



Обзорная статья
4.3.3 – Пищевые системы (технические науки)
УДК664.87

doi: 10.25712/ASTU.2072-8921.2024.02.004

 EDN: GJWIVA

ОБЗОР ТЕХНОЛОГИЙ ВЫДЕЛЕНИЯ БЕЛКА ИЗ НУТА

Юлия Вячеславовна Апянцева ¹, Ирина Игоревна Борисова ²,
Денис Александрович Бараненко ³

^{1, 2, 3} Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Национальный исследовательский университет ИТМО», Санкт-Петербург, Россия

¹ y.apyantseva@gmail.com, <https://orcid.org/0009-0004-6190-3438>

² irinaborisova303@mail.com, <https://orcid.org/0000-0001-6091-0143>

³ denis.baranenko@itmo.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9284-4379>

Аннотация. В мире около 80 % пищевой продукции приходится на производство из растительного сырья. Предварительные исследования состояния вопроса по производству и применению белков растительного происхождения в России позволяют выделить как наиболее перспективную зернобобовую культуру нут. Отсутствие генных модификаций является дополнительным преимуществом данной культуры.

Содержание белка в семенах нута варьируется от 20,1 до 32,4 г/100 г и представлено в основном глобулинами (60–90 %) и альбуминами (10–20 %). Благодаря высокому содержанию белка нут может заменить мясо, снизив при этом жирность готового продукта. В связи с этим нут активно используют в приготовлении вегетарианских блюд.

Главным преимуществом нута по сравнению с наиболее часто используемой зернобобовой культурой – соей – является более низкое содержание антиалиментраных факторов (ингибиторов протеаз и лектинов).

При оценке эффективности способов получения белка из нута сравнивали кислотный, солевой, щелочной гидролиз, ферментативную обработку, а также применение электрофлотации и электрокоагуляции. Вышеперечисленные технологии обладают высокой эффективностью выделения белка от 70 до 95 %.

Анализ отечественных и зарубежных литературных источников позволяет сделать вывод о том, что наиболее перспективной для дальнейшего совершенствования технологией выделения белка нута является ферментативный гидролиз. Ввиду специфики растительного сырья из различных сортов и регионов необходимо проведение дополнительных исследований, в том числе с использованием отечественных ферментных препаратов, с целью уточнения технологических параметров получения, массовой доли, аминокислотного состава и функционально-технологических свойств полученных белков нута.

Ключевые слова: зернобобовые культуры, технологии выделения белка, растительный белок, гидролиз, нут.

Для цитирования: Апянцева Ю. В., Борисова И. И., Бараненко Д. А. Обзор технологий выделения белка из нута // Ползуновский вестник. 2024. № 2, С. 27–36. doi: 10.25712/ASTU.2072-8921.2024.02.004. EDN: <https://elibrary.ru/GJWIVA>.

Original article

REVIEW OF CHICKPEA ISOLATION TECHNOLOGIES

Yulia V. Apyantseva¹, Irina I. Borisova², Denis A. Baranenko³

^{1, 2, 3} ITMO University, St. Petersburg, Russia

¹ y.apyantseva@gmail.com, <https://orcid.org/0009-0004-6190-3438>

² irinaborisova303@mail.com, <https://orcid.org/0000-0001-6091-0143>

³ denis.baranenko@itmo.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9284-4379>

Abstract. *In the world, about 80% of food products are made from plant raw materials. Preliminary topic studies on the production and use of proteins of plant origin in Russia make it possible to suggest chickpeas as the most promising leguminous crop. The absence of genetic modifications is an additional advantage of it.*

The protein content in chickpea seeds varies from 20,1 to 32,4 g/100 g and is represented mainly by globulins (60-90%) and albumins (10-20%). Due to its high protein content, chickpeas can replace meat, while reducing the fat content of the finished product. In this regard, chickpeas are actively used in the preparation of vegetarian dishes.

The main advantage of chickpeas compared to the most commonly used Fabales crop, soybean, is the lower content of anti-nutritive factors (protease inhibitors and lectins).

When assessing the effectiveness of methods for obtaining protein from chickpeas, acid, salt, alkaline hydrolysis, enzymatic treatment, as well as the use of electro-floatation and electrocoagulation were compared. The above technologies have a high protein isolation efficiency of 70 to 95%.

Analysis of domestic and foreign studies allows us to conclude that the most promising technology for isolating chickpea protein and further improvement is enzymatic hydrolysis. Due to the specifics of plant raw materials from different varieties and regions, it is necessary to conduct additional research, including using domestic enzyme preparations, in order to clarify the technological parameters of production, mass fraction, amino acid composition and functional and technological properties of the obtained chickpea proteins.

Keywords: *legumes, protein isolation technologies, vegetable protein, hydrolysis, chickpeas.*

For citation: Apyantseva, Y.V., Borisova, I.I., Baranenko, D.A. (2024). Review of chickpea isolation technologies. *Polzunovskiy vestnik*, (2), 19-36. (In Russ.). doi: 10/25712/ASTU.2072-8921.2024.02.004. EDN: <https://elibrary.ru/GJWIVA>.

ВВЕДЕНИЕ

Развитие современного продовольственного рынка сопровождается непрерывным расширением спектра промышленной переработки протеинового сырья и поиском новых, потенциально пригодных для этого возобновляемых сырьевых ресурсов.

На международном уровне на производство продуктов из растительного сырья приходится около 80 %. За последние десятилетия большую популярность приобрел растительный белок, выделяемый из зернобобовых культур.

Растительный белок важен для организма человека, в отсутствие алиментарных факторов он легко и быстро усваивается и содержит в своем составе практически все заменимые и незаменимые аминокислоты. Преимуществом растительного белка является возможность его употребления людьми,

ограниченными в получении протеинов животного происхождения.

Одной из высокобелковых зернобобовых культур является нут, уступающий по содержанию протеинов сое (массовая доля белка нута на 100 г составляет 20 г, сои – 36 г). Преимущества нута как зернобобового растения описаны еще несколько десятков лет назад. Несмотря на ряд схожих для зернобобовых культур недостатков в виде наличия ингибиторов протеаз, нут обладает наименьшим содержанием веществ, тормозящих выработку протеолитических ферментов. Нут выгодно отличается от сои практически полным отсутствием потребительского негативного отношения, кроме того, он привычен потребителям, знакомым с восточной кухней и хумусом.

Оценивая имеющиеся преимущества нута, можно сделать вывод о перспективности применения данного растительного сырья.

Однако на данный момент требуется обобщение, расширение и систематизация имеющихся сведений по высококачественной переработке нута с целью получения максимального выхода белка и сохранения его биологической ценности и функционально-технологических свойств. На сегодняшний день существует несколько технологий выделения протеинов из зернобобовых культур, основанных на различии физико-химических свойств протеинов растительного сырья.

В данной обзорной статье изучены технологии выделения белка из зернобобовых культур, в том числе нута, сделаны выводы о наиболее эффективных методах получения растительных протеинов.

МЕТОДЫ

Поиск информации по выбранной теме исследования проводили при помощи изучения отечественных и зарубежных литературных источников через поисковую систему научных публикаций «Google Scholar» и единые библиографические реферативные базы данных рецензируемой научной литературы «Scopus», «Web of Science» и «Elsevier». Также был использован поиск информации по ключевым словам в научной электронной библиотеке «Elibrary.ru». При изучении литературных источников приоритет отдавали журналам с высоким квартилем. Для поиска информации по выбранной теме первично рассматривали научные публикации за последние пять лет (2018–2023 гг.). Более ранние научные работы изучали с целью понимания фундаментальных исследований и в случае отсутствия новых экспериментов по определенным моментам выбранной темы.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

1. Белки и белковые компоненты зернобобовых культур

Состав белков зернобобовых культур характеризуется неоднородностью, многообразием групп и наличием комплексов с соединениями небелковой природы. Белки отличаются неодинаковой растворимостью, молекулярной массой, величиной суммарного заряда молекулы и относительной стабильностью. Исходя из вышеперечисленных свойств эффективность выделения белков существенно зависит от способа и происхождения применяемого экстрагента.

В зависимости от растворимости белка выделяют в 4 основные группы: альбумины и

легкие глобулины, глобулины, проламины и глютелины. Альбумины и легкие глобулины хорошо растворимы в воде при pH 4–9 и слабых солевых растворах, глобулины – в солевых растворах, проламины – в высокопроцентном спирте (50–90 %), глютелины – в слабых растворах щелочей и кислот. Также для каждой группы белка характерны свои особенности осаждения протеинов, что важно учитывать в технологическом процессе [24].

Из растительного сырья выделяют следующие виды белковых компонентов:

- муку с содержанием белка до 50 %;
- концентраты с содержанием белка до 65 %;
- изоляты с содержанием белка до 99 %.

Также выделяют белковые текстураты, получаемые из муки, концентратов и изолятов. Особенность текстуратов в их структуре: белок представлен в виде фрагментов параллельных волокон, по типу мышечных либо в виде многослойной пористой структуры.

Концентраты и изоляты растительных белков с обезличенным вкусом и запахом являются экономически более целесообразными формами белковых продуктов, что позволяет использовать их в больших дозировках. Также изолят за счет высокого содержания белка считается наиболее очищенным продуктом без углеводов и минеральных веществ. Благодаря вышеперечисленным качественным характеристикам изолят можно отнести к перспективной форме белоксодержащего компонента для производства пищевых продуктов [24].

Что касается выбранного для изучения сырья – нута, авторы отмечают, что в составе данной зернобобовой культуры в среднем на сухое вещество содержит 24 % белка, 3,5 % зольных элементов, 6 % жира, 51 % крахмала, 4 % клетчатки [9, 14, 24].

2. Технологии выделения белка из зернобобовых культур

2.1 Подготовка сырья

Для наиболее эффективного выделения белка из зернобобовых культур используют различные способы подготовки растительного сырья. Например, при наличии белка в межклеточной жидкости чаще всего достаточно механического воздействия в виде отжима тканевого сока. Однако стоит отметить, что наиболее эффективное выделение белка возможно при равномерном и тщательном измельчении сырья с целью разрушения клеточных мембран (например, гомогенизации).

В случае термостабильности растительной структуры необходимо полное разруше-

ние клеток растений. Для этого проводят процесс замораживания и оттаивания ткани, в результате чего образующиеся кристаллы льда разрушают оболочки клеток, что приводит к увеличению доступности белка [7, 18].

Одним из способов выделения белка из растительного сырья также является ультразвуковая обработка. При использовании данного метода следует учитывать, что при изменении мощности источника воздействия и частоты ультразвуковых колебаний возможно не только выделение белка, но и его разрушение. Поэтому при использовании ультразвуковой обработки важно правильно подобрать режимы эксплуатации оборудования.

Для относительно устойчивых белков возможно применение химических веществ, например ацетона и раствора глицерина. Однако применения непивцевых экстрагентов желательнее максимально избегать из-за необходимости тщательного контроля соблюдения параметров пищевой безопасности. Предварительная лиофилизация сырья позволяет интенсифицировать извлечение белка [12].

Для выделения белка из нута авторы предлагают использовать следующие методы его предварительной обработки: замачивание, шелушение, варку, обжаривание, проращивание, пропаривание, обезжиривание.

Замачивание в горячей или холодной воде позволяет размягчить внешние слои семян нута, тем самым облегчая мокрое шелушение. Сухое шелушение семян обычно производят путем воздушной сепарации шелухи расколотых семян. Как замачивание, так и шелушение приводят к улучшению извлечения белка и способствуют снижению количества антипитательных веществ (ингибиторов протеолитических ферментов, фитиновой кислоты, дубильных веществ) [3].

В отличие от других зернобобовых культур (например, гороха, чечевицы и фасоли с массовой долей жира до 3 %) в своем составе нут содержит около 4–7 % жира, что затрудняет процесс выделения белков. Для решения данной проблемы авторы предлагают использовать обезжиривание сырья при помощи гексана по Фолчу, Лису и Стенли, что упрощает процесс получения и протеинов и увеличивает их чистоту. Перед обезжириванием сырье подвергают гомогенизации в хлороформе / метаноле. Также обезжиривание возможно при помощи применения мощной ультразвуковой обработки. Данный способ имеет преимущество в виде отсутствия изменений пептидного профиля растительного сырья [5]. Обращает на себя внимание необходимость внедрения «зелёных» и безопасных для потреби-

теля способов обезжиривания без использования органических растворителей.

Для проращивания рекомендуется очищенные семена нута замочить в солевом растворе (при 25 °С в течение 12 ч) и затем проращивать при 30 °С в течение 48 ч. Далее нут сушат и измельчают, после чего подвергают дальнейшей обработке для выделения белка. Считается, что проращивание семян нута усиливает питательные, функциональные и антиоксидантные свойства белков [3]. Авторы исследования считают, что проращивание семян нута повышает растворимость протеинов за счет эндогенной ферментативной активности во время проращивания с молекулами белка на поверхности, что, в свою очередь, усиливает эмульгирующую способность. По сравнению с нативными белками протеины, выделенные из пророщенных семян нута, обладают более высокой водоудерживающей и жирудерживающей способностью [1, 17].

При выборе метода предварительной обработки нута следует учитывать вероятность изменения структуры белков, влияющей на конечные свойства протеинов (пищевые, физические, функциональные). Функциональность белка является важным аспектом при оценке потенциального применения выделенного протеина, поэтому важно понимать изменения в структурных и функциональных свойствах белков нута при выборе способа обработки сырья [1].

2.2 Способы выделения белка

В промышленных технологиях получения белка из растительного сырья количество комбинаций применяемых способов очень велико, поэтому даже при производстве одного вида продукта различные технологии и оборудование у разных производителей приводят к неидентичности их состава [29].

Технология производства белковых продуктов из бобовых культур требует соблюдения санитарно-гигиенических норм, в том числе гигиенических требований по снижению активности антинутриентов в готовом продукте [6].

На выход массовой доли белка в ходе процесса выделения протеинов влияет множество факторов: ионная сила растворов, температура и pH среды, размер и форма молекул, их молекулярная масса, суммарный заряд молекулы, отношение растворителя к массе белков и/или к массе сырья, растворимость белков, устойчивость молекул протеинов к денатурирующим агентам.

Процессы производства белковых продуктов (муки, изолята, концентрата) могут

быть классифицированы на «сухие» и «жидкостные» [10, 24].

«Сухие» процессы включают помолы и воздушную сепарацию, предназначенную для разделения частиц зерен зернобобовых культур по размеру и плотности на две фракции: легкую – белковую, тяжелую – крахмальную. После фракционирования муки методом воздушной сепарации тяжелую (крахмальную) фракцию повторно сепарируют и получают вторую белковую и более «очищенную» крахмальную фракцию. Эффективность отделения белка от крахмала определяется его процентным содержанием в обеих фракциях от общего содержания белка в муке. Сухие методы имеют преимущество по сравнению с жидкостными методами экстракции. При них сохраняется естественная функциональность белков, на получение требуется меньшее количество энергии и не используется вода. Сухие процессы производства белковой муки или концентратов отличаются относительно низким выходом белков (40–75 %) [4, 23, 24].

«Жидкостные» методы обеспечивают получение белковых концентратов с массовой долей протеинов до 65 % и изолятов до 99 % и подразделяются на кислотные, щелочные, солевые, фильтрационные и ферментативные.

Классическая схема выделения белкового изолята включает следующие этапы: экстрагирование белков, последующее добавление кислоты для осаждения белка в изoeлектрической точке, центрифугирование, промывание и высушивание [25].

На данный момент кислотный метод предусматривает использование соляной или серной кислоты, но для получения гидролизованных белков как усилителей вкуса. При кислотном гидролизе часть незаменимых аминокислот (триптофан, метионин, цистин и цистеин) разрушается, а глутамин и аспарагин могут превращаться в глутаминовую и аспарагиновую кислоты соответственно. Реакция гидролиза может быть ускорена повышением не только температуры, но и концентрации кислот. Минимальная концентрация кислоты, при которой начинается растворение полисахаридов, зависит от их структуры. При действии сильных концентрированных минеральных кислот на целлюлозу и гемицеллюлозу наблюдается их сильное набухание, после чего начинается их постепенное растворение [2, 24].

Для выделения из осажденного белка отдельных фракций применяют методику

Осборна, благодаря которой возможно последовательное извлечение альбуминовой, глобулиновой и глютелиновой фракций белка за счет варьирования ионной силы раствора, природы экстрагента и величины pH.

Из-за особенностей состава растительного сырья параметры процесса экстракции подбираются с учетом используемого вида зернобобовых культур.

Согласно информации авторов, фракционный состав нута представлен альбуминами (12 %), глобулинами (80 %) и глутелинами (8 %) [18, 21, 25].

Чаще всего для выделения водорастворимой фракции (альбуминов) в качестве экстрагента используют воду, для солерастворимой (глобулинов) раствор NaCl, щелочерастворимой (глутелинов) раствор NaOH. С целью выделения всех белковых фракций применяют комбинацию растворов хлорида натрия и гидроксида натрия. В качестве сырья чаще всего используется обезжиренная мука. Характеристика белковых фракций, выделенных из растительного сырья, представлена в таблице 1 [19, 20, 24].

Наиболее высокий выход белка авторы отметили при выделении всех фракций белка 80–92 %, а также фракции альбуминов + глобулинов – 73–80 %, полученных солевым способом экстракции [15, 24].

Для выделения белка из зернобобовой культуры авторы обезжиренную муку из нута суспендировали в деионизированной воде с использованием 0,1 N NaOH и 0,1 N HCl. Суспензию при заданных значениях pH перемешивали в течение 1 ч для определения оптимальной растворимости. Далее проводили центрифугирование, собирали супернатант и подкисляли среду для осаждения белка и определения его изoeлектрической точки. Осадок центрифугировали, осажденные белковые фракции собирали, нейтрализовали и сушили вымораживанием [5, 8].

В процессе щелочного гидролиза белковые продукты размола зерна обрабатывают растворами гидроксидов металлов с pH 9–11. Затем сепарацией отделяют нерастворимые вещества, осаждают белки в изoeлектрической точке при pH 4,2 и центрифугируют. При щелочной экстракции некоторые ученые предварительно солюбилизируют белки нагреванием с последующим добавлением щелочных агентов (Ca(OH)₂, Na, K) и поддержанием температуры до желаемого значения (27–55 °C).

Таблица 1 – Рекомендуемые технологические параметры для извлечения фракций белков гороха и нута [24]

Table 1 - Recommended technological parameters for extracting pea and chickpea protein fractions [24]

Показатели	Фракции белка				
	альбумины	глобулины	альбумины + глобулины	глютелины	все фракции
Экстрагент	H ₂ O	0,5M NaCl		0,2M NaOH	0,5M NaCl + 0,2M NaOH
Гидромодуль	1:10			1:8	1:10
pH	5,0–7,0			9,0–11,0	
Продолжительность экстракции, мин	30	60			
Температура, °C	35–40	50–55		45–50	40–50

Экстракцию или гидролиз продолжают в течение нескольких часов до заданной степени, продукт выпаривают, пастеризуют и сушат распылением. Достаточно часто в пищевой промышленности используются концентраты, полученные щелочной экстракцией, с содержанием белка более 70 %. При щелочной экстракции или гидролизе некоторые аминокислоты (серин, треонин) могут разрушаться из-за рацемизации аминокислот, приводящей к снижению усвояемости белка [22, 24, 28].

Известен метод выделения белка из зернобобовых культур, описанный Стоуном. Белок выделяли из измельченного сырья, которое подвергалось обезжириванию смешиванием с гексаном (1:3 вес/объем) в течение 1 ч. Затем гексану дают испариться в течение ночи. Обезжиренную муку диспергируют в дистиллированной воде и доводят до pH 9,5 при помощи 0,1 NNaOH. Далее проводят диспергирование в течение 1 ч и затем центрифугируют смесь при 4500 g в течение 20 мин при 4 °C. После центрифугирования pH доводят до 4,5 с помощью 1 NHCl для осаждения белков. Белки восстанавливают центрифугированием при 4500 g в течение 20 мин при 4 °C и супернатант удаляют. Осадок промывают дважды с использованием дистиллированной воды (1:10 мас./об.) с последующим центрифугированием при 4500g в течение 10 мин. Затем промытый осадок лиофилизируют в виде белковых изолята. Выход белка составляет около 80 % [8, 11].

К приемам совершенствования технологий выделения белка относится солевая экстракция, при которой глобулины отделяют от альбуминов в виде осадка. Обычно в процедуре экстракции белки изначально растворяют в водном растворе NaCl при нейтральном pH, потом осаждают. Процесс осаждения белка проводят либо разбавлением водой

для понижения ионной силы, либо удалением соли диализом. При этом белковые продукты, полученные из растительного сырья с помощью щелочной экстракции, могут иметь более высокую массовую долю белка (около 86 %) по сравнению с теми, которые получены солевой экстракцией (около 81 %) [24, 29].

Высаливание является классическим методом выделения белков. Чаще всего для разделения белков методом высаливания используют разные концентрации солей сульфата аммония – (NH₄)₂SO₄. Чем выше растворимость белка, тем большая концентрация соли необходима для его высаливания [13, 15, 22].

Фильтрация на мембранах с давлением в качестве движущей силы разделения является методом выделения белков, представляющим собой их фракционирование. Фильтрацию подразделяют на микро- и ультрафильтрацию. Для повышения количества извлеченного белка часто используют оба метода после щелочной или кислотной экстракции. Выделенные белковые препараты отличаются высокими функциональными свойствами и меньшим количеством антипитательных веществ, по сравнению с теми, которые выделены осаждением в изоэлектрической точке [24].

Одним из современных процессов получения белков является ферментация. Использование бактериальных или грибных протеаз имеет большое значение, поскольку они, иницируя незначительный частичный распад белков, облегчают отделение полипептидов с разной молекулярной массой от остальных компонентов, таких как клетчатка и гемицеллюлозы. Также ферментация способствует уменьшению содержания антипитательных веществ в белковых продуктах и улучшению поглощения минералов путем образования органических кислот, которые

образуют с ними растворимые комплексы, делая минералы недоступными для взаимодействия с фитатами. При этом условия гидролиза мягкие, а ферменты более специфичные. Преимущество ферментативного гидролиза также является использование специфичных ферментов, благодаря которым возможно прицельное воздействие на те или иные компоненты системы. Благодаря ферментной обработке растительного сырья процесс выделения протеинов происходит быстро, мягко и с высоким сохранением функциональности [26, 27, 28].

Было доказано, что твердофазная ферментация белков нута оказалась эффективной для снижения антипитательных факторов (альфа-галактозидов и фитиновой кислоты) до 88,3–99,1 % и увеличения водоудерживающей способности при уменьшении пенообразования [5].

Главным недостатком известных способов извлечения белковых изолятов (за исключением турбосепарации) является необходимость применения агрессивных веществ, для элиминации которых требуется многократная промывка водой. Это создает экологические проблемы и значительно удорожает получаемый изолят [22, 27].

Альтернативой вышеперечисленным способам выделения белка является технология получения протеинов зернобобовой культуры при помощи применения молочной сыворотки. Авторы выбрали данный компонент ввиду схожести состава молочной сыворотки с аминокислотным составом белков мышечной ткани человека. Дополнительно выделено преимущество сыворотки в виде низкого значения pH, что позволило авторам провести процесс гидролиза, не используя кислоты или щелочи. Однако из описания исследования можно сделать вывод, что данная технология применима при отсутствии необходимости выделения белка зернобобовых в чистом виде, так как в технологическом процессе присутствуют протеины молочной сыворотки. Авторы отмечают, что данный метод гидролиза является процессом с щадящими режимами обработки, позволяющий максимально сохранить белковую структуру. Также при таком методе выделения белка сокращается время проведения гидролиза и удешевляется технологический процесс [21, 23].

Для выделения белков широко используется метод молекулярных сит, которые представляют собой нанопористые материалы с очень мелкими порами (размером 0,2–2 нм). Разница между этими «ситами» в том, что крупные частицы не остаются на поверхности материала сита, а обтекают его

гранулы, в то время как мелкие частицы примесей диффундируют через нанопоры глубоко в сита и тем самым задерживаются.

Также был предложен метод выделения белка из нута при помощи применения метода электрофлотации и электрокоагуляции. Суть процесса получения протеинов заключается в том, что на их поверхности происходит адгезия газовых пузырьков водорода с адсорбированным слоем ионов за счет электролитической генерации. В результате данного процесса комплекс «пузырек газа–ионизированная белковая частица» оказывается на поверхности раствора. Впоследствии данный комплекс коагулируют. Совмещение процессов электрофлотации и электрокоагуляции позволяет получать высокий выход белка. Исследование авторов показало, что электрофлотокоагуляционный метод извлечения нутевого белка более эффективен по сравнению с химическим способом [22, 27].

Неоспоримым преимуществом электрофлотации и электрокоагуляции является возможность благодаря полиэлектролитным свойствам белков на стадии их выделения из раствора осуществлять безреагентную регулировку pH среды путем регулирования плотности тока. Большим преимуществом методов электрофлотации и электрокоагуляции также является низкая концентрация фонового электролита, вводимого в раствор для обеспечения требуемой электропроводности.

Для обеспечения хорошей электропроводности растворов авторы использовали КОН. В качестве электродных материалов представлены платина, стекловидный углерод и графитовая фольга. В качестве вспомогательного электрода использовался электрод, изготовленный из фольги со сжатым графитом, покрытой полипропиленовой тканью [18]. Опытным путем была подобрана концентрация раствора белка нута (15 мг/мл), при которой процесс электрофлотационной коагуляции протекал интенсивно и стабильно, обеспечивался наибольший массовый выход белков из раствора и высокая степень их извлечения.

Авторами было обнаружено, что максимальная эффективность извлечения белка для растворов белка нута достигается при плотности тока $\sim 105 \text{ A/m}^2$ в течение 30 мин [18, 20, 25].

Во многих методах очистки используется снижение растворимости белков при pH, близком к значению изоэлектрической точки. Ряд белков в кристаллическом состоянии получают путем повышения концентрации солей в белковых растворах, приведенных к

изоэлектрической точке. Часто для фракционирования и очистки белков используются органические растворители. Так как они способны денатурировать многие белки, то их применяют при низких температурах и со строго ограниченной продолжительностью действия.

Для выделения и очистки белков применяется целый ряд методов, основанных на различиях в весе и размерах молекул белков. Наиболее распространенным из таких методов является ультрацентрифугирование. Для разделения белков часто используют хроматографические методы, основанные на распределении веществ между двумя фазами, одна из которых подвижная, а другая неподвижная. В основу хроматографических методов положены разные принципы: гель-фильтрации, ионного обмена, адсорбции, биологического сродства.

Довольно широкое применение получили методы очистки, основанные на сродстве белков к определенным адсорбентам. Основным из таких методов является адсорбционная хроматография. Метод основан на разделении белков, различающихся суммарным зарядом при определенных значениях pH и ионной силы раствора. При пропускании раствора белков через хроматографическую колонку, заполненную твердым пористым заряженным материалом, часть белков задерживается на нем в результате электростатических взаимодействий [24, 29]. Стоит отметить, что эти методы усложняют и удорожают процесс производства и в настоящее время пока не вполне подходят для получения массовой пищевой продукции.

Чтобы повысить питательные и функциональные свойства, изолят белка нута можно подвергнуть нескольким физическим, и биохимическим обработкам. Например, применение алкалазы приводило к улучшению растворимости белка, особенно при pH, близком к изоэлектрической точке. Небольшая степень гидролиза (4 %) увеличивала эмульгирующую способность и стабильность белкового изолята [1].

Ряд авторов занимаются математическим моделированием и оптимизацией процессов извлечения белка [8, 19, 20]. Был изучен потенциал трех добавок, включая дитиотрейтол (DTT), додецилсульфат натрия (SDS) и Твин 20. Добавление этих веществ привело к повышению эффективности экстракции [20].

Обработка ультразвуком позволила увеличить растворимость, пенообразующую и водоудерживающую способности, показатель

эмульгирования и разрывную силу геля белкового изолята нута, индуцированную нагреванием [1, 16, 17].

ВЫВОДЫ

Существует большое количество способов выделения белка из зернобобовых культур. После изучения отечественных и зарубежных источников научной литературы можно сделать вывод о том, что исследование классических методов получения протеинов, их совершенствование, а также разработка новых способов выделения белка по-прежнему являются актуальными. В том числе, необходим поиск решений по отказу от органических растворителей и повышению эффективности процессов.

При выборе используемого способа следует учитывать видовые особенности растительного сырья и факторы, влияющие на выделение из него белка (значение pH среды, ионную силу раствора, температуру, продолжительность извлечения, состав экстрагента и т.д.). Важно учитывать характерные особенности белка выбранного сырья, например, состав белковых фракций, от которых зависит подбор экстрагентов, термостабильность и устойчивость протеинов в кислых и щелочных растворах.

Важным технологическим этапом перед процессом выделения белка является пробоподготовка растительного сырья, которая также зависит от вида зернобобовых культур. Для более высокого выхода белков нута сырье необходимо обезжирить.

Некоторые классические способы достаточно эффективны при получении белка нута, но они неоднозначны с точки зрения экологической и пищевой безопасности. Более современные способы, находящиеся в разработке и пока не так широко внедренные, также показывают высокий выход белка. В сводной таблице 2 размещены краткие результаты изучения эффективности выделения белка при помощи различных технологий.

Необходимо проведение дальнейших экспериментальных исследований по сравнению эффективности классических способов выделения белка из нута и более современных вариантов, а именно кислотного, щелочного, ферментативного гидролиза и электрофлотации и электрокоагуляции. Кроме того, необходима всесторонняя оценка параметров качества и безопасности, а также анализ физико-химических показателей получаемой продукции.

Таблица 2 – Сравнение эффективности методов выделения белка из нута [18, 23, 25].

Table 2 - Comparison of the effectiveness of methods for isolating protein from chickpeas [18, 23, 25]

Способ	Средняя массовая доля белка, %
Кислотный гидролиз	80
Щелочной гидролиз	70
Солевой гидролиз	80
Ферментативный гидролиз	94
Электрофлотационный и электрокоагуляционный	85

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Anusha R. [et al.]. Process optimization of chickpea (*Cicer Arietinum L.*) seed protein isolates for functional foods // *Research Journal of Biotechnology* Vol. 2021. Т. 16. С. 2.

2. Biotechnological process for producing protein products from chickpeas with a high biological value / D. Kulikov [et al.] // *International Multidisciplinary Scientific Geo Conference Surveying Geology and Mining Ecology Management*. 2020. Vol. 2020. № 6.1. P. 175–181. <https://doi.org/10.5593/sgem2020/6.1/s25.023>.

3. Boukid F. Chickpea (*Cicer arietinum L.*) protein as a prospective plant based ingredient: a review // *International Journal of Food Science & Technology*. 2021. Т. 56. № 11. С. 5435–5444. <https://doi.org/10.1111/ijfs.15046>.

4. Composition on the basis of plantbased proteins with the use of transglutaminase / V. Kolpakova [et al.] // 18 *International Multidisciplinary Scientific Geo Conference SGEM: Conference proceedings*. Albena, 2018. P. 119–125. <https://doi.org/10.5593/sgem2018/6.2/S25.016>.

5. El-Sohaimy Sobhy & Brennan Marageta & Darwish Amira & Brennan Charles. (2021). Chickpea Protein Isolation, Characterization and Application in Muffin Enrichment. *International Journal of Food Studies*. 57-71. <https://doi.org/10.7455/ijfs/10.SI.2021.a5>.

6. Ezeagu I.E., Gowda L.R. Protein extractability, fractionation and amino acid composition of some leguminous seeds found in Nigeria // *Journal of food biochemistry*. 2006. Т. 30. №. 1. С. 1-11. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4514.2005.00024.x>.

7. Karaca A.C. Modification of legume proteins for improved functionality // *Grain and seed proteins functionality* / J.C. Jimenez-Lopez editor. Intech Open, 2021. <https://doi.org/10.5772/intechopen.96274>.

8. McHardy C., Kammegne T.D., Jänich I. Energy-efficient ultrasound-assisted extraction of food proteins from the microalga *C. vulgaris* at elevated static pressure // *Innovative Food Science & Emerging Technologies*. 2021. Т. 73. С. 102797. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2021.102797>.

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

10. Nikhil Patil. Chickpea protein: A comprehensive review on nutritional properties, processing, functionality, applications, and sustainable impact. *The Pharma Innovation Journal* 2023; 12(7): 3424-3434.

11. Pasupuleti V.K., Braun S. State of the art

manufacturing of protein hydrolysates // *Protein hydrolysates in biotechnology* / V.K. Pasupuleti, A.L. Demain editors. Dordrecht: Springer, 2010. P. 11–32. https://doi.org/10.1007/978-1-4020-6674-0_2.

12. Patharkar S.R. Process isolation of protein isolate from chick pea (*Cicer arietinum*) with the solubility and color characteristics *International Journal of Chemical Studies* 2019; 7(1): 1113-1118.

13. Paviyuk R., Pogarska V., Kotuyk T., Balabai K. Development of nanotechnology for processing chickpeas into protein plant supplements and their use to obtain a new generation of confectionery. *Technology and equipment of food production*. 2020. № 6/11 (108). P. 27–36. <https://doi.org/10.15587/1729-4061.2020.217928>.

14. Roy F., Boye J.I., Simpson B.K. Bioactive proteins and peptides in pulse crops: Pea, chickpea and lentil // *Food Research International*. 2010. Vol. 43. № 2. P. 432–442. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2009.09.002>.

15. Serventi L., Vittadini E., Vodovotz Y. Effect of chickpea protein concentrate on the loaf quality of composite soywheat bread // *LWT – Food Science and Technology*. 2018. Vol. 89. P. 400–402. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.11.012>.

16. Singh A., Chahal H.S. Organic grain legumes in India: potential production strategies, perspective, and relevance // *Legume crops – prospects, production and uses* / M. Hasanuzzaman editor. Intech Open, 2020. <https://doi.org/10.5772/intechopen.93077>.

17. Singhal A., Karaca A.C., Tyler R. & Nickerson M. (2016). Pulse Proteins: From Processing to Structure-Function Relationships. *Grain Legumes*. <https://doi.org/10.5772/64020>.

18. Timofeev I. [et al.]. Mathematical Models and Methods for Research and Optimization of Protein Extraction Processes from Chickpea and Curd Whey Solutions by Electroflotation Coagulation Method // *Mathematics*. 2022. Т. 10. № 8. С. 1284.

19. Yue J. [et al.]. One-step extraction of oat protein by choline chloride-alcohol deep eutectic solvents: Role of chain length of dihydric alcohol // *Food Chemistry*. 2022. Т. 376. С. 131943. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.131943>.

20. Zhao J. [et al.]. Improved protein extraction from thermally processed shrimp (*Litopenaeus vannamei*) for reliable immunodetection via a synergistic effect of buffer additives // *LWT*. 2022. Т 154. С. 112790. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112790>.

21. Антипова Л.В. Оценка потенциала источников растительных белков для производства продуктов питания / Л.В. Антипова,

Л.Е. Мартемьянова // Пищевая промышленность. 2013. № 8. С. 10–12.

22. Казанцева И.Л., Бутова С.Н. Развитие глубокой переработки местного зернобобового сырья в условиях импортозамещения // Инновационные технологии в пищевой промышленности. 2016. С. 28–31.

23. Камербаев А.Ю., Сви́дская Д.С., Абраменко А.П. Разработка технологии получения белкового гидролизата из нута // Пищевая промышленность. 2016. № 3. С. 41–43.

24. Колпакова В.В. [и др.]. Пищевые и кормовые белковые препараты из гороха и нута: производство, свойства, применение // Техника и технология пищевых производств. 2021. Т. 51. № 2. С. 333–348.

25. Компанцев Д.В. [и др.]. Белковые изоляты из растительного сырья: обзор современного состояния и анализ перспектив развития технологии получения белковых изолятов из растительного сырья // Современные проблемы науки и образования. 2016. № 1. С. 58–58.

26. Кравцова А.Г., Хабибулина Н.В., Красноштанова А.А. Получение очищенной фракции белка нута методом ультрафильтрации // Символ науки. 2022. № 5–1. С. 14–19.

27. Мартемьянова Л.Е., Антипова Л.В. Применение ферментных препаратов в получении растительных белков // Вестник Воронежского государственного университета инженерных технологий. 2013. № 1 (55). С. 105–109.

28. Суняйкина А.В., Агафонова С.В. Получение, исследование состава и биологической ценности белковой пасты из нута // Вестник Международной академии холода. 2023. № 4. С. 60–66.

29. Чурсина О.А. [и др.]. Сравнительная оценка растительного сырья с целью получения белкового препарата для виноделия // Магарач. Виноградарство и виноделие. 2017. № 2. С. 44–47.

Информация об авторах

Ю. В. Апыянцева – аспирант факультета биотехнологий Университета ИТМО.

И. И. Борисова – аспирант факультета биотехнологий Университета ИТМО.

Д. А. Бараненко – кандидат технических наук, доцент факультета биотехнологий Университета ИТМО.

Information about the authors

Y.V. Apyantseva - post-graduate student, faculty of biotechnology, ITMO University.

I.I. Borisova - post-graduate student, faculty of biotechnology, ITMO University.

D.A. Baranenko - Candidate of Technical Sciences, associate professor, faculty of biotechnology, ITMO University.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

The authors declare that there is no conflict of interest.

Статья поступила в редакцию 25 сентября 2023; одобрена после рецензирования 29 февраля 2024; принята к публикации 06 мая 2024.

The article was received by the editorial board on 25 Sep 2023; approved after editing on 29 Feb 2024; accepted for publication on 06 May 2024.