

DOI: <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2025-8-2-286-295>



Поступила 15.04.2025

Поступила после рецензирования 19.06.2025

Принята в печать 23.06.2025

© Куликов Д. С., Королев А. А., Пчелкина В. А., 2025

<https://www.fsjour.com/jour>

Научная статья

Open access

## СВОЙСТВА И МОЛЕКУЛЯРНО-СТРУКТУРНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ФЕРМЕНТАТИВНО-ГИДРОЛИЗОВАННЫХ БЕЛКОВ ГОРОХОВОГО ИЗОЛЯТА И ВТОРИЧНОГО КРАХМАЛО-БЕЛКОВОГО ПРОДУКТА

Куликов Д. С.<sup>1\*</sup>, Королев А. А.<sup>1</sup>, Пчелкина В. А.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Всероссийский научно-исследовательский институт технологии консервирования, Видное, Московская область, Россия

<sup>2</sup>Федеральный научный центр пищевых систем им. В. М. Горбатова, Москва, Россия

### КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: АННОТАЦИЯ

гороховая мука, белки, ферменты, изолят, крахмало-белковый продукт, вторичная структура, функциональные свойства, перевариваемость

В ходе исследований изучены функциональные характеристики и молекулярная структура ферментативно-гидролизованного горохового изолята и вторичного крахмало-белкового продукта, полученных методом ферментативной экстракции муки с применением отечественных карбогидраз и протеазы. Установлена взаимосвязь между структурными особенностями белков, их функциональными свойствами и биодоступностью. Изолят содержал 94% белка, имел светло-кремовый цвет и слабый привкус гороха. По сравнению с изолятом, полученным традиционной щелочной экстракцией, он отличался повышенными показателями растворимости (на 23,40%), пенообразующей способности (на 35,56%), жиросвязывающей способности (на 33,48%), перевариваемости *in vitro* (на 11,79%) и увеличенным содержанием β-изгибов в структуре белка (в 2,32 раза). Активность уреазы, в сравнении с исходной гороховой мукой, в исследуемом изоляте снизилась в 5 раз. Увеличение пенообразующей способности белков изолята и снижение стабильности пены связано с высоким содержанием β-структур и со снижением количества α-спиралей. Повышенная пористость частиц белков исследуемого изолята способствовала увеличению растворимости его в воде и атакуемости ферментами желудочно-кишечного тракта, в сравнении с изолятом, полученным традиционным способом. Крахмало-белковый продукт содержал около 75% крахмала и 10% белка, обладал молочным цветом, мучнистым вкусом со слабым привкусом гороха. Также в сравнении с мукой продукт имел расщепленную структуру, увеличенные показатели перевариваемости белков *in vitro* (на 2,81%), содержания в белке α-спиралей (на 67,90%), β-изгибов (в 2,37 раза) со снижением количества β-слоя (в 10,12 раза) и активности уреазы. С учетом достигнутых результатов гороховый изолят, полученный ферментативной экстракцией российскими ферментами, целесообразно рекомендовать в качестве белкового ингредиента при изготовлении напитков на растительной основе и продуктов питания с пенной системой, а крахмало-белковый продукт — в технологии изготовления экструзионных снеков.

ФИНАНСИРОВАНИЕ: Статья подготовлена в рамках выполнения исследований по государственному заданию № FGUS-2024-0006 Федерального научного центра пищевых систем им. В. М. Горбатова Российской академии наук.

Received 15.04.2025

Accepted in revised 19.06.2025

Accepted for publication 23.06.2025

© Kulikov D. S., Korolev A. A., Pchelkina V. A., 2025

Available online at <https://www.fsjour.com/jour>

Original scientific article

Open access

## PROPERTIES AND MOLECULAR-STRUCTURAL FEATURES OF ENZYMATICALLY HYDROLYZED PROTEINS OF PEA ISOLATE AND SECONDARY STARCH-PROTEIN PRODUCT

Denis S. Kulikov<sup>1\*</sup>, Aleksey A. Korolev<sup>1</sup>, Viktoriya A. Pchelkina<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Russian Research Institute of Canning Technology, Vidnoe, Moscow region, Russia

<sup>2</sup>V. M. Gorbатов Federal Research Center of Food System, Moscow, Russia

### KEY WORDS:

pea flour, proteins, enzymes, isolate, starch-protein product, secondary structure, functional properties, digestibility

### ABSTRACT

The study examined the functional characteristics and molecular structure of the enzymatically hydrolyzed pea isolate and secondary starch-protein product obtained by enzymatic extraction of flour using domestic carbohydrases and protease. A relationship was established between the structural features of proteins, their functional properties and bioavailability. The isolate contained 94% protein, had a light cream color and a slight pea flavor. Compared with the isolate obtained by traditional alkaline extraction, it had increased solubility (by 23.40%), foaming capacity (by 35.56%), fat-binding capacity (by 33.48%), *in vitro* digestibility (by 11.79%) and an increased content of β-bends in the protein structure (by 2.32 times). Urease activity in the isolate under study decreased 5 times in comparison with the original pea flour. Increased foaming capacity of the isolate proteins and decreased foam stability are associated with a high content of β-structures and a decrease in the number of α-helices. Increased porosity of the isolate protein particles contributed to an increase in its solubility in water and attackability by gastrointestinal enzymes, in comparison with the isolate obtained in the traditional way. The starch-protein product contained about 75% starch and 10% protein, had a milky color, a floury taste with a slight pea flavor. Also, in comparison with flour, the product had a split structure, increased protein digestibility *in vitro* (by 2.81%), the content of α-helices in protein (by 67.90%), β-bends (by 2.37 times) with a decrease in the amount of β-layer (by 10.12 times) and urease activity. Taking into account the achieved results, the pea isolate obtained by enzymatic extraction with Russian enzymes should be recommended as a protein ingredient in the production of plant-based drinks, food products with a foam system, and the starch-protein product — in the technology of manufacturing extrusion snacks.

FUNDING: The article was prepared as part of the research under the state assignment No. FGUS-2024-0006 of the V. M. Gorbатов Federal Scientific Center for Food Systems of the Russian Academy of Sciences.

ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ: Куликов, Д. С., Королев, А. А., Пчелкина, В. А. (2025). Свойства и молекулярно-структурные особенности ферментативно-гидролизированных белков горохового изолята и вторичного крахмало-белкового продукта. *Пищевые системы*, 8(2), 286–295. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2025-8-2-286-295>

FOR CITATION: Kulikov, D. S., Korolev, A. A., Pchelkina, V. A. (2025). Properties and molecular-structural features of enzymatically hydrolyzed proteins of pea isolate and secondary starch-protein product. *Food Systems*, 8(2), 286–295. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2025-8-2-286-295>

## 1. Введение

Значимой проблемой и одной из главных причин развития ряда алиментарных заболеваний является дефицит полноценного белка в ежедневном рационе питания населения [1]. Необходимость создания высокоценных белковых ингредиентов и расширение их ассортимента с использованием современных технологий, включая биотехнологии, является актуальной задачей и диктуется Стратегией повышения качества пищевой продукции в Российской Федерации до 2030 года, утвержденной Правительством РФ в 2016 году. Производство белковых продуктов из растительного сырья отличается более высокой рентабельностью и меньшим негативным воздействием на биосферу по сравнению с животными аналогами [2,3]. Перспективным растительным сырьем для переработки на белковые ингредиенты в России является горох — популярнейшая зернобобовая культура, валовые сборы которой в 2024 году, по предварительным прогнозам, составили 4,8 млн тонн [4]. Горох отличается высоким содержанием белка (до 25%) и незаменимых аминокислот, которые поступают в организм человека исключительно с пищей [2,5]. Кроме того, его зерно является гипоаллергенным и практически не содержит ингибиторов ферментов желудочно-кишечного тракта — так называемых антипитательных веществ [6,7].

Белковые ингредиенты из гороха (изоляты, концентраты) нашли широкое применение в технологиях изготовления протеиновых батончиков [8], экструзионных хлопьев [9,10], хлеба [11], пасты [12], бисквитов [13], кисломолочных продуктов [14], заменителей мяса [15], растительных аналогов сыров [16] и многих других продуктов. Однако в современных условиях производства белковых ингредиентов, в том числе из растительного сырья, на стадии экстракции белков традиционно используются щелочные растворы. Они изменяют структуру белков, снижают их биодоступность и некоторые функционально-технологические свойства, которые определяют качество и направление реализации белковых продуктов в пищевых системах [17–19]. Более того, щелочная экстракция белков приводит к образованию горечи и к потемнению белковых продуктов, что существенно ограничивает их применение в продуктах питания [20,21]. Решением данной проблемы является использование биотехнологического метода экстракции белков с применением ферментных препаратов, не снижающих качество белковых продуктов за счет высокой специфичности ферментов и сравнительно мягких условий обработки [5,20,22,23]. Важной рекомендацией, указанной в ранее упомянутой Стратегии, является разработка и внедрение в производство пищевой продукции отечественных ингредиентов и субстанций, включая ферментные препараты. Однако в научной литературе практически отсутствуют сведения о применении ферментных препаратов российских производителей в процессе биотехнологической переработки гороховой муки, а также о влиянии отечественных ферментов на функционально-технологические свойства, вторичную структуру и биодоступность гороховых белков.

Другой важной проблемой промышленного производства белковых изолятов и концентратов является образование вторичных продуктов, которые чаще всего утилизируются, негативно влияя на экологию, или реализуются на изготовление кормов с низкой добавленной стоимостью [17]. Одним из таких продуктов глубокой переработки гороха выступает крахмало-белковый остаток, состоящий из горохового крахмала, клетчатки и нерастворимой белковой фракции. При биотехнологической обработке гороховой муки с использованием ферментных систем увеличиваются органолептические показатели и биодоступность не только целевых белковых препаратов, но и вторичных продуктов, которые могут быть реализованы в качестве полезных ингредиентов пищевых продуктов [17,20]. В связи с вышесказанным целью настоящей работы является изучение изменений свойств и молекулярно-структурных особенностей белкового изолята и вторичного крахмало-белкового продукта, полученных биотехнологической экстракцией белков гороховой муки с использованием отечественных ферментных препаратов.

## 2. Объекты и методы

### 2.1. Объекты

В качестве объектов для исследований использовалась цельносмолотая гороховая мука («Образ жизни», РФ), а также полученные из нее различными способами (ферментативная, щелочная экстракция) белковые изоляты и вторичный крахмало-белковый продукт.

### 2.2. Подготовка образцов

Ферментативно-гидролизированный белковый изолят получен путем ферментативной экстракции гороховой муки ферментными препаратами российского производства («Сиббиофарм») с амилаз-

ной («АмилоЛюкс-А»), целлюлазной, ксиланазной («ЦеллоЛюкс-А»), глюкоамилазной («ГлюкоЛюкс-А») и протеолитической активностью («АцидоЛюкс-НП»). Технология предусматривает приготовление суспензии с гидромодулем мука–вода 1:10 и с последующей двухстадийной ферментативной обработкой гороховой муки: 1 стадия — добавление карбогидраз в концентрации 1,0%/г белка при pH 5,7±0,1, температуре 55±1 °С, скорости перемешивания 150 об/мин и продолжительности 120 минут; 2 стадия — добавление протеазы в концентрации 1,2%/г белка при pH 7,0±0,1, температуре 55±1 °С, скорости перемешивания 150 об/мин и продолжительности 120 минут. Процессы экстракции, изоэлектрического осаждения и нейтрализации белков проводили на лабораторном ферментере (BIORUS, РФ) объемом 5 литров с постоянным контролем температуры, pH среды, скорости и продолжительности перемешивания. Обработка муки карбогидразами предусматривается с целью расщепления углеводных молекул (крахмал, целлюлоза, гемицеллюлоза, пентозаны) и высвобождения связанного с ними белка для перевода его в растворенное состояние. Применение протеазы в процессе ферментативной экстракции позволяет расщепить высокомолекулярные белки для их легкого перевода в раствор и увеличения выхода.

После обработки ферментами суспензию центрифугировали в течение 20 минут при 4200 г на центрифуге MPW-260R (MPW Med. Instruments, Польша). Затем отделяли нерастворимый остаток — крахмало-белковый продукт, содержащий углеводы (в основном крахмал) и нерастворимую белковую фракцию. В полученном супернатанте (белковый экстракт) осаждали белок в изоэлектрической точке (pH 4,2±0,1), осадок нейтрализовывали 0,5 Н NaOH до pH 7,0±0,1, промывали водой и высушивали на сублимационной сушилке LAB3 (Lyomachines, РФ) при температуре заморозки — 30±1 °С.

В качестве сравнения свойств и молекулярно-структурных изменений белков был получен из гороховой муки того же производителя белковый изолят традиционным способом с применением щелочной экстракции белков при pH 9,0±0,1 [22].

### 2.3. Определение химического состава и свойств образцов

Массовую долю влаги в образцах определяли по ГОСТ 13586.5-2015<sup>1</sup>; общих азотистых веществ (Nx6,25) — по ГОСТ 10846-91<sup>2</sup>; золы — по ГОСТ 27494-2016<sup>3</sup>; жира — по ГОСТ 29033-91<sup>4</sup>; крахмала — по ГОСТ 10845-98<sup>5</sup>; прочих углеводов — по разнице между 100% и суммой остальных компонентов. Функционально-технологические свойства гороховых изолятов исследовали по методикам [24,25]. Перевариваемость белков *in vitro* определяли по методу А. А. Покровского и И. Д. Ертанова, моделируя процесс пищеварения в желудочно-кишечном тракте человека на первой стадии с пепсином («ЛенРеактив», РФ) в кислой среде при pH 1,8±0,1, на второй — с трипсином («Самсон-Мед», РФ) в щелочной среде при pH 8,4±0,1 [26]. Активность уреазы в образцах определяли по ГОСТ 13979.9-69<sup>6</sup>.

### 2.4. Микроскопия образцов

Изучение микроstructures образцов проводили методом «раздавленная капля» на световом микроскопе AxioImager A1 (Carl Zeiss, Германия) с применением программы анализа изображений AxioVision 4.7.1.0 (Carl Zeiss, Германия).

Морфология частиц была исследована с помощью сканирующей электронной микроскопии (СЭМ) на микроскопе Сохет EM-30 Plus (Сохет, Корея). Для этого часть образца наносили на карбоновую двустороннюю клейкую ленту, размещенную на держателе образца, и покрывали тонким слоем золота с помощью установки для нанесения ионных покрытий SPT-20 (Сохет, Корея) (в режиме 100 сек, 5 мА).

### 2.5. Рамановская спектроскопия

Регистрацию спектров проводили на конфокальном спектроскопе InVia Raman (Renishaw plc, Wotton-under-Edge, Великобритания), оснащенный детектором CCD, согласно работе [27]. Пик Si 521 см<sup>-1</sup> использовали для калибровки спектрометра. Небольшую часть образца помещали на предметное стекло, обернутое алюминиевой

<sup>1</sup> ГОСТ 13586.5-2015. «Зерно. Метод определения влажности». — М.: Стандартинформ, 2019. — 12 с.

<sup>2</sup> ГОСТ 10846-91. «Зерно и продукты его переработки. Метод определения белка». — М.: Стандартинформ, 2009. — 9 с.

<sup>3</sup> ГОСТ 27494-2016. «Мука и отруби. Методы определения зольности». — М.: Стандартинформ, 2019. — 16 с.

<sup>4</sup> ГОСТ 29033-91. «Зерно и продукты его переработки. Метод определения жира». — М.: ИПК Издательство стандартов, 2004. — 6 с.

<sup>5</sup> ГОСТ 10845-98. «Зерно и продукты его переработки. Метод определения крахмала». — М.: Стандартинформ, 2009. — 6 с.

<sup>6</sup> ГОСТ 13979.9-69. «Жмыхи и шроты. Методика выполнения измерений активности уреазы». — М.: ИПК Издательство стандартов, 2002. — 9 с.

фольгой, и сжимали другим предметным стеклом, которое затем удаляли. Для каждого образца спектры записывали с десяти точек. Снятие спектров осуществляли с помощью лазера с длиной волны 785 нм (решетка 1200 шт/мм) при мощности 100%, время съемки составляло 10 с. Лазер фокусировали на образце объективом x50L. Спектры регистрировали в диапазоне от 700 до 1800 см<sup>-1</sup>. Предварительная обработка спектров включала коррекцию базовой линии, сглаживание с применением алгоритма Савицкого-Голея, нормализацию. Полосу амида I (1630–1700 см<sup>-1</sup>) анализировали с использованием деконволюции спектра в программе WiRE версии 5.5.24865-r5.5.HF2 (Renishaw plc, Wotton-under-Edge, Великобритания) согласно работе [28].

### 2.6. Статистический анализ экспериментальных данных

Исследования проводили в 3–4-кратных повторностях, полученные числовые результаты представляли в виде среднего арифметического с использованием стандартного отклонения, рассчитанного с критерием Стьюдента при уровне значимости  $p \leq 0,05$ .

Числовые характеристики спектров (наименование пиков, их площадь, высота, ширина, интенсивность) обрабатывали в Microsoft Excel, статистическую достоверность отличий рассчитывали в программе STATISTICA 10.0, использовали дисперсионный анализ (ANOVA) с применением критерия Тьюки. Вероятность 0,05 была выбрана в качестве значимого уровня.

## 3. Результаты и обсуждение

### 3.1. Внешний вид образцов

Ферментативно-гидролизированный белковый изолят представлял собой порошок светло-кремового цвета со слабым гороховым привкусом. Для сравнения: образцы исходной гороховой муки и изолята, полученного традиционной щелочной экстракцией, имели цвет от желтого до светло-коричневого и характерный бобовый, горьковатый вкус (Рисунок 1).

Полученные результаты объясняются тем, что в щелочной среде протекают окислительные процессы, приводящие к образованию темноокрашенных соединений и к появлению горечи в белковых продуктах из бобовых культур. Напротив, ферментативная экстракция в мягких условиях не оказывает негативного влияния на органолептические свойства, снижая горечь и нейтрализуя специфический бобовый вкус [5,19,20]. Благодаря высокому содержанию крахмала вторичный крахмало-белковый продукт обладал молочным цветом и мучнистым вкусом, характерным для крахмала, со слабым привкусом гороха.

### 3.2. Химический состав, функционально-технологические и биохимические свойства

Химический состав образцов представлен в Таблице 1. Установлено, что при использовании ферментативной экстракции белков гороховой муки с отечественными ферментными препаратами получен белковый продукт с содержанием белка более 90%, что выше, чем в исходной муке, в 3,87 раза и относится к группе «изоляты» [18]. Процесс щелочной экстракции белков позволяет получить изолят с меньшей чистой белка (около 85%) в сравнении с ферментативно-гидролизированным образцом. Отмечено также, что в полученном ферментативной экстракцией изоляте, по сравнению с белком, выделенным традиционным способом, практически полностью отсутствовали углеводы, содержалось меньше липидов (в 2,78 раза) и зольных элементов (на 29,95%). Накопление зольных элементов объясняется несколькими переходами pH среды в процессе экстракции и изоэлектрического осаждения белков с образованием соли. Поскольку pH среды при щелочной экстракции белков (pH 9,0) выше, чем при ферментативной (pH 5,7–7,0), то возросло и количество выделившейся соли. Крахмало-белковый продукт отличался высоким содержанием общих углеводов и крахмала, что выше, чем в исходной муке, на 20,51% и 25,86% соответственно. Также вторичный продукт производства белкового изолята содержал около 10% белка, что сравнимо с содержанием белка в зерновых культурах [7]. В этой связи перспективно использование экструзионных технологий для получения гороховых снеков из крахмало-белкового продукта.

Были проведены исследования функционально-технологических свойств белковых гороховых изолятов, полученных различными методами (Таблица 2). По сравнению с изолятом, выделенным щелочной экстракцией, ферментативно-гидролизированный изолят имел повышенные показатели растворимости (на 23,40%), пенообразующей (на 35,56%) и жиросвязывающей способности (на 33,48%). В то же время белки изолята, экстрагированные щелочью, обладали увеличенной водосвязывающей способностью (в 2,96 раза), что согласуется с литературными данными, объясняющими это изменение образованием новых межмолекулярных связей между остатками аминокислот при щелочном сдвиге pH среды [29]. Также изолят характеризовался большей стабильностью пены (на 11,69%), эмульсии (на 26,92%) и более высокой жироземлюющей способностью (на 9,62%).

Таким образом, исходя из полученных данных по функционально-технологическим свойствам, ферментативно-гидролизированный изолят целесообразно рекомендовать к применению в качестве белкового ингредиента в технологиях изготовления напитков на растительной основе, протеиновых коктейлей, а также продуктов питания



Таблица 1. Химический состав образцов  
Table 1. Chemical composition of samples

| Показатель                                    | Образец                   |                                   |                             |                           |
|---|---------------------------|-----------------------------------|-----------------------------|---------------------------|
|   | Гороховая мука            | Изолят. Ферментативная экстракция | Изолят. Щелочная экстракция | Крахмало-белковый продукт |
| Содержание влаги, %                           | 10,54 ± 0,02 <sup>c</sup> | 4,17 ± 0,19 <sup>b</sup>          | 3,17 ± 0,03 <sup>a</sup>    | 3,06 ± 0,08               |
| Содержание белка ( $N \times 6,25$ ), % на СВ | 24,33 ± 0,07 <sup>c</sup> | 94,16 ± 0,15 <sup>b</sup>         | 85,38 ± 0,12 <sup>a</sup>   | 10,06 ± 0,07 <sup>d</sup> |
| Содержание зольных элементов, % на СВ         | 2,72 ± 0,04 <sup>c</sup>  | 4,04 ± 0,06 <sup>b</sup>          | 5,25 ± 0,07 <sup>a</sup>    | 0,87 ± 0,05 <sup>d</sup>  |
| Содержание липидов, % на СВ                   | 0,89 ± 0,04 <sup>c</sup>  | 1,65 ± 0,08 <sup>b</sup>          | 4,58 ± 0,11 <sup>a</sup>    | 4,47 ± 0,27               |
| Содержание углеводов, % на СВ                 | 72,06 ± 0,10 <sup>c</sup> | 0,15 ± 0,07 <sup>b</sup>          | 4,79 ± 0,19 <sup>a</sup>    | 86,84 ± 0,17 <sup>d</sup> |
| в т. ч. крахмала, % на СВ                     | 59,60 ± 0,16 <sup>a</sup> |                                   |                             | 75,01 ± 0,11 <sup>b</sup> |

Примечание: СВ — сухие вещества; числовые данные представляют собой средние значения ± стандартное отклонение для группы  $n = 3$  при использовании критерия Стьюдента; <sup>abcd</sup> — значимая разница между образцами ( $p \leq 0,05$ ).

Таблица 2. Функционально-технологические свойства белковых изолятов

| Показатель                       | Образец изолята           |                           |
|----------------------------------|---------------------------|---------------------------|
|                                  | Ферментативная экстракция | Щелочная экстракция       |
| Растворимость белков в воде, %   | 86,96 ± 0,71 <sup>a</sup> | 70,47 ± 0,50 <sup>b</sup> |
| Водосвязывающая способность, г/г | 0,84 ± 0,03 <sup>a</sup>  | 2,49 ± 0,03 <sup>b</sup>  |
| Пенообразующая способность, %    | 61 ± 1 <sup>a</sup>       | 45 ± 3 <sup>b</sup>       |
| Стабильность пены, %             | 77 ± 1 <sup>a</sup>       | 86 ± 1 <sup>b</sup>       |
| Жирсвязывающая способность, г/г  | 3,03 ± 0,15 <sup>a</sup>  | 2,27 ± 0,02 <sup>b</sup>  |
| Жироэмульгирующая способность, % | 52 ± 2 <sup>a</sup>       | 57 ± 1 <sup>b</sup>       |
| Стабильность эмульсии, %         | 52 ± 1 <sup>a</sup>       | 66 ± 2 <sup>b</sup>       |

Примечание: числовые данные представляют собой средние значения ± стандартное отклонение для группы  $n = 4$  при использовании критерия Стьюдента; <sup>a</sup>, <sup>b</sup> — значимая разница между образцами ( $p \leq 0,05$ ).

с пенной системой (кексы, зефир, пастила, бисквиты, крема и т. д.). Изолят, полученный традиционным щелочным способом, рекомендуется к применению в технологиях изготовления растительного мяса, кисломолочных продуктов на растительной основе, низкокалорийного маргарина, соусов и т. д.

Таблица 3. Перевариваемость белков *in vitro* и активность уреазы в образцах

| Показатель                     | Образец                   |                                   |                             |                           |
|--------------------------------|---------------------------|-----------------------------------|-----------------------------|---------------------------|
|                                | Гороховая мука            | Изолят. Ферментативная экстракция | Изолят. Щелочная экстракция | Крахмало-белковый продукт |
| Перевариваемость белков, %     | 93,64 ± 0,15 <sup>b</sup> | 98,92 ± 0,11 <sup>a</sup>         | 88,49 ± 0,19 <sup>c</sup>   | 96,27 ± 0,17 <sup>d</sup> |
| в т. ч. с пепсином (рН 1,8), % | 70,16 ± 0,11 <sup>b</sup> | 84,44 ± 0,06 <sup>a</sup>         | 62,68 ± 0,12 <sup>c</sup>   | 74,71 ± 0,10 <sup>d</sup> |
| с трипсином (рН 8,4), %        | 23,48 ± 0,04 <sup>b</sup> | 14,48 ± 0,05 <sup>a</sup>         | 25,81 ± 0,07 <sup>c</sup>   | 21,56 ± 0,07 <sup>d</sup> |
| Активность уреазы, ед. рН      | 0,05 ± 0,01 <sup>b</sup>  | 0,01 ± 0,01 <sup>a</sup>          | 0,02 ± 0,01                 | 0,03 ± 0,01               |

Примечание: числовые данные представляют собой средние значения ± стандартное отклонение для группы  $n = 4$  при использовании критерия Стьюдента; <sup>a</sup>, <sup>b</sup>, <sup>c</sup>, <sup>d</sup> — значимая разница между образцами ( $p \leq 0,05$ ).

Белки изолята, выделенного ферментативной экстракцией, и вторичного крахмало-белкового продукта практически полностью усваивались *in vitro*, перевариваясь на 2,81–5,64 % интенсивнее, чем белки исходной гороховой муки (Таблица 3).

При этом установлено снижение перевариваемости белков изолята, полученного щелочной экстракцией, на 5,50 %, относительно гороховой муки, что объясняется денатурацией белковых молекул в процессе щелочной обработки, рацемизацией аминокислот и снижением их биодоступности [5, 18, 20]. Несмотря на то, что в исходной гороховой муке активность уреазы, коррелирующей с активностью антипитательных веществ бобовых культур, была низкой, в процессе получения изолятов с высоким содержанием белка могла увеличиться концентрация антипитательных веществ в белковых продуктах [6, 7]. Проведенные исследования показали снижение активности уреазы относительно гороховой муки в обоих образцах изолятов, независимо от метода их получения. Во вторичном крахмало-белковом продукте активность уреазы была ниже, чем в гороховой муке, но несколько выше, чем в изолятах, что, предположительно, означает переход уреазы в нерастворимую фракцию белков в процессе ферментативной обработки муки.

### 3.3 Микроскопия образцов

Образец гороховой муки состоял из крупных фрагментов растительных тканей, сохранивших свою структуру. Эти фрагменты представляли собой округлые клетки с четко различимой целлюлозной оболочкой, заполненные крахмальными зернами (Рисунок 2а).

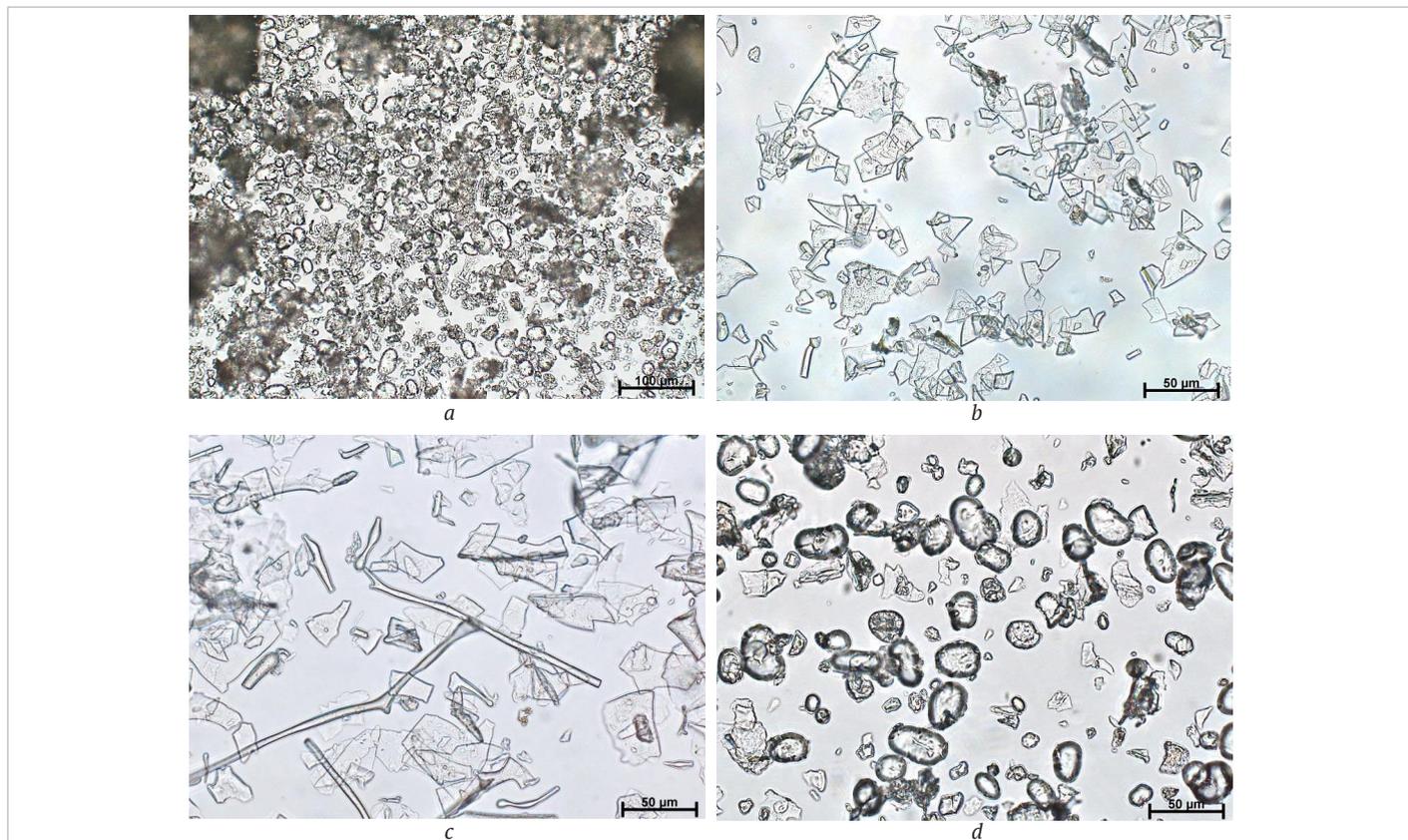


Рисунок 2. Фотографии структур, полученные на просвечивающем микроскопе:

**a** — гороховая мука (увеличение ×200), **b** — изолят, ферментативная экстракция (увеличение ×400), **c** — изолят, щелочная экстракция (увеличение ×400), **d** — крахмало-белковый продукт (увеличение ×400)

Figure 2. Photographs of structures obtained with a transmission microscope: **a** — pea flour (magnification ×200), **b** — isolate, enzymatic extraction (magnification ×400), **c** — isolate, alkaline extraction (magnification ×400), **d** — starch-protein product (magnification ×400)

Кроме того, в результате механического измельчения образовались отдельные фрагменты клеток и мелкие частицы неправильной формы, которые были связаны с крахмальными зернами или находились в межгранулярном пространстве и представляли собой фрагменты белковой матрицы (Рисунок 3а, 3б).

В образце изолята, полученного ферментативной экстракцией белков, присутствовали уплощенные частицы неправильной геометрической формы с хорошо дифференцируемыми границами (Рисунок 2б). При электронной микроскопии было установлено, что крупные частицы имели пористость, вероятно, вследствие протеолиза

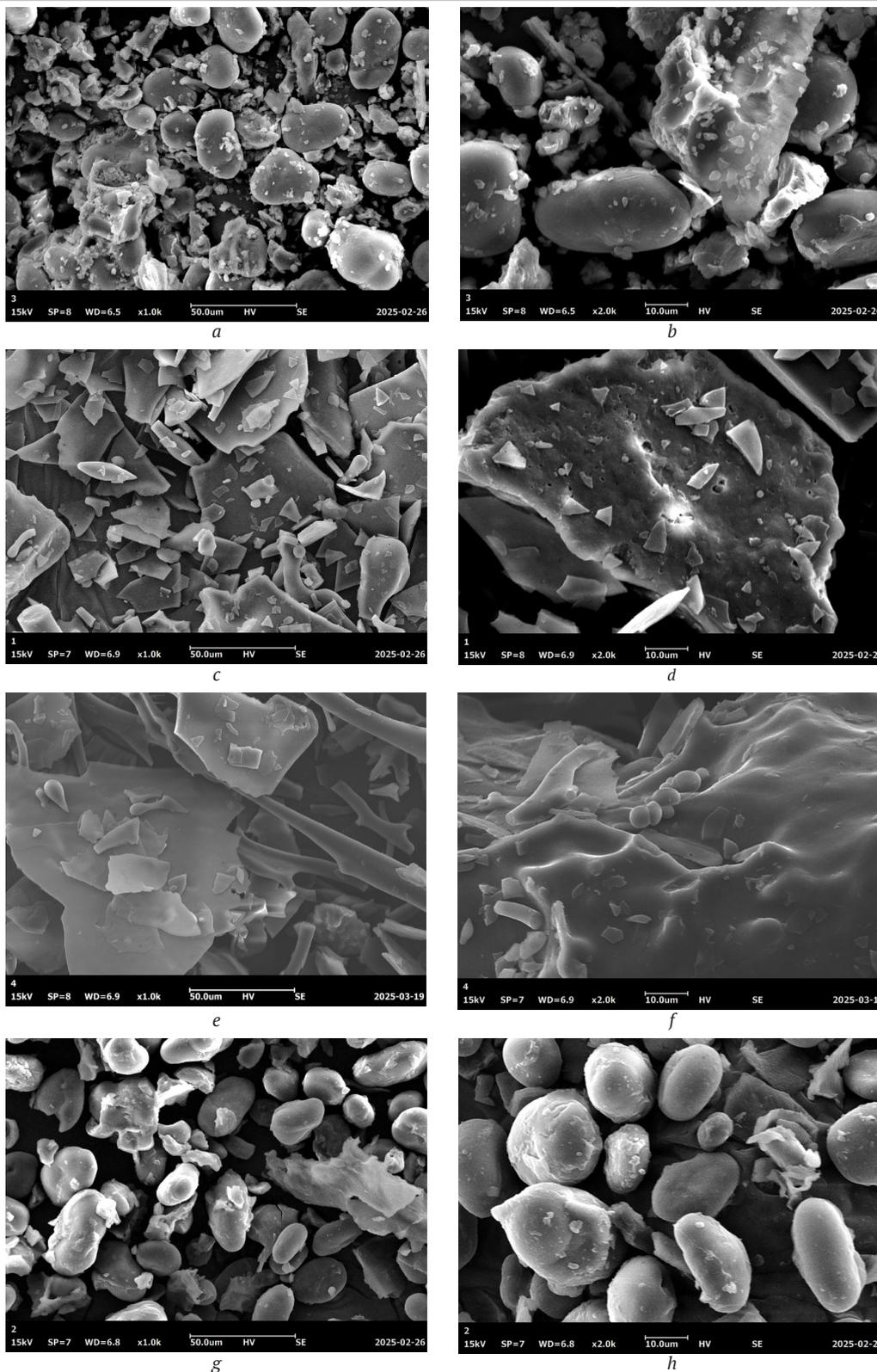


Рисунок 3. Фотографии структур, полученные на сканирующем электронном микроскопе:

*a* – гороховая мука (увеличение  $\times 1000$ ), *b* – гороховая мука (увеличение  $\times 2000$ ), *c* – изолят, ферментативная экстракция (увеличение  $\times 1000$ ), *d* – изолят, ферментативная экстракция (увеличение  $\times 2000$ ), *e* – изолят, щелочная экстракция (увеличение  $\times 1000$ ), *f* – изолят, щелочная экстракция (увеличение  $\times 2000$ ), *g* – крахмало-белковый продукт (увеличение  $\times 1000$ ), *h* – крахмало-белковый продукт (увеличение  $\times 2000$ )

Figure 3. Scanning electron micrographs of structures: *a* – pea flour (magnification  $\times 1000$ ), *b* – pea flour (magnification  $\times 2000$ ), *c* – isolate, enzymatic extraction (magnification  $\times 1000$ ), *d* – isolate, enzymatic extraction (magnification  $\times 2000$ ), *e* – isolate, alkaline extraction (magnification  $\times 1000$ ), *f* – isolate, alkaline extraction (magnification  $\times 2000$ ), *g* – starch-protein product (magnification  $\times 1000$ ), *h* – starch-protein product (magnification  $\times 2000$ )

белковых молекул (Рисунок 3с, 3d). При анализе образца изолята, полученного традиционной щелочной экстракцией, выявлены уплотненные частицы неправильной геометрической формы с хорошо дифференцируемыми границами (Рисунок 2с), схожие с частицами ферментативно-гидролизованного изолята, а также удлиненные частицы в виде «палочек». При электронной микроскопии было установлено, что плоские частицы имели небольшую пористость, удлиненные частицы были монолитны (Рисунок 3е, 3f).

Повышенная пористость структуры белков ферментативно-гидролизованного изолята в сравнении с образцом, экстрагированным щелочью, позволяла увеличить площадь соприкосновения белковых частиц с молекулами воды и растворами протеаз (пепсин, трипсин), что, соответственно, способствовало повышению показателей растворимости и биодоступности (перевариваемости) изолята [5].

Крахмало-белковый продукт состоял преимущественно из однопольных зерен горохового крахмала (Рисунок 2d). Крупные комплексы растительных клеток отсутствовали, однако выявлялись единичные фрагменты целлюлозных оболочек и мелкие частицы неправильной формы, предположительно, белковые, схожие с частицами ферментативно-гидролизованного изолята (Рисунок 3g, 3h).

#### 3.4. Рамановская спектроскопия образцов

В образцах гороховой муки и крахмало-белкового продукта в зависимости от структуры полученные спектры разделили на две груп-

пы: углеводная часть (крахмал) и белковая часть. На спектрах, полученных от углеводной части образцов (Рисунок 4), область между 800 и 1200  $\text{cm}^{-1}$  относилась к симметричным модам растяжения С–О и С–С и деформации С–О–С в гликозидной связи [30,31]. Область 1200–1500  $\text{cm}^{-1}$  содержала информацию об особенностях колебания углеводов (амилозы и амилопектина в крахмале) и, согласно литературным данным, была специфична для деформационных колебаний –СН [31,32].

Основное внимание при анализе уделили спектрам, полученным от белковой части образцов муки, изолятов и крахмало-белкового продукта (Рисунок 5). Информация о вторичной структуре белка ( $\alpha$ -спирали,  $\beta$ -слой,  $\beta$ -изгибы и неупорядоченная структура) на рамановских спектрах представлена полосами амида I (1600–1700  $\text{cm}^{-1}$ ), амида II (1510–1560  $\text{cm}^{-1}$ ) и амида III (1230–1350  $\text{cm}^{-1}$ ) [33–37]. Полосы амидов II и III редко используются в анализе, поскольку их интерпретация затруднена: у амида II это связано с малой изменчивостью поляризуемости изгиба N–H, а также растяжений связей С–С и С–N пептидной группы, а у амида III – с перекрытием полос, характерных для  $\beta$ -слоя (1230–1245  $\text{cm}^{-1}$ ) и неупорядоченной структуры (1240–1255  $\text{cm}^{-1}$ ) [33,34].

При сравнении спектров образцов можно отметить, что в ферментативно-гидролизованном изоляте присутствовал отчетливый сигнал 1235–1245  $\text{cm}^{-1}$  (амид III), отвечающий за антипараллельный

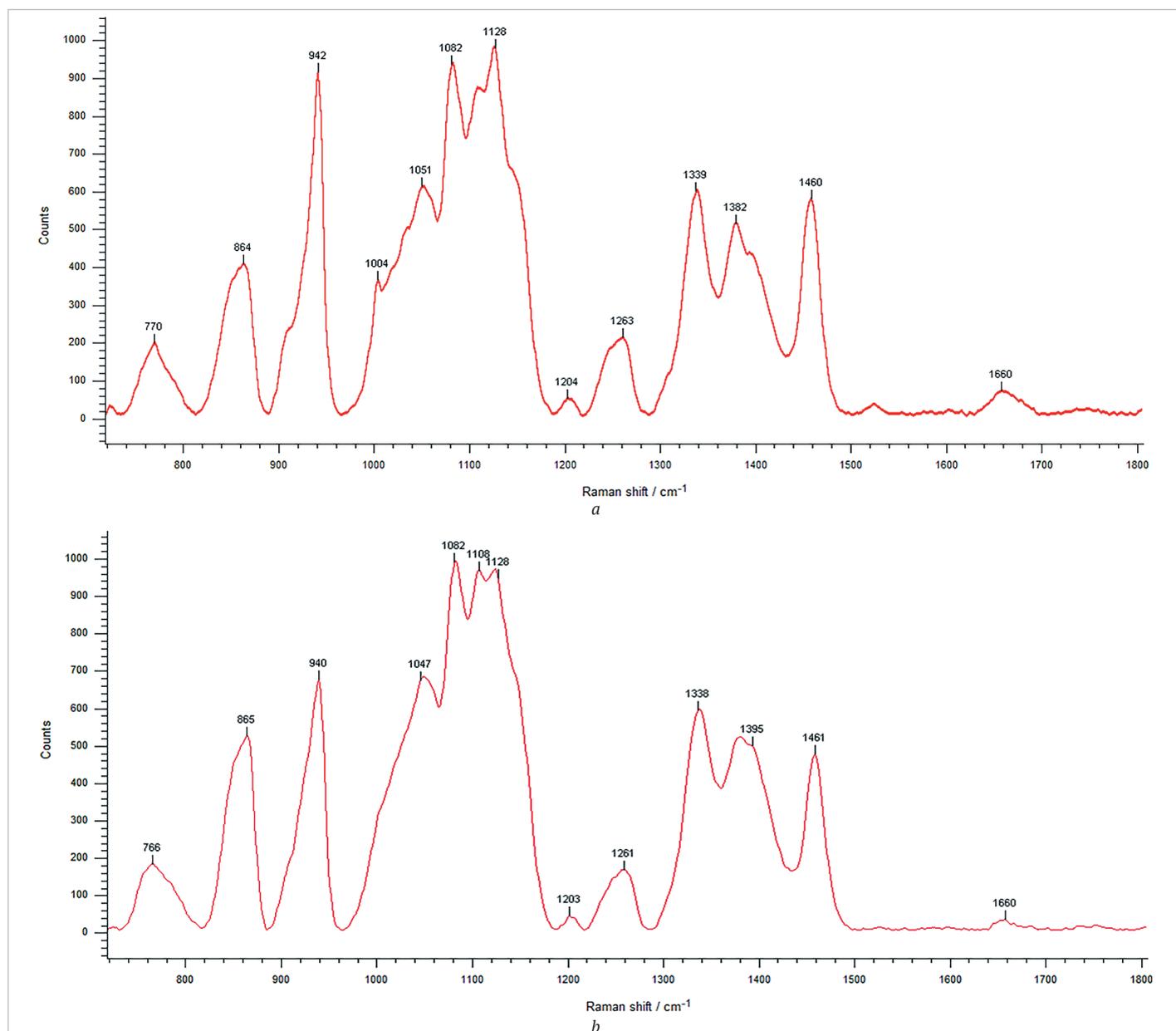
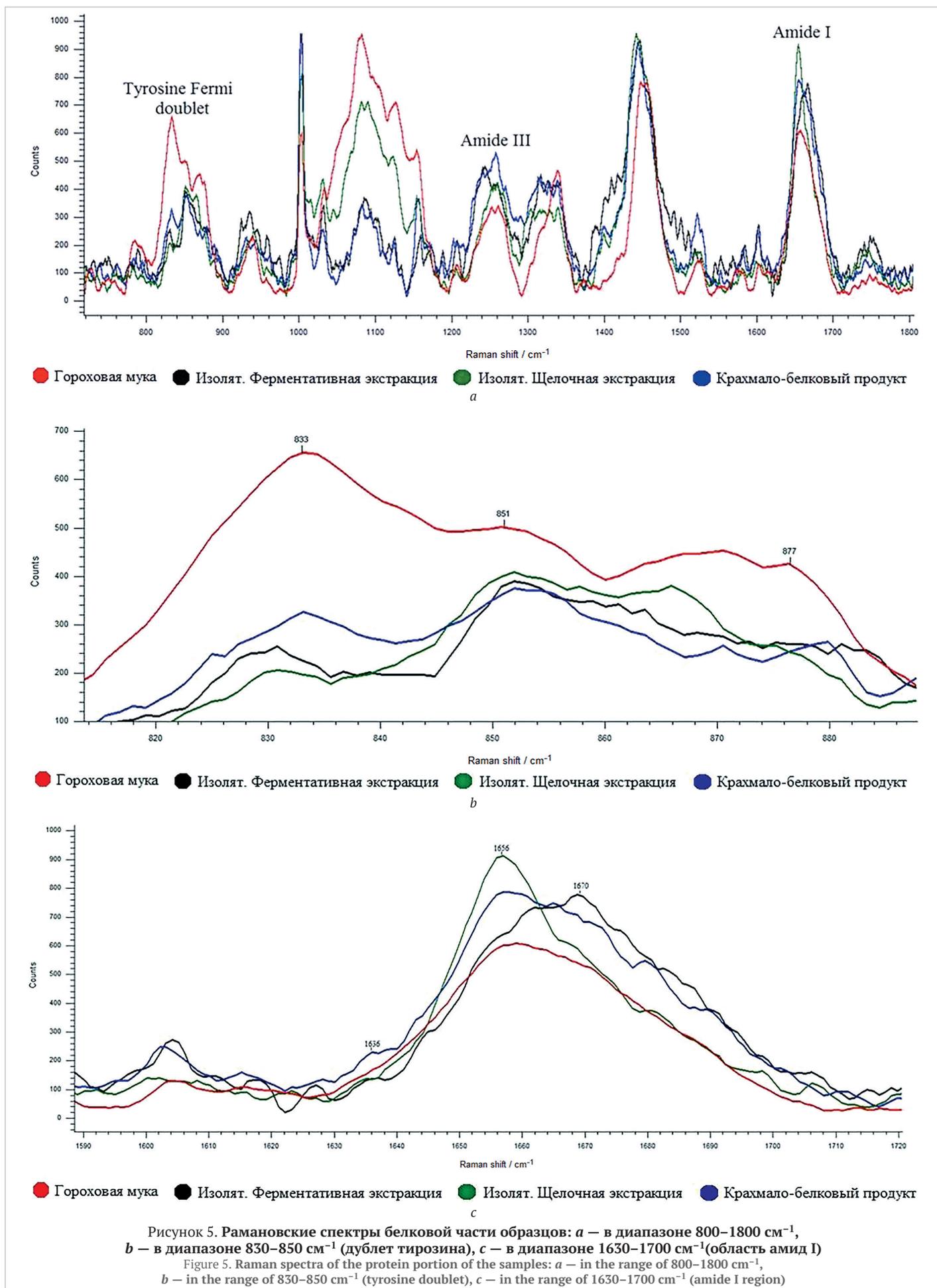


Рисунок 4. Рамановские спектры углеводной части образцов в диапазоне 800–1800  $\text{cm}^{-1}$ :

**a** – гороховая мука, **b** – крахмало-белковый продукт

Figure 4. Raman spectra of the carbohydrate part of the samples in the range of 800–1800  $\text{cm}^{-1}$ : **a** – pea flour, **b** – starch-protein product



$\beta$ -слой и неупорядоченную структуру, тогда как в других образцах наблюдался более интенсивный сигнал  $\sim 1260 \text{ см}^{-1}$ , характеризующий  $\alpha$ -спирали.

Также в спектре ферментативно-гидролизованного изолята область, отвечающая за амид I, смещена правее спектров прочих образцов, что также свидетельствует о большем присутствии  $\beta$ -структур. Согласно литературным данным, полосу амида I ( $1630\text{--}1700 \text{ см}^{-1}$ ) можно использовать для анализа вторичной структуры белка, так как она редко подвергается помехам со стороны других молекул [34]. Результаты анализа вторичной структуры белков в исследуемых образцах показаны в Таблице 4.

Анализ спектра Рамана показал, что образцы белковых изолятов различались по содержанию белковых структур: в образце ферментативно-гидролизованного изолята  $\beta$ -изгибов было в 2,33 раза больше, тогда как в изоляте, полученном щелочной экстракцией, содержание  $\alpha$ -спиралей превышало его в 2,12 раза. Это может быть связано с разрушением водородных связей в изоляте после ферментативного гидролиза, которые поддерживают стабильность структуры  $\alpha$ -спиралей. В то же время, по сравнению с гороховой мукой, при щелочной экстракции наблюдается значительное увеличение процентного содержания  $\alpha$ -спиралей (на 38,67%) и снижение  $\beta$ -структур (на 28,96%). Эти изменения подтверждаются литературными данными, согласно которым денатурация белковых молекул может снижать функционально-технологические свойства белкового продукта [38].

В структуре белковой части крахмало-белкового продукта по сравнению с гороховой мукой зафиксировано увеличение количества  $\alpha$ -спиралей (на 67,90%) и  $\beta$ -изгибов (в 2,37 раза). При этом содержание  $\beta$ -слоя снизилось (в 10,12 раза), как и в обоих образцах изолятов (в 2,45–2,62 раза). Известно, что уменьшение содержания  $\beta$ -слоя указывает на обнажение гидрофобно связанных участков белка. Это может быть использовано, например, при взаимодействии с гидрофобными полиненасыщенными жирными кислотами с целью ингибирования окисления липидов и увеличения их сохранности в пищевых продуктах [34]. Также известно, что бобовые белки с относительно более высоким содержанием  $\beta$ -структур, как, например, у ферментативно-гидролизованного изолята, обладают большей термической стабильностью и денатурируют при более высоких температурах. Это указывает на возможность их применения в технологиях производства пищевых продуктов с термической обработкой без утраты структурной и функциональной ценности [39,40]. К тому же, исходя из результатов работ по изучению гороховых, нутовых и рисовых белковых концентратов, полученных ферментативной экстракцией белков с использованием импортных ферментных препаратов, установлена взаимосвязь между вторичной структурой белков и функционально-технологическими свойствами концентратов [17,24]. Определено, например, что увеличение пенообразующей способности белков и снижение стабильности пены связано с высоким содержанием  $\beta$ -структур. Данный вывод подтверждается и результатами настоящей работы: в образце ферментативно-гидролизованного изолята, характеризующегося преобладанием  $\beta$ -структур, отмечено более высокое пенообразование (61%) и более низкая стабильность пены (77%). Для сравнения, у изолята, полученного щелочной экстракцией и содержащего в структуре белков преимущественно  $\alpha$ -спирали, эти показатели составили 45% и 86% соответственно.

Другим подходом для определения структурных изменений белка является соотношение интенсивности тирозина [36]. Дублет  $855$  и  $830 \text{ см}^{-1}$  возникает в результате резонанса Ферми. Соотношения интенсивности при  $850 \text{ см}^{-1}$  и  $830 \text{ см}^{-1}$  спектра Рамана можно использовать для мониторинга силы водородной связи фенольного гидроксила и полярности микроокружения вокруг остатков тирозина,

для характеристики его скрытых и открытых состояний (является он донором или акцептором водородной связи) [34]. Изменения, вызванные факторами денатурации, влияют на природу водородных связей и на изменение отношения интенсивности этого дублета. Когда  $I_{850}$  меньше  $I_{830}$ , это указывает на то, что в белке количество скрытых остатков тирозина выше, если  $I_{850}$  больше  $I_{830}$  — остатки тирозина переходят из «скрытого» в «открытое» состояние. В образце исходной гороховой муки  $I_{850}$  была меньше  $I_{830}$ , чем в изолятах и крахмало-белковым продукте, что говорит о тенденции к обнажению остатков тирозина при любом способе получения белковых изолятов. Соотношение  $I_{850}/I_{830}$  составило: для гороховой муки —  $0,746 \pm 0,073^b$ ; для ферментативно-гидролизованного изолята —  $1,449 \pm 0,135^a$ ; для изолята для сравнения —  $1,263 \pm 0,144$ ; для крахмало-белкового продукта —  $1,847 \pm 0,172^c$  (<sup>abc</sup> — значимые различия между образцами,  $p < 0,05$ ). Таким образом, образцы белковых изолятов, полученные разными способами, по соотношению  $I_{850}/I_{830}$  не имели существенных различий.

#### 4. Выводы

Выявлены особенности свойств и молекулярной структуры ферментативно-гидролизованного изолята и вторичного крахмало-белкового продукта, полученных с использованием отечественных карбогидраз («Амиллюкс-А», «Целлюлюкс-А», «Глюколюкс-А») и протеазы («Ацидолюкс-НП»). Обнаружена взаимосвязь структуры белков с их функционально-технологическими свойствами и биодоступностью.

Ферментативно-гидролизованный изолят содержал 94% белка. Он имел светло-кремовый оттенок, пористую структуру и слабый привкус гороха. По сравнению с изолятом, полученным традиционным способом (щелочной экстракцией), он характеризовался большей растворимостью (на 23,40%), более высокими пенообразующей (на 35,56%) и жиросвязывающей (на 33,48%) способностями, а также повышенной перевариваемостью белка *in vitro* (на 11,79%). Также было отмечено увеличение содержания  $\beta$ -изгибов в структуре белка (в 2,32 раза). Активность антипитательных веществ по сравнению с гороховой мукой была снижена в 5 раз.

Вторичный крахмало-белковый продукт содержал около 75% крахмала и 10% белка. Он отличался молочным оттенком, мучнистым вкусом со слабым привкусом гороха и расщепленной структурой без крупных белково-крахмальных комплексов (в сравнении с гороховой мукой). Продукт демонстрировал повышенную перевариваемость белков *in vitro* (на 2,81%), а также увеличение содержания  $\alpha$ -спиралей (на 67,90%) и  $\beta$ -изгибов (в 2,37 раза) при одновременном снижении количества  $\beta$ -слоя (в 10,12 раза). Кроме того, наблюдалось снижение активности антипитательных веществ.

На примере изолятов, полученных ферментативной и щелочной экстракцией, установлено, что увеличение пенообразующей способности белков и снижение стабильности пены взаимосвязано с высоким содержанием  $\beta$ -структур и со снижением количества  $\alpha$ -спиралей. Повышенная пористость крупных частиц белков ферментативно-гидролизованного изолята способствовала увеличению растворимости в воде и атакуемости ферментами желудочно-кишечного тракта (пепсин, трипсин), что увеличивало, соответственно, биодоступность изолята. С учетом достигнутых результатов, полученный ферментативной экстракцией российскими ферментами гороховый белковый изолят целесообразно рекомендовать в качестве легкоусвояемого белкового ингредиента в технологиях изготовления напитков на растительной основе, протеиновых коктейлей, продуктов питания с пенной системой (кексы, зефир, пастила, бисквиты, крема и т. д.), а вторичный крахмало-белковый продукт — в технологии изготовления экстракционных снеков.

Таблица 4. Содержание вторичных белковых структур в образцах, % от общего количества

Table 4. Content of secondary protein structures in samples, % of total amount

| Вторичные структуры       | Образец            |                                   |                             |                           |
|---------------------------|--------------------|-----------------------------------|-----------------------------|---------------------------|
|                           | Гороховая мука     | Изолят. Ферментативная экстракция | Изолят. Щелочная экстракция | Крахмало-белковый продукт |
| $\alpha$ -спирали         | $34,73 \pm 1,87^c$ | $22,67 \pm 1,15^a$                | $48,16 \pm 1,04^d$          | $58,31 \pm 2,64^b$        |
| $\beta$ -слой             | $43,82 \pm 2,36^c$ | $16,74 \pm 0,90^a$                | $17,86 \pm 0,88$            | $4,33 \pm 1,04^b$         |
| $\beta$ -изгибы           | $7,98 \pm 0,50^c$  | $44,13 \pm 3,89^a$                | $18,94 \pm 0,63^d$          | $33,47 \pm 3,13^b$        |
| Неупорядоченная структура | $13,46 \pm 1,02^c$ | $16,46 \pm 0,46^a$                | $15,04 \pm 0,49$            | $3,89 \pm 1,07^b$         |

Примечание: <sup>abcd</sup> — значимая разница между образцами ( $p < 0,05$ ).

## БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК / REFERENCES

- Урубков, С. А., Королёв, А. А., Смирнов, С. О. (2022). Разработка рецептур каш и крупяных продуктов для диетического профилактического питания. *Техника и технология пищевых производств*, 52(3), 536–544. [Urubkov, S. A., Korolev, A. A., Smirnov, S. O. (2022). Cereals and cereal products for dietary preventive nutrition. *Food Processing: Techniques and Technology*, 52(3), 536–544. (In Russian)] <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2022-3-2380>
- Ismail, B. P., Senaratne-Lenagala, L., Stube, A., Brackenridge, A. (2020). Protein demand: Review of plant and animal proteins used in alternative protein product development and production. *Animal Frontiers*, 10(4), 53–63. <https://doi.org/10.1093/af/vfaa040>
- Webber, J. (2023). How many CO2 emissions does the meat industry actually produce? Plant based news. Retrieved from: <https://plantbasednews.org/opinion/the-long-read/emissions-meat-industry> Accessed March 28, 2025.
- Экспертно-аналитический центр агробизнеса «АВ-Центр». (2024). Прогноз сборов гороха в России в 2024 году. Электронный ресурс: <https://ab-centre.ru/news/prognoz-sborov-goroha-v-rossii-v-2024-godu?ysclid=m8sn6qj9e598121550> Дата обращения: 28.03.2025. [Expert and analytical center of agribusiness «AB-Center». (2024). Forecast of pea harvests in Russia in 2024. Retrieved from: <https://ab-centre.ru/news/prognoz-sborov-goroha-v-rossii-v-2024-godu?ysclid=m8sn6qj9e598121550> Accessed March 28, 2025. (In Russian)]
- Куликов, Д. С., Королёв, А. А. (2025). Аспекты ферментативной модификации растительных белков. *Пищевые системы*, 8(1), 22–28. [Kulikov, D. S., Korolev, A. A. (2025). Aspects of enzymatic modification of plant proteins. *Food Systems*, 8(1), 22–28. (In Russian)] <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2024-8-1-22-28>
- Вебер, А. Л., Леонова, С. А. (2024). Изменения биологической и пищевой ценности зерна гороха и фасоли в результате его биоактивации. *Вестник МГУ. Труды Мурманского государственного технического университета*, 27(3), 282–293. [Veber, A. L., Leonova, S. A. (2024). Changes in the biological and nutritional value of pea and bean grains as a result of their bioactivation. *Vestnik of MSTU. Scientific Journal of Murmansk State Technical University*, 27(3), 282–293. (In Russian)] <https://doi.org/10.21443/1560-9278-2024-27-3-282-293>
- Samtiya, M., Aluko, R. E., Dhewa, T. (2020). Plant food anti-nutritional factors and their reduction strategies: an overview. *Food Production, Processing and Nutrition*, 2, Article 6. <https://doi.org/10.1186/s43014-020-0020-5>
- Khodaei, D., Noci, F., Ryan, L. (2025). Optimizing protein bars with whey protein isolate, pea protein isolate, and blue whitening (*Micromesistius poutassou*) fish protein hydrolysate: A simplex-centroid mixture design study. *Food Science and Nutrition*, 13, Article e4701. <https://doi.org/10.1002/fsn.3.4701>
- Leiva-Castro, B., Mamani-Benavente, L., Elías-Peñafiel, C., Comettant-Rabanal, R., Silva-Paz, R., Olivera-Montenegro, L. et al. (2025). Andean pseudocereal flakes with added pea protein isolate and banana flour: Evaluation of physical – chemical, microstructural, and sensory properties. *Foods*, 14, Article 620. <https://doi.org/10.3390/foods14040620>
- Öztürk, Z., Lille, M., Rosa-Sibakov, N., Sozer, N. (2024). Impact of heat treatment and high moisture extrusion on the *in vitro* protein digestibility of sunflower and pea protein ingredients. *LWT*, 214, Article 117133. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2024.117133>
- Wójcik, M., Różyło, R., Schönlechner, R., Berger, M.V. (2021). Physico-chemical properties of an innovative gluten-free, low-carbohydrate and high protein-bread enriched with pea protein powder. *Scientific Reports*, 11(1), Article 14498. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-93834-0>
- Nguyen, N. P. M., Marzec, A. (2024). Effect of microwave–vacuum drying and pea protein fortification on pasta characteristics. *Processes*, 12(11), Article 2508. <https://doi.org/10.3390/pr12112508>
- Bustillos, M. A., Jonchère, C., Garnier, C., Réguerre, A. L., Valle, G. D. (2020). Rheological and microstructural characterization of batters and sponge cakes fortified with pea proteins. *Food Hydrocolloids*, 101, Article 105553. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.105553>
- Колпакова, В. В., Куликов, Д. С., Гулакова, В. А., Уланова, Р. В., Бессонов, В. В. (2024). Кисломолочный продукт функционального назначения с гороховым концентратом. *Пищевая промышленность*, 6, 126–132. [Kolpakova, V. V., Kulikov, D. S., Gulakova, V. A., Ulanova, R. V., Bessonov, V. V. (2024). Fermented milk product for functional purposes with peas concentrate. *Food Industry*, 6, 126–132. (In Russian)] <https://doi.org/10.52653/PPI.2024.6.6.026>
- Plattner, B. J., Hong, S., Li, Y., Talavera, M. J., Dogan, H., Plattner, B. S. et al. (2024). Use of pea proteins in high-moisture meat analogs: physicochemical properties of raw formulations and their texturization using extrusion. *Foods*, 13(8), Article 1195. <https://doi.org/10.3390/foods13081195>
- Hanley, L., Dobson, S., Stobbs, J., Marangoni, A. G. (2025). Physicochemical and functional characterization of plant protein isolates and their influence on plant-based mozzarella cheese performance. *Food Hydrocolloids*, 164, Article 111222. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2025.111222>
- Колпакова, В. В., Уланова, Р. В., Куликов, Д. С., Гулакова, В. А., Семенов, Г. В., Шевякова, Л. В. (2022). Показатели качества гороховых и нутовых белковых концентратов. *Техника и технология пищевых производств*, 52(4), 650–664. [Kolpakova, V. V., Ulanova, R. V., Kulikov, D. S., Gulakova, V. A., Semenov, G. V., Shevjakova, L. V. Pea and chickpea protein concentrates: Quality indicators. *Food Processing: Techniques and Technology*, 52(4), 649–664. (In Russian)] <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2022-4-2394>
- Ma, K., Greis, M., Lu, J., Nolden, A., McClements, D., Kinchla, A. (2022). Functional performance of plant proteins. *Foods*, 11, Article 594. <https://doi.org/10.3390/foods11040594>
- Shevkani, K., Singh, N., Chen Y., Kaur, A., Yu, L. (2019). Pulse proteins: Secondary structure, functionality and applications. *Journal of Food Science and Technology*, 56, 2787–2798. <https://doi.org/10.1007/s13197-019-03723-8>
- Nasrabadi, M. N., Doost, A. S., Mezzenga, R. (2021). Modification approaches of plant-based proteins to improve their techno-functionality and use in food products. *Food Hydrocolloids*, 118, Article 106789. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2021.106789>
- Lu, Z. X., He, J. F., Zhang, Y. C., Bing, D. J. (2020). Composition, physicochemical properties of pea protein and its application in functional foods. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 60(15), 2593–2605. <https://doi.org/10.1080/10408398.2019.1651248>
- Kravchenko, I. V., Furalyov, V. A., Kostyleva, E. V., Sereda, A. S., Kurbatova, E. I., Tsurikova, N. V. et al. (2024). Effect of different classes of proteases on the techno-functional properties of pea protein isolates. *Applied Biochemistry and Microbiology*, 60, 106–117. <https://doi.org/10.1134/S00035683824010085>
- Kravchenko, I. V., Furalyov, V. A., Pshennikova, E. S., Kostyleva, E. V., Sereda, A. S., Kurbatova, E. I. et al. (2024). The effect of various domestically produced proteolytic enzyme preparations on the organoleptic properties of pea protein isolates. *Applied Biochemistry and Microbiology*, 60(4), 656–662. <https://doi.org/10.1134/S00035683824604355>
- Колпакова, В. В., Фан, К. Ч., Гайворонская, И. С., Чумикина, Л. В. (2023). Свойства и структурные особенности белков нативных и модифицированных концентратов из белого и коричневого риса. *Пищевые системы*, 6(3), 317–328. [Kolpakova, V. V., Fan, Q. Ch., Gaivoronskaya, I. S., Chumikina, L. V. (2023). Properties and structural features of native and modified proteins of concentrates from white and brown rice. *Food Systems*, 6(3), 317–328. (In Russian)] <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2023-6-3-317-328>
- Дегтярев, И. А., Гаравири, М., Фоменко, И. А., Вострикова, Н. Л., Машенцева, Н. Г. (2025). Сравнение функционально-технологических свойств и аминокислотного состава изолятов белка растительного происхождения. *Вестник КрасГАУ*, 2(215), 202–215. [Degtyarev, I. A., Garaviri, M., Fomenko, I. A., Vostrikova, N. L., Mashentseva, N. G. (2025). Comparison of functional and technological properties and amino acid composition of protein isolates of plant origin. *Bulliten KrasSAU*, 2(215), 202–215. (In Russian)] <https://doi.org/10.36718/1819-4036-2025-2-202-215>
- Василевская, Е. Р., Арузина, М. А., Ахремко, А. Г. (2022). Биоконверсия *in vitro*: сравнение мультиферментных систем INFOGEST 2.0 и протокола Покровского-Ертанова. *Все о мясе*, 6, 44–49. [Vasilevskaya, E. R., Aruzina, M. A., Akhremko, A. G. (2022). *In vitro* bioconversion: Comparison of multi-enzyme systems INFOGEST 2.0 and Pokrovkiy-Ertanov protocol. *Vsyo o Myase*, 6, 44–49. (In Russian)] <https://doi.org/10.21323/2071-2499-2022-6-44-49>
- Zhao, H., Shen, C., Wu, Z., Zhang, Z., Xu, C. (2020). Comparison of wheat, soybean, rice, and pea protein properties for effective applications in food products. *Journal of Food Biochemistry*, 44, Article e13157. <https://doi.org/10.1111/jfbc.13157>
- Lv, T., Wang, Y., Pan, D., Cao, J., Zhang, X., Sun, Y., et al. (2017). Effect of trypsin treatments on the structure and binding capacity of volatile compounds of myosin. *Food Chemistry*, 214, 710–716. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.07.115>
- Jeong, M.-S., Cho, S.-J. (2024). Effect of pH-shifting on the water holding capacity and gelation properties of mung bean protein isolate. *Food Research International*, 177, Article 113912. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2023.113912>
- Stawoska, I., Wesełucha-Birczyńska, A., Skoczowski, A., Dziurka, M., Waga, J. (2021). FT-Raman spectroscopy as a tool to study the secondary structures of wheat gliadin proteins. *Molecules*, 26(17), Article 5388. <https://doi.org/10.3390/molecules26175388>
- Wiercigroch, E., Szafranec, E., Czamara, K., Pacia, M. Z., Majzner, K., Kochan, K. et al. (2017). Raman and infrared spectroscopy of carbohydrates: A review. *Spectrochimica Acta. Part A, Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 185, 317–335. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2017.05.045>
- Volant, C., Gilet, A., Beddiaf, F., Collinet-Fressancourt, M., Falourd, X., Descamps, N. et al. (2020). Multiscale structure of starches grafted with hydrophobic groups: A new analytical strategy. *Molecules*, 25(12), Article 2827. <https://doi.org/10.3390/molecules25122827>
- Hunt, N. T. (2024). Using 2D-IR spectroscopy to measure the structure, dynamics, and intermolecular interactions of proteins in H<sub>2</sub>O. *Accounts of Chemical Research*, 57(5), 685–692. <https://doi.org/10.1021/acs.accounts.3c00682>
- Yu, D., Zhang, X., Zou, W., Tang, H., Yang, F., Wang, L. et al. (2021). Raman spectroscopy analysis of the effect of electrolysis treatment on the structure of soy protein isolate. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 15, 1294–1300. <https://doi.org/10.1007/s11694-020-00716-6>
- Guo, J., Jiang, S., Lu, B., Zhang, W., Zhang, Y., Hu, X. et al. (2025). Exploring the potential of microscopic hyperspectral, Raman, and LIBS for nondestructive quality assessment of diverse rice samples. *Plant Methods*, 21(1), Article 25. <https://doi.org/10.1186/s13007-025-01345-0>
- Kuhar, N., Sil, S., Umaphathy, S. (2021). Potential of Raman spectroscopic techniques to study proteins. *Spectrochimica Acta. Part A, Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 258, Article 119712. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2021.119712>
- Nawrocka, A., Krekora, M., Niewiadomski, Z., Szymańska-Chargot, M., Krawęcka, A., Sobota, A., Miś, A. (2020). Effect of moisturizing pre-treatment of dietary fibre preparations on formation of gluten network during model dough mixing – A study with application of FT-IR and FT-Raman spectroscopy. *LWT*, 121, Article 108959. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.108959>
- Fernández Sosa, E. I., Chaves, M. G., Quiroga, A. V., Avanza, M. V. (2021). Comparative study of structural and physicochemical properties of pigeon pea (*Cajanus cajan* L.) protein isolates and its major protein fractions. *Plant Foods for Human Nutrition*, 76, 37–45. <https://doi.org/10.1007/s11130-020-00871-7>
- Wang, D., Du, H., Dang, X., Zhao, Y., Zhang, J., Liu, R. et al. (2024). Enzymatic hydrolysis processing of soybean meal altered its structure and *in vitro* protein digestive dynamics in pigs. *Frontiers in Veterinary Science*, 11, Article1503817. <https://doi.org/10.3389/fvets.2024.1503817>
- Parmar, N., Singh, N., Kaur, A., Virdi, A., Shevkani, K. (2017). Protein and microstructure evaluation of harder-to-cook and easy-to-cook grains from different kidney bean accessions. *LWT- Food Science and Technology*, 79, 487–495. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.01.027>

| СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ   | AUTHOR INFORMATION  |
|---|---|
| <b>Принадлежность к организации</b>   | <b>Affiliation</b>  |
| <p><b>Куликов Денис Сергеевич</b> — кандидат технических наук, старший научный сотрудник, лаборатория процессов и оборудования консервного производства, Всероссийский научно-исследовательский институт технологии консервирования<br/>142703, Московская область, Видное, ул. Школьная, 78<br/>Тел.: +7-903-709-81-23<br/>E-mail: d.kulikov@fncps.ru<br/>ORCID: <a href="https://orcid.org/0000-0003-2171-0522">https://orcid.org/0000-0003-2171-0522</a><br/>* автор для контактов</p> | <p><b>Denis S. Kulikov</b>, Candidate of Technical Sciences, Senior Researcher, Laboratory of Processes and Equipment for Canning Production, Russian Research Institute of Canning Technology<br/>78, Shkol'naya str., 142703, Vidnoe, Moscow region, Russia<br/>Tel.: +7-903-709-81-23<br/>E-mail: d.kulikov@fncps.ru<br/>ORCID: <a href="https://orcid.org/0000-0003-2171-0522">https://orcid.org/0000-0003-2171-0522</a><br/>* corresponding author</p> |
| <p><b>Королев Алексей Александрович</b> — кандидат технических наук, ведущий лабораторией процессов и оборудования консервного производства, Всероссийский научно-исследовательский институт технологии консервирования<br/>142703, Московская область, Видное, ул. Школьная, 78<br/>Тел.: +7-926-113-19-08<br/>E-mail: a.korolev@fncps.ru<br/>ORCID: <a href="http://orcid.org/0000-0002-7144-2522">http://orcid.org/0000-0002-7144-2522</a></p>   | <p><b>Alexey A. Korolev</b>, Candidate of Technical Sciences, Head of the Laboratory of Processes and Equipment for Canning Production, Russian Research Institute of Canning Technology<br/>78, Shkol'naya str., 142703, Vidnoe, Moscow region, Russia<br/>Tel.: +7-926-113-19-08<br/>E-mail: a.korolev@fncps.ru<br/>ORCID: <a href="http://orcid.org/0000-0002-7144-2522">http://orcid.org/0000-0002-7144-2522</a></p>                                    |
| <p><b>Пчелкина Виктория Александровна</b> — кандидат технических наук, ведущий научный сотрудник, Экспериментальная клиника-лаборатория биологически активных веществ животного происхождения, Федеральный научный центр пищевых систем им. В. М. Горбатова<br/>109316, Москва, ул. Талалихина, 26<br/>Тел.: +7-495-676-95-11 (242)<br/>Email: v.pchelkina@fncps.ru<br/>ORCID: <a href="http://orcid.org/0000-0001-8923-8661">http://orcid.org/0000-0001-8923-8661</a></p>                | <p><b>Viktoriya A. Pchelkina</b>, Candidate of Technical Sciences, Leading Researcher, Experimental Clinic-Laboratory of Biologically Active Substances of Animal Origin, V. M. Gorbatov Federal Research Center for Food Systems<br/>26, Talalikhin str., 109316, Moscow, Russia<br/>Tel.: +7-495-676-95-11 (242)<br/>Email: v.pchelkina@fncps.ru<br/>ORCID: <a href="http://orcid.org/0000-0001-8923-8661">http://orcid.org/0000-0001-8923-8661</a></p>   |
| <b>Критерии авторства</b>   | <b>Contribution</b>   |
| <p>Авторы в равных долях имеют отношение к написанию рукописи и одинаково несут ответственность за плагиат.</p>   | <p>The authors are equally involved in writing the manuscript and are equally responsible for plagiarism.</p>   |
| <b>Конфликт интересов</b>   | <b>Conflict of interest</b>   |
| <p>Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.</p>   | <p>The authors declare no conflict of interest.</p>   |