

УДК 664.663

**ТЕХНОЛОГИЯ И ОЦЕНКА КАЧЕСТВА РАСТИТЕЛЬНОГО БЕЛКОВОГО  
ПРЕПАРАТА****Третьякова Ирина Николаевна**

аспирант кафедры «Пищевая инженерия»

ФГБОУ ВО «Уральский государственный экономический университет»

Россия, г. Екатеринбург

**Аннотация**

Изучено влияния света видимого спектра с длиной волны 420-440 нм и мощностью светового потока 35 мкВт/см<sup>2</sup> на активность фермента 0,3% раствора трипсина при разведениях 1:2, 1:8... 1:206 на фосфатном буферном растворе pH 7,4-7,6. Активность трипсина определяли по экспресс-методике, которая заключается в расщеплении покрытия из желатина и выражали в единицах разведения при которых начинается расщепление желатина. Установлено, что активность раствора трипсина, обработанного синим светом выше в 4 раза.

**Ключевые слова:** фермент, трипсин, активность, желатин.**TECHNOLOGY AND QUALITY CONTROL OF VEGETABLE PROTEIN  
PREPARATION****Irina N. Tretyakova**

Postgraduate student of the Department of "Food Engineering"

Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education «Ural State University of Economics»

Russia, Yekaterinburg

**ABSTRACT**

The effect of visible spectrum light with a wavelength of 420-440 nm and a luminous flux of 35 mW / cm<sup>2</sup> on the activity of the enzyme 0.3% trypsin solution in dilutions was studied 1:2, 1:8... 1: 206 on a phosphate buffer solution of pH 7.4-7.6. The activity of trypsin was determined using the Express method, which consists in splitting the coating from gelatin and expressed in units of dilution at which the splitting of gelatin begins. It was found that the activity of the trypsin solution treated with blue light is 4 times higher.

**Keywords:** enzyme, trypsin, activity, gelatin.

### **Актуальность**

В рецептуре пищевых продуктов широко используются белковые концентраты и изоляты. Однако применение ограничено их способностью вызывать пищевую аллергию у генетически предрасположенного населения. Аллергия определяется наличием антигенных веществ, приводящих к активации клеточного (Т-хелперов и Т-супрессоров) и гуморального (иммуноглобулинов) звеньев иммунитета [1, 2]. Особенно восприимчивы к аллергенам дети, что связано с непереносимостью ими генов белков продуктов питания [3 - 5].

Технология белковых препаратов предполагает применение физических, химических и ферментативных способов гидролиза белка. На практике чаще используют химический и ферментативный гидролиз белков; физические же способы гидролиза (в частности, тепловую и паровую обработку сырья – воздействие давлением, высокой температурой, а также обработку паром) применяют достаточно редко или как дополнение к химическим способам (пример – обработка паром рубца крупного рогатого скота в течение 3–4 ч).

Химический гидролиз белка осуществляется с помощью кислот и щелочи (например, проводят длительный гидролиз (до 24 ч) соляной кислотой при температуре 120–130 °С). При этом различным является время разрушения аминокислот (например, триптофана) [6].

Для предупреждения распада аминокислот при гидролизе используют антиоксиданты, снижающие уровень окисления аминокислот. Существенным недостатком химического способа гидролиза белков является химическая активность среды, приводящая к износу оборудования и попаданию в гидролизат тяжелых металлов, окислов железа из металлических частей аппаратов. Достоинство кислотного способа – полученные белковые препараты имеют длительный срок хранения вследствие их низкой микробной обсемененности [6].

### **Материалы и методы исследования**

В качестве материалов исследований использовались: семена люпина, белковый препарат из семян люпина, глюкоамилаза и трипсин – протеолитический фермент, относящийся к группе сериновых протеаз (образуется в поджелудочной железе; наиболее активен при pH = 7–9).

Активацию фермента проводили с помощью биолампы «Аверс-Сан», излучающей встроенными светодиодами синий свет с длиной волны 435–470 нм и мощностью потока излучения, равной 35 мкВт/см<sup>2</sup>.

Для опыта приготовили 0,3 %-й раствор трипсина на фосфатном буферном растворе с pH = 7,5 (оптимум активности фермента), сделали разведения полученного раствора 1:2, 1:4 и далее до 1:256. Исследовали активность фермента путем нанесения 2–3 капель раствора на желатиновую пластинку; учет проводили спустя 15–20 мин.

Контрольные образцы раствора фермента трипсина светом синего спектра не обрабатывали (1-я группа); опытные образцы раствора трипсина облучали синим светом согласно указанной схеме активации фермента (2-я группа).

Активность трипсина определяли по экспресс-методике [6] и выражали в единицах разведения, например: если фермент расщепляет желатин в разведении 1:16, то его активность составляет 16 ед.

Для обоснования использования белкового препарата в производстве мясопродуктов проведены исследования его функционально-технологических свойств путем введения в фарш из мяса птицы (кур) в соотношении белого и красного мяса 1:1 и

замены посоленного мясного сырья в количестве 30,0 % с шагом 10,0 %. Мясное сырье и гидратированный белковый препарат смешивали с помощью гомогенизатора.

Полученные мясные системы помещали в стеклянные банки, которые затем герметично укупоривали металлическими крышками и нагревали до температуры 80–85 °С в течение 90–100 мин. В 1-й группе (контроль) замену мясного фарша на белковый препарат не проводили; во 2-й группе мясных систем 10,0 % фарша заменили на гидратированный белковый препарат; в 3-й группе – 20,0 %; в 4-й группе – 30,0 %.

Эмульгирующую способность устанавливали с помощью центрифугирования. Белковый препарат гомогенизировали в гомогенизаторе с добавлением воды и последующим внесением подсолнечного масла, с дальнейшей эмульгацией, центрифугированием, и далее рассчитывали по известной формуле.

Содержание белка определяли методом Кьельдаля, жира – методом экстракции в аппарате Сокслета; золу – сжиганием навески в муфельной печи; влагу – методом высушивания навески. Исследования проводили с 5-кратной повторностью.

Статистическую обработку полученных данных производили с помощью компьютерной программы Statistica 9.

### **Результаты исследования и их обсуждение**

Облучение раствора трипсина синим светом с длиной волны 435–470 нм позволяет увеличить его активность в 3 раза.

Исследованиями установлено, что желатиновая пластинка начинает расщепляться под действием раствора трипсина (1-я группа – контроль) при разведении 1:32, в то время как при обработке пластинки желатина раствором трипсина, облученным синим светом, отмечается ее разрушение при разведении 1:128. Следовательно, активность трипсина, обработанного синим светом, составляет 128 ед., в то время как в контроле – 32 ед.

При производстве белкового препарата применяли раствор трипсина, облученный светом синего спектра.

В качестве сырья для белкового препарата использовали семена люпина.

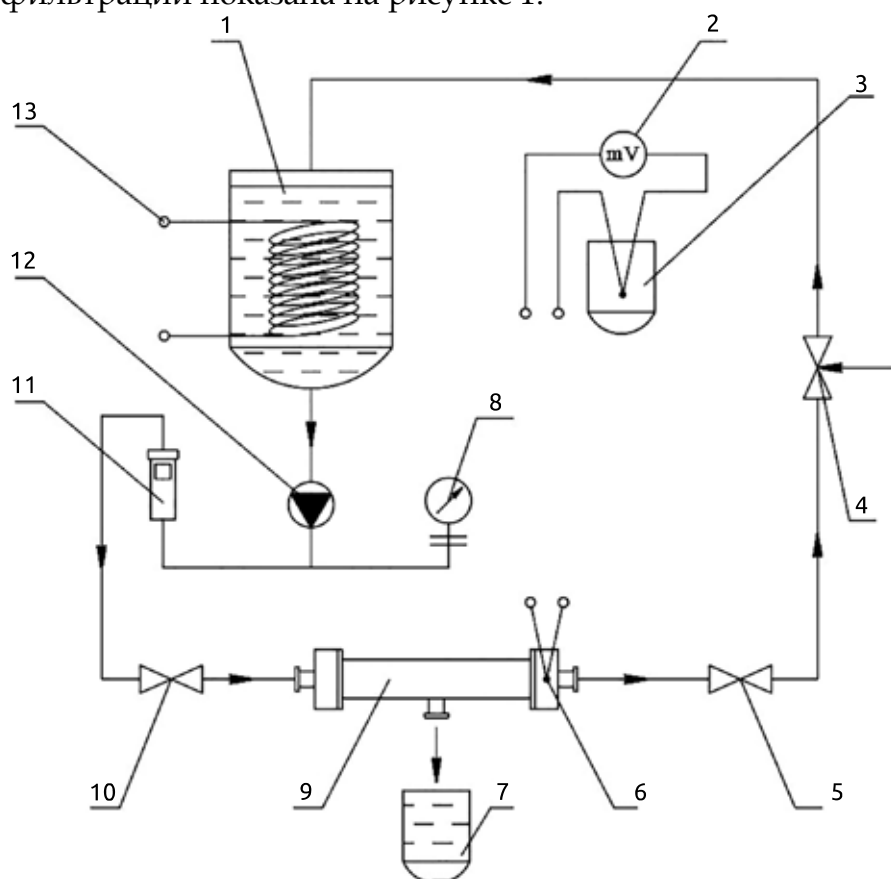
Технология белкового препарата состоит из следующих этапов:

- 1) удаление оболочки с семян люпина путем их замачивания в растворе поваренной соли (35–40 г/л) при 70–80 °С в течение 8–10 ч;
- 2) измельчение семян на лабораторной мельнице до муки с размером частиц 500–600 мкм;
- 3) получение раствора из муки семян люпина и питьевой воды в соотношении 1:10 при температуре 35–45 °С в течение 5–6 ч путем смешивания в экспериментальном смесителе (гомогенизаторе);
- 4) нагревание раствора до температуры 38 °С, введение в него фермента глюкоамилазы, так как оптимум активности используемого фермента находится в диапазоне от 25 до 60 °С;
- 5) центрифугирование со скоростью 3 000 об./мин в течение 5 мин до образования осадка и фугата;
- 6) автоклавирование осадка в течение 5–6 ч для инактивации фермента и снижения микробной обсемененности, так как концентрированное растительное сырье, богатое белком, является питательной средой для микрофлоры;
- 7) охлаждение до 36–38 °С и внесение раствора трипсина, активированного синим светом, так как наибольшая активность фермента отмечается именно при указанной температуре;
- 8) центрифугирование раствора со скоростью 3 000 об./мин в течение 8–10 мин с целью осаждения (концентрирования) белка и аминокислот;

9) ультрафильтрация раствора для снижения микробной обсемененности и концентрирования (сгущения) аминокислот путем их прохождения через керамические мембраны длиной 800 мм с размером пор 0,01 мкм. В отличие от обычной ультрафильтрация – это проникновение через поры мембран преимущественно низкомолекулярных соединений отдельных аминокислот с разрушенными антигенными структурами белка, способных вызывать у человека пищевую аллергию;

10) высушивание в сушильном шкафу до содержания сухих веществ 88,0–90,0 %.

Схема установки для концентрирования раствора белкового препарата методом ультрафильтрации показана на рисунке 1.



**Рисунок 1.** Схема установки для концентрирования раствора белкового препарата методом ультрафильтрации:

1 – бак для исходного раствора/готового концентрата; 2 – милливольтметр; 3 – сосуд Дьюара; 4 – регулировочный вентиль; 5, 10 – вентили; 6 – термомпара; 7 – сосуд для отвода пермеата; 8 – манометр с разделителем; 9 – ультрафильтрационная ячейка; 11 – ротаметр; 12 – насос; 13 – змеевик

Одним из направлений развития биотехнологической отрасли является разработка способов активации ферментного гидролиза белков, что позволяет снизить дозировку ферментного препарата. Как считает автор работ в данном направлении Ногина А.А., для усиления действия ферментов используют физические способы, в частности, волновые воздействия, обработка звуком [1], светом [2, 3]. Известны работы по повышению технологических свойств солода и активизации пивных дрожжей, путем обработки звуком и видимым светом определенной длины волны, а также интенсификации развития дрожжевых популяций, ферментов в результате воздействия света видимого диапазона [4].

Для активации трипсина использовали свет синего спектра с мощностью светового потока 35 мкВт/см<sup>2</sup> (биолампа «Аверс-Сан», производство ЗАО

«НПК «Аверс»», г. Москва). Разведения 1:2, 1:8... 1:206 0,3% раствора трипсина на фосфатном буферном растворе pH 7,4-7,6 обрабатывали светом указанного выше диапазона в течение 60 минут. Активность трипсина определяли по экспресс-методике, которая заключается в расщеплении покрытия из желатина. В чашки Петри с желатином наносили капли раствора желатина разной концентрации и ставили в термостат при температуре при 37 °C на 15-20 минут, затем смывали струей воды и наблюдали при каких разведениях раствор трипсина расщепляет желатин. Активность трипсина выражали в единицах разведения, при которых начинается расщепление желатина.

В нашем эксперименте установлено, что активность фермента трипсина, обработанного синим светом значительно выше. Так, желатин расщепляется при разведении трипсина 1:128 и составляет, соответственно, 128 единиц, в то время как активность необработанного светом трипсина составляет 32 единицы.

### **Выводы**

Разработана технология растительного белкового препарата, полученного методом ферментативного гидролиза, состоящая из удаления оболочки с семян люпина, получения муки и затем раствора, ферментирования раствора глюкоамилазой, центрифугирования, автоклавирования, охлаждения, ферментирования трипсином, активированного синим светом, ультрафильтрации и высушивания.

Полученные результаты доказали, что активность трипсина можно повысить путем его обработки светом синего спектра.

Установлено, что полученный белковый препарат представляет собой мелкодисперсный порошок светло-желтого цвета без выраженного запаха и вкуса, характеризуется высоким содержанием белка (до 64,1 %) и функционально-технологическими свойствами.

Полученные данные согласуются с повышением как влагоудерживающей, так и жирудерживающей способности мясной системы за счет замены фарша на белковый препарат. С увеличением количества гидратированного белкового препарата в фарше до 30,0 % возрастают показатели ВУС и ЖУС на 117,0 % и 54,0 % соответственно. Из вышеизложенного следует, что использовать разработанный белковый препарат можно в рецептуре мясопродуктов без снижения их биологической ценности.

### **Список литературы**

1. Кудряшов Л.С., Тихонов С.Л., Тихонова Н.В., Ногина А.А. Разработка биоразлагаемой пленки для увеличения срока годности охлажденных мясных полуфабрикатов / А.А. Ногина [и др.] // Все о мясе. – 2019. - № 1. – С. 18-21.
2. Ногина А.А., Тихонов С.Л., Тихонова Н.В. Разработка и исследование влияния биоразлагаемых пленок на показатели свежести мясных полуфабрикатов / А.А. Ногина [и др.] // Техника и технология пищевых производств. – 2018. – Т. – 48. - № 4. – С. 73-78
3. Брашко И.С., Тихонов С.Л., Тихонова Н.В., Ногина А.А. Биотрансформация коллагенсодержащего сырья и разработка продукта антиоксидантной направленности с его использованием / А.А. Ногина [и др.] // Ползуновский вестник. – 2020. - № 4. – С. 62-65
4. Данько С. Ф. Звуковая обработка ячменя на разных стадиях солодора- щения / С. Ф. Данько [и др.] // Пиво и напитки. – 2000. - № 5. – С. 50-51.
5. Влияние толщины защитного слоя микрокапсулированного фермента на его активность и стабильность / И. Н. Третьякова, С. Л. Тихонов, Н. В. Тихонова и др. // Достижения науки и техники АПК. 2019. Т. 33. № 9. С. 70-73.

6. Gibbs B. F. Encapsulation in the food industry / B. F. Gibbs, S. Kermasha, I. Alli, Catherine Mulligan // International Journal of Food Sciences and Nutrition. - 1999. - No 50(3). 213-24.
7. Карпенко Д.В., Беркетова М.А. Изучение влияния акустических колебаний на качество пивоваренного ячменного солода // Пиво и напитки. - 2012. - No 5. - С. 14-16.

### **References**

1. Kudryashov L.S., Tikhonov S.L., Tikhonova N.V., Nogina A.A. Development of a biodegradable film to increase the shelf life of chilled semi-finished meat products / A.A. Nogina [and others] // All about meat. - 2019. - No. 1. - S. 18-21.
2. Nogina A.A., Tikhonov S.L., Tikhonova N.V. Development and study of the influence of biodegradable films on the freshness indicators of meat semi-finished products / A.A. Nogina [et al.] // Technics and technology of food production. - 2018. - Т. - 48. - No. 4. - P. 73-7
3. Brashko I.S., Tikhonov S.L., Tikhonova N.V., Nogina A.A. Biotransformation of collagen-containing raw materials and development of an antioxidant product with its use / A.A. Nogina [and others] // Polzunovsky Bulletin. - 2020. - No. 4. - P. 62-6
4. Danko S. F. Sound processing of barley at different stages of malting / S. F. Danko [et al.] // Beer and drinks. - 2000. - No. 5. - P. 50-51.
5. Influence of the thickness of the protective layer of the microencapsulated enzyme on its activity and stability / IN Tretyakova, SL Tikhonov, NV Tikhonova et al. // Achievements of science and technology of the agro-industrial complex. 2019.Vol. 33.No. 9, pp. 70-73
6. Gibbs B. F. Encapsulation in the food industry / B. F. Gibbs, S. Kermasha, I. Alli, Catherine Mulligan // International Journal of Food Sciences and Nutrition. - 1999. - No 50 (3). 213-24
7. Karpenko D.V., Berketova M.A. Study of the influence of acoustic vibrations on the quality of brewing barley malt // Beer and drinks. - 2012. - No 5. - P. 14-16.