

3. Землянухин А. А., Землянухин Л. А. Большой практикум по физиологии и биохимии растений. Воронеж: ВГУ, 1996. 188 с.

4. Васильченко Е. Н., Жужжалова Т. П., Землянухина О. З., Карпеченко Н. А. Особенности морфогенеза и молекулярно-биохимических свойств гаплоидных регенерантов сахарной свеклы // Сахарная свёкла. 2017. № 8. С. 14–20.

UDC 633.63:581.143.6

Zemlyanukhina O. A., Vasilchenko E. N.

### **Comparative investigation of the physiological and biochemical properties of *Beta vulgaris* L. haploid lines**

**Summary.** The aim of the work was to study the isoenzyme spectra of several lines of haploid regenerants of sugar beet in comparison with the parent forms in order to identify the most interesting ones for further selection. The donor material was the MS-form (male-sterile form), haploid lines derived from it, as well as the fertile donor and its haploid lines. It was shown that the spectra of two enzymes – isocitrate dehydrogenase and malic enzyme are polymorphic, and the enzyme 6-phosphogluconate dehydrogenase is monomorphic and cannot be used in further selection.

**Keywords:** sugar beet, regenerants, selection, isoenzyme spectra, 6-phosphogluconate dehydrogenase, malic enzyme, isocitrate dehydrogenase, polymorphic.

**DOI 10.33952/2542-0720-2020-5-9-10-92**

УДК 664.38

Куликов Денис Сергеевич<sup>1</sup>, Колпакова Валентина Васильевна<sup>1</sup>, Гулакова Валентина Андреевна<sup>1</sup>, Уланова Рузалия Владимировна<sup>2</sup>, Чумикина Людмила Васильевна<sup>3</sup>

### **Биотехнологические процессы переработки зерна гороха с получением концентрированных белковых препаратов**

<sup>1</sup>ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт крахмалопродуктов – филиал Федерального научного центра пищевых систем им. В.М. Горбатова РАН»;

<sup>2</sup>ФГБНУ «Институт микробиологии им. С.Н. Виноградского, Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН»;

<sup>3</sup>ФГБНУ «Институт биохимии им. А.Н. Баха, Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН»

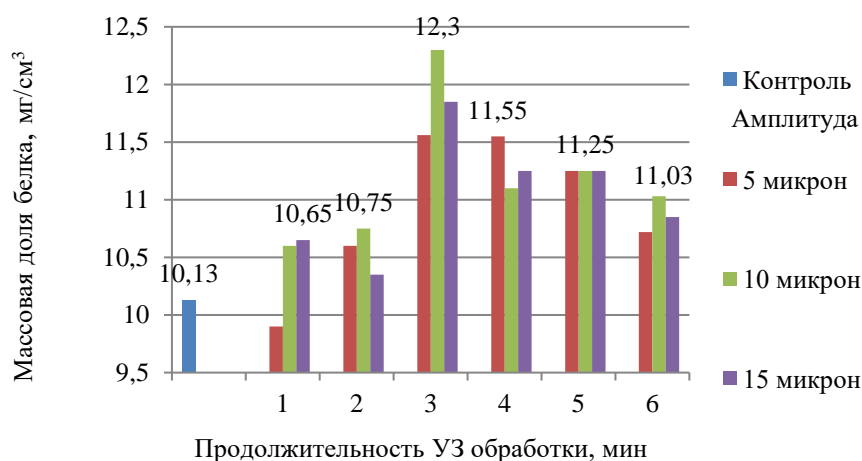
e-mail: val-kolpakova@rambler.ru

Дефицит полноценного белка приводит к увеличению интереса населения к альтернативным источникам белка [1]. Особый интерес вызывает горох, использование которого позволяет создавать технологии белковых концентратов, изолятов и ряда побочных продуктов [2].

Целью исследований явилось определение закономерностей влияния технологических факторов и ультразвукового воздействия (УЗВ) на растворимость и выход горохового белка, произведенного биотехнологическим способом.

В качестве объекта исследования использовали гороховую муку сорта «Ямал» с 88,4 % СВ, массовая доля, % на СВ: белок (Nx 6,25) – 25,7; зола – 2,67; жир – 1,46; крахмал – 51,50; углеводы – 18,76. Используются ферментные препараты (ФП) фирмы Novozymes A/S, (Дания): Shearzym 500 L, Viscoferm L, Fungamyl 800 L, AMG 300, Novozyme 25008, Distizym Protacid (фирм Erbslon). Массовую долю белка определяли по ГОСТ 10846 [3], влаги – по ГОСТ 13586.5 [4]; золы – по ГОСТ 27494 [5]; жира – по ГОСТ 29033 [6]. Аминокислотный состав (АС) определяли на хроматографе модели L-8800 фирмы “Hitachi” (Япония) в стандартном режиме анализа белковых гидролизатов. Ультразвуковую (УЗ) обработку белковой суспензии проводили на аппарате Soniprep 150 ME. Фракционный состав белков определяли по методу Осборна в модификации Бушука [7]. Обработку экспериментальных данных проводили с программами Table Curve 2D 5.1, Table Curve 3D 4.0, Mathematica 10.3 и Statistica 10.

Для выбора способа экстракции белков гороховой муки исследован их фракционный состав. Гороховая мука содержала 57,05 % водорастворимых белков; 23,04 % солерастворимых; 2,94 % спирторастворимых; 0,61 % кислоторастворимых; 10,40 % щелочерастворимых и 5,96–10,86 % склеротических белков. Чтобы не использовать раствор щелочи для полного перевода белков в раствор, исследовали влияние ФП на показатель растворимости по стадиям: на первой и второй стадиях использовали карбогидразы: Viscoferm L и Fungamyl 800 L – на первой стадии, Shearzym 500 L и AMG 300 L – на второй стадии и протеазу Distizym Protacid. – на третьей стадии. Более подробно процесс описан в работе [8]. Составлена матрица планирования эксперимента зависимости растворимости белка муки от концентрации ФП, продолжительности экстракции, гидромодуля на первых двух стадиях. Результаты указывали на хорошо выраженные пики зависимости растворимости белка от исследуемых факторов. При оптимальных параметрах экстракции белка на первой–второй стадиях осадок, после центрифугирования дисперсии, обрабатывали на третьей стадии протеазами ФП Distizym. Растворимость белка при этом достигала ~ 30 % от общего его количества в навеске. В итоге в трех стадиях с использованием ФП экстрагировано около 60 % белка. Для повышения растворимости белка проведена обработка исходной суспензии муки и суспензии нерастворимого осадка. Максимальный переход белка в раствор достигался при трехминутной УЗ обработке и амплитуде волны 10 мкм. Растворимость белка по сравнению с контрольным образцом повышалась на 21,42 % (рисунок).



**Рисунок – Влияние УЗ обработки гороховой суспензии на растворимость белка**

Обработка УЗ суспензии муки и нерастворимого остатка обеспечила почти одинаковую растворимость азотистых веществ – 83–84 % ( $N \times 6,25$ ) от количества в сырье.

Для выделения белковых веществ из растворов изменением рН создавали изоэлектрическую точку. Суспензию центрифугировали, отделили надосадочную сыворотку. Осадок высушивали лиофильным способом и получали белковый концентрат (БК) с химическим составом, % на СВ: белок ( $N \times 6,25$ ) –  $70,48 \pm 0,41$ ; зола –  $1,55 \pm 0,07$ ; жир –  $4,47 \pm 0,27$ ; углеводы –  $24,5 \pm 0,76$ . Белок содержал незаменимые аминокислоты, мг/100 г продукта: Thr – 26,41; Met+Cys – 15,20; Val – 26,72; Ile – 30,24; Leu – 53,04; Phe+Tyr – 54,09; Lys – 42,03; Try – 8,66.

Выполнены исследования по определению закономерностей влияния технологических факторов (концентрации ФП, продолжительности ферментации, гидромодуля) и УЗ воздействия на растворимость и выход горохового белка с оптимизацией процесса экстракции с ферментами для получения БК с выходом 83–84%, массовой долей белка  $70,48 \pm 0,41$  и высокой биологической ценностью.

## Литература

1. Soderberg J. Functional properties of legume proteins compared to egg proteins and their potential as egg replacers in vegan food. Publication No. 378. Uppsalla, 2013. 43 p.
2. Pruter T. Alternative crops for a traditional potato starch producer. 69<sup>th</sup> Starch Convention in Detmold, Germany. 2018. 35 p.
3. ГОСТ 10846-91. Зерно и продукты его переработки. Метод определения белка // Зерно. Методы анализа: Сборник ГОСТов. М.: ИПК Издательство стандартов, 2001. 10 с.
4. ГОСТ 13586.5-2015. Зерно. Метод определения влажности. М.: Стандартинформ, 2016. 15 с.
5. ГОСТ 27494-2016. Мука и отруби. Методы определения зольности. М.: Стандартинформ, 2016. 14 с.
6. ГОСТ 29033-91. Зерно и продукты его переработки. Метод определения жира. М.: Издательство стандартов, 1992. 12 с.
7. Вакар А. Б., Колпакова В. В. Растворимость глютеиновой фракции клейковины // Вестник сельскохозяйственной науки. 1976. № 7. С. 45–49.
8. Андреев Н. Р., Колпакова В. В., Гольдштейн В. Г., Кравченко И. К., Уланова Р. В., Гулакова В. А., Шевякова Л. В., Макаренко М. А., Лукин Н. Д. Утилизация вторичных продуктов переработки тритикале с получением кормового микробно-растительного концентрата для прудовых рыб // Юг России: экология, развитие. 2017. Т. 12. № 4. С. 90–104. DOI: 10.18470/1992-1098-2017-4-90-104.

UDC 664.38

Kulikov D. S., Kolpakova V. V., Gulakova V. A., Ulanova R. V., Chumikina L. V.

### **Biotechnological processes of pea grain processing to produce concentrated protein preparations**

**Summary.** A mathematical model has been developed for the dependence of the solubility of pea flour protein on technological factors (concentration of enzyme preparations, duration of fermentation, hydromodule). The optimal technological parameters were determined at 1 + 2 stages of fermentation (concentration of enzyme preparations 170 units/g of DS or 1.5 %/g of protein, duration of fermentation was 4 hours, water module 1:15), at which the solubility and yield of pea protein reached 60 % of total content in raw materials. New information has been obtained on the effect of ultrasonic treatment on a suspension of pea flour to increase protein yield by 23–24 % compared with a control sample with an ultrasound wave amplitude of 10 microns and a processing time of 3 minutes, the final solubility is 83–84 %. The resulting protein product was characterized by high protein content, complementary amino acid composition; it is recommended for use in food purposes.

**Keywords:** enzyme preparations, extraction, peas, protein concentrates, ultrasound.

**DOI 10.33952/2542-0720-2020-5-9-10-93**

УДК 57.085.23; 577.2

Савенко Елена Георгиевна, Мухина Жанна Михайловна, Глазырина Валентина Александровна

### **Использование экспериментальной биотехнологии для ускоренного создания селекционного материала риса *Oryza sativa* L.**

ФГБНУ «Федеральный научный центр риса»  
e-mail: avena5@rambler.ru

Сокращение необходимого для создания сортов времени – основное назначение биотехнологического приема получения удвоенных гаплоидов (DH) в культуре пыльников/микроспор *in vitro*. Среди зерновых культур эффективность метода наиболее высока у риса. В Китае первые сорта риса через культуру пыльников были получены ещё в 1975 г.

Целью исследований являлась разработка схемы ускоренного и массового создания удвоенных гаплоидов риса.

В исследованиях использовали гибриды риса F<sub>1</sub> поколения. Работы вели по общепринятым методикам *in vitro*. Для экстракции ДНК использовали СТАВ-метод, для генотипирования – мультиплексный ПЦР-анализ, для выполнения ДНК-анализа – автоматический генетический анализатор «ABPrism 3130», позволяющий