

УДК 637.131.8:664.696.3

DOI: <http://dx.doi.org/10.20914/2310-1202-2016-1-221-226>

Ведущий научный сотрудник Л.А. Самофалова

(ФГБНУ ВНИИ ЗБК) лаборатория физиологии и биохимии.

тел. 8 (4862) 403130

E-mail: lalsamof@rambler.ru

доцент О.В. Сафронова, доцент А.П. Симоненкова,

(Приокский государственный университет)

кафедра технология и товароведения продуктов питания.

тел. 8 (4862) 419899

E-mail: ivanova@ostu.ru

Professor L.A. Samofalova

(Federal state budgetary scientific institutions All-Russian research INSTITUTE legumes and cereal crops) Physiology and Biochemistry Laboratory. phone (4862) 403130

E-mail: lalsamof@rambler.ru

associate professor O.V. Safronova, associate professor A.P. Simonenkova

(Prioksky State University) Department of technology and commodity science of food.

phone 8 (4862) 419899

E-mail: ivanova@ostu.ru

Выбор технологических параметров получения устойчивой дисперсной системы растительной основы из биоактивированных двудольных семян

The choice of process parameters to obtain a stable dispersion system of plant-based bioactivated dicotyledonous seeds

Реферат. Статья посвящена поиску унификации технологических подходов для повышения эффективности выделения белкового комплекса и устойчивости растительной основы из семян двудольных хозяйственно-значимых культур сои, конопли, гречихи. Неравномерная локализация азотистых веществ в семенах во многом определяет и степень доступности белковых комплексов для экстрагирования. Естественная ферментация запасных белков в клеточных структурах при запуске процесса прорастания приводит к накоплению растворимого азота, а изменение солевого состава протоплазмы способствует переходу в раствор нерастворимых комплексов в виде коллоидов. Показано, что у сухих семян тонкое измельчение повышает эффективность экстракции в 1,3–1,6 раза, а биоактивация при грубом измельчении в 1,6–1,8 раза. По степени выраженности вкусовых ощущений и полноте химического состава требованиям удовлетворяют дисперсии с содержанием сухих веществ у гречишной основы $8,1 \pm 0,7$ %, у конопляной и соевой – $9,5 \pm 1,3$ %, при гидромодуле 1:4 – 1:7. По результатам экстракции протеина семян гречихи сделан вывод о необходимости дифференцированного подхода к подбору условий создания пищевой основы. Учитывая, что содержание кальция в семенах гречихи в 17–25 раз меньше, чем в масличных семенах, а содержание фосфора 1,6–2 раза меньше, вклад электростатических сил в растворимость белков небольшой и необходимы дополнительные воздействия для активизации белкового комплекса. Для прогнозирования свойств растительной основы из биоактивированных семян сои и конопли было применено центральное композиционное ротатабельное униформпланирование и выбран полный факторный эксперимент с факториальной схемой $3 \times 3 \times 3$ (3^3). Установлена предпочтительная совокупность значений входных параметров X_1, X_2, X_3 , обеспечивающих максимум Y_1, Y_2, Y_3 : физиологическая фаза – проклёвывание, массовая доля растворимого азота в дисперсии 66,5 %, температура экстрагирования 60 °С, дисперсность 0,5 мм. Разработанные технологии растительной основы из биоактивированных семян сои и культурной конопли предназначены для производства функциональных напитков.

© Самофалова Л.А., Сафронова О.В., Симоненкова А.П., 2016

Для цитирования

Самофалова Л.А., Сафронова О.В., Симоненкова А.П. Выбор технологических параметров получения устойчивой дисперсной системы растительной основы из биоактивированных двудольных семян // Вестник Воронежского государственного университета инженерных технологий. 2016. №1. С. 221-226. doi:10.20914/2310-1202-2016-1-221-226.

For cite

Samofalova L.A., Safronova O.V., Simonenkova A.P. The choice of process parameters to obtain a stable dispersion system of plant-based bioactivated dicotyledonous seeds. *Vestnik voronezhskogo gosudarstvennogo universiteta inzhenernykh tekhnologij* [Proceedings of the Voronezh state university of engineering technologies]. 2016, no. 1, pp. 221-226. (In Russ.). doi: 10.20914/2310-1202-2016-1-221-226.

Summary. The article deals with the search for the unification of technological approaches to increase the efficiency of separation of the protein complex and stability of the plant foundations from seed dicotyledonous economically important crops of soybean, hemp, buckwheat. Uneven localization of nitrogenous substances in the seed largely determines the accessibility of protein complexes for extraction. Natural fermentation of spare proteins in cellular structures when the germination process starts leads to the accumulation of soluble nitrogen, and the change in the salt composition of protoplasm facilitates the transition in the solution of insoluble complexes in the form of colloids. It is shown that fine grinding of dry seeds increases the efficiency of extraction by 1.3–1.6 times, while rough grinding increases bioactivity by 1.6–1.8 times. The dispersion containing $8.1 \pm 0.7\%$ of dry matter at buckwheat bases and $9.5 \pm 1.3\%$ at hemp and soy bases with the water ratio 1:4 to 1:7 satisfy the requirements of taste sensations and fullness of the chemical composition. Based on the results of the extraction of protein of buckwheat seeds the conclusion has been drawn that there is a need for a differentiated approach to selecting conditions for the creation of food framework. Taking into consideration the fact that the amount of calcium in buckwheat seeds is 17–25 times smaller than in oil seeds and the quantity of phosphorus is 1.6–2 times smaller, the contribution of electrostatic forces in the protein solubility is small and the additional actions to activate the protein complex are required. To predict the properties of vegetable bases of bioactivated soybean seeds and hemp, the central composite uniform-rotatable planning was applied and the full factorial experiment with factorial scheme $3 \times 3 \times 3$ (33) was selected. The preferred combination of values of the input parameters X1, X2, X3 was discovered. They provide for the maximum of Y1, Y2, Y3...: physiological phase – germination, mass fraction of soluble nitrogen in the variance of 66.5%, extraction temperature of 60°C, the dispersion of 0.5 mm. The developed technology of plant basis of bioactivating seeds of soybean cultural, and hemp are designed for the production of functional drinks.

Ключевые слова: экстракция, биоактивированные семена, растительная основа, растворимость белкового комплекса, изменение физиологического состояния семян, степень измельчения набухших семян, температура экстракции, математическое планирование эксперимента.

Keywords: extraction, bioactivatory seeds, vegetable base, solubility of the protein complex, change in the physiological state of seeds, degree of grinding of the swollen seeds, extraction temperature, mathematical planning of the experiment.

Экстракция применяется в технологии производства белковых препаратов из шротов масличных семян и при изготовлении растительной основы из цельных семян. По мнению специалистов [1, 2], однозначной характеристики оптимальных условий процесса экстракции белков из различных семян не может быть в силу разной природы белков, их свойств и свойств небелковых компонентов, составляющих то или иное исходное сырьё [3]. Эти факторы усложняют моделирование процесса экстракции, и непосредственно сам процесс экстракции ещё недостаточно изучен.

Примером является соевое молоко, представляющее собой тонкую дисперсию белков и липидов в водном растворе с высокой питательной ценностью, приближенное к коровьему молоку по сухим веществам, содержанию белков и жиров [2, 4].

Традиционные технологические подходы при переработке семян бобовых основаны на изменении природы белкового комплекса с помощью жёстких воздействий химическими растворителями (кислота, щелочь) и физическими факторами (температура, давление, облучение), позволяющими повысить эффективность извлечения белков. Однако это негативно сказывается на качестве готовых продуктов.

В новейших технологиях производства соевого молока выделяются четыре основных направления:

– повышение функционально-технологических свойств (ФТС) соевых белков биотехнологическими методами, путём их модификации биохимическими, химическими, физическими воздействиями;

– инактивация ферментов соевых семян;
– полнота экстракции (перевод питательных веществ сои в соевое молоко);
– повышение устойчивости полидисперсной системы и стойкости соевого молока при хранении, снижение себестоимости производства.

Целью данного исследования был поиск унификации технологических подходов для повышения эффективности выделения белкового комплекса и устойчивости растительной основы из семян двудольных хозяйственно значимых культур.

Объектами исследования были прорастающие семена сои, культурной конопли, гречихи, запасные белки которых 11–13S объединяет филогенетическое родство; а также растительная основа из биоактивированных семян.

Эффективность процесса экстракции белкового комплекса обусловлена рядом факторов, важнейшими из которых являются pH, тип и концентрация растворителя, структура экстрагируемого материала, гидромодуль, перемешивание, температура, продолжительность.

Из анализа теоретических источников приходим к выводу, что необходимость тонкого размола семян диктуется тем, что белок как количественно, так и качественно неравномерно распределён в отдельных органеллах. В зерне хлебных злаков (Мунк Л., 1973) содержание сырого белка больше всего в зародыше – 30,1 %, в то время как в муке из целого зерна – 10,7 %, в алейроновом слое – 12,8–19,3 %, в центре эндосперма 10 %, а в промежуточных фракциях – 14,2 %. Кроме того, во внешних частях эндосперма повышено содержание отдельных элементов (Ca, K, Fe, P₂O₅), влияющих на

экстрактивность белков. Также неравномерно распределены белки и в зерне гречихи, основное их количество – 50 % от общего запаса находится в зародыше [5]. У кукурузы белок в основном накапливается в эндосперме. В семенах конопли алейроновые зёрна с глобоидами и сложные с включениями – кристаллоидами локализованы в эндосперме и распределены в объёме клетки между сферосомами, заполненными липидами. Альбумины и запасной белок присутствуют в семядолях зародыша [1]. Такая неравномерная локализация азотистых веществ в семенах во многом определяет и степень доступности белковых комплексов для экстрагирования.

Нашими исследованиями [4] установлено: при разработке технологии растительной основы из биоактивированных семян главной задачей является, с одной стороны, эффективное экстрагирование функциональных пептидных комплексов и растворимых азотистых фракций, подготовленных запуском метаболических процессов предшествующих эндо-ферментов, с другой стороны, перевод в дисперсию в виде коллоидов нерастворимых белков, остающихся в алейроновых зёрнах. При этом агрегативная устойчивость системы зависит от функциональных свойств модифицированных собственно гидролизом клеточных полимеров.

Таким образом, технологическая задача упрощается и среди указанных выше факторов необходимо учитывать только степень измельчения семян и температуру экстракции. Продолжительность экстракции может быть минимальной, так как запасные белки активированных семян становятся подвижными.

Гидромодуль при получении растительной основы определяется поставленной технологической задачей и заданным содержанием сухих веществ – получение 6 %, 10 % или 12 % дисперсии, учитывается и степень обводнения набухших семян. Опытным путём было установлено, что по степени выраженности вкусовых ощущений и полноте химического состава удовлетворяют дисперсии, содержащие от $8,1 \pm 0,7$ % сухих веществ у гречишной основы, до $9,5 \pm 1,3$ % – у конопляной и соевой, полученные при гидромодуле 1:4 – 1:7.

Уровень pH определяется внутриклеточными процессами в биоактивированных семенах и, как показывают исследования, является близким к нейтральному значению. Нам установлено, что естественная ферментация белковых комплексов в клеточных структурах приводит к накоплению растворимого азота, а изменение солевого состава протоплазмы

способствует переходу в раствор белков в виде коллоидов. Таким образом, любое изменение pH приведёт к нарушению достигнутого баланса и даст отрицательный результат. Основываясь на этом, процесс экстракции питательных веществ из семян сои и конопли проводили, не применяя жёсткие детергенты.

Исследованиями установлено [4, 6], что на степень извлечения белков из биоактивированных семян влияют два фактора – глубина гидролиза под действием собственных ферментов и дисперсность частиц, а точнее общая величина активной поверхности измельчённых семян. Вещества, перешедшие в раствор, образуют дисперсную систему и тем более устойчивую, чем мельче раздроблены семена.

Методика постановки опытов. Разную степень измельчения достигали с помощью зерновой и коллоидной мельниц и дополнительным растиранием в лабораторной ступке. Размеры элементов структуры дисперсий изучали с помощью микроскопа Jenaval, K. Zeiss, Jena; Axioscop 2 MAT, программа Axio Vision Graphite. В лабораторных условиях были изучены влияние степени измельчения биоактивированных семян на фракционный состав белков и выход белков в раствор при одноступенчатой и двухступенчатой экстракции.

Методика получения полидисперсной системы из семян включала следующие этапы: обводнение семян и последующую инкубацию во влажной среде до «проклёвывания», отбор по физиологическим фазам, осторожное подсушивание в мягких режимах до влажности $25 \pm 1,5$ %, обрушивание, измельчение, смешивание измельчённого сырья с водой при гидромодуле 1:5–7, настаивание, фильтрование. Сухие семена предварительно обезжиривались в растворителе, обрушивались и измельчались. Температурный режим экстракции варьировали от 40 до 75 °C с интервалом 5 °C. В каждом случае объём выборки составлял $n = 12$. Агрегативная устойчивость оценивалась по показателю индекс стабильности, содержание белка по Лоури. Полученные экспериментальные данные обрабатывались методами математической статистики в программе Excel.

Обсуждение результатов. При прорастании семена набухают и значительно увеличиваются в размерах. Эндосперм и зародыш разбухают, заполняют собой пространство под оболочкой, по мере прорастания растягивают и раздвигают оболочку, увеличивая пластическую деформацию. При этом растяжению подвергаются все клетки, особенно зародыша, в котором

сосредоточена большая часть растворимых белков. Исследования показали: семена конопли и гречихи увеличиваются по массе в 1,5–1,8 раза, семена сои – в 2,5 раза. Гидратация самих белковых структур также способствует увеличению массы и объёма молекул. Молекулы белков набухших семян более рыхлые и объёмные. В рыхлых молекулах пептидные связи более доступны действию ферментов.

Результаты исследований по количеству экстрагируемого азота водо- и солерастворимых белковых фракций из семян конопли, сои, гречихи в зависимости от физиологического состояния и степени помола, представлены на рисунке 1.

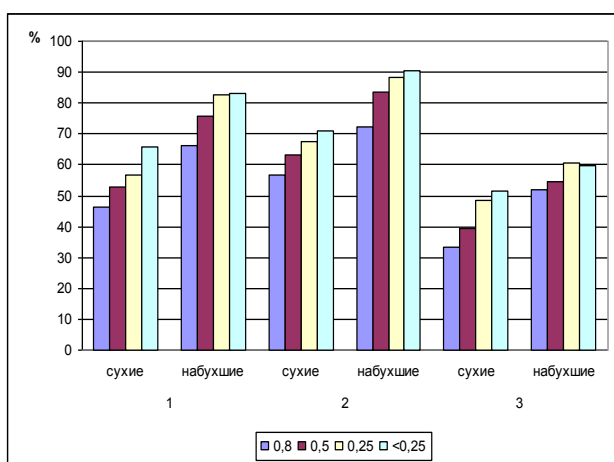


Рисунок 1. Количество экстрагируемого азота белковых фракций из семян конопли (1), сои (2), гречихи (3) в зависимости от физиологического состояния и степени помола

Установлено: у сухих семян при общем более низком уровне растворимости белков – 46–56 % у конопли и сои, около 33 % у гречихи, наибольший эффект даёт тонкое измельчение (соответственно: 65,7 %; 70,9 %; 51,3 %).

Тогда как, в материале из биоактивированных семян достаточно размалывания до размеров 0,5–0,25 мм – 82,9; 89,5; 60,5 % соответственно, а переход от грубого к тонкому измельчению лишь незначительно увеличивает экстрагируемость.

Обращает на себя внимание низкая подвижность азота из семян гречихи, в том числе и набухших, а при переходе к тонкому измельчению даже снижение растворимости. Это, по-видимому, объясняется тем, что у сухих семян из более крупных агрегатов муки в первую очередь затрудняется экстракция белков солерастворимой фракции. Поскольку в сухих семенах гречихи запасные глобулины в основном сосредоточены в зародыше, можно

предположить, что экстракция затруднена из-за слабого измельчения этой части семени. Тонкое измельчение позволяет перевести в коллоидное состояние и часть щёлочерастворимых белков и нерастворимого остатка.

У набухших семян гречихи переход азота заметно выше, однако, максимум достигает 60,5 %, т.е. на 22–28 % ниже, чем у масличных семян. Как мы предполагаем, это связано с особенностями химического состава и биохимических процессов при прорастании – запасным веществом, источником энергии прорастания у гречихи является крахмал, и, по свидетельству [5], диссоциация и гидролиз белкового комплекса начинаются только на третий день прорастания. Это подтверждается нашими результатами измерения рН экстрактов из набухших и прорастающих семян гречихи – 5,6, т.е. в кислой области, а не в близкой к щелочной, как у сои и конопли.

Следует заметить, что вклад электростатических сил в растворимость белков зависит и от присутствия солей [3, 7]. Учитывая, что содержание кальция в семенах гречихи в 17–25 раз меньше, чем в масличных семенах, а содержание фосфора 1,6–2 раза меньше, вклад электростатических сил в растворимость белков небольшой и необходимы дополнительные воздействия для активизации белкового комплекса. Кальций определяет коллоидно-химические свойства цитоплазмы и речь должна идти именно о переводе нерастворимого белкового остатка в коллоидное состояние, поддерживаемого в равновесии при наличии достаточного количества катионов и анионов. Учитывая рассмотренные особенности экстракции белкового комплекса семян гречихи, пришли к выводу о необходимости дифференцированного подхода к подбору условий создания пищевой основы.

Динамика фракционного состава и изменения полипептидного состава белков на разных фазах прорастания у сои и конопли, убедительно показали, что протеиновый комплекс претерпевает существенные изменения, прежде всего качественного характера: глубоким изменениям подвергается растворимость, устойчивость в растворе, эмульгирующие свойства белков.

Эти исследования позволили применить математический аппарат для прогнозирования свойств экстрактов.

В качестве координат начала поиска оптимальных параметров экстрагирования нами были заданы три физиологические фазы, соответствующие смене функциональных характеристик – набухание (6–10 ч), запуск биохимических процессов (20–24 ч), прорастание

(46–48 ч). Для исследования было применено центральное композиционное ротатабельное униформпланирование и был выбран полный факторный эксперимент с факториальной схемой $3 \times 3 \times 3$ (3^3).

В качестве управляющих факторов были выбраны:

X_1 – содержание подвижного азота, в сенах, %;

X_2 – температура экстрагирования, °С;

X_3 – степень измельчения материала по среднему диаметру частиц, d_{cp} , мм.

Критерии оптимизации:

Y_1 – массовая доля протеина на а.с.о.в. в дисперсии, %;

Y_2 – устойчивость дисперсии, индекс стабильности, %.

Уровни факторов и интервал их варьирования приведены в таблице 1, результаты эксперимента в таблице 2.

Т а б л и ц а 1

Диапазон изменения факторов в натуральных и кодированных единицах

Значение	Управляемые факторы					
	Натуральные единицы			Кодированные единицы		
	Подвижный азот, %	Температура, °С	Дисперсность, мм	X_1	X_2	X_3
max	85,3	80	0,1	+1	+1	-1
nom	75,4	60	0,3	0	0	0
min	65,3	40	0,5	-1	-1	+1
интервал варьирования	10	20	0,2	-	-	-

При обработке результатов эксперимента были применены статистические критерии: проверка однородности дисперсий – критерий Кохрена, значимость коэффициентов уравнений регрессии – критерий Стьюдента, адекватность уравнений – критерий Фишера.

В результате статистической обработки экспериментальных данных получены уравнения регрессии:

– по массовой доле протеина в дисперсии:

$$Y_1 = 50,59 + 10,43 x_1 - 2,55 x_1^2 - 0,84 x_2 + 0,45 x_1 x_2 - 2,88 x_2^2 + 7,62 x_3 + 0,89 x_1 x_3; \quad (1)$$

– по индексу стабильности белкового комплекса:

$$Y_2 = 17,51 - 16,97 x_1 + 5,73 x_1^2 + 1,59 x_2 - 1,01 x_1 x_2 + 2,94 x_2^2 - 6,73 x_3 + 1,19 x_1 x_3 + 2,82 x_1^2 x_3. \quad (2)$$

Полученные уравнения были использованы в качестве математической модели, позволяющей отобразить развитие процесса и провести поиск набора предпочтительных параметров, обеспечивающих максимальное значение

выходных переменных величин Y_1, Y_2, Y_3 . Для визуализации математической обработки данных использовали руссифицированную версию программы MathCad.

В результате поиска наибольшего значения функции 3 переменных в узлах 3-мерной числовой решётки при заданных шагах изменения входных переменных и координат начала поиска установлена предпочтительная совокупность значений входных параметров X_1, X_2, X_3 , обеспечивающих максимум $Y_1, Y_2, Y_3 \dots$: физиологическая фаза – проклёвывание, массовая доля растворимого азота в дисперсии – 66,5 %, температура экстрагирования – 60 °С, дисперсность – 0,5 мм.

Тем не менее, следует отметить, что данный результат получен на основе анализа модельных представлений о процессе, которые не могут учесть влияния всех факторов, особенно трудно формализуемых, таких как степень активизации белкового комплекса при запуске прорастания.

Результатом проведённых исследований явилась разработка технологии растительной основы из биоактивированных семян сои и культурной конопли, предназначенной для производства функциональных напитков и комбинированных растительно-молочных продуктов (таблица 2). Новизна решений подтверждена патентами №2185069, №2338432. Разработаны и утверждены пакеты нормативных документов, технологии апробированы в производственных условиях.

Т а б л и ц а 2

Характеристика растительной основы из биоактивированных семян

Наименование показателя	Результаты исследования	
	Основа конопляная	Основа соевая
М. д. с. в., %	8,8±0,7	8,5±0,5
М. д. б., %	2,9±0,5	2,3±0,5
М. д. ж., %	3,4±0,6	1,4±0,3
Активность ионов водорода, рН	6,4	6,5
М. д. у., %	1,8±0,5	4,5±0,8
Стабильность эмульсии, при 20°С, %	100	100
Плотность, при 20°С, г/см ³	1,020	1,018

Оба вида основы представляют собой низкокалорийные напитки, полноценные по основному химическому составу, приближенные к коровьему молоку по содержанию сухих веществ и физико-химическим показателям, некоторым технологическим свойствам, не содержат холестерина и лактозы. По физическому состоянию (структуре) – это полидисперсные системы, устойчивые эмульсии прямого типа.

ЛИТЕРАТУРА

- 1 Щербakov В.Г., Лобанов В.Г., Прудникова Т.Н. и др. Биохимия растительного сырья. М.: Колос, 1999. 376 с.
- 2 Бегеулов М.Ш. Основы переработки семян сои. М: ДеЛи принт, 2006. 181 с.
- 3 Farzana K., Mahmood S., Murtaza G. Physico-chemical Changes in Soybean Oil during Germination. Philipp Agric Scientist. 2011. V. 94. № 3. P. 312–317.
- 4 Самофалова Л.А., Шмаркова Л.И. Анализ влияния технологических параметров на агрегационную устойчивость растительной основы и эффективность извлечения белков из прорастающих семян // Технология и товароведение инновационных пищевых продуктов. 2010. № 2. С. 17–23.
- 5 Вайнтрауб И.А., Белозерский М.А., Гумилевская Н.А. и др. Растительные белки и их биосинтез. М.: Наука, 1978. 289 с.
- 6 Самофалова Л.А. Биоактивация белкового комплекса двудольных семян при прорастании и перспективы использования в технологии растительных аналогов молока // Хранение и переработка сельхозсырья. 2008. № 11. С. 40–45.
- 7 Grace O.O., Sogo J.O., James A.A., Olanike O.L. Effect of germination process on some anti-nutritional factors, proximate composition, mineral and vitamin contents of soybean. Journal of Chemical and Pharmaceutical Research. 2015. 7(11). P. 494–498.

REFERENCES

- 1 Shcherbakov V.G., Lobanov V.G., Prudnikova T.N. et al. Biokhimiya rastitel'nogo syr'ya [Biochemistry plant raw materials]. Moscow, Kolos, 1999. 376 p. (In Russ.).
- 2 Begeulov M. Sh. Osnovy pererabotki semyan soi [Foundation for processing of soya seeds]. Moscow, Delhi print, 2006. 181 p. (In Russ.).
- 3 Farzana K., Mahmood S., Murtaza G. Physico-chemical Changes in Soybean Oil during Germination. Philipp Agric Scientist, 2011, vol. 94, no. 3, pp. 312–317.
- 4 Samofalova L.A., Shmarkova L.I. The analysis of influence of technological parameters on agra-navigation the stability of the plant foundations and the efficiency of extraction of proteins from pro-growing seeds. *Tekhnologiya i tovarovedenie innovatsionnykh pishchevykh produktov* [Technology and merchandising of the innovative foodstuff], 2010, no. 2, pp. 17–23. (In Russ.).
- 5 Weintraub I.A., Belozerskii M.A., Gumilevskaya N.A. et al. Rastitel'nye belki [Vegetable proteins and their biosynthesis]. Moscow, Nauka, 1978. 289 p. (In Russ.).
- 6 Samofalova L.A. Bioactive protein complex dicotyledonous seeds during germination and prospects for the use in technology analogues of vegetable milk. *Khranenie i pererabotka sel'khozsyrya* [Storage and processing of farm products], 2008, no. 11, pp. 40–45. (In Russ.).
- 7 Grace O.O., Sogo J.O., James A.A., Olanike O.L. Effect of germination process on some anti-nutritional factors, proximate composition, mineral and vitamin contents of soybean. Journal of Chemical and Pharmaceutical Research, 2015, no. 7(11), pp. 494–498.