

<https://doi.org/10.21603/2074-9414-2022-4-2394>  
<https://elibrary.ru/OACVSR>

Оригинальная статья  
<https://fptt.ru>

## Показатели качества гороховых и нутовых белковых концентратов



В. В. Колпакова<sup>1,\*</sup>, Р. В. Уланова<sup>1,2</sup>, Д. С. Куликов<sup>1</sup>,  
В. А. Гулакова<sup>1</sup>, Г. В. Семёнов<sup>3</sup>, А. В. Шевякова<sup>4</sup>

<sup>1</sup> ВНИИ крахмала и переработки крахмалсодержащего сырья – филиал ФГБНУ «ФИЦ картофеля имени А. Г. Лорха», Красково, Россия

<sup>2</sup> Институт микробиологии им. С. Н. Виноградского ФИЦ «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН, Москва, Россия

<sup>3</sup> Российский биотехнологический университет, Москва, Россия

<sup>4</sup> Федеральный исследовательский центр питания, биотехнологии и безопасности пищи, Москва, Россия

Поступила в редакцию: 07.04.2022

Принята после рецензирования: 18.05.2022

Принята к публикации: 07.06.2022

\*В. В. Колпакова: [val-kolpakova@rambler.ru](mailto:val-kolpakova@rambler.ru),  
<https://orcid.org/0000-0002-7288-8569>

Р. В. Уланова: <https://orcid.org/0000-0002-6315-7211>

Д. С. Куликов: <https://orcid.org/0000-0003-2171-0522>

В. А. Гулакова: <https://orcid.org/0000-0001-8393-9256>

Г. В. Семёнов: <https://orcid.org/0000-0003-2320-9985>

А. В. Шевякова: <https://orcid.org/0000-0002-7447-8520>

© В. В. Колпакова, Р. В. Уланова, Д. С. Куликов,  
В. А. Гулакова, Г. В. Семёнов, А. В. Шевякова, 2022



### Аннотация.

Дефицит белка в питании человека и животных диктует разработку новых видов белковых препаратов, к которым относятся концентраты из зернобобовых культур. Цель работы – сравнительная характеристика показателей качества пищевых и кормовых белковых концентратов, полученных биотехнологическим и биосинтетическим способами из гороховой и нутовой муки.

Объектами исследования являлись гороховые и нутовые белковые концентраты, ферментные препараты Shearzym 500 L, Viscoferm L, Fungamyl 800 L и Alcalase 2.4 L (Дания), дрожжи *Saccharomyces* и микромицет *Geotrichum*. Белковые концентраты получали из гороховой и нутовой муки по технологии, предложенной авторами. Свойства белковых концентратов изучали с помощью химических, физико-химических, биохимических и микробиологических методов исследования.

В ходе работы получили белковые концентраты пищевого назначения и кормовые микробно-растительные концентраты. Содержание белка в нутовом белковом концентрате составило  $83,22 \pm 0,35$  % на сухое вещество, в гороховом –  $71,78 \pm 0,35$  % на сухое вещество. Показатель биологической ценности, с поправкой на усвояемость белков, у горохового белкового концентрата составил 96 %, у нутового – 76 %. Полученные белковые концентраты отличались по содержанию незаменимых аминокислот, меди, кобальта, марганца и никеля и количеству фенолокарбоновых кислот и их производных. Более высокая пенообразующая способность и меньшая стабильность пены у нутового концентрата соотносились с большим содержанием фенолокарбоновых кислот и их производных и количеством параллельной  $\beta$ -структуры и антипараллельных  $3_{10}$ -спиралей белков. Разницы в усвоении углеводов сыворотки консорциумом дрожжей *Saccharomyces* и микромицета *Geotrichum* как из горохового, так и из нутового микробно-растительного концентрата не обнаружено. Оба вида сухой кормовой биомассы содержали 61,68–64,10 % белка на сухое вещество, биомассы с культуральной жидкостью – 47,15–51,09 % белка на сухое вещество. Биологически полноценные кормовые концентраты отличались по массовой доле жира и растворимых и нерастворимых волокон, а также по минеральным веществам и соотношению жирных кислот. Обнаружена корреляционная взаимосвязь между количеством фенолокарбоновых кислот и их производных (в мг/г белка) в сырье, концентратах, оптической плотностью водных растворов при  $D_{590}$  нм и цветом препаратов ( $R = 0,895$ ).

Полученные и исследованные гороховые и нутовые белковые концентраты из муки могут быть рекомендованы для применения в пищевых целях, микробно-растительные концентраты из гороховой и нутовой сыворотки – в кормах для животных с целью улучшения качества сырья животного происхождения.

**Ключевые слова.** Экстракция, бобовые, белок, аминокислотный состав, жирнокислотный состав, макроэлементы, микроэлементы, функциональные свойства, пищевая ценность, безопасность

**Для цитирования:** Показатели качества гороховых и нутовых белковых концентратов / В. В. Колпакова [и др.] // Техника и технология пищевых производств. 2022. Т. 52. № 4. С. 649–664. <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2022-4-2394>

## Pea and Chickpea Protein Concentrates: Quality Indicators



**Valentina V. Kolpakova<sup>1,\*</sup>**, **Rusalia V. Ulanova<sup>2</sup>**,  
**Denis S. Kulikov<sup>1</sup>**, **Valentina A. Gulakova<sup>1</sup>**,  
**Gennadiy V. Semenov<sup>3</sup>**, **Ludmila V. Shevjakova<sup>4</sup>**

<sup>1</sup> Russian Potato Research Centre, Kraskovo, Russia

<sup>2</sup> S.N. Vinogradsky Institute of Microbiology of the Federal Research Center “Fundamental of Biotechnology” of the Russian Academy of Sciences<sup>ROR</sup>, Moscow, Russia

<sup>3</sup> Russian Biotechnological University<sup>ROR</sup>, Moscow, Russia

<sup>4</sup> Federal Research Centre of Nutrition, Biotechnology and Food Safety<sup>ROR</sup>, Moscow, Russia

Поступила в редакцию: 07.04.2022  
Принята после рецензирования: 18.05.2022  
Принята к публикации: 07.06.2022

\*Valentina V. Kolpakova: [val-kolpakova@rambler.ru](mailto:val-kolpakova@rambler.ru),  
<https://orcid.org/0000-0002-7288-8569>  
Rusalia V. Ulanova: <https://orcid.org/0000-0002-6315-7211>  
Denis S. Kulikov: <https://orcid.org/0000-0003-2171-0522>  
Valentina A. Gulakova: <https://orcid.org/0000-0001-8393-9256>  
Gennadiy V. Semenov: <https://orcid.org/0000-0003-2320-9985>  
Ludmila V. Shevjakova: <https://orcid.org/0000-0002-7447-8520>

© V.V. Kolpakova, R.V. Ulanova, D.S. Kulikov,  
V.A. Gulakova, G.V. Semenov, L.V. Shevjakova, 2022



### Abstract.

Protein deficiency in human and animal diet demands novel protein components, e.g., various leguminous concentrates. This article compares the quality indicators of food and feed protein concentrates obtained by biotechnological and biosynthetic methods from pea and chickpea flour.

The research featured pea and chickpea protein concentrates; enzyme preparations Shearzym 500 L, Viscoferm L, Fungamyl 800 L, and Alcalase 2.4 L (Denmark); *Saccharomyces* and *Geotrichum micromyces* yeasts. The protein concentrates were obtained from pea and chickpea flour using a new technology developed by the authors. The properties of the protein concentrates were studied by chemical, physicochemical, biochemical, and microbiological research methods.

The research resulted in new protein concentrates for human diet and microbial-vegetable feed concentrates. The protein content was  $83.22 \pm 0.35\%$  on dry basis in the chickpea protein concentrate and  $71.78 \pm 0.35\%$  on dry basis in the pea concentrate. The indicator of biological value, adjusted for protein digestibility, was 96% for the pea protein concentrate and 76% for the chickpea protein concentrate. The resulting protein concentrates differed in the content of essential amino acids, copper, cobalt, manganese, and nickel, as well as in phenolic acids and their derivatives. The chickpea concentrate had a greater foaming capacity and lower foam stability, which correlated with a greater content of phenolic acids, their derivatives, parallel  $\beta$ -structures, and antiparallel protein  $3_{10}$ -helices. Both the concentrates had the same results in assimilating whey carbohydrates by the consortium of *Saccharomyces* and *G. micromycete*. Both types of the dry feed biomass contained 61.68–64.10% protein on dry basis, while the biomasses with culture liquid contained 47.15–51.09% protein on dry basis. The biologically complete feed concentrates differed in the mass fraction of fat, soluble and insoluble fibers, minerals, and fatty acids. The amounts of phenolic acids and their derivatives (mg/g of protein) in the raw materials and the concentrates correlated with the optical density of their aqueous solutions at  $D_{590}$  nm and the color of the preparations ( $R = 0.895$ ).

The new pea and chickpea flour protein concentrates can be recommended as human food components, while the microbial-vegetable concentrates from pea and chickpea serum can improve the quality of raw materials of animal origin in animal feed.

**Keywords.** Extraction, legumes, protein, amino acid composition, fatty acid composition, macroelements, microelements, functional properties, nutritional value, safety

**For citation:** Kolpakova VV, Ulanova RV, Kulikov DS, Gulakova VA, Semenov GV, Shevjakova LV. Pea and Chickpea Protein Concentrates: Quality Indicators. Food Processing: Techniques and Technology. 2022;52(4):649–664. (In Russ.). <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2022-4-2394>

## Введение

В России и за рубежом возрос интерес к использованию в пищевых продуктах зернобобовых культур из-за высокой питательной ценности белка и относительно низкой стоимости [1]. Белковые концентраты и изоляты используются в производстве хлебулочных и макаронных изделий, имитационных молочных продуктов, творога, йогуртов, мясных аналогов, продуктов детского и спортивного питания и т. д. Поэтому разработка новых технологий концентрированных форм растительного белка с высокой питательной ценностью и хорошими функциональными свойствами является актуальной задачей [2].

Обычно белки из растительного сырья экстрагируют растворами щелочи, в присутствии которой возможно образование новых поперечных ковалентных связей, D-изомеров аминокислот и т. д., оказывающих негативное влияние на здоровье человека и животных. Безопасные технологии с использованием ферментных препаратов для получения биологически ценных гороховых и нутовых белков с надлежащими функциональными свойствами малоизвестны.

При производстве белковых продуктов, независимо от особенностей технологии и вида сырья, образуются вторичные продукты переработки – сывороточные воды. Наряду с ростом мирового спроса на белоксодержащие продукты питания и кормления из растительного сырья увеличиваются объемы жидких отходов, загрязняющих окружающую среду и нагружающих биосферу в целом [3]. Так как одно из направлений научно-технического развития мирового сообщества на предстоящие годы – рациональное природопользование, то важной проблемой является разработка экологически безопасных технологий утилизации отходов и повышение уровня экологической культуры при глубокой переработке растительного сырья.

Отходы перспективно использовать в качестве субстрата для синтеза биомассы микроорганизмов [2, 4–6]. Биомасса может использоваться как часть рациона сельскохозяйственных животных для повышения их продуктивности и как ингредиент в продуктах питания в качестве белковых, липидных, углеводных и других компонентов, а также в технических целях [7–9].

Препарат, полученный в процессе ферментации стеблей кукурузы сахаромикетами или консорциумом сахаромикетов *Lactobacillus plantarum* и *Lactobacillus casei*, положительно влиял на организм животных и окружающую среду [10–12]. Дрожжи *Saccharomyces cerevisiae*, вводимые в корма кур-бройлеров в количестве 0,8 % к массе рациона, повышали эффективность их использования [13]. Изучение микробиоты фекальных образцов на 21 и 42 дни с помощью полимеразной реакции выявило

положительное влияние добавки с дрожжами *S. cerevisiae* на микрофлору кур-бройлеров и жвачных животных и повышение усвояемости волокон и популяции целлюлолитических бактерий *Ruminococcus flavefaciens* рубца [14]. Добавление в рацион крупного рогатого скота биомассы *S. cerevisiae* и/или *Aspergillus oryzae* повышало надои и жирность молока [15–17]. Известны кормовые добавки из спиртовой барды с пшеничными отрубями, полученные выращиванием дрожжей *Saccharomyces diastaticus* и каротинообразующих дрожжей *Rhodospiridium species*, для повышения содержания в них незаменимых аминокислот [18]. С дрожжами *Rhodotorula glutinis*, *Rhodotorula mucilaginosa* и *Rhodotorula gracilis* на среде из картофельных сточных вод с отходами от производства глицерина синтезирована кормовая добавка с каротиноидами и липидами [19]. На заводе, перерабатывающем сахарный тростник, из винного отхода получена грибная биомасса *Aspergillus niger* с липидами для биодизельного топлива [20]. На экстракте, оставшемся от производства крахмала из зерна тритикале для кормления прудовых рыб, синтезирован микробно-растительный концентрат с дрожжами *S. cerevisiae* с массовой долей белка  $25,2 \pm 2,1$  %, жира –  $22,1 \pm 3,2$  %, углеводов –  $40,8 \pm 1,6$  % [21]. В концентрате содержались калий, кальций, кобальт, железо, цинк, молибден, никель и другие минеральные элементы.

По данным ФАО, дефицит белка в мире оценивается в десятки миллионов тонн. Ежегодный дефицит одного пищевого белка к 2050-му г. может достигнуть 30 млн т. [3]. В качестве источника белка в рационе людей, включая тех, которые по тем или иным причинам не употребляют мясо, с древних времен используются бобовые культуры и продукты их переработки [22, 23]. В то же время процессам переработки вторичных продуктов зернобобовых культур, образующихся при получении белковых концентратов с помощью био конверсии, уделяется мало внимания. Например, при использовании вторичных продуктов от экстракции горохового белка получен пищевой веган-протеиновый концентрат для замены мяса. Исследования проводились с 5 штаммами нитчатых грибов: *Neurospora intermedia*, *A. oryzae*, *Rhizopus oryzae*, *Fusarium venenatum* и *Monascus purpureus*, которые выращивали при  $35 \pm 2$  °C в течение 48 ч до содержания белка в биомассе 43,13–59,74 % на сухое вещество. На каждую 1 т побочного продукта можно получить около 680 кг грибной биомассы с 38 % дополнительного белка. С использованием культур *S. cerevisiae* и *Geotrichum candidum* доказана возможность синтеза кормовых концентратов с массовой долей белка 61,68–70,48 % из сыворотки, которая остается после осаждения горохового белка, экстрагируемого с ферментным препаратом [5].

Особый интерес промышленности возрос к нуту – зернобобовой культуре, использование которой позволяет создавать технологии белковых концентратов, изолятов и ряда других полезных продуктов [2]. Данная культура является перспективным дополнением к сое и гороху [1, 24–26]. За последние годы посевные площади нута увеличились, что свидетельствует о стабильности сырьевой базы нута и гороха в России, которая перспективна для производства белковых препаратов различного состава и назначения [2]. Актуальность проблемы обеспечения населения белком из данного вида культур диктует разработку различных технологий белковых препаратов. Поэтому создание способов утилизации жидких вторичных продуктов для перспективного внедрения в производство является востребованным.

Цель данной работы – сравнительная характеристика химических, физико-химических, биохимических и микробиологических показателей белковых концентратов, полученных безопасным биотехнологическим способом для пищевых целей, и кормовых концентратов, синтезированных с помощью микроорганизмов из сыворотки, остающейся после экстрагирования основной массы пищевого белка из гороховой и нутовой муки.

#### Объекты и методы исследования

В качестве объектов исследования использовали гороховую муку из зерна сорта «Ямал», выращенного в Алтайском крае, и нутовую муку из зерна сорта «Волжанин», выращенного в Волгоградской области в 2020–2021 гг.

Химический состав гороховой муки, % на сухое вещество: массовая доля белка ( $N \times 6,25$ ) –  $24,30 \pm 1,40$ , золы –  $2,87 \pm 0,20$ , жира –  $1,58 \pm 0,12$ , углеводов –  $73,02 \pm 3,66$ .

Химический состав нутовой муки, % на сухое вещество: массовая доля белка ( $N \times 6,25$ ) –  $24,54 \pm 0,23$ , золы –  $2,91 \pm 0,02$ , жира –  $4,89 \pm 0,31$ , углеводов –  $67,66 \pm 0,56$ .

Количество общих азотистых веществ в муке и концентратах определяли по методу Кьельдаля – ГОСТ 10846-91, массовую долю влаги – ГОСТ 13586.5-93, золы – ГОСТ 10847-2019, жира – ГОСТ 29033-91, углеводов – по разнице между 100 % и суммой остальных компонентов.

Для выделения из муки белкового концентрата и вторичного продукта (сыворотки) использовали ферментные препараты компании «Novozymes» (Дания). Применяли Shearzym 500 L из *Aspergillus aculeatus* с ксиланазной активностью 500 ед/г и оптимальными условиями действия – 65–75 °С, pH 4,5–5,5. В качестве источника целлюлазной, карбоксиметилцеллюлазной и  $\beta$ -глюканизной активностей применяли Viscoferm L, продуцируемый штаммами *Trichoderma* и *Aspergillus*, с цитолити-

ческой активностью 600 ед/г сырья и оптимумом действия при температуре 50–60 °С и pH 4,8–5,8. В качестве источника  $\alpha$ -амилазы использовали Fungamyl 800 L из плесени *Aspergillus oryzae*, расщепляющий  $\alpha$ -1,4 гликозидные связи с образованием мальтодекстринов и мальтозы (50–60 °С и pH 5,0–6,5). Ферментный препарат, содержащий амилоглюкозидазу, AMG 300 L 2500 выделен из гриба *Aspergillus niger*. Он расщепляет как  $\alpha$ -1,4, так и  $\alpha$ -1,6 гликозидные связи в крахмале, декстринах и олигосахаридах с образованием глюкозы. Оптимум действия лежал в области 55–60 °С и pH 4,5–5,5. В качестве источника протеаз использовали ферментный препарат Alcalase 2.4 L из *Bacillus licheniformis* с активностью протеаз 2,4 ед/г. Ферментативную активность препаратов определяли по ГОСТ Р 54330-2011, ГОСТ Р 53974-2010 и ГОСТ Р 55302-2012. Все реактивы были химически чистые. УЗ-обработку белковой суспензии проводили на аппарате Soniprep 150 ME (MseLtd., Великобритания).

Для получения кормовых микробно-растительных концентратов (КМПК) из коллекции Института микробиологии им. С. Н. Виноградского (г. Москва) использовали дрожжи *Saccharomyces cerevisiae* 121 и гриб *Geotrichum candidum* 977, филогенетическое положение которого определено в Научно-исследовательском институте генетики. Музейные культуры с сушла-агара пересевали в пробирку с гороховой или нутовой сывороткой, которую предварительно стерилизовали под давлением 0,1 МПа и охлаждали. Микроорганизмы выращивали 24 ч, после чего их пересевали в колбы объемом 300 см<sup>3</sup> с 50 см<sup>3</sup> сыворотки (pH 6,0–6,5). Культивирование осуществляли на качалке при скорости вращения колб 150 мин<sup>-1</sup> и температуре  $27 \pm 1$  °С в течение 24–48 ч. Суспензию инактивировали при температуре  $95 \pm 5$  °С в течение 10–15 мин и охлаждали до температуры  $22 \pm 2$  °С. Биомассу отделяли центрифугированием при 4000 мин<sup>-1</sup> в течение 10 мин, высушивали отдельно или вместе с культуральной жидкостью на лиофильной установке Hochvacuum HVDTG-50 (Германия) в вакууме при –80 °С и получали препараты КМПК-2 или КМПК-1 соответственно.

Количество белка в растворах определяли по методу Лоури, растворимых и нерастворимых волокон в концентратах – по методике, изложенной в руководстве [27]. Метод основан на ферментативном гидролизе крахмальных и белковых соединений с амилазой, протеазой и амилоглюкозидазой до моно-, ди- и олигосахаридов и пептидов. Для гидролиза белков и углеводов использовали  $\alpha$ -амилазу Фунгамил 800 L, протеазу Alcalase 2,4 L и амилоглюкозидазу AMG от компании «Novozymes» (Дания). Растворимые пищевые волокна осаждали 4 объемами 95 % (v/v) этанола в течение 2 ч при 4 °С и промывали 2 раза 95 % этанолом. Количество высушенной массы

определяли гравиметрическим методом, массовую долю волокон выражали в процентах (г/100 г). Перевариваемость кормовых концентратов определяли по ГОСТ 24230-80.

Углеводный состав сыворотки и культуральной жидкости исследовали на газовом хроматографе GCMS-QP 2010 (Shimadzu Corporation, Япония) с колонкой ReproGel Na (9 мкм, 8×300 мм). Аминокислотный состав белков определяли на хроматографе L-8800 фирмы «Hitachi» (Япония) с катионообменником (сульфированный сополимер стирола с дивинилбензолом) и ступенчатым градиентом натрий-цитратных буферных растворов с возрастающим значением pH и молярности. Данные обрабатывались в online системе «МультиХром 1.52» для Windows 98 (Россия). Для детекции элюируемых аминокислот использовали нингидриновый реагент. Калибровку прибора проводили со стандартными смесями аминокислот после соответствующего разведения. Воспроизводимость по времени выхода равнялась 0,3 %, по площади пиков – 1 %, нижняя граница чувствительности – 3 пмоль (отношение сигнал/шум = 2 для Asp). Для кислотного гидролиза 3–5 мг образца помещали в стеклянную ампулу из молибденового стекла и добавляли 0,3 см<sup>3</sup> гидролизующей смеси (концентрированные соляная и трифторуксусная кислоты в соотношении 2:1 с 0,1 % β-меркаптоэтанола). Образец замораживали в жидком азоте, вакуумировали и заплавляли в стеклянной ампуле. Гидролиз проводили при 155 °С в течение 1 ч, после чего ампулу вскрывали, содержимое переносили в пластиковую пробирку («Eppendorf», Германия) и удаляли гидролизующую смесь на CentriVap Concentrator LABCONCO (США). К сухому остатку гидролизата добавляли 0,1N HCl, интенсивно перемешивали в закрытой пластиковой пробирке и центрифугировали 5 мин при 8000 мин<sup>-1</sup> на центрифуге Microfuge 22R (Beckman-Coulter, США). При расчете аминокислотного скора концентратов использовали шкалу эталонного белка ФАО/ВОЗ (2011). Липиды из кормовых микробно-растительных концентратов выделяли по методу Фолча [28]. После упаривания липидов в ротационном испарителе к ним добавляли хлороформ и солянокислый метанол (SupelcoMethanolic-HCl 0,5 N) и нагревали смесь 1 ч при 90 °С. Жирнокислотный состав липидов исследовали на хроматографе с масс-детектором Shimadzu GCMS-QP2010 Ultra при температуре 120 °С, инжектора – 200 °С, интерфейса – 205 °С, детектора – 200 °С на колонке SLB-IL82 (30 м, 0,20 мкм, d = 0,25 мм) с гелевым носителем при скорости потока 35,6 см/с и его делении 1:10. Градиентный режим изменяли от 120 до 260 °С со скоростью 5 °С/мин в течение 2 мин.

Содержание макро- и микроэлементов определяли после сухого озоления методом атомной абсорбции на приборе фирмы «Hitachi» (модель Z 5300) в пламени

воздух – ацетилен с зеемановской коррекцией [28]. Функциональные свойства белковых концентратов исследовали по методикам, изложенным в работе [29], фенолокарбоновые кислоты и их производные – спектрофотометрическим методом при поглощении света при 276 нм [30].

Молекулярные массы белков муки, экстрактов, выделенных под действием ферментных препаратов, и сыворотки определяли с помощью гель-электрофореза в денатурирующих условиях (SDS-ПААГ). Белковые пробы в количестве около 50 мкг смешивали с буфером в соотношении 1:1. Для приготовления буфера в стакан наливали 60 см<sup>3</sup> глицерина и 1 мг бромфенолового синего, доводили pH до 6,8 концентрированной HCl. В раствор добавляли 5 см<sup>3</sup> β-меркаптоэтанола и его объем доводили до 100 см<sup>3</sup>. 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 см<sup>3</sup> раствора АБ (навеску 29,6 г акриламида растворяли в небольшом количестве воды, добавляли 0,4 г бисакриламида, объем доводили до 100 см<sup>3</sup>), 2,5 см<sup>3</sup> трис-HCl буфера с pH 8,8, 3 см<sup>3</sup> воды, 20 мкл TEMED и 160 мкл персульфата аммония. Раствор встряхивали и заливали между стеклами. Для приготовления концентрирующего геля смешивали 1 см<sup>3</sup> раствора АБ, 1 см<sup>3</sup> трис-HCl буфера с pH 6,8, 3 см<sup>3</sup> воды, 20 мкл TEMED и 160 мкл персульфата аммония. Раствор встряхивали и заливали в прибор с пластинами для электрофореза. Между стеклами помещали гребенку и формировали лунки для белковых проб. Электрофорез проводили при напряжении 50–60 В для вхождения образцов в гель и при 120 В для разделения компонентов. Готовые электрофореграммы окрашивали ярко-синим кумасси и сканировали.

Экспериментальные данные обрабатывали в программах TableCurve 2D 5.1, TableCurve 3D 4.0, Mathematica 10.3 и Statistica 10. Доверительный интервал среднего арифметического рассчитан по уровню значимости  $P = 0,05$ .

## Результаты и их обсуждение

### Белковые концентраты пищевого назначения.

Экстракцию белков из гороховой и нутовой муки осуществляли с гидролитическими ферментными препаратами (целлюлазой, ксиланазой, амилазой и протеазой) на 3-х стадиях по схеме, приведенной на рисунке 1. Для определения оптимальных параметров экстрагирования белков составляли матрицу планирования эксперимента из 25 опытов зависимости растворимости ( $R$ ) белка от концентрации ферментного препарата ( $sv$ ), гидромодуля (соотношения мука:вода) ( $gl$ ) и продолжительности экстракции ( $t$ ). После решения задач белки в раствор переводили при оптимальных значениях параметров: для гороховой муки:  $sv - 1,50 \%$ ,  $t - 4,2$  ч,  $gl - 15$ ;

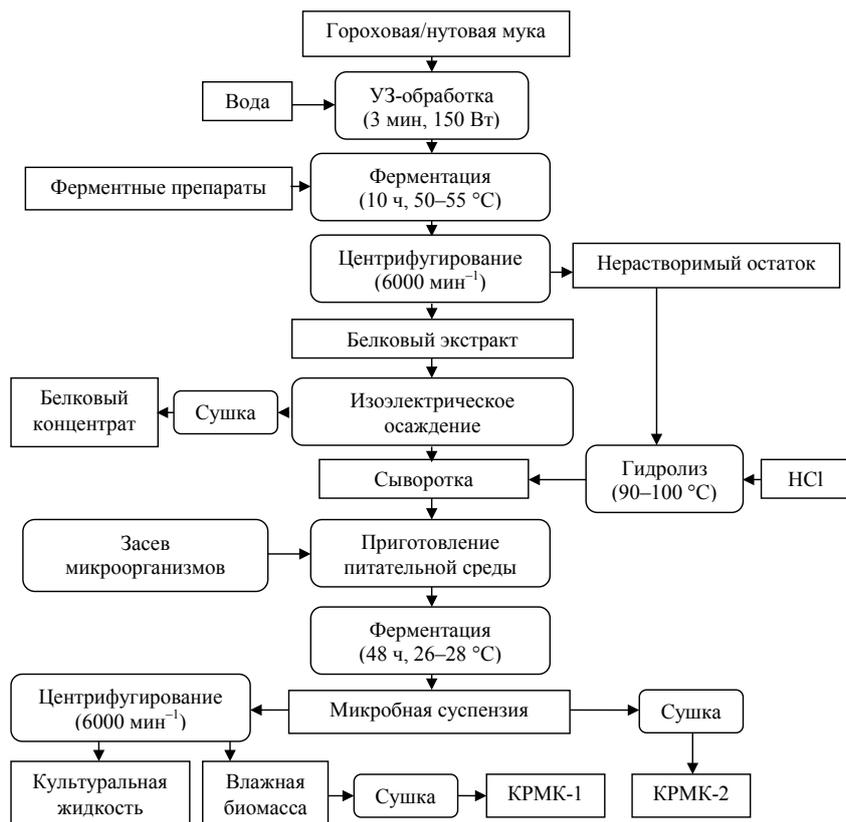


Рисунок 1. Технологическая схема переработки гороховой и нутовой муки на белковые концентраты

Figure 1. Processing pea and chickpea flour into protein concentrates: technological scheme

Таблица 1. Химический состав горохового и нутowego белковых концентратов

Table 1. Pea and chickpea protein concentrates: chemical composition

Массовая доля влаги, %		Массовая доля, % на сухое вещество					Пищевые волокна		
		Белок (N×6,25)	Жир	Зола	Растворимые				
Гороховый									
3,86 ± 0,20		71,78 ± 0,35	4,47 ± 0,27	1,80 ± 0,27	9,67 ± 0,76		7,57 ± 0,26		
Нутовой									
9,76 ± 0,11		83,22 ± 0,35	2,23 ± 0,31	1,11 ± 0,38	8,01 ± 0,70		5,81 ± 0,48		
Аминокислотный скор, %									
Val	His	Ile	Leu	Lys	Met+Cys	Thr	Trp	Phe+Tyr	
Гороховый									
110	144	166	144	145	109	160	212	183	
Нутовой									
86	120	120	111	100	100	136	184	195	

для нутовой муки:  $sv - 1,81\%$ ,  $t - 5$  ч,  $gl - 25$  при скорости перемешивания обеих суспензий  $200 \text{ мин}^{-1}$ .

Белки из раствора осаждали 10 %-ной HCl в изоэлектрической точке (pH 4,2) с последующим центрифугированием суспензии при  $5000 \text{ мин}^{-1}$  и отделением осадка от сыворотки. Осадок дважды промывали водой, высушивали лиофильным способом

и получали белковые концентраты с химическим составом, представленным в таблице 1. Выход белков с концентратами составлял 65–70 % от их содержания в сырье. Оба белковых концентрата имели значения аминокислотного скор 100 % и выше. Исключение составил скор валина у нутowego белкового концентрата.

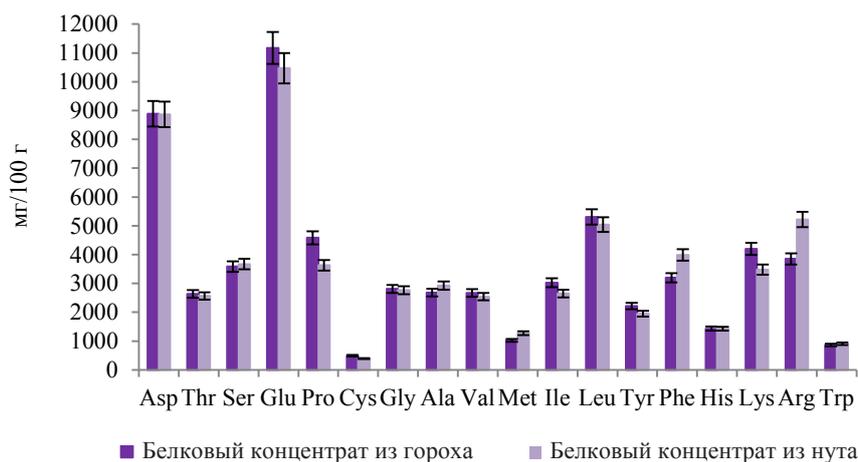


Рисунок 2. Аминокислотный состав горохового и нутового белковых концентратов

Figure 2. Pea and chickpea protein concentrates: amino acid composition

Таблица 2. Содержание макро- и микроэлементов в белковых концентратах

Table 2. Macro- and microelements in the protein concentrates

Элемент	Концентраты	
	Гороховый	Нутовый
Натрий, мг/100 г	103,00 ± 7,00	109,00 ± 7,00
Калий, мг/100 г	259,00 ± 14,00	263,00 ± 15,00
Кальций, мг/100 г	219,00 ± 14,00	207,00 ± 18,00
Магний, мг/100 г	10,30 ± 0,70	10,70 ± 0,60
Железо, мг/100 г	114,00 ± 8,00	53,90 ± 4,00
Цинк, мг/100 г	3,10 ± 0,25	2,20 ± 0,20
Медь, мг/100 г	0,36 ± 0,02	1,73 ± 0,05
Марганец, мг/100 г	0,51 ± 0,04	0,92 ± 0,07
Кобальт, мкг/100 г	92,00 ± 2,00	109,00 ± 3,00
Никель, мкг/100 г	190,00 ± 16,00	340,00 ± 25,00
Кадмий, мг/кг	0,086 ± 0,005	0,071 ± 0,003
Хром, мг/кг	≤ 0,005 ± 0,001	≤ 0,005 ± 0,002
Молибден, мг/кг	≤ 0,040 ± 0,001	≤ 0,040 ± 0,001

Сумма незаменимых аминокислот горохового белкового концентрата мало отличалась от суммы таких кислот в нутовом белковом концентрате и равнялась 256,21 и 247,9 мг/100 г соответственно (рис. 2). С поправкой на усвояемость белков (PDCAAS) (88 %) показатель биологической ценности у горохового белкового концентрата равен 96 %, у нутового – 76 %.

Состав макро- и микроэлементов белкового концентрата характеризовался показателями, приведенными в таблице 2. В нутовом белковом концентрате массовая доля железа была в 2,1 раза ниже, чем в гороховом, цинка – в 1,4 раза ниже, меди, кобальта, марганца и никеля – в 4,8, 1,2 и 1,8 раза больше соответственно.

Значения функциональных свойств (табл. 3) находились на уровне значений функциональных

свойств зерновых белковых концентратов, полученных из пшеницы, ячменя, ржи и риса [29, 31, 32]. Гороховый концентрат, имеющий коричневый цвет и содержащий в 5,5 раз больше фенолокарбоновых кислот и их производных, по сравнению с белковым концентратом светло-желтого цвета, имел в 2 раза большую пенообразующую способность, в 3 раза меньшую стабильность пены и в 1,4 раза меньшую способность связывать воду. Жироэмульгирующая и жиросвязывающая способности, стабильность эмульсии и растворимость белков практически были одинаковые у всех белковых концентратов. Нутовый белковый концентрат, как и гороховый белковый концентрат коричневого цвета, по сравнению с гороховым светло-желтого цвета, имел в 2,0–2,2 раза больше пенообразующую способность и в 2,6–3,2 раза меньшую стабильность пены. Можно сделать вывод о том, что эти различия были связаны с присутствием в белковом концентрате фенолокарбоновых кислот и их производных.

В таблице 4 представлены данные по элементам вторичной структуры белков светлого порошка горохового и нутового белковых концентратов, полученных на основе спектров кругового дихроизма. Измерения проводились в растворе 0,05 М уксусной кислоты при 20 °С и концентрации белков от 0,10 до 0,16 мг/см<sup>3</sup>.

Белки нутового белкового концентрата отличались от белков горохового в 7 раз меньшим количеством регулярной и нерегулярной  $\alpha$ -спирали и в 2 раза меньшим количеством параллельной  $\beta$ -структуры. Однако в нутовом белковом концентрате присутствовало в 1,26–6,0 раз больше белков с антипараллельной  $3_{10}$ -спиралью: левозакрученной, правозакрученной и релаксированной. Скрученные  $\beta$ -изгибы и другие виды вторичной структуры присутствовали в одинаковых количествах. Следовательно, повышенная пенообразующая

Таблица 3. Функциональные свойства и количество фенолокарбоновых кислот и их производных в белковом концентрате

Table 3. Functional properties and phenolic profile of the protein concentrates

Показатель	Образец белкового концентрата		
	Гороховый светло-желтого цвета	Гороховый коричневого цвета	Нутовый кремового цвета
Водосвязывающая способность, г/г	2,79 ± 0,04	2,44 ± 0,03	2,82 ± 0,05
Пенообразующая способность, %	42 ± 1	91 ± 1	85 ± 0
Стабильность пены, %	32 ± 1	10 ± 1	12 ± 0
Жирсвязывающая способность, г/г	2,24 ± 0,01	2,25 ± 0,03	2,26 ± 0,03
Жироэмульгирующая способность, %	52 ± 2	56 ± 3	55 ± 1
Стабильность эмульсии, %	47 ± 9	51 ± 3	52 ± 1
Растворимость в воде, %	11,60 ± 0,25	13,10 ± 0,15	12,20 ± 0,50
Фенолокарбоновые кислоты и их производные, мг/г белка	2,78 ± 0,24	15,05 ± 0,71	14,06 ± 0,41

Таблица 4. Элементы вторичной структуры белков горохового и нутового белковых концентратов, % от суммы структур

Table 4. Secondary structure of proteins in the pea and chickpea protein concentrates, % of total structures

Гороховый белковый концентрат светло-желтого цвета		Нутовый белковый концентрат кремового цвета	
$\alpha$ -спираль – 7,2 ± 0,3	Регулярная – 3,0 ± 0,1	$\alpha$ -спираль – 0,100 ± 0,005	Регулярная – 0,1 ± 0,0
	Нерегулярная – 4,2 ± 0,2		Нерегулярная – 0
Антипараллельная $3_{10}$ -спираль – 26,9 ± 0,5	Левозакрученная – 0,8 ± 0,1	Антипараллельная $3_{10}$ -спираль – 39,2	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 $\beta$ -структура – 7,1 ± 0,3		Параллельная $\beta$ -структура – 3,0 ± 0,2	
Свернутые $\beta$ -изгибы – 14,5 ± 0,6		Свернутые $\beta$ -изгибы – 14,8 ± 0,7	
Другие – 44,3 ± 0,7		Другие – 42,9 ± 0,6	

способность, но низкая величина ее стабильности, в белковом концентрате были обусловлены параллельной  $\beta$ -структурой, всеми видами белков антипараллельной  $3_{10}$ -спирали и присутствием фенолокарбоновых кислот и их производных.

**Кормовые микробно-растительные концентраты из гороховой и нутовой сыворотки.** На сыворотке, остающейся после осаждения концентрированных гороховых и нутовых белков из экстрактов, выделенных с помощью гидролитических ферментных препаратов, синтезированы кормовые белковые концентраты с консорциумом дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* 121 и микромицета *Geotrichum candidum* 977, взятых при весовом соотношении 1:1. Составлены планы проведения эксперимента в виде латинских квадратов, при которых функцией являлась массовая доля биомассы (г/дм<sup>3</sup>), факторами – pH субстрата, температура и количество посевного материала при росте микроорганизмов в течение 4 суток. Через листинг решения определили коэффициенты и оптимальные значения влияющих факторов на максимальный выход массовой доли биомассы  $md$ , г/дм<sup>3</sup>. Уравнения зависимости выхода

биомассы ( $md$ ) от влияющих факторов для нутовой (1) и гороховой (2) сыворотки имели вид:

$$md = 3,798 (0,44 + 0,00585cm^2) e^{-332624e-t} (0,3402 + +5,5403 / pH^2) \quad (1)$$

$$md = -2,94 + 0,544 pH - 0,0356 pH^2 + 0,181 t - 0,003 t^2 - 0,147 cm + 0,0276 cm^2 - 0,00447 pH t \quad (2)$$

где  $md$  – массовая доля биомассы;  $cm$  – количество посевного материала;  $t$  – температура;  $pH$  – pH среды.

Коэффициенты корреляции для уравнений (1) и (2) были значимы ( $P \leq 0,05$ ) и равнялись  $R = 0,9644$  и  $R = 0,9869$  соответственно, что указывает на адекватное описание ими экспериментальных данных. Из уравнений вытекали оптимальные значения факторов, обеспечивающих максимальный выход биомассы  $md = 0,82$  г/дм<sup>3</sup> для гороховой сыворотки: pH (pH) – 6,03, температура ( $t$ ) – 25,7 °С, количество посевного материала ( $cm$ ) – 2–3 %;  $md = 0,88$  г/дм<sup>3</sup> для нутовой сыворотки: pH (pH) – 5,0, температура ( $t$ ) – 16,96 °С, количество посевного материала ( $cm$ ) – 4,0 %.

Таблица 5. Углеводный состав сыворотки и культуральной жидкости в процессе роста биомассы

Table 5. Carbohydrate composition of serum and culture liquid during biomass growth

Рост микроорганизмов, сутки	Углеводный состав сыворотки и культуральной жидкости, % от общего количества						
	Высокомолекулярные соединения	Раффиноза, стахиоза	Сахароза	Мальтоза	Глюкоза	Ксилоза, галактоза	Арабиноза, фруктоза
	Сыворотка						
	29,75 ± 0,43	17,65 ± 1,20	0	4,75 ± 2,30	2,29 ± 1,20	39,07 ± 1,60	6,49 ± 0,20
	Культуральная жидкость в процессе роста микроорганизмов						
1	57,56 ± 0,10	26,00 ± 0,81	4,73 ± 0,12	8,21 ± 0,07	0	0	3,51 ± 0,41
2	53,78 ± 0,09	33,30 ± 0,70	0,20 ± 0,03	8,07 ± 0,06	0	4,86 ± 0,13	
3	55,88 ± 0,08	28,28 ± 1,20	3,05 ± 0,21	7,79 ± 0,08	0	5,02 ± 0,05	
4	58,47 ± 1,10	27,04 ± 0,92	0,25 ± 0,08	10,05 ± 0,10	0	4,45 ± 0,33	

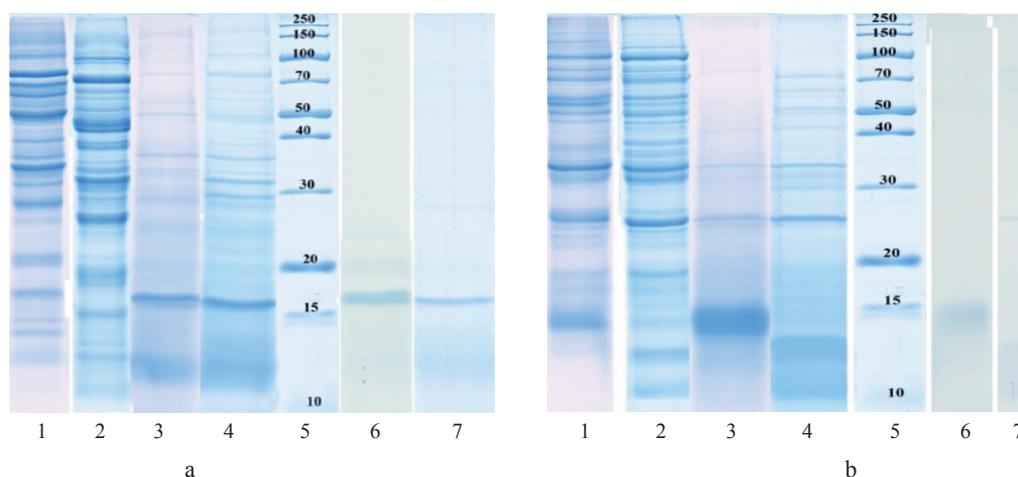


Рисунок 3. Белковые компоненты в полиакриламидном геле: а – гороховая сыворотка; б – нутовая сыворотка.

Без меркаптоэтанола: 1 – мука; 3 – экстракт 1-ой стадии; 5 – маркеры; 6 – сыворотка. С меркаптоэтанолом: 2 – мука; 4 – экстракт 1-ой стадии; 7 – сыворотка

Figure 3. Protein components according to Polyacrylamide Gel Electrophoresis: a – pea serum; b – chickpea serum. Without mercaptoethanol: 1 – flour; 3 – extract of stage 1; 5 – markers; 6 – serum. With mercaptoethanol: 2 – flour; 4 – extract of stage 1; 7 – serum

В процессе синтеза биомассы из обоих видов сыворотки микроорганизмы полностью усваивали глюкозу, большую часть ксилозы, арабинозы, галактозы и фруктозы. В сумме их количество уменьшилось более чем в 10 раз (табл. 5). Раффиноза, стахиоза и мальтоза практически не усваивались, появление сахарозы в культуральной жидкости связано с гидролизом в раффинозе  $\alpha$ -1 $\rightarrow$ 6-гликозидной связи между остатками галактозы и сахарозы. Количество высокомолекулярных соединений в жидкости увеличивалось из-за количественного перераспределения фракций.

Эффективное накопление биомассы происходило благодаря присутствию в сыворотке, по сравнению с исходной мукой, не только углеводов, но и относительно низкомолекулярных азотистых компонентов. Молекулярную массу компонентов определяли электрофорезом в полиакриламидном

геле с SDS с применением меркаптоэтанола и без него для разрыва дисульфидных связей в белках. Если в муке присутствовали многоцепочечные компоненты с молекулярной массой от 15 до > 250 кДа, под действием меркаптоэтанола распадающиеся на одноцепочечные полипептиды с молекулярной массой от 10 до 150 кДа, то сыворотка содержала компоненты с более низкой молекулярной массой: от 10 до 25 кДа (рис. 3).

Углеводный и белковый составы питательной среды на вторые сутки роста (24 ч) микроорганизмов на сыворотке обеспечивали формирование консорциума из дрожжей и микромицета, положительно влияющего на морфологию клеток (рис. 4) и на химический состав готовых кормовых микробно-растительных концентратов (табл. 6).

Массовая доля белка и жира в КМПК-2 из биомассы больше на 20–36 и 4–6 % соответственно,



Рисунок 4. Клетки монокультур и их консорциума: гороховая сыворотка: а – *Saccharomyces cerevisiae*; б – *Geotrichum candidum* 977; с – 48 ч роста; нутовая сыворотка: d – 24 ч роста; e – 48 ч роста

Figure 4. Cells of monocultures and their consortium. Pea serum: a – *Saccharomyces cerevisiae*; b – *Geotrichum candidum* 977; c – 48 h of growth; chickpea serum: d – 24 h of growth; e – 48 h of growth

Таблица 6. Химический состав кормовых микробно-растительных концентратов из биомассы с культуральной жидкостью (КМПК-1) и без нее (КМПК-2)

Table 6. Chemical composition of the microbial-vegetable feed biomass concentrates with and without cultural liquid

Концентрат	Влажность, %	Массовая доля, % на сухое вещество			Пищевые волокна	
		Белок (N×6,25)	Зола	Жир	Растворимые	Нерастворимые
Кормовой микробно-растительный концентрат из нутовой сыворотки						
КМПК-1	7,20 ± 0,26	47,15 ± 0,58	15,27 ± 0,05	2,65 ± 0,01	15,22 ± 0,64	20,31 ± 0,33
КМПК 2	9,10 ± 0,50	64,10 ± 0,88	8,93 ± 0,04	9,57 ± 0,42	8,80 ± 0,72	8,60 ± 0,27
Кормовой микробно-растительный концентрат из гороховой сыворотки						
КМПК-1	6,81 ± 0,40	51,09 ± 0,37	8,60 ± 0,03	2,04 ± 0,19	10,51 ± 0,55	20,48 ± 0,35
КМПК 2	6,81 ± 0,41	61,68 ± 0,47	8,60 ± 0,04	8,31 ± 0,36	7,13 ± 0,55	14,27 ± 0,44

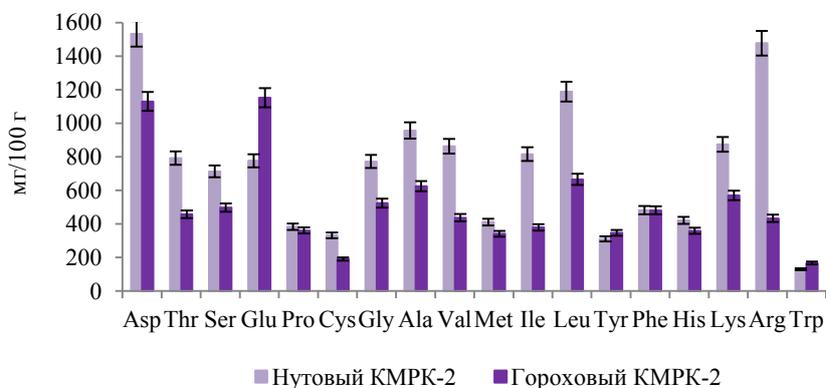


Рисунок 5. Аминокислотный состав КМПК-2 из биомассы

Figure 5. Amino acid composition of the microbial-vegetable feed concentrates with cultural liquid

чем массовая доля этих соединений в кормовых микробно-растительных концентратах из биомассы с культуральной жидкостью (КМПК-1). Сумма растворимых и нерастворимых волокон меньше в 1,4–2,0 раза. Различия в химическом составе выявлены и для кормовых микробно-растительных концентратов, полученных на различной сыворотке. Отличия в массовой доле белка составили 5–8 %. В обоих видах нутовых кормовых микробно-растительных концентратов на 15–29 % больше жира и на 20–45 %

больше растворимых волокон, чем в гороховых. Массовая доля нерастворимых волокон была почти одинаковой в гороховом и нутовом КМПК-1, тогда как в КМПК-2 из гороховой биомассы их количество было на 66,5 % больше, чем в КМПК-2 из нутовой сыворотки. Большему содержанию нерастворимых волокон у горохового КМПК-2 (на 66 %), по сравнению с нутовым КМПК-2, соответствовало несколько меньшее значение их перевариваемости *in vitro* с ферментным препаратом: 84,41 ± 0,32

Таблица 7. Аминокислотный скор КМПК-2 из гороховой и нутовой сыворотки

Table 7. Amino acid score of the microbial-vegetable feed concentrates with cultural liquid

Кормовой микробно-растительный концентрат	Скор незаменимых аминокислот, %								
	Val	His	Ile	Leu	Lys	Met+Cys	Thr	Trp	Phe+Tyr
КМПК-2 из гороховой сыворотки	107	219	124	107	116	226	179	247	197
КМПК-2 из нутовой сыворотки	151	188	197	136	127	225	221	137	135

Таблица 8. Жирнокислотный состав кормового микробно-растительного концентрата из гороховой и нутовой сыворотки

Table 8. Microbial-vegetable feed concentrate from pea and chickpea serum: fatty acid composition

Кислота	Массовая доля, %		Кислота	Массовая доля, %	
	Гороховая	Нутовая		Гороховая	Нутовая
Каприновая (декановая) кислота C <sub>10:0</sub>	0,10	–	Гипогеиновая (7-гексадеценная) кислота C <sub>16:1(7)</sub>	0,56	–
Ундекановая кислота C <sub>11:0</sub>	0,05	–	Пальмитиновая (гексадекановая) кислота C <sub>16:0</sub>	15,03	20,09
(R)-3,4 – Метиледимоксимета мфетамин C <sub>11</sub> H <sub>15</sub> NO <sub>2</sub>	0,17	–	Пальмитолеиновая (транс-9-гексадеценная) кислота C <sub>16:1(9)</sub>	3,65	8,26
Лауриновая (додекановая) кислота C <sub>12:0</sub>	0,28	–	10-гептадеценная кислота C <sub>17:1(10)</sub>	0,63	–
Азелаиновая (нонандиовая) кислота C <sub>9</sub> H <sub>16</sub> O <sub>4</sub>	0,09	–	Маргариновая (гептадекановая) кислота C <sub>17:0</sub>	0,52	–
Лауриновый альдегид C <sub>12</sub> H <sub>24</sub> O	0,05	–	Линолевая (октадекадиен-9Z, 12Z-овая) кислота C <sub>18:2(9,12)</sub>	19,73	–
1-Нонадецен C <sub>19:1(9)</sub>	0,81	–	Олеиновая (9-октадеценная) кислота C <sub>18:1(9)</sub>	40,43	16,56
10-Метилдодекановая кислота C <sub>13</sub> H <sub>26</sub> O <sub>2</sub>	0,05	–	Петрозелиновая (6-октадеценная) кислота C <sub>18:1(6)</sub>	4,31	1,01
Дифенолкетон (C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> ) <sub>2</sub> CO	0,08	–	Стеариновая (октадекановая) кислота C <sub>18:0</sub>	7,10	1,82
3-фенил-2-бутиловый эфир пропеновой кислоты C <sub>13</sub> H <sub>16</sub> O <sub>2</sub>	–	–	Гипогеиновая (7-гексадеценная) кислота C <sub>16:1(7)</sub>	0,56	–
Миристовая (9-тетрадеценная) кислота C <sub>14:1(9)</sub>	0,25	–	Пальмитолеиновая (транс-9-гексадеценная) кислота C <sub>16:1(9)</sub>	3,65	–
Миристиновая (тетрадекановая) кислота C <sub>14:0</sub>	1,36	1,35	Пальмитиновая (гексадекановая) кислота C <sub>16:0</sub>	–	–
Пентадекановая кислота C <sub>15:0</sub>	0,45	2,14	10-гептадеценная кислота C <sub>17:1(10)</sub>	0,63	–
n-Гексилловый эфир бензойной кислоты C <sub>13</sub> H <sub>18</sub> O <sub>2</sub>	0,41	–	Маргариновая (гептадекановая) кислота C <sub>17:0</sub>	0,52	–
Гептиловый эфир бензойной кислоты C <sub>14</sub> H <sub>20</sub> O <sub>2</sub>	0,31	–	Линолевая (октадекадиен-9Z, 12Z-овая) кислота C <sub>18:2(9,12)</sub>	19,73	41,26
Диэтиловый эфир 1,4-бензолдикарбоновой кислоты	–	4,08	Нонадеканол-1 C <sub>19</sub> H <sub>39</sub> OH	–	3,42

против 88,46 ± 1,30 %. Различия были обусловлены особенностями химического состава зерна культур, из которых получали белковые концентраты, т. к. технология биоконверсии сыворотки была одинаковой.

Белки кормовых микробно-растительных концентратов содержали 18 аминокислот: глутаминовую и аспарагиновую кислоты, глицин, пролин, лизин и др. (рис. 5). Скор для всех незаменимых

аминокислот КМПК-2, полученного из биомассы, выращенной на обоих видах сыворотки, был выше 100 % (табл. 7). Это указывает на высокую биологическую ценность концентратов. Однако у КМПК-2 из нутовой сыворотки скор для треонина, лизина, лейцина, изолейцина и валина был выше, чем у КМПК-2 из гороховой сыворотки, и меньше для суммы ароматических аминокислот и триптофана. Скор для серосодержащих аминокислот одинаковый.

Жирнокислотный состав КМПК-1 из нутовой сыворотки был представлен 10 компонентами, из гороховой – 30 (табл. 8). Среди них на долю жирных кислот растительных масел и животных жиров у первого концентрата приходилось 92,5 %, на сумму эфира и спирта со свойствами ароматизаторов, эфирных масел и метаболитов – 7,50 %, у второго концентрата – 97,0 и 3,0 % соответственно.

У нутового концентрата соотношение суммы насыщенных (25,40 %) и ненасыщенных жирных кислот (67,09 %) равнялось 1:2,6, содержание омега-6 жирных кислот (линолевой кислоты) – 41,26 %, у концентрата из гороховой сыворотки – 1:3 (23,5/71,67%) и 19,73 % соответственно. Содержание цис-изомеров в концентрате – 91,1 %, транс-изомеров – 5,1 %. Таким образом, по составу и виду жирных кислот оба КМПК-1 приближались к пищевым маслам и жирам, но в нутовом КМПК-1 таких кислот содержалось на 4,5 % меньше, а омега-6 жирных кислот (линолевой) на 21,5 % больше. Общее количество ненасыщенных жирных кислот в гороховом кормовом микробно-растительном концентрате было выше, чем в нутовом (соотношение насыщенные:ненасыщенные жирные кислоты 1:3 против 1:2,6).

Минеральный состав КМПК-1 представлен 14 макро- и микроэлементами (табл. 9). В нутовом КМПК-1 содержалось в 1,8 раз больше калия, магния и кобальта, в 10 раз больше марганца и в 2 раза больше натрия, чем гороховом КМПК-1. Количество кальция, железа, цинка практически одинаковое в обоих препаратах.

Результаты рекомендовано учитывать при составлении рецептов кормов и добавок для различных

Таблица 9. Содержание макро- и микроэлементов в КМПК-1 из нутовой и гороховой сыворотки

Table 9. Macro- and microelements in the microbial-vegetable feed concentrates without cultural liquid

Элемент	КМПК-1 из сыворотки	
	Нутовой	Гороховой
Натрий, мг/100 г	2460,00 ± 172,00	1163,00 ± 81,00
Калий, мг/100 г	3377,00 ± 200,00	1844,00 ± 100,00
Кальций, мг/100 г	2010,00 ± 156,00	2000,00 ± 120,00
Магний, мг/100 г	222,00 ± 10,00	121,00 ± 8,00
Железо, мг/100 г	5,10 ± 0,35	6,30 ± 0,46
Цинк, мг/100 г	11,40 ± 0,90	14,00 ± 1,20
Медь, мг/100 г	1,50 ± 0,04	1,12 ± 0,04
Марганец, мг/100 г	12,00 ± 0,56	1,56 ± 0,08
Кобальт, мкг/100 г	107,00 ± 3,00	57,00 ± 2,00
Никель, мкг/100 г	210,00 ± 15,00	440,00 ± 36,00
Свинец, мг/кг	≤ 0,001	≤ 0,001
Кадмий, мг/кг	0,151 ± 0,007	0,171 ± 0,009
Хром, мг/кг	≤ 0,005	≤ 0,005
Молибден, мг/кг	≤ 0,04	≤ 0,04

групп животных в целях улучшения качества получаемого от них пищевого сырья.

Один из образцов белковых концентратов, полученных из гороховой муки (образец 1), имел темно-коричневый цвет (рис. 6). Цвет мог быть связан с реакцией меланоидинообразования между карбонильными группами восстанавливающих сахаров и аминогруппами белков и аминокислот, образованием меланинов при участии аминокислоты тирозин и фермента тирозиназы и окислением –ОН-групп фенольных соединений.

Первые две причины не получили экспериментального подтверждения, тогда как между количеством фенолокарбоновых кислот и их производных в образцах с различными оттенками цвета установлена взаимосвязь. Массовая доля фенолокарбоновых кислот и их производных в муке и белковых концентратах, выраженная в мг/г белка, коррелировала с оттенками цвета исследуемых образцов, тогда как количество их в % на сухое вещество и в мг/г продукта не отражало эти особенности (табл. 10).

Чем меньше в муке содержалось фенолокарбоновых кислот и их производных, тем меньше их было в составе белкового концентрата. В БК-2 светло-желтого цвета, полученном из муки-2 с меньшим в 5,6 раза их количеством, по сравнению с мукой-1, этих соединений также содержалось меньше, чем в БК-1 темно-коричневого цвета (в 5,4 раза). Такая же зависимость была характерна и для кормового микробно-растительного концентрата. Кормовой концентрат КМПК-2 светло-желтого цвета содержал в 1,7 раза меньше фенолокарбоновых кислот и их производных, по сравнению с светло-коричневым КМПК-1. Высокое содержание в нутовой муке фенолокарбоновых кислот и их производных также сопровождалось большим их количеством в готовом БК-3 темно-желтого цвета. Величина оптической плотности водных растворов всех исследуемых продуктов, измеренная при  $D_{590}$  нм, высоко коррелировала с массовой долей общего количества фенолокарбоновых кислот и их производных, выраженной в мг/г белка ( $R = 0,895$ ).

## Выводы

Выполнен сравнительный анализ качественных показателей пищевых и кормовых белковых концентратов из зернобобовых культур, полученных с гидролитическими ферментными препаратами с достижением растворимости белков гороха и нута до  $84 \pm 1$  % и их выходом 65–70 %. Нутовые белковые концентраты содержали белка больше, чем гороховые:  $83,22 \pm 0,35$  против  $71,78 \pm 0,35$  % на сухое вещество. Но показатель биологической ценности, с поправкой на усвояемость белков (PDCAAS) (88 %), у горохового белкового концентрата был



Рисунок 6. Внешний вид белкового концентрата: а – из гороховой муки 1; б – из гороховой муки 2; с – из нутовой муки; д – кормовой микробно-растительный концентрат из нутовой муки

Figure 6. Appearance of protein concentrate: a – pea flour 1; b – pea flour 2; c – chickpea flour; d – chickpea flour microbial-vegetable feed concentrate

Таблица 10. Массовая доля фенолокарбоновых кислот и их производных в муке и белковом концентрате

Table 10. Mass fraction of phenolic acids and their derivatives in the flour and protein concentrate

Продукт	Цвет продукта	Оптическая плотность, водных растворов D <sub>590</sub> нм	Массовая доля фенолокарбоновых кислот и их производных		
			% на сухое вещество	мг/г продукта	мг/г белка
Гороховая мука и концентраты					
Мука-1	Желтый	0,390 ± 0,010	1,14 ± 0,06	12,70 ± 0,78	56,00 ± 1,01
БК-1	Темно-коричневый	0,080 ± 0,010	1,08 ± 0,07	11,22 ± 1,40	15,05 ± 0,56
Мука-2	Светло-желтый	0,080 ± 0,000	0,02 ± 0,01	1,79 ± 0,91	9,89 ± 0,23
БК-2	Светло-желтый	0,040 ± 0,010	0,02 ± 0,01	1,88 ± 1,01	2,78 ± 0,05
КРМК-1	Светло-коричневый	0,100 ± 0,040	1,11 ± 0,03	12,23 ± 0,21	39,14 ± 0,38
КРМК-2	Светло-желтый	0,040 ± 0,030	1,12 ± 0,07	12,37 ± 2,31	2,85 ± 0,04
Нутовая мука и концентраты					
Мука-3	Желтый	0,380 ± 0,030	1,11 ± 0,08	12,24 ± 0,41	54,49 ± 0,41
БК-3	Темно-желтый	0,080 ± 0,040	1,17 ± 0,08	12,84 ± 0,56	14,06 ± 0,12
КРМК-3	Темно-желтый	0,085 ± 0,020	1,11 ± 0,03	12,28 ± 0,12	26,68 ± 0,53

выше, чем у нутового: 96 и 76 % соответственно. Сумма незаменимых аминокислот выше у горохового белкового концентрата (256,21 мг/100 г) по сравнению с нутовым (247,9 мг/100 г). Белковые концентраты отличались по содержанию меди, кобальта, марганца, никеля и количеству фенолокарбоновых кислот и их производных, пенообразующей способности и элементам вторичной структуры белков. Большему содержанию фенолокарбоновых кислот и их производных и количеству параллельной β-структуры и антипараллельных 3<sub>10</sub>-спиралей в нутовом белковом концентрате соответствовала более высокая пенообразующая способность, но более низкая стабильность пены, по сравнению с гороховым. Скрученные β-изгибы и другие виды вторичной структуры белков не влияли на значения функциональных свойств белковых концентратов.

В усвоении углеводов дрожжами *Saccharomyces cerevisiae* 121 и микромицетом *Geotrichum candidum* 977 из разных видов сыворотки различий не обнаружено. Из углеводов и белков сыворотки с

молекулярной массой от 10 до 25 кДа на вторые сутки роста формировался консорциум микроорганизмов с массовой долей белка 47,15–51,09 % на сухое вещество в биомассе совместно с культуральной жидкостью и 61,68–64,10 % – только в биомассе. Обнаружены различия у кормовых белковых концентратов из биомассы гороховой и нутовой сыворотки в массовой доле жира, растворимых и нерастворимых волокон. Аминокислотный скор всех незаменимых аминокислот в концентратах из обеих видов сыворотки выше 100 %. Количество ненасыщенных жирных кислот в гороховом КРМК-1 выше, чем в нутовом КРМК-1 (соотношение насыщенные:ненасыщенные жирные кислоты 1:3 против 1:2,6), но в нутовом КРМК-1 на 21,5 % больше омега-6 жирных кислот (линолевой), калия, магния, кобальта, марганца и натрия. Для всех видов концентратов обнаружена высокая корреляционная взаимосвязь между массовой долей фенолокарбоновых кислот и их производных в сырье, концентратов и цветом сухих препаратов. Коэффициент корреляции R между оптической плотностью водных растворов, измеренной при

$D_{590}$  нм, и массовой долей фенолокарбоновых кислот и их производных, выраженной в мг/г белка, равнялся 0,895.

Оба вида белкового концентрата рекомендовано использовать в пищевых целях, кормовой микробно-растительный концентрат – в кормах для животных с учетом особенностей их химического состава, физико-химических и биохимических показателей для улучшения качества пищевого сырья животного или растительного происхождения.

#### Критерии авторства

В. В. Колпакова руководила проектом, выполняла обзор и анализ публикаций по теме и анализировала полученные в ходе экспериментов данные. Р. В. Уланова выполняла исследования по выращиванию биомассы на сыворотке и анализировала полученные данные. Д. С. Куликов выполнял исследования по получению белковых концентратов из гороха и нута и определению их химического состава и функциональных свойств. В. А. Гулакова занималась определением химического и углеводного состава концентратов. Г. В. Семёнов выполнял исследования по получению и сушке белковых

концентратов пищевого и кормового назначения. Л. В. Шевякова анализировала химический состав белковых концентратов, включая минеральный состав.

#### Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

#### Contribution

V.V. Kolpakova supervised the project, reviewed publications, and analyzed the experimental data. R.V. Ulanova was responsible for the cultivation of biomass on serum and data analysis. D.S. Kulikov obtained protein concentrates from peas and chickpeas to determine their chemical composition and functional properties. V.A. Gulakova determined the chemical and carbohydrate composition of the concentrates. G.V. Semenov obtained protein concentrates for food and feed purposes. L.V. Shevjakova studied the mineral composition of the protein concentrates.

#### Conflict of interest

The authors declare that there is no conflict of interest.

#### References/Список литературы

1. Zotikov VI, Naumkina TS, Sidorenko VS, Gryadunova NV, Naumkin VV. Pulses as an important factor of sustainable ecologically oriented agriculture. *Legumes and Groat Crops*. 2016;17(1):6–13. (In Russ.). [Зернобобовые культуры – важный фактор устойчивого экологически ориентированного сельского хозяйства / В. И. Зотиков [и др.] // Зернобобовые и крупяные культуры. 2016. Т. 17. № 1. С. 6–13.].
2. Kolpakova VV, Kulikov DS, Ulanova RV, Chumikina LV. Food and feed protein preparations from peas and chickpeas: Production, properties, application. *Food Processing: Techniques and Technology*. 2021;51(2):333–348. (In Russ.). <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2021-2-333-348>.
3. Driving commitment for nutrition within the UN Decade of Action on Nutrition. World Health Organization and Food and Agriculture Organization of the United Nations; 2018. 14 p.
4. Kulikov DS, Kolpakova VV, Ulanova RV, Chumikina LV, Bessonov VV. Biological processing of pea grain and secondary starch raw materials to produce food and feed protein concentrates. *Biotechnology in Russia*. 2020;36(4):49–58. (In Russ.). [Биологическая переработка зерна гороха с получением пищевых и кормовых белковых концентратов / Д. С. Куликов [и др.] // Биотехнология. 2020. Т. 36. № 4. С. 49–58.].
5. Souza Filho PF, Nair RB, Andersson D, Lennartsson PR, Taherzadeh MJ. Veganmycoprotein concentrate from peaprocessing industry byproduct using edible filamentous fungi. *Fungal Biology and Biotechnology*. 2018;5(1):1–10. <https://doi.org/10.1186/s40694-018-0050-9>
6. Ulanova RV, Kulikov DS, Gulakova VA, Ahremko AG, Slozhenkina MI, Kolpakova VV. Ecological approach to the use of secondary products of pea flour and rice grain processing into protein concentrates and phytin. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*. 2021;848(1). <https://doi.org/10.1088/1755-1315/848/1/012106>
7. Xu J, Zhang M, He T, Luo H, Peng K, Huang X, et al. Application of de-lignified cellulose to enhance intracellular and extracellular lipid production from oleaginous yeast using acetic acid. *Bioresource Technology*. 2019;293. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.122032>
8. Sarris D, Sampani Z, Rapti A, Papanikolaou S. 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. *Current Pharmaceutical Biotechnology*. 2019;20(10):881–894. <https://doi.org/10.2174/1389201020666190211145215>

9. Machado WRM, Silva LG, Vanzela ESL, Del Bianchi VL. Production of carotenoids by *Rhodotorula toruloides* isolated from Brazilian tropical savannah. *International Food Research Journal*. 2019;26(4):1259–1267.
10. Zhou X, Ouyang Z, Zhang X, Wei Y, Tang S, Ma Z, *et al.* Sweet corn stalk treated with *Saccharomyces cerevisiae* alone or in combination with *Lactobacillus plantarum*: Nutritional composition, fermentation traits and aerobic stability. *Animals*. 2019;9(9). <https://doi.org/10.3390/ani9090598>
11. Rychen G, Aquilina G, Azimonti G, Bampidis V, Bastos MDL, Bories G, *et al.* 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. *EFSA Journal*. 2017;15(2). <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2017.4704>
12. Sun Z, Wang T, Aschalew ND, Zhao W, Chen X, Zhang X-F, *et al.* Effects of yeast cultures with different fermentation times on the growth performance, caecal microbial community and metabolite profile of broilers. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*. 2020;104(1):212–223. <https://doi.org/10.1111/jpn.13241>
13. Zhen YG, Zhao W, Chen X, Li LJ, Lee HG, Zhang XF, *et al.* Effects of yeast culture on broiler growth performance, nutrient digestibility and caecal microbiota. *South African Journal of Animal Science*. 2019;49(1):99–108. <https://doi.org/10.4314/sajas.v49i1.12>
14. Sousa DO, Oliveira CA, Velasquez AV, Souza JM, Chevaux E, Mari LJ, *et al.* Live yeast supplementation improves rumen fibre degradation in cattle grazing tropical pastures throughout the year. *Animal Feed Science and Technology*. 2018;236:149–158. <https://doi.org/10.1016/j.anifeeds.2017.12.015>
15. Anjum MI, Javaid S, Ansar MS, Ghaffar A. Effects of yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) supplementation on intake, digestibility, rumen fermentation and milk yield in Nili-Ravi buffaloes. *Iranian Journal of Veterinary Research*. 2018;19(2): 96–100.
16. Shakira G, Qubtia M, Ahmed I, Hasan F, Anjum MI, Imran M. Effect of indigenously isolated *Saccharomyces cerevisiae* probiotics on milk production, nutrient digestibility, blood chemistry and fecal microbiota in lactating dairy cows. *Journal of Animal and Plant Sciences*. 2018;28(2):407–420.
17. Sallam SMA, Abdelmalek MLR, Kholif AE, Zahran SM, Ahmed MH, Zeweil HS, *et al.* The effect of *Saccharomyces cerevisiae* live cells and *Aspergillus oryzae* fermentation extract on the lactational performance of dairy cows. *Animal Biotechnology*. 2020;31(6):491–497. <https://doi.org/10.1080/10495398.2019.1625783>
18. Serba EM, Sokolova EN, Fursova NA, Volkova GS, Borshheva YuA, Kurbatova EI, *et al.* Obtaining biologically active additives based on enriched yeast biomass. Storage and Processing of Farm Products. 2018;(2):74–79. (In Russ.). [Получение биологически активных добавок на основе обогащенной дрожжевой биомассы / Е. М. Серба [и др.] // Хранение и переработка сельхозсырья. 2018. № 2. С. 74–79.].
19. Kot AM, Błażej S, Kieliszek M, Gientka I, Bryś J, Reczek L, *et al.* Effect of exogenous stress factors on the biosynthesis of carotenoids and lipids by *Rhodotorula* yeast strains in media containing agroindustrial waste. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. 2019;35(10). <https://doi.org/10.1007/s11274-019-2732-8>
20. ChuppaTostain G, Hoarau J, Watson M, Adelard L, Sing ASC, Caro Y, *et al.* Production of *Aspergillus niger* biomass on sugarcane distillery waste water: Physiological aspects and potential for biodiesel production. *Fungal Biology and Biotechnology*. 2018;5(1):1–12. <https://doi.org/10.1186/s40694-018-0045-6>
21. Andreev NR, Kolpakova VV, Goldstein VG, Kravchenko IK, Ulanova RV, Gulakova VA, *et al.* Utilization of secondary triticale processing products with production of fodder microbial-vegetative concentrate for pond fish. *South of Russia: Ecology, Development*. 2017;12(4):90–104. (In Russ.). <https://doi.org/10.18470/1992-1098-2017-4-90-104>
22. Barman A, Marak CM, Barman RM, Sangma CS. Nutraceutical properties of legume seeds and their impact on human health. In: Jimenez-Lopez JC, Clemente A, editors. *Legume seed nutraceutical research*. IntechOpen; 2019. <https://doi.org/10.5772/intechopen.78799>
23. Singhal A, Karaca AC, Tyler R, Nickerson M. Nutraceutical properties of legume seeds and their impact on human health. In: Goyal AK, editor. *Grain legumes*. IntechOpen; 2016. <https://doi.org/10.5772/64020>
24. Bondarenko AN. Effect of growth-stimulating preparations on productivity and economic efficiency of chickpea under the conditions of light chestnut saline soils of the Astrakhan oblast'. *Agrarian Russia*. 2019;(1):24–26. (In Russ.). <https://doi.org/10.30906/1999-5636-2019-1-24-26>
25. Acquah C, Ohemeng-Boahen G, Power KA, Tosh SM. The effect of processing on bioactive compounds and nutritional qualities of pulses in meeting the sustainable development goal 2. *Frontiers in Sustainable Food Systems*. 2021;5. <https://doi.org/10.3389/fsufs.2021.681662>
26. Wang Y, Wang Y, Li K, Bai Y, Li B, Xu W. Effect of high intensity ultrasound on physicochemical, interfacial and gel properties of chickpea protein isolate. *LWT*. 2020;129. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109563>

27. Nechaev AP, Traubenberg SE, Kochetkova AA, Nechaev AP. Food chemistry: Laboratory workshop. St. Petersburg: GIORД; 2006. 302 p. (In Russ.). [Пищевая химия: Лабораторный практикум / А. П. Нечаев [и др.] // СПб.: ГИОРД, 2006. 302 с.].
28. Skurikhin IM, Tutel'yan VA. Guide to methods for food quality and safety analysis. Moscow: Brandes, Meditsina; 1998. 341 p. (In Russ.). [Скурихин И. М., Тутельян В. А. Руководство по методам анализа качества и безопасности пищевых продуктов. М.: Брандес, Медицина. 1998. 341 с.].
29. Kolpakova VV, Chumikina LV, Arabova LI, Lukin DN, Topunov AF, Titov YeI. Functional technological properties and electrophoretic composition of modified wheat gluten. *Foods and Raw Materials*. 2016;4(2):48–57. <https://doi.org/10.21179/2308-4057-2016-2-48-57>
30. Gavrilin MV, Popova OI, Gubanova EA. Phenolic compounds of the aerial part of clary sage (*Salviasclarea* L.), cultivated in the Stavropol Region. *Chemistry of Plant Raw Materials*. 2010;(4):99–104. (In Russ.). [Гаврилин М. В., Попова О. И., Губанова Е. А. Фенольные соединения надземной части шалфея мускатного (*Salviasclarea* L.), культивируемого в Ставропольском крае // Химия растительного сырья. 2010. № 4. С. 99–104.].
31. Kolpakova VV, Ulanova RV, Kulikov DS, Gulakova VA, Kadieva AT. Grain composites with a complementary amino acid composition in food and fodder. *Food Processing: Techniques and Technology*. 2019;49(2):301–311. (In Russ.). <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2019-2-301-311>
32. Kolpakova VV, Chumikina LV, Arabova LI. Modification of functional properties of white and brown rice protein concentrates. *Proceedings of the Voronezh State University of Engineering Technologies*. 2019;81(1):181–189. (In Russ.). <https://doi.org/10.20914/2310-1202-2019-1-181-189>