*ПРИКЛАДНАЯ БИОХИМИЯ И МИКРОБИОЛОГИЯ, 2024, том 60, № 4, с. 348–355*

*УДК 579.66*

# ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ РАЗЛИЧНЫХ ПРОТЕОЛИТИЧЕСКИХ ФЕРМЕНТНЫХ ПРЕПАРАТОВ ОТЕЧЕСТВЕННОГО ПРОИЗВОДСТВА НА ОРГАНОЛЕПТИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ИЗОЛЯТОВ БЕЛКА ГОРОХА

**© 2024 г. И. В. Кравченко[1, *], В. А. Фуралев[1], Е. С. Пшенникова[1], Е. В. Костылева[2], А. С. Середа[2], Е. И. Курбатова[2], Н. В. Цурикова[2], А. Н. Федоров[1], В. О. Попов[1]**

*[1]Институт биохимии им. А.Н. Баха, Федеральный исследовательский центр "Фундаментальные основы биотехнологии" Российской академии наук, Москва, 119071 Россия*

*[2]Всероссийский научно-исследовательский институт пищевой биотехнологии – филиал Федерального исследовательского центра питания, биотехнологии и безопасности пищи, Москва, 111033 Россия*

**e-mail: ink71@yandex.ru*

Поступила в редакцию 09.02.2024 г.
После доработки 26.02.2024 г.
Принята к публикации 28.02.2024 г.

В работе исследовано влияние четырех ферментных препаратов (**ФП**): Бациллолизина, Агропрота, Протозима и Протозима С (Россия), белковый и пептидный профили белкового изолята, выделенного из гороха сорта Фокор, а также на его запах и вкус. Показано, что обработка ферментами позволяет улучшить запаховые характеристики изолята. Так, удалось заметно понизить выраженность запаха бобовых и травянистого запаха. В то же время ферментная обработка позволяла улучшить также и вкус изолята: удалось весьма существенно уменьшить выраженность таких мешающих привкусов, как бобовый, терпкий, горький и травянистый. Полученные результаты позволили подобрать ФП (грибная кислая аспартатная протеаза) для улучшения органолептических параметров изолятов горохового белка, предназначенных для изготовления аналогов мясных и молочных продуктов.

*Ключевые слова:* нейтральная протеаза, кислая протеаза, щелочные протеазы, изолят белка гороха, органолептические свойства

**DOI:** 10.31857/S0555109924040031 **EDN:** SBJCNE

Использование изолятов горохового белка для производства растительных аналогов пищевых продуктов животного происхождения является перспективным направлением прикладной биотехнологии. Основным методом получения изолятов горохового белка является метод щелочной экстракции с последующим изоэлектрическим осаждением при pH в области изоэлектрической точки [1]. Получаемый таким способом продукт характеризуется высоким содержанием ценного в питательном отношении белка (80%) с оптимальным соотношением почти всех незаменимых аминокислот, он обладает хорошей растворимостью при нейтральных значениях pH.

Однако такой метод выделения не позволяет избавиться от характерного бобового запаха, а иногда и ряда других запахов, что сильно затрудняет его использование в пищевой промышленности. Для большинства потребителей наличие бобового запаха существенно снижает потребительскую ценность растительных аналогов молока, йогурта, мяса и колбас, а также спортивных напитков на основе гороховых белков. Помимо этого, получаемый вышеописанным методом изолят обладает вкусом, далеким от нейтрального и кроме сильно выраженого бобового вкуса, имеется целый ряд заметных привкусов, включая горький, терпкий и травянистый.

Существует несколько подходов к получению изолятов растительных белков с относительно нейтральными органолептическими свойствами. Можно модифицировать методику выделения, вводя в неё дополнительные стадии очистки, однако этот подход приводит к существенному удорожанию конечного продукта. Простым, экономичным и технологичным способом является обработка изолята протеолитическими ферментами. Описано применение этого подхода для улучшения как функционально-технических, так и органолептических показателей изолята растительного белка

[2–4]. В то же время количество работ, в которых изучалось воздействие протеаз на изолят горохового белка, относительно невелико. В предыдущем исследовании [5] было изучено влияние протеаз различных классов на растворимость, эмульгирующие и пенообразующие свойства таких изолятов. В этой связи представляет особенный интерес сравнение воздействия протеаз различных классов (щелочных, нейтральных и кислых) на органолептические свойства изолята горохового белка.

В ходе работы изучалось действие протеаз трех вышеупомянутых классов, причем для исследования были взяты ферменты различного происхождения: бактериального и грибного.

Цель работы – изучение влияния таких протеаз, как нейтральная протеаза *Bacillus subtilis*-96 (БНП) – Бациллолизин, кислая грибная аспартатная протеаза (ГКП) – Агропрот, бактериальная щелочная сериновая протеаза (БЩП) – Протозим, грибная щелочная сериновая протеаза (ГЩП) – Протозим С, на вкусовые и запаховые характеристики изолята горохового белка, а также на его белковый и пептидный профиль.

## МЕТОДИКА

**Выделение изолята горохового белка.** Для выделения изолята горохового протеина использовалась общепринятая методика [6]. Гороховую муку (150 г) суспендировали в 1.5 л воды, доводили pH до 9.0 с помощью 1 M NaOH и экстрагировали 2 ч. Суспензию центрифугировали при 4200 g 20 мин, pH супернатанта доводили до 4.5 с помощью 5 M HCl и инкубировали 2 ч. Суспензию центрифугировали при 4200 g в течение 20 мин при 4°C, осадок белка растворяли в 200 мл воды, доводили pH с помощью 1 M NaOH до 7.0 и высушивали на распылительной сушке.

**Гельпроникающая хроматография.** Анализ белкового профиля проводили на колонке Superdex 200 10/300 GL (GE HealthCare, США), уравновешенной забуференным физраствором (ЗФР) (10 мМ $KH_2PO_4$, 0.15 M NaCl pH 7.4) с использованием хроматографа ÄKTA™FPLC (GE HealthCare, США), образец белкового изолята 10 мг/мл суспендировали в ЗФР, встряхивали 1 ч при комнатной температуре, затем центрифугировали при 10000 g 10 мин наносили на колонку по 100 мкл. Профиль элюции регистрировали при длине волны 280 нм.

Анализ пептидного профиля проводили на колонке Superdex peptide 10/300 GL(GE HealthCare, США), уравновешенной 50 мМ HCl. Образец суспендировали в 50 мМ HCl в концентрации 10 мг/мл, встряхивали 1 ч при комнатной температуре, затем центрифугировали 10000 g 10 мин и наносили на колонку по 100 мкл. Профиль элюции регистрировали при длине волны 214 нм.

**Обработка ферментами.** В работе были использованы следующие ферментные препараты: бактериальной нейтральной протеазы (КФ 3.4.24.28, **БНП**) – Бациллолизин, лабораторный образец предоставлен ВНИИПБТ. Препарат кислой грибной аспартатной протеазы (КФ 3.4.23.20, **ГКП**) – пенициллопепсин (ФП Агропрот, ООО "Агрофермент", Россия). Препарат бактериальной щелочной сериновой протеазы (КФ 3.4.21.62, **БЩП**) – субтилизин бактериальный (ФП Протозим) и препарат грибной щелочной сериновой протеазы (КФ 3.4.21.62, **ГЩП**) – субтилизин грибной, ФП Протозим С, производства ТД "Биопрепарат", Россия.

Для проведения ферментативной обработки изолят горохового белка суспендировали в дистиллированной воде, получая концентрацию белка 50 мг/мл, инкубировали 30 мин при встряхивании на шейкере IKA MTC 2/4 при 300 об./мин. Затем pH суспензии доводили до требуемого значения для обработки БЩП и ГЩП – до 8.0, БНП – до 7.0, ГКП до 5.0 и прогревали на водяной бане до 50°C. Далее добавляли к суспензии фермент и инкубировали в термостате при перемешивании 1 ч. Выбранная рабочая активность БЩП, ГЩП и ГКП составила 1.5 Ед/мл, а БНП – 8.9 мЕд/мл. Ферменты инактивировали нагреванием на водяной бане 10 мин при 85°C, полнота инактивации была доказана инкубацией инактивированных ферментов с изолятом с последующим электрофорезом с додецилсульфатом натрия.

**Сенсорный анализ.** Для органолептического тестирования готовили 5%-ную белковую суспензию на питьевой воде. Тестировали гидролизованные и необработанные образцы, которые были подписаны случайными номерами [3]. В тестировании участвовало 7 человек, дескрипторы запаха и вкуса оценивали по 10-бальной шкале [7].

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

**Влияние обработки протеолитическими ферментами на запах изолятов.** Из всех исследованных ферментов ГКП наиболее существенно снижал выраженность бобового запаха изолята (табл. 1): после обработки данным ферментом она уменьшилась более, чем на 2.5 балла. Эффект БНП был немного слабее: он понижал интенсивность бобового запаха немного более, чем на 2 балла. БЩП и ГЩП практически не изменяли интенсивность данного запаха. У необработанного изолята также присутствовал травянистый запах, хотя его интенсивность была и существенно ниже, чем бобового. Из исследованных ферментов только ГКП существенно уменьшал интенсивность этого запаха (на 1.7 балла), остальные ферменты понижали его интенсивность весьма незначительно.

**Таблица 1.** Влияние на запах изолята горохового белка обработки препаратами БНП, ГКП, БЩП и ГЩП (оценка по десятибалльной шкале)

| Характеристика запаха | БНП | ГКП | БЩП | ГЩП | Без обработки |
|---|---|---|---|---|---|
| Бобовый | 0.86 | 0.57 | 3 | 3 | 3.14 |
| Травянистый | 0.86 | 0.14 | 1 | 1.43 | 1.86 |
| Ореховый | 0.43 | 0.29 | 0.86 | 1 | 1.0 |
| Сладкий | 0 | 0.86 | 0 | 0 | 0 |
| Мучнистый | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 |

Бобовый запах создается комбинацией большого количества различных по химическому составу веществ [8]. В коммерческом продукте Nutralys® (Roquette, Франция) большинство из 71 запахоактивных соединений были альдегидами, затем шли кетоны и карбоновые кислоты, однако в количественном отношении кетоны преобладали, затем шли спирты и альдегиды, затем остальные вещества. Среди них были обнаружены в существенных количествах 2-метил-3-гептанон, этиловый эфир пропановой кислоты, гексаналь, гептаналь, 3,5-октадиен-2-он, гексановая кислота, октанол, 5-этилдигидрофуранон и др. Значительная часть запахоактивных веществ образуется из липидов семян гороха. Они легко подвергаются окислению как неферментативным путем, так и за счет липоксигеназной активности [9], и это окисление приводит к образованию соединений, типичных для бобового аромата. Основной жирной кислотой в гороховой муке и получаемом из нее изоляте является линолевая кислота. Многие ароматические соединения, упомянутые выше, образуются при окислении линолевой кислоты: ферментативное и неферментативное окисление приводит к образованию нескольких гидропероксидов, при разложении которых образуются вторичные продукты - альдегиды, кетоны, кислоты и сложные эфиры.

Важно отметить, что многие из этих соединений обладают способностью связываться с белками горохового изолята, поэтому от них не удается полностью избавиться в процессе выделения методом щелочной экстракции и осаждения в изоэлектрической точке. Взаимодействия между белком и ароматическим соединением обусловлены обратимыми гидрофобными, гидрофильными, Ван-дер-Ваальсовыми, ионными взаимодействиями, но также и необратимым ковалентным связыванием. Было показано, что вицилин высокоаффинно связывает альдегиды и кетоны, а легумин имеет высокое сродство к альдегидам, но кетоны связывает гораздо хуже [10]. В связи с этим представляет несомненный интерес изучение влияния протеолитических ферментов на спектр белковых комплексов изолята.

**Влияние обработки протеолитическими ферментами на профиль белковых комплексов изолята.** В процессе протеолиза всеми четырьмя исследованными ферментами профиль распределения по молекулярной массе белковых комплексов изолята изменялся. В профиле исходного необработанного изолята (рис. 1а) в большом количестве представлены три комплекса: 150–210, 320–380 кДа и комплекс с очень большой молекулярной массой, первым элюируемый с колонки гельпроникающей хроматографии. Первый из этих комплексов соответствует 7S растительным глобулинам [11], среди которых в семенах гороха в большом количестве присутствуют вицилин и конвицилин. Второй комплекс соответствует 11S глобулинам [11], в семенах гороха из этих белков важнейшее место занимает легумин, хотя в составе этого комплекса содержится также и конвицилин, и другие белки. Наконец, третий комплекс образуется огромными агрегатами, включающими и 7S, и 11S глобулины, а также различные другие белки.

Ограниченный протеолиз изолятов различными протеолитическими ферментами существенно изменял белковый профиль изолятов. Так, первый комплекс (7S глобулины) исчезал после обработки изолята всеми четырьмя ФП (рис. 1б–1д). Ранее [5] было показано, что каждый из исследованных ферментов расщепляет хотя бы один из белков, принадлежащих к классу 7S: БНП расщепляет вицилин, а ГКП, БЩП и ГЩП и расщепляют как вицилин, так и конвицилин. По-видимому, исчезновение данного комплекса из профиля распределения белков по молекулярной массе объяснялась этим обстоятельством. Второй комплекс ни в одном случае не исчезал полностью (рис. 1б–1д), но его количество заметно снижалось после обработки всеми четырьмя ферментами. Что же касается третьего, самого высокомолекулярного комплекса, то обработка тремя исследованными ферментами (БНП, ГКП и ГЩП) понижала его количество (рис. 1б, 1в и 1д), а после обработки изолята БЩП его количество увеличивалось (рис. 1г). Это увеличение может объясняться тем, что после ограниченного протеолиза БЩП фрагменты расщепляемых белков стали обладать повышенной склонностью к агрегации, так как исследованные ферменты имели разную специфичность

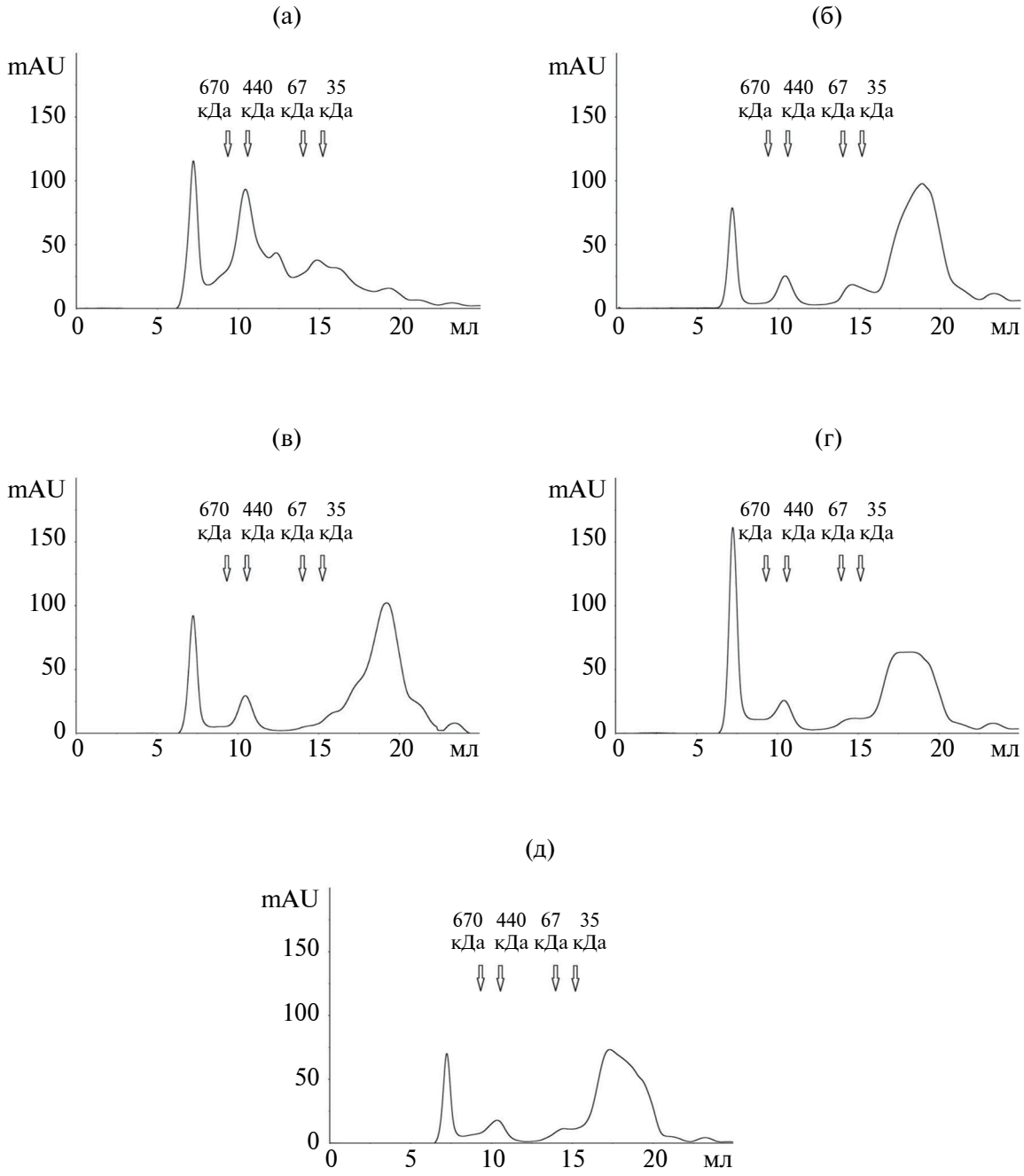


**Рис. 1.** Хроматография необработанного изолята горохового белка (а), а также изолятов, обработанных препаратами БНП (б), ГКП (в), БЩП (г) и ГЩП (д), на колонке Superdex 2000 10/300 Gl.

к расщепляемым последовательностям аминокислот, и, следовательно, фрагменты даже одного белка, образуемые в результате протеолиза различными ферментами, будут обладать разными свойствами.

Фермент ГКП, наиболее существенно снижающий интенсивность бобового запаха изолята, понижал количество всех трех комплексов, благодаря чему, вероятно, и происходило такое снижение. Не совсем понятно, почему обработка остальными ферментами не приводила к столь же существенному уменьшению запаха. Возможно, в обработанных ими изолятах запахоактивные вещества связывались с белками и комплексами промежуточной молекулярной массы (35–70 кДа) – эти белки наиболее интенсивно расщеплялись именно ГКП (рис. 1в), а не другими ферментами. Также возможно, что запахоактивные вещества связывались с третьим, наиболее высокомолекулярным

**Таблица 2.** Влияние на вкус изолята горохового белка обработки препаратами БНП, ГКП, БЩП и ГЩП (оценка по десятибалльной шкале)

| Оценка вкуса | БНП | ГКП | БЩП | ГЩП | Без обработки |
|---|---|---|---|---|---|
| Соленый | 0.57 | 0.43 | 0.86 | 1 | 0.86 |
| Бобовый | 1.86 | 1.14 | 2.86 | 4.14 | 5 |
| Горький | 2.43 | 0.86 | 3 | 3.14 | 4.86 |
| Терпкий | 2.57 | 1.43 | 3.57 | 4.14 | 5.14 |
| Травянистый | 1.86 | 0 | 2.14 | 1.86 | 3.14 |
| Ореховый | 2.14 | 1.86 | 2 | 2.14 | 0 |
| Сладкий | 0.14 | 0.86 | 0 | 0 | 0.29 |
| Мучнистый | 0.86 | 0 | 0.14 | 0 | 0 |

комплексом, структура которого, а следовательно, и способность связывать различные низкомолекулярные соединения, была различна после обработки изолята разными ферментами. В пользу второго предположения свидетельствует тот факт, что БНП также понижал интенсивность бобового запаха изолята, хотя и не столь сильно, но в обработанном им изоляте сохранялось существенное количество белков и комплексов с молекулярной массой в диапазоне 35–70 кДа (рис. 1б).

**Влияние обработки протеолитическими ферментами на вкус изолятов.** Все четыре исследованных фермента заметно изменяли вкус изолята горохового белка (табл. 2). Наиболее существенные изменения наблюдались в результате обработки ГКП. Она снизила выраженность бобового вкуса конечного продукта почти на 4 балла, привкус горечи был снижен на 4 балла, терпкий привкус – более, чем на 3.5 балла, а травянистый – более, чем на 3 балла и исчез вовсе. Кроме того, обработка ГКП почти на 2 балла повысила выраженность орехового вкуса. Заметные изменения вкуса, хотя и не столь масштабные, наблюдались и при обработке изолята БНП. Этот фермент также уменьшил выраженность бобового вкуса конечного продукта, хотя и не столь сильно, но более, чем на 3 балла. Привкус горечи он снизил более чем на 2.5 балла, терпкий привкус был снижен более чем на 3 балла, а травянистый – почти на 1.3 балла. Выраженность орехового вкуса повысилась более, чем на 2 балла. Обработка БЩП приводила лишь к небольшим изменениям вкуса изолята: выраженность бобового вкуса снижалась немного более чем на 2 балла, горький привкус – почти на 2 балла, терпкий привкус уменьшался приблизительно на 1.5 балла, а травянистый – на 1 балл. Выраженность орехового вкуса повышалась на 2 балла. Обработка ГЩП вызывала еще менее существенное улучшение вкусовых свойств изолята, выраженность горького привкуса снижалась приблизительно на 1.7 балла, травянистого – почти на 1.3 балла.

Вкус белкового изолята определяется множеством различных соединений разного химического состава. Так, специфический бобовый вкус создается сложной комбинацией разных веществ, состав и соотношение которых пока недостаточно изучены [12]. Согласно одним данным, терпкий вкус продукту придают различные низкомолекулярные вещества, в первую очередь танины [13]. Однако в другой работе показано, что в создании этого вкусового оттенка важную роль играют белки альбуминовой фракции с молекулярной массой в диапазоне 35–70 кДа [14]. В этой связи важно отметить, что в проведенных экспериментах набольшее снижение терпкого вкуса было достигнуто в результате обработки изолята ГКП, наиболее интенсивно расщеплявшим именно эту фракцию белков. Имеются данные, что горький вкус изоляту могут придавать определенные низкомолекулярные соединения: сапонины, в особенности соясапонин I и (2,3-дигидро-2,5-дигдрокси-6-метил-4H-пиран-4-он)-сапонин [15, 16], а также продукты перекисного окисления липидов [17]. Следует отметить, что низкомолекулярные вещества, влияющие на вкус изолята, обычно связываются с различными белками гороха, и не удаляются в процессе выделения по обычной методике. В то же время, в других работах было показано, что наличие горького вкуса часто обусловлено присутствием небольших пептидов, имеющих гидрофобные остатки [18]. В связи с этим представляет несомненный интерес изучение влияния протеолитических ферментов на пептидный спектр изолята.

**Влияние обработки протеолитическими ферментами на пептидный профиль изолята.** Исходный необработанный изолят содержал относительно небольшое количество пептидов с молекулярной массой менее 12 кДа (рис. 2а). После обработки всеми исследованными протеолитическими ферментами общее количество пептидов существенно увеличилось. Гидролизаты, полученные в результате обработки изолята разными ферментами, имели различные профили распределения пептидов по

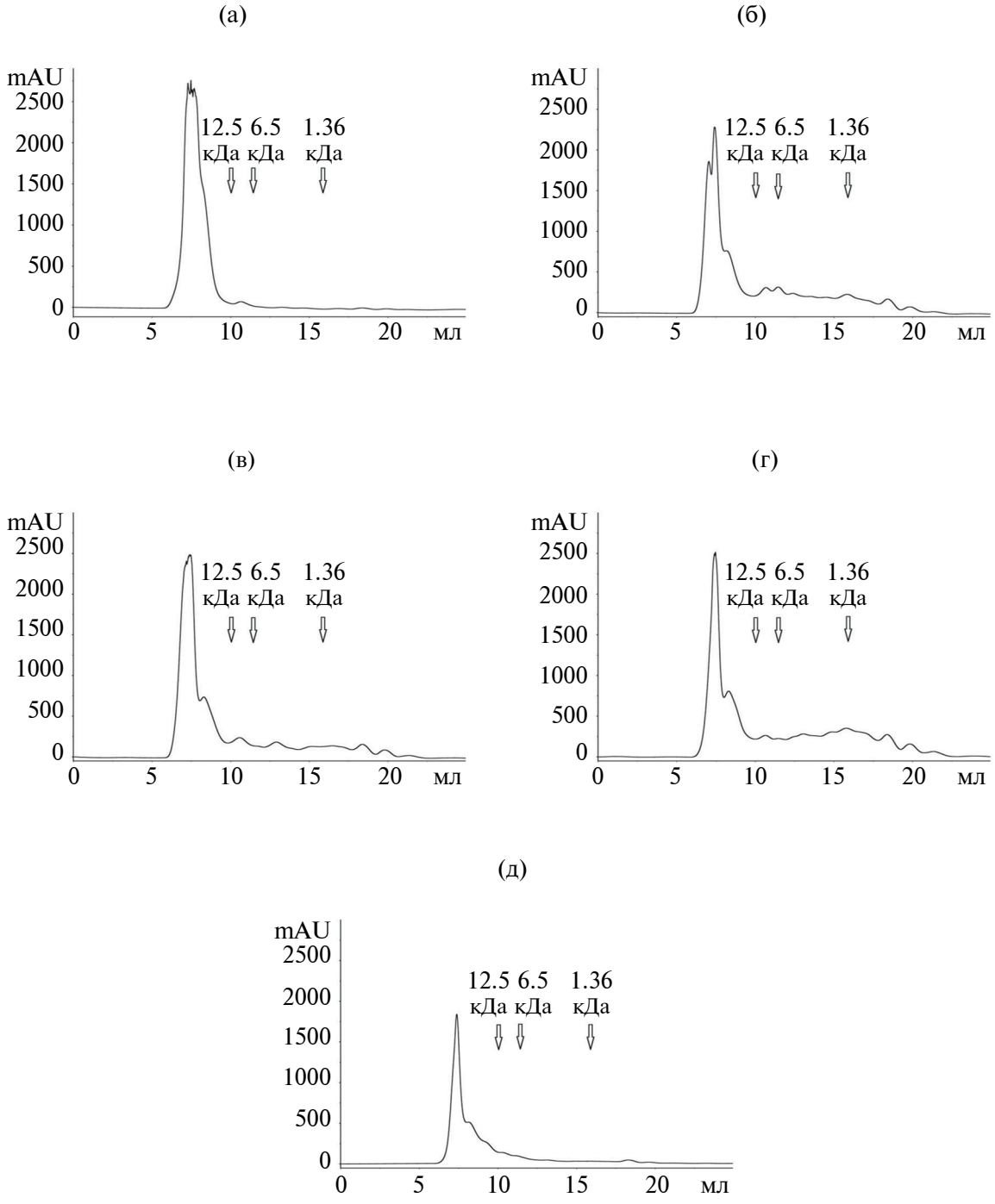


**Рис. 2.** Хроматография необработанного изолята горохового белка (а), а также изолятов, обработанных препаратами БНП (б), ГКП (в), БЩП (г) и ГЩП (д), на колонке SuperdexPeptide 10/300 Gl.

молекулярной массе. Так, на пептидном профиле изолята, обработанного БНП, можно четко различить пики, соответствующие пептидам с молекулярными массами около 10, 7.6, 5.3 и менее 0.5 кДа (рис. 2б). Пептидный профиль изолята, обработанного ГКП, содержал три четких пика, соответствующих пептидам с молекулярными массами около 10.3, 4.3 и менее 0.5 кДа, а также очень размытый участок в диапазоне 0.7–1.9 кДа (рис. 2в). На пептидном профиле изолята, обработанного БЩП, можно заметить два довольно размытых пика, соответствующих пептидам с молекулярными массами около 10.8 и 7.3 кДа, и очень размытый участок, соответствующий пептидам с молекулярными массами 3.2–5.0 кДа, а также пик с молекулярной массой менее 0.5 кДа (рис. 2г). Наконец, изолят,

обработанный ГЩП, показал сходный пептидный профиль, при этом первые два пика соответствовали пептидам с чуть большей молекулярной массой около 11.2 н 8.3кДа, а третий участок захватывал диапазон от 4.3 до 3.3 кДа (рис. 2д).

Один пептидный профиль не позволил провести сопоставление горького вкуса, сильно выраженного у некоторых изолятов, с определенными пептидами, для такого сопоставления нужны дальнейшие исследования. Можно лишь сделать предположение, что уменьшение горького вкуса, наблюдающееся при обработке изолята ГКП, связано со значительным уменьшением содержания пептидов диапазона 7.3–8.3 кДа (рис. 2в), однако это предположение нуждается в дальнейшей проверке.

Таким образом, для улучшения органолептических свойств изолята горохового белка наиболее предпочтительным выбором будет использование ГКП, так как именно этот фермент весьма существенно снизил выраженность как бобового и травянистого запахов конечного продукта, так и мешающих привкусов (бобового, терпкого, горького и травянистого).

В предыдущем исследовании было изучено влияние протеолитических ферментов на функционально-технологические свойства изолята [5]. Было показано, что для улучшения этих свойств наиболее целесообразно использовать БЩП, поскольку этот фермент весьма существенно повышал растворимость изолята при pH 5.0, эмульгирующую активность при pH 5.0 и 6.0, стабильность эмульсии при pH 6.0, пенообразование при pH 5.0 и 6.0, а также стабильность пены при pH 5.0. Однако в настоящем исследовании было показано, что этот фермент практически не улучшал органолептические показатели изолята горохового белка. Улучшающий эти свойства фермент ГКП в предыдущей работе продемонстрировал способность улучшать также и некоторые функционально-технологические свойства: повышал растворимость изолята, стабильность эмульсии, пенообразование и стабильность пены при pH 5.0. Последний показатель он увеличивал также и при pH 6.0, хотя величина эффекта была относительно невелика. Следовательно, при необходимости проводить комплексное улучшение органолептических и функционально-технологических свойств изолята горохового белка выбор фермента зависит от того, насколько сильно требуется скорректировать последние. Если достаточно небольшого увеличения соответствующих показателей, то можно рекомендовать обработку ГКП. Если же требуется более масштабное улучшение функционально-технологических свойств конечного продукта, то, вероятно, следует использовать обработку двумя различными ферментами, что однако нуждается в дальнейшей экспериментальной проверке.

Таким образом, в результате проведенной работы было исследовано влияние различных протеолитических ферментных препаратов отечественного производства на запах и вкус изолята белка гороха, изучено их влияние на белковый и пептидный профиль изолята. Был подобран фермент, позволяющий существенно повысить органолептические параметры изолятов, имеющие важнейшее значение при производстве растительных аналогов животных продуктов, а также продуктов для спортивного и лечебного питания.

В работе было использовано научное оборудования ЦКП “Промышленные биотехнологии” ФИЦ Биотехнологии РАН.

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ. Работа выполнена при поддержке Минобрнауки России в рамках соглашения № 075-15-2022-318 от 20.04.2022 г. о предоставлении гранта в форме субсидий из федерального бюджета на осуществление государственной поддержки создания и развития научного центра мирового уровня “Агротехнологии будущего”, а также за счет средств субсидии на выполнение государственного задания в рамках Программы Фундаментальных научных исследований государственных академий наук на 2022–2024 годы (тема № FGMF-2022-0006).

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ. В данной работе отсутствуют исследования человека или животных.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ. Авторы данной работы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Asen N.D., Aluko R.E., Martynenko A., Utioh A., Bhowmik P.* // Foods. 2023. V. 12. № 21. 3978. https://doi.org/10.3390/foods12213978
2. *Humiski L.M., Aluko R.E.* // J. Food Sci. 2007. V. 72. № 8. S605–S611. https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2007.00475.x
3. *García Arteaga V., Demand V., Kern K., Strube A., Szardenings M., MuranyiI. et al.* // Foods. 2022. V.11. № 1. 118. https://doi.org/10.3390/foods11010118
4. *Barać M., Cabrilo S., Pešić M., Stanojević S., Pavlićević M., Maćej O., Ristić N.* // Int. J. Mol. Sci. 2011. V. 12. № 12. P. 8372–8387. https://doi.org/10.3390/ijms12128372
5. *Кравченко И.В., Фуралев В.А., Костылева Е.В., Середа А.С., Курбатова Е.И., Цурикова Н.В. и др.* // Прикл. биохимия и микробиология. 2024. V. 60. № 1. в печати.
6. *Barac M., Cabrilo S., Pesic M., Stanojevic S., Zilic S., Macej O., Ristic N.* // Int. J. Mol. Sci. 2010. V. 11. № 12. P. 4973–4990. https://doi.org/10.3390/ijms11124973
7. *Onyeoziri I.O., Kinnear M., de Kock H.L.* // J. Sci. Food Agric. 2018. V. 98. № 6. P. 2231–2242. https://doi.org/10.1002/jsfa.8710

8. *Murat C., Bard M.-H., Dhalleine C., Cayot N.* // Food Res Int. 2013. V. 53. P. 31–41. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2013.03.049
9. *Hoover R., Cloutier L., Dalton S., Sosulski F.W.* // Starch. 1988. V. 40. № 9. P. 336–342. https://doi.org/10.1002/star.19880400904
10. *Heng L., van Koningsveld G.A, Gruppen H., van Boekel M.A.J.S, Vincken J.P.,Roozen J.P., Voragen A.G.J.* // Trends in Food Science & Technology. 2004. V. 15. №3–4. P. 217–224. https://doi.org/10.1016/j.tifs.2003.09.018
11. *Lu Z.X., He J.F., Zhang Y.C., Bing D.J.* // Crit. Rev. Food Sci. Nutr. 2020. V. 60. № 15. P. 2593–2605. https://doi.org/10.1080/10408398.2019.1651248
12. *Liu Y., Cadwallader D.C., Drake M.* // Food Chem. 2023. V. 16. 406. 134998. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.134998
13. *Soares S., Brandão E., Guerreiro C., Soares S., Mateus N., de Freitas V.*// Molecules. 2020. V. 25. № 11. 2590. https://doi.org/10.3390/molecules25112590
14. *Lesme H., Kew B., Bonnet L., Sarkar A., Stellacci F.* // Food Hydrocolloids. 2024. V. 149. 109489. https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2023.109489
15. *Heng L., Vincken J.-P., van Koningsveld G., Legger A., Gruppen H., van Boekel T., Voragen F.* // J. Sci. Food and Agriculture. 2006. V. 86. № 8. P. 1225–1231. https://doi.org/10.1002/jsfa.2473
16. *Reim V., Rohn S.* // Food Research International. 2015. V. 76. P. 3–10. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2014.06.043
17. *Gläser P., Dawid C., Meister S., Bader-Mittermaier S., Schott M., Eisner P., Hofmann T.* // Journal of Agricultural and Food Chemistry. 2020. V. 68. P. 10374-10387. https://doi.org/10.1021/acs.jafc.9b06663
18. *Saha G.B.C., Hayashi K.* // Biotechnol. Adv. 2001. V. 19. № 5. P. 355–370. https://doi.org/10.1016/S0734-9750(01)00070-2

# The Effect of Various Domestically Produced Proteolytic Enzyme Preparations on the Organoleptic Properties of Pea Protein Isolates

**I. V. Kravchenko[a, *], V. A. Furalyov[a], E. S. Pshennikova[a], E. V. Kostyleva[b], A. S. Sereda[b], E. I. Kurbatova[b], N. V. Tsurikova[b], A. N. Fedorov[a], V. O. Popov[a]**

*[a]Bach Institute of Biochemistry, Research Center of Biotechnology of the Russian Academy of Sciences, Moscow, 119071 Russia*
*[b]All-Russian Scientific Research Institute of Food Biotechnology – a Branch of the Federal Research Center for Nutrition, Biotechnology and Food Safety, Moscow, 111033 Russia*
**e-mail: ink71@yandex.ru*

The work investigated the effect of four enzyme preparations (EP): Bacillolysin, Agroprot, Protozyme and Protozyme C (Russia), on smell, taste, as well as protein and peptide profiles of protein isolate isolated from Focor peas. It has been shown that enzyme treatment improves the odor characteristics of the isolate. Thus, it was possible to significantly reduce the severity of bean and herbal smell. At the same time, enzyme treatment also improved the taste of the isolate: it was possible to significantly reduce the severity of such disturbing flavors as legume, astringent, bitter and herbal. The results obtained made it possible to select EP (fungal acidic aspartate proteinase) to improve the organoleptic parameters of pea protein isolates intended for the manufacture of analogues of meat and dairy products.

*Keywords:* neutral protease, acid protease, alkaline proteases, pea protein isolate, organoleptic properties