

УДК 579.66

ВЛИЯНИЕ ФЕРМЕНТАЦИИ С РАЗЛИЧНЫМИ ЛАКТОБАЦИЛЛАМИ НА ФУНКЦИОНАЛЬНО-ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ИЗОЛЯТОВ ГОРОХОВОГО БЕЛКА

© 2025 г. И. В. Кравченко^{1,*}, В. А. Фуралев¹, Е. С. Пшенникова¹, А. Н. Федоров¹, В. О. Попов¹

¹ Институт биохимии им. А.Н. Баха, Федеральный исследовательский центр “Фундаментальные основы биотехнологии” Российской академии наук, Москва, 119071 Россия

*e-mail: ink71@yandex.ru

Поступила в редакцию 31.05.2024 г.

После доработки 21.06.2024 г.

Принята к публикации 05.07.2024 г.

В работе исследовано влияние ферментации тремя бактериальными препаратами: БК-Углич-К, БК-Углич-АВ и БК-Углич-П (Россия), на растворимость, эмульгирующую активность, стабильность эмульсии, пенообразование и стабильность пены изолятов, выделенных из двух сортов гороха. Показано, что ферментация бактериальными культурами позволяет повысить растворимость изолятов при pH 3.0 и 4.0 — 17.5 раз, при pH 4.0 — более чем в 3 раза, при pH 5.0 — на 23–80%, при pH 6.0 — на 27–43%, при pH 7 — на 18–27%. Ферментация увеличивала индекс эмульгирующей активности изолятов при pH 5.0 на 37% (у сорта Батрак), индекс стабильности эмульсии при pH 3.0 на 19–28%, при pH 4.0 — на 17%, при pH 5.0 — на 18% (у сорта Фокор), при pH 6 — на 16–35%. Ферментация повышала пенообразование изолятов при pH 3.0 в 2.2 раза, при pH 4.0 — в 1.4–2.4 раза, при pH 5.0 и 6.0 — в 1.8–4 раза, при pH 7.0 в 2.1–2.4 раза; при этом стабильность пены изолятов при pH 4.0 увеличивалась на 11–22%, при pH 5.0 — на 11–13%, при pH 6.0 — на 15% (у сорта Фокор), при pH 7.0 — 28% (у сорта Батрак). Полученные результаты позволили подобрать бактериальные препараты для улучшения параметров изолятов горохового белка, предназначенных для изготовления различных пищевых продуктов: гороховой колы (БК-Углич-П), аналогов кисломолочных продуктов и аналогов молока (БК-Углич-АВ).

Ключевые слова: изолят белка гороха, лактобактерии, функционально-технологические свойства

DOI: 10.31857/S0555109925030091 **EDN:** DRXBNJ

Использование изолятов горохового белка для производства растительных аналогов пищевых продуктов животного происхождения является весьма перспективным направлением прикладной биотехнологии. Основным методом получения изолятов горохового белка является щелочная экстракция с последующим осаждением при pH в области изоэлектрической точки белков. Получаемый таким способом белковый изолят обладает неплохими функционально-технологическими свойствами, однако для производства целого ряда продуктов — таких, как растительные аналоги молочных продуктов, включая кисломолочные, соусы, а также определенные виды спортивных и лечебного питания, целый ряд параметров необходимо улучшать. К таким параметрам относятся растворимость изолята (особенно в слабокислой среде, где она низкая из-за самого способа его

получения), эмульгирующая активность, стабильность образуемых изолятом эмульсий, а также пенообразование и стабильность образуемой им пены. Хотя последние два параметра и не оказывают большого влияния на содержание ценных пищевых компонентов в конечном продукте, они влияют на его органолептические свойства, важные для потребителя.

Для улучшения данных функционально-технологических характеристик белкового изолята применяется целый ряд методов, одним из распространенных и технологичных является ферментация молочнокислыми бактериями. В литературе приводятся противоречивые данные о влиянии ферментации на растворимость белка бобовых. Некоторые авторы указывали на снижение растворимости изолята соевого белка после фермен-

тации с *Lactobacillus helveticus* и *Lactiplantibacillus plantarum* [1], а также изолята люпинового белка после ферментации с различными бактериями (*Lactobacillus amylolyticus*, *L. parabucchneri*, *L. carnosus*, *L. helveticus*, *L. brevis* и *L. delbrueckii*) [2]. С другой стороны, длительная ферментация люпиновой муки штаммами *Leuconostoc mesenteroides*, *Lactiplantibacillus plantarum* и *Lactobacillus brevis* позволила получить изолят с улучшенной растворимостью при pH 7.0 [3]. Ферментация штаммами *Lactobacillus sakei* ssp. *carnosus*, *Lactobacillus amylolyticus* и *Lactobacillus helveticus* повышала растворимость белкового гидролизата люпина и в кислой, и в нейтральной среде [4], ферментация муки нута *Lactiplantibacillus plantarum* немного улучшила растворимость белка в кислых условиях при 24-часовой ферментации [4].

Для ферментации белковых изолятов широко используются молочнокислые бактерии, принадлежащие к родам *Lactobacillus*, *Staphylococcus*, *Pediococcus*, *Enterococcus*, *Micrococcus* и *Leuconostoc* [5–8], поскольку такая обработка позволяет улучшать не только функционально-технологические, но и органолептические свойства, снижать аллергенность и повышать усвояемость конечного продукта. Но чаще всего используется коммерческая закваска для ферментации растительных продуктов *Lactiplantibacillus plantarum* [9, 10]. Сравнение воздействия ферментации различными штаммами молочнокислых бактерий на свойства изолята горохового белка, имеющие значение при изготовлении растительных напитков, представляет особенный интерес.

Количество работ, в которых изучалось воздействие ферментации на свойства изолята горохового белка, относительно невелико [11]. В России коммерчески доступны заквасочные культуры целого ряда штаммов бактерий отечественного производства. Для работы были выбраны культуры *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus acidophilus* и *Lactiplantibacillus plantarum* производства России, что обуславливает прикладную значимость исследования. Данные культуры были выбраны, во-первых, в связи с их антагонистической активностью по отношению к собственной микрофлоре семян гороха [12–14], а во-вторых, в связи с их способностью метаболизировать моно- и олигосахариды, содержащиеся в этих семенах [13].

Цель настоящей работы — изучение влияния ферментации семян гороха моновидами лиофилизированными концентратами молочнокислых бактерий *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus acidophilus* и *Lactiplantibacillus plantarum* на такие свойства выделенного из семян изолята горохового белка, как растворимость в средах с различным pH, эмульгирующую активность, стабильность эмульсии, пенообразование и стабильность пены.

МЕТОДИКА

Ферментация цельного гороха. В качестве закваски использовали лиофилизированные концентраты молочнокислых бактерий *Lactobacillus casei* (БК-Углич-К), *Lactobacillus acidophilus* (БК-Углич-АВ) и *Lactiplantibacillus plantarum* (БК-Углич-П), полученные на Экспериментальной биофабрике ВНИИМС филиала Федерального научного центра пищевых систем им. В.М. Горбатова РАН.

Промытый горох (150 г) заливали 270 мл питьевой кипяченой воды. Закваску добавляли путем прямого внесения 10^8 КОЕ/мл, инкубацию проводили 10 ч при 37°C. Затем семена гороха промывали и высушивали при 55°C.

Выделение изолята горохового белка. Для выделения изолята горохового протеина использовалась общепринятая методика [14]. Семена гороха (ферментированные или без обработки) измельчали в муку. Гороховую муку (150 г) суспендировали в 1.5 л воды, доводили pH до 9.0 с помощью 1 М NaOH и экстрагировали 2 ч. Суспензию центрифугировали 20 мин при 4200 g, pH супернатанта доводили до 4.5 с помощью 5 М HCl и инкубировали 2 ч. Суспензию снова центрифугировали при 4200 g в течение 20 мин при 4°C, осадок белка растворяли в 200 мл воды, доводили pH с помощью 1 М NaOH до 7.0 и высушивали на распылительной сушке.

Измерение растворимости белка. Измерение растворимости проводили по методу [15]. Выделенный белковый изолят суспендировали в 10 mM буферных растворах (глициновом с pH 3.0, цитратном с pH 4.0 и 5.0, фосфатном с pH 6.0 и 7.0) с концентрацией 10 мг белка изолята в мл, встряхивали 1 ч на шейкере при 350 об./мин, центрифугировали при 17 000 g 10 мин и измеряли концентрацию растворившегося белка в супернатанте методом Бредфорда. Растворимость рассчитывали, как отношение концентрации белка изолята в растворе при данном pH к исходной концентрации белка (10 мг/мл), выраженное в процентах.

Измерение индекса эмульгирующей активности. Измерение эмульгирующей активности проводили по методу [16]. Для измерения индекса эмульгирующей активности в системе “масло—раствор белка” турбидиметрическим методом оценивали стабилизированную межфазную площадь на единицу массы белка. Раствор выделенного изолята (0.3%-ный) в 10 mM буферном растворе (pH 3.0–7.0) смешивали с рафинированным подсолнечным маслом в объемном соотношении 9 : 1, гомогенизировали 2 мин и измеряли мутность эмульсии. Для этого 50 мкл эмульсии смешивали с 5 мл 0.1%-ного ДДС-Na и измеряли оптическую плотность при 595 нм. Индекс эмульгирующей активности (ИЭА, $\text{м}^2/\text{г}$) = $(4.606 \times D_{595} \times N) / (10000 \times C \times j)$, где D_{595} — оптическая плотность при 595 нм; N — фактор разведения; C — концентрация белка, г/мл; j — объемная доля масла.

Измерение индекса стабильности эмульсии. Измерение проводили по методу [16]. Для измерения индекса стабильности эмульсии оценивали ее способность противостоять изменениям с течением времени. Раствор выделенного изолята (0.3%-ный) в 10 мМ трис-НСI буфере, pH 7.2, смешивали с рафинированным подсолнечным маслом в объемном соотношении 9 : 1, гомогенизировали 2 мин на гомогенизаторе Glas-Col (Cole-Parmer, США) при 4000 об./мин и измеряли мутность эмульсии. 50 мкл эмульсии смешивали с 5 мл 0.1%-ного ДДС-На и измеряли оптическую плотность при 595 нм. Через 10 мин повторно измеряли мутность эмульсии тем же способом. Индекс стабильности эмульсии (ИСЭ, мин) = $(D_0/\Delta D) \times t$, где D_0 — оптическая плотность пробы при 595 нм, отобранной немедленно; D_{10} — оптическая плотность пробы при 595 нм, у отобранной через 10 мин; $\Delta D = D_0 - D_{10}$; t — временной интервал (10 мин).

Измерение пенообразования. Измерение проводили по методу [17]. Для измерения пенообразования оценивали относительный объем пены, образуемый суспензией белка после встряхивания. Суспензию выделенного изолята (1%-ная) в 10 мМ буфере (pH 3.0–7.0) встряхивали на шейкере в течение 1 ч при 300 об./мин. Аликвоту отбирали в мерный цилиндр, встряхивали 70 с, оставляли на 30 с и измеряли объем пены. Пенообразование = $(V_{\text{пены}}/V_{\text{исх.}}) \times 100\%$, где $V_{\text{пены}}$ — объем пены в цилиндре, $V_{\text{исх.}}$ — исходный объем аликвоты суспензии белка в мерном цилиндре.

Измерение стабильности пены. Измерение проводили по методу [17]. Для измерения стабильности пены оценивается отношение объема пены, оставшейся через 60 мин к исходному объему пены. Суспензию (1%-ную) выделенного изолята в 10 мМ буфере (pH 3.0–7.0) встряхивали

на шейкере в течение 1 ч при 300 об./мин. Аликвоту отбирали в мерный цилиндр, встряхивали 70 с, оставляли на 30 с и измеряли объем пены. Мерный цилиндр оставляли на 60 мин и повторно измеряли объем пены. Стабильность пены через 60 мин = $(V_{60}/V_{\text{исх.}}) \times 100\%$, где V_{60} — объем пены через 60 мин, $V_{\text{исх.}}$ — исходный объем пены, измеренный через 30 с после встряхивания вручную.

Статистический анализ. Данные представлены в виде среднего значения $\pm$ стандартной ошибки среднего значения четырех отдельных экспериментов. Статистическая значимость различий между каждой экспериментальной группой и контрольной была определена с использованием двустороннего t -критерия Стьюдента. Разница была определена как значимая при $p < 0.05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Влияние ферментации на растворимость изолятов.

Ферментация семян гороха всеми исследованными заквасками увеличивала растворимость изолятов белка, выделенных из гороха обоих сортов, во всем изучавшемся диапазоне pH. Однако степень повышения растворимости изолята при различных значениях pH после ферментации различными заквасками различалась у двух исследованных изолятов. При pH 3.0 растворимость контрольного изолята, выделенного из необработанного гороха сорта Фокор, составляла ~2% (рис. 1а). После ферментации гороха БК-Углич-К она выросла в 9 раз, а после ферментации БК-Углич-П и АВ — в 17.5 раз. При pH 4.0 растворимость контрольного изолята составляла всего 0.3%. Хотя ферментация гороха и повышала растворимость изолята (в 2.7–3.3 раза), все же она достигла всего лишь 1% (при обработке БК-Углич-К). При pH 5.0

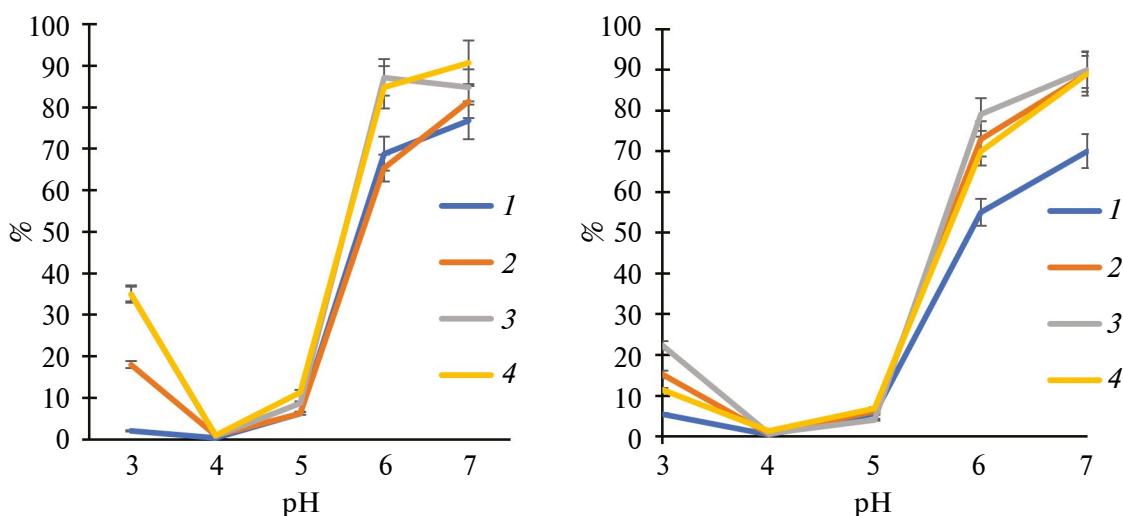


Рис. 1. Влияние ферментации на растворимость изолятов горохового белка сортов Фокор (а) и Батрак (б) при различных значениях pH: 1 — без ферментации, 2 — ферментация БК-Углич-К, 3 — ферментация БК-Углич-П, 4 — ферментация БК-Углич-АВ.

растворимость контрольного изолята составляла чуть более 6%. Ферментация семян БК-Углич-АВ позволила повысить растворимость изолята в 1.8 раза, БК-Углич-П — только на 40%, ферментация БК-Углич-К не повышала данный показатель. При pH 6.0 растворимость контрольного изолята почти достигла 70%. Ферментация гороха повышала этот показатель не более чем на 27% (а в одном случае вообще не повышала). При pH 7.0 исходная растворимость изолята была еще выше, а ферментация гороха приводила к увеличению растворимости не более, чем на 18%.

В случае изолята, выделенного из гороха сорта Батрак, эффекты ферментации были качественно похожи на наблюдавшиеся в случае гороха сорта Фокор, но отличались в количественном отношении. Так, при pH 3.0 растворимость контрольного изолята, выделенного из необработанного гороха сорта Батрак, была существенно выше и составляла 5.4% (рис. 1б). По всей видимости этой более высокой исходной растворимостью обуславливался меньший эффект ферментации на этот параметр. Обработка БК-Углич-П повышала растворимость более чем в 4 раза, БК-Углич-К — приблизительно в 2.8 раза, а БК-Углич-АВ — чуть более чем в 2 раза. При pH 4.0 растворимость контрольного изолята составляла 0.4%. Ферментация гороха БК-Углич-АВ позволяла повысить ее в 3.25 раза, в результате чего она достигла 1.3%, ферментация другими заквасками вызывала еще меньший эффект. При pH 5.0 растворимость контрольного изолята составляла 5.6%. Ферментация семян БК-Углич-АВ позволила повысить растворимость изолята на 23%, а БК-Углич-К — только на 10%, ферментация БК-Углич-П понижала данный показатель. При pH 6.0 растворимость контрольного изолята достигла 55%. Ферментация гороха БК-Углич-П повышала этот показатель на 43%, БК-Углич-К — на 32%, а БК-Углич-АВ — на 27%. При pH 7.0 исходная растворимость изолята была еще выше (70%), а ферментация гороха приводила к увеличению растворимости на 27–28%.

Таким образом, ферментация семян гороха может быть рекомендована для повышения растворимости выделяемого белкового изолята. В случае использования изолята для производства гороховой колы (pH около 3.0) можно порекомендовать ферментацию семян с помощью закваски БК-Углич-П. Для приготовления растительных аналогов кисломолочных продуктов с pH в диапазоне 4.0–5.0 больший эффект дает ферментация БК-Углич-АВ. Эта обработка демонстрирует или максимальный из трех, или сопоставимый с ним эффект повышения растворимости. При этом важно отметить, что эффект обработки данной закваской был более стабилен и менее зависим от взятого сорта гороха. Что касается изолята, предназначенного для производства растительного молока (pH 6.0–7.0), то даже необработанный изо-

лят демонстрировал высокую степень растворимости в нейтральных и околонейтральных средах; если же возникает необходимость ее дальнейшего повышения, то можно использовать БК-Углич-П или АВ.

Влияние ферментации на индекс эмульгирующей активности изолятов. Исходный индекс эмульгирующей активности при pH 3.0 у необработанного изолята, полученного из сорта Фокор, составлял 45.9 м²/г (рис. 2а), а из сорта Батрак — 51.1 м²/г (рис. 2б). Ферментация семян гороха всеми исследованными заквасками не приводила к достоверному увеличению данного показателя. В случае изолята из сорта Фокор обработка лишь понижала индекс эмульгирующей активности, а в случае изолята из сорта Батрак обработка БК-Углич-АВ повышала его лишь на уровне тенденции.

При pH 4.0 исходный индекс эмульгирующей активности у необработанного изолята, полученного из сорта Фокор также был ниже, чем у изолята, выделенного из сорта Батрак, и составлял 21.6 м²/г против 31 м²/г. Только ферментация семян БК-Углич-К повышала данный показатель, и то лишь в небольшой степени: у изолята, полученного из сорта Фокор, он увеличивался на 12%, а из сорта Батрак — на 15%.

Исходный индекс эмульгирующей активности при pH 5.0 у необработанного изолята, полученного из сорта Фокор, был значительно выше, чем у полученного из сорта Батрак, и достигал 36.4 м²/г. Ферментация семян гороха данного сорта всеми исследованными заквасками не приводила к достоверному увеличению данного показателя: БК-Углич-П увеличивал его статистически недостоверно, а БК-Углич-К и АВ немного понижали.

В противоположность этому, исходный индекс эмульгирующей активности при pH 5.0 у необработанного изолята, полученного из сорта Батрак, составлял всего 22.2 м²/г. Ферментация семян гороха данного сорта всеми исследованными заквасками увеличивала индекс эмульгирующей активности изолята при pH 5.0, но в разной степени. Наилучшего результата удалось добиться при использовании БК-Углич-К и АВ, когда данный показатель возрос приблизительно на 37%, а при использовании БК-Углич-П он увеличился только на 18%.

При pH 6.0 различия между исходными индексами эмульгирующей активности необработанных изолятов были не столь велики: в случае сорта Фокор этот показатель достигал 65.2 м²/г, а сорта Батрак — 56.9 м²/г. Ферментация всеми исследованными заквасками не приводила к увеличению данного показателя данного изолята ни у одного из изолятов. При pH 7.0 наблюдалась сходная картина: исходные индексы эмульгирующей активности необработанных изолятов составляли 71.7 м²/г и 59.4 м²/г, соответственно, и ферментация всеми тремя БК не увеличивала данные показатели.

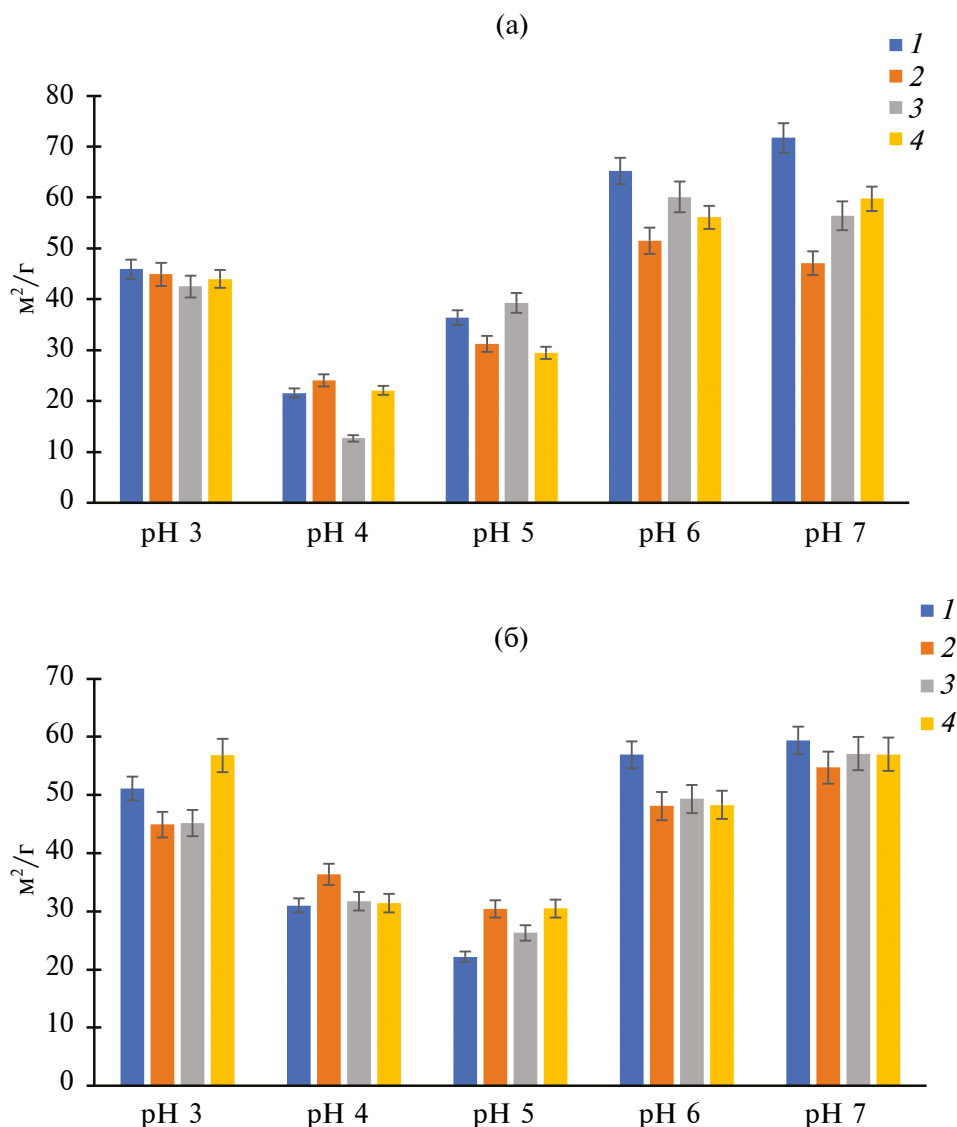


Рис. 2. Влияние ферментации БК на индекс эмульгирующей активности изолятов горохового белка сортов Фокор (а) и Батрак (б) при различных значениях pH. 1 — без ферментации, 2 — ферментация БК-Углич-К, 3 — ферментация БК-Углич-П, 4 — ферментация БК-Углич-АВ.

Таким образом, ферментация семян гороха повышала эмульгирующую активность получаемого изолята только при pH 4.0 и 5.0, причем эффект был не очень сильно выражен. Для повышения данного показателя при pH 4.0 может быть рекомендована обработка семян БК-Углич-К. При pH 5.0 индекс эмульгирующей активности повышался только в случае изолята, полученного из сорта Батрак, наилучшие результаты были получены при использовании БК-Углич-К и АВ.

Влияние ферментации на индекс стабильности эмульсии изолятов. Исходный индекс стабильности эмульсии при pH 3.0 у необработанного изолята, полученного из сорта Фокор составлял 17.9 мин (рис. 3а), а из сорта Батрак — 16.3 мин (рис. 3б). Ферментация семян гороха обоими сортами всеми

исследованными заквасками увеличивала индекс стабильности эмульсии при данном значении pH, но в разной степени. Так, обработка БК-Углич-К позволяла повысить данный параметр на 11% у обоих исследованных изолятов. Обработка БК-Углич-П продемонстрировала лучший результат: индекс стабильности эмульсии увеличился на 28 и 19% соответственно. При обработке семян БК-Углич-АВ данный параметр возрос на 8 и 20% соответственно.

При pH 4.0 исходный индекс стабильности эмульсии был почти одинаков у обоих необработанных изолятов (10.6–10.7 мин). Ферментация семян гороха сорта Фокор БК-Углич-П позволяла повысить данный показатель на 17%, другие закваски не повышали индекс стабильности эмуль-

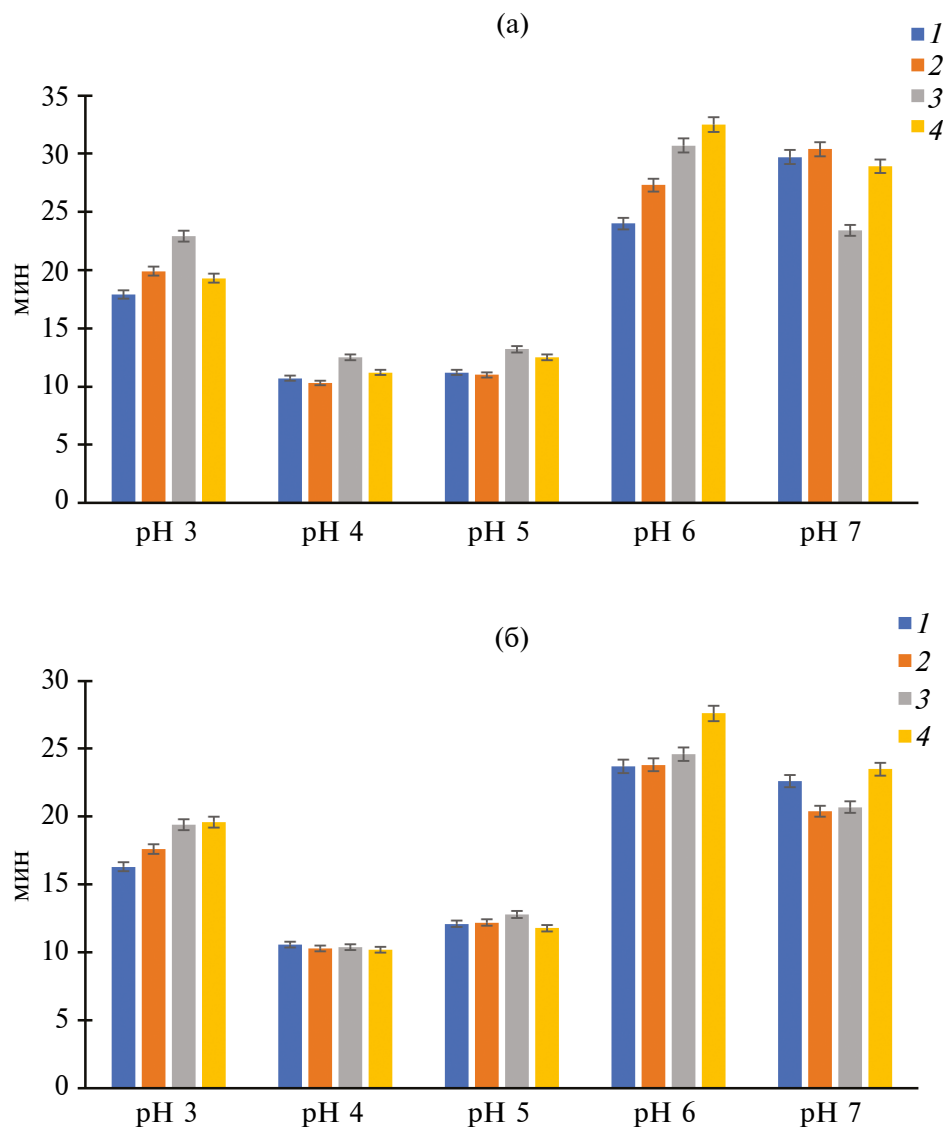


Рис. 3. Влияние ферментации на индекс стабильности эмульсии изолятов горохового белка сортов Фокор (а) и Батрак (б) при различных значениях pH. 1 — без ферментации, 2 — ферментация БК-Углич-К, 3 — ферментация БК-Углич-П, 4 — ферментация БК-Углич-АВ.

сии статистически достоверно. В случае семян гороха сорта Батрак ферментация всеми исследованными БК не приводила к повышению данного параметра.

Исходный индекс стабильности эмульсии при pH 5.0 у необработанного изолята Фокор составлял 11.2 мин. Ферментация данного изолята БК-Углич-П и АВ приводила к небольшому, но статистически достоверному повышению данного показателя (на 18 и 12% соответственно). В случае изолята из семян сорта Батрак исходный индекс стабильности эмульсии достигал 12.1 мин. Из исследованных заквасок только ферментация БК-Углич-П приводила к увеличению данного показателя (всего лишь на 6%).

При pH 6.0 различия между исходными индексами стабильности эмульсии необработанных

изолятов были очень малы, для обоих сортов этот показатель составлял приблизительно 24 мин. В случае изолята, выделяемого из гороха сорта Фокор, ферментация семян всеми тремя исследованными заквасками повышала индекс стабильности эмульсии: обработка БК-Углич-АВ позволила увеличить данный показатель на 35%, БК-Углич-П — на 28%, а БК-Углич-К — на 14%. В случае же изолята, выделяемого из гороха сорта Батрак, только ферментация БУ-Углич-АВ приводила к статистически достоверному увеличению индекса стабильности эмульсии на 16%.

При pH 7.0 исходные индексы стабильности эмульсии необработанных изолятов составляли 29.7 мин и 22.6 мин соответственно. Ферментация всеми тремя заквасками не увеличивала данные показатели.

Таким образом, ферментация семян гороха может быть рекомендована для повышения стабильности эмульсии выделяемых белковых изолятов при pH 3.0, хорошие результаты дало использование БК-Углич-П и АВ, причем эффекты ферментации БК-Углич-АВ меньше зависели от сорта гороха. Для повышения стабильности эмульсии изолятов при pH 5.0 наилучшие результаты должно дать использование БК-Углич-П, а в случае pH 6.0 предпочтительнее использовать БК-Углич-АВ.

Влияние ферментации на пенообразование изолятов. Исходное пенообразование при pH 3.0 у обоих изолятов было почти одинаково (28–29%). Ферментация семян бактериями БК-Углич-АВ повышала пенообразование данных изолятов приблизительно в 2.2 раза (рис. 4а, 4б). Ферментация

семян микроорганизмами БК-Углич-К повышала пенообразование только у изолята, выделенного из гороха сорта Батрак (в 2 раза). Ферментация семян БК-Углич-П не приводила к увеличению данного параметра.

При pH 4.0 исходное пенообразование изолятов также было примерно одинаковым (46–47%). В случае изолята, выделенного из сорта Фокор, только ферментация семян БК-Углич-К и АВ приводила к статистически достоверному повышению пенообразования (на 36 и 38% соответственно). В то же время у изолята, выделенного из сорта Батрак, пенообразование увеличивалось при обработке семян всеми тремя исследованными заквасками: БК-Углич-К — в 1.9 раза, БК-Углич-П — в полтора раза, а БК-Углич-АВ — в 2.4 раза.

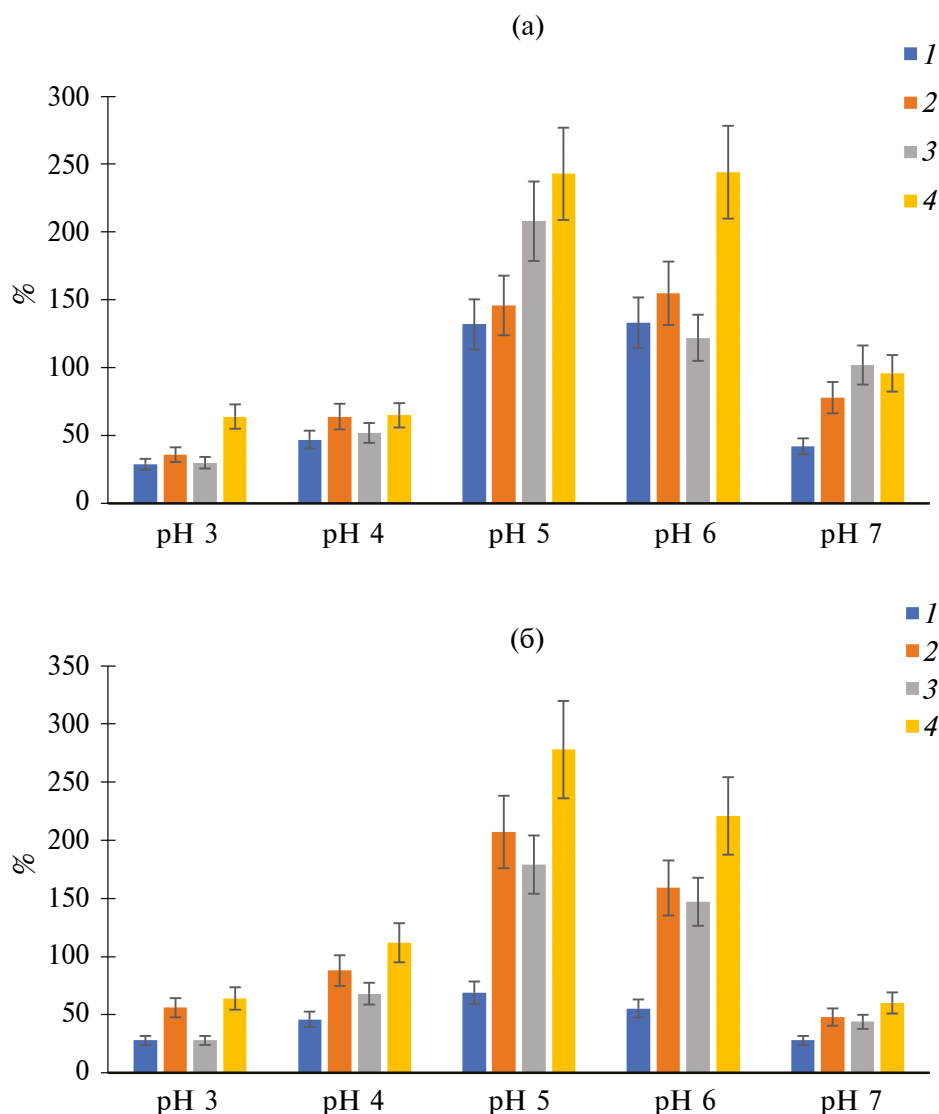


Рис. 4. Влияние ферментации на пенообразование изолятов горохового белка сортов Фокор (а) и Батрак (б) при различных значениях pH. 1 — без ферментации, 2 — ферментация БК-Углич-К, 3 — ферментация БК-Углич-П, 4 — ферментация БК-Углич-АВ.

Исходное пенообразование при pH 5.0 у изолята, выделенного из сорта Фокор, было заметно выше, чем у выделенного из сорта Батрак: 132 против 69%. В случае первого изолята статистически достоверное повышение пенообразования достигалось в результате ферментации семян гороха двумя заквасками: БК-Углич-АВ увеличивал данный показатель более чем в 1.8 раза, а БК-Углич-П — более чем в 1.5 раза. Увеличение пенообразования изолята в результате обработки семян БК-Углич-К проявлялось лишь на уровне тенденции. В случае второго изолята обработка семян всеми тремя исследованными заквасками повышала пенообразование, что, вероятно, связано с исходно более низким значением этого параметра. БК-Углич-П повышал пенообразование изолята почти в 2.6 раза, БК-Углич-К — в 3 раза, а БК-Углич-АВ — в 4 раза.

При pH 6.0 исходное пенообразование у изолята, выделенного из сорта Фокор, также было существенно выше, чем у выделенного из сорта Батрак: 133 против 55%. В случае сорта Фокор только ферментация семян БК-Углич-АВ статистически достоверно повышала пенообразование изолята — более чем в 1.8 раза. Как и при pH 5.0, пенообразование при pH 6.0 повышалось в результате ферментации семян гороха сорта Батрак всеми тремя исследованными заквасками: БК-Углич-П повышал пенообразование изолята почти в 2.7 раза, БК-Углич-К — почти в 2.9 раза, а БК-Углич-АВ — в 4 раза.

При pH 7.0 исходное пенообразование у изолята, выделенного из сорта Фокор, также было выше, чем у выделенного из сорта Батрак: 42 против 28%. Ферментация семян обоих сортов всеми тремя исследованными БК существенно повышала пенообразование. В случае изолята, выделяемого из гороха сорта Фокор, обработка БК-Углич-П позволила увеличить данный показатель более чем в 2.4 раза, БК-Углич-АВ — почти в 2.3 раза, а БК-Углич-К — более чем в 1.8 раза. В случае же изолята, выделяемого из гороха сорта Батрак, ферментация БК-Углич-АВ приводила к увеличению пенообразования более чем в 2.1 раза, БК-Углич-К — в 1.7 раза, а БК-Углич-П — почти в 1.6 раза.

Таким образом, ферментация семян гороха может быть рекомендована для повышения пенообразования выделяемых белковых изолятов при pH в диапазоне 3.0–7.0. Наиболее предпочтительным представляется использование БК-Углич-АВ. В большинстве случаев его использование приводило к наиболее значительному повышению данного параметра, а кроме того, его эффект меньше зависел от сорта гороха.

Влияние ферментации на стабильность пены изолятов. Исходная стабильность пены через 30 и 60 мин при pH 3.0 у необработанного изолята, полученного из сорта Фокор, составляла 86 и 79%

соответственно (рис. 5а), а из сорта Батрак — 93 и 86% соответственно (рис. 5б). Ферментация семян гороха обоих сортов всеми исследованными заквасками не приводила к статистически достоверному увеличению данного показателя.

При pH 4.0 исходные величины стабильности пены были сходны у обоих изолятов: 70–72% через 30 мин и 61–63% через 60 мин. Ферментация семян гороха оказывала лишь небольшое воздействие на данный параметр. Так, в случае изолята из сорта Фокор стабильность пены через 30 мин статистически достоверно повышалась лишь в результате обработки семян БК-Углич-К (на 22%), а через 60 мин — только после обработки БК-Углич-П (только на 11%). В случае изолята из сорта Батрак небольшое (на 11%), хотя и достоверное, повышение стабильности пены через 60 мин наблюдалось после обработки семян БК-Углич-К и АВ, а стабильность пены через 30 мин статистически достоверно не возрастала в наших экспериментах ни в одном случае.

При pH 5.0 исходная стабильность пены через 30 мин и 60 мин у необработанного изолята, полученного из сорта Фокор, составляла 60% и 55% соответственно. Ферментация семян БК-Углич-К увеличивала данный параметр на 11%, а БК-Углич-П — на 13%. Стабильность пены через 30 мин у изолята, полученного из данного сорта гороха, не возрастала статистически достоверно при ферментации изученными заквасками. У необработанного изолята, полученного из сорта Батрак, исходная стабильность пены через 30 мин и 60 мин составляла 67 и 66% соответственно. Только ферментация семян БК-Углич-П приводила к повышению данного параметра (всего лишь на 11% в обоих случаях).

При pH 6.0 исходная стабильность пены через 30 мин и 60 мин у необработанного изолята, полученного из сорта Фокор, составляла 46%. Только ферментация семян БК-Углич-П приводила к повышению данного параметра (только через 30 мин) на 15%. У необработанного изолята, полученного из сорта Батрак, исходная стабильность пены была выше: она составляла около 74% через 30 и 60 мин. Ферментация семян гороха данного сорта всеми исследованными заквасками не приводила к увеличению данного показателя — возможно, из-за его более высокого исходного значения.

При pH 7.0 исходная стабильность пены через 30 и 60 мин у необработанного изолята, полученного из сорта Фокор, составляла 72%. Ферментация семян гороха данного сорта всеми исследованными заквасками приводила лишь к понижению данного показателя. У необработанного изолята, полученного из сорта Батрак, исходная стабильность пены через 30 и 60 мин составляла 67%. Ферментация семян БК-Углич-АВ повышала данный показатель

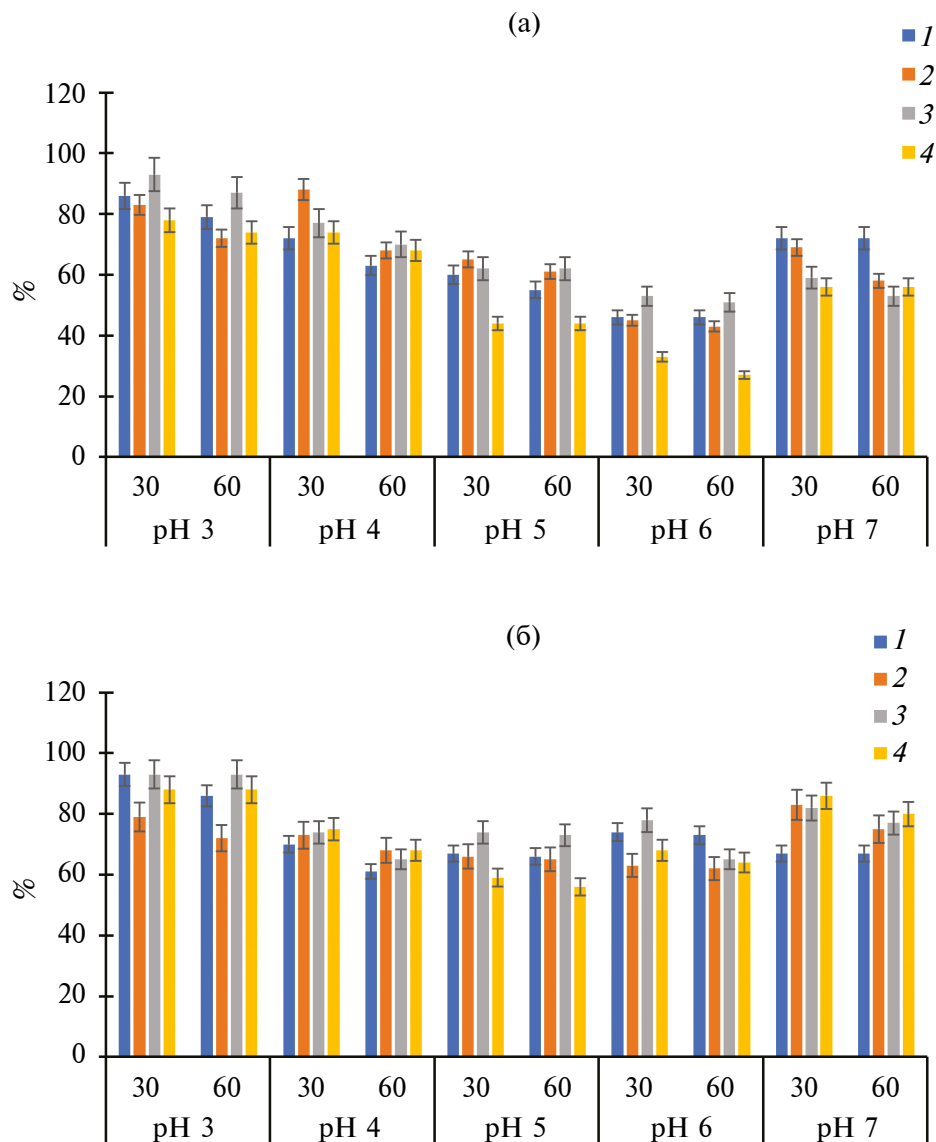


Рис. 5. Влияние ферментации БК на стабильность пены изолятов горохового белка сортов Фокор (а) и Батрак (б) через 30 и 60 мин при различных значениях pH. 1 — без ферментации, 2 — ферментация БК-Углич-К, 3 — ферментация БК-Углич-П, 4 — ферментация БК-Углич-АВ.

на 28 и 19% соответственно, БК-Углич-К — на 24 и 12% соответственно, а БК-Углич-П — на 22 и 15%.

Таким образом, ферментация семян гороха может быть рекомендована для повышения стабильности пены выделяемых белковых изолятов при pH 4.0, однако эффект обработки очень сильно зависит от сорта гороха, так что при использовании сортов, отличных от исследованных в данной статье, необходимо проводить специальные эксперименты. Для повышения стабильности пены изолятов при pH 5.0 наилучшие результаты были получены при использовании БК-Углич-П. При pH 6.0 ферментация позволяла повысить стабильность пены лишь у изолята сорта “Фокор”, при работе с горохом этого сорта предпочтительнее использовать БК-Углич-П. При pH 7.0 фермента-

ция позволяла повысить стабильность пены лишь у изолята сорта “Батрак”, при работе с горохом этого сорта предпочтительнее использовать БК-Углич-АВ.

В случае необходимости комплексного улучшения функционально-технологических свойств изолята, предназначенного для производства продуктов с pH около 3.0 с помощью ферментации одной закваской, то наиболее предпочтительным выбором будет использование БК-Углич-П — он существенно повышал растворимость изолята и индекс стабильности эмульсии. В случае продуктов с pH около 4.0 предпочтение следует отдать БК-Углич-АВ: он в большей степени повышает растворимость и пенообразование. Для продуктов с pH около 5.0 нужно учитывать особенности раз-

рабатываемого продукта: БК-Углич-АВ в большей степени подходит для повышения растворимости и пенообразования, а БК-Углич-П — индекса стабильности эмульсии и стабильности пены. Ну а в случае продуктов с рН в диапазоне 6.0–7.0 предпочтение опять же следует отдать БК-Углич-АВ, так как он повышал пенообразование изолята, а при рН 6.0 еще и стабильность эмульсии.

В предыдущей работе [18] было изучено воздействие некоторых протеаз на определенные функционально-технологические свойства изолята горохового белка при рН 5.0 и 6.0. Если сравнивать эффекты протеаз и ферментацию микроорганизмами, то следует отметить большую эффективность использования ферментов для улучшения растворимости изолята при рН 5.0. При более высоких значениях рН обработка ферментами была неэффективна, но в этом диапазоне изолят и так имел очень высокую растворимость. В экспериментах по повышению индекса эмульгирующей активности при рН 5.0 и 6.0 ферменты также продемонстрировали довольно большую эффективность. В экспериментах по повышению индекса стабильности эмульсии при рН 6.0 ферментация показала лучший эффект, чем ограниченный протеолиз, а при рН 5.0 и протеазы, и ферментация оказывали очень небольшое влияние на данный параметр. В экспериментах по повышению пенообразования при рН 5.0 и 6.0 и протеазы, и ферментация показывали сходные высокие результаты. Наконец, в экспериментах по повышению стабильности пены оба метода показывали сходные результаты с очень небольшим суммарным эффектом. Следовательно, выбор того или иного метода обработки зависит от того, какой именно функционально-технологический параметр необходимо улучшить.

Таким образом, в результате проведенной работы было исследовано влияние ферментации различными заквасками на целый ряд характеристик изолятов горохового белка при значениях рН в диапазоне 3.0–7.0, включая растворимость, эмульгирующую активность, стабильность эмульсии, пенообразование и стабильность пены. Были идентифицированы закваски, позволяющие существенно повысить ряд параметров, имеющих важнейшее значение при производстве растительных аналогов животных продуктов, а также продуктов для спортивного и лечебного питания.

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

ФИНАНСИРОВАНИЕ

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”.

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. Meinschmidt P., Ueberham E., Lehmann J., Schweiggert-Weisz U., Eisner P. // Food Chem. 2016. V. 205. P. 229–238. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.03.016>
2. Schlegel K., Leidigkeit A., Eisner P., Schweiggert-Weisz U. // Foods. 2019. V. 8. P. 678. <https://doi.org/10.3390/foods8120678>
3. Lampart-Szczapa E., Konieczny P., Nogala-Kałucka M., Walczak S., Kossowska I., Malinowska M. // Food Chem. 2006. V. 96. P. 290–296. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.02.0315>
4. Liu Y., Zhu S., Li Y., Sun F., Huang D., Chen X. // Food Res. Int. 2023. V. 165. P. 112453. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2022.112453>
5. Schlegel K., Lidzba N., Ueberham E., Eisner P., Schweiggert-Weisz U. // Foods. 2021. V. 10. № 2. P. 281. <https://doi.org/10.3390/foods10020281>
6. Biscola V., de Olmos A. R., Choiset Y., Rabesona H., Garro M. S., Mozzi F., et al. // Beneficial Microbes. 2017. V. 8. № 4. P. 635–643. <https://doi.org/10.3920/BM2016.0171>
7. El Mecherfi K.-E., Lupi R., Cherkaoui M., Albuquerque M. A., Todorov S. D., Tranquet O. et al. // Probiotics and Antimicrobial Proteins. 2022. V. 14. № 5. P. 779–791. <https://doi.org/10.1007/s12602-021-09808-1>
8. Lu Q., Zuo L., Wu Z., Li X., Tong P., Wu Y. et al. // Food Chemistry. 2022. V. 366 P. 130569. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.130569>
9. Nordström E.A., Teixeira C., Montelius C., Jeppsson B., Larsson N. // Benef. Microbes. 2021. V. 12. № 5. P. 441–465. <https://doi.org/10.3920/BM2020.019>
10. Muñoz R., Rivas B.L., Rodríguez H., Esteban-Torres M., Reverón I. et al. // Int. J. Food Microbiol. 2024. V. 412. P. 110555. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2023.110555>
11. García Arteaga V., Leffler S., Muranyi I., Eisner P., Schweiggert-Weisz U. // Curr. Res. Food Sci. 2020. V. 4. P. 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.crfs.2020.12.001>

12. *Vazquez-Munoz R., Dongari-Bagtzoglou A.* // *Front Oral Health*. 2021. V. 2. P. 689382.
<https://doi.org/10.3389/froh.2021.689382>
13. *Функ И.А., Иркитова А.Н.* // *Acta Biologica Sibirica*. 2015. Т.1 . №1–2. С. 85–93.
<https://doi.org/10.14258/abs.v1i1-2.844>
14. *Стоянова Л.Г., Дбар С.Д., Полянская И.С.* // *Биотехнология*. 2022. Т. 38. № 1. С. 3–12.
<https://doi.org/10.56304/S0234275822010070>
15. *Illikoud N., do Carmo F.L.R., Daniel N., Jan G., Gagnaire V.* // *Food Res Int*. 2023. V. 166. P. 112557.
<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2023.112557>
16. *Higgins T.J., Chandler P.M., Randall P.J., Spencer D., Beach L.R., Blagrove R.J. et al.* // *J. Biol. Chem*. 1986. V. 261. P. 11124–11130.
[https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(18\)67357-0](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(18)67357-0)
17. *Stone A.K., Karalash A., Tyler R.T., Warkentin T.D., Nickerson N.T.* // *Food Research International*. 2015. V. 76. P. 31–38.
<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2014.11.017>
18. *Asen N.D., Aluko R.E.* // *Front Nutr*. 2022. V. 9. P. 852225.
<https://doi.org/10.3389/fnut.2022.852225>
19. *Ivanova P., Kalaydzhiyev H., Dessev T.T., Silva C.L.M., Rustad T., Chalova V.I.J.* // *Food Sci. Technol*. 2018. V. 55. № 9. P. 3792–3798.
<https://doi.org/10.1007/s13197-018-3311-y>
20. *Kravchenko I.V., Furalyov V.A., Kostyleva E.V., Sereda A.S., Kurbatova E.I., Tsurikova N.V. et al.* // *Appl. Biochem. Microbiol*. 2024. V. 60. № 1. P. 106–117.
<https://doi.org/10.1134/S0003683824010083>

Effect of Fermentation by Lactobacilli on the Functional — Technological Properties of Pea Protein Isolates

I. V. Kravchenko^{a,*}, V. A. Furalyov^a, E. S. Pshennikova^a, A. N. Fedorov^a, and V. O. Popov^a

^a*Bach Institute of Biochemistry, Federal Research Centre “Fundamentals of Biotechnology” of the Russian Academy of Sciences, Moscow, 119071 Russia*

^{*}*e-mail: ink71@yandex.ru*

The effect of fermentation with three bacterial preparations: BK-Uglich-K, BK-Uglich-AB and BK-Uglich-P (Russia) on solubility, emulsifying activity, emulsion stability, foaming and foam stability of isolates prepared from two varieties of peas was studied. It has been shown that fermentation with bacterial cultures can increase the solubility of isolates at pH 3 by 4 to 17.5 times, at pH 4 — more than 3 times, at pH 5 — by 23% to 80%, at pH 6 — by 27% to 43%, at pH 7 — by 18% to 27%. Fermentation increased the index of emulsifying activity of isolates at pH 5 by 37% (in one of the varieties), the stability index of the emulsion at pH 3 by 19% to 28%, at pH 4 — by 17%, at pH 5 — by 18% (in one of the varieties), at pH 6 — by 16% to 35%. Fermentation increased the foaming of isolates at pH 3 by 2.2 times, at pH 4 by 1.4 to 2.4 times, at pH 5 and 6 by 1.8 to 4 times, at pH 7 by 2.1 to 2.4 times; at the same time, the stability of the foam of isolates at pH 4 increased by 11% to 22%, at pH 5 — by 11% to 13%, at pH 6 — by 15% (in one of the varieties), at pH 7 — 28% (in one of the varieties). The results obtained made it possible to select bacterial preparations to improve the parameters of pea protein isolates intended for the manufacture of various food products: pea cola (BK-Uglich-P), analogues of fermented milk products and analogues of milk (BK-Uglich-AB).

Keywords: pea protein isolate, lactobacilli, functional, technological properties