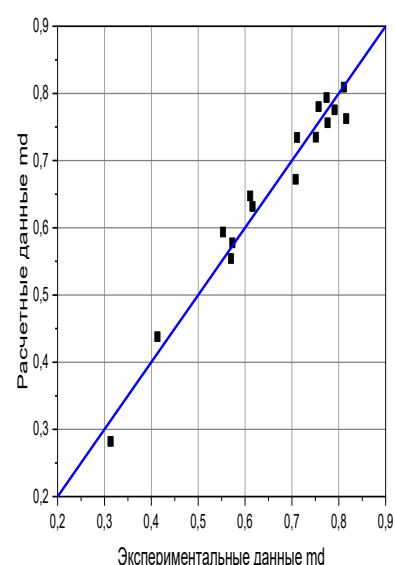


Рисунок 23 –
Корреляционный график

Из уравнения (3) в программе Mathematica 12.1 определены зависимость массовой доли биомассы md от влияющих факторов и их оптимальные значения для максимального выхода биомассы: рН среды – 6,03, $t = 25,7$ °С, количество посевного материала $cm = 4$ %.

Уравнение:

$$md = -2.94 + 0.544 pH - 0.0356 pH^2 + 0.181 t - 0.003 t^2 - 0.147 cm + 0.0276 cm^2 - 0.00447 pH t \quad (3)$$

где: рН – рН среды, t – температура, °С, cm – количество посевного материала, %.

При более низких значениях рН (4,5–5,0) или более высоких (7,5–8,0) рост микроорганизмов замедлялся. На рисунке 24 *a* (3D) и *b*) приведены закономерности изменения количества биомассы от рН, температуры среды (t , °С) при концентрации посевного материала $cm = 4$ %. На этом же рисунке 24 *c*)

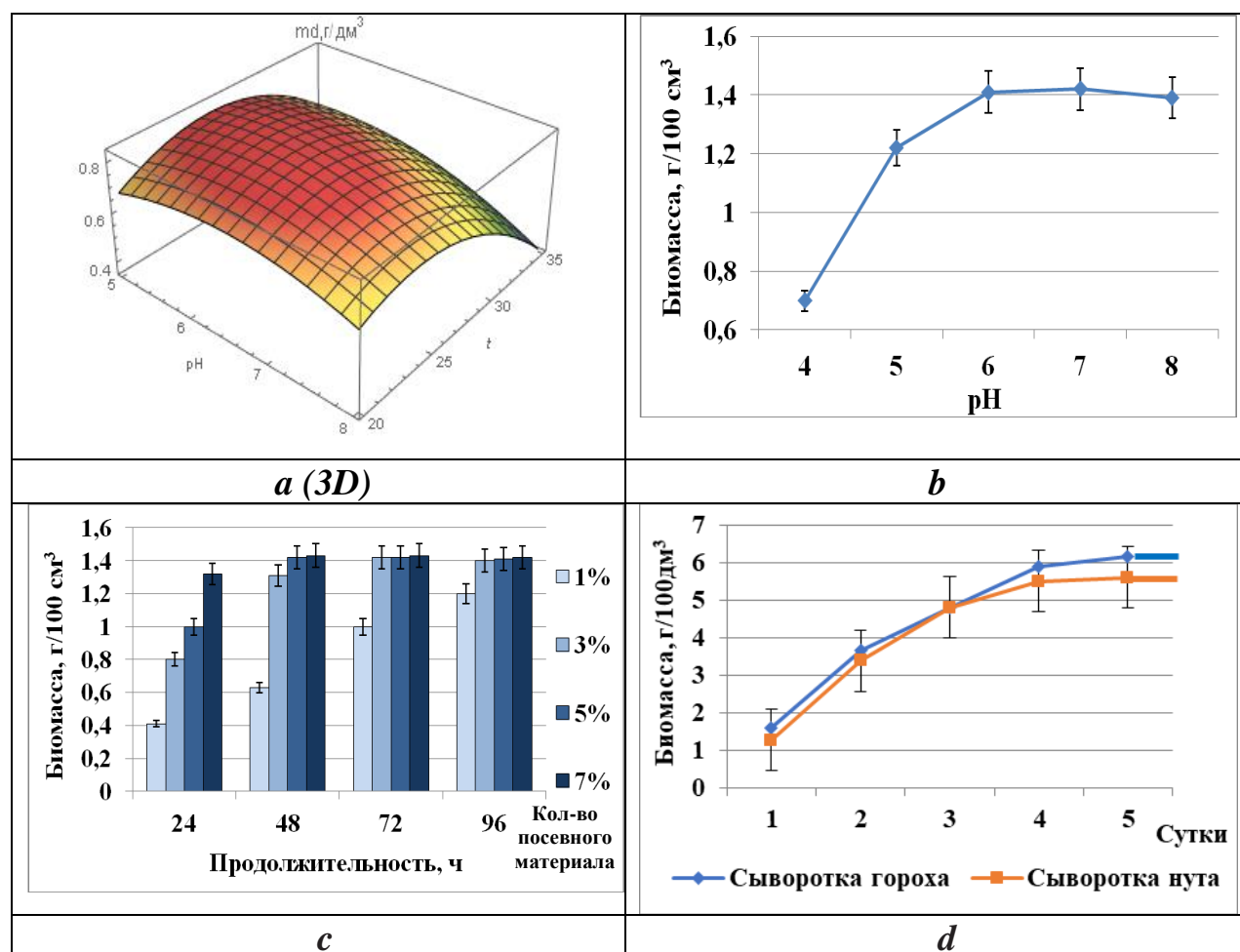


Рисунок 24 – Зависимость массовой доли биомассы культур от: *a* (3D), *b* – рН и температуры среды; *c* – продолжительности и количества посевного материала; *d* – при оптимальных параметрах роста

представлена зависимость выхода от продолжительности роста при количестве посевного материала от 1 до 7 %, а на риунке 24 (*d*) – количества биомассы в процессе роста при всех оптимальных параметрах.

Для обоснования факторов роста биомассы исследован углеводный состав экстрактов на различных стадиях выделения белка и исходной сыворотки. Из таблицы 21 видно, что после 2-й стадии обработки белков с ФП количество высокомолекулярных соединений (ВМС), по сравнению с 1-й

Таблица 21 – Массовая доля углеводов в продуктах ферментации, % от общих

Продукт	ВМС	Раффиноза, стахиоза	Сахароза, мальтоза	Глюкоза	Фруктоза, галактоза, ксилоза	Арабиноза
Из гороховой муки						
Экстракт 1 стадия	23,43	23,93	0/31,81	10,11	8,40	2,31
Экстракт 2 стадия	21,12	11,95	6,70/12,33	20,48	24,79	2,64
Экстракт 3 стадия	14,77	20,27	8,99/ 10,91	13,89	28,39	2,78
Сыворотка	13,01	26,38	0/14,98	9,66	32,06	4,90

стадией уменьшилось на 2 %, три- и тетрадисахаридов – почти в 2 раза, при этом на 36 % увеличилось количество глюкозы, в 3 раза – фруктозы, галактозы, ксилозы, на 14 % – арабинозы. Под влиянием протеаз на 3-й стадии доля ВМС уменьшилась уже на 37 %, дисахаридов – на 38 %, и в 3,4 раза увеличилось количество моносахаридов (фруктоза, галактоза, ксилоза), часть из которых, вероятно, образовалась при гидролизе гемицеллюлоз.

В сыворотке преобладали галактоза, ксилоза, фруктоза, раффиноза, стахиоза, содержались также мальтоза, глюкоза, арабиноза, т.е. продукт содержал низкомолекулярные моносахариды, которые являлись компонентами питательной среды для микроорганизмов.

В процессе синтеза биомассы за 4–5 суток микроорганизмы полностью усваивали глюкозу, большую часть ксилозы, арабинозы, галактозы, фруктозы; сумма их в культуральной жидкости уменьшилась более, чем в 10 раз (Таблица 22). Раффиноза, стахиоза, арабиноза почти не израсходовались. Наличие

сахарозы в культуральной жидкости возможно было связано с гидролизом α -1 \rightarrow 6- гликозидной связи между остатками галактозы и сахарозы в молекуле раффинозы.

Таблица 22 – Углеводный состав сыворотки и культуральной жидкости в процессе роста (4 суток)

Рост биомассы, сутки	Углеводный состав в, % от общего количества						
	ВМС	Раффиноза, стахиоза	Сахароза	Мальтоза	Глюкоза	Ксилоза, галактоза, фруктоза	Арабиноза
	Сыворотка						
	13,01 \pm 0,43	26,38 \pm 1,2	0,0	14,98 \pm 2,3	9,66 \pm 1,2	32,06 \pm 1,6	4,90 \pm 0,2
	Культуральная жидкость						
1	57,56 \pm 0,10	26,00 \pm 0,81	4,73 \pm 0,21	8,21 \pm 0,07	0,0	0,0	3,51 \pm 0,41
2	53,78 \pm 0,09	33,30 \pm 0,70	0,0	8,07 \pm 0,06	0,0	0,0	4,86 \pm 0,13
3	55,88 \pm 0,08	28,28 \pm 1,20	3,05 \pm 0,50	7,79 \pm 0,08	0,0	0,0	5,02 \pm 0,05
4	58,47 \pm 1,10	27,04 \pm 0,92	0,0	10,05 \pm 0,10	0,0	0,0	4,45 \pm 0,33

Росту биомассы способствовало также и наличие в сыворотке небелкового азота (\sim 17,3 %), и белковых компонентов с низкой ММ (10 \div 25 кДа) (Рисунок 16). Если мука содержала компоненты с ММ от 15 до $>$ 250 кДа, состоящие из одноцепочечных белков (ММ от 10 до 150 кДа), соединенных –S–S– связями, то сыворотка, как показано ранее, имела в своем составе только одноцепочечные низкомолекулярные пептиды (ММ 16–25 кДа). Сформированный на сывороточной среде из клеток *S. cerevisiae* и *G. candidum* 977 консорциум (Рисунок 25) обеспечивал сбалансированный химический состав препаратов из биомассы (КД-1) и из биомассы с культуральной жидкостью (КД-2). Препараты представляли собой порошки светло-кремового

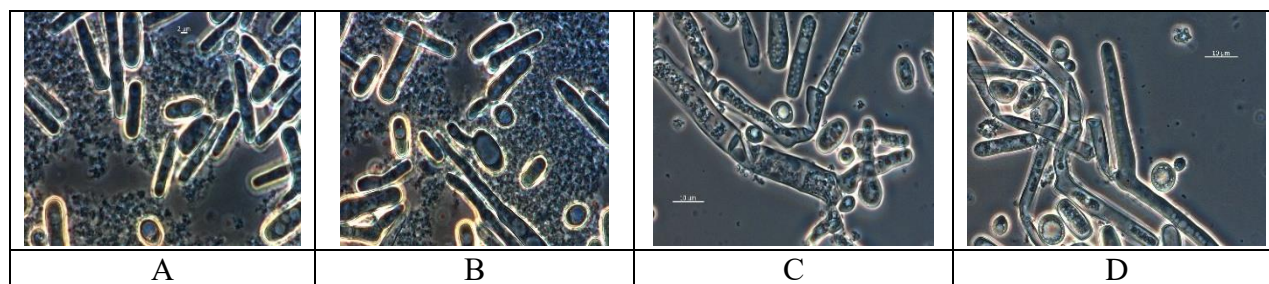


Рисунок 25 – Клетки *S. cerevisiae* 121 и *G. candidum* 977 в процессе роста на сыворотке: А, В – 24 ч; С, D – 48 ч

цвета без горохового запаха. Химический состав КД–2, полученный из биомассы с культуральной жидкостью, включал, % на СВ: белок (N×6,25) – $61,68 \pm 0,4$, зольные элементы – $8,60 \pm 0,03$, жир – $8,31 \pm 0,36$, углеводы – $21,41 \pm 0,55$; в состав КД–1 из биомассы входили: белок (N×6,25) – $70,48 \pm 0,41$, зольные элементы – $1,55 \pm 0,07$, жир – $4,47 \pm 0,27$, углеводы – $24,5 \pm 0,76$.

3.3.2 Гидролиз крахмалобелкового остатка и биоконверсия его с сывороткой

Для утилизации нерастворимого крахмалобелкового остатка (НКБО), образующегося после отделения белкового экстракта от мучной дисперсии, определен химический состав (Таблица 23), разработаны параметры гидролиза и условия микробной биоконверсии с консорциумом тех же микроорганизмов. Основными компонентами НКБО являлись крахмал и некрахмальные полисахариды. Гидролиз НКБО выполнен с 2,5 % HCl при гидромодуле 1:8, температуре 95 °С, в течение 4 часов и перемешивании при 4000 мин⁻¹.

Таблица 23 – Химический состав нерастворимого крахмал-белкового остатка

Влажность, %	Массовая доля, % на СВ				
	Белок (N×6,25)	Зола	Жир	Крахмал	Клетчатка, гемицеллюлозы
$11,37 \pm 0,37$	$7,07 \pm 2,80$	$0,63 \pm 0,02$	$2,89 \pm 0,23$	$61,30 \pm 0,4$	$28,11 \pm 0,41$

Наибольшее количество в гидролизате СВ, восстанавливающих сахаров (ВС) и растворимого белка (Рисунок 26) образовалось при рН 1,8, крахмал при этом гидролизовался с преобладанием мальтодекстринов (Таблица 24). После

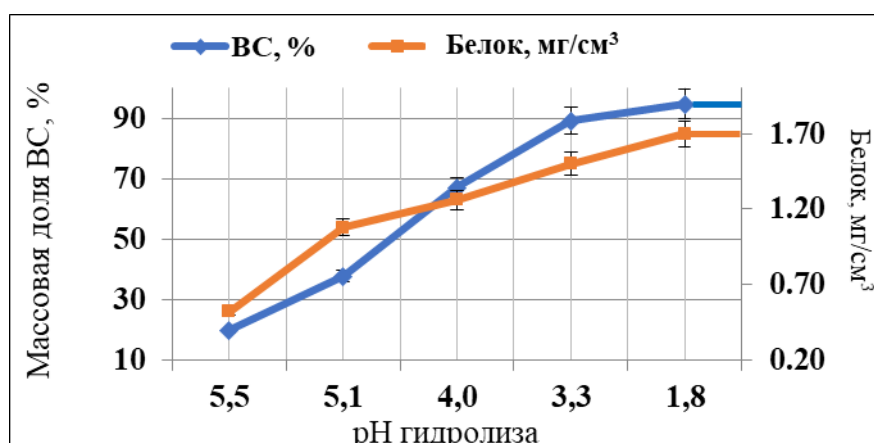


Рисунок 26 – Влияние рН гидролиза на массовую долю белка в гидролизате

гидролиза pH суспензии корректировали до 6,0–6,5, центрифугировали, стерилизовали ее при 1 атм, 125 ± 2 °С в течение 15 мин, затем засеивали *S. cerevisiae* 121 и *G. candidum* 977. Культуры культивировали 4 суток, после чего их инактивировали при 95 ± 5 °С в течение 15 мин.

Внешний вид биомассы представлен на рисунке 27. Чем выше была степень гидролиза НКБО (мальтодекстрины – образец №1), тем больше массовая доля белка в биомассе. При гидролизе с pH 1,8 количество его было

Таблица 24 – Состав декстринов при различном pH гидролиза НКБО

Показатель	Контроль (без гидролиза)	Амило- декстрины	Эритро- декстрины	Ахро- декстрины	Мальто- декстрины
СВ, %	4,0	4,6	5,0	5,0	6,4
pH	5,5	5,1	4,0	3,3	1,8
Белок, % на СВ	8,05	8,90	11,75	12,71	17,69

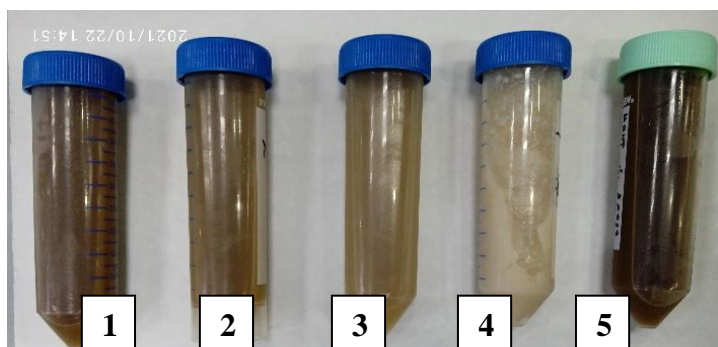


Рисунок 27 – Внешний вид микробной суспензии, полученной при разном pH: 1 – 1,8; 2 – 3,3; 3 – 4,0; 4 – 5,1; 5 – контроль (без гидролиза)

больше в 2,2 раза, чем в контроле (образец №1). Повышение белка в суспензии сопровождалось относительным увеличением в культуральной жидкости количества ВМС (с 43,34 % в контроле до 80,32–90,0 % в опытах), отсутствием глюкозы и, практически, всей мальтозы (Таблица 25). Наличие неусвоенной фруктозы в жидкости отмечено при всех значениях pH гидролиза, а арабинозы и ксилозы – при гидролизе НКБО с pH 1,8.

Таблица 25 – Углеводный состав культуральной жидкости

№ п/п	pH гидролиза	Углеводный состав, % от общего количества					
		ВМС	Олигоса- хариды	Мальтоза	Глюкоза	Фруктоза	Арабиноза, ксилоза
1	Контроль	43,34±0,1	0	1,28±0,5	55,38±0,5	0	0
2	4,0	90,0±0,9	6,03±0,8	0	0	3,43±0,3	0
3	3,3	80,32±0,4	15,52±0,6	0,41±0,1	0	3,47±0,2	0
4	1,8	86,74±1,1	2,43±0,9	0,33±0,3	0	3,49±0,5	7,06±0,1

Совместная биоконверсия НКБО и сыворотки сводилась к следующему: в сыворотку вносили НКБО в количестве 2–10 % к ее массе и проводили кислотный гидролиз при рН 1,8–2,0 в течение 25–30 мин при температуре 110–129 °С и давлении 1 атм. Доводили рН системы до 6,5–6,7, выдерживали при температуре 110–120 °С в течение 15–20 мин и охлаждали. Добавляли композицию *S. cerevisiae* 121 и *G. candidum* 977 в соотношении 1:1 в количестве 3–5 % к массе питательной среды и ферментировали в течение 3–4 суток. После ферментации суспензию нагревали до температуры 90–100 °С в течение 10–20 мин и лиофильно высушивали до влажности 5–8 %. В процессе роста микроорганизмов из ВПП полностью усваивались стахиоза, мальтоза, сахароза, арабиноза, больше, чем на половину – глюкоза, и почти вся фруктоза, галактоза и ксилоза (Таблица 26).

Таблица 26 – Углеводный состав ВПП гороха и КД, % от общих

Продукт	ВМС	Мтетраоза, (стахиоза)	Мтриоза, (раффиноза)	Сахароза, Мальтоза	Глюкоза	Фруктоза, галактоза ксилоза	Арабиноза
ВПП	32,01	26,38	0	14,98	9,66	12,06	4,90
КД	68,83	0	26,21	0	3,87	1,09	0

Высушенный концентрат представлял собой рассыпчатый порошок светло-кремового цвета с приятным запахом дрожжей. Концентрат содержал на СВ: белка 47–51 %, углеводов 33–35 %, из них растворимых волокон – 15–17 %, липидов – 2–4 %, зольность – 5–8 %.

3.3.3 Химический, биохимический состав и кормовая ценность дрожжей

Химический состав дрожжей из сыворотки (КД-1) и сыворотки с НКБО (КД-2) приведен в таблице 27. КД-1, полученный из одной сыворотки, содержал почти на 10 % больше белка и жира – в 4 раза, но меньше на 41–47 % растворимых и нерастворимых волокон, по сравнению с КД-2.

Наряду с высоким содержанием белка (51,09–64,10 %), КД имели ценный аминокислотный состав. В КД-1 из сыворотки состав в большей степени представлен глютаминовой, аспарагиновой кислотами, пролином, глицином, аланином, в КД-2 из сыворотки и НКБО – глютаминовой, аспарагиновой

Таблица 27 – Химический состав КД из ВПП гороховой муки

Продукт	Влажность, %	Массовая доля, % на СВ				
		Белок (Nх6,25)	Зола	Жир	Волокна	
					растворимые	нерастворимые
КД из вторичных продуктов переработки муки						
КД-1	6,81±0,4	61,68±0,47	8,60±0,03	8,31±0,36	7,13±0,55	14,27±0,44
КД-2	6,81±0,4	51,09±0,47	8,60±0,03	2,04±0,19	10,51±0,55	20,48±0,35

кислотами, аланином, лизином, лейцином (Рисунок 28). Аминокислотный скор указывал на высокую биологическую ценность КД-1 (107–226 %), тогда как у КД-2 высокий скор наблюдался для гистидина, лизина, треонина, серосодержащих и ароматических аминокислот (81–128 %) (Таблица 28).

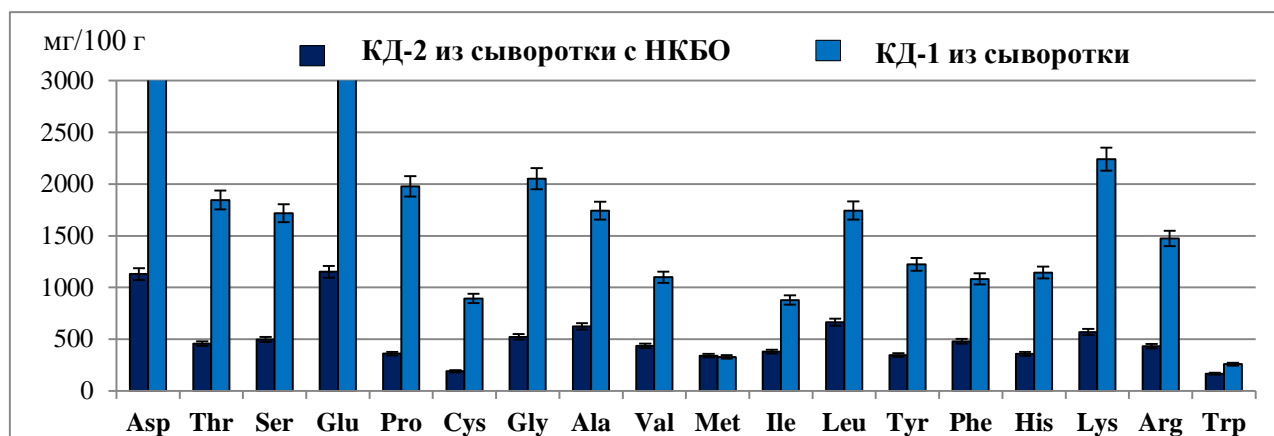


Рисунок 28 – Аминокислотный состав дрожжей из ВПП гороховой муки

Таблица 28 – Аминокислотный скор КД из сыворотки, %

Продукт	Скор незаменимых аминокислот, %									
	Вал	Гис	Изо	Лей	Лиз	Мет+ Цис	Тре	Три	Фен+Тир	
	Гороховые КД									
КД-1	107	219	124	107	116	226	179	247	197	
КД-2	98	124	91	90	81	93	128	100	100	

Жирнокислотный состав КД-2 из гороховых ВПП представлен 19 соединениями (Таблица 29), среди которых на долю жирных кислот, входящих также в состав растительных масел и животных жиров, приходилось 90,0 %. Соотношение в КД суммы насыщенных (26,2 %) и ненасыщенных жирных кислот (72,75 %) равнялось 1:3, содержание омега-6 жирных кислот – 20,64 %. Содержание цис-изомеров в дрожжах составляло 93,95 %, транс-изомеров – менее 5,0 %. По составу жирных кислот КД приближались к пищевым маслам и

жирам. Минеральный состав КД-2 представлен 14 макро- и микроэлементами (Таблица 30). По сравнению с белковыми концентратами пищевого назначения,

Таблица 29 – Жирнокислотный состав кормовых дрожжей из ВПП гороха

№	Жирнокислотный состав	Доля, %	№	Жирнокислотный состав	Доля, %
1	Каприновая кислота C _{10:0}	0,11	11	Гипогеиновая кислота C _{16:1(7)}	0,59
2	Ундекановая кислота C _{11:0}	0,06	12	Пальмитиновая кислота C _{16:0}	15,71
3	(R) - 3,4 Метиледимоксимета мфетамин C ₁₁ H ₁₅ NO ₂	0,19	13	Пальмитолеиновая кислота C _{16:1(9)}	3,82
4	Лауриновая кислота C _{12:0}	0,31	14	10-гептадеценная кислота C _{17:1(10)}	0,66
5	Азелаиновая кислота C ₉ H ₁₆ O ₄	0,10	15	Маргариновая кислота C _{17:0}	0,54
6	1- Нонадецен C _{19:1(9)}	0,86	16	Олеиновая C _{18:1(9)}	42,26
7	10- Метилдодекановая кислота C ₁₃ H ₂₆ O ₂	0,05	17	6- октадеценная кислота Петрозелиновая кислота C _{18:1(6)}	4,51
8	Миристовая кислота C _{14:1(9)}	0,27	18	Стеариновая кислота C _{18:0}	7,42
9	Миристиновая кислота C _{14:0}	1,43	19	Линолевая кислота C _{18:2(9,12)}	20,64
10	Пентадекановая кислота C _{15:0}	0,47			

КД содержали больше макроэлементов: в 11 раз натрия, в 7 раз калия, в 9 раз кальция, в 12 раз магния, в 4,5 раза цинка, но меньше – железа. Зольность составляла 8,45±0,02 %.

Таблица 30 – Содержание макро- и микро элементов в КД из ВПП муки

№	Элемент	Содержание
1	Натрий, мг/100г	1163±81
2	Калий, мг/100г	1844±100
3	Кальций, мг/100г	2000±120
4	Магний, мг/100г	121±8
5	Железо, мг/100г	6,30±0,46
6	Цинк, мг/100г	14,0±1,2
7	Медь, мг/100г	1,12±0,04
8	Марганец мг/100г	1,56±0,08
9	Кобальт, мкг/100г	57±2
10	Никель, мкг/100г	440±36
11	Свинец, мг/кг	≤0,001
12	Кадмий, мг/кг	0,171±0,009
13	Хром, мг/кг	≤0,005
14	Молибден, мг/кг	≤0,04

Нуклеиновые кислоты в дрожжах, выращенных на сыворотке с *G. candidum* 977 + *S. cerevisiae* 121, содержались в количестве 5,20±0,97 мг/100 г или 0,005 % к массе продукта, в КД, выращенных на сыворотке с НКБО – 71,72±0,49 мг/100 г (0,072 % к массе продукта). Активность уреазы в дрожжах,

по которой оценивают присутствие ингибиторов протеаз [30], как и в БК, практически отсутствовала (0,02–0,03 ед. рН), перевариваемость КД составляла 85,73–89,74 %.

На примере дрожжей подтверждена зависимость цвета препаратов, обнаруженная для пищевых БК, от массовой доли ФККиП (Таблица 11). Для этого в линейку сравнения включили и препараты из ВПП нута. Гороховый кормовой образец КД-1 светло-желтого цвета (Рисунок 29) содержал меньше в 13,7 раза фенольных соединений, чем светло-коричневый КД-2 (Таблица 31).

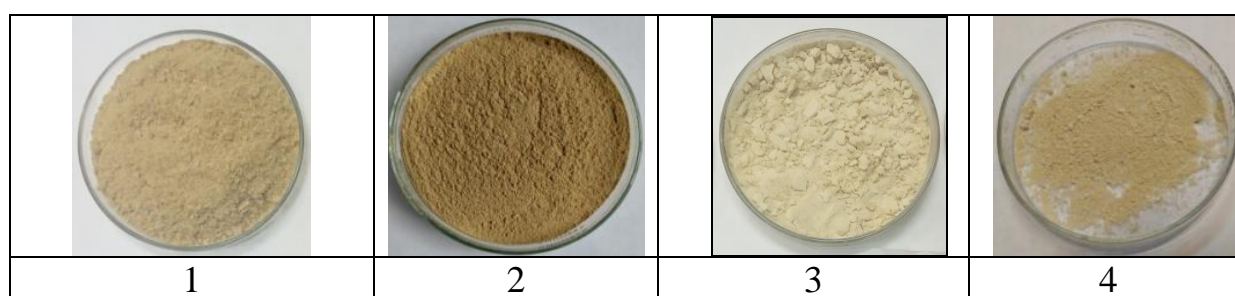


Рисунок 29 – Внешний вид кормовых дрожжей: гороховый 1 – КД-1, 2 – КД-2; нутовый 3 – КД-1, 4 – КД-2

Высокое содержание в нутовой муке ФККиП также сопровождалось большим их количеством в КД-2 темно-желтого цвета (Таблица 9). Коэффициент корреляции между оптической плотностью водных растворов всех анализированных продуктов пищевого и кормового назначения, измеренной при D_{590} нм, и массовой доле ФККиП, отнесенной к 1 г белка, равнялся ($r=0,897$), что указывало на высокую взаимосвязь показателей. Полученные данные состава, питательной ценности и безопасности КД позволили их рекомендовать для рецептов кормовых добавок для различных животных.

Таблица 31 – Массовая доля ФККиП в кормовых дрожжах

Продукт	Цвет продукта	D_{590} нм	Белок, % на СВ	Массовая доля ФККиП	
				% на СВ	мг/г белка
Дрожжи из горохового субстрата					
КД-1 из сыворотки	светло-желтый	0,040	61,68±0,47	1,12±0,03	2,85±0,38
КД-2 из сыворотки и НКБО	светло-коричневый	0,100	51,09±0,47	1,11±0,02	39,14±0,85
Дрожжи из нутового субстрата					
КД-2 из сыворотки и НКБО	темно-желтый	0,085	47,15±0,62	1,11±0,03	26,68±0,55

3.4 Технологическая схема и баланс биотехнологической переработки гороховой муки на белковые концентраты

По полученным данным разработана схема комплексной биотехнологической переработки гороховой муки на БК и КД (Рисунок 30). Процессы переработки гороховой муки включал биотехнологические способы получения пищевых БК и кормовых дрожжей. Процесс получения пищевого

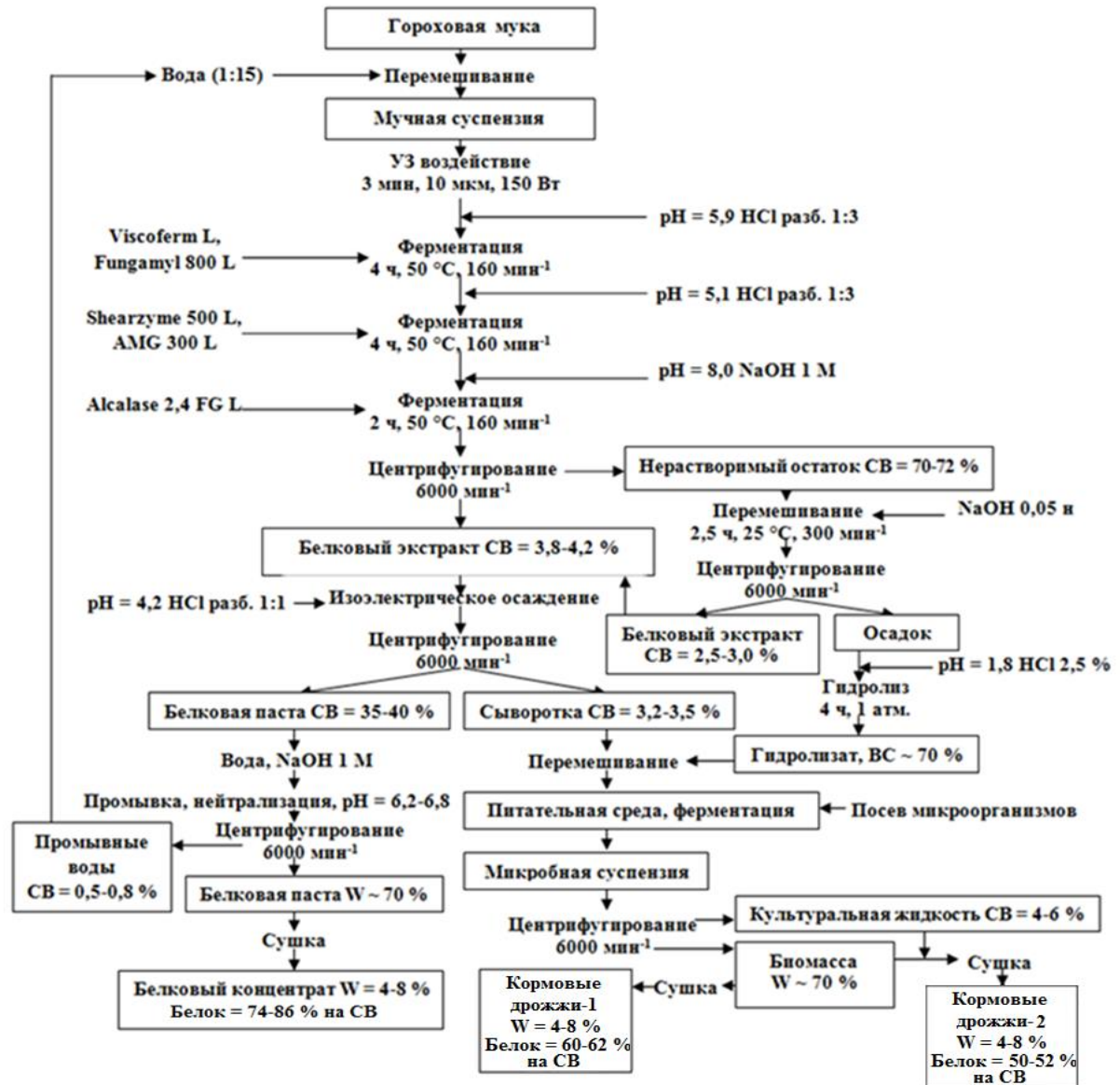


Рисунок 30 – Схема комплексной переработки гороховой муки на белковый концентрат и кормовые дрожжи

белкового концентрата апробирован в условиях ООО «Биопрогресс» (Приложение 2), процесс биоконверсии ВПП – в ЦКП ФНЦ «Фундаментальные основы биотехнологии» (Приложение 3). Общий баланс по стадиям процесса

переработки муки на основании проверки, представлен в таблице 32. Основные стадии включали: получение мучной суспензии, УЗВ; обработку суспензии ФП гидролитического действия при оптимальных и рациональных режимах (ферментация), центрифугирование; получение ВПП муки, центрифугирование;

Таблица 32 – Баланс сухих веществ и белка по стадиям комплексного процесса

Продукт	Масса, кг			Общий белок		
		СВ, %	СВ, кг	% на СВ	кг	Выход, %
Загружено:	92,5					
Мука гороховая	7,0	88,4	6,12	25,7	1,59	100
Вода	99,5	-	-	-	-	0
Получено:						
Перевод белка в растворенное состояние						
Экстракт после УЗ	7,01	1,52	0,107	46,92	0,05	3,16
Экстракт 1 стадия	9,36	1,60	0,150	40,08	0,06	3,77
Экстракт 2 стадия	12,5	1,80	0,225	40,09	0,09	5,66
Экстракт 3 стадия	56,13	3,54	1,985	61,24	1,216	76,47
Общий экстракт	85,0				1,416	89,06
Остаток	14,23	17,26	2,46	7,07	0,1737	10,92
ИТОГО					1,5897	99,98
Потери					0,0003	0,02
Изоэлектрическое осаждение белка						
БК	3,05	29,87	0,91	74,45	0,678	42,64
Высушенный БК	0,935	96,14	0,899	74,45	0,669	42,10
Потери					0,012	0,54
Гороховая сыворотка	80,88	3,30	2,669	27,60	0,736	46,29
ИТОГО					1,402	88,18
Потери					0,002	0,13
Общие потери					0,0107	0,67
Осаждение в изоэлектрической точке с лактатом кальция и мТГ						
БК	5,03	27,45	1,382	86,07	1,189	74,79
Высушенный БК	1,478	91,86	1,358	86,07	1,169	73,53
Потери					0,02	1,26
Гороховая сыворотка	80,30	3,0	2,409	9,32	0,225	14,12
ИТОГО					1,394	87,65
Потери					0,022	1,41
Общие потери					0,0423	2,69
Биоконверсия <i>S. cerevisiae</i> 121 и <i>G. candidum</i> 977 на сыворотке + осадок						
Загружено:	95,11		5,129		0,91	57,23
Сыворотка	80,88	3,30	2,669	27,60	0,736	46,29
Остаток	14,23	17,26	2,46	7,07	0,174	10,92
Получено:						
Суспензия биомасса+ культуральная жидкость	22,45	7,20	1,616	57,11	0,923 (+0,13)	58,05
Высушенные дрожжи	1,602	97,39	1,560	57,41	0,8957	56,33
Потери					0,027	3,0
ИТОГО общий выход белка					1,565	98,43

смешивание экстрактов, кислотный гидролиз остатка; осаждение белка из экстракта, центрифугирование; промывку и нейтрализацию белкового осадка, центрифугирование; получение белковой пасты, сушку БК; возврат промывных вод на обработку новой партии муки; смешивание гидролизата остатка с сывороткой; ферментацию, центрифугирование; сушку биомассы и культуральной жидкости с получением КД.

Выход общего белка ($N \times 6,25$) в растворе с ФП до осаждения белков составил около 89 %. После осаждения с лактатом кальция и ФП трансглутаминазой он был равен 74,79 %, что выше показателя, известного из практики работы известных технологий и установок (~ 60 %). С учетом белков в составе сухих кормовых дрожжей общий их выход составил ~ 98,43 %.

Ориентировочный экономический расчет производства 1 т белкового концентрата и 1,25 т кормовых дрожжей из гороховой муки показал, что себестоимость 1 кг концентрата – 850 руб, кормовых дрожжей – 58,3 руб, чистая прибыль производства от 1 т концентрата и 1,25 т дрожжей может составить 211,73 тыс. руб с рентабельностью производства 22,94 % и окупаемостью 6,1 месяцев (Приложение 7).

3.5 Способ получения и рецептура кисломолочного продукта с гороховым белковым концентратом

С учетом ВСС, ЖЭС, способности к гелеобразованию и химического состава горохового БК разработан способ приготовления и проект рецептуры кисломолочного продукта типа йогурта с целью обогащения напитка растительным полноценным белком и минеральными веществами. Принципиальная схема его приготовления приведена на рисунке 31. Молоко кипятили и охлаждали до 35 °С, затем готовили эмульсию из БК, подсолнечного масла «Кубанское» и 10% молока от общего его количества при различных соотношениях компонентов. Смесь гомогенизировали при 6000 мин⁻¹ в течение 5 минут и исследовали ее стабильность. Наиболее стабильной (96±1 %) эмульсия была при соотношении БК, масла и молока – 2,2:1,5:21

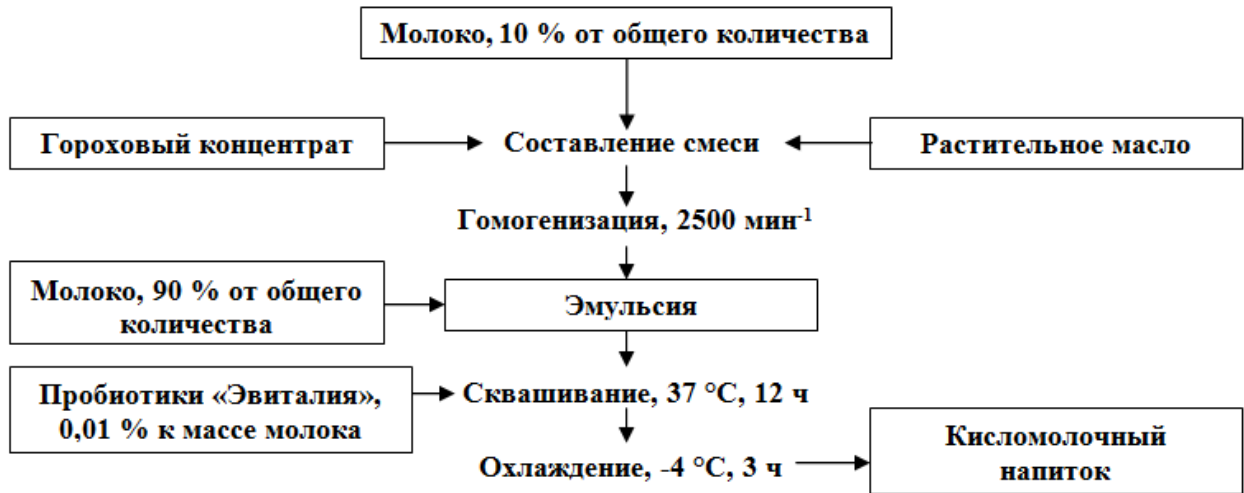


Рисунок 31 – Принципиальная технологическая схема получения кисломолочного напитка

(Таблица 33). Увеличение массовой доли молока выше данного соотношения понижало ее стабильность. Эмульсию добавляли, заквашивали пробиотиками в количестве 0,01 % к массе молока. Систему гомогенизировали при 2500 мин⁻¹ в

Таблица 33 – Влияние соотношения компонентов на стабильность эмульсии

Соотношение БК: масло: молоко	Стабильность эмульсии, %
2,2:1,5:10	23±1
2,2:1,5:15	56±2
2,2:1,5:20	90±1
2,2:1,5:21	96±1
2,2:1,5:22	92±2
2,2:1,5:23	88±2

течение 3 мин, ферментировали в термостате при 37 °С в течение 2–12 ч, охлаждали при -4 °С в течение 3 ч и исследовали её вязкость (Таблица 34). 12-ти часовая ферментация увеличивала вязкость суспензии до 355 мПа·с, образуя равномерную консистенцию кисломолочного напитка без расслоения. По органолептическим и физико-химическим показателям продукт отвечал требованиям на момент изготовления и на конец срока годности. Консистенция продукта однородная, вкус – кисломолочный, без постороннего запаха, в том числе горохового. Цвет изделия был молочно-белый, равномерный по всей массе. Титруемая кислотность на момент изготовления составляла 80 град. Тернера, на конец срока годности (7 суток) – 86 град. Активная кислотность,

pH – 4,92. Микробиологические показатели напитка: КМАФАнМ, КОЕ/см³, не менее 3×10^7 , плесени и дрожжи не обнаружены. На конец хранения – pH 5,03, КМАФАнМ, КОЕ/см³ – $7 \times 10^7 \pm 2 \times 10^7$, плесени и дрожжи не обнаружены.

Таблица 34 – Влияние продолжительности ферментации на вязкость суспензии

Продолжительность ферментации, ч	Вязкость суспензии, мПа·с
2	206±2
4	242±2
6	260±4
8	275±2
10	293±4
12	355±2

Состав и пищевая ценность напитка и его ингредиентов с БК приведены в таблице 35, пищевая ценность – в таблице 36. Продукт содержал на 87 % больше биологически ценного белка, по сравнению с контрольным продуктом (ГОСТ 32981-2013) и в 2,5 раза больше растительного жира, не содержащего холестерин. Количество кальция в продукте с БК содержалось больше на 12 %, калия – на 14 %, цинка – в 1,5 раза, меди – в 4 раза и почти в 112 раз больше железа, чем в контроле. При употреблении 100 г продукта суточная потребность в железе будет покрываться на 63–100 %. Кисломолочный напиток содержал сбалансированные белки, жиры и минеральные элементы, поэтому

Таблица 35 – Состав и пищевая ценность ингредиентов кисломолочного продукта, на 100 г продукта

Показатели	Ингредиенты			
	Молоко	Масло подсолнечное	Гороховый БК	Всего
Массовая доля, г	85,30	5,85	8,85	100,0
Белок, г	2,56	0,0	6,20	8,76
Жир, г	2,14	5,84	0,33	8,31
Углеводы, г	4,01	0,0	1,42	5,43
Ca, мг	102,4	0,0	36,6	139
K, мг	124,5	0,0	45,5	170
Mg, мг	11,9	0,0	3,1	15
Fe, мг	0,06	0,0	10,1	10,16
Zn, мг	0,34	0,0	0,27	0,61
Cu, мг	10,0	0,0	32,0	42,0
Энергетическая ценность, ккал	46	53	34	133

может быть рекомендован для функционального питания людям престарелого, пожилого возраста, лицам с ослабленным здоровьем и анемией.

Таблица 36 – Пищевая и энергетическая ценность на 100 г продукта

№	Показатель	Контроль	С гороховым БК
1	Массовая доля белка, г	4,6	8,8
2	Массовая доля жира, г	3,3	8,3
3	Массовая доля углеводов, г	6,4	5,4
4	Массовая доля кальция, мг	122	139
5	Массовая доля калия, мг	147	170
6	Массовая доля магния, мг	14	15
7	Массовая доля железа, мг	0,1	10,2
8	Массовая доля меди, мг	10	42
9	Массовая доля цинка, мг	0,4	0,6
10	Энергетическая ценность, ккал	71	133

3.6 Оценка безопасности кормовых дрожжей в составе комбикорма для крыс линии «Wistar»

Для определения безопасности дрожжей для животных исследовали кормление крыс. В опытах использовали КД-2, полученные из ферментированной гороховой сыворотки с консорциумом культур *G. candidum* 977 и *S. cerevisiae* 121. Введение в состав комбикорма КД-2 не изменило его цвет, запах, однородность. Влияние дрожжей на аппетит, переносимость и рост животных в течение 25 суток показало, что степень поедания, оцениваемая по остатку корма, была одинаковой в контрольной и опытной группах. Не отмечено разницы по аппетиту и поедаемости корма, отсутствовало расстройство пищеварения, угнетение поведения, изменение двигательной активности. Реакция на внешние раздражители (перенос из клеток, поведение животного при взвешивании) была также одинаковой (Таблица 37).

Исследования микрофлоры фекальных образцов, выполненные перед использованием КД-2 в составе корма и в конце опыта на 25 день, показали отсутствие изменений в количестве и составе микробиоценоза опытных и контрольных крыс. Общая бактериальная обсемененность, количество БГКП (*Escherichia*, *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Serratia*) и МКБ в составе фекалий обеих

групп животных была идентичной. Таким образом, получены данные, указывающие на доброкачественность КД-2 и перспективность их включения в состав кормов и рационов животных.

Таблица 37 – Влияние кормовой добавки с КД-2 на поведение крыс и микробиологические показатели их выделений

Показатели	Контрольная группа	Опытная группа
Состояние животных	Животные подвижные, аппетит хороший	Животные подвижные, аппетит хороший
Степень поедания корма и переносимость	Активное, нормальное проявление жажды	Активное, нормальное проявление жажды
Реакция на внешние раздражения, двигательная активность	Расстройство поведения, угнетение отсутствовало	Расстройство поведения, угнетение отсутствовало
Состояние кожных покровов шерсти и глаз	Состояние хорошее, животное не чесалось	Состояние хорошее, животное не чесалось
Характеристика фекалий		
Внешний вид	Веретенообразные с темно-серым оттенком, длина ~ 10 мм, характерная для группы	Веретенообразные с темно-серым оттенком, длина ~ 10 мм, первые 2 дня более влажные и блестящие
Микрофлора, КОЕ/г (на 25 день)		
Общая бактериальная обсемененность (КМАФАнМ)	$1,5 \times 10^8$	$1,6 \times 10^8$
БГКП (бактерии группы кишечной палочки)	$1,3 \times 10^6$	$1,1 \times 10^6$
МКБ (молочнокислые бактерии)	$1,1 \times 10^5$	$1,2 \times 10^5$

3.7 Исследование кормовых дрожжей в комбикормах для цыплят-бройлеров кросса «Росс 308»

Для исследования кормления цыплят-бройлеров в Поволжском НИИ производства и переработки мясомолочной продукции испытан гороховый КД-2 (биомасса с культуральной жидкостью). Показатели роста бройлеров указывали на положительный эффект от использования добавки (Таблица 38). Через 14 дней скормливания цыплятам-бройлерам КД установлена достоверная разница по живой массе ($p < 0,05$), которая в возрасте 35 дней составила 112,9 г (5,53 %; $p < 0,001$), по отношению к контролю. Среднесуточный прирост массы был больше на 3,23 г в пользу опытной группы. За счет более высокой живой

массы и снижения затрат кормов на единицу продукции в опытной группе ЕИЭ (Европейский индекс продуктивности) превысил контроль на 33,15 ед.

Таблица 38 – Динамика живой массы бройлеров, г ($n = 30$)

Возраст бройлеров, дни	Группа	
	Контрольная	Опытная
0	41,3±0,98	
7	174,5±2,19	180,7±2,97
14	438,6±3,72	451,4±4,69
21	889,1±8,74	927,5±9,53
28	1418,4±15,65	1493,6±16,21
35	2041,3±17,46	2154,2±18,51
Среднесуточный прирост живой массы, г	57,14	60,37
ЕИЭ-Европейский индекс эффективности	369,13	402,28
Затраты корма на 1 кг прироста, кг	1,58	1,53
Сохранность, %	100	100

После убоя цыплят в возрасте 35 дней по 5 голов из каждой группы проведена оценка количественных и качественных характеристик мяса. Увеличение убойного выхода в опытной группе на 0,5 % произошло за счет повышения массы потрошеной тушки на 96 г (5,31 %; $p < 0,01$), рассчитанной относительно контроля. Масса грудных мышц превышала контроль на 44,5 г (7,15 %; $p < 0,01$), выход тушек I сорта в опытной группе составил 68,4 %, что на 3,7 выше, чем в контрольной.

Экспертиза внутренних органов не выявила отклонений в развитии, но относительная масса органов пищеварения, особенно печени, уменьшилась (Таблица 39). Абсолютная и относительная масса органов понижалась, что

Таблица 39 – Весовые показатели органов пищеварения ($n = 5$)

Показатели	Группа			
	контрольная	% увелич.	опытная	% увелич.
Средняя живая масса цыплят, г	2000,5±20,41		2108,4±19,23	
Органы пищеварения:				
Печень, г	47,81±0,47	2,39	44,91±0,56	2,13
Железистый желудок, г	7,60±0,15	0,38	6,96±0,17	0,33
Мышечный желудок без содержимого и кутикулы, г	50,21±0,33	2,51	48,91±0,27	2,32
Кишечник, г	142,84±0,51	7,14	143,58±0,63	6,81
Итого, г	248,46±0,94	12,42	244,36±0,82	11,59

указывало на активность и безопасность добавки для пищеварения цыплят-бройлеров. При этом масса пищеварительных органов снизилась на 0,83 %, что отразилось и на повышении убойного выхода.

Определение влияния КД на питательную ценность мяса показало увеличение содержания белка в грудных мышцах цыплят (Таблица 40) на 0,59 % ($p < 0,05$) и уменьшение жира на 0,31 % ($p < 0,05$). Энергетическая

Таблица 40 – Химический состав и питательная ценность грудных мышц цыплят-бройлеров ($n = 5$)

Показатели	Группа	
	Контрольная	Опытная
Сухое вещество, %	24,36±0,11	24,68±0,10
Массовая доля белка, %	21,61±0,17	22,20±0,14
Массовая доля жира, %	1,66±0,10	1,35±0,08
Массовая доля золы, %	1,09±0,03	1,13±0,03
Энергетическая ценность, кДж/100г	435,61±2,34	433,67±2,79
Индекс качества мяса (жир/белок)	0,077	0,061

ценность мышц несколько понизилась (433,67 кДж/100 г), индекс мяса (жир/белок) – на 20,8 %. Биологически ценный белок, сбалансированный жирно-кислотный и минеральный составы КД положительно влияли на органолептическую оценку вареного мяса и бульона. Посторонних запахов и привкусов от нового источника белка не обнаружено. Общая оценка дегустаторами мяса и бульона в опытной группе превышала контрольные показатели и составила 4,68 и 4,49 балла, соответственно (по 5 балльной шкале).

При частичной замене (5 %) соевого шрота в структуре рациона на КД повышалась мясная продуктивность цыплят-бройлеров и улучшались качественные показатели мяса. С учетом полученных результатов целесообразно рекомендовать применение КД для бройлеров.

После получения положительных результатов по исследованию качественных показателей пищевого БК и применения его в кисломолочном продукте и кормовых дрожжей для кормления цыплят-бройлеров разработаны: «Технологическая инструкция по производству концентрата

белкового горохового пищевого и дрожжей кормовых из зернобобового сырья» 00334735-129-2022 (Приложение 4), Технические условия «Концентрат белковый гороховый пищевой» 10.89.19-166-00334735-2022 (Приложение 5) и Технические условия «Дрожжи кормовые из зернобобового сырья» 10.91.10-167-00334735-2022 (Приложение 6).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Разработана комплексная биотехнология БК и КД из ВПП нативной гороховой муки с карбогидразами (Viscoferm L, Shearzym 500 L, Fungamyl 800 L, AMG 300 L 2500) и протеазой Alcalase 2,4 L FG, без применения щелочи, с итоговым выходом белков до 98,43 %.

1. Для разработки биотехнологии БК научно обосновано использование нативной гороховой муки без применения растворов щелочи: мука, по данным фракционного состава, содержала в своем составе 83,03 % водо-, солерастворимых фракций белков, что позволило обеспечить их общий выход не менее 60 %.

2. Разработан способ получения БК с ФП различного действия:

- создана математическая модель взаимосвязи растворимости белков при участии карбогидраз с технологическими факторами; выявлены оптимальные параметры (гидромодуль мука:вода 1:10÷1:15, концентрация ФП 1,0–1,5 %/г белка, рН 5,0–7,5, экстракция 2–4 ч), увеличивающие растворимость белков до $60,0 \pm 1,3$ %. УЗ обработка повышала растворимость до $84,0 \pm 1,0$ %.

- совместное использование 1 %-ного лактата Са и мТГ при осаждении белков в изоэлектрической точке увеличивало их выход до 71,86–84,44 %.

Концентрат содержал 74,40–86,07 % на СВ белков с аминокислотным скором 109–212 %, минеральные вещества (железо, кальций и др.), липиды, углеводы. Перевариваемость концентрата *in vitro* выше в 1,5–1,7 раза, чем у альбумина. Активность уреазы – 0–0,01 ед. БК обладал основными ФТС, без горохового запаха и привкуса. Выявлена корреляционная взаимосвязь ФТС с элементами вторичной структуры белков, количеством ФККиП и цветом концентратов. Пониженная ПОС светлых БК, но высокая их СП, обусловлена большим количеством параллельных α -спиралей, β -структуры и меньшим содержанием антипараллельных 3_{10} -спиралей. По оптической плотности (D_{560}) водных растворов муки и содержанию в ней ФККиП рекомендуется предопределять цвет БК и их ФТС ($r = 0,897$).

3. Разработан способ биоконверсии сыворотки и НКБО в кормовые

дрожжи с ассоциацией культур *S. cerevisiae* и *G. candidum* 977 (1:1) с массовой долей белка в них 51,09–61,68 %:

- создана математическая модель зависимости роста биомассы на сыворотке от технологических факторов с усвоением глюкозы, ксилозы, арабинозы, галактозы, фруктозы; определены его оптимальные параметры (рН 6,0–6,5, температура 25–28 °С, количество посевного материала 3–4 %.

- установлены параметры гидролиза НКБО и условия его совместной микробной биоконверсии с сывороткой (2–10 % НКБО, рН 1,8–2,0, температура 110–129 °С, 25–30 мин, давление 1 атм.). При этом усваивались стахиоза, мальтоза, сахароза, арабиноза, глюкоза, фруктоза, галактоза, ксилоза. Кормовые дрожжи содержали 51,09–61,68 % белка, 2–8 % липидов, 8–9 % – зольность. Аминокислотный скор – 90–247 %, соотношение насыщенных и ненасыщенных жирных кислот 1:3, омега-6 жирные кислоты – 19,73 %, транс-изомеры – до 5,0 %, минеральные элементы Na, K, Ca, Mg, Zn и др. Массовая доля нуклеиновых кислот – 0,005–0,072 %, перевариваемость – 85,73–89,74 %.

4. Разработан способ приготовления кисломолочного напитка продукта с гороховым БК. Продукт обогащен белком, кальцием, калием, цинком, медью и железом. Создан рецепт комбикорма с КД-2 для цыплят-бройлеров. Замена соевого шрота (5 %) на КД-2 повышала привес бройлеров и качественные показатели мяса. Соотношение жир:белок в нем снизилось на 20,8 %.

5. Процессы апробированы в условиях ООО «Биопрогресс», ЦКП «ФИЦ «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН и НВЦ «Новые биотехнологии». Расчет производства 1 т БК и 1,25 т КД из гороховой муки показал, что себестоимость концентрата – 850 руб/кг, дрожжей – 58,3 руб/кг, чистая прибыль – 211,73 тыс. руб, рентабельность – 22,9 %.

6. Разработана нормативная документация: ТИ 00334735-129-2022 «Технологическая инструкция по производству концентрата белкового горохового пищевого и дрожжей кормовых из зернобобового сырья», ТУ 10.89.19-166-00334735-2022 «Концентрат белковый гороховый пищевой», ТУ 10.91.10-167-00334735-2022 «Дрожжи кормовые из зернобобового сырья».

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

БК	Белковый концентрат
ФП	Ферментный препарат
КД	Кормовые дрожжи
ВПП	Вторичные продукты переработки
мТГ	Микробная трансглутаминаза
ФККиП	Фенолокарбоновые кислоты и их производные
ФТС	Функционально-технологические свойства
НАК	Незаменимые аминокислоты
ММ	Молекулярная масса
ВСС	Водосвязывающая способность
ЖСС	Жиросвязывающая способность
ЖЭС	Жироэмульгирующая способность
СЭ	Стабильность эмульсии
ПОС	Пенообразующая способность
СП	Стабильность пены
УЗ	Ультразвук
ПСА	Персульфат аммония
НКБО	Нерастворимый крахмало-белковый остаток
ПААГ	Полиакриламидный гель
ВС	Восстанавливающие соединения
ВМС	Высокомолекулярные соединения
ЕИЭ	Европейский индекс эффективности

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Протеины: новое в технологии производства и возможности использования / Материалы форумов «ПротеинТек» и «ПроПротеин» // Комбикорма. - 2017. - N 10. - С. 59-62.
2. Хрулев, А.А. Тенденции развития и экономические аспекты производства горохового протеина / А.А. Хрулев, Н.А. Бесчетникова, И.А. Федотов // Пищевая промышленность. - 2016. - N 4. - С. 24-29.
3. Pruter, T. Alternative crops for a traditional potato starch producer / T. Pruter // 69th Starch Convention in Detmold, Germany. - 2018. - 35 p.
4. Hoogenkamp, H. A finger on the pulse of the pea protein market / H. Hoogenkamp // The world of food ingredients. - 2019. - N. 03. - P. 46-48.
5. Lu, Z.X. Composition, physicochemical properties of pea protein and its application in functional foods / Z.X. Lu, J.F. He, Y.C. Zhang, D.J. Bing // Critical Reviews in Food Science and Nutrition. - 2019. DOI: 10.1080/10408398.2019.1651248
6. Зотиков, В.И. Зернобобовые культуры – важный фактор устойчивого экологически ориентированного сельского хозяйства / В.И. Зотиков, Т.С. Наумкина, Н.В. Грядунова, В.С. Сидоренко, В.В. Наумкин // Зернобобовые и крупяные культуры. - 2016. – N 1 (17). - С. 6-13.
7. Бондаренко, А.Н. Влияние ростостимулирующих препаратов на продуктивность и экономическую эффективность нута в условиях светло-каштановых солонцеватых почв Астраханской области / А.Н. Бондаренко // Аграрная Россия. - 2019. – N 1. - С. 24-26.
8. Mudryj, A.N. Nutritional and health benefits of pulses / A.N. Mudryj, N. Yu, H.M. Aukema // Applied Physiology Nutrition and Metabolism. - 2014. - V. 39. - P. 1197-1204. DOI: 10.1139/apnm-2013-0557
9. Ramani, A. Molecular, functional and nutritional properties of chickpea (*Cicer arietinum* L.) protein isolates prepared by modified solubilization methods / A.

Ramani, R. Kushwaha, R. Malaviya // Food Measure. - 2021. - V. 15. – P. 2352-2368. <https://doi.org/10.1007/s11694-020-00778-6>

10. Singhal, A. Effect of genotype on the physicochemical and functional attributes of faba bean (*Vicia faba* L.) protein isolates / A. Singhal, A.K. Stone, A. Vanderberg, R. Tyler, M. Nickerson // Food Science and Biotechnology. - 2016. - V. 25 (6). - P. 1513-1522. DOI: 10.1007/s10068-016-0235-z

11. Розанцев, Э.Г. Молекулярные аспекты воздействия интенсивных технологических факторов на сельскохозяйственное сырье / Э.Г. Розанцев // Хранение и переработка сельскохозяйственного сырья. - 1997. - N 3. - С. 17-20.

12. Волкова, Г.С. Биотехнологические основы создания кормовых добавок с защитно-профилактическими свойствами / Г.С. Волкова, Л.В. Римарева, Е.В. Куксова, Е.М. Сербя // ВНИИПБТ – филиал ФГБУН «ФИЦ питания, биотехнологии и безопасности пищи». – М: ООО "Первое экономическое издательство", 2020. – 148 с. – ISBN 978-5-91292-341-8. – DOI 10.18334/9785912923418

13. Okafor, D.C. Antioxidant and Antimicrobial Activities of Oyster Mushroom / D.C. Okafor, N.C. Onuegbu, N.E. Odimegwu, J.C. Ibeabuchi, N.E. Njoku, I.M. Agunwa, C.E. Ofoedu, C.C. Njoku // American Journal of Food Science and Technology. - 2017. - V. 5. - N 2. - P. 64–69.

14. Плугов, А.Г. Рынок гороха России в 2021 году – тенденции и прогнозы [Электронный ресурс] / А.Г. Плугов // Экспертно-аналитический центр агробизнеса «АБ-Центр». Дата посещения: 08.05.2022 г. Режим доступа: <https://ab-centre.ru/news/rynok-goroha-rossii-v-2021-godu---tendencii-i-prognozy>

15. Плёнкин, Д. Глобальный рынок бобовых культур: курс на восстановление – АгроТрейдинг [Электронный ресурс] / Д. Плёнкин // АПК-Информ: ИТОГИ. N 6 (84). Дата посещения: 12.04.2022 г. Режим доступа: <https://www.apk-inform.com/ru/exclusive/opinion/1520690>

16. Сабановский, А.А. Посевные площади, валовые сборы и урожайность нута в России. Итоги 2018 года [Электронный ресурс] / А.А. Сабановский // Экспертно-аналитический центр агробизнеса «АБ-Центр». Дата посещения:

14.04.2022 г. Режим доступа: <https://ab-centre.ru/news/posevnye-ploschadivalovye-sbory-i-urozhaynost-nuta-v-rossii-itogi-2018-goda>

17. Шокурова, Е. «Уралхим» запустил пилотную установку по производству протеина из гороха [Электронный ресурс] / Е. Шокурова // Агроинвестор. Дата посещения: 06.12.2022 г. Режим доступа: <https://www.agroinvestor.ru/companies/news/39307-uralkhim-zapustil-pilotnuyu-ustanovku-po-proizvodstvu-proteina-iz-gorokha/>

18. Первый российский завод по глубокой переработке гороха // Комбикорма. - 2019. - N 2. - С. 32-33.

19. Шелепина, Н.В. Оценка качества крахмала современных сортов гороха / Н.В. Шелепина, М.И. Якунина // Известия ВУЗов. Пищевая технология. - 2009. - N 2-3. - С. 115-116.

20. Аникеева, Н.В. Научные основы технологий белковых препаратов / Н.В. Аникеева // Нива Поволжья. - 2010. - N 3 (16). - С. 1-5.

21. FAO/WHO Energy and protein requirements: Report of a joint FAO/WHO ad hoc expert committee // Rome: FAO Nutrition Meetings Report Series. - 1973. - N 52. - Geneva: WHO Technical Report Series. - N. 522.

22. FAO Dietary protein quality evaluation in human nutrition: Report of an FAO Expert Consultation 31 March-2 April, 2011, Auckland, New Zealand // Food and agriculture organization of the united nations. - Rome. - 2013. ISSN 0254-4725

23. Хабибулина, Н.В. Получение очищенной альбуминовой фракции гороховой муки методом ультраконцентрирования с использованием плоских мембран / Н.В. Хабибулина, А.А. Красноштанова, В.Д. Адучиева // Apriori. Серия: естественные и технические науки. - 2016. - N 1. - С. 1-10.

24. Магомедов, Г.О. Влияние дезинтеграционно-волнового помола на фракционный и аминокислотный состав белков нута / Г.О. Магомедов, М.К. Садыгова, С.И. Лукина, В.Ю. Кустов // Вестник Воронежского государственного университета инженерных технологий. - 2013. - N 1. - С. 94-97.

25. Singhal, A. Pulse Proteins: from processing to structure-function relationships / A. Singhal, A.C. Karaca, R. Tyler, M. Nickerson // Grain Legumes. - 2016. DOI: 10.5772/64020

26. Roy, F. Bioactive proteins and peptides in pulse crops: Pea, chickpea and lentil / F. Roy, J. Boye, B.K. Simpson // Food Research International. - 2010. - V. 43. - P. 432-442. DOI: 10.1016/j.foodres. 2009.09.002

27. Shevkani, K. Pulse proteins: secondary structure, functionality and applications / K. Shevkani, N. Singh, Y. Chen // Journal of Food Science and Technology. - 2019. - V. 56. - P. 2787-2798. <https://doi.org/10.1007/s13197-019-03723-8>

28. Utrilla, M.P. Pea (*Pisum sativum* L.) seed albumin extracts show antiinflammatory effect in the DSS model of mouse colitis / M.P. Utrilla, M.J. Peinado, R. Ruiz, A. Rodriguez-Nogales, F. Algieri, M.E. Rodriguez-Cabezas, A. Clemente, J. Galvez, L.A. Rubio // Molecular Nutrition & Food Research. - 2015. - V. 59 (4). - P. 807-819. doi: 10.1002/mnfr.201400630

29. Нечаев, А.П. Пищевая химия / А.П. Нечаев, С.Е. Траубенберг, А.А. Кочеткова, В.В. Колпакова, И.С. Витол, И.Б. Кобелева. - СПб.: ГИОРД. - 2015. - 672 с.

30. Ковалева, О.В. Содержание некоторых протеаз и их ингибиторов в пищевых растениях, произрастающих в Краснодарском крае / О.В. Ковалева, М.Т. Проскуряков, Г.К. Плотников // Актуальные вопросы экологии и охраны природы водных экосистем и сопредельных территорий, Краснодар, 25 апреля 1995 года. Том Часть 2. – Краснодар: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования "Кубанский государственный университет". - 1995. - С. 24-28.

31. Возиян, В.И. Питательная ценность сортов сои, гороха, фасоли и содержание в них антипитательных веществ / В.И. Возиян, М.Г. Таран, М.Д. Якобуца, Л.П. Авадэний // Зернобобовые и крупяные культуры. - 2013. - № 1(5). - С. 26-29.

32. Петибская, В.С. Ингибиторы протеолитических ферментов / В.С. Петибская // Известия высших учебных заведений. Пищевая технология. - 1999. - № 5-6. - С. 6-10.

33. Dhaliwal, S.K. Pea seed proteins: a nutritional and nutraceutical update / S.K. Dhaliwal, P. Salaria, P. Kaushik // IntechOpen. - 2021. DOI: 10.5772/intechopen.95323

34. Шелепина, Н.В. Состояние и перспективы комплексной промышленной переработки зерна гороха / Н.В. Шелепина // Вестник ОрелГИЭТ. - 2018. - N 2 (44). - С. 16-20.

35. Olagunju, A.I. Antioxidant properties, ACE/renin inhibitory activities of pigeon pea hydrolysates and effects on systolic blood pressure of spontaneously hypertensive rats / A.I. Olagunju, O.S. Omoba, V.N. Enujiugha, A.M. Alashi, R.E. Aluko // Food Science and Nutrition. - 2018. - V. 6. - P. 1879–1889. DOI: 10.1002/fsn3.740

36. Gorecka, D. Adsorption of bile acids and cholesterol by dry grain legume seeds / D. Gorecka, J. Korezak, E. Flaczyk // Polish Journal of Food and Nutrition Sciences. - 2003. - V. 12. - P. 69-73.

37. Serventi, L. Effect of chickpea protein concentrate on the loaf quality of composite soy-wheat bread / L. Serventi, E. Vittadini, Y. Vodovotz // LWT – Food Science and Technology. - 2017. - V. 89. - P. 400-402. DOI: 10.1016/j.lwt.2017.11.012

38. Torres-Fuentes, C. Identification and characterization of antioxidant peptides from chickpea protein hydrolysates / C. Torres-Fuentes, M.M. Contreras, I. Recio, M. Alaiz, J. Vioque // Food Chemistry. - 2015. - V. 180. - P. 194-202. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.02.046>

39. Richard, C. Cross reactivity of a new food ingredient, dun pea, with legumes, and risk of anaphylaxis in legume allergic children. / C. Richard, S. Jacquenet, P. Sergeant, D.A. Moneret-Vautrin // European Annals of Allergy and Clinical Immunology. - 2015. - V. 47. - P. 118-125.

40. Tian, S. Pilot scale isolation of proteins from field peas (*Pisum sativum*, L.) for use as food ingredients / S. Tian, W.S.A. Kyle, D.M. Small // *International Journal of Food Science and Technology*. - 1999. - V. 34. - P. 33-39. DOI: 10.1046/j.1365-2621.1999.00236.x

41. Mondor M. Pea / M. Mondor // In: Manickavasagan A., Thirunathan P. (eds). *Pulses*. Springer, Cham. - 2020. – P. 245-273. https://doi.org/10.1007/978-3-030-41376-7_14

42. Андреев, Н.Р. Изучение процесса пневмокласификации гороховой муки на экспериментальной установке / Н.Р. Андреев, В.А. Ковалёнок, Л.П. Носовская, Л.В. Адикаева, В.Г. Гольдштейн // *Хранение и переработка сельхозсырья*. - 2017. - N 11. - С. 43-48.

43. Karaca, A.C. Modification of legume proteins for improved functionality / A.C. Karaca // *IntechOpen*. - 2021. - 17th February. DOI: 10.5772/intechopen.96274

44. Fernández Sosa, E.I. Comparative Study of Structural and Physicochemical Properties of Pigeon Pea (*Cajanus cajan* L.) Protein Isolates and its Major Protein Fractions / E.I. Fernández Sosa, M.G. Chaves, A.V. Quiroga // *Plant Foods for Human Nutrition*. - 2021. - V. 76. - P. 37-45. <https://doi.org/10.1007/s11130-020-00871-7>

45. Pasupuleti, V.K. State of the Art Manufacturing of Protein Hydrolysates / V.K. Pasupuleti, S. Braun // *Protein Hydrolysates in Biotechnology*. - 2010. - Chapter 2. - P. 11-32. DOI: 10.1007/978-1-4020-6674-0_2

46. Karaca, A.C. Emulsifying properties of chickpea, faba bean, lentil and pea proteins produced by isoelectric precipitation and salt extraction / A.C. Karaca, N. Low, M. Nickerson // *Food Research International*. - 2011. - V. 44. - P. 2742-2750. DOI: 10.1016/j.foodres.2011.06.012

47. Brayden, M. Impact of Impurities on Carbon Molecular Sieve Membranes for Applications in Olefins Units / M. Brayden, L. Xu, G. Barbay, W. Koros // *AIChE Spring Meeting and Global Congress on Process Safety*. - 2017. ISBN: 978-0-8169-1098-4

48. Aguilar, J.G.S. Production of Antioxidant Peptides from Pea Protein Using Protease from *Bacillus licheniformis* LBA 46 / J.G.S. Aguilar, R.J.S. de Castro, H.H. Sato // International Journal of Peptide Research and Therapeutics. - 2020. - V. 26. - P. 435-443. <https://doi.org/10.1007/s10989-019-09849-9>

49. Хромова, Н.Ю. Предварительная ферментативная обработка протеина зерна для культивирования лакто- и бифидобактерий / Н.Ю. Хромова, Б.А. Кареткин, И.В. Шакир, В.И. Панфилов // Бутлеровские сообщения. – 2016. – Т. 48, № 10. – С. 71-76.

50. Boye, J. Pulse proteins: Processing, characterization, functional properties and applications in food and feed / J. Boye, F. Zare, A. Pletch // Food Research International. - 2010. - V. 43. - P. 414-431. DOI: 10.1016/j.foodres.2009.09.003

51. Kolpakova, V. Composition on the basis of plantbased proteins with the use of transglutaminase / V. Kolpakova, I. Gaivoronskaya, V. Gulakova, A. Sarjveladze // 18 International Multidisciplinary Scientific GeoConference SGEM. - 2018. - 2-8 Jule. Albena, Bulgaria. - V. 18. - P. 119-125. DOI: 10.5593/sgem2018/6.2

52. Гайворонская, И.С. Белковые композиции из зерновых культур с повышенной биологической ценностью, синтезированные с ферментом трансглутаминазой / И.С. Гайворонская, В.В. Колпакова // Пищевая промышленность. - 2019. - N 4. - С. 28-30.

53. Tontul, I. Functional properties of chickpea protein isolates dried by Refractance Window drying / I. Tontul, K. Zehra, A. Serenay, A. Tugce, T. Ayhan // International Journal of Biological Macromolecules. - 2017. - V. 109. - P. 1253-1259. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.11.135>

54. Aluko, R.E. Emulsifying and foaming properties of commercial yellow pea (*Pisum sativum* L.) seed flours / R.E. Aluko, O.A. Mofolasayo, B.M. Watts // Journal of Agricultural and Food Chemistry. - 2009. – V. 57 (20). - P. 9793–9800. doi: 10.1021/jf902199x

55. Stone, A.K. Functional attributes of pea protein isolates prepared using different extraction methods and cultivars / A.K. Stone, A. Karalash, R.T. Tyler, T.D.

Warkentin, M.T. Nickerson // *Food Research International*. - 2015. - V. 76. - P. 31-38. doi: 10.1016/j.foodres.2014.11.017

56. Osen, R. High moisture extrusion cooking of pea protein isolates: Raw material characteristics, extruder responses, and texture properties / R. Osen, S. Toelstede, F. Wild, P. Eisner, U. Schweiggert-Weisz // *Journal of Food Engineering*. - 2014. - V. 127. - P. 67-74. doi: 10.1016/j.jfoodeng.2013.11.023

57. Osen, R. Effect of high moisture extrusion cooking on protein-protein interactions of pea (*Pisum sativum* L.) protein isolates / R. Osen, S. Toelstede, P. Eisner, U. Schweiggert-Weisz // *International Journal of Food Science & Technology*. - 2015. - V. 50 (6). - P. 1390–1396. doi: 10.1111/ijfs.12783

58. Ganjyal, G.M. Process for preparing hybrid proteins / G.M. Ganjyal, C.C. Maningat, S.I. Bassi. - 2011. - U.S. 7989592 B2

59. Pietrysiak, E. Enhanced functionality of pea-rice protein isolate blends through direct steam injection processing / E. Pietrysiak, D.M. Smith, B.M. Smith, G.M. Ganjyal // *Food Chemistry*. - 2018. - V. 243. - P. 338-344. doi: 10.1016/j.foodchem.2017.09.132

60. Adebisi, A.P. Functional properties of protein fractions obtained from commercial yellow field pea (*Pisum sativum* L.) seed protein isolate / A.P. Adebisi, R.E. Aluko // *Food Chemistry*. - 2011. - V. 128 (4). - P. 902-908. doi: 10.1016/j.foodchem.2011.03.116

61. Vélez-Eraza, E.M. Effect of chia oil and pea protein content on stability of emulsions obtained by ultrasound and powder production by spray drying / E.M. Vélez-Eraza, I.L. Silva, T. Comunian // *Journal of Food Science & Technology*. - 2021. - V. 58. - P. 3765-3779. <https://doi.org/10.1007/s13197-020-04834-3>

62. Lam, A.C.Y. Pea protein isolates: Structure, extraction, and functionality / A.C.Y. Lam, C.A. Karaca, R.T. Tyler, M.T. Nickerson // *Food Reviews International*. - 2018. - V. 34. N 2. DOI: 10.1080/87559129.2016.1242135

63. Lobanov, V.G. Economic effect of innovative flour-based functional foods production / V.G. Lobanov, Y.I. Slepokurova, Zharkova I.M., Koleva T.N., Y.F.

Roslyakov, A.P. Krasteva // *Foods and Raw Materials*. - 2018. - V. 6. - N 2. - P. 474-482. DOI: 10.21603/2308-4057-2018-2-474-482

64. Bajaj, P. Improving functional properties of pea protein isolate for microencapsulation of flaxseed oil / P. Bajaj, K. Bhunia, L. Kleiner, H.S. Joyner, D. Smith, G. Ganjyal, S.S. Sablani // *Journal of Microencapsulation*. - 2017. - V. 34 (2). - P. 218–230. doi: 10.1080/02652048.2017.1317045

65. Mession, J.L. Effect of globular pea proteins fractionation on their heat-induced aggregation and acid cold-set gelation / J.L. Mession, M.L. Chihi, N. Sok, R. Saurel // *Food Hydrocolloids*. - 2015. - V. 46. - P. 233-243. doi: 10.1016/j.foodhyd.2014.11.025

66. Sun, X.D. Gelation properties of salt-extracted pea protein isolate induced by heat treatment: Effect of heating and cooling rate / X.D. Sun, S.D. Arntfield // *Food Chemistry*. - 2011. - V. 124 (3). - P. 1011–1016. doi: 10.1016/j.foodchem.2010.07.063

67. Moreno, H.M. Evaluation of gels made with different commercial pea protein isolate: Rheological, structural and functional properties / H.M. Moreno, F. Domínguez-Timón, M.T. Díaz, M.M. Pedrosa, A.J. Borderías, C.A. Tovar // *Food Hydrocolloids*. - 2020. - V. 99. - 105375. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.105375>

68. Liu, Y. Functional properties and structural characteristics of phosphorylated pea protein isolate / Y. Liu, D. Wang, J. Wang, Y. Yang, L. Zhang, J. Li, S. Wang // *International Journal of Food Science & Technology*. - 2019. doi:10.1111/ijfs.14391.10.1111/ijfs.14391

69. Gallart-Palau, X. Uncovering Neurodegenerative Protein Modifications via Proteomic Profiling / X. Gallart-Palau, A. Serra, S.K. Sze // Editor(s): Michael J. Hurley. *International Review of Neurobiology*. Chapter Four. Academic Press. - 2015. - V. 121. - P. 87-116. ISSN 0074-7742. ISBN 9780128014806. <https://doi.org/10.1016/bs.irn.2015.06.002>

70. Strasser, R. Plant protein glycosylation / R. Strasser // *Glycobiology*. - 2016. - V. 26 (9). - P. 926-939. doi: 10.1093/glycob/cww023

71. Moll, P. Impact of microfluidization on colloidal properties of insoluble pea protein fractions / P. Moll, H. Salminen, C. Schmitt // *European Food Research and Technology*. - 2021. - V. 247. - P. 545-554. <https://doi.org/10.1007/s00217-020-03629-2>

72. Vall-Ilosera, M. Physical Stability and Interfacial Properties of Oil in Water Emulsion Stabilized with Pea Protein and Fish Skin Gelatin / M. Vall-Ilosera, F. Jessen, P. Henriot // *Food Biophysics*. - 2021. - V. 16. - P. 139-151. <https://doi.org/10.1007/s11483-020-09655-7>

73. Semenova, M. Protein-polysaccharide associative interactions in the design of tailor-made colloidal particles / M. Semenova // *Current Opinion in Colloid & Interface Science*. - 2017. - V. 28. P. 15-21. doi: 10.1016/j.cocis.2016.12.003

74. Liu, S. Effect of pH, salt, and biopolymer ratio on the formation of pea protein isolate-gum Arabic complexes / S. Liu, N.H. Low, M.T. Nickerson // *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. - 2009. - V. 57 (4). - P. 1521-1506. doi: 10.1021/jf802643n

75. Klemmer, K.J.J. Complex coacervation of pea protein isolate and alginate polysaccharides / K.J.J. Klemmer, L. Waldner, A. Stone, N.H.H. Low, M.T.T. Nickerson // *Food Chemistry*. - 2012. - 130 (3). - 710-715. doi: 10.1016/j.foodchem.2011.07.114

76. Lan, Y. Pea protein isolate – high methoxyl pectin soluble complexes for improving pea protein functionality: Effect of pH, biopolymer ratio and concentrations / Y. Lan, B. Chen, J. Rao // *Food Hydrocolloids*. - 2018. - V. 80. - P. 245-253. doi: 10.1016/j.foodhyd.2018.02.021

77. Samard, S. Physicochemical and functional characteristics of plant protein-based meat analogs / S. Samard, G.-H. Ryu // *Journal of Food Processing and Preservation*. - 2019. - V. 00:e14123. <https://doi.org/10.1111/jfpp.14123>

78. Растительный белок: новые перспективы / Под ред. Браудо Е.Е. - М.: Пищепромиздат. - 2000. - 180 с. ISBN 5-89703-022-7

79. Tamm, F. Functional properties of pea protein hydrolysates in emulsions and spray-dried microcapsules / F. Tamm, S. Herbst, A. Brodkorb, S. Drusch // *Food Hydrocolloids*. - 2016. - V. 58. - P. 204-214. doi: 10.1016/j.foodhyd.2016.02.032

80. Barac, M. Functional properties of pea (*Pisum sativum* L.) protein isolates modified with chymosin / M. Barac, S. Cabrilo, M. Pesic, S. Stanojevic, M. Pavlicevic, O. Macej, M. Ristic // *International Journal of Molecular Sciences*. - 2011. - V. 12. - P. 8372-8387.

81. Лозовский, И.В. Модификация функциональных свойств белков гороха (*Pisum sativum*, l.) / И.В. Лозовский, Т.В. Орлова // Сб. докладов IV Международной научно-практической конференции «Проблемы и перспективы научно-инновационного обеспечения агропромышленного комплекса регионов». Курск. - 2022. - С. 367-369.

82. Балабан, Н.П. Практическое применение бациллярных протеаз / Н.П. Балабан, М.Р. Шарипова // *Ученые записки Казанского университета. Серия Естественные науки*. - 2011. - Т. 153. - N 2. - С. 29-40.

83. Шелепина, Н.В. Научное обоснование безотходной технологии переработки зерна гороха на крахмал / Н.В. Шелепина // *Сборник материалов международной научно-практической конференции «Инновационные технологии и безопасность пищевых продуктов»*. - 2018. - С. 105-108.

84. Mavrov, V. Reduction of water consumption and wastewater quantities in the food industry by water recycling using membrane processes / V. Mavrov, E. Bélières // *Desalination*. - 2000. - V. 131. - Is. 1-3. - P. 75-86.

85. Guzel-Seydim, Z.B. Use of ozone in the food industry / Z.B. Guzel-Seydim, A.K. Greene // *Food Science and Technology*. - 2004. - V. 37. - Is. 4. - P. 453-460.

86. D'Souza, N.M. Membrane Cleaning in the Dairy Industry: A Review / N.M. D'Souza, A.J. Mawson // *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. - 2005. - V. 45. - Is. 2. - P. 125-134.

87. Яромский, В.Н. Очистка сточных вод пищевых и перерабатывающих предприятий / В.Н. Яромский. - Минск: Изд. центр БГУ. - 2009. - С. 71.

88. Будник, Л.И. Проблемы экологической безопасности при эксплуатации современных производственных комплексов / Л.И. Будник // Известия Академии промышленной экологии. - 2006. - N 3. - С. 77-78.

89. Кульнев, В.В. Биологическая реабилитация сточных вод сахарных заводов методом коррекции альгоценоза / В.В. Кульнев // Экология и промышленность России. - 2017. - Т. 21. - N 3. - С. 16-20.

90. Souza, P.F.F. Vegan-mycoprotein concentrate from pea-processing industry byproduct using edible filamentous fungi / P.F.F. Souza, R.B. Nair, D. Andersson, P.R. Lennartsson, M.J. Taherzadeh // Fungal Biology and Biotechnology. - 2018. - N 5. - P. 5-8.

91. Хамнаева, Н.И. Об использовании микробной биомассы для получения новых кондитерских изделий / Н.И. Хамнаева, Е.В. Кондрашева // Успехи современного естествознания. - 2004. - Т. 4. - С. 136.

92. Xu, J.C. Application of de-lignified cellulose to enhance intracellular and extracellular lipid production from oleaginous yeast using acetic acid / J.C. Xu, M.L. Zhang, T. He, H.J. Luo, K.M. Peng, X.F. Huang, J. Liu // Bioresource Technology. - 2019. - V. 293. - Article Number: 122032.

93. Sarris, D. Valorization of Crude Glycerol, Residue Deriving from Biodiesel- Production Process, with the Use of Wild-type New Isolated *Yarrowia lipolytica* Strains: Production of Metabolites with Pharmaceutical and Biotechnological Interest / D. Sarris, Z. Sampani, A. Rapti, S. Papanikolaou // Current pharmaceutical biotechnology. - 2019. - V. 20(10). - P. 881-894. DOI: 10.2174/1389201020666190211145215

94. Ahlborn, J. Upcycling of food industry side streams by basidiomycetes for production of a vegan protein source / J. Ahlborn, A. Stephan, T. Meckel // International journal of recycling of organic waste in agriculture. - 2019. - V. 8 (Suppl 1). - P. 447-455. <https://doi.org/10.1007/s40093-019-00317-4>

95. Погарелова, Ю.Н. Новые направления использования свекловичного жома в Республике Беларусь / Ю.Н. Погарелова, Ж.В. Бондаренко // Труды БГТУ. Сер.2: Химические технологии, биотехнология, геоэкология. - 2009.

96. Olaleye, O.N. Cellulase and Biomass Production from Sorghum (*Sorghum guineense*) waste by *Trichoderma longibrachiatum* and *Aspergillus terreus* / O.N. Olaleye, M.A. Omotayo, S.R.B. Abdus, O. Olanlege Abdul-Lateef // Journal of Microbiology Research. - 2015. - V. 5 (6). - P. 169-174.

97. Sibtain, A. Fungal Biomass Protein Production from *Trichoderma harzianum* Using Rice Polishing / A. Sibtain, M. Ghulam, A. Muhammad, I.R. Muhammad // BioMed Research International. - 2017. - V. 2017. - P. 1-9.

98. Shahzad, M.A. Use of *Aspergillus terreus* for microbial biomass production and its biological evaluation in broiler chicks / M.A. Shahzad, H. Nawaz, M.I. Rajoka, M. Sarwar, J.I. Sultan, M. Nisa, N.A. Tauqir, M. Sharif // International Conference on Food Engineering and Biotechnology IPCBEE. IACSIT Press, Singapore. - 2011. - V. 9. - P. 255-260.

99. Shahzad, M.A. Single cell protein production from *Aspergillus terreus* and its evaluation in broiler chick / M.A. Shahzad, M.I. Rajoka // International Journal of Bioscience, Biochemistry and Bioinformatics. - 2011. - V. 1. - P. 137-141.

100. Zhang, Z.Y. Production of fungal biomass protein using microfungi from winery wastewater treatment / Z.Y. Zhang // Bioresource Technology. - 2008. - V. 99. - N. 9. - P. 3871-3876.

101. Jin, B. Utilisation of starch processing wastewater for production of microbial biomass protein and fungal α -amylase by *Aspergillus oryzae* / B. Jin, H.J. Van Leeuwen, B. Patel, Q. Yu // Bioresource technology. - 1998. - V. 66. - Is. 3. - P. 201-206.

102. Jin, B. A comprehensive pilot plant system for fungal biomass protein production and wastewater reclamation / B. Jin, X.Q. Yan, Q. Yu, J.H. Van Leeuwen // Advances in Environmental Research. - 2002. - V. 6. - Is. 2. - P. 179-189.

103. Hanim, K. Bioproteins Production from Palm Oil Agro-Industrial Wastes by *Aspergillus terreus* UniMAP AA-1 / K. Hanim, A. Rahman, S.J.H.M. Yusof, Z. Zakaria // Tropical Agricultural science. - 2016. - Sci. 39 (1). - P. 29-39.

104. Ahmed, S. Production of microbial biomass protein by fermentation of *Arachnoidus sh.*, and *Candida utilis* / S. Ahmed, F. Ahmad, A.S. Hachmi // Pakistan Journal of Botany. - 2010. - V. 42. - Is. 2. - P. 1225-1234.

105. Сон, О.М. Использование отходов зерноперерабатывающей промышленности в микробиологическом синтезе кормового белка / О.М. Сон, Е.И. Черевач, Л.А. Текутьева // Хранение и переработка сельхозсырья. - 2016. - N 12. - С. 24-27.

106. Machado, W.R.M.. Production of carotenoids by *Rhodotorula toruloides* isolated from Brazilian tropical savannah / W.R.M. Machado, L.G. Silva, E.S.L. Vanzela, V.L. Del Bianchi // International food research journal. - 2019. - V. 26(4). - P. 1259-1267.

107. Zhou, X.L. Sweet Corn Stalk Treated with *Saccharomyces Cerevisiae* Alone or in Combination with *Lactobacillus Plantarum*: Nutritional Composition, Fermentation Traits and Aerobic Stability / X.L. Zhou, Z. Ouyang, X.L. Zhang, Y.Q. Wei, S.X. Tang, Z.Y. Ma, Z.L. Tan, N. Zhu, T. Teklebrhan, X.F. Han // Animals. – 2019. - V. 9(9). - Article Number: 598.

108. Bampidis, V. Efficacy of *Saccharomyces cerevisiae* NBRC 0203, *Lactobacillus plantarum* NBRC 3070 and *Lactobacillus casei* NBRC 3425 as a technological additive (silage additive) for all animal species / V. Bampidis, G. Azimonti, M.D. Bastos, H. Christensen // Efsa Journal. - 2017. - V. 17(4). - Article Number: 5700. DOI: 10.2903/j.efsa.2017.4704

109. Sun, Z. Effects of yeast cultures with different fermentation times on the growth performance, caecal microbial community and metabolite profile of broilers / Z. Sun, T. Wang, N.D. Aschalew, W. Zhao, X. Chen, X.F. Zhang, Y.G. Zhen, G.X. Qin // Journal of animal physiology and animal nutrition. - 2020. - V. 104(1). - P. 212-223. DOI: 10.1111/jpn.13241

110. Zhen, Y.G. Effects of yeast culture on broiler growth performance, nutrient digestibility and caecal microbiota / Y.G. Zhen, W. Zhao, X. Chen, L.J. Li, H.G. Lee, X.F. Zhang, T. Wang // South African Journal of Animal Science. – 2019. - V. 49(1). - P. 99-108. DOI: 10.4314/sajas.v49i1.12

111. Sousa, D.O. Live yeast supplementation in pastures throughout the year / D.O. Sousa, C.A. Oliveira, A.V. Velasquez, J.M. Souza, E. Chevaux, L.J. Mari, L.F.P. Silva // *Animal feed science and technology*. - 2018. - V. 236. - P. 149-158. DOI: 10.1016/j.anifeedsci.2017.12.015

112. Anjum, M.I. Effects of yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) supplementation on intake, digestibility, rumen fermentation and milk yield in Nili-Ravi buffaloes / M.I. Anjum, S. Javaid, M.S. Ansar, A. Ghaffar // *Iranian Journal of veterinary research*. - 2018. - V. 19(2). - P. 96-100. DOI: 10.22099/IJVR.2018.4852

113. Shakira, G. Effect of indigenously isolated *Saccharomyces cerevisiae* probiotics on milk production, nutrient digestibility, blood chemistry and fecal microbiota in lactating dairy cows / G. Shakira, M. Qubtia, I. Ahmed, F. Hasan, M.I. Anjum, M. Imran // *Journal of animal and plant sciences*. - 2018. - V. 28(2). - P. 407-420. ISSN: 1018-7081

114. Sallam, S.M.A. The effect of *Saccharomyces cerevisiae* live cells and *Aspergillus oryzae* fermentation extract on the lactational performance of dairy cows / S.M.A. Sallam, M.L.R. Abdelmalek, A.E. Kholif, S.M. Zahran, M.H. Ahmed, H.S. Zeweil, M.F.A. Attia, O.H. Matloup, O.A. Olafadehan // *Animal Biotechnology*. - 2020. - 31(6). - P. 491-497. DOI: 10.1080/10495398.2019.1625783

115. Башашкина, Е.В. Кофейный шлам как сырье для получения кормовой добавки / Е.В. Башашкина, Е.А. Пашина, А.Е. Пашинин, Н. Суясов // *Успехи химии и химической технологии*. - 2008. - Т. 22. - N 13. - С. 38-40.

116. Сербя, Е.М.. Получение биологически активных добавок на основе обогащенной дрожжевой биомассы / Е.М. Сербя, Е.Н. Соколова, Н.А. Фурсова, Г.С. Волкова, Ю.А. Борщева // *Хранение и переработка сельхозсырья*. - 2018. - N 2. - С. 74-79.

117. Kot, A.M. Effect of exogenous stress factors on the biosynthesis of carotenoids and lipids by *Rhodotorula* yeast strains in media containing agro industrial waste / A.M. Kot, S. Błażejczak, M. Kieliszek, I. Gientka, J. Bryś, L. Reczek, K. Pobiega // *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. - 2019. - V. 35. - P. 157-160. DOI: 10.1007/s11274-019-2732-8

118. Патент № 2021112214. Российская Федерация. Способ биоконверсии подсолнечной лузги в кормовой продукт с высоким содержанием белка / И.А. Фоменко, Л.А. Иванова, С.П. Комбарова, И.Д. Бельский, И.А. Дегтярев, А.А. Мижева; патентообладатель ФГБОУ ВО «Московский государственный университет пищевых производств»; заявл. 28.04.2021; опубл. 21.12.2021, Бюл. № 36. - 12 с.

119. Фоменко, И.А. Разработка технологии белкового концентрата из дрожжевой биомассы *Kluyveromyces marxianus* Van der Walt (1965) / И.А. Фоменко, И.А. Дегтярев, Л.А. Иванова, Н.Г. Машенцева // Сельскохозяйственная биология. - 2021. - Т. 56. - N 6. - С. 1172-1182. doi: 10.15389/agrobiology.2021.6.1172rus

120. Boutrou, R. Interests in *Geotrichum candidum* for cheese technology / R. Boutrou, M. Gueguen // International Journal of Food Microbiology. - 2005. - V. 102. - Is. 1. - P. 1-20. DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2004.12.028

121. Zhukova, Y. Effect of culture of accumulation white mold volatile aromatic compounds in cheese / Y. Zhukova, V. Malova, Ts. Korol, L. Kozlova, Ph. Phedin // Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького. - 2012. - Т. 14. - N 2 (52). - С. 218-226.

122. Lessard, M.H. Metatranscriptome analysis of fungal strains *Penicillium camemberti* and *Geotrichum candidum* reveal cheese matrix breakdown and potential development of sensory properties of ripened Camembert-type cheese / M.H. Lessard, C. Viel, B. Boyle, D. St-Gelais, S. Labrie // BMC Genomics. - 2014. - V. 15(235). - P. 2-13. DOI: 10.1186/1471-2164-15-235

123. Boutrou, R. Contribution of *Geotrichum* to the proteolysis of soft cheese / R. Boutrou, L. Kerriou, J.Y. Gassi // International Dairy Journal. - 2006. - V.16. - N 7. - P. 775-783. DOI: 10.1016/j.idairyj.2005.07.007

124. Veeraragavan, K. Purification and characterization of two distinct lipases from *Geotrichum candidum* / K. Veeraragavan, T. Colpitts, B.F. Gibbs // Biochimica et Biophysica Acta. - 1990. - V. 1044. - P. 26-33.

125. Charton, E. Specificities of immobilized *Geotrichum candidum* CMICC 335426 lipase A and B in hydrolysis and ester synthesis in organic solvents / E. Charton, A.R. Macrae // Enzyme and Microbial Technology. - 1993. - V. 15. - P. 489-493.

126. Maldonado, R.R. Evaluation of lipase production by *Geotrichum candidum* in shaken flasks and bench-scale stirred bioreactor using different impellers / R.R. Maldonado, J.F.M. Burkert, M.A. Mazutti, F. Maugeri, M.I. Rodrigues // Biocatalysis and Agricultural Biotechnology. - 2012. - V. 1. - Is. 2. - P. 147-151. DOI:10.1016/j.bcab.2012.01.003

127. Coman, G. Optimization of protein production by *Geotrichum candidum* MIUG 2.15 by cultivation on paper residues, using response surface methodology / G. Coman, I. Leuştean, L. Georgescu, G. Bahrim // BioResources. - 2012. - 7 (4). - P. 5290-5303.

128. Ladevèze, S. The yeast *Geotrichum candidum* encodes functional lytic polysaccharide monooxygenases / S. Ladevèze, M. Haon, A. Villares, B. Cathala, S. Grisel, I. Herpoël-Gimbert, B. Henrissat, J.-G. Berrin // Biotechnology for Biofuels. - 2017. - V. 10. - P. 215. DOI: 10.1186/s13068-017-0903-0

129. Черкасов, В.Д. Пенобетоны на основе пенообразователя из послеспиртовой барды / В.Д. Черкасов, В.В. Ушкина // Уральский научный вестник. - 2016. - Т. 6. - N 1. - С. 168-172.

130. Зиганшин, А.М. Аэробная деградация 2,4,6-тринитротолуола штаммом дрожжей *Geotrichum candidum* AN-Z4 / Зиганшин А.М., Герлах Р., Науменко Е.А., Наумова Р.П. // Микробиология. - 2010. - Т. 79. - N 2. - С. 199-205.

131. Андреев, Н.Р. Утилизация вторичных продуктов переработки тритикале с получением кормового микробно-растительного концентрата для прудовых рыб / Н.Р. Андреев, В.В. Колпакова, И.К. Кравченко, Р.В. Уланова, Л.В. Шевякова, М.А. Макаренко, Д.Н. Лукин // Юг России: экология. Развитие. - 2017. - N 4. - С. 90-104. DOI: 10.18470/1992-1098-2017-4-90-104

132. Лукин, Н.Д. Биоконверсия вторичных продуктов переработки зерна тритикале на крахмал с использованием гриба *Pleurotus ostreatus* 23 / Н.Д. Лукин, Р.В. Уланова, И.К. Кравченко, В.В. Колпакова, В.Г. Гольдштейн // Химия растительного сырья. - 2018. - N 4. - С. 225-234. DOI: 10.14258/jcprm.2018043993

133. Chuppa Tostain, G. Production of *Aspergillus niger* biomass on sugarcane distillery wastewater: physiological aspects and potential for biodiesel production Bioremediation, Biodiesel, Lipids / G. Chuppa Tostain, J. Hoarau, M. Watson, L. Adelard, A.S.Ch. Alain Shum Cheong Sing, Y. Caro, I. Grondin, I. Bourven, J-M. Francois, E. Girbal Neuhauser, T. Petit // Fungal Biology and Biotechnology. - 2018. - N 5. - P. 1-6. DOI: 10.1186/s40694-018-0045-6

134. Athar, M. S. Bioconversion of Beet Pulp to Microbial Biomass Protein by *Candida utilis* / M.S. Athar, S. Ahmed, A.S. Abu Saeed Hashmi // Journal-Chemical Society of Pakistan. - 2009. - Vol. 31(1). - P. 115-121.

135. Irshad M. Regulation of Endo- β -d- Xylanase and β - Xylosidase Synthesis in *Humicola Lanuginosa* / M. Irshad, S. Ahmed, F. Latif, M.I. Rajoka // Journal of the Chemical Society of Pakistan. - 2008. - V. 30. - P. 913-918.

136. Klost, M. Structure formation and rheological properties of pea protein-based gels / M. Klost, S. Drusch // Food Hydrocolloids. - 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.03.030>

137. Bustillos, M.A. Rheological and microstructural characterization of batters and sponge cakes fortified with pea proteins / M.A. Bustillos, C. Jonchere, C. Garnier, A.L. Reguerre, G.D. Valle // Food Hydrocolloids. - 2020. - V. 101. - N 105553. DOI: 10.1016/j.foodhyd.2019.105553

138. Bajaj, R.P. Pea protein isolates: novel wall materials for microencapsulating flaxseed oil / R.P. Bajaj, S. Tang, S. Sablani // Food and Bioprocess Technology. - 2015. - V. 8(12). - P. 2418-2428. DOI: doi.org/10.1007/s11947-015-1589-6

139. Tulbek, M.C. Pea: a sustainable vegetable protein crop / M.C. Tulbek, R.S.H. Lam, Y.C. Wang, P. Asavajaru, A. Lam // In Sustainable protein sources, ed.

S.R. Nadathur, J.P.D. Wanasundara, L. Scanlin, San Diego, CA, Academic Press. - 2016. - P. 145-164.

140. Horstmann, S.W. Impact of different *S. cerevisiae* yeast strains on gluten-free dough and bread quality parameters / S.W. Horstmann, J.J. Atzler, M. Heitmann // European Food Research and Technology. - 2019. - V. 245. - P. 213-223. <https://doi.org/10.1007/s00217-018-3154-9>

141. Wójcik, M. Physico-chemical properties of an innovative gluten-free, low-carbohydrate and high protein-bread enriched with pea protein powder / M. Wójcik, R. Różyło, R. Schönlechner // Scientific Reports. - 2021. - V. 11. - Article number: 14498. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-93834-0>

142. Батурина, Н.А. Потребительские свойства и пищевая ценность пшеничного хлеба с добавками муки бобовых культур / Н.А. Батурина, Р.С. Музалевская, Л.А. Пашкевич // Вестник ОрелГИЭТ. - 2013. - N 1(23). - С. 153-159.

143. Патент № 2295860, Российская Федерация, МПК А21D8/02, А21D2/36, А21D13/04. Способ производства хлеба с композитными смесями / Т.В. Санина, Е.И. Пономарева, О.Н. Воропаева; заявитель и патентообладатель Государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования Воронежская государственная технологическая академия. №20051313 94/13; заявл. 10.10.2005, опубл. 27.03.2007, Бюл. № 9.

144. Патент № 2332010, РФ, МПК А21D8/02, А21D2/36, А21D13/04. Способ производства хлеба повышенной биологической ценности с композитной смесью / Т.В. Санина, Е.И. Пономарева, О.Н. Воропаева, М.К. Шайдаюк; № 200613 9482/13; заявл. 07.11.2006, опубл. 27.08.2008, Бюл. № 9.

145. Коршенко, Л.О. Улучшитель для пшеничных сортов хлеба на основе гороховой муки / Л.О. Коршенко, О.Г. Чижикова, Т.К. Каленик, Т.В. Тилиндис // Хранение и переработка сельхозсырья. - 2008. - N 4. - С. 75-77.

146. Гатько, Н.Н. Использование белковых обогатителей в приготовлении дрожжевого теста / Н.Н. Гатько // Известия ВУЗов. Пищевая технология. - 2003. - N 2-3. - С. 46-47.

147. Campbell, L. Effect of addition of thermally modified cowpea protein on sensory acceptability and textural properties of wheat bread and sponge cake / L. Campbell, S.R. Euston, M.A. Ahmed // Food Chemistry. - 2016. - V. 194. - P. 1230-1237.

148. Linares-García, L. Development of gluten-free and egg-free pasta based on quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd) with addition of lupine flour, vegetable proteins and the oxidizing enzyme Pox / L. Linares-García, R. Repo-Carrasco-Valencia, P. Glorio Paulet // European Food Research and Technology. - 2019. - V. 245. - P. 2147-2156. <https://doi.org/10.1007/s00217-019-03320-1>

149. Цыганова, Т.Б. Технология хлебопекарного производства / Т.Б. Цыганова. - М.: ПрофОбрИздат. - 2001. - 432 с.

150. Choi, W.S. Film-forming mechanism and heat denaturation effects on the physical and chemical properties of pea-protein-isolate edible films / W.S. Choi, J.H. Han // The Journal of Food Science. - 2002. - V. 67. - N 4. - P. 1399-1406.

151. Choi, W.S. Physical and mechanical properties of pea-protein-based edible films / W.S. Choi, J.H. Han // The Journal of Food Science. - 2001. - V. 66. - N 2. - P. 319-322.

152. Патент № 2289952, Российская Федерация, МПК А23L1/16. Состав теста для производства макаронных изделий / С.Я. Корячкина, Г.А. Осипова; заявитель и патентообладатель ГОУ ВПО «Орловский государственный технический университет». № 2005115176/13; заявл. 2005.05.18, опубл. 2006.12.27, Бюл. № 36.

153. Осипова, Г.А. Использование белковых изолятов в производстве макаронных изделий / Г.А. Осипова, С.Я. Корячкина // Современные наукоемкие технологии. - 2006. - N 7. - С. 91-93.

154. Корячкин, В. Реологические свойства макаронного теста с белковыми добавками / В. Корячкин, С. Корячкина, Г. Осипова // Хлебопродукты. - 2009. - N 4. - С. 44-45.

155. Chao, D. Physicochemical and functional properties of high pressure-treated isolated pea protein / D. Chao, S. Jung, R.E. Aluko // Innovative Food Science

& Emerging Technologies. - 2018. - V. 45. - P. 179-185. doi: 10.1016/j.ifset.2017.10.014

156. Остриков, А.Н. Определение белково-углеводного состава экструдированного гороха с белковой добавкой / А.Н. Остриков, В.Н. Василенко, А.В. Данковцев // Известия высших учебных заведений. Пищевая технология. - 2003. - N 4. - С. 78-79.

157. Патент № 2157074, Российская Федерация, МПК А23L1/20, А23L1/40, А23P1/12. Способ производства горохового концентрата быстрого приготовления / О.Ю. Красильников, Е.В. Кульбацкий; заявитель и патентообладатель Красильников О. Ю., Кульбацкий Е. В. № 98113672/13; заявл. 09.07.1998, опубл. 10.10.2000, Бюл. № 28.

158. Хорошева, И.Г. Использование нетрадиционного сырья для производства чипсов / И.Г. Хорошева, Е.А. Назаренко, В.Н. Ковбаса // Пищевая промышленность. - 2003. - N 3. - С. 72-73.

159. Agboola, S.O. Functional properties of yellow field pea (*Pisum sativum* L.) seed flours and the in vitro bioactive properties of their polyphenols / S.O. Agboola, O.A. Mofolasayo, B.M. Watts, R.E. Aluko // Food Research International. - 2010. - V. 43 (2). - P. 582-588. doi: 10.1016/j.foodres.2009.07.013

160. Kamani, M.H. Partial and total replacement of meat by plant-based proteins in chicken sausage: evaluation of mechanical, physico-chemical and sensory characteristics / M.H. Kamani, M.S. Meera, N. Bhaskar // Journal of Food Science and Technology. - 2019. - V. 56. - P. 2660-2669. <https://doi.org/10.1007/s13197-019-03754-1>

161. Anderson, E.T. Effects of inner pea fiber on fat retention and cooking yield in high fat ground beef / E.T. Anderson, B.W. Berry // Food Research International. - 2001. - V. 34. - N 8. - P. 689-694.

162. Берлогин, В.И. Функциональные свойства натуральной текстурированной муки из зерновых и зернобобовых культур и ее применение в производстве продуктов питания / В.И. Берлогин // Пищевые ингредиенты. Сырье и добавки. - 2001. - N 1. - С. 28-29.

163. Кроха, Н.Г. Продукты специального питания на основе семян зернобобовых культур / Н.Г. Кроха, И.Т. Дианова, Е.Е. Браудо // Пищевая промышленность. - 1997. - N 6. - С. 13.

164. Niemann, C. Ermittlung von Struktur-Eigenschafts-Beziehungen von Ballaststoffpreparaten aus Leguminosen und Weizen in Hinblick auf deren Verwendung in Lebensmitteln / C. Niemann, F. Meuser // Veröffentl. Arbeitsgemeinschaft. Getreideforschung e. V. Detmold. - 2000. - Bk. 284. - P. 69-80.

165. Baugreet, S. Development of novel fortified beef patties with added functional protein ingredients for the elderly / S. Baugreet, J.P. Kerry, C. Botinestean, P. Allen, R.M. Hamill // Meat Science. - 2016. - V. 122. - P. 40-47. doi: 10.1016/j.meatsci.2016.07.004

166. Ma, Z. Technofunctional characterization of salad dressing emulsions supplemented with pea, lentil and chickpea flours / Z. Ma, J. Boye, K. Swallow, L. Malcolmson, B. Simpson // Journal of the Science of Food and Agriculture. - 2016. - V. 96 (3). - P. 837-847. doi: 10.1002/jsfa.7156

167. Мусина, О.Н. Новый творожный продукт с зернобобовым компонентом / О.Н. Мусина // Вестник РАСХН. - 2008. - N 6. - С. 87-89.

168. Патент № 2282996, Российская Федерация, МПК А23С19/076, А23С23/00. Способ производства творога / М.Н. Сахрынин, О.Н. Мусина, М.П. Щетинин; заявитель и патентообладатель Государственное научное учреждение Сибирский научно-исследовательский институт сыроделия Сибирского отделения Российской академии сельскохозяйственных наук (ГНУ СибНИИС СО РАСХН). № 2004134755/13; заявл. 29.11.2004, опубл. 10.05.2006, Бюл. № 25.

169. Заявка на изобретение Российская Федерация, МПК А23L1/20. Способ получения гранулированных продуктов для пищевых и кормовых целей из зернобобовых и зерновых культур / В.Ф. Король, Г.Н. Лахмоткина; заявитель В.Ф. Король, Г.Н. Лахмоткина. № 2011132716/13; заявл. 03.08.2011, опубл. 10.03.2013, Бюл. № 7.

170. McCarthy, N.A. Emulsification properties of pea protein isolate using homogenization, microfluidization and ultrasonication / N.A. McCarthy, D. Kennedy, S.A. Hogan, P.M. Kelly, K. Thapa, K.M. Murphy, M.A. Fenelon // *Food Research International*. - 2016. - V. 89. - P. 415-421. doi: 10.1016/j.foodres.2016.07.024

171. Serfert, Y. Chemical stabilisation of oils rich in long-chain polyunsaturated fatty acids during homogenisation, microencapsulation and storage / Y. Serfert, S. Drusch, K. Schwarz // *Food Chemistry*. - 2009. - V. 113 (4). - P. 1106-1112. doi: 10.1016/j.foodchem.2008.08.079

172. Dickinson, E. Use of nanoparticles and microparticles in the formation and stabilization of food emulsions / E. Dickinson // *Trends in Food Science & Technology*. - 2012. - V. 24 (1). - P. 4–12. doi: 10.1016/j.tifs.2011.09.006

173. Amine, C. Investigation of emulsifying properties and emulsion stability of plant and milk proteins using interfacial tension and interfacial elasticity/ C. Amine, J. Dreher, T. Helgason, T. Tadros // *Food Hydrocolloids*. - 2014. - V. 39. - P. 180-186. doi: 10.1016/j.foodhyd.2014.01.001

174. Aberkane, L. Encapsulation and oxidative stability of PUFA-rich oil microencapsulated by spray drying using pea protein and pectin / L. Aberkane, G. Roudaut, R. Saurel // *Food and Bioprocess Technology*. - 2014. - V. 7 (5). - P. 1505-1517. doi: 10.1007/s11947-013-1202-9

175. Taboada, M. Breakup and Coalescence of Oil Droplets in Protein-Stabilized Emulsions During the Atomization and the Drying Step of a Spray Drying Process / M. Taboada, & D. Chutani, H.Karbstein, G. Volker // *Food and Bioprocess Technology*. - 2021. - V. 14. - P. 1-12. 10.1007/s11947-021-02606-1

176. Wan, Z. L. Plant protein-based delivery systems for bioactive ingredients in foods / Z. L. Wan, J. Guo, X.Q. Yang // *Food & Function*. - 2015. - V. 6 (9). - P. 2876-2889. doi: 10.1039/C5FO00050E

177. Nesterenko, A. Vegetable proteins in microencapsulation: a review of recent interventions and their effectiveness / A. Nesterenko, I. Alric, F. Silvestre, V. Durrieu // *Industrial Crops and Products*. - 2013. - V. 42. - P. 469-479. doi: 10.1016/j.indcrop.2012.06.035

178. Tome, D. Criteria and markers for protein quality assessment – A review / D. Tome // *British Journal of Nutrition*. - 2012. - V. 108 (S2). - P. S222-S229. doi: 10.1017/S0007114512002565

179. Fernandes, D. Microencapsulation of rosemary essential oil: Characterization of particles / D. Fernandes, S. Borges, D. Botrel, E. Silva, J. Costa, F. Queiroz // *Drying Technology*. - 2013. - V. 11. - P. 1245-1254. doi: 10.1080/07373937.2013.785432

180. Graaf, L.A. Requirements for non-food applications of pea proteins. A review / L.A. Graaf, P.F. Harmsen, J.M. Vereijken, M. Monikes // *Die Nahrung*. - 2001. - V. 45 (6) - P. 408-411. doi: 10.1002/1521-3803(20011001)45:6<408::AID-FOOD408>3.0.CO;2-#

181. Pierucci, A.P.T.R. New microencapsulation system for ascorbic acid using pea protein concentrate as coat protector / A.P.T.R. Pierucci, L.R. Andrade, E.B. Baptista, N.M. Volpato, M.H.M. Rocha-Leao // *Journal of Microencapsulation*. - 2006. - V. 23 (6). - P. 654-662. doi: 10.1080/02652040600776523

182. Pereira, H.V.R. Legumes seeds protein isolates CRITICAL REVIEWS IN FOOD SCIENCE AND NUTRITION 11 in the production of ascorbic acid microparticles / H.V.R. Pereira, K.P. Saraiva, L.M.J. Carvalho, L.R. Andrade, C. Pedrosa, A.P.T.R. Pierucci // *Food Research International*. - 2009. - 42 (1). - P. 115-121. doi: 10.1016/j.foodres.2008.10.008

183. Costa, A.M.M. Effective stabilization of CLA by microencapsulation in pea protein / A.M.M. Costa, J.C. Nunes, B.N.B. Lima, C. Pedrosa, V. Calado, A.G. Torres, A.P.T.R. Pierucci // *Food Chemistry*. - 2015. - V. 168. - P. 157-166. doi: 10.1016/j.foodchem.2014.07.016

184. Lin, D. Interactions of vegetable proteins with other polymers: structurefunction relationships and applications in the food industry / D. Lin, W. Lu, A.L. Kelly, L. Zhang, B. Zheng, S. Miao // *Trends in Food Science and Technology*. - 2017. - V. 68. - P. 130-144.

185. Jansen-Alves, C. Propolis microparticles produced with pea protein: Characterization and evaluation of antioxidant and antimicrobial activities / C.

Jansen-Alves, D.S.V. Maia, F.D. Krumreich, M.M. Crizel-Cardoso, Jú.B. Fioravante, W.P. da Silva, C.D. Borges, R.C. Zambiasi // *Food Hydrocolloids*. - 2018. doi: 10.1016/j.foodhyd.2018.09.004

186. Ariyaratna, I.R. Use of chickpea protein for encapsulation of folate to enhance nutritional potency and stability / I.R. Ariyaratna, D.N. Karunaratne // *Food Bioprod Process*. - 2015. - V. 95. - P. 76-82.

187. Butt, M.S. Nutritional and functional properties of some promising legumes protein isolates / M.S. Butt, R. Batool // *Pakistan Journal of Nutrition*. - 2010. - V. 9. - P. 373-379. doi: 10.3923/pjn.2010.373.379

188. Козонова, Ю.А. Фруктово-овощные напитки функционального назначения / Ю.А. Козонова, Л.Н. Тележенко // *Пиво и напитки*. - 2006. - N 6. - С. 18-22.

189. Nosworthy, M.G. Does the concentration, isolation, or deflavoring of pea, lentil, and faba bean protein alter protein quality / M.G. Nosworthy, M.C. Tulbek, J.D. House // *Cereal Foods World*. - 2017. - V. 62 (4). - P. 139-142. doi: 10.1094/CFW-62-4-0139

190. Wagoner, T.B. Whey protein-pectin soluble complexes for beverage applications / T.B. Wagoner, E.A. Foegeding // *Food Hydrocolloids*. - 2017. - V. 63. - P. 130-138. doi: 10.1016/j.foodhyd.2016.08.027

191. Патент № 2110934, Российская Федерация, МПК А23L1/307, А23L1/10. Способ производства сухих пищевых продуктов / Л.В. Римарева, В.И. Степанов, М.Б. Оверченко, В.В. Трифонова; заявители и патентообладатели Л.В. Римарева, В.И. Степанов, М.Б. Оверченко, В.В. Трифонова. № 93102653/13; заявл. 09.02.1996, опубл. 20.05.1998, Бюл. № 8.

192. Babault, N. Pea proteins oral supplementation promotes muscle thickness gains during resistance training: a double-blind, randomized, placebo-controlled clinical trial vs. Whey protein / N. Babault, C. Paizis, G. Deley, L. Guerin-Deremaux, M.H. Saniez, C. Lefranc-Millot, F.A. Allaert // *Journal of the International Society of Sports Nutrition*. - 2015. - V. 12 (1). - P. 3. doi: 10.1186/s12970-014-0064-5

193. Григоренко, С.П. Использование бобовых культур в производстве рыборастворительных фаршевых продуктов для питания юношей и девушек, занятых умственным трудом / С.П. Григоренко // Известия ВУЗов. Пищевая технология. - 2007. - N 3. - С. 21-23.

194. Tome, A.S. Protein gels and emulsions from mixtures of cape hake and pea 12 Z. X. LU ET AL. proteins / A.S. Tome, C. Pires, I. Batista, I. Sousa, A. Raymundo // Journal of the Science of Food and Agriculture. - 2015. - V. 95 (2). - P. 289-298. doi: 10.1002/jsfa.6717

195. Hansen, M.M. Effects of Aronia polyphenols on the physico-chemical properties of whey, soy, and pea protein isolate dispersions / M.M. Hansen, R.W. Hartel, Y.H. Roos // Food Production, Processing and Nutrition. - 2021. - V. 3. - P. 29. <https://doi.org/10.1186/s43014-021-00074-w>

196. Muller, T. Garantiert DSE-frei / T. Muller, G. Scholten, C. Blum // Dt. Weinmag. - 2001. - N 9/10. - P. 104-111.

197. Yan, F. Small Peptides Hydrolyzed from Pea Protein and Their Maillard Reaction Products as Taste Modifiers: Saltiness, Umami, and Kokumi Enhancement / F. Yan, H. Cui, Q. Zhang // Food and Bioprocess Technology. - 2021. - V. 14. - P. 1132-1141. <https://doi.org/10.1007/s11947-021-02630-1>

198. Казанцева, И.Л. К вопросу применения муки из зерна нута в технологии мучных кондитерских изделий / И.Л. Казанцева, Т.Б. Кулеватова, Л.Н. Злобина // Зернобобовые и крупяные культуры. - 2018. - N 1(25). - С. 76-81.

199. Shrivastava, S. Bread from wheat flour partially replaced by fermented chickpea flour: Optimizing the formulation and fuzzy analysis of sensory data / S. Shrivastava, S. Chakraborty // LWT – Food Science and Technology. - 2018. - V. 90. - P. 215-223. DOI: 10.1016/j.lwt.2017.12.019

200. Мирошник, А.С. Разработка технологии мясного рубленого полуфабриката полифункциональной направленности / А.С. Мирошник, И.Ф. Горлов, М.И. Сложенкина // Хранение и переработка сельхозсырья. - 2017. - N 11. - С. 26-29.

201. Garcia-Segovia, P. Use of insects and pea powder as alternative protein and mineral sources in extruded snacks / P. Garcia-Segovia, M. Igual, A.T. Noguerol, J. Martinez-Monzo // *European Food Research and Technology*. - 2020. - V. 4. - P. 703-712. <https://doi.org/10.1007/s00217-020-03441-y>

202. Wee, M.S.M. Physical and sensory characterisation of noodles with added native and denatured pea protein isolate / M.S.M. Wee, D.E. Loud, V.W.K. Tan, C.G. Forde // *Food Chemistry*. - 2019. - V. 294. - P. 152-159. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.05.042>

203. Ghribi, A.M. Toward the enhancement of sensory profile of sausage “Merguez” with chickpea protein concentrate / A.M. Ghribi, A.B. Amira, I.M. Gafsi, M. Lahiani, M. Bejar, M. Triki, A. Zouaria, H. Attia, S. Besbes // *Meat Science*. - 2018. - V. 143. - P. 74-80.

204. Егорова, Е.Ю. «Немолочное молоко»: обзор сырья и технологий / Е.Ю. Егорова // *Ползуновский вестник*. - 2018. - N 3. - С. 25-34. DOI: 10.25712/ASTU.2072-8921.2018.03.005

205. Nunes, M.C. Gelled vegetable desserts containing pea protein, κ-carrageenan and starch / M.C. Nunes, A. Raymundo, I. Sousa // *European Food Research and Technology*. - 2006. - V. 222. - N 5-6. - P. 622-628.

206. Cai, R. Preparation of bean curds from protein fractions of six legumes / R. Cai, B. Klamczynska, B.K. Baik // *The Journal of Agricultural and Food Chemistry*. - 2001. - V. 49. - N 6. - P. 3068-3073.

207. Патент № 2489905, Российская Федерация, МПК А23L1/29. Жидкая энтеральная питательная композиция с высоким содержанием белка / М. Минор, К.Г.Х. Вел, Н.Э. Хотрум; заявитель и патентообладатель Н.В. Нютрисиа (NL). № 2010141720/13; заявл. 12.03.2009, опубл. 20.04.2012, Бюл. № 23.

208. Chong, K.Y. Development of Pea Protein Films with Haskap (*Lonicera caerulea*) Leaf Extracts from Aqueous Two-phase Systems / K.Y. Chong, Y. Yuryev, A. Jain // *Food Bioprocess Technology*. - 2021. - V. 14. - P. 1733-1750. <https://doi.org/10.1007/s11947-021-02671-6>

209. Kowalczyk, D. Microstructure and functional properties of sorbitol-plasticized pea protein isolate emulsion films: Effect of lipid type and concentration, / D. Kowalczyk, W. Gustaw, E. Zięba, S. Lisiecki, J. Stadnik, B. Baraniak // Food Hydrocolloids. - 2016. doi: 10.1016/j.foodhyd.2016.04.006

210. Жеруков, Б.Х. Проблемы экологии и растительного белка / Б.Х. Жеруков, К.Г. Магомедов, Н.В. Бербекова // Кормопроизводство. - 2003. - N 8. - С. 21-23.

211. Аниканова, З. Формирование сортовых ресурсов гороха / З. Аниканова, Т. Горпинченко // Хлебопродукты. - 1999. - N 2. - С. 22-24.

212. Вербицкий, Н.М. Горох - высокобелковая культура / Н.М. Вербицкий, В.Г. Шурупов, А.В. Илюшечкин // Вестник РАСХН. - 2006. - N 5. - С. 11-13.

213. Шалимова, О.А. Новые подходы к производству биологически безопасной мясной продукции в цикле «корма - животные - сырье - готовый продукт», автореф. дис. д-ра биол. наук: 06.02.04, 06.02.02 / Шалимова Оксана Анатольевна. - Волгоград, 2009. - 49 с.

214. ГОСТ 13586.5-93. Зерно. Метод определения влажности. - М: Стандартиформ, 2009. - 6 с.

215. ГОСТ 10846-91. Зерно и продукты его переработки. Метод определения белка. - М: Стандартиформ, 2009. - 8 с.

216. ГОСТ Р 57221-2016: Дрожжи кормовые. Методы испытаний. - М: Стандартиформ, 2020. - 54 с.

217. Lowry, O.H. Protein measurement with the Folin phenol reagent / O.H. Lowry, N.J. Rosebrough, A.L. Farr, R.J. Randall // The Journal of Biological Chemistry. - 1951. - N 193. - P. 265-272.

218. ГОСТ 10845-98. Зерно и продукты его переработки. Метод определения крахмала. - М: Стандартиформ, 2009. - 4 с.

219. ГОСТ 31675-2012. Корма. Методы определения содержания сырой клетчатки с применением промежуточной фильтрации. - М: Стандартиформ, 2020. - 10 с.

220. ГОСТ 27494-2016. Мука и отруби. Методы определения зольности. - М: Стандартинформ, 2019. - 11 с.

221. ГОСТ 29033-91. Зерно и продукты его переработки. Метод определения жира. - М: ИПК Издательство стандартов, 2004. - 5 с.

222. Нечаев, А.П. Пищевая химия: Лабораторный практикум. Пособие для вузов / А.П. Нечаев, С.Е. Траубенберг, А.А. Кочеткова, В.В. Колпакова, И.С. Витол, И.Б. Кобелева. - СПб: ГИОРД, 2006. - 304 с. ISBN 5-98879-037-2

223. Orth, R.A. Studies of glutenin. I. Comparison of preparative methods / R.A. Orth, W. Bushuk // Cereal Chemistry. - 1973. - V. 50. - P. 106-113.

224. Стручкова, И.В. Теоретические и практические основы проведения электрофореза белков в полиакриламидном геле / И.В. Стручкова, Е.А. Калясова // Электронное учебно-методическое пособие. - Нижний Новгород: Нижегородский госуниверситет. - 2012. - 60 с.

225. ГОСТ 32195-2013. Корма, комбикорма. Метод определения содержания аминокислот. - М.: Стандартинформ, 2016. - 22 с.

226. ГОСТ 13979.9-69. Жмыхи и шроты. Методика выполнения измерений активности уреазы. - М: ИПК Издательство стандартов, 1995. - 37 с.

227. ГОСТ 30178-96. Сырье и продукты пищевые. Атомно-абсорбционный метод определения токсичных элементов. - М: Стандартинформ, 2010. - 8 с.

228. Скурихин, И.М. Руководство по методам анализа качества и безопасности пищевых продуктов / И.М. Скурихин, В.А. Тутельян. - М.: Брандес, Медицина. - 1998. - 342 с. ISBN 5-225-02777-6

229. Покровский, А.А. Атакуемость белков пищевых продуктов / А.А. Покровский, И.Д. Ертанов // Вопросы питания. - 1965. - N 3. - С. 38-44.

230. ГОСТ 24230-80. Корма растительные. Метод определения перевариваемости *in vitro*. - М: ИПК Издательство стандартов, 2003. - 3 с.

231. Колпакова, В.В. Белок из пшеничных отрубей. Функциональные свойства белковой муки: растворимость и водосвязывающая способность / В.В.

Колпакова, А.П. Нечаев // Известия ВУЗов. Пищевая технология. - 1995. - N 1-2. - С. 31-33.

232. Колпакова, В.В. Белок из пшеничных отрубей. Функциональные свойства белковой муки: эмульгирующие и пенообразующие свойства / В.В. Колпакова, А.Е. Волкова, А.П. Нечаев // Известия ВУЗов. Пищевая технология. - 1995. - N 1-2. - С. 34-37.

233. Miles, A.J. Redetermination of the extinction coefficient of camphor-10-sulfonic acid, a calibration standard for circular dichroism spectroscopy / A.J. Miles, F. Wien, B.A. Wallace // Analytical Biochemistry. - 2004. - N 335. - P. 338-339.

234. Гаврилин, М.В. Фенольные соединения надземной части шалфея мускатного (*Salvia sclarea* L.), культивируемого в Ставропольском крае / М.В. Гаврилин, О.И. Попова, Е.А. Губанова // Химия растительного сырья. - 2010. - N 4. - С. 90-104.

235. Folch, J. A simple method for the isolation and purification of total lipid from animal tissues / J. Folch, M. Lees, G.H. Sloane Stanley // Journal of Biological Chemistry. - 1957. - V. 226. - P. 497-509.

236. ОФС.1.7.2.0018.15. Определение нуклеиновых кислот по методу Спирина в иммунобиологических лекарственных препаратах. Государственная фармакопея Российской Федерации. - 2015. - XIII издание. - Т. II. - 2 с.

237. ГОСТ 31746-2012. Продукты пищевые. Методы выявления и определения количества коагулазоположительных стафилококков и *Staphylococcus aureus*. - М: Стандартинформ, 2013. - 24 с.

238. ГОСТ 3623-2015. Молоко и молочные продукты. Методы определения пастеризации. - М: Стандартинформ, 2019. - 16 с.

239. ГОСТ 31659-2012. Продукты пищевые. Метод выявления бактерий рода *Salmonella*. - М: Стандартинформ, 2014. - 21 с.

240. ГОСТ 31747-2012. Продукты пищевые. Методы выявления и определения количества бактерий группы кишечных палочек (колиформных бактерий). - М: Стандартинформ, 2013. - 16 с.

241. ГОСТ 10444.11-2013. Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Методы выявления и подсчета количества мезофильных молочнокислых микроорганизмов. - М: Стандартинформ, 2014. - 17 с.

242. ГОСТ 8558.1-2015. Продукты мясные. Методы определения нитрита. - М: Стандартинформ, 2019. - 14 с.

243. ГОСТ Р 9793-2016. Мясо и мясные продукты. Методы определения влаги. - М: Стандартинформ, 2018. - 7 с.

244. ГОСТ 31470-2012. Мясо птицы, субпродукты и полуфабрикаты из мяса птицы. Методы органолептических и физико-химических исследований. - М: Стандартинформ, 2013. - 41 с.

245. ГОСТ 25011-2017. Мясо и мясные продукты. Методы определения белка. - М: Стандартинформ, 2018. - 15 с.

246. ГОСТ 23042-2015. Мясо и мясные продукты. Методы определения жира. - М: Стандартинформ, 2019. - 10 с.

247. ГОСТ Р 51944-2002. Мясо птицы. Методы определения органолептических показателей, температуры и массы. - М: Стандартинформ, 2008. - 6 с.

248. ГОСТ 31727-2012 (ISO 936, 1998). Мясо и мясные продукты. Метод определения массовой доли общей золы. - М: Стандартинформ, 2019. - 8 с.

249. Остриков, А.Н. Процесс экструзии крахмалосодержащего сырья. В кн.: Теоретические основы пищевых технологий / А.Н. Остриков, О.В. Абрамов, В.Н. Василенко, Ф.Н. Вертяков // Под ред. Панфилова В.А. - Книга 2. - М.: Колосс, 2009. - 623-648.

250. Тюкавкина, Н.А. Органическая химия: В 2 книгах. Книга 2: Специальный курс / Н.А. Тюкавкина, С.Э. Зурабян, В.Л. Белобородов // Под ред. Тюкавкиной Н.А. - М: Дрофа. - 2008. - 592 с.

251. ТР ТС 021/2011 Технический регламент Таможенного союза "О безопасности пищевой продукции" (с изменениями на 14 июля 2021 года) Технический регламент Таможенного союза от 09.12.2011 N021/2011. – 172 с.

252. Колпакова, В.В. Сухая пшеничная клейковина: функциональные свойства, перспективы применения / В.В. Колпакова, Е.В. Буданцев, Л.В. Зайцева // Пищевая промышленность. - 2010. - N 4. - С. 56-59.

253. Колпакова, В.В. Модификация функциональных свойств белковых концентратов из белого и коричневого риса / В.В. Колпакова, Л.В. Чумикина, Л.И. Арабова // Вестник ВГУИТ. - 2019. - Т. 81(1). - С. 181-189.
DOI:10.20914/2310-1202-2019-1

Акт испытаний по кормлению цыплят-бройлеров кросса «Росс 308»
комбикормом с кормовыми дрожжами

ФГБНУ «Поволжский научно-исследовательский институт
производства и переработки мясомолочной продукции»



« 29 »

июля

2021 г.

М.И. Сложенкина

Акт

**проведения испытаний по кормлению цыплят-бройлеров кросса «Росс 308»
комбикормом с микробно-растительным концентратом**

В период с 24 июня по 28 июля 2021 г., совместно с сотрудниками ВНИИК – филиал ФГБНУ «ФНЦ пищевых систем им. В.М. Горбатова» РАН выполнены опыты по кормлению цыплят-бройлеров кросса «Росс 308» в условиях вивария ГНУ НИИММП (НВЦ, «Новые биотехнологии», г. Волгоград).

Объекты исследования: Для опыта были сформированы две группы суточных цыплят-бройлеров по 30 голов в каждой. Цыплята контрольной группы получали стандартные, сбалансированные рационы, согласно возрастным периодам откорма (1-10, 11-24 и 25-35 дней). В рационах цыплят-бройлеров опытной группы в структуре рациона соевый шрот был частично заменен на микробно-растительный концентрат (МРК) в количестве 5 % с химическим составом, % на СВ: белок (N×6,25) – 51,09±0,40; зола – 8,60±0,03; жир – 1,36±0,36; углеводы 32,14±0,53, в том числе нерастворимые волокна – 14,0±0,10; растворимые волокна – 14,41±0,55. Кормление осуществлялось полнорационными комбикормами ПК 5-1, ПК 5-2, ПК 6.

Методы исследования: В процессе исследований изучена динамика живой массы бройлеров путем еженедельного индивидуального взвешивания, учет потребления кормов проводился ежедневно, ежедневно определяли сохранность путем учета падежа и выбраковки птиц. Анатомическую разделку тушек и органолептическую оценку вареного мяса и бульона проводили согласно методике ФНЦ «ВНИТИП» РАН (2013 г.), в лаборатории ГНУ НИИММП. Качественные показатели мяса и мясных продуктов определяли по методикам СанПиН 2.3.2.1078-01. Гигиенические требования безопасности и пищевой ценности продуктов ГОСТ 8558.1-78. Состав белого мяса определяли по ГОСТ Р9793-74; ГОСТ 31470-2012; ГОСТ 25011-81; ГОСТ 23042-2015; ГОСТ Р51994-2002; ГОСТ 31727-2012 (ISO 936, 1998). Полученные цифровые данные были обработаны биометрическим способом в сравнении с контролем.

Результаты исследований: Показатели роста бройлеров, представленные в таблице 1, демонстрировали положительный эффект скармливаемой добавки.

Через 14 дней скармливания цыплятам-бройлерам МРК установлена достоверная разница по живой массе (P<0,05), которая сохранялась до конца откорма и, в возрасте 35 дней, составила 112,9 г (5,53%; P<0,001) по отношению к контролю.

Таблица 1

Динамика живой массы бройлеров, г (n=30)

Возраст, дни	Группа	
	контрольная	опытная
0	41,3±0,98	
7	174,5±2,19	180,7±2,97
14	438,6±3,72	451,4±4,69*
21	889,1±8,74	927,5±9,53**
28	1418,4±15,65	1493,6±16,21**
35	2041,3±17,46	2154,2±18,51***
Среднесуточный прирост живой массы, г	57,14	60,37
ЕИЭ-Европейский индекс эффективности	639,13	402,28
Затраты корма на 1 кг прироста, кг	1,58	1,53
Сохранность, %	100	100

Среднесуточный прирост живой массы оказался с преимуществом 3,23 г в пользу опытной группы. За счет более высокой живой массы и снижения затрат кормов на единицу продукции ЕИЭ (Европейский индекс продуктивности) в опытной группе превысил контроль на 33,15 единиц и составил 402,28.

Для оценки количественных и качественных характеристик мяса провели разделку тушек после убоя цыплят в возрасте 35 дней, по 5 голов из каждой группы. Увеличение убойного выхода в опытной группе на 0,5% произошло за счет повышения массы потрашенной тушки на 96 г (5,31%; $P<0,01$), относительно контроля. Масса грудных мышц превышала контроль на 44,5 г (7,15%; $P<0,01$), выход тушек I сорта в опытной группе составил 68,4% (выше контрольных параметров на 3,7%).

Проведена экспертиза внутренних органов и установлена тенденция уменьшения их относительной массы, особенно печени.

Таблица 2

Весовые показатели органов пищеварения (n=5)

Показатели	Группа	
	контрольная	опытная
Средняя живая масса цыплят, г	2000,5±20,41	2108,4±19,23
Органы пищеварения:		
печень, г	47,81±0,47	44,91±0,56
%	2,39	2,13
железистый желудок, г	7,60±0,15	6,96±0,17
%	0,38	0,33
мышечный желудок без содержимого и кутикулы, г	50,21±0,33	48,91±0,27
%	2,51	2,32
кишечник, г	142,84±0,51	143,58±0,63
%	7,14	6,81
Итого, г	248,46±0,94	244,36±0,82
%	12,42	11,59

Масса печени как абсолютная, так и относительная несколько понизилась, что подтвердило высокую активность и безопасность изучаемой добавки на процессы пищеварения в организме цыплят-бройлеров.

Химический состав грудных мышц подопытных цыплят определяли с целью установить влияние МРК на питательную ценность мяса (таблица 3). Результаты исследований указали, что испытуемая добавка увеличивала содержание белка в грудных мышцах бройлеров на 0,59% ($P<0,05$) и снижению жира на 0,31% ($P<0,05$).

Таблица 3

Химический состав и питательная ценность грудных мышц цыплят-бройлеров (n=5)

Показатели	Группа	
	контрольная	опытная
Сухое вещество, %	24,36±0,11	24,68±0,10
Белок, %	21,61±0,17	22,20±0,14*
Жир, %	1,66±0,10	1,35±0,08*
Зола, %	1,09±0,03	1,13±0,03
Энергетическая ценность, КДж/100 г	435,61±2,34	433,67±2,79
Индекс качества мяса (жир/белок)	0,077	0,061

Энергетическая ценность мяса понизилась в опытной группе за счет снижения жира и составила 433,67 КДж/100 г продукта. Добавление МРК в комбикорм позитивно повлияло на органолептическую оценку вареного мяса и бульона. Посторонних запахов и привкусов не обнаружено. Общая оценка дегустаторами вареного мяса и бульона в опытной группе превышала контрольные показатели на 0,05 и 0,03 балла и составила 4,68 и 4,49 балла (оценка проведена по 5-бальной шкале).

Вывод:

Количественные и качественные показатели мясной продуктивности позволили заключить о положительном влиянии МРК на изучаемые показатели и целесообразности использования его в кормлении цыплят-бройлеров.

Исполнители:

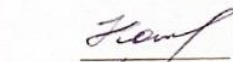

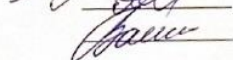

От ГНУ НИИММП

Доктор с.-х. наук, ведущий н.с.

Доктор с.-х. наук, ведущий н.с.

Доктор биол. наук, главный н.с.

Лаборант-исследователь

 Комарова З.Б.
 Николаев Д.В.
 Мосолов А.А.
 Васильева М.О.



От ВНИИК – филиал ФГБНУ

«ФНЦ пищевых систем

им. В.М. Горбатова» РАН:

Аспирант, мл. науч. сотрудник

Зав. отделом биотехнологии, д.т.н., проф.

 Куликов Д.С.
 Колпакова В.В.

Акт проведения технологического процесса получения концентрата белкового из гороховой муки

УТВЕРЖДАЮ
Генеральный директор ООО «Биопрогресс»


А.И. Албулов



ноября 2022 г.

АКТ

Мы, нижеподписавшиеся, главный технолог ООО «Биопрогресс» Фролова М.А., технолог ООО «Биопрогресс» Гринь А.В., с одной стороны, и зав. отделом, главный научный сотрудник ВНИИК – филиал ФГБНУ «ФИЦ картофеля им. А.Г. Лорха», д.т.н., профессор Колпакова В.В., аспирант, младший научный сотрудник ВНИИК – филиал ФГБНУ «ФИЦ картофеля им. А.Г. Лорха», Куликов Д.С, с другой стороны, составили настоящий акт о том, что в период с 14 по 21 ноября 2022 г. на производственных площадях ООО «Биопрогресс» был проведен технологический процесс получения концентрата белкового из гороховой муки методом ферментативного гидролиза.

В качестве сырья для получения концентрата использовали: цельносмолотую гороховую муку (сорт «Ямал», ТУ 10.61.20-001-38744625-2016, ООО «Образ жизни», Алтайский край), ферментные препараты (ФП) фирмы «Novozymes A/S» (Дания): Viscoferm L, Fungamyl 800 L, Shearzyme 500 L, AMG 300 L, Alcalase 2,4 FG L, натр едкий (ГОСТ 11078-78), кислоту соляную (ГОСТ 857-95), воду питьевую (ГОСТ Р 51232-98).

Технологический процесс получения белкового концентрата из гороховой муки проводили следующим образом.

Для приготовления мучной суспензии, в реакторе объемом 0,25 дм³, снабженном перемешивающим устройством и термостатируемой рубашкой при работающей мешалке смешивали гороховую муку в количестве 7 кг с 92,5 л воды, после чего суспензия нагревалась до 50-55 °С. После достижения заданной температуры в реактор подавали 18%-ный раствор HCl до pH суспензии 5,8-6,0, затем ферментные препараты Viscoferm L и Fungamyl 800 L из расчета 1,5 % на 1 г белка в сырье. Процесс 1 стадии экстракции длился 4 часа. По окончании 1 стадии в суспензию снова подавали 18%-ный раствор HCl до pH 5,0-5,3 и ферментные препараты Shearzyme 500 L, AMG 300 L из расчета 1,5 % на 1 г белка в сырье. Продолжительность 2 стадии экстракции – 4 часа. По окончании 2 стадии в суспензию добавляли 10%-ный раствор NaOH до pH 7,8-8,0 и ферментный препарат Alcalase 2,4 FG L из расчета 1,0 % на 1 г белка в сырье. Продолжительность 3 стадии ферментации – 2 часа.

По окончании экстракции суспензия направлялась на разделение на проточную центрифугу марки ОТР – 101К. Нерастворимый крахмало-белковый остаток в количестве 14,23 кг передавали заказчику.

Из промежуточной ёмкости экстракт в количестве ~ 85 л направлялся насосом в реактор объемом 0,25 дм³. Белок из экстракта выделялся в виде аморфного осадка в изоэлектрической точке (рН 4,1-4,3) добавлением 18%-ного раствора HCl. Продолжительность формирования осадка – 30 мин.

Из реактора белковая суспензия поступала на проточную центрифугу марки ОТР – 101К для получения белковой пасты. Белковая паста направлялась затем на промывку в реактор, снабженный перемешивающим устройством, а жидкая сыворотка в количестве 80 л с помощью насоса перекачивалась в промежуточный сборник и передавалась заказчику.

Белковая паста разводилась водой в соотношении 1:2-1:4 при перемешивании в течение 5 мин. Образовавшаяся белковая суспензия поступала вновь на проточную центрифугу марки ОТР – 101К. Промытая суспензия белка направлялась в сборник, где подвергалась нейтрализации при перемешивании 5%-ным раствором NaOH до рН 6,4-6,8. Нейтрализованная суспензия поступала на распылительную сушилку марки РСЛ – 10 производительностью до 10 л/час по испарённой влаге.

Температура продукта на входе сушилки 145 °С, на выходе – 95 °С.

В результате проведенной работы была изготовлена партия горохового белкового концентрата в количестве 0,93 кг.

Проведенные испытания показали возможность получения белковых концентратов из гороховой муки методом ферментативного гидролиза в производственных условиях.

Подписи:


Фролова М.А.


Гринь А.В.


Колпакова В.В.


Куликов Д.С.

Протокол исследований по совместному культивированию штаммов дрожжей
родов *Saccharomyces cerevisiae* и *Geotrichum candidum*

Федеральное государственное учреждение
«Федеральный исследовательский центр
«Фундаментальные основы биотехнологии»
Российской академии наук»

119071 Россия, Москва, Ленинский проспект, д. 33, стр. 2. Тел.: (495) 954-5283; факс: (495) 954-2732; www.fbras.ru; e-mail: info@fbras.ru



УТВЕРЖДАЮ

Зам. директора ФИЦ Биотехнологии РАН,

Э.Г. Садыхов

2022 г.

Протокол исследований

по совместному культивированию штаммов дрожжей родов *Saccharomyces cerevisiae* и *Geotrichum candidum*

В период с 23 по 31 марта 2022 г., совместно с сотрудниками ВНИИК – филиал ФГБНУ «ФИЦ картофеля имени А.Г. Лорха» и ВНИИ микробиологии им. С.Н. Виноградского, выполнено культивирование штаммов дрожжей родов *Saccharomyces cerevisiae* и *Geotrichum candidum* на вторичном продукте переработки гороха на белковый концентрат – сыворотке, с получением дрожжевой биомассы и культуральной жидкости в соответствии с договором № МФ 2022-1 от 04 марта 2022 г.

Оборудование: ферментёр Hanil LiFlus GT с номинальным объёмом 6 л. Стартовый объём аппарата – 3500 мл.

Режим культивирования: batch, осуществлялся контроль и поддержание заданной температуры, значения pH и скорости оборотов мешалки.

Параметры культивирования: температура 28°C; pH 6.8 ±0.3; скорость оборотов мешалки от 200 до 300 об/мин., расход воздуха 2 л/мин.

Состав среды: сыворотка, полученная при переработке гороха. Режим стерилизации 118°C, 1 час. Пеногаситель – пропинол; титровальные агенты: 20 % H₂SO₄ и 10 % NH₄OH.

Засев производился 23.03.2022. в 12:30. Инокулят, предоставленный заказчиком в количестве по 200 мл культур *Saccharomyces cerevisiae* и *Geotrichum candidum*, перед засевом проверили на обсеменённость сторонними культурами (контаминация отсутствовала). Из стартового объёма аппарата приходилось 3100 мл на среду и 400 мл на инокулят. Значение pH после стерилизации равнялось 4,1, перед засевом доведено до 6,8.

Культивирование проводили в течение 118 часов (4,9 суток). В ходе процесса наблюдали образование плотного слоя пены, предположительно белковой природы, затрудняющий корректирующее титрование. Кроме того, *Geotrichum candidum* предпочитал поверхностный пристеночный рост, в результате чего вместе с пеной поднимался над культуральной жидкостью. Для решения этой проблемы три раза в

сутки подавали по 0,3 мл пропиола и на 90 секунд увеличивали обороты мешалки до 800 об/мин.

На протяжении ферментации pH поддерживали в диапазоне 6.8±0.3. В течение первых суток происходило закисление среды, затем, вплоть до окончания культивирования, - защелачивание: с 24-х до 103-х часов - интенсивное, с 103-го до 118 часов - значительно более слабое.

На процесс нейтрализации израсходовано количество титрующих агентов: 20 % H₂SO₄ – 45 мл; 10 % NH₄OH – 56 мл.

Раз в сутки производили отбор проб (5 проб по 25 мл) для анализа на химический состав и выход продукта. Пробы замораживали при -20°C и передавали заказчику. К моменту окончания процесса пенообразование и изменение значений pH практически прекратились.



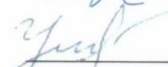
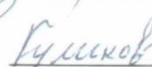

Постферментационная обработка. Через 118 часов с момента начала культивирования микроорганизмов процесс был остановлен. Датчики, системы подачи воздуха, перемешивания и охлаждения отключили. Биомассу вместе с культуральной жидкостью поместили в автоклав для инактивации при 105°C в течение 25 минут. После чего аппарат поставили обратно на стойку, к нему подключили двигатель для перемешивания и воздушную магистраль для осуществления слива. Слив проводили через трёхслойную марлю для удаления крупных нерастворённых частиц среды.

Объём слитой биомассы с культуральной жидкостью – 3100 мл, из которых 100 мл отправили на распылительную сушку. Оставшиеся 3 литра центрифугировали при 4000 об/мин в течение 25 минут, супернатант (культуральную жидкость) слили и заморозили при -20°C, а осадок (биомассу) ресуспендировали в 180 мл дистиллированной воды, заморозили при -70°C и подвергли лиофильной сушке.

Сушка. Из 100 мл ферментированной суспензии, высушенной на распылительной сушке, получено 1,1 г сухого препарата. Режим сушки: температура на входе - 135°C, на выходе – 60°C; аспирация - 75 %.

Методом лиофильной сушки из сырой биомассы, оставшейся после центрифугирования 3-х литров общей суспензии, получено 14,5 г сухой биомассы. Из расчета следует, что из общего объема ферментированной сыворотки с инокулятом (3400 мл) распылительной сушкой можно будет получить 38,5 г сухого препарата.

Исполнители:

Главный специалист центра микробной ферментации		Зацепин С.С.
Руководитель центра микробной ферментации, н.с., к.х.н.		Шашков И.А.
Научный сотрудник института микробиологии им. С.Н. Виноградского, к.б.н.		Уланова Р.В.
Аспирант, мл. науч. сотр. ВНИИК – филиал ФГБНУ «ФИЦ картофеля имени А.Г. Лорха»		Куликов Д.С.
Зав. отделом ВНИИК – филиал ФГБНУ «ФИЦ картофеля имени А.Г. Лорха», д.т.н., проф.		Колпакова В.В.

Технологическая инструкция по производству концентрата белкового горохового пищевого и дрожжей кормовых из зернобобового сырья

ВНИИ крахмала и переработки крахмалсодержащего сырья – филиал ФГБНУ
«ФИЦ картофеля им. А.Г. Лорха»

УТВЕРЖДАЮ

Директор ВНИИ крахмала и
переработки крахмалсодержащего
сырья – филиал ФГБНУ «ФИЦ
картофеля им. А.Г. Лорха»

В.А. Бызов

24 ноября 2022 г

ТЕХНОЛОГИЧЕСКАЯ ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРОИЗВОДСТВУ КОНЦЕНТРАТА БЕЛКОВОГО ГОРОХОВОГО ПИЩЕВОГО И ДРОЖЖЕЙ КОРМОВЫХ ИЗ ЗЕРНОБОБОВОГО СЫРЬЯ

ТИ 00334735-129-2022

(вводится впервые)

Дата введения в действие 25.11.2022 г.

Настоящая технологическая инструкция распространяется на концентрат белковый гороховый пищевой (далее – концентрат), вырабатываемый из гороховой муки путём ферментативной экстракции с последующим выделением белков в изоэлектрической точке и высушиванием, а также на дрожжи кормовые из зернобобового сырья (далее – дрожжи), вырабатываемые путем засева симбиозом дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* 121 и дрожжеподобного гриба *Geotrichum candidum* 977 на гороховую или нуттовую сыворотку – вторичные продукты переработки гороховой или нуттовой муки на белковый концентрат и ее последующее высушивание.

Концентрат предназначен для использования в качестве функциональной белковой добавки в мясной, хлебопекарной, кондитерской, пищеконцентратной и других отраслях промышленности, а дрожжи предназначены для использования в качестве функциональной белковой добавки в комбикормовой промышленности.

Технические условия на концентрат белковый гороховый
пищевой

ВНИИ крахмала и переработки крахмалсодержащего сырья – филиал
ФГБНУ «ФИЦ картофеля им. А.Г. Лорха»

ОКПД 2 10.89.19.140

Группа Н 48

ОКС 67.060

УТВЕРЖДАЮ

Директор ВНИИ крахмала и
переработки крахмалсодержащего
сырья – филиал ФГБНУ «ФИЦ
картофеля им. А.Г. Лорха»

В.А. Бызов

В.А. Бызов 24 ноября 2022 г



**КОНЦЕНТРАТ БЕЛКОВЫЙ ГОРОХОВЫЙ
ПИЩЕВОЙ**

Технические условия
ТУ 10.89.19-166-00334735-2022
(на опытную партию 10000 т)

Дата введения в действие 25.11.2022 г.

РАЗРАБОТАНО

ВНИИК– филиал ФГБНУ «ФИЦ картофеля
им. А.Г. Лорха»

Зам. директора по научной работе, д.т.н.

Н.Д. Лукин Н.Д. Лукин

Зав. лабораторией стандартизации
продукции глубокой переработки
крахмалсодержащего сырья

В.И. Пушкарь В.И. Пушкарь

Зав. отделом биотехнологии комплексной
переработки крахмалсодержащего сырья,
д.т.н., проф.

В.В. Колпакова – В.В. Колпакова

Младший научный сотрудник, аспирант

Д.С. Куликов Д.С. Куликов

п. Красково,
Московская обл.,
2022

Технические условия на дрожжи кормовые из зернобобового сырья

ВНИИ крахмала и переработки крахмалсодержащего сырья – филиал ФГБНУ
«ФИЦ картофеля им. А.Г. Лорха»

ОКПД 2 10.91.10.151

Группа С 14

ОКС 65.120



УТВЕРЖДАЮ

Директор ВНИИ крахмала и
переработки крахмалсодержащего
сырья – филиал ФГБНУ «ФИЦ
картофеля им. А.Г. Лорха»

В.А. Бызов

24 ноября 2022 г

ДРОЖЖИ КОРМОВЫЕ ИЗ ЗЕРНОБОБОВОГО СЫРЬЯ

Технические условия
ТУ 10.91.10-167-00334735-2022
(на опытную партию 10000 т)

Дата введения в действие 25.11.2022

РАЗРАБОТАНО

ВНИИК– филиал ФГБНУ «ФИЦ картофеля
им. А.Г. Лорха»

Зам. директора по научной работе, д.т.н.

Лукин Н.Д.Лукин

Зав. лабораторией стандартизации
продукции глубокой переработки
крахмалсодержащего сырья

Пушкар В.И.Пушкар

Зав. отделом биотехнологии комплексной
переработки крахмалсодержащего сырья,
д.т.н., проф.

Колпакова В.В. Колпакова

Младший научный сотрудник, аспирант

Куликов Д.С. Куликов

п. Красково,
Московская обл.,
2022

Экономическая эффективность комплексной переработки гороховой муки на
белковый концентрат и кормовые дрожжи

Нормы производства 1 т концентрата и 1,25 т дрожжей

(продолжительность процесса 16 часов – 2 смены по 8 часов)

Наименование показателей	Расход	Цена	Расход
Мука гороховая цельносмолотая	8,0 т	80,5 руб/кг	644,0 тыс. руб
Вода, всего:	2,11 м³		102,30 руб
в т.ч.			
на ультразвуковую обработку и ферментацию	0,11 м ³	48,48 руб/м ³	5,34 руб
на промывку белка	2,0 м ³		96,96 руб
Кислота соляная (конц.), хч, всего:	236,0 дм³	18,7 руб/дм ³	4,41 тыс. руб
в т.ч.			
на ферментацию	94,8 дм ³		1,77 тыс. руб
на осаждение белка	141,2 дм ³		2,64 тыс. руб
Натрия гидроокись, 10 % раствор, всего:	1138,3 дм³	39,6 руб/дм ³	45,07 тыс. руб
в т.ч.			
на ферментацию	686,7 дм ³		27,20 тыс. руб
на нейтрализацию белка	46,7 дм ³		1,85 тыс. руб
на нейтрализацию вторичных продуктов	404,6 дм ³		16,02 тыс. руб
Ферментный препарат цитолитического действия (активность не менее 600 ед./г)	3,75 дм ³	654,0 руб/дм ³	2,45 тыс. руб
Ферментный препарат амилазного действия (активность не менее 800 ед./г)	10,0 дм ³	660,0 руб/дм ³	6,60 тыс. руб
Ферментный препарат ксиланазного действия (активность не менее 500 ед./г)	1,25 дм ³	924,0 руб/дм ³	1,16 тыс. руб
Ферментный препарат глюкоамилазного действия (активность не менее 300 ед./г)	1,25 дм ³	660,0 руб/дм ³	0,83 тыс. руб
Ферментный препарат протеазного действия (активность не менее 2,4 ед./г)	8,02 дм ³	1182 руб/дм ³	9,48 тыс. руб
Штамм активных дрожжей <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	1,66 кг	1500 руб/кг	2,49 тыс. руб
Штамм активного	1,66 кг	1560	2,59 тыс. руб

дрожжеподобного гриба <i>Geotrichum candidum</i>		руб/кг	
Мешки бумажные с полиэтиленовыми вкладышами	90 шт	18 руб/шт	1,62 тыс. руб
Итого расходы на материалы и сырье			823,0 тыс. руб
Электроэнергия	960 кВт	4,32 руб/кВт*ч	4,15 тыс. руб
Пар	10 т	380 руб/т	3,80 тыс. руб
Оплата труда производственного персонала	24 человека (по 12 человек на смену)	1333,33 руб/чел	32,00 тыс. руб
Отчисления на социальные нужды	30 % фонда оплаты труда		9,60 тыс. руб
Общепроизводственные расходы			20,94 тыс. руб
Общехозяйственные расходы			11,25 тыс. руб
Производственная себестоимость			904,74 тыс. руб
Коммерческие расходы	2 % от заводской себестоимости		18,10 тыс. руб
Итого полная себестоимость			922,84 тыс. руб
Полная себестоимость за год (320 дней)			295,31 млн. руб
Себестоимость 1 кг концентрата			850 руб
Себестоимость 1 кг дрожжей			58,27 руб
Прибыль от продаж, всего: в т.ч.			1187,5 тыс. руб
Концентрат	1000 кг	1000 руб/кг	1000 тыс. руб
Дрожжи	1250 кг	150 руб/кг	187,5 тыс. руб
Чистая прибыль без НДС			264,66 тыс. руб
Чистая прибыль			211,73 тыс. руб
Чистая прибыль за год			67,75 млн. руб
Стоимость оборудования, включая трубопроводы, запорные арматуры, измерительные устройства, электрооборудование, кабель			~ 30 млн. руб
Затраты на ремонт (капитальный, текущий), содержание оборудования и амортизационные отчисления	14 % стоимости оборудования		4,2 млн. руб
Уровень рентабельности, %			22,94
Окупаемость производства, мес			6,1

Копии патента, дипломов, сертификатов

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ

**ПАТЕНТ**

НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

№ 2791226**СПОСОБ ПОЛУЧЕНИЯ КОРМОВОГО
КОНЦЕНТРАТА**

Патентообладатель: **ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ
БЮДЖЕТНОЕ НАУЧНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ "ФЕДЕРАЛЬНЫЙ
ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР КАРТОФЕЛЯ ИМЕНИ
А.Г. ЛОРХА" (RU)**

Авторы: **Колпакова Валентина Васильевна (RU), Уланова
Рузалия Владимировна (RU), Куликов Денис Сергеевич (RU),
Гулакова Валентина Андреевна (RU)**

Заявка № **2022111735**Приоритет изобретения **28 апреля 2022 г.**Дата государственной регистрации
в Государственном реестре изобретенийРоссийской Федерации **06 марта 2023 г.**Срок действия исключительного права
на изобретение истекает **28 апреля 2042 г.**

*Руководитель Федеральной службы
по интеллектуальной собственности*

ДОКУМЕНТ ПОДПИСАН ЭЛЕКТРОННОЙ ПОДПИСЬЮ
Сертификат 68b80077e14e40f0a94e6bd24145d5c7
Владелец **Зубов Юрий Сергеевич**
Действителен с 2.03.2022 по 26.05.2023

Ю.С. Зубов



PEACHALLENGE

Сертификат

на проведение совместных исследований в области
микробной ферментации жидких вторичных продуктов
переработки гороха

Вручается команде проекта

«Биоконверсия вторичных продуктов переработки гороха на белок
с получением концентратов повышенной кормовой ценности»

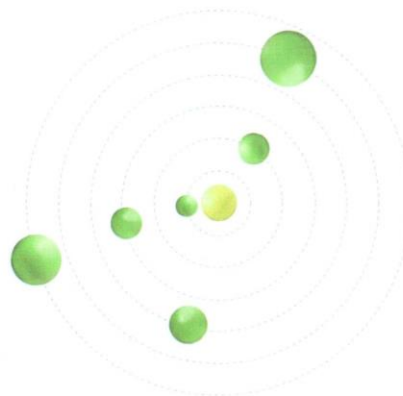
Генеральный директор
ООО «Уралхим Инновация»

Ненахова Анна Александровна

Технопарк «Сколково», 2 декабря 2021 года



УРАЛХИМ





МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
(МИНОБРНАУКИ РОССИИ)

БЛАГОДАРНОСТЬ

ОБЪЯВЛЯЕТСЯ

КУЛИКОВУ

Денису Сергеевичу

*младшему научному сотруднику
Федерального государственного бюджетного научного учреждения
«Федеральный научный центр пищевых систем
им. В.М. Горбатова» РАН*

За значительный вклад в развитие научной сферы,
высокие достижения и успехи

Статс-секретарь –
заместитель Министра



П.А. Кучеренко

Приказ от 30 декабря 2021 г. № 411 к/п



Российская Академия Наук

ДИПЛОМ

НАГРАЖДАЕТСЯ

*Куликов
Денис Сергеевич*

Лауреат конкурса на лучшую
научно-исследовательскую работу

XII Международная научно-практическая конференция
молодых ученых и специалистов
организаций в сфере сельскохозяйственных наук

«Интенсификация пищевых производств:
от идеи к практике»

Академик-секретарь Отделения
сельскохозяйственных наук РАН,
академик



Ю.Ф. Лачуга

ВНИИ крахмалопродуктов – филиал ФГБНУ «Федеральный
научный центр пищевых систем им. В.М. Горбатова» РАН
24 октября 2018 г.



Российская Академия Наук

ДИПЛОМ

НАГРАЖДАЕТСЯ
Куликов Денис Сергеевич

Лауреат конкурса на лучшую
научно-исследовательскую работу в рамках

XIII международной
научно-практической конференции
молодых учёных и специалистов

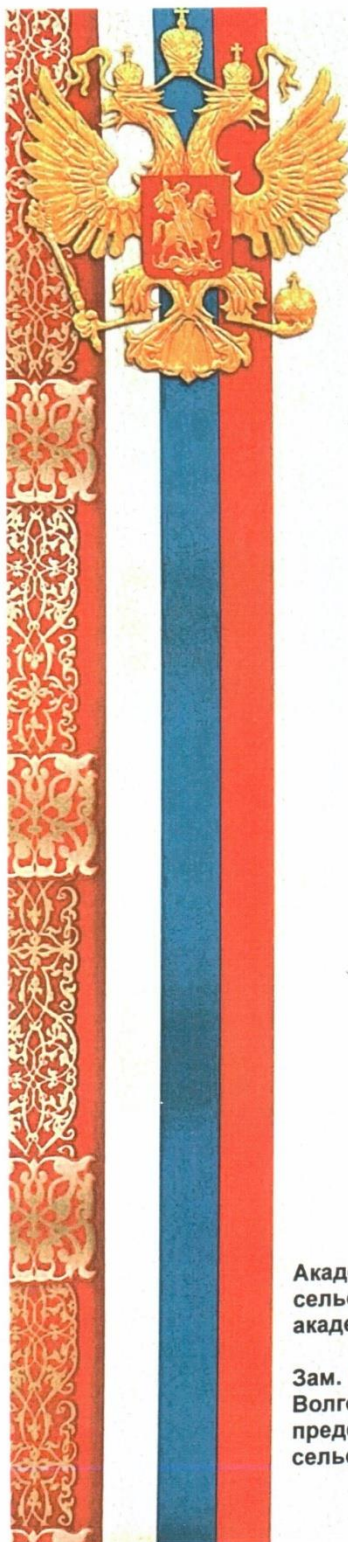
**«Перспективные исследования
и новые подходы к производству
и переработке сельскохозяйственного сырья
и продуктов питания»**

Академик-секретарь
Отделения сельскохозяйственных наук
Российской Академии Наук
д.т.н., профессор, академик РАН



Ю.Ф.Лачуга

ВНИИМС - филиал ФГБНУ «ФНЦ пищевых систем им. В.М. Горбатова» РАН
29-30 октября 2019 г.
Углич



ДИПЛОМ

I степени

НАГРАЖДАЕТСЯ

УЧАСТНИК

Международного смотра-конкурса
лучших инновационных разработок
(AGRITECH III – 2020)
Красноярск-Волгоград
4-5 июня 2020 г.

Всероссийский научно-исследовательский
институт крахмалопродуктов – филиал
«Федеральный научный центр пищевых систем
им. В.М. Горбатова» РАН

*За биотехнологические и биосинтетические
процессы получения пищевых и кормовых
белковых концентратов из пшута с высокой
биологической ценностью*

(Куликов Д.С., аспирант,
Колшакова В.В., д.т.н., профессор)

Академик-секретарь отделения
сельскохозяйственных наук РАН,
академик РАН


Ю.Ф. Лачуга

Зам. губернатора
Волгоградской области,
председатель комитета
сельского хозяйства


В.В. Иванов





ДИПЛОМ

НАГРАЖДАЕТСЯ

Куликов Денис Сергеевич

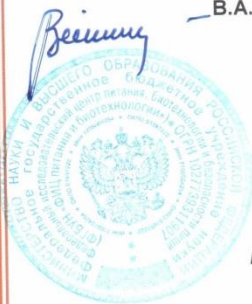
лауреат конкурса научно-исследовательских работ
молодых ученых и специалистов в рамках
IX Международного научно-практического симпозиума
«Перспективные ферментные препараты и
биотехнологические процессы в производстве
пищевых продуктов и кормов»

за работу

**«Получение белковых концентратов и кормовой
микробной биомассы из экстракта тритикале и
гороховой муки с использованием ферментов»**

Научный руководитель ФГБУН
«ФИЦ питания и биотехнологии»,
академик РАН,
доктор медицинских наук

В.А.Тутельян
— В.А.Тутельян



Директор ФГБУН
«ФИЦ питания и биотехнологии»,
член-корреспондент РАН,
доктор медицинских наук

Д.Б.Никитюк
Д.Б.Никитюк

Директор ВНИИПБТ – филиала
ФГБУН «ФИЦ питания и
биотехнологии»,
доктор технических наук

И.М.Абрамова
И.М.Абрамова

Москва, 24-25 апреля 2019 г.



ДИПЛОМ

НАГРАЖДАЮТСЯ

**Куликов Денис Сергеевич
Арюзина Марина Александровна**

за лучшую совместную научно-исследовательскую
работу в рамках XIV Международной конференции
молодых учёных и специалистов

**"СОВРЕМЕННЫЕ ПИЩЕВЫЕ ТЕНДЕНЦИИ ГЛАЗАМИ
МОЛОДЫХ УЧЁНЫХ: ПЕРСПЕКТИВЫ, ИННОВАЦИИ
И ПРОГРЕССИВНЫЕ ТЕХНОЛОГИИ"**

Директор
ФГБНУ "ФНЦ пищевых систем
им. В.М. Горбатова" РАН, д.т.н.

 О.А. Кузнецова

Всероссийский научно-исследовательский институт пищевых добавок –
филиал ФГБНУ "ФНЦ пищевых систем им.В.М.Горбатова" РАН

26-27 августа 2021
Санкт-Петербург

CERTIFICATE OF ATTENDANCE



GEOLINKS INTERNATIONAL CONFERENCE ON GEOSCIENCES
26-29 MARCH 2019 | ATHENS, GREECE

THIS CERTIFICATE IS PROUDLY PRESENTED TO

Denis Kulikov

ALL-RUSSIAN RESEARCH INSTITUTE FOR STARCH PRODUCTS, RUSSIA

WHICH RESEARCH HAS BEEN PRESENTED DURING GEOLINKS CONFERENCE

Assoc. Prof. Dr. Maria Marikina
(Conference Chairmen)

29 March 2019
Novotel, Athens, Greece

Certificate VIRTUAL PRESENTATION



GEOLINKS ONLINE CONFERENCE
ON ENVIRONMENTAL SCIENCES
17-18 MAY 2021

THIS CERTIFICATE IS PROUDLY PRESENTED TO

Ph.D. Student Denis Kulikov

V.M. Gorbатов Federal Research Center for Food Systems, Russia

FOR THE PRESENTED PAPER

COMPREHENSIVE BIOTECHNOLOGICAL APPROACH TO PROCESSING OF PEA FLOUR FOR FOOD AND FODDER PURPOSES

Prof. Hristo Beloev, DTSc
Conference Chairmen

18 May 2021