

## ЭКЗОГЕННЫЙ БИОКАТАЛИЗ В РЕШЕНИИ ПРОБЛЕМЫ РАЦИОНАЛЬНОГО ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ЖМЫХА РАПСА

Манжесов В. И., Кубасова А. Н., Курчаева Е. Е., Сысоева М. Г., Глотова И. А.

*ФГБОУ ВО «Воронежский государственный аграрный университет имени императора Петра I», Воронеж, e-mail: glotova-irina@yandex.ru*

Исследован и предложен к использованию жмых рапса в качестве альтернативного источника белковых веществ, получаемых путем экстрагирования их из измельченных субстратов с применением ферментативного гидролиза балластных биополимеров и последующей биомодификацией. На первом этапе обоснованы режимы и условия получения рапсового изолята с применением биотехнологических методов. Максимальный выход изолята белков наблюдался при гидромодуле 1:5, продолжительности экспозиции смеси 70 мин при оптимальных температурах действия применяемых ферментных комплексов. На втором этапе исследована эффективность использования ферментных препаратов гидролитического действия для изменения растворимости суммарных белковых фракций рапсового жмыха с увеличением содержания водо- и солерастворимой фракций. Применение для биомодификации протеина ферментного препарата ЦеллоЛюкс А приводит к наибольшему увеличению содержания водо- и солерастворимых фракций белка по сравнению с действием других исследуемых ферментных препаратов. Оценка биологической безопасности нативных и подвергнутых биомодификации белков рапса показала, что исследуемые образцы не оказывают токсического действия и обладают биологической активностью. Обоснована целесообразность использования рапсового жмыха как дополнительного источника белка при разработке биологически полноценных обогащенных незаменимыми факторами питания продуктов нового поколения на основе принципов пищевой комбинаторики.

Ключевые слова: рапс, продукты переработки, жмых, белок, биомодификация, ферментные препараты.

## EXOGENOUS BIOCATALYSIS IN SOLVING PROBLEMS OF RATIONAL USE OF RAPESEED MEAL

Manzhesov V. I., Kubasova A. N., Kurchaeva E. E., Sysoeva M. G., Glotova I. A.

*Voronezh State Agricultural University n.a. Emperor Peter the Great, Voronezh, e-mail: glotova-irina@yandex.ru*

We investigated the rapeseed cake and offered to use it as an alternative soy source of protein obtained by extraction them from the crushed substrates with the use of enzymatic hydrolysis of ballast biopolymers and subsequent biomodification. In the first phase the modes and conditions for rapeseed protein isolate with the use of biotechnological methods have been proved. So the maximum yield of protein isolate was observed at a water ratio of 1:5, the compound extract 70 min at the optimum temperature of action of the applied enzyme complexes. In the second stage, the efficiency of using a hydrolytic enzyme preparations steps to change the solubility of the total protein fractions of rapeseed cake with increasing the content of water- and salt-soluble fractions has been studied. Application for the biomodification of protein enzyme preparation Cellolux A leads to the greatest increase in water - and salt-soluble protein fraction in comparison with the other studied enzyme preparations. It has been carried out the evaluation of biological safety of native and subjected to biomodification of rapeseed proteins. It is established that the investigated samples are not toxic and have biological activity. It justifies expediency to use rapeseed cake as a supplementary source of protein in the development of biologically valuable enriched with essential nutritional factors of food products of new generation on the basis of the principles of the food combinatorics.

Keywords: rape, products of processing, cake, protein, biomodification, enzyme preparations.

Белок относится к дефицитным пищевым веществам, которые необходимы для удовлетворения жизненных потребностей человека. Традиционные технологии производства продукции животноводства не обеспечивают физиологически обоснованные потребности населения в белковой пище с учетом соотношения «цена – качество», в связи с чем возрастает роль белковых растительных источников пищи.

К значимым факторам, определяющим выбор сырьевых источников для производства белковых препаратов, относятся массовая доля и биологическая ценность белка, а также функционально-технологические свойства белковых продуктов. Сырье должно иметь невысокую стоимость и быть доступным для переработки в промышленных масштабах. В этом аспекте для развития отечественного производства белковых препаратов на основе растений, в том числе масличных, интерес представляет рапс и продукты его переработки, достоинства которого как сырьевого объекта показаны рядом авторов [3, 5, 6, 8, 9].

Актуальной проблемой является обоснование подходов, обеспечивающих комплексное воздействие на биополимерные комплексы в составе белоксодержащего растительного сырья с целью интенсификации процессов извлечения целевых компонентов.

Известные подходы по применению ферментных препаратов при получении белковых продуктов заданной степени очистки из растительного сырья предусматривают использование биокаталитического эффекта в отношении крахмалсодержащих субстратов, в составе преимущественно бобовых культур – чечевицы, люпина [1].

Цель работы – исследование влияния комплексных ферментных препаратов на процессы биоконверсии биополимеров и экстрагирования белковых фракций из жмыха рапса.

#### Материалы и методы исследования

Объектами исследования служили: жмых, полученный методом прессования низкоэрукового сорта рапса «Гонар» урожая 2015 г. (производитель – ЗАО «Алые поля» Воронежской обл.); ферментные препараты отечественного и импортного производства, характеристика которых, по данным производителей, представлена в табл. 1, а также продукты биомодификации биополимерных систем жмыха рапса с их использованием.

Таблица 1

Общая характеристика ферментных препаратов

Ферментный препарат	Источник	Вид преобладающей активности	Уровень преобладающей активности	Производитель
АмилЛюкс-А	<i>Aspergillus avamori</i>	Амилолитическая	1500 ед./см <sup>3</sup>	ООО «Сиббиофарм» г. Новосибирск
Протосубтилин ГЗх	<i>Bacillus subtilis</i>	Протеолитическая	70 ед./г	
ЦеллоЛюкс-А	<i>Trichoderma viride</i>	Целлюлазно-глюканазно-ксилазная	2000 ед./г (см <sup>3</sup> )	
Коллагеназа пищевая	<i>Paralithodes camtshatica</i>	Коллагенолитическая	100 ед./г	ЗАО «Биопрогресс», г. Щелково

				Московской обл.
GC-401	<i>Aspergillus niger</i>	Протеолитическая	600 ед./см <sup>3</sup>	«Дженикор интернешенел», США

Ассортимент ферментных препаратов, апробированных для интенсификации процессов экстрагирования белковых фракций жмыха рапса, составлен на основе качественного и количественного анализа биополимеров в составе жмыхов и шротов масличных культур и маркетинговой оценки отечественного рынка по производству данного вида биотехнологической продукции.

Для получения белкового препарата жмых рапса измельчали до частиц не более 100 мкм и обрабатывали по двум вариантам. По первому варианту в полученную измельченную массу жмыха рапса вносили 0,5 %-ный раствор NaCl в соотношении 1:5, а также ферментные препараты в количестве 1 % и термостатировали при температуре 45 °С, перемешивая в течение 70 мин при частоте вращения мешалки 100–110 мин<sup>-1</sup>. По второму варианту (контрольный образец) ферментные препараты не вносили. По истечении времени экспозиции смеси экстракт отделяли от нерастворимого осадка центрифугированием в течение 7–10 мин при скорости вращения ротора центрифуги 500 с<sup>-1</sup>. К центрифугату добавляли раствор HCl молярной концентрацией 1 моль/дм<sup>3</sup>, до достижения изоэлектрической точки при рН 4,2–4,1. После осаждения белок отделяли центрифугированием при частоте вращения 500 с<sup>-1</sup> в течение 5 мин. В полученной системе определяли белок методом Къельдаля с предварительной минерализацией образца и титриметрической идентификацией результатов [2]. Соотношение водо-, соле- и щелочерастворимых фракций белков определяли в соответствии с рекомендациями [2]. Оценку общей токсичности и биобезопасности белков рапса проводили с использованием простейших одноклеточных инфузорий рода *Paramecium caudatum* [10]. Функционально-технологические свойства белков определяли в соответствии с рекомендациями [7].

### **Результаты исследований и их обсуждение**

Перспектива развития производства растительных белковых препаратов, конкурентоспособных по рыночной стоимости и уровню функционально-технологических свойств с соевыми аналогами, связана с целенаправленным использованием ферментных препаратов, с одной стороны, для интенсификации процесса экстрагирования, а с другой – для модификации биополимеров в составе жмыхов и шротов масличных культур.

Ранее авторами [4] изучены условия биомодификации жмыха рапса сорта «Гонар» протеолитическими ферментными препаратами – «Коллагеназа пищевая» (производитель – ЗАО «Биопрогресс», г. Щелково, Московской обл.), и «GC-401» (производитель –

«Дженикор интернешенел», США) и предложена технологическая схема получения изолята рапсового белка с применением методов биотехнологии. Однако ферментные препараты, апробированные для повышения растворимости белковых фракций рапса в воде и солевых растворах, либо имеют высокую стоимость и лимитированные сырьевые источники (гепатопанкреас камчатского краба) в случае препарата коллагеназы, либо являются продуктами импорта на российский рынок в случае препарата «ГС-401».

Актуальной проблемой является разработка технологии, включающей комплексное воздействие на растительное сырье.

На первом этапе на основе известных данных по рН- и температурному оптимумам действия ферментных препаратов, с учетом диапазонов стабильности (табл. 2) обоснованы режимы и условия получения рапсового изолята с применением биотехнологических методов. Установлено, что максимальный выход изолята белков наблюдался при гидромодуле 1:5. Отклонение от данного соотношения приводило к большему расходу экстрагента без увеличения выхода и степени очистки белкового изолята.

Таблица 2

Состав и условия действия ферментных препаратов

Показатели для сравнительной оценки препаратов	Ферментный препарат				
	АмилоЛюкс-А	Протосубтилин Г3х	ЦеллоЛюкс-А	Коллагеназа пищевая	ГС-401
Состав препаратов	α-амилаза Ксиланаза β-глюканаза Целлюлаза Глюкоамилаза Протеаза	Нейтральная протеаза Щелочная протеаза β-глюканаза Ксиланаза α-амилаза	Ксиланаза Целлюлаза β-глюканаза Глюкоамилаза	Коллагеназа Комплекс протеаз	Протеаза
<b>Оптимум</b>					
рН	5,0-7,0	6,0 -7,0	4,0-6,0	7,5-7,75	5,5-6,6
Температура, °С	50-70	45-50	50-60	37-45	55-65
<b>Диапазон</b>					
рН	4,0-8,5	4,5-10	3,0-7,0	6,5-9,5	4,0-7,0
Температура, °С	30-80	30-60	30-70	35-50	50-70

Температуру экстракции выбирали с учетом диапазона рабочих температур вносимых ферментных препаратов. Экспериментально установлено, что продолжительность экспозиции смеси менее 70 мин не дает полноты экстракции белковых фракций, а увеличение продолжительности термостатирования неоправданно удлиняет технологический процесс без улучшения качества и увеличения выхода конечного продукта.

Результаты исследований показали, что применение ферментных препаратов с гидролизующей активностью по отношению к целлюлозе, гемицеллюлозе и крахмалу способствует увеличению выхода белковых веществ на 5–15 % по сравнению с контролем и составляет 70–75 % по сухому веществу.

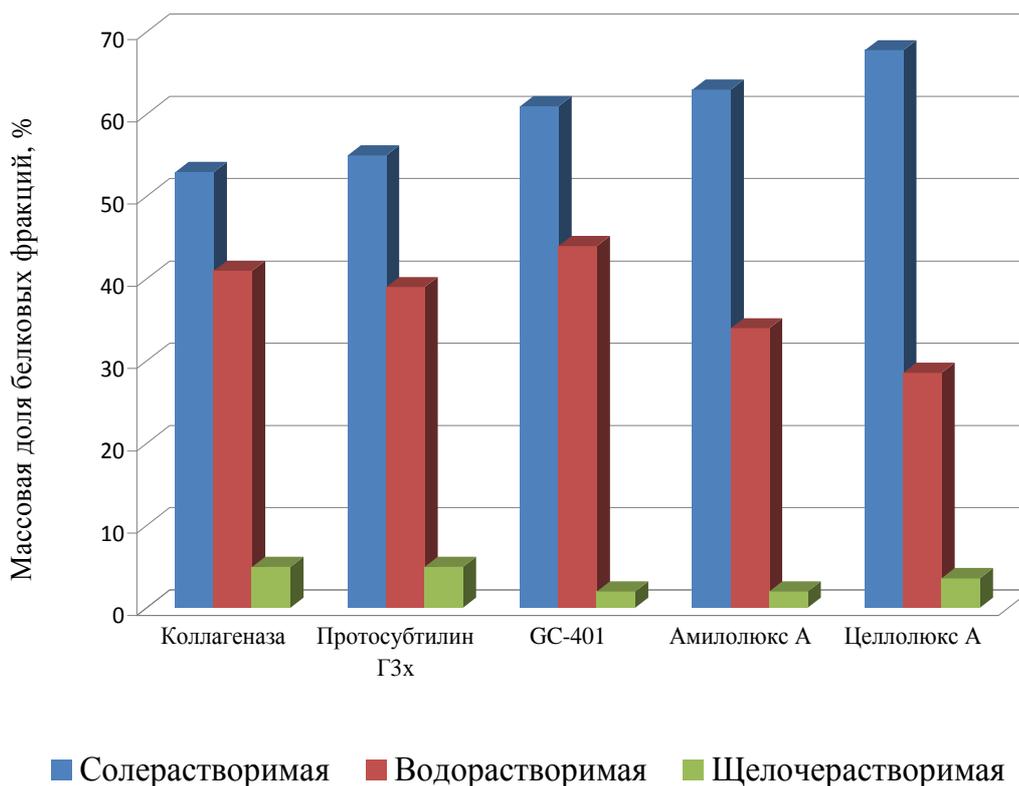
Применение ферментных препаратов с широкой субстратной специфичностью позволяет комплексно воздействовать на структурные компоненты растительного сырья. Наилучшие результаты получены при использовании комплексного ферментного препарата ЦеллоЛюкс-А, в результате действия которого происходит гидролиз некрахмалистых полисахаридов, что увеличивает выход белковых веществ.

На втором этапе исследована эффективность применения ферментных препаратов протеолитического действия для изменения растворимости суммарных белковых фракций рапсового жмыха – увеличения содержания водо- и солерастворимой фракций при соответствующем уменьшении содержания щелочерастворимой фракции в составе его биополимерной белковой системы, что положительно сказывается на функционально-технологических свойствах и массовом выходе белковых препаратов.

Превалирующими биополимерами в составе рапсового жмыха являются белок – 40 % и углеводы, суммарное содержание которых составляет более 30 %, включая целлюлозу (11 %), гемицеллюлозу (3 %), лигнин (9 %), пектиновые вещества (7 %).

Специфический состав биополимеров в составе этих видов вторичных сырьевых ресурсов при высокой вероятности образования сложных биополимерных комплексов обуславливает требования к комплексным ферментным препаратам, которые целесообразно использовать для выделения белка рапса и улучшения его функционально-технологических свойств. Известным критерием для прогнозирования их потенциального уровня может служить показатель растворимости белковых фракций в водных и солевых растворах [2].

Графическая интерпретация экспериментальных данных представлена на рисунке, откуда видно, что соотношение водо- и солерастворимых белковых фракций при использовании ферментных препаратов составляет: 1:1,1-1,5. Однако применение для биомодификации протеина рапса ферментного препарата ЦеллоЛюкс А приводит к наибольшему увеличению количества водо- и солерастворимых фракций белка по сравнению с действием других исследуемых ферментных препаратов.



*Соотношение белковых фракций в составе извлеченных из жмыха рапса сорта «Гонар» препаратов белков*

Для оценки биологической безопасности нативных и подвергнутых биомодификации белков рапса сорта была использована тест-культура *Paramecium caudatum*. Установлено, что исследуемые образцы не оказывают токсического действия на культуру *Paramecium caudatum* и обладают биологической активностью, т. е. физиологичны для биотеста.

Полученный препарат имеет нейтральный вкус, характеризуется высокой растворимостью (97 %), гигроскопичен.

Поскольку белковые препараты предназначены для использования в производстве пищевых продуктов, для характеристики их технологических свойств большое значение имеют водоудерживающая и жирудерживающая способность [9]. Установлено, что водоудерживающая способность изолята белков рапса составляет 210,0–211,0 %, жирудерживающая 99,0–100,0 %, что превосходит данные показатели для соевого изолята (180,0 % и 90,0 % соответственно).

### **Выводы**

Экзогенный биокатализ с применением комплексных ферментных препаратов гидролитического действия является эффективным инструментом для получения белковых препаратов из жмыхов масличных культур, в частности, рапса, со степенью очистки и

уровнем функционально-технологических свойств, соответствующих изолятам растительного белка.

Функционально-технологические свойства изолята белков рапса позволяют рассматривать его в качестве эффективного регулятора технологических свойств пищевых систем, в связи с чем необходима разработка рекомендаций и способов их применения в различных пищевых системах в соответствии с проявляемыми ими функционально-технологическими свойствами.

Разработка и применение биотехнологических приемов при переработке рапсового жмыха является перспективным направлением, и его использование как дополнительного источника белка позволит целенаправленно влиять на поведение пищевых систем, включающих животное сырье, при разработке биологически полноценных обогащенных незаменимыми факторами питания продуктов нового поколения на основе принципов пищевой комбинаторики.

### Список литературы

1. Антипова Л. В., Глотова И. А., Астанина В. Ю. Способ получения концентрата белков из растительного сырья // Патент России № 2174757. 2000. Бюл. № 29.
2. Антипова Л. В., Глотова И. А., Жаринов А. И. Методы исследования мяса и мясных продуктов. – Воронеж, 2000.
3. Артемьев И. В., Карпачев В. В. Рапс – масличная и кормовая культура // Аграрная наука. – 2006. – № 4. – С. 18.
4. Белова Е. И., Кубасова А. Н. Биотехнология комплексной переработки рапсового жмыха // Технологии и товароведение сельскохозяйственной продукции. – 2013. – № 1. – С. 68-72.
5. Кашеваров Н. И., Осипова Г. М., Данилов В. П. Рапс – источник экологически чистого топлива // Сибирский вестник сельскохозяйственной науки. – 2008. – № 3. – С. 89-97.
6. Растительный белок / пер. с фр. В. Г. Долгополова; [под ред. Т. П. Микуловича]. – М.: Агропромиздат, 1991. – 684 с.
7. Рензьева Т. В. Функциональные свойства белковых продуктов из жмыхов рапса и рыжика // Техника и технология пищевых производств. – 2009. – № 4. – С. 23-27.
8. Федотов В. А., Гончаров С. В., Савенков В. П. Рапс России. – М.: Агролига России, 2008. – 336 с.
9. Хамчиев Б. Б. Рапс – стратегическая культура // Агро XXI. – 2007. – № 4-6. – С. 9-12.
10. Экспресс-биотест. Биологический мониторинг экологических систем: методические рекомендации/ В. С. Бузлама, Ю. Т. Титов, Г. А. Востроилова и др. – Воронеж, 1997. – 11 с.