

МИНИСТЕРСТВО ВЫСШЕГО И СРЕДНЕГО СПЕЦИАЛЬНОГО
ОБРАЗОВАНИЯ РЕСПУБЛИКИ УЗБЕКИСТАН

ТАШКЕНТСКИЙ ХИМИКО-ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЙ ИНСТИТУТ

На правах рукописи
УДК 664.8

АРИФОВА НИГОРА

**ИЗУЧЕНИЕ БЕЛКОВОГО И ЛИПИДНОГО КОМПЛЕКСА
БОБОВЫХ КУЛЬТУР**

ДИССЕРТАЦИОННАЯ

работа на соискание академической степени магистра по специальности
5А321003 – Пищевая безопасность

Научный руководитель:
к.б.н. Куриязова С.М.

ТАШКЕНТ – 2016

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	-3
ГЛАВА I. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	-6
1.1. История, распространение и значение нута	-6
1.2. Пищевая ценность семян нута	-8
1.3. Белковые вещества семян бобовых культур	-11
1.4. Пищевая ценность и товароведные характеристики зерновой фасоли.	-12
1.5. Современные технологии переработки и ассортимент продуктов питания из зернобобового сырья	-18
ГЛАВА II. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ	-22
2.1. Материалы исследований	-22
2.2. Методы исследований	-24
2.3. Характеристика белкового комплекса семян нута	-28
2.4. Методы оценки свойств сырья для приготовления хлеба	-33
2.5. Методы приготовления теста и хлеба. Оценка качества хлеба	-34
Выводы по главе II.	-35
ГЛАВА III. ИССЛЕДОВАНИЕ БЕЛКОВОГО И ЛИПИДНОГО КОМПЛЕКСА ИЗ СЕМЯН БОБОВЫХ КУЛЬТУР	-36
3.1. Белковые ингибиторы протеаз из семян нута	-36
3.2. Действие протеолитических ферментов семян нута на белки нута и пшеницы	-38
3.3. Изменение активности протеолитических ферментов и их белковых ингибиторов при проращении семян нута	-43
3.4. Совершенствование способа влаготермической обработки зерновой фасоли	-45
3.5. Влияние нутовой муки на качество хлеба	-49
Выводы по главе III.	-52
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	-53
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ	-54
СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ	-63

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы. Нут - ценнейшая бобовая культура, известная с древнейших времен. Она широко используется в питании населения различных стран, особенно, странах Азии, в том числе и странах Среднеазиатского региона. Пищевая ценность семян нута обусловлена благоприятным сочетанием в семенах белков, жиров и углеводов, макро- и микроэлементов, витаминов и других биологически активных веществ. Зерно в зрелом виде содержит 18-31% белка, 6% жира, 46 - 48% крахмала, 84 - 86% сухих веществ, 19,9% азотистых веществ, 3,8% золы.

В настоящее время рост производства зернобобовых культур в сочетании с улучшением их биохимических показателей и технологических достоинств - одна из сложных и ответственных задач растениеводства. Изучение сложных физиологических процессов, протекающих в семени на разных этапах его развития позволят найти подходы к направленному формированию биохимических показателей качества семян. Одним из таких важнейших процессов, протекающих в семени является протеолиз запасных белков при прорастании. В нем могут принимать участие как ферменты, содержащиеся в созревших семенах, так и ферменты, синтезирующиеся при прорастании.

Семена нута богаты белком, однако их протеолитические ферменты практически не изучены. В семенах нута показано наличие белковых ингибиторов протеаз, но все они являются ингибиторами экзогенных протеолитических ферментов. Вопрос о взаимодействии белковых ингибиторов протеаз семян нута с собственными протеолитическим ферментами, а, следовательно, и об их роли в регуляции процесса протеолиза запасных белков при прорастании семян нута остается открытым.

Целью работы является изучение белкового и протеолитического комплекса семян бобовых культур, выращенного в Узбекистане, а также выяснение возможных механизмов регуляции их активности в покое и при прорастании.

В соответствии с целью исследования были поставлены следующие **задачи исследования:**

- охарактеризовать белковый комплекс семян бобовых культур (нут), выращенных в условиях Узбекистана;
- выделить и охарактеризовать нейтральные и щелочные протеазы семян бобовых культур (нут);
- изучить взаимодействие протеолитических ферментов семян бобовых культур (нут) с белковыми ингибиторами протеаз;
- исследовать изменение активности протеаз семян бобовых культур (нут) и их белковых ингибиторов при прорастании.

Научная новизна.

- показано наличие в созревших семенах нута протеолитических ферментов разного типа, действующих в нейтральной и щелочной областях рН;
- проведена очистка нейтральной протеазы с оптимумом рН действия 7,0;
- выделен и охарактеризован ранее не описанный в литературе фермент с оптимумом рН действия 10,0;
- показано, что щелочная протеаза относится к ферментам серинового типа, также установлено, что нейтральная и щелочная протеазы семян нута активно гидролизуют запасные белки покоящихся семян.

Предмет исследования: показатели качества (органолептические и физико-химические), пищевая и энергетическая ценность продукции.

Объектом исследования является технология производства овощных напитков.

Практическая значимость исследований состоит в следующем:

Семена нута имеют многоцелевое использование, и в разных технологических операциях состояние белково-протеинозного комплекса играет весьма существенную роль. Так, нутовая мука используется в хлебопечении и при производстве кондитерских изделий, как компонент, повышающий пищевую ценность и вкусовые качества готового продукта. Выявлена способность нейтральных протеаз семян нута гидролизовать белки

пшеницы, что позволит наметить подходы к управлению процессом протеолиза в условиях тестоведения.

Разработана схема выделения нейтральных и щелочных протеаз и их белковых ингибиторов из семян нута.

Показана возможность замены пшеничной муки на нуттовую в количестве 10% при выпечке хлеба, при этом происходит увеличение удельного объема формового хлеба, улучшается окраска и структура корок, сохраняются другие органолептические показатели качества.

Апробация работы. Основные результаты диссертации опубликованы и докладывались на заседаниях семинаров Ташкентского химика - технологического Института, на научно-технической конференции молодых учёных: докторантов, аспирантов, научных сотрудников и студентов бакалавриата и магистратуры «Умидли кимёгарлар -2016», а также в сборнике межвузовских научных работ (2016 год).

Структура и объем диссертации. Диссертация состоит из введения, трех глав с выводами, заключения, списка цитируемой литературы, включающего 103 источников, 5 рисунка, 13 таблиц.

Работа изложена на 63 страницах компьютерного текста.

ГЛАВА I. ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР

1.1. История, распространение и значение нута

Нут - однолетнее растение семейства бобовых культур. В ботаническом отношении этот вид близок к гороху и чечевице. Стебель прямой, чаще ветвистый, в процессе вегетации происходит его одревеснение, в высоту достигает 12 - 82 см. На месте каждого цветка (белого, голубого, иногда красноватого цвета) появляется по одному короткому пузырчато-вздутому бобу, снаружи пушистому, содержащему по два зерна.

Культура нута известна с древнейших времен - более 4000 лет, произрастает и культивируется преимущественно в странах с засушливым климатом. И. В. Сеферова предполагает, что родиной культурного нута является Западная Азия, где и сейчас встречаются близкие к дикорастущие однолетние виды нута [59]. В Азии сконцентрировано более 90% посевов нута относительно мировой площади его возделывания [62].

Существует большое разнообразие форм с крупными, мелкими и средними семенами различной формы и окраски. По размеру семян все сорта делятся на две группы: крупносеменные (12 x 9 мм) и мелкосеменные. Крупносеменные возделываются в Азии, Персии, Таиланде, Сирии, Палестине, Африке (Алжир, Марокко, Тунис), в Западной Европе (Испания, Франция, Италия). Мелкосемянной нут распространен в Персии, Афганистане, Индии, Африке и Средней Азии. В целом по ареалу распространения нута наблюдается снижение числа разновидностей с востока на запад, сопровождающееся снижением доли темноокрашенных и возрастанием доли круглых и шаровидных светлых семян. Частота обнаружения мелких семян снижается, а крупных и очень крупных - возрастает в том же направлении.

В России до 1917 года нут занимал незначительные площади (менее 10 тыс. га). В 1930 - 40-е годы в Советском Союзе площади посевов нута значительно расширились, особенно в Украине, Узбекистане, Азербайджане и на Северном Кавказе. Посевные площади под нутом также возросли в

засушливых областях юго-востока страны [57,58,59,62].

По данным И.И. Мирошниченко и А.М. Павловой [42], посевы нута в СНГ и бывших союзных республиках сосредоточены преимущественно в горных и предгорных районах республик Средней Азии и Закавказья. В Армении нут возделывали на высоте до 1600 м, в Узбекистане - на высоте до 1700 м и в Таджикистане (Горно-Бадахшанская автономная область) - на высоте до 1900 м над уровнем моря. В Узбекистане наибольшие посевы были сосредоточены в Самаркандской, Бухарской, Сурхандарьинской и Кашкадарьинской областях; в Таджикистане - в Кулябской и Гармской областях и Горно-Бадахшанской автономной области (Рушанский и Шугнанский районы); В Туркмении - в Ашхабадской, Мырыйской и Чарджоуской областях. На Украине нут был преимущественно распространен в степных районах Одесской, Николаевской, Кировоградской, Днепропетровской, Харьковской и Полтавской областей.

Хорошие результаты были получены при возделывании нута в лесостепной зоне Алтайского края, где его урожайность была выше традиционно возделываемых культур гороха [82].

На Северном Кавказе, начиная с 50 - 60-х годов XX века площади под нутом расширились в районах неустойчивого и недостаточного увлажнения Краснодарского и Ставропольского краев и в предгорных районах Дагестана. Кроме этого, небольшое распространение нут получил и в Западно-Казахстанской, Актюбинском, Кустанайской, Джамбульской, Джалалабадской, Ошской, Самарской, Чкаловской, Саратовской, Волгоградской областях, южных районах Башкирии и Воронежской области. Северная граница возделывания нута по данным географических опытов, проведенных Всесоюзным институтом растениеводства, может проходить через Курск, Воронеж, Тамбов, Пензу, Казань, Самару [57,62].

Опыты, проведенные в Москве, в Главном Ботаническом саду и в Московской сельскохозяйственной академии им. К.А. Тимирязева, показали, что засухоустойчивые сорта нута могут вызревать в Московской области [11].

По данным В.В. Балашова и др. (6), в России по состоянию на 2001 г. нут

высевали на площади около 28 тыс. га, из них 20 тыс. га - в Волгоградской области, около 6 тыс. га - в Саратовской, остальные - в Ростовской области, Краснодарском и Ставропольском краях, Республике Калмыкия. В Центральном Черноземье посевы этой перспективной культуры невелики - несколько сотен гектаров. Основные посевы в 2003 г. находились в Россошанском и Таловском районах Воронежской области, В Волгоградской области акцент сделан на наиболее перспективные сорта: Волгоградский-5, Волгоградский-10, Прива-1.

Нут, как уже отмечалось выше, является одной из самых засухоустойчивых зернобобовых культур и примерно 74% посевных площадей, занятых нутом сосредоточено в Индии. В среднеазиатских странах посевы нута преимущественно находятся в горных и предгорных районах, и относятся к эндемической мелкосемянной экологической группе [42,57,62]. В Таджикистане районированы следующие сорта нута: ВИР-32, Зимистани, Муктадир, Таджикский, Джалалабадский. Экономическая эффективность возделывания нута сопоставима с ячменем. При этом можно высевать нут в смешанных посевах с бобовыми и злаковыми культурами [60].

Увеличение производства нута, семена которого обладают высокой пищевой ценностью, в первую очередь, белков и эссенциальных нутриентов, связано с решением таких задач, как создание новых высокоурожайных сортов, устойчивых к засухе, вредителям и болезням, а также пригодных для механизированной уборки.

1.2. Пищевая ценность семян нута

Нут является ценным пищевым продуктом. Это обусловлено благоприятным сочетанием в семенах белков, жиров и углеводов, макро- и микроэлементов, витаминов и других биологически активных веществ. Зерно в зрелом виде содержит 18-31% белка, 6% жира, 46 - 48% крахмала, 84 - 86% сухих веществ, 19,9% азотистых веществ, 3,8% золы. По питательной ценности он не уступает гороху, чечевице, а по содержанию жира даже превосходит зернобобовые культуры (кроме сои); по содержанию крахмала стоит на третьем

месте среди зернобобовых культур [6,13,18,33,42,62,66,89].

С учетом широкого набора полезных веществ и высокой пищевой ценности его повсеместно используют в пищу в тех странах, где он наиболее распространен - в Индии, Пакистане, Узбекистане, Турции, Испании и др. В Индии роль нута особенно велика: он служит основным источником белка, так как жители этой страны в силу религиозных обычаев не употребляют мясо. Семена нута используют в приготовлении множества различных - блюд, обычно в вареном виде, реже в жареном - как лакомство. Нут широко используется в пищу народами Средней Азии и Закавказья, где из него готовят национальные блюда - супы, салаты, каши, гарниры, пирожки, добавляют в плов и др. Из жареных дробленых семян нута изготавливают брикеты с томатом и сладкие брикеты в смеси с сушеным виноградом, кунжутными семенами или грецким орехом. В России нут пока не нашел широкого применения в качестве продукта питания, однако доказана возможность его использования при изготовлении кондитерских, хлебобулочных и колбасных изделий [1,3,4,6,20].

В Волгоградском НИТИ мясомолочного скотоводства и переработки продукции животноводства (НИТИ ММС и ППЖ) были проведены исследования с целью использования семян нута при создании продуктов лечебно-профилактического назначения. Разработана и утверждена научно-техническая документация, получены заключения Института питания РАМН и гигиеническое заключение Министерства здравоохранения РФ на нуттовую муку как пищевую добавку [6,20]. В Волгоградском НИТИ ММС и ГППЖ разработано и внедрено на мясоперерабатывающих предприятиях более 20 наименований мясных изделий с использованием путовой муки, в том числе полукопченые и вареные колбасы, паштеты, полуфабрикаты, пельмени. Биологическая ценность колбасных изделий с нуттом была на 19 - 20% выше, чем у традиционных изделий. Кроме этого, была разработана и утверждена нормативно-техническая документация на мясной продукт, в котором в качестве рецептурного ингредиента использовались пророщенные семена нута.

При прорастании семян активируются ферменты и другие биологически активные вещества, происходит распад запасных веществ нута, а также синтез новых- белков, активируется действие фитогормонов, повышается содержание токоферолов, каротиноидов, фосфолипидов, эссенциальных жирных кислот и т.п. Так, содержание белка в проросших семенах увеличивается в 1,7 раза, витаминов группы В - в 3 раза. Содержание эссенциальных жирных кислот достигает 80% от их общего количества [3,4,6].

Прибавление нутовой муки (в количестве 10 - 20%) к пшеничной муке при выпечке хлеба и изготовлении кондитерских и макаронных изделий повышает питательную ценность и вкусовые свойства этих продуктов. Из муки нута в чистом виде или в смеси с молочным порошком готовят питательную кашу для детей [18].

Семена нута могут быть использованы до производства «нутового молока». Технология предусматривает тепловую обработку ненабухших семян нута в водном растворе бикарбоната натрия при температуре кипения. Затем осуществляют измельчение набухших семян и проводят экстракцию белков и других растворимых компонентов в молочной сыворотке, содержащей моноглицериды. Полученное таким образом «нутовое молоко», может найти применение в качестве как самостоятельного продукта, так и для приготовления различных пищевых продуктов, тем-более, как показали проведенные исследования, «нутовое молоко», содержащее селей, обладает лечебно профилактическим действием, ингибирует синтез из нитритов и аминов М-нитрозосоединений (в частности, нитрозодиэтиламина НДЭА), которые обладают выраженной канцерогенной активностью, и в целом улучшают систему антиоксидантной защиты организма человека [6].

Использование семян нута как источника кормового белка очень актуально и перспективно, тем более что общий недостаток кормового белка в рационах различных видов и групп-животных составляет от 20 до 35%, а в ряде случаев даже превышает этот уровень. На корм чаще всего используют темноокрашенные семена (цельные — в варенном или запаренном виде или

дробленые семена, а также нутовую муку.). В рационе с другими кормами-используют для крупного и мелкого рогатого скота [19], свиней, птицы [29].

Среди веществ, снижающих пищевую ценность нута, как и многих других бобовых культур, следует назвать белковые ингибиторы, подавляющие активность пищеварительных ферментов [43,44]. Вопрос о белковых ингибиторах из семян нута, ингибирующих активность протеаз животного происхождения будет рассмотрен отдельно.

1.3. Белковые ингибиторы пищеварительных протеиназ в семенах нута различных сортов

Впервые в 1947 г. Борчерс с сотрудниками сообщили, что в семенах нута обнаружен ингибитор трипсина в высокой концентрации. Сахони и Бхандаркар показали, что ингибитор из семян нута довольно термостабилен и устойчив к действию кислот. Е.П. Абрамова и М.П. Черников [2] установили, что экстракты из нута ингибируют как трипсин, так и химотрипсин. Ингибитор образует комплексы с этими ферментами при молярном отношении 1 : 1. Ингибиторы из семян нута стабильны в широком диапазоне рН от 1,0 до 10,5 в течение 24 ч при 20 °С, устойчивы к повышенной температуре, вплоть до 75 °С, а также не гидролизуются пепсином. Ингибиторы полностью разрушаются при варке семян при температуре 100 °С и поджаривании при 130 °С.

В литературе отсутствуют данные по взаимодействию белковых ингибиторов из семян нута с эндогенными протеолитическими ферментами. Исследования ингибиторов из семян нута проводились с позиций улучшения пищевой ценности семян нута - их разрушения путем тепловой обработки, или селекции сортов с пониженным уровнем ингибирующей активности по отношению к пищеварительным протеиназам.

Так, анализ 42 образцов семян нута, относящихся к различным эколого-географическим группам показал, что ингибиторы трипсина обнаружены во всех образцах, при этом уровень их активности составил в среднем $6,8 \pm 0,22$ мг/г. По этому показателю нут занимает промежуточное положение в группе

бобовых культур. Так, активность трипсина в семенах гороха и чечевицы значительно ниже - 1,3 и 2,1 мг/г, в то время как в семенах фасоли обыкновенной, лимской фасоли и чины посевной существенно выше, чем у нута: 9,0; 21,2 и 16,7 мг/г [2,9,10].

Активность ингибиторов трипсина у разных сортов нута сильно варьирует: диапазон составляет 4,0 - 10,2 мг/г. Интересно, что эти крайние значения принадлежат образцам одной эколого-географической группе, а именно закавказской. В других группах также наблюдается значительный диапазон колебаний активности ингибиторов: в турецкой - от 5,7 до 9,4 мг/г, в памирской - от 4,1 до 8,0 мг/г. Некоторые группы по этому показателю более однородны. Так, туркестанская, эфиопская и памирская включают в основном образцы с относительно низкой активностью ингибиторов, а иранская, индийская и афганская - с относительно высокой [11].

Уровень активности ингибиторов в семенах нута изменяется в различные годы у разных сортов в неодинаковой степени. У большинства образцов эти изменения довольно значительны, и лишь у некоторых колебания не превышают 10%. В тоже время сортовые различия при этом сохраняются [11].

Анализ, имеющихся в литературе, данных по изучению протеолитических ферментов, а также белковых ингибиторов протеиназ из семян растений показал, что исследование белково-протеиназного комплекса семян различных культур (в особенности бобовых как наиболее богатых белком), в частности нута как пенной и традиционной для Среднеазиатского региона культуры, а также механизмов регуляции их активности на разных этапах жизнедеятельности семян - при созревании, в покое и при прорастании, позволит расширить научные представления о роли протеолитических ферментов в процессах клеточного метаболизма, в том числе в процессах формирования и деградации запасных белков семян.

1.4. Пищевая ценность и товароведные характеристики зерновой фасоли

Зерновая фасоль, являющаяся однолетним растением с ветвящимся кустовым, полувьющимся или вьющимся стеблем, относится к виду фасоль обыкновенная.

новенная (лат. *Phaseolus vulgaris*). Бобы зерновой фасоли в зависимости от цвета разделяют на типы: белая, цветная однотонная и цветная пестрая. Белую фасоль по форме и размерам бобов разделяют шесть подтипов - бомба, перловка, белая овальная, змейка, рачки и лопата. Цветную однотонную фасоль по цвету бобов классифицируют на зеленую, коричневую или желтую, красную и прочие однородные цвета, цветную пеструю - на светлую и темную.

Вегетационный период для сортов различных сроков созревания составляет от 80 до 160 дней. При цветении образуются крупные и мелкие цветки белого, розового и фиолетового цвета. В пищу используется бобы, развивающиеся в лопатках разнообразной формы и размеров с грубым перманентным слоем и грубыми волокнами в швах створок бобов.

Для зерновой фасоли наиболее важными являются такие ботанические признаки, как форма листочков и бобов, а также размеры, характер поверхности и их окраска. Для сорта «Мечта хозяйки» форма растений кустовая, высота куста варьируется от 31 до 58 см, «Горналь» - от 33 до 49 см, «Баллада» - от 30 до 52 см. Форма листочков сорта «Горналь» - ромбоидально-яйцевидная, «Баллада» - треугольная, у сорта «Мечта хозяйки» - изменяется от треугольной до округлой; размер листов - средний.

Вес 1000 семян для зерновой фасоли колеблется в диапазоне от 110 до 1100 г. Различают бобы зерновой фасоли шаровидной, эллиптической и почковидной или переходные между ними формы, мелких и крупных размеров с длиной от 3 до 21 мм, с белой или цветной однотонной, пёстрой или полосатой окраской. Поверхность бобов - блестящая или матовая с развитым рубчиком или без, окраска семядолей от светло-жёлтой до светло-коричневой или зеленоватой. Семенная оболочка различается по толщине и плотности и составляет от 12 до 17 % от общего веса бобов.

При оценке товарных партий особое внимание уделяется внешнему виду бобов зерновой фасоли, по которому можно судить о состоянии их и степени сортовой однородности. Требуется, чтобы бобы были однородными по цвету, форме и размерам, с гладкой поверхностью и присущей нормальному зерну ок-

раской. Наличие бобов с морщинистой поверхностью, изъеденных вредителями, потускневших, потемневших, снижает их оценку, так как потеря нормального цвета сказывается на понижении пищевых свойств бобов, в частности развариваемости.

Химический состав зерновой фасоли. Химический состав определяет пищевую ценность и потребительские достоинства бобов зерновой фасоли, а также технологические особенности приготовления. Количественное соотношение пищевых веществ зависит от сортовых особенностей, условий произрастания и абсолютного веса бобов [81].

Важнейшее значение зерновой фасоли в питании человека определяется содержанием большого количества белковых веществ с ценным аминокислотным составом. Синтез белковых веществ из простейших соединений азота осуществляется через корневую систему растений из почвы, а в качестве ассимилирующего фактора выступают фиксирующие азот бактерии, используемые только бобовыми культурами.

Согласно исследованиям Крюк И.Ф. содержание белка в зерновой фасоли колеблется в пределах от 21,4 до 28,2 % [82]. Запасные белки представлены сравнительно небольшим числом типов, однако содержат около 70 % всего азота бобов зерновой фасоли. Значительное количество их локализовано в ростках бобов - от 34,92 до 35,62 %, меньше содержится в оболочках - от 10,4 до 11,5 %. Кроме запасных белков существует ещё несколько тысяч различных ферментов и их ингибиторов, а также регуляторных, транспортных и структурных белков [83].

Фракционный состав белков фасоли определяется сортовыми особенностями и условиями выращивания. К основной фракции зерновой фасоли относят глобулиновую, затем следует альбуминовая и глютелиновая фракции. Проламиновая фракция в белках зерновой фасоли отсутствует [84,85].

Определяющим белком зерновой фасоли является глобулин фазеолин [83, 84,86], выделены также вицилин, легумин, фитогемагглютинин и второстепенные белковые компоненты, состоящие из низкомолекулярных вицилинопо-

добных глобулинов и сопровождающих их альбуминов [83,85]. Вицилин - это глобулярный белок, у которого отсутствуют дисульфидные связи между цепями и который состоит из трёх различных компонентов с молекулярной массой 43000, 47000 и 50000 Да. Легумин также относится к глобулинам. Он состоит из трёх различных субъединиц с молекулярной массой 37000, 34000 и 20000 Да, соединенных между собой дисульфидными связями [83]. Фитогемагглютинин - это гликопротеид, являющийся изолектином, состоит из двух различных субъединиц с молекулярной массой 34000 и 36000 Да. На его долю приходится около 10% всего белка бобов. Локализован в белковых тельцах и выполняет функцию запасного белка. По некоторым сведениям фитогемагглютинин является токсичным для организма человека, однако он является неустойчивым к воздействию высоким температур [83]. Аминокислотный состав белков зерновой фасоли представлен в таблице 1.

В состав зерновой фасоли наряду с белками входят небелковые азотистые вещества, содержание которых доходит до 0,3 %. Небелковые азотистые вещества представлены аммонийными солями, солями азотной кислоты, пептидами, аспарагином, глутамином и другими свободными аминокислотами [83].

Аминокислотный состав белков зерновой фасоли

Таблица 1

Аминокислота	Содержание, мг/100 г	Аминокислота	Содержание, мг/100 г
Заменимые аминокислоты	12570	Незаменимые аминокислоты	8020
В том числе: аланин	930	В том числе: Валин	1120
аргинин	1220	Изолейцин	1030
аспарагиновая кислота	2650	Лейцин	1740
гистидин	630	Лизин	1590
глицин	840	Метионин	280
глутаминовая кислота	3220	Треонин	870
пролин	980	Триптофан	260
серин	1090	Фенилаланин	1130

тирозин	630	Общее количество аминокислот	20590
цистин	380	Лимитирующая аминокислота, скор, %	Мет. +цис. - 85

Зерновая фасоль содержит моносахариды, представленные D-глюкозой, D-маннозой, D-галактозой и D-фруктозой, олигосахариды, такие как рафиноза (0,2 %), стахиоза (1,2 %), D-эритроза, вербаскоза (4,0 %), L-арабиноза, D-ксилоза и D-рибоза, а также крахмал (45,4-52,6 %), целлюлозу и пектиновые вещества (4,7-5,1 %) [82,86].

Содержание олигосахаридов обуславливает пребиотические свойства зерновой фасоли. Олигосахариды, достигая толстой кишки в неизменном виде, расщепляются бифидобактериями до образования CO₂ и органических кислот. Функции пребиотических олигосахаридов заключаются в стимулировании роста бифидобактерий в толстом кишечнике, предотвращении роста и прикрепления патогенных бактерий к эпителию кишечника и обеспечении равномерного распределения пищи по желудочно-кишечному тракту.

Наличие целлюлозы в составе углеводного комплекса бобов фасоли обуславливает применение ее для профилактики и лечения сахарного диабета. Полезные свойства целлюлозы заключаются в замедлении всасывания глюкозы и жиров из желудочно-кишечного тракта, снижению уровня холестерина в крови, улучшению моторики кишечника и детоксикационному воздействию на организм человека.

Жировые вещества в составе зерновой фасоли содержатся в количестве от 1,2 до 2,3 %. В зрелых бобах липиды в основном накапливаются в липидных тельцах или сферосомах, а также в липидосодержащих везикулах, находящихся в семядолях. Жировые вещества представлены нейтральными липидами, содержание которых достигает 45,2 %, фосфолипидами - 28,1 %, гликолипидами и ненасыщенными жирными кислотами.

Ненасыщенные жирные кислоты составляют 84,3 % от общего количества жирных кислот липидов, из которых: олеиновой кислоты (18:1) - 7,0 %, ли-

нолевой кислоты (18:2) - 28,1 %, линоленовой кислоты (18:3) - 49,2 % . Насыщенных жирных кислот в липидах фасоли содержится до 15,7 % от общего количества жирных кислот липидов, из них пальмитиновой кислоты (16:0) -14,7 %, стеариновой кислоты (18:0) -1,0 %.

Минеральный и витаминный составы зерновой фасоли представлены в таблицах 2, 3.

Минеральный состав зерновой фасоли

Таблица 2

Макроэлементы	Количество, мг/100 г	Микроэлементы	Количество, мкг/100 г
Калий	1100	Алюминий	640
Кальций	150	Бор	490
Кремний	92	Ванадий	190
Магний	103	Железо	5940
Натрий	40	Марганец	1340
Сера	159	Медь	580
Фосфор	480	Цинк	3210

Особая ценность зерновой фасоли для диетического питания и медицины обусловлена наличием в ее составе фитиновой кислоты, обладающей антиоксидантными свойствами, изофлавонов, обладающих гормоноподобным действием, и лецитина, снижающего уровень холестерина в крови [87]. Благодаря научным исследованиям также было установлено, что потребление продуктов питания, содержащих сою или зерновую фасоль, способствует сохранению и усвоению организмом кальция [88].

Содержание витаминов в зерновой фасоли

Таблица 3

Витамины	Количество, мг/100 г.
Тиамин	0,50
Рибофлавин	0,18

Ниацин	2,10
Пантотеновая кислота	1,20
Витамин В ₆	0,90
Витамин Е	3,84

Таким образом, зерновая фасоль представляет собой сырье с ценным химическим составом. Особый интерес представляет использование зерновой фасоли в питании детей школьного возраста, так как организация рационального питания школьников предусматривает повышение пищевой ценности продуктов питания при одновременном снижении затрат на их производство.

1.5. Современные технологии переработки и ассортимент продуктов питания из зернобобового сырья

Ассортимент блюд и кулинарных изделий на основе зерновой фасоли достаточно разнообразен. Ее используют в виде целых зерен и пюреобразном виде для приготовления салатов, супов, вторых горячих блюд и гарниров. Целые зерна заправляют жиром, молочным или томатным соусом с луком или без него. Подают зерновую фасоль в качестве отдельных блюд или как гарнир к мясным, рыбным блюдам и колбасным изделиям [89].

В русской кухне готовят следующие ассортимент блюд на основе фасоли: фасоль или горох с маслом и луком, фасоль в томате, фасоль с орехами, ассорти мясное с фасолью, пюре из картофеля и бобовых и многое другое [90]. Особой популярностью из продуктов на основе бобовых пользуется национальное грузинское блюдо лобио [91].

Для питания школьников из зернобобового сырья широко используется только горох, зерновую фасоль и сою. Горох и сою используют при приготовлении супов, супов-пюре, салатов и гарниров ко вторым горячим блюдам. Зерновую фасоль используется в виде целых отварных зерен, которые добавляют в небольшом количестве в заправочные супы или подают в виде гарнира. Фасолевого пюре подают только в качестве гарнира.

Из формованных кулинарных изделий из зернобобового сырья известны котлеты или биточки из бобовых и запеканка из картофеля и бобовых [89,90], в которых для регулирования консистенции используют яйца и крахмалсодержащие компоненты. Представленные рецептуры не могут быть рекомендованы для школьного питания, так как готовая продукция имеет неудовлетворительный вкус, высокую энергетическую ценность и повышенное содержание ингибиторов протеолитических ферментов.

Разработка новых продуктов питания с применением зернобобового сырья привлекает внимание многих ученых пищевой промышленности.

В Московском государственном заочном институте пищевой промышленности разработан новый ассортимент консервов на основе сои с фруктовыми и овощными добавками и техническая документация для их производства.

Для улучшения усвоения белков зернобобового сырья Зачиняева Е.В. и Ковалев Н.И. разработали блюда повышенной биологической ценности для детей школьного возраста. Авторы определили аминокислотный состав белков круп до и после ферментативного гидролиза и на основе полученных результатов рассчитали оптимальные рецептуры крупяных блюд. Во всех смесях круп биологическая ценность и коэффициент утилизации белка больше в среднем в два раза [92].

Доронин А.Ф. с соавторами усовершенствовали рецептуры и технологии комбинированных продуктов для детского и диетического питания на плодово-зерновой основе, обогащенные пектином [93].

В Северо-Кавказском государственном технологическом университете исследовалось использование пророщенного нута в фаршевых системах и при производстве колбасных изделий функционального назначения для школьников. Комбинирование мясного сырья с пророщенным нутом позволяет получить диетические продукты пониженной калорийности, увеличить пищевую ценность готовых изделий [94].

Во ВНИИМП разработаны новые мясные паштеты и кремы для детского и диетического питания с зернобобовым сырьем, обеспечивающие потребности

развивающегося организма школьников в необходимых питательных веществах.

ГНУ ВНИИ мясной промышленности совместно с ООО "ТЕХНОМОЛ" провели работу по созданию технологии «Полуфабрикатов мясных рубленых для дошкольного и школьного питания» с высоким содержанием соевого белка. Совместное использование соевого белка с белками животного происхождения повышает биологическую ценность продукта за счет обогащения лизином, лейцином, метионином и цистином. Сбалансированный микро - и макро-нутриентный состав разработанных полуфабрикатов обеспечивает высокий ростовой эффект детского организма за счет ограничения содержания соли, пряностей, снижения нагрузки на метаболические системы детей [95].

Базилевич В.И и Тубол Т.П. разработаны консервы на основе мяса гребешка и гороха, добавляемого в количестве 17-20 %. Изобретение позволяет получить продукт с высокой пищевой, биологической и энергетической ценности, а также органолептическими показателями [96].

Предложен способ производства экструдированного высокобелкового продукта, состоящего из смеси гороховой муки, кукурузной крупы и муки пшеничной с добавлением растительного масла и порошкообразных вкусовых добавок. При этом готовый продукт имеет плотную структуру и обладает хрустящими свойствами, которые сохраняются в процессе хранения и может быть предложен в качестве сбалансированного завтрака [97].

Известна технология приготовления экструдированных пищевых продуктов из смеси муки и бобовых культур и закусочного продукта из бобовых культур, сохраняющего нативную форму бобов [98]. При этом бобовые культуры выбирают из группы, включающей пятнистые, розовые, красные, черные бобы, обыкновенную фасоль, нут обыкновенный, чечевицу и горох, а способ обработки включает замачивание при температуре 100°C, тепловую обработку, охлаждение, сушку и нанесение слоя ароматизатора.

Бобовое сырье применяется как основа рационов функционального назначения для питания детей больных сахарным диабетом [87,99,100], для про-

филактики железодефицитной анемии, для обогащения рационов белком. Так, в Харьковском институте перерабатывающей промышленности изучена возможность использования бобов, шрота и белкового концентрата сои и люпина белого пищевого, а также семян гороха в качестве сырья для получения новых экструдированных пищевых продуктов с высоким содержанием белка и энергетической ценностью [101].

Известен способ получения соевого овощного консервированного продукта, включающий обработку сои, послойную укладку в овощами в тару и стерилизацию в автоклаве, отличающуюся тем, что обработку сои производят путем нагрева до температуры 130°C при давлении 0,16 МПа в течение 5 минут, после чего производят мгновенный сброс давления до 0,1 МПа. При этом изобретение позволяет сократить длительность тепловой обработки, избежать растрескивания бобовых, однако такой способ обработки способствует разрушению витаминов и минеральных элементов, содержащихся в бобах [102].

Разработан способ производства котлет и биточков на основе вязких каш из зернобобового сырья, состоящий из сепарации бобов сои, мойки, пропаривания при температуре от 110 до 115°C , в течение 10 минут, сушки и прожаривания при температуре от 110 до 120°C до влажности зерен 6,03 %, обрушивания, дробления, разделения на фракции смешивания полученной соевой крупы с пшеничной или рисовой или пшенной круп или гречневого продела, варки в течение 20-30 минут, охлаждения до температуры $60-70^{\circ}\text{C}$, смешивания с нарезанной соломкой пассерованной морковью, яйцами и молоком, формования и обжаривания [103]. Описываемый способ позволяет получить продукт, содержащий повышенное количество белка, минеральных веществ, однако предлагаемый способ состоит из энергоемких операций и длительной гидротермической обработки бобов, способствующей разрушению биологически активных веществ.

ГЛАВА II. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

2.1. Материалы исследований

2.1.1. Характеристика объекта исследования и методы исследования

физических и химических показателей качества семян нута

В качестве объекта исследований использовали семена нута сортов «Таджикский» и «Джалалабадский».

Семена не содержали повреждений, дефектов, были вызревшие. Измельчение семян проводили на лабораторной мельнице в течение 3 мин. Измельченные таким образом семена (проход сита 1,0) использовали в дальнейшей работе.

В исследуемых образцах нута урожая 2014 года в соответствии с действующим ГОСТом 8758 - 76 (20) определяли следующие показатели:

Физические показатели качества

1. Натура - ГОСТ 10840 - 64
2. Крупность - ГОСТ 13586.2 - 81
3. Масса 1000 зерен - ГОСТ 10842 - 89

Химические показатели качества

1. Влажность - ГОСТ 13586.5 - 85
2. Зольность - ГОСТ 10847 - 74
3. Содержание крахмала - ГОСТ 10845 - 76
4. Содержание белка - ГОСТ 10846-74

В таблицах 4 и 5 представлены данные, характеризующие физические и химические показатели качества исследуемых образцов семян нута, которые имеют важное значение для оценки их технологических достоинств.

Таблица 4.

Физические показатели семян нута

№	Показатели	сорт «Таджикский»	сорт «Джалалабадский»
1.	Натура, г/л	799	794
2.	Масса 1000 зерен, г	156.2	145,9
3.	Крупность	мелкосеменной	мелкосеменной

4.	Содержание сорной	0,5	0,5
5.	Содержание зерновой примеси, %	отсутствует	отсутствует

Таблица 5

Химические показатели семян нута

№	Показатели	сорт «Таджикский»	Сорт «Джалалабадский»
1.	Массовая доля влаги, %	13,4	13,6
2.	Массовая доля крахмала, %	43,8	46,4
	В т. ч.:		
	Массовая доля амилозы, %	45,5	34,8
	амилопектина, %	53,5	65,2
3.	Общий белок по Къельдалю	27,8	28,4
4.	Зольность, %	4,3	3,9

Данные таблицы 5 показывают, что по физическим показателям исследуемые образцы семян нута могут быть отнесены к I типу в соответствии с ГОСТом 8758 - 76, который распространяется на нут, заготавливаемый и поставляемый для продовольственных и кормовых целей.

Анализ химических показателей качества семян нута, представленных в таблице 5, позволяет отнести исследуемые образцы семян нута к сухому (влажность не более 14%).

Показатели содержание крахмала, белка и зольность исследуемых образцов зерна находятся на уровне средних показателей для этой культуры. Однако фракционный состав крахмала существенно отличается от средних значений для бобовых культур (20 - 30% амилозы и 70 - 80% амилопектина). Так, содержание амилозы в семенах нута сорта «Таджикский» составляет 45,5%, что превышает средний уровень содержания амилозы в семенах бобовых культур и соответствует уровню содержания амилозы в мозговых сортах гороха [51].

2.1.2. Проращивание семян нута

Предварительно отобранные, средние по массе семена нута стерилизовали 70% этанолом и замачивали в дистиллированной воде в течение 6 ч [77].

Набухшие семена раскладывали в растительни на стекла, покрытые фильтровальной бумагой и смоченные дистиллированной водой. Проращивание семян проводили в темноте при комнатной температуре в течение 1 - 9 суток до появления проростков 1-10 мм. Семядоли отделяли от ростков и оболочек и высушивали их при комнатной температуре до воздушно-сухой массы.

2.2. Методы исследований

2.2.1. Определение водорастворимого белка по методу Лоури

Определение белка по методу Лоури [121] основано на комбинации биуретового метода (образование окрашенного комплекса пептидных связей с медью) и метода Фолина (образование окрашенного комплекса реактива Фолина с ароматическими аминокислотами).

Реактивы:

- А. 2%-ный раствор Na_2CO_3 в 0,1 н NaOH.
- В. 0,5% раствор CuSO_4 , в 1%-ном растворе виннокислого натрия.
- С. 50 мл раствора А + 1 мл раствора В (годен в течение одного дня).
- Б. Разбавленный реактив Фолина.

0.4 мл испытуемого белка и 2 мл реактива С перемешивали и оставляли на 10 минут при комнатной температуре. Затем добавляли 0,2 мл реактива быстро перемешивали и оставляли при температуре 40°C для развития окраски. Интенсивность окраски образовавшегося комплекса измеряли на фотоэлектродетекторе (КФК - 2) при красном светофильтре (630 нм).

Содержание белка определяли по калибровочной кривой (рис. 1.), для построения которой использовали серию разведений стандартного белка бычьего сывороточного альбумина. Количество белка в исходном стандартном растворе альбумина определяли по методу Къельдаля в двух повторностях.

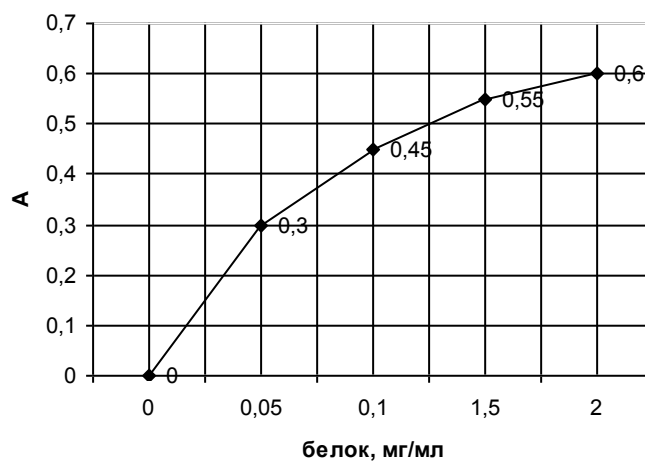


Рис. 1. Калибровочная кривая для определения белка по методу Лоури.

2.2.2. Определение фракционного состава белков

Белки цельносомлотых семян нута экстрагировали соответствующими растворителями при соотношении навески к растворителю 1 : 20. Экстракцию проводили при интенсивном перемешивании на мешалке с гибким приводом при 1500 об/мин. Время каждой экстракции составляло 3 мин; повторность экстракции 5-кратная. После каждой экстракции проводили центрифугирование исследуемых образцов при 6000 об/мин в течение 10 минут, центрифугат собирали, а осадок заливали новой порцией экстрагирующего вещества.

Альбумины выделяли дистиллированной водой, глобулины - 10%-ным раствором NaCl, проламины - 70%-ным этанолом,

Определение содержания альбуминов, глобулинов, проламинов и глютелинов проводили методом Лоури. Содержание белка в соответствующих фракциях определяли по калибровочной кривой, построенной с использованием бычьего сывороточного альбумина.

2.2.3. Определение активности протеаз модифицированным методом

Ансона

Для определения активности протеолитических ферментов использовали модифицированный метод Ансона [87]. В основу метода положено определение продуктов расщепления стандартного белка, не осаждаемых трихлоруксусной кислотой (ТХУ) и поглощающих при длине волны 280 нм.

Метод обладает высокой чувствительностью, что важно при исследовании

протеолитических ферментов семян, имеющих низкую активность.

В качестве стандартного субстрата при определении активности эндогенных протеаз, использовали бычий сывороточный альбумин; Инкубационная смесь состояла из 10 мл 0,5 % раствора субстрата, 8 мл 0,1М соответствующего фосфатно-нитратного буфера или 0,2М глицинового буфера и 2 мл фермента.

Пред инкубацию субстрата и фермента проводили при температуре 40°C в течение 10 минут, после чего в субстрат вносили фермент и отбирали пробы по 2,0 мл сразу после внесения фермента и через промежуток времени, установленный для протеиназ по начальной скорости реакции. Он соответствовал 20 минутам, поскольку именно в течение этого времени ферментативная реакция с исследуемыми протеиназами протекает с постоянной скоростью.

Отобранные пробы переносили в пробирки, содержащие равное количество 10% ГХУ, содержимое пробирок перемешивали и термостатировали 20 минут при 40°C, Образующийся осадок отфильтровывали и в фильтрате определяли количество не осаждаемых ТХУ продуктов гидролиза белка по поглощению при 280 нм на спектрофотометре СФ-4А. Активность ферментов выражали в единицах шкалы прибора.

Удельную активность протеаз выражали как отношение разницы оптической плотности между нулевой и двадцатиминутной пробой к количеству белка в ферментном препарате в миллиграммах.

2.2.4. Определение ингибирующей активности белковых ингибиторов протеаз

Ингибирующую активность определяли по остаточной активности протеаз. Инкубационная смесь состояла из 1 мл фермента, 4 мл ингибитора и 5 мл субстрата - 0,5% раствор бычьего сывороточного альбумина, приготовленного на соответствующем буфере. Предварительную инкубацию фермента с ингибитором проводили в течение 20 минут при оптимальной

температуре для каждого фермента. Затем вносили субстрат. Ингибирующую активность выражали в процентах к первоначальной активности протеаз.

2.2.5. Определение амилозы и амилопектина

2 г измельченных семян нута (проход через сито 1 мм) взвешивали с погрешностью до 0,01 г, количественно переносили в стакан механической мешалки, добавляли 200 см³ дистиллированной воды. Экстракцию проводили в течение 5 минут при интенсивном перемешивании при 1500 об/мин. Смесь центрифугировали при 4000 об/мин и при необходимости фильтровали. В фильтрате определяли содержание декстринов. Для этого отбирали 5 мл фильтрата, добавляли 5 мл 0,005 н раствора йода и определяли оптическую плотность полученного раствора на фотоэлектроколориметре при длинах волн 660 и 530 нм.

Содержание декстринов и амилозы в растворе вычисляли по эмпирическим формулам:

$$C_A = 0,044 * D_{660} - 0,123 * D_{530}; \quad C_D = 2 * D_{660} - 47,7 * C_A;$$

где C_D - концентрация амилозы в растворе, мг/см³;

D_{660} и D_{530} - оптические плотности раствора при длине волны 660 и 530 нм.

Пересчет на сухие вещества (%) проводили по следующим формулам:

$$A = 2 \cdot 10^6 \cdot C_A / (100 - W);$$

$$B = 2 \cdot 10^6 \cdot C_D / (100 - W),$$

где A - массовая доля амилозы в пересчете на сухие вещества, %;

D - массовая доля декстринов в пересчете на сухие вещества, %;

W - массовая доля влаги в продукте, %.

2.2.6. Фракционирование белков методом гель-хроматографии

Метод гель-хроматографии - эффективный метод разделения веществ по молекулярной массе. Для выделения и очистки биологически активных веществ широко применяется метод гель-фильтрации через сефадекс [21, 50, 60].

Гель устойчив к воздействию растворов с рН 1 - 14 и таких веществ, как мочевины, гидрохлорид гуанина, додецилсульфат натрия, органические растворители, вызывающих денатурацию, а также к действию микроорганизмов.

Фракционирование проводили на колонке (2,2 x 35), гель позволяет разделять белки с молекулярной массой от 1000 до 700000 Дальтон (Да).

Перед фракционированием белков была проведена калибровка колонки. Свободный объем определяли по выходу декстрана синего (М.м. около 2 млн. дальтон). Он составил $U_{св} = 44$ мл. Общий объем определяли по выходу тирозина. Он составил $U_{общ.} = 140$ мл.

2.3. Характеристика белкового комплекса семян нута

Содержание белка в семенах нута зависит как от сортовых особенностей, так и от условий произрастания. Проведенные исследования показали, что исследуемые образцы отличаются содержанием общего белка, определяемого методом Кьельдаля (сорт «Гаджикский» - 43,8%; сорт «Джалалабадский» - 46,4%) и водорастворимого белка, определяемого методом Лоури (сорт «Гаджикский» - 14,2 мг/мл; сорт «Джалалабадский» - 15,8 мг/мл). Однако названные факторы могут оказывать влияние и на соотношение отдельных белковых фракций.

2.3.1. Фракционирование белков семян нута по растворимости

Согласно общепринятой в настоящее время классификации [38,51], белковые вещества делятся на четыре группы по способности растворяться в различных растворителях: альбумины - растворимые в воде и солевых растворах; глобулины - растворимые в солевых растворах, но нерастворимые в воде; проламины - растворимые в 60 - 80% этаноле; глютелины - растворимые в слабых растворах щелочей и кислот.

Изучение количественного соотношения и свойств различных фракций белковых веществ зерна представляет наряду с теоретическим интересом и

большой практический интерес для технологий, использующий зерно в качестве сырья.

Однако, несмотря на многочисленные исследования, многие вопросы остаются до сих пор до конца невыясненными. Это объясняется, с одной стороны, чрезвычайно сложной структурой белковых веществ, и различием в методическом подходе разных исследователей с другой стороны.

Полученные результаты выражали в процентах от общего содержания белка. Данные представлены в таблице 6.

Таблица 6

Фракционный состав белков семян нута (% от общего содержания белка)

Образец	Белковая фракция			
	Альбумины	Глобулины	Глютелины	Проламины
Сорт «Таджикский»	12,0	68,7	14,2	3,5
Сорт «Джалалабадский»	12,6	76,4	7,5	1,8

Приведенные в табл. 6 данные показывают существенные различия в содержании отдельных белковых фракций, различающихся своей растворимостью. Белки семян нута сорта «Джалалабадский» отличаются более высоким содержанием глобулиновой фракции (примерно на 10 %) и более низкими значениями фракций глютелинов и I фолами нов (на 53% и 51% соответственно) по сравнению белками семян нута сорта «Таджикский». При этом альбуминовая фракция белков исследуемых образцов находится на одинаковом уровне и составляет 12-12,6%.

2.3.2. Выбор условий извлечения протеаз семян нута

В литературе имеются сведения, что протеазы из обезжиренных семян сои наиболее полно извлекаются водой [65]. В отличие от протеаз семян сои, протеазы фасоли частично извлекаются водой, но наиболее полное извлечение нейтральных и щелочных протеаз фасоли достигается экстрагированием 0,35% раствором Na_2CO_3 [17].

Экстракцию проводили в соотношении 1:10 (масса/объем), полученную суспензию центрифугировали при 6000 об/мин в течение 15 мин, супернатант использовали для анализа. Установлено, что наиболее полное извлечение нейтральных и щелочных протеаз семян нута достигается при концентрации соды 0,03 - 0,05%. Для выбора оптимального времени экстрагирования протеаз экстракцию проводили 0,35% раствором соды при интенсивном перемешивании на мешалке с гибким электроприводом. Пробы суспензии отбирали через каждые 30 секунд в течение 6 мин без остановки мешалки.

2.3.3. Определение оптимума pH протеаз семян нута

В семенах различных видов растений, как злаковых, так и бобовых обнаружено несколько групп протеолитических ферментов, различающихся оптимумом pH. Имеющиеся в литературе данные указывают на то, что в семенах многих бобовых наряду с ферментами, активными в слабокислой (5,0 - 5,6) и нейтральной (6,5 - 7,0) областях pH [17, 22, 24, 74, 85, 96], обнаружены и протеиназы с оптимумом действия в щелочной зоне pH (8,0-8,5) [17, 65].

Проведенные исследования показали, что в покоящихся семенах нута содержатся протеазы, различающиеся по оптимуму своего действия при гидролизе бычьего сывороточного альбумина.

Одни из них имеют оптимум при pH 7,0 (нейтральные протеазы), другие - при pH 10,0 (щелочные). Кривые pH зависимости имеют четко выраженные оптимумы, и даже небольшое изменение pH приводит к резкому снижению активности.

2.3.4. Выбор условий осаждения протеаз семян нута

Способ осаждения протеаз при изменении pH был использован с целью частичной очистки протеаз семян нута и удаления низкомолекулярных соединений, поскольку в работах Е.Ф. Шаненко [70], А.Ж. Тер-Мовсесян [63], И. А. Типисевой [65], И.С. Витоя [17] было показано, что протеолитические ферменты семян злаковых и бобовых культур осаждаются из содовых и водных экстрактов путем подкисления лимонной кислотой до pH 5,0.

Для определения оптимального значения pH, при котором наблюдается

максимальное осаждение протеаз семян нута, исследовали влияние различных концентраций лимонной кислоты (от 0,1 до 1,0) на степень осаждения исследуемых протеаз. Для этого к равным количествам содового экстракта добавляли возрастающие количества лимонной кислоты. Пробы тщательно перемешивали, центрифугировали при 6000 об/мин в течение 15 мин, осадок перерастворяли в 0,35% растворе соды. В перерастворенном осадке определяли протеолитическую активность и содержание белка.

При подкислении до 6,0 осаждались преимущественно нейтральные протеазы, при дальнейшем подкислении до 5,0 - щелочные. При этом удельная активность протеаз, действующих в нейтральной зоне рН, возросла (по сравнению с исходным экстрактом) в 14,8 раз, а щелочных в 3,0 раза. Белки семян нута максимально осаждались в интервале 6,0 - 5,0.

2.3.5. Влияние температуры на активность протеаз семян нута

Как известно температура является одним из факторов, оказывающих существенное влияние на скорость ферментативной реакции.

Проведенные исследования показали, что исследуемые нейтральные и щелочные протеазы семян нута имеют одинаковый температурный оптимум 40 °С.

Частично очищенные препараты протеаз, полученные путем осаждения при подкислении и перерастворенные в 0,35% растворе соды выдерживали при температуре 40, 50, 60, 70, 80 °С в течение 20 мин, затем определяли активность протеаз при оптимальной температуре - 40 °С.

Данные, представленные в табл. 2.7, свидетельствуют о том; что нейтральные протеазы обладают более высокой термостабильностью, но сравнению с щелочными протеазами семян нута. Так, при выдерживании содовых растворов протеаз при 70 °С в течение 20 мин нейтральные протеазы сохраняли 60% исходной активности, а щелочные - 35%. В тоже время термостатирование препаратов протеаз при температуре 40 °С в условиях данного опыта не приводило к потере активности.

2.3.6. Очистка протеаз семян нута и характеристика очищенных препаратов

Проведенные исследования показали, что при экстракции нейтральных и щелочных протеаз семян нута 0,35 % раствором соды извлекается большое количество балластных белков. Для дальнейшей очистки протеолитических ферментов семян нута проводили осаждение протеаз при подкислении.

2.3.6.1. Осаждение протеаз при подкислении

Осаждение протеаз при подкислении проводили в двух вариантах с целью удаления большего количества балластных белков.

Первый вариант предусматривал подкисление экстракта до рН 5,0, при этом в осадок переходили как нейтральные так и щелочные протеазы семян нута. На следующем лапе осадок перерастворяли в соответствующем буфере и определяли активность протеаз и содержание белка. Выход по белку составил 95%; выход по активности 98, 5%. Этот режим осаждения протеаз обеспечивал практически полное выделение ферментов и при этом 5% балластных белков удалялся.

Второй вариант осаждения-ступенчатый, предусматривал первоначальное подкисление экстракта до рН 6,0 (преимущественно осаждались нейтральные протеазы) и дальнейшее подкисление до 5,0; при этом в осадок переходили преимущественно щелочные протеазы.

Этот режим осаждения обеспечивал удаление около 50% балластных белков при рН до 6,0 и до 80% балластных белков при рН до 5,0. При этом выход по активности нейтральных протеаз составил 98,5%, щелочных - 50%. Препараты частично очищенных протеаз по приведенным выше вариантам осаждения использовали в дальнейших исследованиях.

2.3.6.2. Схема выделения и очистки протеаз семян нута

С целью уточнения полученных результатов на частично очищенных препаратах протеаз нами была разработана схема очистки препаратов протеаз семян нута которая включала следующие этапы (рис. 2.):

Этап 1 - экстракция измельченного материала 0,35 % раствором соды в соотношении 1:10 (масса/объем) в течение 3 мин при интенсивном перемешивании. Центрифугирование при 6000 об/мин в течение 10 мин.

Этап 2 - осаждение проказ при подкислении экстракта до pH 6,0; отделение осадка центрифугированием при скорости 6000 об/мин в течение 10 мин.

Этап 3 - дальнейшее подкисление надосадочной жидкости до pH 5,0. Центрифугирование при 6000 об/мин в течение 10 мин.

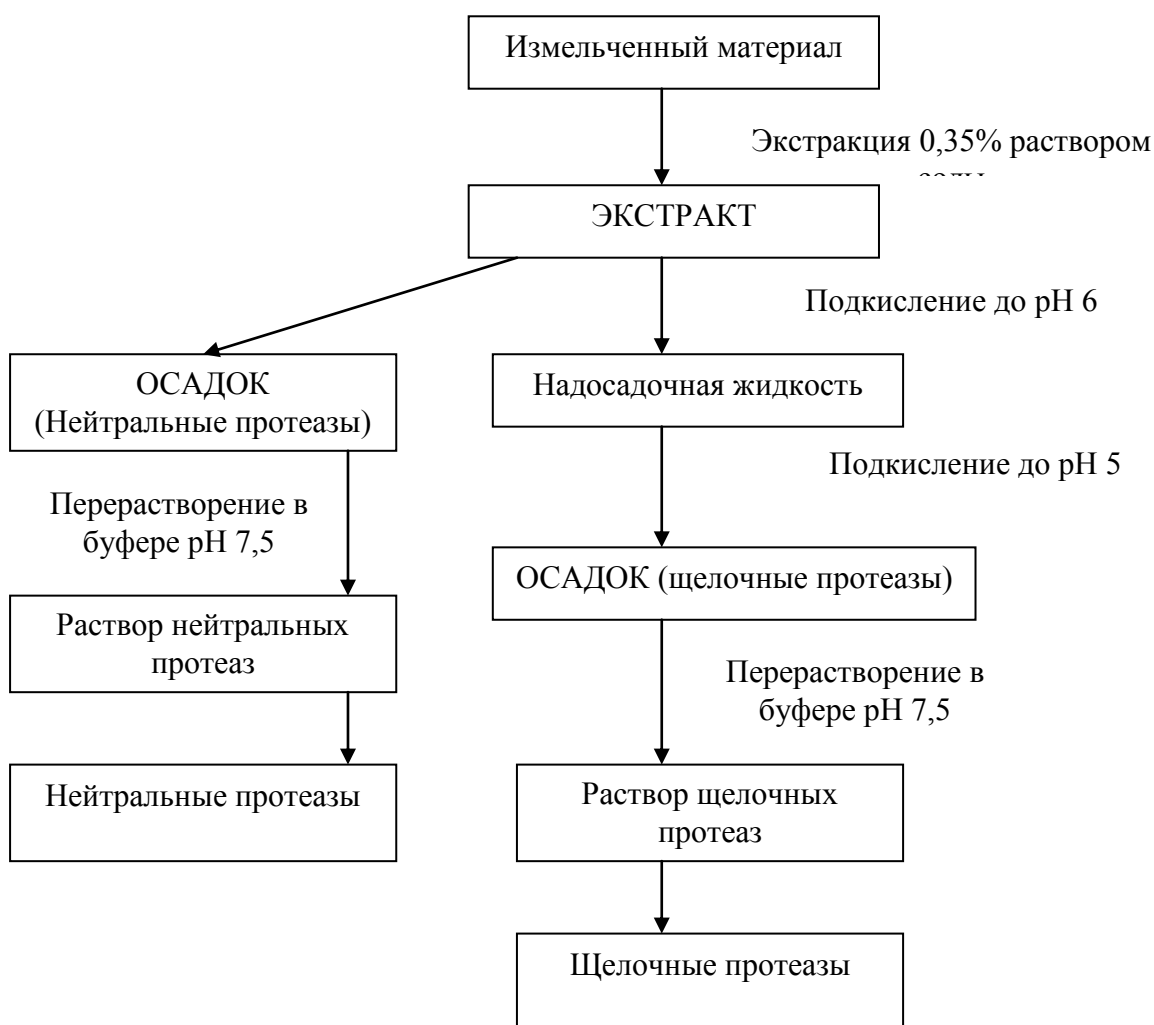


Рис. 2. Схема выделения протеаз из семян нута.

Этап 4 - перерастворение осадка в фосфатном буфере с pH 7,5.

Этап 5 - фракционирование протеаз из семян нута методом гель-хроматографии.

2.4. Методы оценки свойств сырья для приготовления хлеба

Для оценки свойств пшеничной муки [23] использовали следующие

показатели:

- массовая доля влаги по ГОСТ 9404-88
- массовая доля сырой клейковины по ГОСТ 27839-88
- качество клейковины, ед. прибора ИДК, ГОСТ 27839-88
- подъемную силу дрожжей определяли по ГОСТ 171-81
- свойства соли поваренной пищевой и маргарина столового определяли

органолептически.

2.5. Методы приготовления теста и хлеба

Балльная оценка качества хлеба

Тесто готовили безопасным способом в тестомесильной машине со спиральным месильным органом по следующей рецептуре:

Таблица 6.

Нормативная рецептура приготовления теста [54]

Сырье	Расход сырья, г
Мука пшеничная	275
Дрожжи прессованные хлебопекарные	8,2
Соль поваренная пищевая	4,1
Вода	по расчету

Количество воды, необходимое для замеса теста, рассчитывали по следующей формуле:

$$m_e = \frac{m_m \cdot (W_m - W_M)}{100 - W_m}$$

где m_m - масса муки при фактической влажности, г;

W_m - влажность теста, % (для муки высшего сорта - 43,5 %);

W_M - влажность муки, % (фактическая влажность муки 14 %).

Брожение теста проводили в термостате с температурой 28 - 30°C. Продолжительность брожения теста составляла 150 минут с двумя обминками через каждые 60 минут после начала брожения.

После брожения тесто взвешивали. Куску массой 400 г придавали овальную форму и сразу же после формования помещали в предварительно смазанную растопленным маргарином форму. Форму помещали для расстойки

в термостат, в котором поддерживали температуру 35°C и относительную влажность воздуха 75-80%. Окончание расстойки определяли органолептически.

Выпечку хлеба проводили в лабораторной электропечи при температуре 220 - 230 °С с увлажнением пекарной камеры в течение 25 мин.

Качество хлеба оценивали через 16 часов хранения, по следующим показателям: пористость, % (ГОСТ 5669-96); удельный объем, см /г (отношение объема хлеба к массе); органолептическая оценка (окраска корок, состояние поверхности корок, цвет мякиша, структура пористости, реологические свойства мякиша, аромат, вкус, разжёвываемость мякиша).

Выводы по главе II

1. Приведены объекты и методы исследований, а также характеристика белкового комплекса семян нута.
2. Показана схема выделения протеаз из семян нута.
3. Приведены методы оценки свойств сырья для приготовления хлеба и оценка качества хлеба.

ГЛАВА III. ИССЛЕДОВАНИЕ БЕЛКОВОГО И ЛИПИДНОГО КОМПЛЕКСА ИЗ СЕМЯН БОБОВЫХ КУЛЬТУР

3.1. Белковые ингибиторы протеаз из семян нута

Известно, что в семенах бобовых культур, в том числе и в семенах нута, содержится большое количество различных ингибиторов протеаз [2, 17,44,63,65,70,92,94]. Для большинства из них показана способность подавлять активность пищеварительных протеиназ - трипсина, химотрипсина [9,10,11,12, 15,70,92,94], а также протеиназ микробного происхождения [43,44]. Изучение взаимодействия белковых ингибиторов с эндогенными протеолитическими ферментами посвящено лишь небольшое количество работ [17,34,63,65]. В литературе отсутствуют данные по изучению взаимодействия белковых ингибиторов из семян нута с собственными протеолитическими ферментами.

3.1.1. Выделение белковых ингибиторов

Выделение фракции белковых ингибиторов проводили из семян нута сорта «Джалалабадский» при экстракции водой в соотношении 1 : 10 и подкислении водного экстракта до рН 5,0 с целью удаления протеаз и дальнейшего подкисления до рН 3,0. Ингибирующую активность оценивали по подавлению активности частично очищенных препаратов протеаз нута и трипсина. Белковая фракция, выделенная при подкислении в интервале 5,0 - 3,0 обладает ингибирующей активностью как к собственным нейтральным и щелочным протеазам, так и к трипсину.

3.1.2. Схема выделения белковых ингибиторов протеаз из семян нута

На основании проведенных экспериментов была разработана схема выделения белковых ингибиторов из семян нута, которая включает следующие этапы (рис.3.).

Этап 1 - экстракция измельченного материала водой в соотношении 1:10

(масса/объем) в течение 3 мин при интенсивном перемешивании. Центрифугирование при 6000 об/мин в течение 10 мин.

Этап 2 - подкисление водного экстракта до pH 5,0. Центрифугирование при 6000 об/мин в течение 10 мин (осадок - протеазы; надосадочная жидкость - белковые ингибиторы).

Этап 3 - дальнейшее подкисление надосадочной жидкости до pH 3,0. Центрифугирование при 6000 об/мин в течение 10 мин.

Этап 4 - перерастворение осадка в фосфатном буфере с pH 7,5.

Этап 5 - фракционирование ингибиторов из семян нута методом гель-хроматографии. Разделение ингибиторов трипсина и ингибиторов собственных протеаз семян нута.

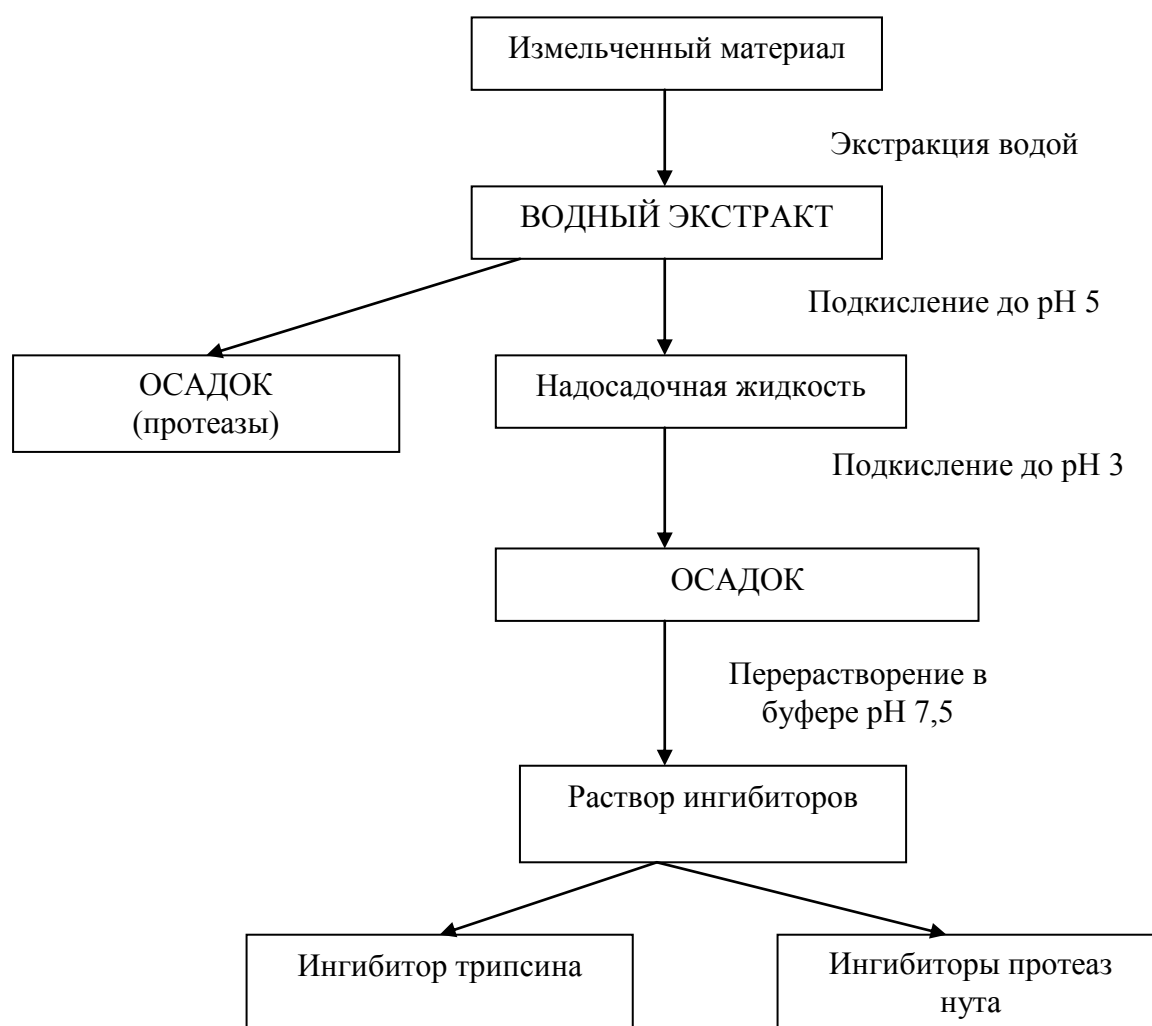


Рис.3. Схема выделения белковых ингибиторов протеаз из семян нута.

Характеристика эндогенных протеаз семян нута на различных стадиях выделения представлена в табл. 7.

Таблица 7.

Характеристика белковых ингибиторов нейтральных и щелочных протеаз семян нута

Этап	Белок, мг/мл	Активность Полковых ингибиторов протеаз, %		Удельная активность белковых ингибиторов	
		нейтральных	щелочных	нейтральных	щелочных
1. Водный экстракт	15,8	-	-	-	-
2. Надосадочная жидкость после осаждения протеаз (подкисление до рН 5,0)	10,0	50	40	5,00	4,00
3. Белковая фракция, осаждаемая при подкислении в интервале рН 5,0-3,0	3,5	90	70	25,71	20,00

Как видно из данных приведенных в табл. 7., в результате выделения и очистки по предложенной схеме, удельная активность нейтральных протеаз нута возросла в 1800 раз, а щелочных протеаз - в 1400 раз.

3.2. Действие протеолитических ферментов семян нута на белки нута и пшеницы

Способность протеолитических ферментов семян растений гидролизовать собственные белки, является чрезвычайно важной и позволяет понять физиологическую роль этих ферментов, их участие в метаболизме семени.

К настоящему времени благодаря работам многих исследователей, пик которых пришелся на 80-е годы 20 века, начали вырисовываться определенные закономерности, связанные с деградацией запасных белков в процессе прорастания [43,44]. Так, А.Д. Шутовым были сформулированы критерии

участия протеаз в распаде запасных белков семян растений. Протеазы, удовлетворяющие этим критериям, он разделил на три группы: 1 - цистеиновые протеиназы А, синтезирующиеся и способные гидролизовать запасные белки из непроросших семян; 2 - цистеиновые протеиназы В и сериновые карбоксипептидазы, действующие на запасные белки только после их модификации путем ограниченного протеолиза цистеиновыми протеиназами А; 3 - аминопептидазы и дипептидазы, завершающие распад запасных белков [74].

В тоже время, многие авторы отмечают наличие в покоящихся семенах зерновых и бобовых культур протеиназ, способных осуществлять ограниченный протеолиз эндогенных белков из непроросших семян [17,65, 70]. Так, М.А Белозерский и сотрудники показали, что гидролиз 138 глобулина - главного запасного белка гречихи - начинается с действия металлопротеиназы, присутствующей в покоящихся семенах и активной при нейтральных значениях рН. При этом происходит ограниченный протеолиз глобулина, и только затем начинается глубокий гидролиз модифицированного белка, связанный с появлением в прорастающих семенах новой цистеиновой протеиназы с оптимумом рН действия 5,0 [7].

С.З. Заиров и соавторы [24] отмечают, что распад глиадин зерна пшеницы начинается с его деградации в покоящемся зерне, где присутствуют протеазы, способные полностью гидролизовать глиадин.

Таким образом, распад запасных белков представляет собой сложный и пока не до конца изученный процесс, регуляция которого вероятно может происходить различными путями, в том числе, за счет последовательного участия в нем протеолитических ферментов разного типа, а также за счет влияния белковых ингибиторов протеаз, обнаруживаемых в семенах злаковых и бобовых культур.

3.2.1. Действие протеолитических ферментов семян нута на белки нута

Поскольку семена, нута содержат высокоактивные ингибиторы собственных протеолитических ферментов, извлекаемые водой, с целью их удаления проводили отмывание дистиллированной водой измельченных семян

нута по следующей схеме: измельченные на лабораторной мельнице семена нута смешивали с водой в соотношении 1 : 25, (масса/объем) и интенсивно перемешивали в течение 2 мин на мешалке с гибким электроприводом. Для полного удаления ингибитора эту процедуру повторяли дважды. Затем суспензию центрифугировали при 4000 об/мин в течение 10 мин. Осадок суспендировали в соответствующем буфере (для нейтральных протеаз использовали 0.1 М фосфатно-нитратный буфер pH 7,0; для щелочных - 0,2М глициновый буфер pH 10,0) и вносили возрастающие количества фермента (частично очищенный препарат со степенью очистки 14,8 и 3,0 соответственно). Отбор проб осуществляли через каждые 30 мин в течение 2 часов. Отобранные пробы фильтровали и в фильтрате определяли содержание водорастворимых белков по методу Лоури. По их накоплению судили об интенсивности процесса протеолиза. Контролем служил автолиз, происходящий в забуференной суспензии измельченных семян нута.

На рис. 4. представлены кривые хода реакции протеолиза белков нута нейтральными протеазами.

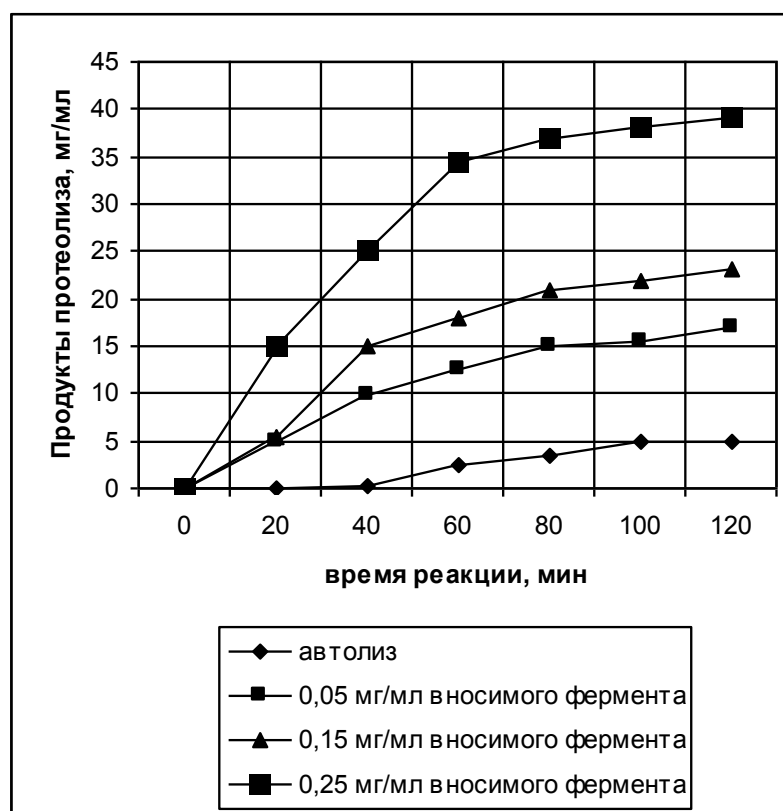


Рис.4. Действие нейтральных протеаз на белки семян нута.

Как видно из рис. 4., в течение первых 60 мин реакции протеолиза, содержание водорастворимых белков увеличивается пропорционально количеству внесенного фермента. При этом скорость накопления водорастворимых белков под действием щелочных протеаз примерно в 2 раза выше, чем при действии нейтральных протеаз.

Полученные данные свидетельствуют о том, что нейтральные и щелочные протеазы, выделенные из покоящихся семян нута, способны гидролизовать собственные (немодифицированные) белки, а эндогенные белковые ингибиторы протеаз выполняют в этом процессе регуляторную функцию.

Эти данные хорошо согласуются с полученными ранее данными для семян других бобовых культур - сои, фасоли [17,65].

3.2.2. Действие протеолитических ферментов семян нута на белки пшеницы

В литературе имеются сведения о том, что нутовая мука используется в хлебопекарной и кондитерской промышленности. Так, прибавление 10 - 20% нутовой муки к пшеничной муке при выпечке хлеба и изготовлении кондитерских и макаронных изделий повышает питательную ценность и вкусовые свойства этих продуктов [18]. В связи с этим представляло интерес изучить влияние протеолитических ферментов на белки пшеничной муки, а именно действие нейтральных протеаз, поскольку именно они могут проявлять свое действие в условиях тестоведения.

Изучение действия частично очищенного препарата нейтральных протеаз на белки пшеницы проводилось без предварительного удаления ингибиторов из пшеничной муки. Для этого пшеничную муку смешивали с 1 М фосфатно-нитратным буфером pH 7,0 в соотношении 1 : 20 (масса/объем), интенсивно перемешивали в течение 1 - 2 мин и добавляли возрастающее количества фермента, затем термостатировали при температуре 30 °С. Отбор проб осуществляли при перемешивании через каждые 20 мин в течение 120 мин. Отобранные пробы сразу переносили на фильтр и в фильтрате определяли

накопление водорастворимых белков по методу Лоури. Контролем служил автолиз, происходящий в забуференной суспензии муки (рис. 5.).

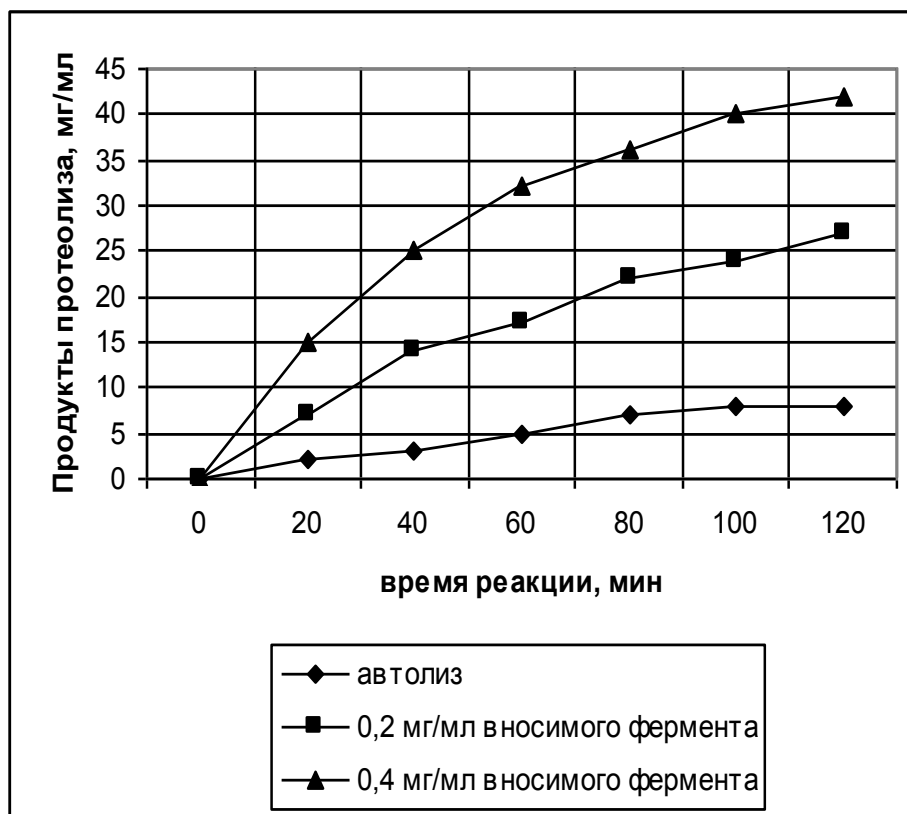


Рис.5. Действие нейтральных протеаз на белки семян нута.

Представленные на рис. 2.24 кривые хода реакции протеолиза белков пшеницы нейтральными протеазами семян нута показывают, что за 60 мин реакции протеолиза количество водорастворимых белков увеличивается пропорционально количеству внесенного фермента. Полученные данные взаимодействуют с белковыми ингибиторами протеаз пшеницы, поскольку активно гидролизуют белки пшеницы без предварительного удаления ингибиторов. Ранее способность гидролизовать белки пшеницы была показана только для нейтральных протеаз семян фасоли [17].

Таким образом, проведенные исследования показали, что нейтральные и щелочные протеазы семян нута способны осуществлять, протеолиз собственных белков при удалении ингибиторов протеаз, а нейтральные протеазы семян нута активно гидролизуют белки пшеницы даже в присутствии ингибиторов.

Таким образом, функции ингибиторов протеаз семян нута связаны с

регуляцией протеолиза запасных белков. В связи с этим представляло интерес исследовать изменение активности протеаз и их белковых ингибиторов при прорастании семян нута. Этому посвящена следующая глава диссертации.

3.3. Изменение активности протеолитических ферментов и их белковых ингибиторов при прорастании семян нута

Протеолитические ферменты играют важную роль в обмене веществ семян растений. Одной из главных функций протеаз на ранних стадиях прорастания семян является гидролиз запасных белков, в результате чего осуществляется снабжение развивающегося зародыша низкомолекулярными азотистыми соединениями. Показана также способность протеолитических ферментов семян гидролизовать эндогенные запасные белки в нативном состоянии. Была выявлена общая закономерность: активность протеаз в белках тем выше, чем выше содержание белка (70).

Таким образом, в результате многочисленных исследований были выявлены общие закономерности и сложились определенные взгляды на участие протеолитических ферментов в процессах прорастания семян. В отношении участия белковых ингибиторов, как уже отмечалось, нет единства взглядов исследователей. Одни из них считают, что обнаруживаемые в семенах растений белковые ингибиторы протеаз не связаны с регуляцией протеолиза запасных белков, другие напротив считают эту функцию ингибиторов основной.

Работы, проведенные на кафедре «Биохимия и зерноведения» под руководством профессора М.П. Попова показали наличие в семенах растений различных форм белковых ингибиторов, способных подавлять активность эндогенных протеолитических ферментов, относящихся к разным типам [27, 34, 63, 65, 70]. Эти данные указывают на участие ингибиторов в регуляции активности протеаз в метаболизме семени.

Исходя из этого, представляло определенный интерес исследовать изменение активности протеаз и их белковых ингибиторов при прорастании

семян нута.

Опыты по изучению изменения протеолитической и ингибирующей активности проводили на семядолях прорастающих семян нута с 1-х по 9-е сутки проращивания.

Ингибиторы протеаз выделяли из водного экстракта после осаждения протеаз при подкислении в интервале рН 5,0 - 3,0.

При прорастании активность нейтральных и щелочных протеаз изменяется неодинаково. Нейтральные протеазы увеличивают свою активность, причем наибольший прирост активности наблюдается на стадии набухания семян нута (1,5 суток проращивания) - 44,7 % и на стадии появления проростка длиной от 1 до 5 мм (3 суток прорастания) - 75,6 %.

Для щелочных протеаз картина изменения активности при прорастании - противоположная. На стадии набухания и на ранних стадиях прорастания активность щелочных протеаз уменьшается незначительно. На 9-е сутки прорастания при длине проростка. В 10 мм активность щелочных протеаз падает и составляет 49,7% от исходной активности покоящихся семян нута.

Изменение активности ингибиторов при прорастании большинства бобовых культур исследовалось лишь в отношении ингибиторов экзогенных протеаз без взаимосвязи с изменением активности собственных протеолитических ферментов. Взаимосвязь автолитических процессов и активности ингибиторов при прорастании была показана только для чины [12], сои [65] и фасоли [17].

При этом протеазы выделяли из покоящихся семян нута, а их белковые ингибиторы из семян на разных стадиях прорастания. Данные, демонстрируют, что при прорастании семян нута активность ингибиторов нейтральных и щелочных протеаз резко падает, причем в случае с щелочными протеазами темпы падения активности ингибиторов значительно превышают темпы снижения активности протеаз. На 7-е сутки прорастания ингибиторы как нейтральных, так и щелочных протеаз полностью разрушаются, тогда как нейтральные протеазы увеличивают свою активность примерно на 46%, а

щелочные протеазы сохраняют около 90% своей исходной активности.

Исходя из изложенного, можно заключить, что вероятно процесс деградации запасных белков семян нута, осуществляемый нейтральными и щелочными протеазами, при прорастании семян связан как с повышением протеолитической активности (нейтральные протеазы), которое, скорее всего, обусловлено синтезом ферментов, действующих в нейтральной зоне pH, так и с разрушением белковых ингибиторов, что способствует высвобождению активных протеолитических ферментов, содержащихся в созревших семенах нута.

Таким образом, на примере семян нута подтвердилась общая закономерность, отмеченная ранее для пшеницы [70], сои [65] и фасоли [17] - роль ингибиторов эндогенных протеаз заключается в регуляции метаболизма запасных белков в семенах растений.

3.4. Совершенствование способа влаготермической обработки зерновой фасоли

Среди существующих способов влаготермической обработки зерновой фасоли известны такие, как варка до готовности при непрерывном кипении, варка в 1,2 % растворе пищевой соды, варка с предварительным замачиванием в течение 5-8 часов. Последний способ влаготермической обработки (традиционный) наиболее распространен, так как позволяет получить готовый продукт с высокими органолептическими показателями. Однако традиционная влаготермическая обработка зерновой фасоли является длительной и не приводит к полной инактивации ингибиторов протеолитических ферментов. Варка в 1,2 % растворе пищевой соды менее продолжительна, полностью снижает активность ингибиторов протеолитических ферментов, однако приводит к высоким потерям минеральных веществ и витаминов и придает готовому продукту неудовлетворительные органолептические показатели. Варка при непрерывном кипении способствует частичной инактивации ингибиторов протеолитических ферментов, также характеризуется высокими

потерями водорастворимых минеральных веществ и витаминов, и поэтому неприемлема в производстве продуктов питания для детей школьного возраста. В связи с этим, целью исследования является совершенствование способа влаготермической обработки зерновой фасоли для получения готового продукта с низкой активностью ингибиторов трипсина, высокими органолептическими показателями и содержанием витаминов и минеральных веществ.

В соответствии с поставленной целью нами разработан усовершенствованный способ влаготермической обработки зерновой фасоли, состоящий из двух этапов. Первый этап - варка продолжительностью 3-5 минут от закипания с заменой варочной среды на холодную воду (гидромодуль 1:2). Вторым этапом - доведение до готовности при непрерывном кипении в течение 67 - 75 минут с одно- или двукратной заменой от 25 до 40 % варочной среды на холодную воду (гидромодуль 1:3).

В таблице 8 приведены сравнительные схемы способов влаготермической обработки зерновой фасоли, где учтен расход воды и продолжительность отдельных этапов.

Таблица 8

Сравнительные схемы способов влаготермической обработки зерновой фасоли

Традиционный способ	Усовершенствованный способ
Инспекция	Инспекция
Магнитное сепарирование	Магнитное сепарирование
Мойка	Мойка
Замачивание, $\tau = 5$ часов, гидромодуль 1: 2	-
-	Варка, $\tau = 3-5$ минут с заменой варочной среды на холодную воду, гидромодуль 1: 2
Варка до готовности, $\tau = 70 - 80$ минут, гидромодуль 1:3	Варка до готовности, $\tau = 67 - 75$ минут с одно-двух кратной заменой от 25 до 40 % варочной среды на холодную воду, гидромодуль 1: 3

Количество воды на варку 1 кг фасоли: 5 л	Количество воды на варку 1 кг фасоли: 5,7 - 6,2; в том числе для замены варочной среды: 2,7 - 3,2 л
---	---

Продолжительность влаготермической обработки и коэффициент развариваемости, и, в зависимости от используемого способа обработки приведены в таблице 9.

Таблица 9

Характеристика влаготермической обработки зерновой фасоли

Наименование влаготермической обработки	Сорта зерновой фасоли					
	«Горналь»		«Мечта»		«Баллада»	
	τ , мин.	к	τ , мин.	к	τ , мин.	к
Традиционный способ	370	2,7	380	2,9	380	2,7
Варка в 1,2 % растворе пищевой соды:	360	2,8	365	3,0	370	2,9
Варка при непрерывном кипении	130	2,9	135	3,2	140	3,0
Усовершенствованный способ	70	2,7	80	2,9	80	2,7

Установлено, что при усовершенствованном способе влаготермической обработки зерновая фасоль достигает соответствующего данному сорту показателя развариваемости за более короткий промежуток времени. Так, в сравнении с традиционным способом продолжительность технологического процесса для всех исследуемых сортов сокращается на 5 часов. При варке в 1,2 % растворе пищевой соды и непрерывном кипении хотя и сокращается время приготовления, однако происходит разрушение структуры тканей бобов зерновой фасоли, повышая коэффициент развариваемости на 0,1-0,3 единицы. Использование усовершенствованного способа влаготермической обработки позволяет получить готовый продукт с хорошо сохранившейся формой, с коэффициентом развариваемости на уровне товароведных требований к сорту.

Изучение влияния способа влаготермической обработки на потери сухих веществ представлено в таблице 9. Массовую долю сухих веществ определяли в сырых бобах, в бобах после замачивания в течение 5 часов и через каждые де-

сять минут варки продолжительностью 80 минут.

Из данных таблицы 10 следует, что при усовершенствованном способе влаготермической обработки зерновой фасоли потери сухих веществ несколько больше, чем при традиционном способе.

Таблица 10

Изменение массовой доли сухих веществ зерновой фасоли при влаготермической обработке

Наименование обработки	Способы влаготермической обработки					
	традиционный			усовершенствованный		
	Массовая доля сухих веществ в зерновой фасоли сортов, %					
	«Горналь»	«Мечта хозяйки»	«Баллада»	«Горналь»	«Мечта хозяйки»	«Баллада»
Без обработки	85,19	84,25	85,81	85,19	84,25	85,81
Замачивание 5 ч	46,78	56,25	51,15	-	-	-
Варка в течение, мин	46,25	41,91	42,41	68,00	61,33	65,85
10	43,62	39,47	41,97	61,43	58,16	61,70
20	39,27	36,92	40,99	43,59	42,41	46,70
30	35,48	34,07	35,58	39,03	42,00	41,07
40	32,32	28,83	36,50	37,17	41,08	40,91
50	29,92	28,79	34,48	37,00	41,21	38,49
60	22,39	25,37	33,33	27,47	41,14	36,13
70	21,85	25,34	31,78	20,62	37,07	34,78
80	-	25,00	30,73	-	23,08	28,57

Так для зерновой фасоли сорта «Горналь» потери сухих веществ увеличиваются на 1,23 %, для сорта «Мечта хозяйки» - на 1,92 %, для сорта «Баллада» - на 2,16 %. Увеличение потерь сухих веществ при ступенчатой варке обусловлено интенсификацией процессов влаго- переноса и диффузии водорастворимых веществ в варочную среду. В целом, при сравнении традиционной и ступенчатой варки можно сделать вывод, что разница в потерях сухих веществ не значительна.

3.5. Влияние нутовой муки на качество хлеба

Анализ литературных данных по состоянию вопроса о производстве и применению белков растительного происхождения позволяет выделить нут как наиболее перспективную зернобобовую культуру, массовая доля белков в котором составляет 30 - 32%, а аминокислотный скор идентичен сое. Нут, как отмечалось выше, традиционная культура для Среднеазиатского региона, она имеет хорошие перспективы возделывания и в России (посевные площади составляют 50 тыс. га и имеет тенденцию к дальнейшему росту). При этом себестоимость 1 тонны зерна нута в 2 - 3 раза ниже за счет неприхотливости при возделывании [1,3,4,6,19].

В науке и практике пищевых производств имеются некоторые положительные оценки в части создания продуктов с нутом, рекомендованы рецептуры их приготовления [1,4,18,19]. Однако эти сведения касаются в основном сортов нута, возделываемых на территории РФ (Волгоградская, Воронежская области, южные районы Башкирии), научно-обоснованные сведения о возможности применения сортов нута, возделываемого в Таджикистане, в хлебопечении с целью обогащения продуктов массового спроса, и снижении их себестоимости в литературе отсутствуют.

С целью изучения возможности замены части пшеничной муки на путовую (10, 15, 20, 25% от массы пшеничной муки), проводили оценку выхода и качества клейковины, а также оценивали качественные и органолептические показатели хлеба.

В табл. 11. приведены данные по влиянию замены пшеничной муки на муку нута сорта «Джалалабадский».

Полученные данные свидетельствуют о том, что добавление нутовой более 10% от массы пшеничной муки приводит к уменьшению массовой доли клейковины и ее ослаблению.

На следующем этапе проводили выпечку хлеба с заменой части пшеничной муки на путовую (10, 15, 20, 25% от массы пшеничной муки).

Влияние замены пшеничной муки на нутовую на количество и качество
клейковины

Наименование показателей	Замена пшеничной муки на нутовую, % к массе пшеничной муки				
	5	10	15	20	25
Массовая доля сырой клейковины, %	33	35	23	19	16
Качество клейковины, е/д. прибора	61	70	82	84	92

Опытные варианты представляли собой образцы с заменой пшеничной муки на муку из нута в количестве 10, 15, 20, 25 % от массы пшеничной муки. Контрольным вариантом служила проба муки без добавления нута.

Брожение теста проводили при температуре 28 - 30°C в воздушном термостате; продолжительность брожения теста - 150 минут с двумя обминками через каждые 60 минут после начала брожения. После брожения тесто взвешивали. Куску массой 400 г придавали овальную форму и сразу же после формования помещали в предварительно смазанную растопленным маргарином форму.

Форму помещали для расстойки в термостат, в котором поддерживали температуру 35°C и относительную влажность воздуха 75 - 80 %. Окончание расстойки определяли органолептически.

Выпечку хлеба проводили в лабораторной условиях в электропечи при температуре 220 - 230°C с увлажнением пекарной камеры в течение 25 мин.

Качество хлеба оценивали через 16 часов хранения по следующим показателям: пористость, удельный объем, органолептическая оценка.

Образец 2 с добавлением нутовой муки в количестве 10 % от массы пшеничной муки, по объему, правильности формы, цвету корки не уступает контрольному варианту, а даже превосходит его.

Замена пшеничной муки на нутовую в количестве 10 и 15 % приводит к увеличению удельного объема хлеба более 15 %. к резкому уменьшению

удельного объема хлеба. Добавление нутовой муки вызывает изменение окраски корки хлеба, появлению соответствующего вкуса и аромата нута. Если при внесении нутовой муки в количестве 10 % корка приобретает золотистый оттенок по сравнению с контрольным образцом; то добавление нутовой муки в количестве более 10% приводит к чрезмерному потемнению корки и ухудшению состояния поверхности хлеба, появляются характерные бугры и надрывы (табл. 12.).

Таблица 12.

Влияние замены пшеничной муки на нутовую на пористость и удельный объем хлеба

Наименование показатели	Замена пшеничной муки на нутовую, % к массе муки				
	0	10	15	20	25
Пористость, %	80	78	73	73	66
Удельный объем, %	3,0	3,34	3,06	2,62	2,32

Суммарная оценка качества хлеба исследуемых образцов представлена в табл. 13.

Таблица 13.

Суммарная оценка качества хлеба исследуемых образцов

Показатель	Метод опробования	Коэффициент весомости	Оценка с учетом весомости, баллы				
			0% нута (контроль)	10% нута	15% нута	20% нута	25% нута
Объем формового хлеба	объективный	3,0	8,4	5	9,6	6,6	6,0
Правильность формы	Органолептический	1,0	5,0	5,0	4,0	3,0	2,0
Окраска корок	Органолептический	1,0	3,0	5,0	5,0	5,0	5,0
Состояние поверхности	Органолептический	1,0	5,0	5,0	3,0	2,0	2,0
Цвет мякиша	Органолептический	2,0	10,0	8,0	6,0	4,0	4,0

Структура пористости	Органолептический	1,5	6,0	6,0	6,0	3,0	3,0
Реологические свойства мякиша	Органолептический	2,5	12,5	12,5	10,0	7,5	5,0
Аромат (запах)	Органолептический	2,5	12,5	12,5	10,0	10,0	10,0
Вкус	Органолептический	2,5	12,5	12,5	10,0	10,0	10,0
Разжёвываемость мякиша	Органолептический	1,0	5,0	5,0	4,0	2,0	2,0

На основании проведенных исследований, можно сделать вывод о том, что наиболее оптимальной является замена пшеничной муки на нутовую в количестве 10%.

Выводы по главе III

1. Изучены белковые ингибиторы протеаз из семян нута, также действие протеолитических ферментов семян нута на белки нута и пшеницы.
2. Исследовано изменение активности протеолитических ферментов и их белковых ингибиторов при прорастании семян нута.
3. Показано совершенствование способа влаготермической обработки зерновой фасоли.
4. Исследовано влияние нутовой муки на качество хлеба.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Проведено сравнительное изучение белкового комплекса семян нута сортов «Таджикский» и «Джалалабадский».

2. Показано, что в созревших семенах нута содержатся протеолитические ферменты, различающиеся оптимумом рН действия: нейтральные (рН 7,0) и щелочные (рН 10,0).

3. Разработана схема выделения белковых ингибиторов протеаз из семян нута, специфичных по отношению к собственным протеолитическим ферментам и к трипсину.

4. Показана способность нейтральной и щелочной протеаз семян нута гидролизовать собственные белки.

5. Установлено, что белковые ингибиторы протеаз участвуют в регуляции активности протеаз в покое и при прорастании. Устойчивость белкового комплекса семян нута в покое обусловлена тем, что активность протеаз подавляется белковыми ингибиторами.

6. Показана возможность замены пшеничной муки на нуттовую в количестве 10% при выпечке хлеба, при этом происходит увеличение удельного объема формового хлеба, улучшается окраска и структура корок, сохраняются другие органолептические показатели качества.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Абдрахманова А.М. Использование нетрадиционных наполнителей в производстве средне- и низкокалорийных майонезов /В кн.: Совершенствование технологий и переработки с.-х. продукции в современных условиях. -Волгоград, 1999, с. 161-163.
2. Абрамова Е.П., Черникова М.П. Содержание ингибиторов протеаз в семенах некоторых бобовых // Вопросы питания, 1964, т. 23, с. 13-18.
3. Аникеева Н.В. Биологическая ценность белков нута / В сб. «Качинские чтения». — Волгоград: Царица, 2003, с. 12 - 13.
4. Аникеева Н.В. Научные основы новых технологий белковых препаратов и диетических продуктов с использованием нута. Автореф. дисс. на соискание уч. ст. докт. техн. наук. - Воронеж, 2004. - 48 с.
5. Антонов К.В. Химия протеолиза. - М.; Наука, 1983,-386 с.
6. Балашов В.В., Балашов А.В., Патрин М.Т. Нут - зерно здоровья. - Волгоград: Изд. «Перемена», 2002, - 88 с.
7. Белозерский М.А. Свойства и физиологическая роль протеиназ и их ингибиторов в семенах некоторых высших растений. Автореф. дисс. на соискание уч. ст. докт. биол. наук. - М.: 1983, - 44 с.
8. Беккен И.И. Изменчивость содержания ингибиторов трипсина в семенах фасоли / В'кн.: Селекция, семеноводство и приемы возделывания фасоли. - Орел, 1975, с, 137- 143.
9. Беккен И.И., Буданова В.И. Ингибиторы трипсина в семенах фасоли /В кн.: Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции, 1976, т. 56, № 3. с. 67-73.
10. Беккен И.И., Волузнева Т.А., Мирошниченко И.И. Активность ингибиторов трипсина и содержание белка в семенах чечевицы /ВИР, 1977, № 73, с. 29 - 34.
11. Беккен И.И., Демина Р.Б. Комендантова Т.А. Белок и белковые

ингибиторы протеиназ в семенах различных сортов нута //Труды по прикладной ботанике, генетике, селекции, 1981, т. 70, №3. с. 3 -9.

12. Беккен И.И., Кузнецова Е.А. Активность протеолитических ферментов и ингибиторов протеиназ в прорастающих семенах чины / В кн.: Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции, 1981, т. 70, № 3, с. 11 - 19.

13. Беккен И.И., Макашев Р.Х. Некоторые показатели питательной ценности кормового гороха. - Л.: Бюл. ВИР, 1977, выи. 73, с. 7 - 11.

14. Беккен И.И., Мосолов В.В., Федуркина Н.В. Влияние ингибитора протеиназ из фасоли на фитопатогенные грибы // Микробиология и фитопатология, 1976, т. 10 № 3, с. 198 - 201.

15. Беккен И.И., Волузнева Т. А., Мирошниченко И.И. Активность ингибиторов трипсина и содержание белка в семенах чечевицы и чины. - Л.: Бюл. ВИР, 1977, вып. 73, с. 29 - 34.

16. Буткевич В.С. Регрессивный метаморфоз белковых веществ в высших растениях и участием в нем протеологического фермента // Изв. Московского сельскохозяйственного института, 1904, т. 10, с. 1.

17. Витол И.С. Протеолитические ферменты семян фасоли, Дисс. на соискание уч. степ. канд. биол. наук. - М., 1986, - 188 с.

18. Вишнякова М.А., Яньков И.И., Булынцев С.В. Горох, фасоль, бобы. — СПб.: Диамант, 2001, - 224 с.

19. Горлов И.Ф., Манджиев О.Х., Ченрасова Т.Б. Исследование способов подготовки и обработки зернобобовой культуры нута с целью его использования в рецептурах ЗЦМ // Технологии производства и переработки продукции животноводства. - Волгоград, 1996. с. 26 29.

20. ГОСТ 8758 - 76. Нут. Технические условия. - М.: Изд-во стандартов, 2003, с. 16-19.

21. Детерман Г. Гель-хроматография. - М.: Мир, 1970, - 602 с.

22. Дюкянджиен С.Б., Саянова О.В., Вайнтрауб И.А., Шутов А.Д. Распад запасных белков и протеолитическая активность в прорастающих семенах фасоли // Изв: АН Молд, ССР, серия биол. и хим. наук, 1980, № 2, с. 48-53.

23. Егоров Г. А., Гончарова З.Д., Петренко Т.П. Практикум по технохимическому контролю производства хлебопродуктов. - М.: Колос, 1980,- 192 с.

24. Заиров С.З., Кузьмина М. В., Давлетова Ш.К., Хисярова Л.И., Сарбанова И.Т. Протеолиз глиаина в прорастающем зерне пшеницы / В кн.: Тезисы стендовых сообщений. V Всесоюзного биохимического съезда, - М.: Наука, 1986, т. 2, с. 42-43.

25. Земчик Е.И. и др. О протеолитических ферментах в прорастающих семенах вики. / В кн.: Растительные белки. - Кишинев: Штинца, 1972, с. 19 - 52.

26. Земчик Е.И. и др. Сходство бензоил-нитроанилидазы из проростков и семядолей вики // Физиология и биохимия культурных растений, 1973, т. 5, №3, с. 257 – 259.

27. Земчик П.И. и др. Выделение фермента, гидролизующего бензоил, аргинин-нитроанилид из проростков вики и его дальнейшая характеристика // Биохимия, 1975. т. 40, №4, с. 746-756.

28. Земчик Е.И., Шутов А.Д., Вайнтрауб И.А. Частичная очистка и характеристика ариламидазы из семян вики // Биохимия, 1973, т. 38, .N2 5, с. 964-970.

29. Зимачева А.В., Иевлева Е.В., Мосолов В.В. Высокомолекулярная протеиназа из отменного солода // Биохимия, 1990, т. 55, № 10, с. 1874 - 1881.

30. Калинина Е.А. Разработка новой кормовой добавки для цыплят-бройлеров // Зоотехника, 1999, Ж» 1, с. 3 - 21.

31. Карпиленко Г.П., Попов М.П. Распределение протеаз ячменя и ячменного солода по анатомическим частям зерновки // Известия ВУЗов. Пищевая технология, 1973, № 6, с.30 - 32.

32. Карпиленко Г.П., Попов М.П. Свойства кислой протеиназы ячменя // Прикладная биохимия и микробиология, 1975, т. 11, Хя5, с 757 - 758.

33. Княгиничев М.И., Гросман В.Ю. Биохимия нута / В кн.: Биохимия культурных растений. - Л., 1938, т. 2, -248 с.

34. Колеснов А.Ю. Протеолитические ферменты ячменя. Дисс. на

соискание уч. ст. канд. биол. наук. - М., 1987. - 186 с.

35. Коренев Г.В., Подгорный П.И., Щербак С.И. Растениеводство с основами селекции и семеноводства: - М.: Агропромиздат, 1990, - 575 с.

36. Кочетов Г.А. Практическое руководство по энзимологии. - М.: Высшая школа, 1980, -272 с.

37. Коэн Ф. Регуляция ферментативной активности. - М.: Мир, 1986; -144 с.

38. Кретович В.Л. Биохимия растений. - М.: Высшая школа, 1986, - 502 с.

39. Локшина Л.А. Реакции ограниченного протеолиза и их регуляторное значение / В кн.: Успехи биологической химии. - М.: Наука, 1977, т. 18, с. 162-184.

40. Локшина Л.А. Регуляторная роль протеолитических ферментов //Молекулярная биология, 1979, т. 13, № 6, с. 1205 - 1229.

41. Милов В.М. Количественный и качественный состав белка и его изменения в семенах гороха и нута. Дис. на соискание уч. ст. канд. биол. наук.- Л., 1953.-23 с.

42. Миротниченко И.И., Павлова А.М. Нут. - М.:1953, - 112 с.

43. Мосолов В.В. Белковые ингибиторы как регуляторы процессов протеолиза / В кн.: 36-е Баховские чтения. - М.: Наука, 1983, - 40 с.

44. Мосолов В.В. Природные ингибиторы протеолитических ферментов /В кн.: Успехи биологической химии. - М.: Наука, 1982, т. 22, с. 100 - 118;

45. Мосолов В.В. Протеолитические ферменты. - М*: Наука, 1971, - 414 с.

46. Нечаев А.П. и др. Пищевая химия. Лабораторный практикум. - СПб.: ГИОРД, 2006. - 304 с.

47. Овчаров К.Е. Физиология формирования прорастающих семян. - М.: Колос, 1976,-256 с.

48. Ори Р. Активность ферментов, связанных с белковыми тельцами / В кн.: Белки семян зерновых и бобовых культур. - М.: Колос, 1977, с. 90 - 103.

49. Орлов В.П., Исаев А.П., Лосев С.И. Зернобобовые культуры в интенсивном земледелии. - М.: Агропромиздат, 1986, ~ 206 с.

50. Остерман Л.А. Хроматография белков и нуклеиновых кислот. - М.:

Наука, 1985,-536 с.

51. Плешков В.Н. Биохимия сельскохозяйственных растений. - М.: Колос, 1980. -495 с.

52. Попов М.П., Карпиленко Г.П. Исследование кислых протсаз ячменя и ячменного солода // Прикладная биохимия и микробиология, 1974, т. 10, №2, с: 301 -303.

53. Попов М.П., Карпиленко Г.П., Глинская, Е.Н. Исследование продуктов протеолиза альбумина и белков эндосперма ячменя кислой протеиназой ячменя // Прикладная биохимия и микробиология, 1976, т. 12, № 3, с. 438 -441.

54. Пучкова Л.И. Лабораторный практикум по технологии хлебопекарного производства. - М.: Легкая и пищевая промышленность, 1982, - 232 с.

55. Саранчук И.С., Арсений А.А. Изменение химического состава зерна нута в зависимости от агротехнических приемов / В кн.: Интенсификация производства техн: и корм, культур. - Кишинев, 1990; с. 35 - 40.

56. Сельскохозяйственная биотехнология / под ред. акад. РАСХН В.С. Шевелухи, - М.: Изд. МСХА, 1995, - 310 с.

57. Сеферова И.В. Анализ географического распространения, разновидностей культурного нута // Научн.-техн. бюл. ВНИИ растениеводства, 1994, № 233, с. 95 - 99.

58. Сеферова И.В. Типы семян культурного нута и их географическое распространение // Научн.-техн. бюл. ВНИИ растениеводства, 1992, № 223, с. 43 - 46.

59. Сеферова И.В. Эколого-географическая дифференциация нута // Научн.-техн. бюл. ВНИИ растениеводства, 1993, № 230, с. 34-35.

60. Скоупс Р. Методы очистки белков. - М.: Мир, 1995, - 310 с.

61. Степанов В.М. Протеолитические ферменты - структура, функциональные особенности, эволюция. / В кн.: Химия протеолитических ферментов. - Углич, 1979. с. 5.

62. Столяров О.В., Федоров В. А., Демченко Н.И: Нут. Воронеж: Изд. ВГУ,

2004, - 256 с.

63. Тер-Мовсисян А.Ж. Нейтральные протеазы зерна ржи и их белковые ингибиторы. Автореф. дис. на соискание уч. степ. канд. биол. наук. - М., 1981. - 24 с.

64. Тимман К.В. Вступительная глава / В кн.: Физиология и биохимия покоя и прорастания семян. - М.: Колос, 1982, с. 13-16.

65. Типисева И.А. Протеолитические ферменты семян сои. Автореф. дис. на соискание уч. степ. канд. биол. наук. - М., 1984, - 21 с.

66. Федотов В.А. Зернобобовые культуры /под ред. Г.В. Коренева. - Воронеж, 1986, с. 142 - 169.

67. Фершт С.Х. Структура и механизм действия ферментов. - М.: Мир, 1980, 432 с.

68. Фомина О.Н. Левин А.М. Нарсеев А.В. Зерно. Контроль качества и безопасности по международным стандартам (под ред. В.М. Кантере). - М.: Протектор, 2001, - 368 с.

69. Химия и биохимия бобовых растений / под ред. М.Н. Запрометова. - М.: Агропромиздат, 1986, - 336 с.

70. Шаненко Е.Ф. Нейтральные протеазы зерна пшеницы и их белковые ингибиторы. Автореф. дис. на соискание уч. степ. канд. биол. наук. - М., 1980,- 24 с.

71. Иваненко Е.Ф., Попов МП. Кретович В.Л. Нейтральные протеазы зерна пшеницы / Прикладная биохимия и микробиология, 1985, т.21, № 2, о. 173- 175.

72. Шпаар Д., Элмер Ф., Постников А., Тарануко Г. Зернобобовые культуры. - Минск: ФАУинформ, 2000, - 264 с.

73. Шульц Г., Ширмер Р. Принципы структурной организации белков - М.: Мир, 1982, - 354 с.

74. Шутов А.Д. Протеолиз запасных белков в прорастающих семенах бобовых. Автореф. дис. на соискание уч. степ, доктора биол. наук. - М., 1983,- 34 с.

75. Шутов А.Д., Белтей Н.К., Вайнтрауб И.А. Цистеиновая протеиназа из

прорастающих семян пшеницы: частичная очистка и гидролиз клейковины // Биохимия, 1984, т. 49, Л» 7, с. 1171 - 1177.

76. Шутов А.Д., Бульмага ВЛ, Поло Р.Э. Протеиназа А прорастающих семян вики и её роль в мобилизации запасных белков / В кн.: Биохимия нуклеиновых кислот и метаболизм белка. - Минск, 1981, с. 73 - 74.

77. Шутов А.Д., Вайнтрауб И.А. О разложении белков семян сои и вики при прорастании / В кн.: Растительные белки. - Кишинев: Штинца, 1972, с. 38 - 42.

78. Шутов А.Д., Вайнтрауб И.А. Протеолиз запасных белков при прорастании семян / В кн.: Биохимические и физиологические исследования семян. - Иркутск, 1979, с. 136 - 146.

79. Шутов А.Д. и др. Очистка и частичная характеристика протеазы В из прорастающих семян вики // Биохимия, 1982. т. 47, №5, с. 814- 821.

80. Шутов А.Д., Королева Т.Н., Вайнтрауб И.А. Об участии протеаз покоящихся семян вики в распаде запасных белков при прорастании // Физиология растений, 1978, т. 25, № 4, с. 735 - 742.

81. Пащенко Л.П., Назинцева Е.А., Кузьмина С.И. Некоторые показатели липид-белковых комплексов из растительного сырья // Изв. вузов. Пищевая технология. - 1996. - № 5-6. - С. 15-16.

82. Крюк И.Ф. Биохимия и товароведение семян зернобобовых культур и продуктов их переработки. - Минск: Министерства высшего, среднего специального и профессионального образования БССР, 1961. - 276 с.

83. Арора С.К. Химия и биохимия бобовых растений / Пер. с англ. К.С. Спектрова. - М.: Агропромиздат, 1986. - 336 с.

84. Казаков Е.Д., Карниленко Г.П. Биохимия зерна и хлебопродуктов - СПб.: ГИОРД, 2005.-512 с.

85. Клименко В.Г. Белки некоторых бобовых / В кн. Растительные белки и их биосинтез. - М.: Наука, 1975. - С. 120-126.

86. Щербаков В.Г., Лобанов В.Г., Прудникова Т.Н., Минакова А.Д. Биохимия - СПб.: ГИОРД, 2003. - 440 с.

87. Мессина М., Мессина В., Сетчелл К. Обыкновенная соя и ваше здоровье - М.: «Ассоя». - 1994.- 209 с.
88. Не бойтесь остаться на бобах / Под ред. компании «Ассоя» - М.: «Планета людей» - 2004.- № 2 - С. 40-41.
89. Кулинария: Супер книга для гурманов - М.: Воскресенье; Раритет, 1997.- 1152 с.
90. Воробьева Л.И. Кулинарные рецепты: Из «Книги о вкусной и здоровой пище». - М.: Агропромиздат, 1989. — 335 с.
91. Новоженев Ю.М., Сопина Л.Н. Зарубежная кухня: Практ. пособие - М.: Высшая школа, 1991. - 288 с.
92. Зачиняева Е.В., Ковалев Н.И. Крупяные блюда повышенной биологической ценности // Санкт-Петербург, торгово-экономич. институт - СПб., 1989.-38 с.
93. Доронин А.Ф., Соболева Н.Н., Кочеткова А.А., Гудзенко Д.Г. Комбинированные продукты для детского и диетического питания на плодозерновой основе // Тез. докл. Междунар. науч.-практ. конф. «Индустрия продуктов здорового питания - 3 тысячелетие (человек, наука, технология, экономика)». Москва, 24-25 февр., 1999. - М., 1999. - Ч. 2 - С. 88.
94. Лукьянченко Н.П. Исследование функционально-технологических свойств нутовой муки с целью использования в технологии колбасных изделий / Сб. науч. тр. Сер. Продовольствие - Сев.- Кавк. гос. техн. ун-т. - 2000. - № 3. - С. 54-55.
95. Мясные полуфабрикаты с использованием соевых белков - М., 2004.
96. Пат. РФ МПК А23L1/333. Консервы из морского гребешка / В.И. Базилевич, Т.П. Тубол, В.В. Худенко // Дальневосточн. гос. акад. экон. и управ. № 96116083/13. Заявл. 05.08.1996.
97. Пат. Россия, МПК А 23 L 1/18. Способ производства пищевого продукта «хрустящий горошек» / В.Г. Карпов. - № 2003110521/13. Заявл. 15.04.2003; Оpubл. 20.10.2004.
98. Пат. 6090433 США, МПК А 23 L1/20. Пищевая стручковая закуска и

способ ее приготовления / М. Х. Стернер, С. О. Рональд - №08/059895; Заявл. 07.05.1993; Оpubл. 18.07.2000; НПК 426/634; Приоритет 01.07.90 - №289170 - 11 с.

99. Кулинария, кулинарные рецепты, рецепты приготовления - М., 2005.

100. Лебедева А.Т. Горох. Фасоль. Бобы. - М.: ООО «Издательство Астрель», 2004. - 121 с.

101. Головченко В., Лопатин Г., Ковбаса В. Научные достижения, касающиеся экструдатов, шротов и концентратов из зернобобовых //Перераб. пром-сть. 2001. - № 1. - С. 23-25.

102. Пат. 2001135919/13. РФ, МПК⁷ А23L1/20. Способ получения соевого-овощного консервированного продукта / С.П. Присяжная, Е.С. Глебова, О.М. Личман // Дальневосточный гос. аграрный ун-т. - № 2001135919; Заявл. 27.12.2001; Оpubл. 27.03.2004.

103. Гиль О.Б. Обоснование, разработка технологии, оценка качества первых и вторых блюд на основе крупяных бинарных композиций: Автореф. дис. ...канд. техн. наук. - Владивосток, 2005. - 24 с.

