

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ ХАРКІВСЬКИЙ
НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ імені В. Н. КАРАЗІНА

Біологічний факультет

Кафедра молекулярної біології та біотехнології

**РОЗРОБКА СПОСОБІВ ОТРИМАННЯ БІЛКІВ ТА
АМІНОКИСЛОТ ІЗ СОНЯШНИКОВОГО ШРОТУ**

Допущен до захисту

«__» _____ 2023 р.

Кваліфікаційна робота студента кафедри:
Шведов О.М

Науковий керівник:

д.б.н., проф. Божков А.І
аспірант Ганін В.Ю.

Завідувач кафедри _____

Оцінка « _____ »

«__» _____ 2023 р.

Харків 2023

АНОТАЦІЯ

Дипломна робота Шведов О.М. присвячена дослідженню методів отримання білків та амінокислот з соняшникового шроту. Було проведено у приклад ряд експериментів для демонстрації досліджень, спрямованих на вдосконалення методів екстракції білків та амінокислот з соняшникового шроту шляхом використання нових розчинників та технологій, що підвищують вихід цих речовин. Це може включати використання високотемпературних розчинників або застосування ультразвуку для покращення процесу екстракції.

Розробка нових методів вилучення білків та амінокислот з соняшникового шроту має значний потенціал для забезпечення сталого розвитку та вирішення проблеми дефіциту білка в усьому світі.

SUMMARY

The diploma thesis by Shvedov O.M. is dedicated to the research of methods for obtaining proteins and amino acids from sunflower meal. A series of experiments were conducted as an example to demonstrate research efforts aimed at improving protein and amino acid extraction methods from sunflower meal by utilizing new solvents and technologies that enhance the yield of these substances. This may involve the use of high-temperature solvents or the application of ultrasound to enhance the extraction process.

The development of novel methods for extracting proteins and amino acids from sunflower meal holds significant potential for sustainable development and addressing the problem of protein deficiency worldwide.

ЗМІСТ

ВСТУП	5
РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД І АНАЛІЗ НАУКОВОЇ ЛІТЕРАТУРИ	7
1.1 Корисні властивості і склад соняшникового шроту.....	7
1.2 Білки та амінокислоти - як компоненти їжі. Ефект хімічного складу шроту соняшнику на його справжню метаболічну енергію та засвоєння амінокислоти	10
1.3 Обґрунтування амінокислотного складу соняшникових білків для дієтичних та функціональних продуктів.....	12
1.4 Характеристика білків соняшникового шроту, способи їх депонування	15
1.5 «Науково-практичні засади удосконалення технологій білкових продуктів із шротів олійних культур із використання протеолітичних ферментів».....	17
1.6 Науково-практичні засади удосконалення технологій білкових продуктів із шротів олійних культур із використання протеолітичних ферментів».....	18
1.7 Способи денатурації та осадження білків	19
1.8 Способи розчинення білків	21
1.9 Порівняльний аналіз методів екстрагування та розділення білків для протеомного дослідження білкових профілів коренів і бульбочок сої	22
1.10 Порівняльний аналіз методів екстрагування та розділення білків для протеомного дослідження білкових профілів коренів і бульбочок сої	23
1.11 Способи поділу білків і амінокислот	24
1.12 Екстракція рослинних білків з соняшникового шроту	24
1.13 Існуючі способи виділення білків із рослинних об'єктів.....	27
1.14 Виділення і характеристика інгібітору панкреатичної амілази....	27
1.15 Методологічні аспекти виділення та визначення активності лектинів пшениці озимої (<i>triticum aestivum</i> l.)	29
1.16 Можлива технологія отримання білка та амінокислот.....	30
1.17 Отримання білкового продукту з насіння соняшнику вітчизняної селекції.....	32
РОЗДІЛ 2 МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ	35

РОЗДІЛ 3 РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ.....	37
3.1. Обґрунтування експериментального підходу.....	37
3.2 Вплив виходу білка із соняшникового шроту.....	38
3. ЗДослідження впливу білкових соосаджувачів на вихід білка із соняшникового шроту	40
ВИСНОВКИ	42
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	43
ДОДАТКИ	49

ВСТУП

Білки є одним з основних компонентів метаболізму тіла, і їх недостатній рівень може призвести до певних патологічних змін і відхилень у розвитку. Отримання харчових білків і амінокислот є важливим і необхідним напрямом у харчовій біотехнології. Останнім часом великий інтерес викликає отримання білків із рослинного походження. Особливу увагу приділяють соняшнику, оскільки при вилученні олії з соняшникового шроту можна отримати білки в кількості до 40-80% залежно від сорту. Однак, отримання білків із соняшникового шроту пов'язане з низкою труднощів, оскільки в харчовій технології не рекомендується використовувати цілий шрот. Існують різні методи отримання білків із соняшникового шроту, однак, кожен із них має свої переваги та недоліки. У зв'язку з цим, було проведено аналітичну роботу, присвячену отриманню білків із соняшникового шроту на основі "гістану" за допомогою біологічних та фізико-хімічних технологій.

Нині виробництво білкових продуктів стає дедалі актуальнішим у зв'язку зі зростаючим інтересом до здорового способу життя і правильного харчування. Один зі способів отримання білкових продуктів - це гідроліз білкових сировинних матеріалів. Одним із таких матеріалів є соняшниковий шрот, який залишається після екстракції олії з насіння соняшнику. Білковий гідролізат із соняшникового шроту є цінним джерелом амінокислот для людини і тварин, і широко використовується в харчовій і кормовій промисловості для виробництва продуктів, багатих на білок. У даному контексті, важливо розглянути процес отримання білкового гідролізату з соняшникового шроту, його особливості та способи використання в харчовій та кормовій промисловості.

Соняшниковий шрот - це побічний продукт, який отримують під час виробництва олії з насіння соняшнику. Він являє собою масу, що

залишилася після віджимання олії з насіння соняшнику. Містить залишкову кількість олії, а також значну кількість білка, клітковини та інших поживних речовин.

Соняшниковий шрот є цінним джерелом білка, який може бути використаний у кормовій промисловості для виробництва кормів для тварин. Він також може бути використаний у харчовій промисловості для створення продуктів, багатих на білок.

Одним зі способів використання соняшnikового шроту є процес гідролізу, за якого білкові сполуки шроту розбиваються на більш дрібні фрагменти, збільшуючи тим самим поживну цінність продукту. Отриманий білковий гідролізат із соняшникового шроту може бути використаний для виробництва харчових продуктів і добавок до кормів для тварин.

Соняшниковий шрот роблять шляхом пресування насіння. У результаті виходить не тільки основний продукт, - олія, - але також макуха і шрот. При цьому макуха виходить після дроблення ядер насіння на етапі віджиму, а шрот - шляхом пресування та екстрадиції насіння, яке вже витягнуто. Що стосується того, який вигляд має соняшниковий шрот, то це жорстка маса різних відтінків сірого і коричневого. Його виробляють у формі гранул або лусочок.

Основна сфера використання - як корм для сільськогосподарських тварин. Продукт може застосовуватися або в чистому вигляді, або як добавка.

РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД І АНАЛІЗ НАУКОВОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1.1 Корисні властивості і склад соняшникового шроту

Шрот соняшниковий, застосування якого в тваринництві приносить істотну економію, є справжньою джерелом вітамінів, білків і клітковини. Через відносно високий вміст клітковини шрот соняшниковий – це цікава альтернатива іншим джерелам клітковини, таким як висівки. Крім того, даний кормовий продукт забезпечує тварин великою кількістю білка, якого у висівках набагато менше. У числі позитивних властивостей даного продукту:

- сприятливий вплив на зростання і розвиток молодняка – в добавці міститься метіонін, завдяки якому тварини добре ростуть і розвиваються;
- поживність – продукт дає тваринам хороший запас енергії;
- підвищення продуктивності – наприклад, додавання в раціон корів шроту збільшує об'єми добового удою;
- поліпшення якості тваринницької продукції – у випадку з коровами – підвищується жирність молока.

Гідність саме в тому, що він стійкий до поразки мікотоксинами, відповідно, вірогідність згубного впливу добавки зводиться до мінімуму. Шрот соняшникового хімічного складу має дуже поживний.

Соняшниковий шрот має широке застосування в біотехнології завдяки вмісту в ньому білків, які можуть бути гідролізовані для отримання білкових гідролізатів, важливих для багатьох процесів у біотехнології.

Один із прикладів використання соняшникового шроту в біотехнології - це виробництво білкових препаратів. Білкові гідролізати, отримані із соняшникового шроту, можуть бути використані для виробництва білкових препаратів, таких як інсулін, фактори згортання крові та інших білків, необхідних для лікування багатьох захворювань.

Крім того, соняшниковий шрот може бути використаний у біотехнології для виробництва біогазу та біодизеля. Він містить велику кількість жирних кислот, які можуть бути використані в процесі виробництва біодизеля. Крім того, соняшниковий шрот може бути використаний як субстрат для виробництва біогазу, завдяки високому вмісту органічних речовин.

Білковий гідролізат - це продукт, який отримують унаслідок гідролізу білків, тобто розбивання білкових сполук на більш дрібні фрагменти за допомогою ферментів або кислот. Білковий гідролізат містить пептиди і вільні амінокислоти, які мають високу біологічну цінність і можуть використовуватися як харчові добавки або інгредієнти в кормах для тварин.

Білкові гідролізати використовуються в різних галузях промисловості, включно з харчовою, фармацевтичною та косметичною. Вони широко застосовуються у виробництві спортивного харчування, дитячих і дієтичних продуктів, добавок до кормів для тварин та інших продуктів.

Переваги білкових гідролізатів включають швидке засвоєння організмом, високу біологічну доступність і поліпшення функціонування імунної системи. Крім того, білкові гідролізати мають меншу алергенність, ніж цілі білки, що робить їх більш придатними для людей, які страждають від алергічних реакцій на білки.

Таким чином, білковий гідролізат є важливим продуктом у харчовій, фармацевтичній та косметичній промисловості, а також у виробництві кормів для тварин.

Білковий гідролізат із соняшникового шроту - це продукт, який отримують шляхом гідролізу білкових сполук, що містяться в шроті, який є побічним продуктом під час виробництва олії з насіння соняшнику. Шрот містить значну кількість білка, але його неперетравлюваність і низька

біологічна цінність роблять його непридатним для прямого використання як корму або харчового продукту.

Гідроліз соняшникового шроту проводять за допомогою ферментів або кислот, які руйнують білкові сполуки і перетворюють їх на пептиди та вільні амінокислоти, що мають вищу біологічну цінність. Отриманий білковий гідролізат із соняшникового шроту може використовуватися як добавка до кормів для тварин, а також у виробництві харчових продуктів і біологічно активних добавок.

Для отримання білкового гідролізату із соняшникового шроту можна використовувати такий спосіб:

- Підготуйте соняшниковий шрот, переконавшись, що він свіжий і хорошої якості.
- Подрібніть шрот до дрібного стану.
- Проведіть гідроліз шроту, використовуючи протеазні ферменти, такі як папаїн або бромелайн, або за допомогою кислоти. Для цього можна додати ферменти або кислоту до шроту і витримати його за певної температури та рН.
- Проведіть фільтрацію отриманої суміші, щоб видалити неефективні залишки шроту та інші дрібні частинки.
- Проведіть додаткове очищення гідролізату, використовуючи методи, такі як осадження білків або хроматографію, щоб отримати високоякісний білковий гідролізат.
- Проведіть аналіз отриманого білкового гідролізату, щоб переконатися в його чистоті та відповідності специфікаціям.

Білковий гідролізат із соняшникового шроту може використовуватися в харчових продуктах і добавках, таких як протеїнові напої, батончики, каші, супи тощо, а також у кормах для тварин.

Переваги використання білкового гідролізату з соняшникового шроту охоплюють високу біологічну цінність, легше засвоєння організмом, підвищення імунної системи та поліпшення травлення. Крім того, використання білкового гідролізату з соняшникового шроту може допомогти зменшити кількість відходів, які утворюються під час виробництва олії з насіння соняшнику, що є екологічно більш дружнім підходом до виробництва харчових продуктів і кормів для тварин.

1.2 Білки та амінокислоти - як компоненти їжі. Ефект хімічного складу шроту соняшнику на його справжню метаболічну енергію та засвоєння амінокислоти

Для цієї роботи було вибрано одинадцять зразків SF5M з широким варіаційним діапазоном хімічного складу. Їх хімічний склад (на основі сухої речовини), відсортований за вмістом білка, показано в таблиці 1. Усі зразки були отримані з іспанських фабрик по виробництву олії за подібним процесом вилучення олії: кондиціонування, часткове очищення від шкаралупи, механічне видалення олії та розчинне вилучення.[1]

Кормові речовини

У цьому досліді використовували 165 дорослих курей типу Легорн (Ну-Line), вагою від 2,3 до 2,8 кг, 1,5 року віку (30 та 135 курчат у експериментах 1 та 2 відповідно). Птахи були розміщені в індивідуальних клітинах для метаболічних дослідів, ширина яких становить 0,30 м, довжина - 0,40 м, а висота - 0,50 м, за 4 дні до початку експериментів, щоб дати їм звикнути до нового середовища. Курей утримували в приміщенні з контрольованою температурою від 20 до 25 °C.[2] Протягом дослідів тварини були оброблені згідно з принципами догляду за тваринами під час експериментів, встановленими відповідно до Королівського Декрету 223/88 Іспанії (1988).

В експерименті використовувалися три зразки соняшникового шроту (В, С та Е, Таблиця 1) з високим вмістом волокна [від 35 до 43% нейтральної детергентної речовини (NDF)]. Тридцять півеньок були відсортовані за вагою та розподілені на 10 груп по 3 птахи в кожній. Кожному птахові в групі було випадково призначено один зразок соняшникового шроту.[1,8] За 24 години до початку експерименту птахи були позбавлені корму для очищення організму, дев'ять різних півнів кожного тижня були позбавлені корму для оцінки ендогенних втрат, які застосовувалися в кожному тижні. Протягом 3-го тижня ще дев'ять півеньок були примусово годовані 30 г нітрогенової дієти, складеної з 37% СР, 85% кукурудзяного крохмалю та 15% целюлози, для отримання іншої оцінки втрат амінокислот, що виходять з організму.[1,3] Екскременти, виділені кожною групою контрольних птахів, були однорідно змішані для проведення хімічних аналізів, і більшість зразків екскрементів була заморожена та сушена відповідно до методики для аналізу амінокислот. Корекція до нульового азотного балансу була здійснена з використанням 8,22 ккал/г збереженого азоту.[1,4]

Таблиця 1

Хімічний склад шротів з насіння соняшнику, використаних у цьому дослідженні (на основі сухої речовини)

Sample	Crude Protein	Crude Fiber	Neutral Detergent Fiber	Acid Detergent Fiber	Ether Extract	Gross Energy (kcal/kg)
A	31.46	30.13	45.96	34.35	11.35	4661
B	32.09	27.62	42.52	31.85	10.82	4645
C	33.66	26.95	40.02	31.30	9.61	4699
D	34.42	20.54	32.88	24.75	6.96	4557
E	34.84	23.74	34.97	26.89	7.68	4644
F	35.49	23.23	35.67	26.72	7.55	4710

Sample	Crude Protein	Crude Fiber	Neutral Detergent Fiber	Acid Detergent Fiber	Ether Extract	Gross Energy (kcal/kg)
G	36.41	21.21	34.12	25.24	7.09	4630
H	36.79	20.94	32.99	24.64	7.18	4616
I	37.10	20.70	32.26	24.34	7.12	4643
J	37.19	20.72	32.48	23.64	6.68	4634
K	41.75	19.23	28.41	20.87	5.94	4617

Дослідження показало, що тип СФСМ не впливає на характер екскреції сухої речовини (СР) та енергії. Екскреція сухої речовини зменшувалася лінійно і квадратично з часом збору, причому більшість екскретованої сухої речовини була отримана протягом перших 24 годин. Енергія виділялася так само, як і суха речовина. Не було ніяких відмінностей для ЦМ та енергії, що виділялися кожні 12 годин після 48-годинного періоду збору. Таким чином, будь-яка ЦМ та енергія, що виділяється після 48 годин, вважалася ендogenous. [5] Дослідження припускає, що період збору екскрементів від 48 до 72 годин підходить для СЗРП, оскільки періоди повного дня здаються більш придатними для застосування методу примусової годівлі. Однак, деякі півні показали ущільнення корму і затримку екскреції, і були виключені з експерименту. [1,6] Невелика різниця у виділеній енергії спостерігалася між 72-годинним (ранковим) і 84-годинним (вечірнім) періодами збору, що може бути пов'язано з меншою активністю півнів вночі.[1]

(Див.додаток 1)

Графік показує, що кількість сухої речовини зменшується з часом збору екскрементів, зібраних протягом перших 24 годин, тоді як збір екскрементів після 48 годин розглядається як ендogenous речовина.[1-8]

1.3 Обґрунтування амінокислотного складу соняшникових білків для дієтичних та функціональних продуктів

Об'єктом дослідження є продукти з насіння соняшнику, включаючи борошно, прес-торт та зерно.[9]

Борошно з насіння соняшнику було отримане шляхом подрібнення насіння, подальшого пресування матеріалу при температурі 100-105 °С, тим самим отримуючи прес-торт. Прес-торт використовувався як сировина для борошна. Прес-торт було помелено та фракціоновано через сито. Була вибрана фракція, що пройшла через сито з отворами 0,3-0,6 мм. Зерно було отримано шляхом віджимання жиру з прес-торту гексаном на лабораторній екстракційній установці. В той же час було взято три зразки борошна соняшника: для підготовки зразку для хроматографічного аналізу, для визначення вмісту вологи та залишкового вмісту олії.

Підготовка зразка для визначення вмісту амінокислот. Склад амінокислот та фізико-хімічні властивості оброблених насінин соняшнику вивчалися для борошна, прес-торту та зерна.[9,10]

Підготовка зразків для визначення складу амінокислот проводилася шляхом кислотного гідролізу зразку. Борошно було поміщене в ампульну трубку та додано 1:1 за вагою 6 н. НСІ. Ампула була запаяна та трималася при температурі 110 °С протягом 24 годин.[10] Після гідролізу вміст ампули було пройдено через фільтр, фільтрат було випаровано на водяній бані. Сухий залишок було розчинено в цитратному буфері, знову пройдено через фільтр та використано для аналізу.[9]

Амінокислотний склад білка віджимок, борошна з насіння соняшника та суслу було визначено хроматографічно. Амінокислотний склад підготовлених зразків визначався за допомогою рідинного хроматографа Dionex ICS-3000 з електрохімічним детектором. Наявність амінокислот визначалась часом, необхідним для їх виходу з колонки, попередньо калібрувавши її чистими амінокислотами. Кількість амінокислот визначалась за площею піку виходу певних амінокислот. Сигнал з

детектора оброблявся комп'ютерною програмою, що автоматично визначала вміст кожної амінокислоти в зразку.[9,11]

Вміст вологи в борошні з насіння соняшника, віджимках та суслі визначався арбітражним методом шляхом висушування до постійної маси при температурі 105 °С; вміст залишкової олії вимірювався за методом Сокслета, загальний вміст білка вимірювався за методом Кьельдаля.[9]

Соняшникова мука - це тонкий гомогенний порошок сірого кольору з характерним смаком та запахом насіння соняшнику . В соняшниковій крупі з очищеного насіння залишковий вміст олії становив $14,3 \pm 0,4$ відс. маси, вміст вологи - $6,22 \pm 0,24$ відс. маси. Стандартне відхилення вмісту амінокислот у муці, тісті та крупі соняшника становило 4,8%.[9]

У таблицях 1 і 2 показано амінокислотний склад соняшникових продуктів з насіння соняшника порівняно з літературними даними щодо вмісту амінокислот у прес-торті та шроті соняшника.

У процесі обробки насіння соняшнику, підготовленого до виробництва продуктів, його піддають мокрому тепловому обробленню, тому можливе розривання ковалентних зв'язків та білків. Хімічні взаємодії з іншими речовинами також можливі між амінокислотами та білками [9,12]. У результаті вони втрачають свої властивості та піддаються хімічним перетворенням. Тому вміст амінокислот у крупі зменшується порівняно з тістом, і ця тенденція спостерігається для всіх амінокислот.

Підготовка борошна з тіста вимагає помелу на мікрорівні, і, ймовірно, пептидні та ковалентні зв'язки в молекулах білків зберігаються. Це підтверджується фактом, що кількість білка в борошні збільшується, а зв'язки між іншими компонентами (целюлоза, мінерали, лігнін) руйнуються швидше, ніж в молекулах білків, що дозволяє отримати фракцію, збагачену білком.[9,13] Логічно, збагачення продукту білком зумовлене збільшенням вмісту амінокислот у борошні з насінневого тіста.

Експериментальні дослідження підтверджують збільшення вмісту амінокислот у борошні з насіння соняшнику порівняно з прес-тортею, яка була сировиною для виробництва борошна.[9,14]

Виявлено, що борошно з насіння соняшнику має вищий загальний вміст білків і вищий вміст необхідних амінокислот, ніж торт, з якого воно було отримано. У борошні з очищеного насіння виявлено обмежений вміст амінокислоти лізину (78%), вміст інших необхідних амінокислот значно перевищує їх вміст у ідеальному білку (лейцин 153%, ізолейцин 143%, метіонін 213%, метіонін у кількості цистину 158%, фенілаланін 284%, фенілаланін у кількості тирозину 177%). Вміст лейцину та ізолейцину у соняшнику при класичній обробці є обмеженим, а в борошні з очищеного насіння їх вміст перевищує в один з половиною рази. Покращення складу борошна з насіння соняшнику забезпечується введенням харчових добавок, які мають вищий вміст амінокислот, що обмежується у борошні.[9,15]

1.4 Характеристика білків соняшникового шроту, способи їх депонування

Білки є основною складовою цього шроту і складають близько 40-50% його маси. Основні характеристики білків соняшникового шроту наступні:

1. Амінокислотний склад: Білки соняшникового шроту багаті на лізин, метіонін, цистеїн та треонін, проте містять меншу кількість триптофану та лейцину. Вони є джерелом есенційних амінокислот, які необхідні для підтримки здорового життя.
2. Функціональні властивості: Білки соняшникового шроту можуть використовуватися в якості емульгаторів, стабілізаторів та гелювальних агентів у харчових продуктах.
3. Переваги для здоров'я: Білки соняшникового шроту містять багато антиоксидантів та фітонутрієнтів, які допомагають зменшити ризик

розвитку серцево-судинних захворювань та раку. Вони також сприяють зміцненню імунної системи та забезпечують енергії для роботи м'язів.

4. Недоліки: Білки соняшникового шроту можуть містити антиживильні речовини, такі як фітинова кислота та лектини, які можуть впливати на засвоєння поживних речовин та спричиняти шкоду здоров'ю. Тому перед вживанням шроту рекомендується його термічна обробка або ферментація для зниження вмісту цих речовин.

Депонування білків соняшникового шроту може бути важливим для поліпшення його функціональних властивостей та зберігання його тривалішого терміну. Нижче наведено кілька способів депонування білків соняшникового шроту:

Термічна обробка:

Термічна обробка може знизити активність ферментів та зберегти білки. Це може бути досягнуто шляхом підвищення температури та тривалості термічної обробки.

Ферментація:

Ферментація може знизити вміст антиживильних речовин та покращити технологічні властивості білків. Це може бути досягнуто шляхом додавання мікроорганізмів, таких як грибки або бактерії.

Гідроліз:

Гідроліз може покращити функціональні властивості білків. Це може бути досягнуто за допомогою ферментів, таких як протеази, які розривають білкові зв'язки та зменшують розмір білкових молекул.

Обробка ультразвуком:

Обробка ультразвуком може покращити функціональні властивості білків та зменшити розмір білкових молекул. Це може бути досягнуто шляхом застосування високочастотних звукових хвиль.

Додавання адсорбентів:

Додавання адсорбентів, таких як кремнезем або каолін, може покращити стабільність білків та зменшити взаємодію з іншими компонентами харчових продуктів.

1.5 «Науково-практичні засади удосконалення технологій білкових продуктів із шротів олійних культур із використання протеолітичних ферментів»

У роботі зроблено припущення щодо можливості здійснення процесу гідролізу білків одночасно із їх екстрагуванням зі шроту з метою підвищення ефективності екстрагування білків та поліпшення їх функціонально-технологічних властивостей. [16]

Білкові речовини, екстраговані у розчин із соняшникового шроту, знаходяться у вигляді поліпептидів із молекулярною масою від 10 до 80 кДа, причому у складі глютелінової фракції переважають більш високомолекулярні пептиди – із молекулярною масою від 31 до 80 кДа.[16] Методом електрофорезу в поліакриламідному гелі продемонстровано зміну поліпептидного складу білків, які екстрагуються за присутності протеолітичних ферментів із соняшникового та соєвого шроту у нейтральних або лужних розчинах. [16,17] Внаслідок протеолітичної дії протеаз зменшувалася відносна частка високомолекулярних поліпептидів (для соняшникового шроту – 45...54 та 32...35 кДа, соєвого – 75...80 та 50 кДа. Одночасно частка поліпептидів менших розмірів збільшувалася.

(Див.додаток 2)

Одержані результати свідчать, що при додаванні трипсину або протеаз мікробіологічного походження у процесі екстрагування білків шроту відбувається їх частковий гідроліз, внаслідок чого ефективність екстрагування зростає і збільшується вихід кінцевого білкового продукту.

Кількість екстрагованих білків залежала від тривалості процесу, співвідношення фермент: субстрат та концентрації хлориду натрію.[16]

1.6 Науково-практичні засади удосконалення технологій білкових продуктів із шротів олійних культур із використання протеолітичних ферментів»

Була розроблена математична модель для оцінки ефективності екстрагування білків залежно від співвідношення фермент: субстрат та тривалості екстрагування.[16] Модель апроксимує більшість експериментальних даних і виявляється досить точною. Експериментально було встановлено, що збільшення концентрації хлориду натрію зменшує ступінь гідролізу білків під дією нейтральної протеази, а лужна протеаза має високу активність при високій концентрації хлориду натрію. Також була виявлена кореляція між ступенем гідролізу білків та їх ефективністю екстрагування. Використовуючи іншу математичну модель, було визначено параметри для розрахунку кінетики гідролізу залежно від іонної сили розчину, співвідношення фермент:субстрат та рН середовища. Диференціальна скануюча калориметрія показала наявність двох денатураційних переходів у геліантині та дисоціацію 11S геліантину внаслідок обмеженого гідролізу в присутності протеази.[16,18] Сканування теплового потоку суспензії контрольного ізоляту методом диференціальної скануючої калориметрії в діапазоні температур від 20 до 100°C продемонструвало наявність двох піків (78 і 85 °C,) денатураційних переходів, які можуть бути зумовлені денатурацією тримерної та гексамерної форм геліантину.

Отже, ендотермічні переходи суспензій білкових ізолятів виявили, що внаслідок обмеженого гідролізу соняшникових білків, одержаний білковий продукт містить дисоційовані форми геліантину, які характеризуються дещо нижчою температурою денатурації.[19] Проте ці білкові продукти

містять неденатуровані форми білків, що є важливим для збереження їх функціональності. (Див.додаток 3)

1.7 Способи денатурації та осадження білків

Денатурація білків - це процес зміни структури та функцій білків, який може бути спричинений різними факторами, такими як температура, рН, забруднення, механічний стрес та інші.

Дослідження показали, що у нейтральному середовищі білки соєвого шроту мають аніонну форму і їх електрофоретична рухливість зростає зі збільшенням концентрації хлориду натрію та напруженості електричного поля.[20] Пропускання електричного струму через суспензію шроту підвищує екстрагування білків, особливо при використанні ультразвукових коливань в режимі кавітації на частоті 44 кГц із звуковою потужністю 10 Вт. Застосування таких параметрів дало можливість збільшити масову частку екстрагованих білків із соняшникового шроту приблизно на 50% порівняно з контролем, скорочуючи тривалість процесу вилучення білків із шроту. (Див.додаток 4)

Вихід ізольованих білкових продуктів із шротів залежить не лише від ефективності екстрагування білків, а і від повноти їх вилучення із екстрактів. Відомо, що за високої іонної сили розчинника (2 Моль/дм³) приблизно 50 % білків шроту залишаються розчинними при значеннях рН 4,5...5,0[20], що використовуються для ізоелектричного осадження білків із розчинів у традиційних схемах одержання білкових ізолятів із шротів.[20,21].

Оцінка втрат білків, які були виділені залежно від значень іонної сили розчинника від 0,34 до 2,1 Моль NaCl/дм³, та їх осадження у діапазоні рН від 2,0 до 4,5 показала, що зміна рН від 2,5 до 3,5 майже не впливає на втрати білків. Але при рН 4,0 і 4,5 втрати збільшуються. Незалежно від рН, втрати

білків зменшуються зі зростанням іонної сили екстракту. При низьких значеннях іонної сили екстракту (0,34 і 0,86 Моль/дм³) втрати білків досягають 50% при рН ізоелектричного осадження 2,5 і 3,0, а при підвищенні рН вони становлять 57-60%. [22] При високих значеннях іонної сили екстракту втрати білків є мінімальними при рН 2,5 і 3,5 (21-28%), і зі збільшенням рН до 4,5 зростають до 33-37%. Втрати білків залежать від концентрації білків в екстрактах, знижуючись зі збільшенням концентрації. Це пояснюється більш високою ймовірністю агрегації макромолекул під час осадження білків із висококонцентрованих екстрактів.[23]

В ході експерименту виявлено, що різниці у розчинності білкових продуктів пов'язані з механізмом їх гідролізу в присутності різних типів протеаз, а також з набором поліпептидів, що утворюються. Зокрема, білки, які були екстраговані в лужному середовищі з лужною протеазою, мали низьку розчинність через властивості глютелінової фракції білків, їх денатурацію в лужному середовищі та утворення нерозчинних комплексів з продуктами окиснення хлорогенової кислоти.[20]

Один з показників гідрофільності білків - це їх здатність зв'язувати вологу. Експериментальні дані показали, що білковий препарат, одержаний при нейтральному значенні рН в 7%-ному розчині хлориду натрію, мав мінімальну водоутримувальну здатність. Але білкові препарати, які були одержані за умов обмеженого гідролізу з використанням нейтральної протеази (зразок No2), лужної протеази (зразок No5) та трипсину (зразок No3), мали більш високу водоутримувальну здатність.[24] При цьому різниці у жирутримувальній здатності між досліджуваними зразками були незначними. (Див.додаток 5)

Збільшення гідрофільності частково гідролізованих білкових продуктів відбувається за рахунок збільшення кількості поверхневих гідрофільних груп при зміні складу білкових продуктів і зростанні ступеня денатурації. Дослідження соєвих білкових ізолятів показали, що після

денатурації збільшується їх вологозв'язувальна здатність.[25] Обмежений гідроліз протеазами збільшує поверхневу активність соняшникових білків і збільшує їх здатність стабілізувати дисперсні системи. Після гідролізу зростає здатність до піноутворення, що пояснюється збільшенням гідрофільності білків. Проте, піна, одержана зразками No 4 та No 5, була нестійкою.[20]

Білки, що екстрагувалися у нейтральному середовищі, мали досить високу стійкість піни, особливо частково гідролізовані.

Жироемульгувальна здатність одержаних білків знаходилася в межах від 37 до 90 см³/г. Частково гідролізовані білки були ефективнішими емульгаторами емульсій. Мінімальну емульгувальну здатність мав білок, екстрагований у лужному розчині.[20,26] (Див.додаток 6)

1.8 Способи розчинення білків

Розчинення у буферах - буфери можуть створювати оптимальне середовище для розчинення білків, залежно від їх рН, заряду та інших фізико-хімічних властивостей. Наприклад, білки заряджені позитивно можуть розчинятися у буферах з негативним зарядом, а білки заряджені негативно - у буферах з позитивним зарядом.

Розчинення у розчинниках - деякі білки можуть розчинятися у воді, але інші можуть бути розчинені у розчинниках, таких як метанол, етанол, ацетонітрил тощо.

Розчинення у денатуруючих розчинниках - денатуруючі розчинники, такі як гуанідин гідрохлорид або уреа, можуть розчиняти білки, але при цьому дестабілізують їх структури та знижують їх активність.

Розчинення за допомогою індивідуальних методів - в залежності від властивостей конкретного білка, можуть бути використані інші методи розчинення, такі як додавання детергентів, дезоксихолату, тритону тощо.

1.9 Порівняльний аналіз методів екстрагування та розділення білків для протеомного дослідження білкових профілів коренів і бульбочок сої

У роботі використано Tn5-мутанти штаму *V. japonicum* 646: активний 21-2 та малоактивний 107, отримані методом транспозонового мутагенезу у відділі симбіотичної азотфіксації Інституту фізіології рослин і генетики НАН України.[27]

В ході експерименту з вирощування сої сорту Васильківська були використані посудини Вагнера масою 16 кг з вологістю, що становила 60% повної вологоємності, із застосуванням по-живну суміш Гельригеля з додаванням мікроелементів молібдену, бору, мангану та міді в кількості, відповідно, 1 і 0,25 норм азоту. [27]Перед посівом, насіння було промите під проточною водою та стерилізоване 70% розчином етанолу. Для інокуляції насіння використовували бульбочкові бактерії з ефективністю, що складала 107 клітин в 1 мл. Всі експериментальні рослини отримували природне освітлення.

У цьому дослідженні використовували метод, розроблений Вангом, для екстрагування білків з корневих або бульбочкових зразків сої. Зразки були змішані з екстракційним буфером, що містив різні компоненти, такі як трис-НСІ, SDS, сахароза, β -меркаптоетанол, фенілметилсульфоксид та фенольний трис-НСІ насичений розчин.[28] Після збурювання та охолодження до $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$, зразки були піддані центрифугуванню, а фенольний шар був зібраний. Білки були відокремлені додаванням трьох об'ємів охолодженого 0,1 М амоній ацетату за температури $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$, після чого

отриманий осад був зібраний центрифугуванням. Отримані білкові осади були ресуспендовані в 30 мМ трис-НСІ при рН 8,5.[27]

Дослідження показало, що внесення бульбочкових бактерій позитивно впливає на розвиток сої сорту Васильківська, яка вирощувалась на промитому річковому піску з вологістю 60% повної вологості при природному освітленні в посудинах Вагнера. Рослини, що були інокульовані, мали більшу масу кореневої системи, вищу добривоємність та більшу концентрацію білків у коренях і бульбочках, порівняно з рослинами, які не були піддані інокуляції.[27,29]

1.10 Порівняльний аналіз методів екстрагування та розділення білків для протеомного дослідження білкових профілів коренів і бульбочок сої

Для отримання білкових екстрактів з розтертих зразків коренів або бульбочок сої використовували два методи. У другому методі зразок розтерли в рідкому азоті і ресуспендували в екстракційному буфері, який містив різні речовини, після чого енергійно струшували, витримували за температури $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ і осаджували центрифугуванням.[27] Преципітацію білків проводили за допомогою охолодженого ацетону, що містив трихлороцтову кислоту, після чого отриманий білковий осад промивали і розчиняли у буфері. Концентрацію сумарного білка визначали методом Бредфорда, а білкові профілі аналізували методом електрофорезу на поліакриламідному гелі за допомогою біоаналізатора. SDS-екстрагування з наступним осадженням ацетоном було використано як другий метод.[27]

У цьому дослідженні було спрямовано на отримання білкових екстрактів з коренів і бульбочок сої. Для отримання екстрактів було використано два методи: гомогенізація з наступним фракціонуванням та SDS-екстрагування з наступною преципітацією білків. Концентрацію

сумарного білка в екстрактах визначали за методом Бредфорда, а білкові профілі аналізували методом електрофорезу.[30]

Отримані результати свідчать про те, що застосовані методи є ефективними для отримання білкових екстрактів з коренів і бульбочок сої. Електрофоретичний аналіз показав, що отримані екстракти містять декілька білків з різною молекулярною масою. Ці результати можуть бути корисними для подальшого вивчення складу білків сої та їх функцій.[27-31]

1.11 Способи поділу білків і амінокислот

Гідроліз пептидних зв'язків у білку призводить до утворення суміші вільних амінокислот та пептидів, характеристики яких залежать від методу гідролізу та ступеня гідролізу (DH). Хімічний гідроліз білків є радикальним процесом, який використовує кислоти або луг при високій температурі (121-137 °C) та приводить до продукту з високим вмістом вільних амінокислот. У порівнянні з хімічним методом, ферментативний гідроліз має більші переваги, оскільки дає можливість краще контролювати кінцевий продукт (контроль DH), вимагає менше енергії та дозволяє використовувати різні типи ферментів. Продукція ферментативної гідролізи може бути здійснена в контрольованих умовах з бажаною ступенем гідролізу та застосуванням специфічних протеаз для селективного розщеплення пептидів, що максимізує вихід пептидів/олігопептидів та фізико-хімічні характеристики продукту, такі як розчинність, дифузія та абсорбція. Більшість характеристик ферментативної гідролізи, включаючи її біостимулюючі властивості, сильно залежать від типу використовуваної протеази.

1.12 Екстракція рослинних білків з соняшникового шроту

У даному дослідженні було проведено експериментальний аналіз процесу екстрагування рослинних білків з соняшникового шроту, який був виготовлений на Вовчанському озонованому екстракційному заводі. Були досліджені різноманітні фактори, такі як температура екстрагування, рівень кислотності середовища, розмір частинок матеріалу, вид та концентрація екстрагуювального розчинника, гідромодуль та інші, які впливають на швидкість процесу екстрагування білкових речовин з шроту.[32]

У дослідженні було використано 100 г шроту, який помістили у стакан місткістю 1,5 л, додали визначену кількість розчинника та ретельно змішали за допомогою мішалки і термометра. Для проведення екстракції стакан помістили у водяну баню з температурою 82 °С та відбирали проби протягом рівних інтервалів часу. [32,33] Для вивчення впливу температури на процес екстракції було використано температури 20 °С, 30 °С, 40 °С, 50 °С та 60 °С, а час екстракції склав 1 годину. Екстракцію проводили з використанням 5-відсоткового розчину кухонної солі, в співвідношенні шрот : розчинник 1:10, заздалегідь задавши концентрацію розчинника та гідромодуль.

Дослідження впливу ступеня подрібнення матеріалу на процес екстракції проводили на різних розмірах частин матеріалу, включаючи частини з діаметром 2 мм, 1 мм, 0,5 мм, 0,25 мм та менше 0,25 мм. [32]Для вибору розчинника були використані різні розчини електролітів, які широко використовуються для екстракції харчових продуктів, такі як вода, розчин кухонної солі різної концентрації та розчин лугу.

Для визначення найбільш ефективної концентрації розчинника для проведення екстракції, було використано розчин кухонної солі з концентраціями 3%, 5%, 6%, 7% та 10% при температурі 60 °С. Окрім цього, на процес екстракції впливає співвідношення шроту та розчинника. Для

вивчення цієї закономірності було проведено експерименти при температурі 60 °С з різними гідромодулями в діапазоні 1:6 та 1:20.[34]

Під час дослідження за стандартною методикою забирали зразки екстракту та матеріалу, що екстрагується, та визначали їх концентрацію білка за допомогою рефрактометра (для екстракту з насіння соняшнику) та методу К'ельдаля для визначення вмісту білка у шротах та екстракті. Для контролю точності дослідження визначали концентрацію білка в екстракті за методом К'ельдаля.[32,35]

Як об'єкт дослідження був використаний соняшниковий шрот Вовчанського МЕЗ з вмістом протеїну 38,7 %, вологи 6,8 %, вмістом жиру 1,2 %. [32]

В результаті проведених експериментів було встановлено.

1. Основними чинниками, які впливають на процес екстракції, є: температура, тип та концентрація розчинника, співвідношення шрот-розчинник та ступінь подрібнення матеріалу.[32]
2. На основі здобутих експериментальних даних, оптимальними умовами для екстракції є: 5% розчин кухонної солі як розчинник, температура екстракції в діапазоні (50-60) °С та співвідношення шрот-розчинник 1:10.[32]
3. Щодо ступеня подрібнення, тут також існує безпосередня залежність, де менші розміри частинок сприяють більшій швидкості екстракції. Однак, під час екстрагування дрібних частинок ускладнюються процес розділення фаз, що призводить до високого вмісту завислих частинок у отриманому екстракті та зниження вмісту протеїну у білковому ізоляті в подальшому. Тому вимоги до розміру частинок не є цілком доцільними під час отримання ізолятів за наявної схеми та апаратурного обладнання. З іншого боку, подрібнення може бути

позитивним фактором при виробництві концентрованих форм білків та бути ефективнішим у випадку "мокрого" подрібнення.[32,36]

1.13 Існуючі способи виділення білків із рослинних об'єктів

Виділення білків із рослинних об'єктів можна здійснити різними способами. Один з них - екстракція білків за допомогою буферів різної концентрації і рН. Цей метод полягає у перемішуванні порошкового матеріалу з буфером, що містить різні солі і інгібітори протеаз. Потім змішану суміш піддають інтенсивному перемішуванню та центрифугуванню для отримання чистої білкової фракції.

Інший спосіб - імунопреципітація, яка заснована на використанні антитіл до певного білку. Цей метод забезпечує високу специфічність та чутливість, оскільки дозволяє виділяти білки з високою чистотою та без домішок.

Також існує метод використання солей, наприклад, амоній сульфату. Він полягає в тому, що розчин білку насичують амонієвим сульфатом при певній температурі та рН, що призводить до відкладення білків, які можна зібрати центрифугуванням.

Одним з найбільш ефективних методів виділення білків є хроматографія, яка дозволяє розділяти різні білкові фракції за розміром та властивостями. Цей метод дозволяє отримати високочисті білки з високим виходом і специфічністю.

1.14 Виділення і характеристика інгібітору панкреатичної амілази

Результати досліджень з використанням скринінгу рослинної сировини для визначення наявності інгібітора панкреатичної амілази свідчать про те, що екстракти вівса та його вторинного продукту - борошенця вівса проявляють максимальну інгібіторну дію відносно панкреатичної амілази. Це вказує на їх потенційну перспективність як сировинних джерел для видобутку інгібітора панкреатичної амілази.[37]

Проведені дослідження показали, що найбільша інгібіторна активність виявляється у водорозчинній фракції, антиамілолітична активність також притаманна фракції, отриманій за допомогою 0,5 М розчину NaCl.

Вплив складу буферної системи на вихід інгібіторів амілолітичних ферментів з борошенець вівса був оцінений на основі максимального значення питомої інгібіторної активності.

Максимальне значення питомої активності (0,196 ІО/мг білка) було отримане за використання 0,15 М NaCl в 0,1 М гідрокарбонатному буфері з рН 9,2, що свідчить про максимальний вихід інгібітору з рослинної сировини.[38]

Процес очищення інгібітору панкреатичної α -амілази з борошенець вівса включав фракціювання білкової складової екстракту за допомогою сульфату амонію та афінної хроматографії на біоспецифічному сорбенті α -амілаза-сефароза 4В.

Отримання білок-інгібітор було очищено за допомогою афінної хроматографії, яка показала хроматографічну криву виходу білка з колонки з трьома максимумами. [37,39]Третій максимум був супроводжений інгібіторною активністю. Молекулярна маса отриманого білка-інгібітора була визначена за допомогою електрофорезу в 15%-ому поліакриламідному гелі і склала 25,11 кДа. З даних, наведених у табл. 1, можна зробити висновок, що концентрація білка та його інгібіторної активності в екстракті

була очищена до значень 0,0035 мг/см³ та 0,09 ІО/см³ відповідно після афінної хроматографії.[37]

Отримали білок-інгібітор, очистили його за допомогою афінної хроматографії, і встановили, що цей білок має молекулярну масу 25,11 кДа. Екстракт з концентрацією білка 1,16 мг/см³ та інгібіторною активністю 0,33 ІО/см³ був очищений до концентрації білка в активній фракції елюату після афінної хроматографії 0,0035 мг/см³ та інгібіторною активністю 0,09 ІО/см³, що дає ступінь очищення в 92,7. За розрахунками, з 100 г борошенець вівса можна отримати 1,85 мг інгібітору панкреатичної α -амілази з питомою активністю 26 ІО/мг білка. Інгібітор знижує активність панкреатичної α -амілази на 38% при ваговому співвідношенні інгібітор:фермент 1:1. Встановлено, що інгібування панкреатичної α -амілази білковим інгібітором з борошенець вівса найефективніше в межах рН 5,5...6,0 при температурі (37±2) °С.[40,41]

Отже, отримані характеристики білкового інгібітора панкреатичної α -амілази з використанням методів, описаних вище, свідчать про його невелику стабільність до зміни рН та температури, тому необхідна стабілізація цього інгібітора. Кінетичні дослідження показали лінійне неконкурентне інгібування ферменту. Результати ІЧ-спектроскопії вказують на конформаційні зміни в білкових молекулах, які відбуваються при інгібуванні, що викликає перерозподіл співвідношень типів вторинної структури.[37]

1.15 Методологічні аспекти виділення та визначення активності лектинів пшениці озимої (*triticum aestivum* L.)

У цьому дослідженні проводили визначення активності лектинів у зразках м'якої пшениці озимої, що були відібрані з рослин на різних етапах онтогенезу. Лектини - це білки, які можуть зв'язуватися з певними цукрами

на поверхні клітин. Для виділення лектинів з рослинних зразків застосовували кислотний гідроліз та етанольне фракціонування при низьких температурах.[43]

Для визначення активності лектинів використовували реакцію гемаглютинації з еритроцитами I(0) групи крові людини. Ця реакція полягає в тому, що лектини можуть зв'язуватися з цукрами на поверхні еритроцитів, що призводить до їх згортання та утворення аглютинів. Для проведення реакції в лунки імунологічного планшета вносили фосфатно-цитратний буфер у діапазоні рН=4,0-8,0. Далі розведені лектини додають до лунок, а після цього додається 2% суспензія еритроцитів. Планшет інкубують протягом двох годин за температури 22-24°C.[44] Після цього візуально оцінюють аглютинацію у балах, які залежать від характеру розподілу еритроцитів по дну лунки імунологічного планшета. Аглютинація може бути оцінена у балах від нуля до трьох. Цей показник вказує на кількість утворених аглютинів та може бути використаний для визначення активності лектинів.[43]

Для ефективного виділення лектинової фракції необхідно враховувати тривалість екстракції. Проведені дослідження показали, що тривалість екстрагування та концентрація соляної кислоти впливають на процес виділення білків. Найбільш активні лектини були виділені після 24-годинного екстрагування при концентрації соляної кислоти 0,05 н. При скороченні часу екстракції спостерігалась тенденція до зниження активності лектинів. Збільшення тривалості екстрагування розширювало діапазон активності відносно рН середовища. При порівнянні двох кислотних екстрагентів виявлено, що при 0,1 н. HCl спостерігалось більше руйнування еритроцитів у кислій зоні, що обмежує можливість виявлення фізіологічної активності лектинів у широкому кислотно-лужному спектрі.[43-45]

1.16 Можлива технологія отримання білка та амінокислот

Шроти містять білок та амінокислоти, що робить їх потенційно цінними для використання у харчовій та фармацевтичній промисловості. Нижче наведено можливу технологію отримання білка та амінокислот з шроту.

Приготування шроту

Шрот необхідно попередньо підготувати перед подальшою обробкою. Спочатку, шрот просіюють, щоб видалити непотрібні домішки. Потім його можна мити водою, щоб видалити залишки олії та інших забруднень.

Гідроліз білка

Щоб отримати амінокислоти, білковий матеріал у шроті необхідно гідролізувати. Гідроліз - це процес розкладу білка на більш прості складові - амінокислоти. Цей процес можна проводити фізично, наприклад, за допомогою високого тиску, або хімічно, наприклад, за допомогою кислот або лугів.

Крім того, важливо забезпечити оптимальні умови для гідролізу білків. Оптимальна температура гідролізу залежить від типу ферменту і може коливатись від 50 до 70 °С. Також важливо забезпечити оптимальний рівень рН, який може бути різним для різних ферментів. Наприклад, для панкреатину оптимальний рівень рН становить 7,5-8,5, а для папаїну - 6,0-7,0. Оптимальний час гідролізу також залежить від типу ферменту, розміру частинок шроту та бажаної концентрації отриманого білка.

Після завершення гідролізу, фермент можна знищити термічною обробкою або виведенням. В результаті гідролізу з шроту отримується рідке білкове джерело, яке можна піддавати додатковій очистці, зокрема, фільтрації, діалізу, хроматографії і інших методів очистки білків.

Фільтрація та очищення

Отриману суміш амінокислот необхідно очистити від непотрібних речовин, що утворилися під час гідролізу. Це можна зробити за допомогою фільтрації та очищення через хроматографічні колонки.

Очищення білка

Отримане висівкою білкове сироватку або концентрат потрібно очистити від забруднень і непотрібних компонентів. Це можна зробити різними методами очищення, залежно від виду білка та його властивостей. Для цього можна використовувати методи хроматографії, фільтрування, осциляційного відновлення, фракціювання за допомогою розчинників тощо.

Білкове сироватку або концентрат можна далі переробити для отримання окремих амінокислот. Для цього можна використовувати гідроліз білка з кислотами, ензимами або гідроксидами. В результаті гідролізу білкових молекул утворюються окремі амінокислоти, які можна використовувати як окремий продукт або додавати до інших продуктів, наприклад, як джерело білка для харчових добавок або кормів для тварин.

1.17 Отримання білкового продукту з насіння соняшнику вітчизняної селекції

У статті наведено інформацію про характеристики насіння та склад ядра соняшника різних сортів і гібридів вітчизняної селекції. За допомогою м'яких методів вилучення олії з безшкіркового ядра соняшника було отримано харчовий шрот, який був проаналізований з точки зору його фізико-хімічних і органолептичних властивостей, а також амінокислотного складу білків.[46]

До групи високоолійних увійшли зразки з вмістом олії в сім'янці більше 48% і в ядрі – більше 67%. Це сорти – Харківський 7, Харківський скоростиглий та інші. Серед лінійного матеріалу в якості донорів високого

вмісту олії можуть бути використані в селекції самозапильні лінії X-503, X-908, X-1002, X-1006, X-1007, X-2111, X-2552, X-3848, X-4353 та інші.[46] За якістю олії виділено зразки – донори високого вмісту олеїнової кислоти та зі зміненим складом токоферолів. В Інституті олійних культур НААН створено синтетичні популяції, які мають одночасно вміст олеїнової кислоти більше 50 % та підвищений вміст β та γ токоферолів: СП-1, СП-3, СП-5, СП-7, СП-9. Донором високого вмісту гліцеридів олеїнової кислоти (до 80 %) є лінія X 526, високого вмісту гліцеридів пальмітинової (до 33,6 %) та пальміт-олеїнової (до 6,1 %) кислот в олії є лінії МХ-190Б, МХ-167Б.[46,48]

До групи високобілкових віднесено зразки з вмістом білка в ядрі сім'янки близько 28%: це сорти – Ранок, Запорізький кондитерський, Алмаз, Чумак, Місцевий 1, серед лінійного матеріалу лінії-закріплювачі стерильності пилку: X-51Б, X-52Б. [46]

Для порівняння цих сортів визначено фізико-хімічні показники насіння, які наведено в додатку 7

Для отримання високоякісних білкових продуктів із насіння соняшнику необхідно використовувати безлушпинне ядро. Присутність великої кількості лушпиння негативно впливає на якість білкових продуктів, зокрема, знижує їхню яскравість, збільшує вміст вуглеводів та знижує вміст протеїну.[48]

Для отримання безлушпинного ядра насіння соняшнику використовували метод обрушування в полі відцентрових сил за допомогою лабораторної установки "Насін-нерушці-2 Іхно". Щодо складу отриманого ядра щодо жирів та білків були застосовані відомі методики та результати представлено у додатку 9.[46,49]

Дослідження показали, що найбільшу кількість білкового азоту містить ядро насіння соняшнику сорту Запорізький кондитерський . Особливістю цього сорту є крупне, добре виконане насіння, яке легко

обрушується, при цьому вихід кондиційного ядра перебільшує 70%.[46] Враховуючи це, вважаємо, що насіння соняшнику сорту Запорізький кондитерський є найбільш доцільною сировиною для отримання білкових продуктів із заданим вмістом білку. Подальші дослідження проводили з використанням насіння даного сорту. [46]

На олійно-жирових підприємствах, які займаються переробкою насіння та видобуванням олій, проводяться різні процеси, такі як сушіння, зберігання, обрушування, волого-теплова обробка, пресування та екстракція, які можуть призвести до змін у білкових речовинах олійних культур. Це може знизити біологічну цінність білків. В даному випадку, безлушпинне ядро сушили у киплячому шарі за температури повітря 65...70 °С до вмісту вологи 1,5...3,0 %.[50] Потім ядро пресували методом плющення за температури 70 °С, при цьому вилучили до 70,0 % олії, що міститься у ядрі. Олію з пелюстки виділяли екстракцією органічним розчинником до вмісту жиру у шроті менше 1,0 %. Після цього відбувалась відгонка розчинника із шроту під вакуумом, та шрот подрібнювали у борошно.[46]

РОЗДІЛ 2 МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Соняшниковий шрот був отриманий на підприємстві "Квадра". Шрот подрібнили, а потім 100 г шроту додали в 500 мл дистильованої води. Зразок перемішували на магнітній мішалці протягом 2 хвилин за кімнатної температури. Отриману суспензію центрифугували при 3000 г протягом 10 хвилин за кімнатної температури. Надосадову рідину, яка містить поліфенольні сполуки, використовували для спектрального аналізу в діапазоні 200-600 нм на спектрофотометрі Shimadzu UV-2600.

Твердий осад розчинили в 50 мл 6% розчину мідного хлориду, а потім зразок перемішували протягом 30 хвилин за температури 21-23°C. Суспензію центрифугували при 3000 г протягом 10 хвилин. Надосадову рідину переливали в чисту колбу, а осад повертали назад і повторювали процедуру вимивання двічі. Надосадову рідину з об'єднаним зразком використовували для подальшого аналізу. Зрештою, екстракцію білка із соняшникового шроту проводили 3 рази. Усі зразки об'єднували, і присутність білка та його спектральні характеристики визначали за допомогою ультрафіолетового спектрофотометра в діапазоні 200-300 нм.

Для осадження водорозчинних білків використовували автоклавування за 121°C (1,5 атм) протягом 60 хвилин. Осад збирали шляхом центрифугування за 3000 г протягом 15 хвилин.

Білки у вигляді шивали зберігали до подальшого використання за температури 50°C. Як сольвент використовували буфер малинової кислоти, який було отримано з ділового малинового соку, наданого агрофірмою "Альфа".

Для отримання молочних білків застосовували метод фільтрації, а казеїн осаджували в ізоелектричній точці. Білки молозива отримували після видалення води в ротаційному випарнику за температури 70°C і досушували їх під вакуумом.

На початку експерименту у водний розчин соняшникового шроту додавали певну кількість білків молозива для досягнення кінцевої концентрації 2%.

Для отримання білкового автолізу використовували *Saccharomyces cerevisiae*. Автоліз проводили при 55°C протягом 24 годин. Клітинні стінки та краплі дріжджів осаджували шляхом центрифугування при 4000 г протягом 1 години. Надосадову рідину, що містила пептиди та білки, після роторного випаровувача досушували і потім використовували в подальших дослідженнях. Усе це було додано до водорозчинних білків соняшникового шроту для досягнення кінцевої концентрації 2%.

Усі експерименти повторювали 3 рази, і результати усереднювали, а також обчислювали стандартні помилки. Для оцінки статистичної значущості відмінностей використовували непараметричний критерій Мана-Уїтні.

РОЗДІЛ 3 РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ

3.1. Обґрунтування експериментального підходу

Існуючі методи виділення білків із соняшникового шроту ґрунтуються на водній або лужній екстракції білків з подальшим їх осадженням з використанням кислот або інших осаджувачів. Такий підхід вимагає подальшого видалення хімічних сполук з осадженого білка, що пов'язано з додатковими витратами та потенційною небезпекою під час використання таких білків у харчових або кормових субстанціях.

Раніше на кафедрі було розроблено інший спосіб виділення білків із соняшникового шроту, що базується на водно-сольовій екстракції білків із подальшим термоосадженням водорозчинних білків. Такий підхід має низку переваг перед іншими методами отримання білків. Зокрема, в ньому не використовуються жодні хімічні сполуки крім харчової солі, і білки піддаються стерилізації. Поряд із цим було встановлено, що вихід білка не стабільний і втрати можуть перевищувати втрати порівняно з осадженням білків в ізоелектричній точці.

У зв'язку з цим, метою цієї роботи стало поліпшення способу осадження водорозчинних білків соняшникового шроту.

Суть ідеї зводилася до того, що осадження білка після термообробки залежить від молекулярної маси білків та їх концентрації. Збільшення кількості білка в розчині сприятиме збільшенню агрегатоутворення білків і, як наслідок, збільшенню їхнього виходу та зміні якості білків, що осаджуються. Або іншими словами, можна очікувати, що використання білків "соосаджувачів" дасть змогу збільшити вихід білків соняшникового шроту та збагатить склад одержуваних білків у вигляді кінцевого продукту. Теоретично можна очікувати, що ефективність соосадження білків залежатиме від молекулярної маси білків-соосадителів. З метою перевірки

цього в роботі використовували дві форми білків-співосаджувачів: білки, попередньо виділені з молозива, та білки, отримані в результаті автолізу дріжджів *Saccharomyces cerevisiae*.

3.2 Вплив виходу білка із соняшникового шроту

Відомо, що в соняшниковому шроті міститься 25-35% білка і це залежить від сорту та умов вирощування та досить різноманітні поліфенольні сполуки. Серед поліфенольних сполук великий інтерес представляє хлорогенова кислота і на її частку припадає понад 50% поліфенольних сполук насіння соняшнику. Для екстракції хлорогенової кислоти з рослинної сировини використовують водну або спиртову екстракції. Через те, що при видаленні хлорогенової кислоти із соняшникового шроту водною екстракцією може відбуватися втрата білка, то в першій серії експериментів визначали вплив видалення хлорогенової кислоти на втрату білка.

Виявили, що в результаті водно-селевої екстракції білків із соняшникового шроту, без попереднього видалення хлорогенової кислоти, вдається витягти й отримати близько 20-23% білка, з різною молекулярною масою (табл. 1 і рис. 1).

Таблиця 1.

Вихід білка із соняшникового шроту після видалення хлорогенової кислоти (подано середні значення з трьох експериментів і стандартну помилку)

Варіант експерименту	Кількість шроту	Кількість білку
без видалення хлорогенової кислоти	1000 г	236 г ± 10,8

з видаленням хлорогенової кислоти	1000 г	195,8 г ± 2,2
-----------------------------------	--------	---------------

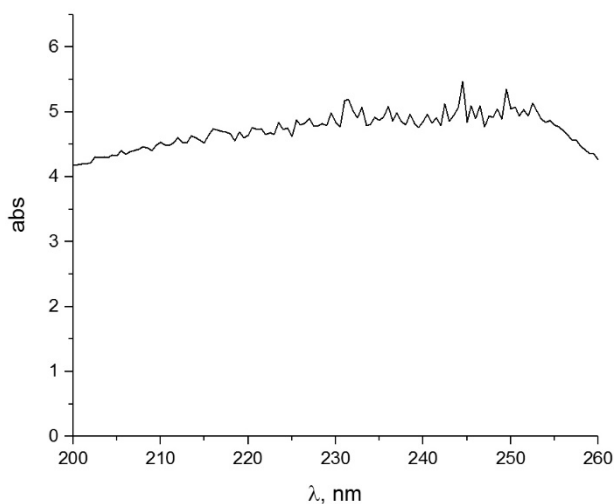


Рис.1 Спектр поглинання пептидів і білків, виділених водно-сольовою екстракцією із соняшникового шроту

У тому разі, якщо із соняшникового шроту попередньо було видалено поліфенольні сполуки (рис. 2), то кількість одержуваного білка була меншою на 18% порівняно з варіантом без видалення поліфенольних сполук (табл. 1). Ці результати дають змогу зробити висновок, що при видаленні поліфенольних сполук екстрагується частина водорозчинних білків.

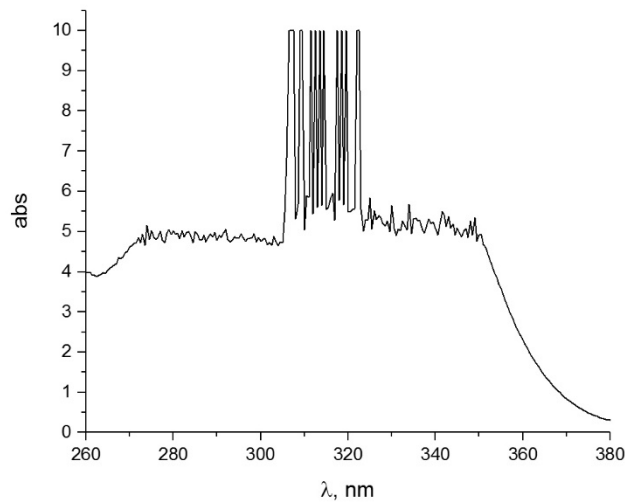


Рис.2 Спектри поглинання поліфенольних сполук із соняшникового шроту, отримані водною екстракцією

Отже, водно-сольова екстракція соняшникового шроту дає змогу виділити від 19 до 23% різноманітних білків та отримати фракцію поліфенольних сполук.

3. Дослідження впливу білкових соосаджувачів на вихід білка із соняшникового шроту

Внесення у водний розчин білків соняшникового шроту додатково білків автолізу дріжджів не впливало на кінцевий вихід білків (табл. 2). Раніше було показано, що пептиди, отримані в результаті автолізу дріжджів, представлені білками з низькою молекулярною масою, і вони не осідали в результаті термообробки зразків, а також призводили до додаткового осадження низькомолекулярних білків шроту.

Таблиця 2

Вихід білку із соняшникового шроту з використанням, як співосаджувача білків молозива і білків автолізату дріжджів

Варіант експерименту	кількість внесеного співосаджувача на 1000 г шроту	вихід білку з 1000 г шроту
без внесення додаткових білків	0	204 ±5,2
внесення білків автолізату дріжджів	55,0	205 ±7,1
внесення додаткових білків як співосаджувача	55,0	283 ±6,7

Внесення у водний розчин білків соняшникового шроту додаткових білків, отриманих із молозива, супроводжувалося збільшенням виходу загальних білків на 39% порівняно з контрольним варіантом (табл. 2). Необхідно зазначити, що вихід загального білка в даному варіанті був на 24 г більшим за кількість додатково внесеного білка (табл. 2).

Отже, внесення додаткової кількості білка молозива до водного розчину білкового шроту збільшувало кількість осаджуваних імовірно низькомолекулярних білків шроту, тобто ці білки виконували функції співосаджувача. Отримана суміш білків соняшникового шроту і молозива відрізнялася від білків соняшникового шроту за органолептичними властивостями і за складом.

Подальші дослідження повного складу цих білків та їхніх функціональних властивостей можуть становити практичний інтерес.

ВИСНОВКИ

1. Розробка нових методів видобутку білків та амінокислот із соняшникового шроту має великий потенціал для сталого розвитку та вирішення проблеми дефіциту білка у світі.
2. Використання водно-сольової екстракції дає змогу витягти до 23% білка із соняшникового шроту.
3. Вилучення поліфенольних сполук із соняшникового шроту впливає на вихід водорозчинних білків.
4. Використання білків молозива як соосаджувача дозволяє збільшити вихід білків соняшникового шроту до 30% від кількості шроту.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

- [1.] Effect of Chemical Composition of Sunflower Seed Meal on its True Metabolizable Energy and Amino Acid Digestibility M. J. Villamide and L. D. San juan.
- [2.] Angkanaporn, K., V. Ravindran, and W. L. Bryden, 1997. Influence of caeectomy and dietary protein concentration on apparent excreta amino acid digestibility in adult cockerels. *Br. Poult. Sci.* 38:270–276.
- [3.] Association of Official Analytical Chemists, 1984. *Official Methods of Analysis*. 14th ed. Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC.
- [4.] Carre´ B., and E. Rozo, 1990. Lapre´ dictiondelavaleur ´nerge´ tique des matie`res premie`res destine´es a` l'avicul- ture. *Prod. Anim.* 3:163–169.
- [5.] Cuca, M., E. Avila, and E. Sosa, 1973. Threonine supplementa- tion to sunflower diets for chicks. *Poultry Sci.* 52: 2016–2017.
- [6.] Du ¨sterho ¨ft, E. M., 1993. Characterisation and enzymic degra- dation of non-starch polysaccharides in lignocellulosic by- products. Ph.D. Thesis. Landbouwniversiteit te Wagenin- gen, The Netherlands.
- [7.] Engster, H. M., N. A. Cave, H. Likuski, J. M. McNab, C. A. Parsons, and F. E. Pfaff, 1985. A collaborative study to evaluate a precision-fed rooster assay for true amino acid availability in feed ingredients. *Poultry Sci.* 64:487–498.
- [8.] FEDNA, 1994. Normas de la Fundacio´ n Espan˜ ola para el Desarrollo de la Nutricio´ n Animal para la formulacio´ n de piensos compuestos. 1. Valor nutritivo de los concentrados de prote´ina vegetal. P. Garc´ ia, C. De Blas, and G. G. Mateos. Universidad Polite´cnica de Madrid, Spain.

- [9.] Justification of the amino acid composition of sunflower proteins for dietary and functional products Mykola Oseyko¹, Tetiana Romanovska¹, Vasyl Shevchyk
- [10.] Carpenter K.J. (1994), Protein and energy: a study of changing ideas in nutrition, Cambridge University Press, Cambridge
- [11.] Webb G.P. (2012), Nutrition: maintaining and improving health. 4th edition, Taylor and Francis, Oxford
- [12.] Times of India (2015), Nine out of ten Indians lack proper protein intake, Avialable
- [13.] Dr Geoff (2016) The Protein Gap – one of the biggest errors in nutritional science. Overview, Avialable at: <https://drgeoffnutrition.wordpress.com/2016/12/07/the-protein-gap-one-of-the-biggest-errors-in-nutritional-science/> Dr. Geoff / December 7, 2016
- [14.] André's Mourea, J. Sineirob, Herminia Domíngueza, Juan Carlos Parajo'a (2006), Functionality of oilseed protein products: A review, Avialable at: https://www.academia.edu/20956984/Functionality_of_oilseed_protein_products_A_review.
- [15.] Mykola Oseyko, Vasyl Shevchyk, Olena Pokryshko (2019), Antimicrobial and antifungal activity of model drugs on the basis of food plant extracts in the systemic concept of health, Ukrainian Journal of Food Science, 7(1), pp. 70–82 DOI: 10.24263/2310-1008-2019-7-1-9.
- [16.] Носенко Тамара Тихонівна, УДК 665.1/.3:543.424.4:641.53.092:683.958,наукові засади ресурсозберігаючих технологій переробки насіння олійних культур.
- [17.] Analysis of near infrared reflectance spectrum of rape seed with different content of erucic acid / T. Nosenko, I. Hutsalo, V. Nosenko [et

- al.] // *Ukrainian Journal of Food science*. – 2013. – Vol.1, No1. – P. 94-99.
- [18.] Using of near infrared reflectance spectra of sunflower meal for determination its moisture content / S. Litvinchuk, I. Hutsalo, V. Nosenko, T. Nosenko // *Ukrainian Journal of Food science*. – 2013. – Vol.1, No1. – P. 83-88.
- [19.] Дослідження споживчих властивостей ріпакової олії / Т. Т. Носенко, В. І. Бабенко, І. В. Левчук, Т. О. Кот, О. В. Голодна, А. Ю. Тимошук // *Науковий вісник Національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького, Технічні науки, серія «Харчові технології»*. – 2014. – ч.4. – С. 130-136.
- [20.] Influence Of Technological Parameters On Protein Losses During Their Isoelectric Precipitation From Extracts T. Nosenko, *National University of Food Technologies*.
- [21.] Cater C.M. The effect of chlorogenic, quinic and caffeic acids on the solubility and color of protein isolates, especially from sunflower seed / C.M. Cater, S. Gheya- suddin, K.F. Mattil // *Cereal Chem.* — 1972.—V. 49.— P.508—514.
- [22.] Pickardt C. Optimisation of mild-acidic protein extraction from defatted sunflower (*Helianthus annuus L.*) Meal / C. Pickardt, S.Neidhart, C. Griesbachet al. // *Food Hydrocoll.*—2009.—V. 23.—P. 1966—1973.
- [23.] Shih Y.C. Some characteristics of protein precipitation by salts/ Y.C. Shih, J.M. Prausnitz, H.W. Blanch // *Biotechnol. Bioeng.* — 1992. — V. 40. —P. 1155—1164.
- [24.] Handbook of food analytical chemistry / R.E. Wroslad, T.E. Acree, E.A.Decker et al.; ed. By Ronald E. Wroslad. — Vol. 1. — New Jersey, USA:John Wiley & Sons, 2004. — 757 p.
- [25.] Tseng Y.M. Production of canola protein materials by alkaline extraction, precipitation, and membrane processing / Y.M. Tseng,

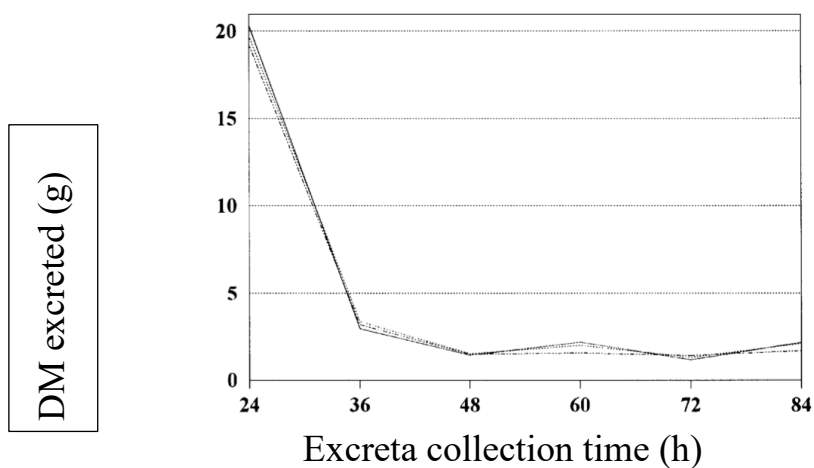
- L.L.Diosady, L.J. Rubin // *J. Food Sei.* — 1990. — V. 55. — P. 1147—1156.
- [26.] *This P.* Characterization of major storage proteins of sunflower and their accumulation / P. This, D. Goffner, M. Raynal et al. // *Plant Physiol. Biochem.* — 1988. — V. 26. — P. 125—132.
- [27.] Порівняльний Аналіз Методів Екстрагування Та Розділення Білків Для Протеомного Дослідження Білкових Профілів Коренів І Бульбочок Сої - Ю.Ю. Кондратюк, П.М. Маменко, А.С. Левішко, Г.М. Дрозденко, С.Я. Коць. Інститут фізіології рослин і генетики Національної академії наук України
- [28.] Cho W. Proteomics technologies and challenges // *Genomics, Proteomics and Bioinformatics.* — 2007. — 5, N 2. — P. 77—85.
- [29.] Mesquita R.O., Soares E.A., Barros E.G., Loureiro M.E. Method optimization for proteomic analysis of soybean leaf: improvements in identification of new and low-abundance proteins // *Genetics and molecular Biol.* — 2012. — 35, N 1. — P. 353—361.
- [30.] Osborne T.B. and C.F. Camphell *Yonrnal Amer. Chemistry Society.* — 1976, No 19.
- [31.] Isolation And Characterization Of A Pancreatic Amylase Inhibitor Galyna V. Krusir^{1*}, Christoph Hugi¹, Lena Breitenmoser¹, Liudmyla N. Pylypenko², Elena V. Sevastyanova², Kseniia I. Mazurenko
- [32.] Guariguata, L., Whiting, D.R., Hambleton, I., Beagley, J., Linnenkamp, U., Shaw, J.E. (2014). Global estimates of diabetes prevalence for 2013 and projections for 2035. *Diabetes Research and Clinical Practice*, 103(2):137– 149.
- [33.] Krusir, G., Zakharchuk, V., Sevastyanova, E., Pylypenko, L., Moshtakov, S. (2020). Isolation of alfalfaseed Trypsin Inhibitor using Affinity Chromatography.

- [34.] Bays, H.E. (2004). Current and investigational antiobesity agents and obesity therapeutic treatment targets. *Obes Res.*, 12(8), 1197–1211.
- [35.] Zoccatelli, G., Pellegrina, C. D., Mosconi, S., Consolini, M., Veneri, G., Chignola, R., Peruffo, A., Rizzi, C. (2007). Full- fledged proteomic analysis of bioactive wheat amylase inhibitors by a 3-D analytical technique: identification of new heterodimeric aggregation states. *Electrophoresis.*, 28(3), 460–466.
- [36.] Ninomiya, K., Ina, S., Hamada, A., Yamaguchi, Y., Akao, M., Shinmachi, F., Kumagai, H. And Kumagai, H. (2018). Suppressive Effect of the α -Amylase Inhibitor Albumin from Buckwheat (*Fagopyrum esculentum* moench) on Postprandial Hyperglycaemia. *Nutrients* , 10(10), 1503;
- [37.] Л. В. Чеботарьова Аспірант* Полтавська Державна Аграрна Академія Рецензент – Член Редколегії «Вісник Жнаеу» Д.С.-Г.Н. Смаглій О. Ф. Методологічні Аспекти Виділення та визначення Активності Лектинів Пшениці Озимої (*Triticum Aestivum L.*)
- [38.] Антонюк В.О. Лектини у медико-біологічних та фітохімічних дослідженнях: сировинна база, отримання, властивості та аспекти практичного використання: автореф. Дис. На здобуття наук. Ступеня доктора фарм. Наук: спец. 15.00.02 «Фармацевтична хімія та фармакогнозія» / В. О. Антонюк. – Львів, 2007. – 37 с.
- [39.] М.а лабейко, мол. Наук. Співр., укрндіож, харків, о.а. литвиненко, канд. Техн. Наук, ст. Наук. Співр., нту «хпї», з.п. федакіна, зав. Відділом, укрндіож, харків, п.ф. петік, Канд. Техн. Наук, Директор, Укрндіож, Харків. Отримання Білкового Продукту З Насіння соняшнику Вітчизняної Селекції

- [40.] Осейко М. Білок і білково-ліпідні продукти / М. Осейко, А. Українець, Л.Хомічак // Харчова і переробна промисловість. – 2004. – № 12. – С. 10 – 11.
- [41.] Кривошеєва О.В. Національна базова колекція соняшнику в Україні як джерело цінних ознак для селекції / О.В. Кривошеєва, В.К. Рябчун, Н.Н. Леонова, К.В. Ведмедєва // Науково-технічний бюлетень Інституту олійних культур УААН. – 2009. – № 14. – С. 28 – 34.
- [42.] Пат. 85385 Україна, МПК А23J 1/14. Спосіб отримання білкового харчового концентрату з ядра соняшника / іхном.П, Конєв М.Д., Котелевська А.А., Лукіна (Литвиненко) О.А.; заявник і патентовласник НТУ «ХП» – № а200600171; заявл. 06.01.2006; опубл. 26.01.2009, Бюл. № 2.

ДОДАТКИ
Додаток 1

ПОЖИВНА ЦІННІСТЬ ШРОТУ СОНЯШНИКОВОГО НАСІННЯ

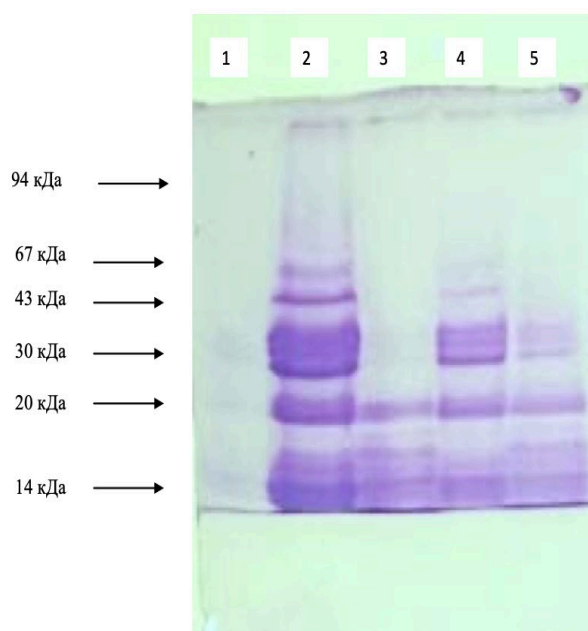


Вплив часу збору екскрементів: $P = 0.0001$

Вплив типу SFSM: $P = 0.4381$

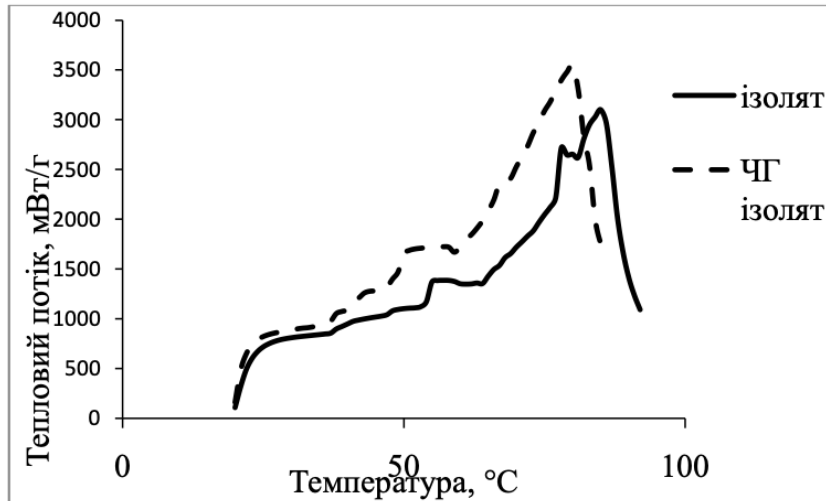
Час збору екскрементів x SFSM: $P = 0.7839$

Додаток 2



Електрофореграми соняшникових білкових ізолятів: 1 - маркери (94, 67, 43, 30, 20 та 14 кДа), 2 - контроль; частково гідролізований ізолят, одержаний у присутності: 3 - нейтральної 4 - трипсину та 5 - лужної протеази

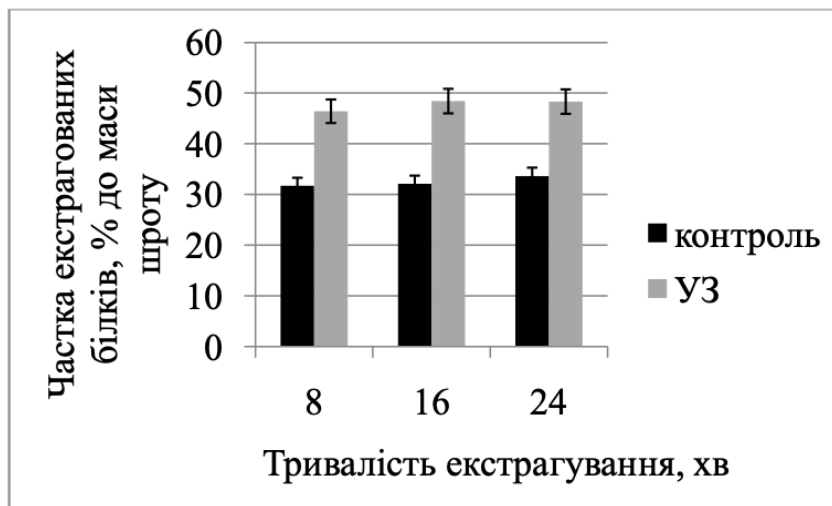
Додаток 3



ф

Рис. Залежність теплового потоку суспензій білкових ізолятів від температури зразка (ЧГ - частково гідролізований білковий ізолят)

Додаток 4



Вплив ультразвукової обробки (УЗ) на ефективність екстрагування білків із соняшникового шроту.

Додаток 5

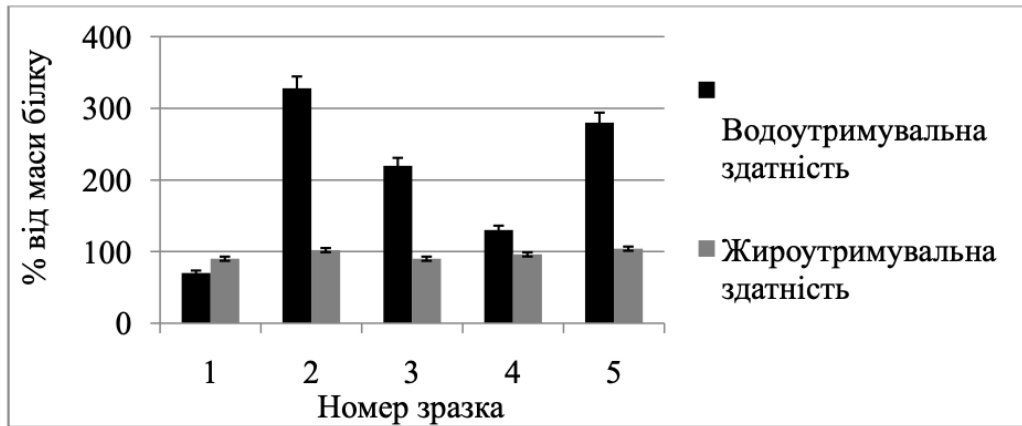


Рис. 1. Водоутримувальна та жирутримувальна здатність білкових продуктів, ізольованих із соняшникового шроту за параметрів екстрагування: зразок № 1 - розчин 7 % NaCl, рН 7; № 2 - розчин 7 % NaCl, рН 7 +нейтральна протеаза; № 3 - розчин 7 % NaCl, рН 7 + трипсин; № 4 - водний розчин за значення рН 12; № 5 - розчин 7 % NaCl, рН 12 + лужна протеаза

Додаток 6

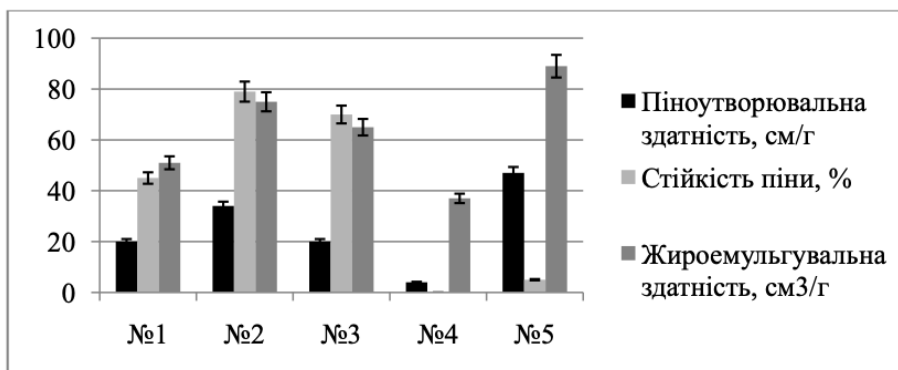


Рис. Здатність стабілізувати дисперсні системи білковими продуктами, ізольованими із соняшникового шроту за параметрів екстрагування: зразок № 1 - розчин 7 % NaCl, рН 7; № 2 - розчин 7 % NaCl, рН 7 + нейтральна протеаза; № 3 - розчин 7 % NaCl, рН 7 + трипсин;

№ 4 - водний розчин за значення рН 12; № 5 - розчин 7 % NaCl, рН 9 + лужна протеаза.

Додаток 7

Таблиця 1

Фізико-хімічні показники насіння соняшнику

Найменування показника	Ранок	Зап. конд.	Алмаз	Чумак	Місцевий 1	Х-51Б	Х-52Б
Вміст вологи, %	5,13	5,72	5,24	4,35	5,06	5,85	5,62
Вміст домішок, %	0,33	0,21	0,20	0,36	0,42	0,28	0,30
Вміст олії в насінні, %	43,97	42,50	44,23	43,84	44,53	39,50	39,56
Кислотне число олії в насінні, мгКОН/г	0,51	0,45	0,54	0,42	0,49	0,60	0,57
Об'ємна вага, г/см ³	351,00	398,00	353,00	375,00	376,00	346,00	341,00
Маса 1000 шт. насіння, г	104,11	98,52	120,67	95,25	98,31	117,34	124,34
Масова частка оболонки в насінні, %	31,08	35,93	34,31	29,20	30,25	33,66	36,27

Додаток 8

Таблиця 2

Склад ядра насіння соняшнику

Найменування показника	Ранок	Зап. конд.	Алмаз	Чумак	Місцевий 1	Х-51Б	Х-52Б
Масова частка сирого жиру у перерахунку на абс. сух. речовину, %	57,64	52,57	59,41	56,64	58,01	52,80	53,91
Масова частка сирого протеїну у перерахунку на абс. сух. речовину, %	25,35	27,15	21,49	22,99	23,01	23,88	26,31