

## **Применение комплекса гидролитических ферментов при получении концентрата белков люпина**

Забодалова Л.А.<sup>1)</sup>, Доморощенко М.Л.<sup>2)</sup>, Демьяненко Т.Ф.<sup>2)</sup>, Кузнецова Л.М.<sup>1)</sup>

zabodalova@gmail.com

<sup>1)</sup> Санкт-Петербургский государственный университет  
низкотемпературных и пищевых технологий

<sup>2)</sup> Государственное научное учреждение Всероссийский  
научно-исследовательский институт жиров Российской  
академии сельскохозяйственных наук

*Растущая потребность в белке и в продуктах, обогащенных белком, проявляется в интенсивном поиске его новых источников. Продукты переработки семян люпина обладают значительным потенциалом для использования в качестве функциональных белковых добавок и улучшения питания человека. В данной работе исследован процесс экстракции в кислой среде небелковых соединений из цельносмолотой люпиновой муки, совмещенный с обработкой субстрата комплексом гидролитических ферментов, действующих на углеводную фракцию семян. В результате получен целевой продукт с более высоким содержанием протеина, чем в исходной муке, и по сравнению с концентратом, полученном без использования ферментной обработки.*

Ключевые слова: люпин узколистный, концентраты белка люпина, некрахмалистые полисахариды, гидролитические ферменты.

## **Use of hydrolytic enzymes complex in lupin protein concentrate technology**

L.Zabodalova<sup>1)</sup>, M. Domorochshenkova<sup>2)</sup>, T. Demjanenko<sup>2)</sup>, L. Kuznetsova<sup>1)</sup>

zabodalova@gmail.com

<sup>1)</sup> Saint-Petersburg state university of refrigeration and food  
engineering

<sup>2)</sup> State scientific institution All-Russia Research Institute of fats,  
Russian Academy of Agricultural Sciences

*The growing demand in protein and protein enriched products causes an intensive search for new protein sources. Processed lupin seed products have a*

*considerable potential for usage as functional protein additives and for improvement of human nutrition. In this paper the process of extraction of non-protein substances in acid solution from lupin flour accompanied by a treatment of the substrate by complex enzyme systems hydrolyzing carbohydrate fraction of seeds is studied. The work resulted in production of final product with a higher protein level than the initial lupin flour and the concentrate produced without enzyme treatment.*

Key words: *Lupinus angustifolius*, lupin protein concentrates, non-starch polysaccharides, hydrolytic enzymes

В настоящее время существует проблема дефицита белка в рационе населения России и технологии получения растительных белков из возобновляемого сырья становятся более востребованными на российском рынке. Улучшение биологической ценности пищи путем обогащения ее функциональными компонентами является одной из актуальных задач, стоящих перед мировой наукой. Одним из путей решения указанной задачи является поиск и исследование потребительских свойств новых растительных источников белка.

В современной пищевой биотехнологии основным сырьем для получения белковых концентратов, изолятов и текстуратов является соя. Но в последнее время отношение потребителей к соевым белкам серьезно ухудшилось из-за широкого распространения генномодифицированного сырья. Большой интерес ученых вызывают выращиваемые в той или иной стране местные сельскохозяйственные культуры (бобовые, зерновые) и среди них – люпин. На Всемирном конгрессе по проблемам использования растительных белков на пищевые и кормовые цели (1991 г., США) люпин был охарактеризован как важный резерв белковых веществ высокого качества [4].

Люпин имеет большой биологический и экономический потенциал, хорошо растет на разных по плодородию почвах, в том числе и на скудных. Завидная урожайность, культивирование растения в областях, где невозможно выращивать такую ценную культуру, как соя, привлекает к люпину все большее внимание ученых и практиков.

Люпин пищевых сортов – перспективное растительное сырье, обладающее уникальным биохимическим составом и набором биологически активных веществ с широким спектром лечебно-профилактических свойств. По данным ВНИИ люпина, уже сейчас это растение является мощной сырьевой базой для получения высококачественного белка и создания продуктов питания с диетическими и лечебно-профилактическими свойствами. Согласно принятым международным стандартам белок люпина, сои и казеина имеет одинаковую биологическую ценность. В состав зерна люпина входят белок (27,8–61,2 %), жир (3,7–21,5 %), безазотистые экстрактивные вещества (17,6–38,7 %), клетчатка (10,6–18,2 %), зола (2,9–4,2 %), водорастворимые витамины – тиамин, рибофлавин, биотин,

фолиевая кислота, аскорбиновая кислота. Сумма незаменимых аминокислот колеблется в среднем от 35 до 50 % белка, наибольшее их количество приходится на долю лейцина (5–10 %), лизина (в среднем 4,6 %), метионина+цистин (2–2,5 %). В составе липидов семян люпина преобладают ненасыщенные жирные кислоты – олеиновая, линолевая, линоленовая [6].

В мире проводится много исследований по разработке технологий получения и исследованию функциональных характеристик белковых продуктов из семян безалкалоидного белого люпина, который с древних времён использовался на пищевые цели.

Работы с другими видами люпина пока ограничены в основном кормовым и сидератным направлением использования.

В последние годы много внимания уделяется селекции и исследованию люпина узколистного. Однако для производства пищевых продуктов он применяется пока крайне редко. Это в значительной мере связано со сложившимися представлениями о высоком содержании алкалоидов в семенах этой культуры. К настоящему времени установлено, что содержание алкалоидов в семенах люпина узколистного превышает допустимые нормы только при выращивании в очень жарком климате. Поэтому алкалоидность не является препятствием для использования в качестве сырья для пищевой переработки семян люпина этого вида, выращенных на Северо-западе России. Он может рассматриваться в качестве перспективного источника пищевого белка и использоваться для производства муки, концентратов и изолятов белка люпина [2, 3].

Цель настоящей работы – разработка технологии получения концентрата белков люпина. В основе рабочей гипотезы лежит предположение о возможности использования гидролитических ферментов для достижения большей степени очистки белка от сопутствующих балластных веществ и, следовательно, получения белкового концентрата высокого качества.

В качестве исходного сырья использовалась цельносмолотая люпиновая мука, полученная из семян люпина узколистного сорта «Снежеть».

Влажность продуктов определяли весовым методом в соответствии с ГОСТ 13586.5–93 и [ГОСТ 29144-91](#); содержание сырого протеина по методу Кьельдаля на автоматическом анализаторе Kjeltac Auto фирмы Tecator (Швеция) в соответствии с ГОСТ 10846-93.

В типовом процессе получения растительных белковых концентратов кислотным способом соотношение воды и муки варьирует в диапазоне 10-20 : 1. Для доведения рН среды до изоэлектрической точки белков 4,5 используют соляную кислоту. Экстракцию небелковых соединений проводят при температуре 40 °С в течение 30-45 мин. Чтобы выделить твердую фракцию с содержанием сухих веществ 20 %, применяют декантеры или центрифуги. Иногда делают повторную промывку или центрифугирование. Полученный белковый продукт нейтрализуют и сушат распылением при температуре на входе и выходе сушилки соответственно 157 и 86 °С [5].

Разрабатываемая технология отличается от типовой тем, что стадия экстракции небелковых соединений при рН изоэлектрической точки белков

проводится одновременно с ферментативным гидролизом углеводов люпиновой муки для улучшения их экстрагируемости.

На основании существующих литературных данных с учетом особенностей сырья и его поведения в технологическом потоке принята операционная схема процесса производства концентрата белков люпина из люпиновой муки с использованием комплекса гидролитических ферментов (рис. 1).

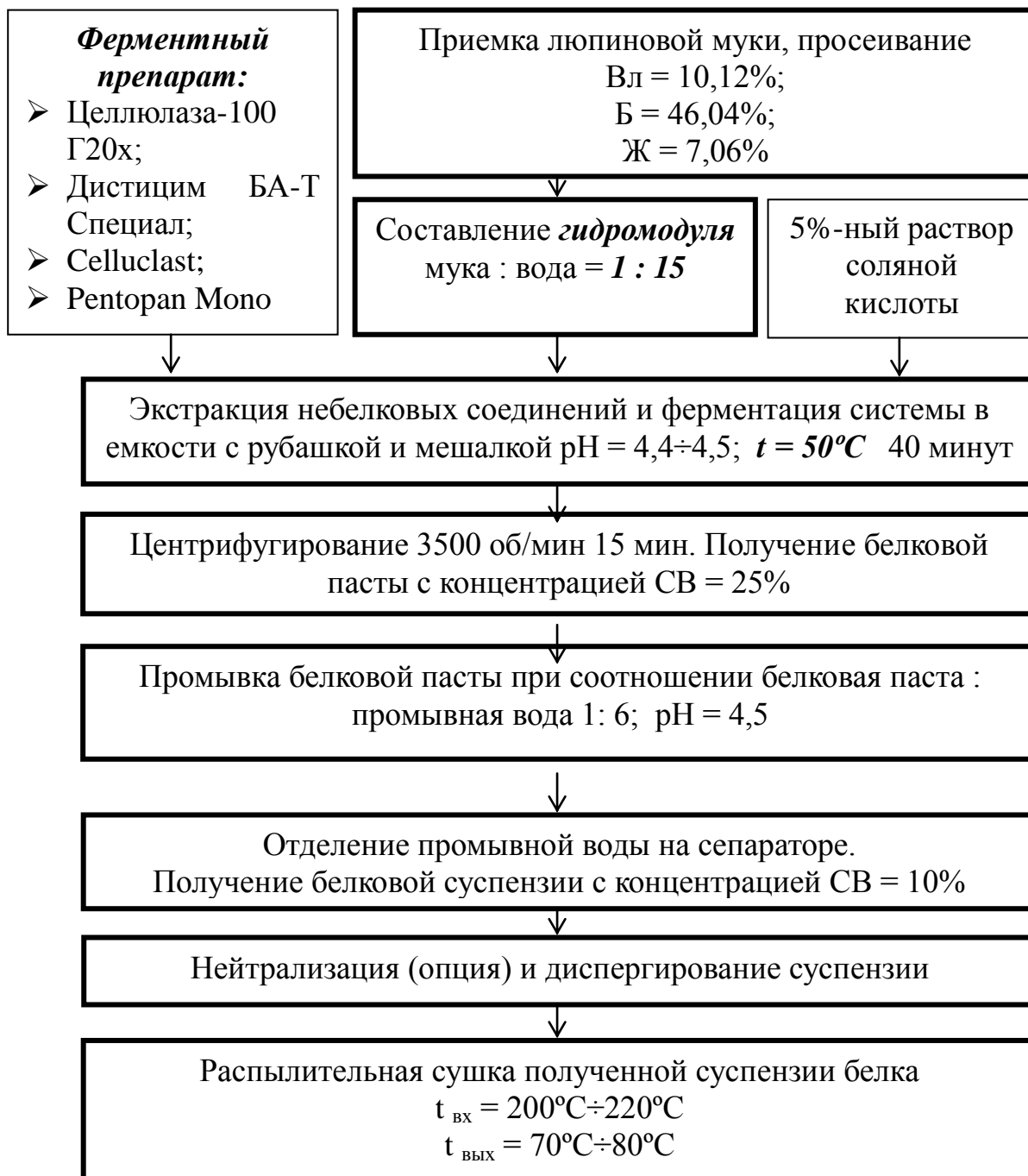


Рис.1 Операционная схема процесса получения концентрата белков люпина

При разработке технологии обосновывался выбор ферментного препарата, оптимальная температура процесса и величина гидромодуля.

Для проведения биоконверсии балластных биополимеров люпиновой муки, то есть перевода их в жидкую фазу (сыворотку), исследовали воздействие на субстрат препаратов амилаз, целлюлаз и ксиланаз.

Полисахаридный комплекс люпиновой муки составляют клетчатка (11-18%), гемицеллюлозы и пектиновые вещества (10,19%), крахмал (3,97%). Присутствие крахмала в составе углеводной фракции люпиновой муки обуславливает применение амилолитических ферментных препаратов.

Сравнительно высокое содержание полисахаридных субстратов для целлюлаз, пектиназ и гемицеллюлаз открывает перспективу для использования «полноценных» целлюлазных комплексов, содержащих эндоглюканазы.

Использование для гидролиза целлюлозосодержащего сырья смеси ферментных систем целлюлолитического и амилолитического действия обеспечивает повышение степени биоконверсии самой целлюлозы до 55-60 % при одновременном энзиматическом разложении других некрахмалистых полисахаридов. В частности, гемицеллюлозы гидролизуются на 80-90 % с образованием пентоз и некоторого количества глюкозы. Полисахарид  $\beta$ -глюкан также на 95-98 % трансформируется в глюкозу, что в целом обогащает гидролизаты (сыворотка) сбраживаемыми углеводами [1].

В ходе исследований были использованы следующие ферментные препараты:

- Целлюлаза-100 - комплексный цитолитический ферментный препарат, выделяемый из культуры грибов *Asp. foetidus* и *T. viride*;
- Дистицим БА-Т Специал является эндоферментом, гидролизующим 1,4- $\alpha$ -D-гликозидные связи в молекуле крахмала с образованием декстринов и олигосахаридов;
- Celluclast BG - ферментный препарат целлюлазы, выделяемый из культуры грибов *T. reesei*. Препарат предоставлен АО "Novozymes A/S" (Дания);
- Pentopan Mono BG - ферментный препарат ксиланазы (эндо-1,4-), выделяемый из культуры грибов *A. oryzae*. Препарат предоставлен АО "Novozymes A/S" (Дания).

Дозировка препаратов ферментов составляла для целлюлаз 1,08 ед/г, амилаз – 0,7ед/г, ксиланаз – 5 ед/г.

Критерием оценки результатов биоконверсии углеводной фракции люпиновой муки служит содержание сырого протеина в конечном продукте и степень повышения этого показателя по сравнению с исходным сырьем и контрольной пробой. В исходной люпиновой муке сорта «Снежеть» содержание сырого протеина составило 46,04 % на а.с.в.

В табл. 1 приведены физико-химические показатели продуктов, полученных при совместном проведении кислотной экстракции небелковых соединений и ферментативного гидролиза суспензии с помощью

гидролитических ферментов. Контрольную пробу получали при тех же режимах без использования ферментных препаратов.

Таблица 1

**Физико-химические показатели белковой пасты и сыворотки при использовании различных ферментных препаратов**

Наименование ферментного препарата	Содержание сырого протеина в белковой пасте, % на а.с.в.	Влажность белковой пасты, %	Содержание сухих веществ в сыворотке, %
Контрольная проба	52,68±1,01	78,54±0,21	1,65±0,06
Дистицим БА-Т Специал	51,90±1,30	76,53±1,06	1,42±0,33
Pentopan Mono BG	53,02±1,30	78,55±0,34	1,73±0,06
Celluclast BG	57,75±1,02	77,82±1,10	1,78±0,31
Целлюлаза-100 Г20х	59,40±0,80	79,60±1,20	0,96±0,41

Снижение содержания сырого протеина в получаемом продукте при воздействии препарата Дистицим БА-Т Специал может быть связано с наличием сопутствующей протеазной активности, приводящей к потере продуктов гидролиза белка в процессе экстракции небелковых соединений.

Максимальная концентрация белка в целевом продукте (59,40±0,80 %) была достигнута при воздействии на субстрат ферментного препарата Целлюлаза-100.

Для ферментного препарата Целлюлаза-100 установлены оптимальная температура экстракции, отвечающая максимальной активности применяемой мультиэнзимной композиции, и надлежащая величина гидромодуля. В результате проведения ряда последовательных опытов при температурах 40 °С, 50 °С и 60 °С и соотношении мука : вода 1:10; 1:15; 1:20 установлено, что оптимальными параметрами совмещенного процесса кислотного осаждения белка в изоэлектрической точке и ферментативного расщепления балластных веществ люпиновой муки являются температура 50 °С и гидромодуль 1 : 15.

Проведенные исследования позволили установить нормы расхода сырья на тонну сухого концентрата белка, которые составили 3356 кг для люпиновой муки, 50336 кг питьевой воды и 78 кг соляной кислоты.

В целях получения высококачественного белкового концентрата была исследована возможность совместного применения ферментных систем.

Биоконверсия структурных и запасных полисахаридов муки люпина проводилась в совместном присутствии ферментных препаратов Целлюлаза-100 и Дистицим БА-Т Специал; Celluclast BG и Pentopan Mono BG.

Принимая во внимание свойства данных ферментных систем и их поведение в процессе кислотной экстракции белков люпина, были предложены следующие параметры биоконверсии балластных веществ исходного сырья в жидкую фазу: температура 50 °С; pH 4,5; гидромодуль 1 : 15; соотношение ферментных препаратов стандартной активности принято

равным 1:1; продолжительность процесса 40 мин. Полученные результаты приведены в табл.2.

Использование совместных комбинаций ферментных препаратов не дало положительных результатов, так как использование Целлюлазы-100 и Celluclast BG индивидуально приводило к более высокой концентрации белка в целевом продукте (табл.1).

Таблица 2

**Физико-химические показатели белковой пасты и сыворотки при использовании комбинаций ферментных препаратов**

Комбинация ферментных препаратов	Содержание сырого протеина в белковой пасте, % на а.с.в.	Влажность белковой пасты, %	Содержание сухих веществ в сыворотке, %
Целлюлаза-100 и Дистицим БА-Т Специал	54,9±1,4	76,19±1,03	1,72±0,06
Celluclast BG и Pentopan Mono BG	56,04±1,10	80,56±0,44	1,78±0,33

Одним из традиционных способов удаления алкалоидов из люпинового сырья является промывка водой. Поэтому предложенная технология получения концентрата белка люпина перспективна для применения как на безалкалоидном, так и на алкалоидном сырье. Разрушение некрахмалистых полисахаридов в процессе гидролиза может ускорить процесс экстракции алкалоидов.

Данная технология также имеет хороший потенциал для получения белковых концентратов кормового назначения, т.к. высокое содержание некрахмалистых полисахаридов в люпиновой муке или дроблѐнке ограничивает использование этих продуктов в кормах для молодняка.

На основании проведенной серии экспериментов были сделаны следующие выводы:

1. Разработана технология получения белкового концентрата люпина с использованием процесса экстракции небелковых соединений из люпиновой муки в кислой среде, совмещенного с обработкой углеводов субстрата комплексом гидролитических ферментов.

2. Установлено, что при воздействии на субстрат (цельносмолотую люпиновую муку) ферментного препарата Целлюлаза-100 содержание сырого протеина в целевом продукте возрастает на 13,4 % по сравнению с исходной мукой и на 6,7 % по сравнению с контрольным продуктом.

3. Оптимальными параметрами процесса являются температура 50 °С и величина гидромодуля, равная 1:15, что позволяет получить максимальное содержание белка в целевом продукте.

4. На основании опытных данных определены примерные нормы расхода сырья при производстве концентрата белков люпина.

5. Установлено, что исследованные композиции ферментных препаратов при данных условиях ведения технологического процесса не проявляют синергетического эффекта. Необходимо исследовать продолжительность и стадийность процесса, количественное соотношение ферментных препаратов.

### **Список литературы**

1. Губрий Г.Г., Бачурин П.Я., Мазур Н.С., Устинников Б.А. Конверсия целлюлозосодержащего сырья препаратами целлюлаз в производстве этанола // Пищевая промышленность. – 1995, – №5, – С. 24-25.

2. Доморощенкова М.Л., Эгги Э.Э., Мехтиев В.С., Демьяненко Т.Ф. Люпин узколистный – перспективный источник пищевого белка //Хранение и переработка сельхозсырья. – 2009, – №10, – С. 53-56.

3. Красильников В.Н., Мехтиев В.С., Доморощенкова М.Л., Демьяненко Т.Ф., Гаврилюк И.П., Кузнецова Л.И. Перспективы использования белков из семян люпина узколистного отечественной селекции в безглютеновых мучных кондитерских изделиях //Пищевая промышленность. – 2010, – №2, – С. 40-43.

4. Саломатин А.Д., Теречик Л.Ф. Применение белка люпина в производстве пищевых продуктов // Пищевая промышленность. – 1999, – №7, – С. 38-39.

5. Эрикссон Д.Р. Практическое руководство по переработке и использованию сои // Пер. в англ. яз. под ред. М. Л. Доморощенковой. – М.: Макцентр. – 2002. – 672с.;

6. Юрченко Н.А. Мягкие сыры с люпиновым концентратом // Сыроделие и маслоделие. – 2009, – №2, – С.17.