

Научная статья/Research article

УДК 633.522:665.939.14:66.061.34:66.065.2

DOI: 10.36718/1819-4036-2025-12-306-318

Валентин Игоревич Ущачовский^{1✉}, Любовь Анатольевна Зайцева²,

Ирина Эдуардовна Миневиц³

^{1,2,3}ФНЦ лубяных культур, Тверь, Россия

¹v.uschapovsky@fncl.ru

²l.zaitzeva@fncl.ru

³i.minevich@fncl.ru

ВЫДЕЛЕНИЕ БЕЛКА СЕМЯН КОНОПЛИ ИЗ ЭКСТРАКТА: СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ СПОСОБОВ

Цель исследования – изучить эффективность различных способов осаждения белка семян технической конопли из экстракта для последующего масштабирования процесса. Объект исследования – белковые продукты, выделенные путем осаждения из экстрактов конопляного жмыха и конопляной муки. Жмых и муку дополнительно обезжиривали для удаления липидов. Извлечение белковых продуктов проводили методом щелочной экстракции жмыха и муки с последующим осаждением целевого продукта из раствора, отделенного центрифугированием от сырья. Для изучения эффективности способов выделения белка из экстракта осаждение проводили: в 3-кратном избытке этанола, при изоэлектрической точке, обработкой трихлоруксусной кислотой и с использованием молочнокислых бактерий с целью снижения pH. Физико-химические свойства исходного сырья, белковых экстрактов и целевых продуктов определяли с помощью стандартных методов. Выход белка в экстракт из конопляной муки составил 19,5 %, а из жмыха – 21,8 %. Зарегистрированные УФ-спектры на спектрофотометре ПЭ-5400 УФ («Экротех», Россия) показали широкий пик поглощения с максимумом в районе 280 нм как в белковых экстрактах, так и в надосадочных жидкостях, что свидетельствует о присутствии белковых компонентов даже после осаждения целевых белковых продуктов. При осаждении с использованием молочнокислых бактерий кислотонакопление у экстракта из конопляного жмыха достигло более низкого уровня pH по сравнению с экстрактом из конопляной муки – 5,0 и 5,6 соответственно. Максимальный выход белка из экстракта жмыха достиг при осаждении в изоэлектрической точке (80,5 %), из экстракта муки – при спиртовом осаждении (83,4 %). Содержание белка в целевых продуктах из муки и жмыха варьировало в пределах 69,3–74,1 и 48,7–75,1 % соответственно.

Ключевые слова: семена конопли, растительные белки, белковый экстракт, экстракция, способы осаждения белка, коагуляция

Для цитирования: Ущачовский В.И., Зайцева Л.А., Миневиц И.Э. Выделение белка семян конопли из экстракта: сравнительный анализ способов // Вестник КрасГАУ. 2025. № 12. С. 306–318. DOI: 10.36718/1819-4036-2025-12-306-318.

Финансирование: работа выполнена при поддержке Минобрнауки РФ в рамках государственного задания ФГБНУ ФНЦ ЛК (FGSS-2022-0007).

Valentin Igorevich Ushchapovskiy^{1✉}, Lyubov Anatolievna Zaytseva², Irina Eduardovna Minevich³

^{1,2,3}FSC for Bast Crops, Tver, Russia

¹v.uschapovsky@fncl.ru

²l.zaitzeva@fncl.ru

³i.minevich@fncl.ru

HEMP SEED PROTEIN ISOLATION FROM EXTRACTS: A COMPARATIVE ANALYSIS OF METHODS

The aim of the study is to evaluate the effectiveness of various methods for precipitating industrial hemp seed protein from extracts for subsequent process scaling. The study focused on protein products isolated by precipitation from hempseed cake and flour extracts. The cake and flour were additionally defatted to remove lipids. Protein products were extracted by alkaline extraction of the cake and flour, followed by precipitation of the target product from the solution separated from the raw material by centrifugation. To assess the effectiveness of protein extraction methods from the extract, precipitation was performed in a 3-fold excess of ethanol, at the isoelectric point, by treatment with trichloroacetic acid, and using lactic acid bacteria to lower the pH. The physicochemical properties of the raw material, protein extracts, and target products were determined using standard methods. The protein yield in the extract from hemp flour was 19.5 %, and from the cake, 21.8 %. UV spectra recorded on a PE-5400 UV spectrophotometer (Ekroskhim, Russia) revealed a broad absorption peak with a maximum near 280 nm in both protein extracts and supernatants, indicating the presence of protein components even after precipitation of the target protein products. During precipitation using lactic acid bacteria, acid accumulation in the hemp cake extract reached a lower pH compared to the hemp flour extract: 5.0 and 5.6, respectively. The maximum protein yield from the cake extract was achieved during precipitation at the isoelectric point (80.5 %), and from the flour extract – during alcohol precipitation (83.4 %). The protein content in the target flour and cake products ranged from 69.3–74.1 and 48.7–75.1 %, respectively.

Keywords: hemp seeds, plant proteins, protein extract, extraction, protein precipitation methods, coagulation

For citation: Ushchapovskiy VI, Zaytseva LA, Minevich IE. Hemp seed protein isolation from extracts: a comparative analysis of methods. *Bulletin of KSAU*. 2025;(12):306-318. (In Russ.). DOI: 10.36718/1819-4036-2025-12-306-318.

Funding: the work was supported by the Ministry of Education and Science of the Russian Federation under the state assignment of the Federal State Budgetary Scientific Institution Federal Scientific Center for Bast Crops (FGSS-2022-0007).

Введение. Конопля техническая, также известная как *Cannabis sativa* L., представляет собой универсальное растение, устойчивое к засухе, которое культивируется на протяжении многих веков. Исторически коноплю выращивали для различных целей – использования в текстильной, строительной, пищевой, медицинской и других отраслях промышленности (рис. 1).

Техническая конопля	Семена	Пищевая промышленность: получение масла, белка, использование чистых ядер в качестве пищевой добавки
		Использование жмыха и шрота в комбикормах
	Волокно	Косметическая промышленность: использование масла в кремах и сыворотках
		Производство текстиля
	Костра	Использование в качестве технического волокна
		Создание строительных материалов: картон, наполнитель, костробетон, изоляция
Корни	Листья и соцветия	Фармацевтическая промышленность: получение биологически-активных веществ
	Корни	Использование в качестве удобрения почвы

Рис.1. Основные направления использования технической конопли
Main applications of industrial hemp

Рыночный потенциал технической конопли широк и разнообразен. Она характеризуется стабильно высокой урожайностью независимо от климатических условий, ее включение в севооборот способствует улучшению почвенной экосистемы (поглощает токсины, разрыхляет почву), все части культуры обладают своим оздоровительным действием. Это растение связывает углекислый газ эффективнее, чем традиционные сельскохозяйственные культуры, и в 3–5 раз больше, чем хвойные растения [1].

В настоящее время в России, как и в большинстве других стран мира, к выращиванию и культивированию в промышленных целях разрешено использовать сорта технической конопли. В нашей стране допускаются лишь такие сорта, в сухой массе листьев и соцветий верхних частей которых массовая доля психоактивного соединения δ -9-тетрагидроканнабинола (ТГК) не превышает 0,1 % (постановление Правительства РФ от 06.02.2020 № 101). Семена конопли, в которых ТГК, как и другие каннабиноиды, почти отсутствуют, традиционно используются как источник масла, белка или клетчатки.

При переработке семян масличных в первую очередь получают масло, после которого остается значительное количество вторичного сырья. После извлечения масла из семян технической конопли методом холодного прессования количество побочного продукта – жмыха составляет около 65 % [2]. Жмых конопляного семени является экологически чистым и перспективным источником белка, обогащенным биологически активными соединениями и клетчаткой. Данный продукт является ценным сырьем из-за высокого содержания белка – порядка 30–50 % [3]. Целое конопляное семя обычно содержит 20–28 % белка, а конопляная мука – 30–48 % [4–6].

Использование жмыха и шрота семян масличных культур, как правило, сводится к применению их в качестве кормовой добавки для сельскохозяйственных животных, что не отражает их полного потенциала. При этом белок семян конопли содержит весь спектр незаменимых аминокислот, которые необходимы человеку. Лимитирующей аминокислотой в белке семян конопли является лизин, аминокислотный скор которого составляет 67 % от эталонного белка по шкале ФАО/ВОЗ [7]. Остальные незаменимые аминокислоты присутствуют в количествах, достаточных для необходимого минимума, что делает белок семян конопли ценным источником питания, особенно в сочетании с другими белками, богатыми лизином.

В связи с ростом производства технической конопли (по данным Росстата посевные площади в РФ выросли с 10 до 16 тыс. гектар с 2019 по 2024 г.) и высоким содержанием полноценного белка в семенах технической конопли и продуктах их переработки, таких как жмых и мука, исследования этих сырьевых ресурсов являются актуальными. Перспективным направлением является получение белковых продуктов из жмыха и шрота. При этом процессы переработки, включающие различные физические, химические и биологические методы, играют решающую роль в сохранении функциональных свойств нативного белка.

Для получения концентрированных белковых продуктов (изолятов, концентратов) с целью их использования в качестве пищевого ингредиента проводят процессы экстракции с последующим осаждением белка из экстракта. Наиболее популярные методы получения белка из продуктов переработки семян конопли представлены на рисунке 2 [8].



Рис. 2. Методы извлечения белковых продуктов из жмыха или шрота семян технической конопли
Protein extraction methods from industrial hemp seed cake or meal

Щелочная экстракция с последующим осаждением белка в изоэлектрической точке является наиболее распространенным методом выделения белка из вторичных продуктов переработки семян масличных культур благодаря своей простоте и экономической эффективности [3, 9]. Экстракция в щелочной среде позволяет достичь значительного выхода белка, так как высокий pH способствует разрушению клеточных стенок растений, что обеспечивает высвобождение белков [10]. Нерастворимые компоненты удаляют с помощью центрифугирования или фильтрации, в результате чего белковые молекулы остаются в растворе. Выделение белка из щелочного экстракта проводится путем его осаждения в изоэлектрической точке. Изоэлектрическая точка определяется соотношением карбоксильных (COOH) и аминных (NH₂) групп в составе молекулы белка и является индивидуальной характеристикой белка. Для белков семян технической конопли изоэлектрическая точка находится в диапазоне от 5,0 до 6,0 [11, 12]. Поскольку осаждение белка в изоэлектрической точке с использованием минеральных кислот может привести к его частичной денатурации и потере функциональных свойств [13], вызывают интерес и другие способы осаждения белков.

Так, при осаждении белков используют органические растворители (метанол, этанол или ацетон), которые приводят к снижению диэлектрической проницаемости раствора и электростатическим взаимодействиям между противоположно заряженными участками молекул белка, что способствует агрегации белковых молекул и последующему их осаждению [14]. Однако стоит учитывать, что спирты и другие органические растворители дестабилизируют белки и могут денатурировать их при высокой концентрации или при высоких температурах в связи с взаимодействием с гидрофобными группами молекул белка [15]. Путем подбора типа и концентрации растворителя при осаждении с использованием органических растворителей можно добиться высоких показателей выхода определенного белка с сохранением его функциональных свойств. Так, этанол в качестве осадителя более приемлем при осаждении белков в отличие от метанола или ацетона, так как он менее токсичен и вызывает меньшую денатурацию белка.

Помимо использования органических или минеральных кислот с целью осаждения белка из

экстракта можно использовать процесс ферментации для достижения значений изоэлектрической точки. Ферментация заключается в модификации продуктов микроорганизмами (бактериями, плесенью или дрожжами), которые растут и потребляют часть субстратов и обогащают их продуктами своего метаболизма [16]. В пищевой промышленности ферментация в виде анаэробной переработки органического сырья с микроорганизмами называется брожением. Часто применяют молочнокислое, спиртовое, уксуснокислое или лимоннокислое брожение. В связи с тем, что молочнокислые бактерии традиционно ассоциированы с ферментацией пищевых продуктов и обычно считаются благоприятными микроорганизмами, их можно также использовать для достижения необходимой pH, т. е. снижения pH экстракта до изоэлектрической точки исследуемых белков. Кроме того, молочная кислота, которая образуется в процессе ферментации, т. е. потребления углеводов бактериями семейства *Lactobacillaceae* и *Streptococcaceae*, делает продукт более стойким при хранении, так как при кислой реакции подавляется развитие патогенной микрофлоры. Исследования последних лет показывают, что ферментация с использованием молочнокислых бактерий может использоваться как один из способов получения растительных белков [16–19].

Цель исследования – изучить эффективность различных способов осаждения белка семян технической конопли из экстракта для последующего масштабирования процесса.

Задачи: оценить эффективность щелочной экстракции белка из конопляной муки и жмыха; провести сравнительный анализ результатов осаждения белка из экстракта с использованием различных коагуляционных способов.

Объекты и методы. В качестве сырья использовали жмых и муку из семян технической конопли. Конопляный жмых из семян сорта Гляна, год производства 2024, был предоставлен компанией «Конопель» (Мордовия). Конопляная мука, изготовленная ИП Андреев Евгений Николаевич, была приобретена в торговой розничной сети.

Используемое сырье дополнительно обезжиривали для удаления липидов и повышения в нем концентрации белка. Для этого сырье обрабатывали гексаном (хч) в течение 2 ч при температуре 60 °C (3 цикла).

Экстракцию белковых веществ из жмыха и муки семян конопли проводили в щелочной среде при $\text{pH} = 10$, температуре $45\text{ }^{\circ}\text{C}$ в течение 2,0 ч при постоянном перемешивании. В качестве экстрагента использовали дистиллированную воду с соотношением сырья к воде 1 : 15. Сырье из полученных растворов удаляли центрифугированием при 4000 об/мин в течение 10 мин.

Выделение белка из экстракта проводили следующими способами:

- спиртовое осаждение в 3-кратном избытке этанола;
- осаждение при изоэлектрической точке (ИЭТ осаждение) (с использованием 0,1–0,3 н. растворов HCl);
- обработка трихлоруксусной кислотой (ТХУК, 5 %-й раствор);
- использование молочнокислых бактерий (МКБ) с целью снижения pH . Для молочнокислой ферментации использовали живые бактерии *Lactococcus lactis subsp. Lactis*, *Lactococcus lactis subsp. Cremoris*, *Lactococcus lactis subsp. lactis biovar. diacetylactis* в количестве $1 \cdot 10^9$ КОЕ на навеску сухого сырья массой 30 г.

После обработки все экстракты оставляли на 16 ч при температуре $5\text{ }^{\circ}\text{C}$ для коагуляции белка. Белковый продукт отделяли центрифугиро-

ванием при 4000 об/мин в течение 20 мин. Далее отделенный влажный белковый продукт сушили при температуре $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ в течение 6 ч.

В супернатанте (надосадочные жидкости после отделения белка из экстракта) определяли содержание белка.

Определение содержания белка проводили согласно ГОСТ 10846-91, массовой доли жира – по ГОСТ 10857-64, доли влаги – по ГОСТ 10856-96, доли общей золы – по ГОСТ 13979.6-69, общее содержание углеводов рассчитывали по разности масс. Сухой остаток экстрактов определяли гравиметрическим методом. Размеры частиц и их распределение по крупности определяли ситовым методом с использованием стандартных сит.

Для белковых экстрактов и надосадочных жидкостей регистрировали спектры поглощения на спектрофотометре ПЭ-5400 УФ («Экротим», Россия) с помощью программы SC5400 в диапазоне длин волн 190–400 нм и шаге сканирования 0,1 нм. Измерения проводили в стандартной кварцевой кювете с длиной оптического пути 10 мм.

Результаты и их обсуждение. Используемое в работе конопляное сырье после обезжиривания представлено на рисунке 3.

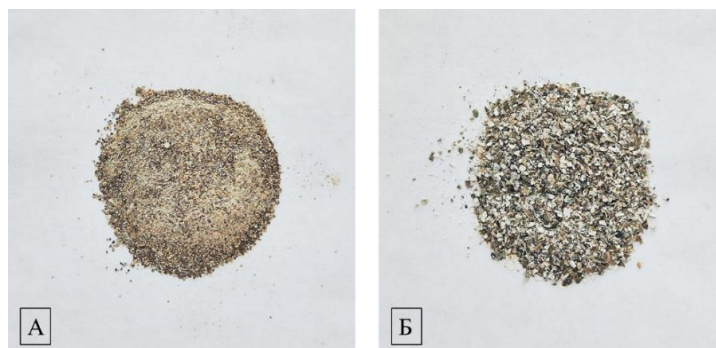


Рис. 3. Мука (А) и жмых (Б) семян конопли после обезжиривания
Defatted hemp seed flour (А) and defatted hemp seed cake (Б) after lipid removal

На рисунке 3 видно, что исходное сырье отличалось размером частиц. По данным гранулометрического анализа в обезжиренной муке основную долю составляют частицы диаметром от 0,25 до 0,50 мм, а у жмыха – от 0,50 до 1,60 мм (рис. 4, А). Частицы материала по размеру характеризуются почти равномерным распределением у обезжиренной конопляной муки: 64,0 % частиц имеют размер более 0,25 мм и 36,0 % – менее 0,25 мм (рис. 4, Б). В обезжиренном конопляном жмыхе преобладают крупные частицы, 73,5 % из них имеют размер бо-

лее 0,50 мм и лишь 26,5 % – менее 0,50 мм. Таким образом, мука и жмых отличаются по крупности и распределению частиц материала. Мука содержит более мелкие частицы с относительно равномерным распределением до 0,50 мм и преобладанием фракции 0,25 мм, тогда как жмых в основном состоит из более крупных частиц до 1,60 мм, среди которых преобладают частицы около 0,50 мм.

Компонентный состав используемого сырья представлен в таблице 1.

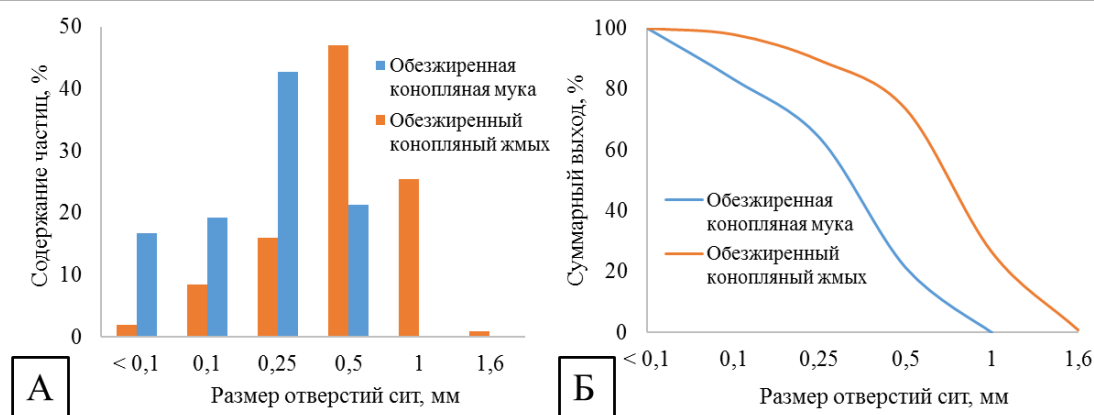


Рис. 4. Распределение частиц по размерам в муке и жмыхе
Particle size distribution in hemp seed flour and cake

Таблица 1

Показатели обезжиренного жмыха и муки семян конопли, %
Composition of defatted hemp seed cake and flour (in %)

Сырье	Белок	Жир	Зольность	Влажность	Углеводы*
Конопляная мука обезжиренная	25,8±1,2	2,4±0,1	8,4±0,4	4,8±0,2	58,6±2,9
Конопляный жмых обезжиренный	36,0±1,8	1,2±0,1	8,5±0,4	5,6±0,2	48,7±2,4

Примечание: * – включая клетчатку и сахара.

Используемое сырье отличалось содержанием белка: в жмыхе – 36,0 %, в муке – 25,8 %.

Белковые экстракты получали при проведении щелочной экстракции. Как следует из данных, представленных в таблице 2, из обезжи-

ренных продуктов переработки семян конопли в экстракт выходит порядка 20 % белка: из конопляной муки – 18,9 %, из конопляного жмыха – 22,5 %.

Таблица 2

Характеристика белковых экстрактов
Characteristics of protein extracts

Сырье	Содержание в экстракте, %		Белок в сухом веществе экстракта, %	Выход белка в экстракт, %
	Экстрактивные вещества	Белок		
Конопляная мука обезжиренная	1,12±0,05	0,39±0,01	33,78±1,68	18,94±0,94
Конопляный жмых обезжиренный	1,71±0,08	0,71±0,03	42,58±2,10	22,45±1,12

Различия в результатах экстракции (содержание в экстракте экстрактивных веществ, белка и его выход из сырья) могут быть связаны как с изначальным содержанием белка в используемом сырье, компонентным составом, так и со структурой самого сырья – размером частиц и их однородностью. Мука имеет частицы меньшего размера, что улучшает извлечение белка в

экстракт за счет большей удельной поверхности. Разница в показателях выхода белка между мукой и жмыхом определяется характеристиками сырья.

При проведении МКБ осаждения определяли изменение pH среды во времени под действием микроорганизмов, характеризующее динамику кислотонакопления (рис. 5).

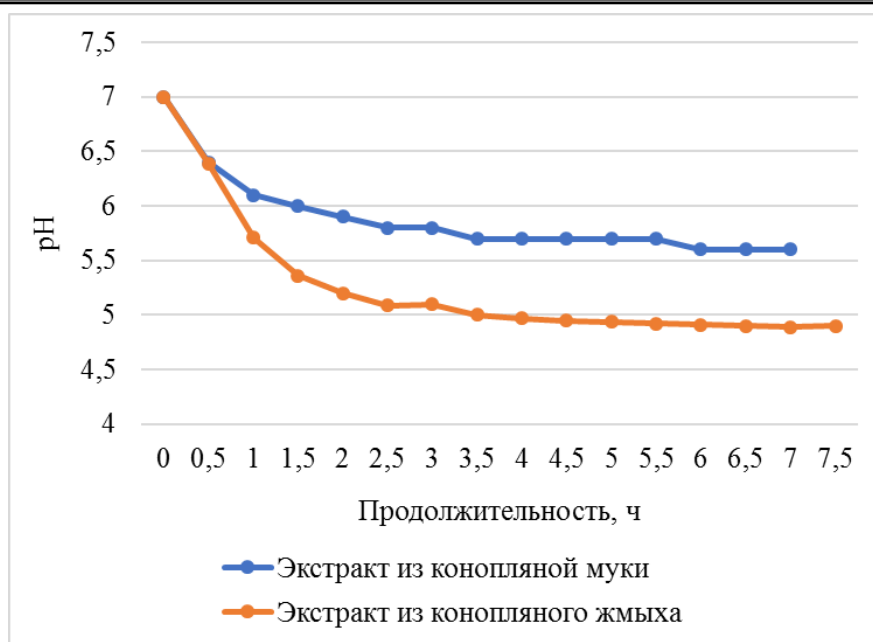


Рис. 5. Динамика кислотонакопления при коагулировании конопляного белка молочнокислыми бактериями
Changes in acidity during hemp protein coagulation with lactic acid bacteria

Используемые молочнокислые бактерии семейства *Lactobacillaceae* эффективно ферментируют большинство углеводов, производя молочную кислоту как основной продукт брожения. Они способны сбраживать не только лактозу, но и такие сахара, как сахароза, глюкоза и галактоза. Сахароза представляет собой наиболее распространенный растворимый углевод в семенах конопли [20]. В исследуемых белковых экстрактах, в которых белки были извлечены совместно с углеводами, сахароза выступала субстратом для выработки молочной кислоты молочнокислыми бактериями. Вырабатываемые микроорганизмами органические кислоты равномерно и мягко снижали кислотность раствора. На рисунке 5 видно, что экстракт из конопляного жмыха достиг более низкого уровня pH по сравнению с экстрактом из конопляной муки: кислотонакопление прекращалось при pH = 5,6 для муки и при pH = 5,0 для жмыха. Возможно, различия в компонентном составе субстратов повлияли на интенсивность метаболизма молочнокислых организмов и уровень выработки ими органических кислот.

Наибольшая активность используемых микроорганизмов наблюдалась в течение первых 3,5 ч ферментации, о чем свидетельствует рез-

кое снижение pH экстрактов. По истечении этого времени снижение pH замедлялось, графики вышли на горизонтальное плато, что указывает на снижение и/или практически прекращение метаболической деятельности молочнокислых бактерий. Скорость выработки кислоты может зависеть от используемых штаммов молочнокислых бактерий [21]. При этом стоит отметить, что большее снижение pH при ферментации экстракта из жмыха свидетельствует о более высокой метаболической активности молочнокислых бактерий, чем при ферментации экстракта из муки. Вероятно, это обусловлено более высоким содержанием питательных веществ, в частности концентрацией ферментируемых углеводов и степенью их доступности в жмыхе, создающим благоприятные условия для жизнедеятельности микроорганизмов. Таким образом, биохимический состав исходного сырья, особенно его углеводный профиль, влияет на эффективность ферментации, а, следовательно, и осаждения белков способом МКБ.

Анализ эффективности различных способов осаждения белка из конопляных экстрактов (рис. 6) показал различия, обусловленные как типом исходного сырья (мука или жмых), так и используемым способом осаждения.

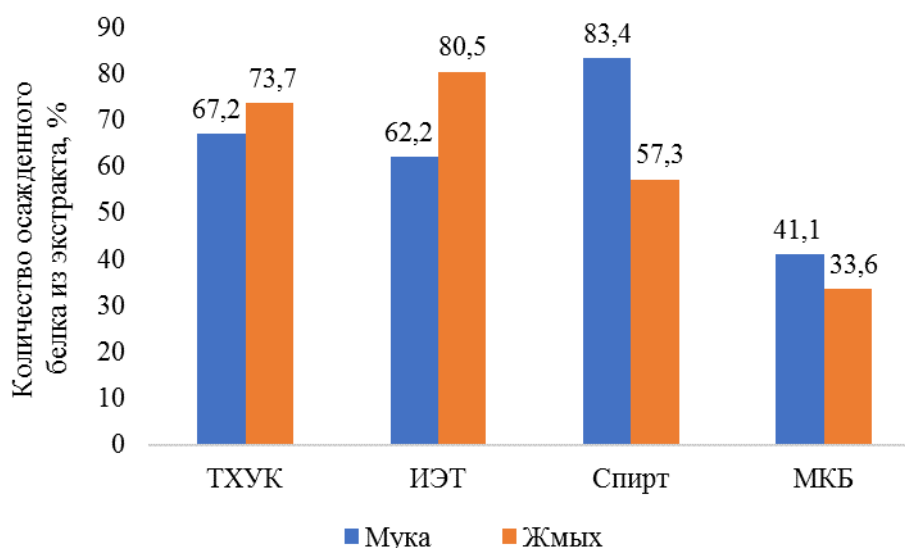


Рис. 6. Эффективность способов выделения белка из экстрактов, полученных из конопляной муки и жмыха
Efficiency of protein isolation methods from extracts of hemp seed flour and cake

В исследовательской практике использование трихлоруксусной кислоты, которая обладает высокой селективностью при осаждении белков из растворов, является распространенным способом. Данный способ осаждения демонстрировал высокий процент выделения белка из экстракта как для муки, так и для жмыха – 67,2 и 73,7 % соответственно. Это объясняется комплексным денатурирующим действием трихлоруксусной кислоты, включающим как непосредственное воздействие на систему водородных связей, так и блокирование полярных группировок.

ТХУК нарушает водородные связи и разрушает гидратационную оболочку белков, вызывая их денатурацию с потерей вторичной структуры. При этом белки становятся нерастворимыми и легко осаждаются центрифугированием [22]. Благодаря этому данный метод является универсальным и эффективным в аналитической практике.

Способ ИЭТ – это уровень pH, при котором чистый электростатический заряд белка нейтрален или равен нулю. В этот момент белки теряют электростатическое отталкивание друг от друга и начинают агрегировать и выпадать в осадок. При осаждении конопляного белка с помощью способа ИЭТ (pH = 5,0–5,2) из экстракта, полученного из муки, выделили 62,2 %, тогда как из экстракта жмыха удалось выделить 80,5 %. Вероятно, различия в результатах связаны с компонентным

составом сырья: жмых является более концентрированным по белку материалом.

При использовании водоотнимающих агентов, таких как этиловый спирт, происходит дегидратация белковых мицелл и снижение стабильности белков в растворе, из-за чего белок сворачивается и осаждается. Процесс осаждения белка под воздействием этанола является обратимым, если воздействие спирта кратковременно и происходит при низких температурах [23]. Так, количество белка, осажденного с помощью спирта из экстракта, полученного из конопляной муки, составил 83,4 %, а экстракта из жмыха – 57,3 %. Отличия в количестве осажденного белка могут быть связаны с фракционным составом белка и его агрегатным состоянием в исходном сырье.

Результаты осаждения белка из экстракта способом МКБ по сравнению с другими, вышеописанными методами оказались минимальными: 41,1 % белка выделилось из экстракта, полученного из муки, и 33,6 % – из экстракта с использованием жмыха. Несмотря на низкую эффективность, следует отметить, что данный способ позволяет получать белок в более мягких условиях, т. е. менее денатурированный белок с потенциально сохраненными нативными функциональными свойствами [16]. Использование способа МКБ может иметь перспективы для применения в технологиях при определении

оптимального вида бактерий, их дозировки и параметров ферментации.

Таким образом, эффективными способами выделения белка оказалось использование этилового спирта для экстракта из муки (83,4 %) и способ с ИЭТ для экстракта из жмыха (80,5 %).

Для оценки полноты осаждения белков были сняты электронные спектры экстрактов из муки и жмыха, а также надосаточных жидкостей пос-

ле применения различных способов осаждения (ТХУК, ИЭТ, спирт, МКБ) (рис. 7). Спектры регистрировались в УФ-области, поскольку большинство биомолекул, включая белки и содержащиеся в них ароматические аминокислоты (например триптофан, тирозин и фенилаланин), обладают характерным поглощением в данном диапазоне.

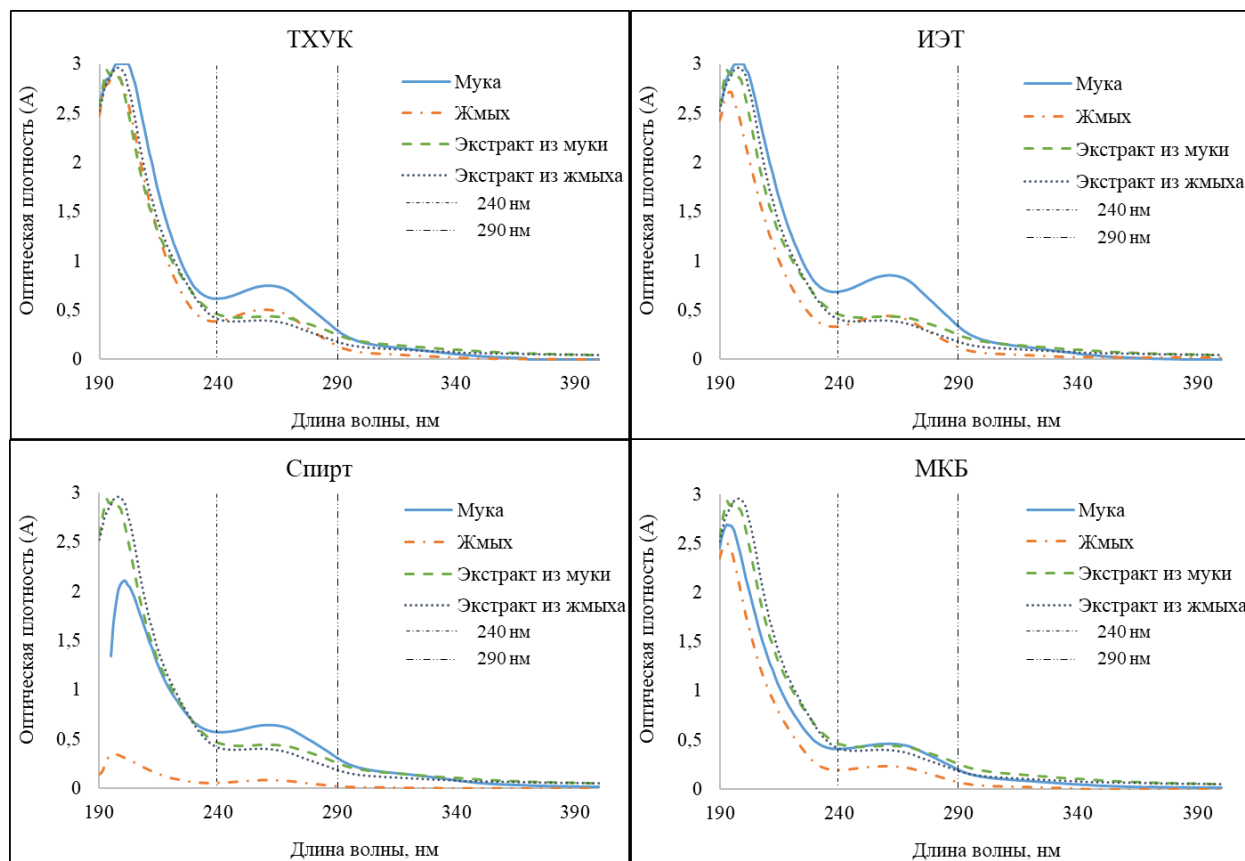


Рис. 7. УФ-спектры надосаточных жидкостей после осаждения белка из экстрактов жмыха и муки:

Мука – надосаточная жидкость, полученная из экстракта конопляной муки;

Жмых – надосаточная жидкость, полученная из экстракта конопляного жмыха

UV-spectra of supernatants after protein precipitation from hemp flour and cake extracts:

Flour – supernatant obtained from hemp flour extract;

Cake – supernatant obtained from hemp cake extract

На рисунке 7 видно, что спектры всех образцов имеют аналогичный вид: в области примерно 240–290 нм наблюдается широкий пик поглощения с максимумом в районе 280 нм. Проявление поглощения в этой области характерно для присутствия хромофоров ароматических аминокислот. Триптофан дает сильное поглощение около 280 нм, тирозин – около 275 нм, фенилаланин – около 257–260 нм [24]. Именно

за счет совместного вклада этих остатков возникает полоса поглощения в диапазоне 240–290 нм. Это свидетельствует и о присутствии белковых компонентов и в надосаточных жидкостях.

Содержание белка в целевом продукте также является показателем эффективности осаждения из экстракта, центрифугирования и сушки (табл. 3).

Содержание белка в целевых продуктах, полученных различными способами осаждения
Protein content in target products obtained by different precipitation techniques

Сырье	ТХУК	ИЭТ	Спиртовое осаждение	МКБ
Конопляная мука	74,1±3,6	75,2±3,7	71,0±3,5	69,3±3,4
Конопляный жмых	75,1±3,7	72,3±3,6	65,1±3,2	48,7±2,4

По данным таблицы 3 видно, что при использовании конопляной муки различия между способами осаждения были незначительны: содержание белка в конечном продукте варьировалось от 69 (способ МКБ) до 75,2 % (способ ИЭТ). Это указывает на близкую селективность способов и сравнимую степень чистоты полученного белкового продукта.

В случае конопляного жмыха целевые продукты имели большее различие по содержанию белка в отличие от конечных продуктов, полученных из экстрактов муки. Наибольшее содержание белка наблюдалось при использовании кислотных способов осаждения: ТХУК (75,1 %) и ИЭТ (72,3 %). При использовании спиртового осаждения содержание белка в продукте составило 65,1 %. Данные свидетельствуют, что спирт, вероятно, в большей степени способствует соосаждению других компонентов экстракта (в частности полисахаридов), это снижает долю белка в конечном продукте. Наименьшая доля белка в конечном продукте составила 48,7 % при способе МКБ.

Заключение. В результате проведенных исследований была выявлена различная эффективность экстракции конопляного сырья в щелочной среде: выход белка в экстракт из муки составил 19,5 %, из жмыха – 21,8 %.

Исследование динамики кислотонакопления при использовании способа МКБ показало более глубокое протекание процесса в случае обработки экстракта из конопляного жмыха, что обусловлено большим количеством углеводов,

служащих субстратом для выработки молочной кислоты молочнокислыми бактериями.

Осаждение белка из экстрактов муки и жмыха, проведенное такими способами, как спиртовое осаждение, осаждение ИЭТ, осаждение ТХУК, обработка МКБ, показало вариативность их действия на конопляное сырье. Максимальная эффективность при выделении белка из экстракта жмыха была выявлена для способа ИЭТ осаждения (80,5 %); при выделении белка из экстракта муки максимальный результат был при спиртовом осаждении (83,4 %). В случае ТХУК осаждения эффективность для жмыха и муки составила 73,7 и 67,2 % соответственно. Эффективность коагуляции белка из экстракта при способе МКБ была невысокой, составила 41,1 и 33,6 % из муки и жмыха соответственно.

Содержание белка в целевых продуктах из конопляного сырья варьировало в случае муки 71,0–74,1 %, жмыха – 65,1–75,1 %. При использовании МКБ осаждения чистота целевых продуктов не превышала 69,3 % для муки и 48,7 % для жмыха.

Методами УФ-спектроскопии показано присутствие белковых структур в надосадочных жидкостях после осаждения белка из экстракта.

Таким образом, эффективность осаждения белка из экстракта определяется компонентным составом сырья и воздействием на него используемых реагентов. Полученные результаты актуализируют исследования по повышению эффективности способов выделения белка из экстракта.

Список источников

1. Новости УрФУ. Конопля поглощает углерод в 3–5 раз лучше, чем хвойные, выяснили биологи. Доступно по: <https://urfu.ru/ru/news/49557>. Ссылка активна на 02.07.2025
2. Алексаночкин Д.И., Фоменко И.А., Алексеева Е.А., и др. Получение растительного белка из семян и жмыха промышленной конопли: обзор способов переработки для использования в пищевой промышленности // Пищевые системы. 2024. Т. 7, № 2. С. 188–197.
3. Helstad A., Forsén E., Ahlström C., et al. Protein extraction from cold-pressed hempseed press cake: From laboratory to pilot scale // Journal of Food Science. 2021. Vol. 87, N 1. P. 312–325. DOI: 10.1111/1750-3841.16005.

4. Миневич И.Э., Нечипоренко А.П., Гончарова А.А., и др. Исследование макронутриентов семян конопли в процессе кратковременного проращивания // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2022. Т. 12, № 4. С. 576–588. DOI: 10.21285/2227-2925-2022-12-4-576-588.
5. Стрельченко Е.А. Перспективы использования конопляной муки в хлебопекарном производстве. В сб.: Всероссийская научно-практическая конференция «Наука и образование XXI века: актуальные вопросы теории и практики», Чебоксары, 28 августа 2020 г. Чебоксары: Экспертно-методический центр, 2020. С. 51–54. EDN: SKBQLN.
6. Ущаповский В.И., Гончарова А.А., Миневич И.Э. Влияние переработки на белковый комплекс семян конопли // Вестник Воронежского государственного университета инженерных технологий. 2022. Т. 84, № 1 (91). С. 66–72. DOI: 10.20914/2310-1202-2022-1-66-72. EDN: CGFYDK.
7. Яковлева А.А. Перспективы использования семян конопли и льна в качестве источника пищевого белка // Технические культуры. Научный сельскохозяйственный журнал. 2024. Т. 2, № 4. С. 3–9. DOI: 10.54016/SVITOK.2024.29.57.001.
8. Karabulut G., Kahraman O., Pandalaneni K., et al. A comprehensive review on hempseed protein: Production, functional and nutritional properties, novel modification methods, applications, and limitations // International Journal of Biological Macromolecules. 2023. Vol. 253. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2023.127240.
9. Щеколдина Т.В. Технологии получения белоксодержащего сырья из продуктов переработки семян подсолнечника // Научный журнал КубГАУ. 2015. № 109. С. 360–378.
10. Hadidi M., Aghababaei F., McClements D.J. Enhanced alkaline extraction techniques for isolating and modifying plant-based proteins // Food Hydrocolloids. 2023. Vol. 145. DOI: 10.1016/j.foodhyd.2023.109132.
11. Fang B., Chang L., Ohm J., et al. Structural, functional properties, and volatile profile of hemp protein isolate as affected by extraction method: Alkaline extraction-isoelectric precipitation vs salt extraction. // Food Chemistry. 2022. Vol. 405. DOI: 10.1016/j.foodchem.2022.135001
12. Hadnadev M., Dapčević-Hadnadev T., Lazaridou A., et al. Hempseed meal protein isolates prepared by different isolation techniques. Part I. physicochemical properties // Food Hydrocolloids. 2017. Vol. 79. P. 526–533. DOI: 10.1016/j.foodhyd.2017.12.015.
13. Padma Ishwarya S., Aakashraj B. Good Food Institute India. Plant protein extraction guide, 2024. 42 p.
14. De Alcântara Pessôa Filho P., Hirata G.a.M., Watanabe É. O., et al. Precipitation and crystallization. In Elsevier eBooks, 2019. P. 725-738. doi: 10.1016/b978-0-444-64046-8.00098-7.
15. Yoshikawa H., Hirano A., Arakawa T., et al. Mechanistic insights into protein precipitation by alcohol // International Journal of Biological Macromolecules. 2012. Vol. 50, N 3. P. 865–871. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2011.11.005.
16. Emkani M., Oliete B., Saurel R. Pea protein extraction assisted by lactic fermentation: Impact on protein profile and thermal properties // Foods. 2021. Vol. 10, N 3. 549 p. DOI: 10.3390/foods10030549.
17. Emkani M., Moundanga S., Oliete B., et al. Protein composition and nutritional aspects of pea protein fractions obtained by a modified isoelectric precipitation method using fermentation // Frontiers in Nutrition. 2023. Vol. 10. DOI: 10.3389/fnut.2023.1284413.
18. Santamaría-Fernández M., Molinuevo-Salces B., Kiel P., et al. Lactic acid fermentation for refining proteins from green crops and obtaining a high quality feed product for monogastric animals // Journal of Cleaner Production. 2017. Vol. 162. P. 875–881. DOI: 10.1016/j.jclepro.2017.06.115.
19. Cruz-Casas D.E., Aguilar C.N., Ascacio-Valdés J.A., et al. Bioactive protein hydrolysates obtained from amaranth by fermentation with lactic acid bacteria and Bacillus species // Heliyon. 2023. Vol. 9, N 2. DOI: 10.1016/j.heliyon.2023.e13491.
20. Alonso-Esteban J.I., Pinela J., Ćirić A., et al. Chemical composition and biological activities of whole and dehulled hemp (*Cannabis sativa* L.) seeds // Food Chemistry. 2021. Vol. 374. DOI: 10.1016/j.foodchem.2021.131754.
21. Youssef M., Lafarge C., Valentin D., et al. Fermentation of cow milk and/or pea milk mixtures by different starter cultures: Physico-chemical and sensorial properties // LWT Food Sci. Technol. 2016. Vol. 69. P. 430–437.

22. Koontz L. TCA Precipitation. Laboratory Methods in Enzymology: Protein Part C, 2014. P. 3–10. DOI: 10.1016/b978-0-12-420119-4.00001-x.
23. Van Koningsveld G.A., Gruppen H., De Jongh H.H.J., et al. Effects of Ethanol on Structure and Solubility of Potato Proteins and the Effects of Its Presence during the Preparation of a Protein Isolate // Journal of Agricultural and Food Chemistry. 2002. Vol. 50, N 10. P. 2947–2956. DOI: 10.1021/jf011202x.
24. Biter A.B., Pollet J., Chen W., et al. A method to probe protein structure from UV absorbance spectra // Analytical Biochemistry. 2019. Vol. 587. DOI: 10.1016/j.ab.2019.113450.

References

1. Novosti UrFU. *Konoplja pogloshhaet uglerod v 3–5 raz luchshe, chem hvoynye, vyjasnili biologi*. Available at: <https://urfu.ru/ru/news/49557>. Accessed: 02.07.2025. (In Russ.).
2. Aleksanochkin DI, Fomenko IA, Alekseeva EA, et al. Production of plant protein from seeds and cake of industrial hemp: overview of processing methods for food industry. *Food Systems*. 2024;7(2):188–197. (In Russ.). DOI: 10.21323/2618-9771-2024-7-2-188-197.
3. Helstad A, Forsén E, Ahlström C, et al. Protein extraction from cold-pressed hempseed press cake: From laboratory to pilot scale. *Journal of Food Science*. 2021;87(1):312–325. DOI: 10.1111/1750-3841.16005.
4. Minevich IE, Nechiporenko AP, Goncharova AA, et al. Study of macronutrients in hemp seeds during short-term germination. *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya. Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2022;12(4):576–588. (In Russ.). DOI: 10.21285/2227-2925-2022-12-4-576-588.
5. Strel'chenko EA. Perspektivy ispol'zovaniya konopljanoy muki v hlebopekarnom proizvodstve. In: *Vserossiyskaya nauchno-prakticheskaya konferenciya "Nauka i obrazovanie XXI veka: aktual'nye voprosy teorii i praktiki"*, Cheboksary, 28 Aug 2020). Cheboksary: Ekspertno-metodicheskij centr; 2020. P. 51–54. (In Russ.). EDN: SKBQLN.
6. Uschapovsky VI, Goncharova AA, Minevich IE. The impact of processing on hemp seeds protein complex. *Vestnik VGUIT*. 2022;84(1):66–72. (In Russ.). DOI: 10.20914/2310-1202-2022-1-66-72.
7. Yakovleva AA. Prospects for the use of hemp and flax seeds as a source of dietary protein (review). *Technical crops. Scientific agricultural journal*. 2024;2(4):3–9. (In Russ.). DOI: 10.54016/SVI-TOK.2024.29.57.001.
8. Karabulut G, Kahraman O, Pandalaneni K, et al. A comprehensive review on hempseed protein: Production, functional and nutritional properties, novel modification methods, applications, and limitations. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2023;253. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2023.127240.
9. Shhekoldina TV. Tehnologii poluchenija beloksoderzhashhego syr'ja iz produktov pererabotki semjan podsolnechnika. *Scientific journal of Kuban State Agrarian University*. 2015;109:360–378. (In Russ.).
10. Hadidi M, Aghababaei F, McClements DJ. Enhanced alkaline extraction techniques for isolating and modifying plant-based proteins. *Food Hydrocolloids*. 2023;145. DOI: 10.1016/j.foodhyd.2023.109132.
11. Fang B, Chang L, Ohm J, et al. Structural, functional properties, and volatile profile of hemp protein isolate as affected by extraction method: Alkaline extraction–isoelectric precipitation vs salt extraction. *Food Chemistry*. 2022;405. DOI: 10.1016/j.foodchem.2022.135001.
12. Hadnadev M, Dapčević-Hadnadev T, Lazaridou A, et al. Hempseed meal protein isolates prepared by different isolation techniques. Part I. physicochemical properties. *Food Hydrocolloids*. 2017;79:526–533. DOI: 10.1016/j.foodhyd.2017.12.015.
13. Padma Ishwarya S, Aakashraj B. *Good Food Institute India. Plant protein extraction guide*, 2024. 42 p.
14. De Alcântara Pessôa Filho P, Hirata GM, Watanabe EO, et al. Precipitation and crystallization. In: *Elsevier eBooks*, 2019. P. 725–738. DOI: 10.1016/b978-0-444-64046-8.00098-7.
15. Yoshikawa H, Hirano A, Arakawa T, et al. Mechanistic insights into protein precipitation by alcohol. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2012;50(3):865–871. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2011.11.005.
16. Emkani M, Oliete B, Saurel R. Pea protein extraction assisted by lactic fermentation: Impact on protein profile and thermal properties. *Foods*. 2021;10(3):549. DOI: 10.3390/foods10030549.

17. Emkani M, Moundanga S, Oliete B, et al. Protein composition and nutritional aspects of pea protein fractions obtained by a modified isoelectric precipitation method using fermentation. *Frontiers in Nutrition*. 2023;10. DOI: 10.3389/fnut.2023.1284413.
18. Santamaria-Fernández M, Molinuevo-Salces B, Kiel P, et al. Lactic acid fermentation for refining proteins from green crops and obtaining a high quality feed product for monogastric animals. *Journal of Cleaner Production*. 2017;162:875-881. DOI: 10.1016/j.jclepro.2017.06.115.
19. Cruz-Casas DE, Aguilar CN, Ascacio-Valdés JA, et al. Bioactive protein hydrolysates obtained from amaranth by fermentation with lactic acid bacteria and *Bacillus* species. *Heliyon*. 2023;9(2). DOI: 10.1016/j.heliyon.2023.e13491.
20. Alonso-Esteban JI, Pinela J, Ćirić A, et al. Chemical composition and biological activities of whole and dehulled hemp (*Cannabis sativa* L.) seeds. *Food Chemistry*. 2021;374. DOI: 10.1016/j.foodchem.2021.131754.
21. Youssef M, Lafarge C, Valentin D, et al. Fermentation of cow milk and/or pea milk mixtures by different starter cultures: Physico-chemical and sensorial properties. *LWT Food Sci. Technol*. 2016;69:430-437.
22. Koontz L. *TCA Precipitation. Laboratory Methods in Enzymology: Protein Part C*, 2014. P. 3-10. DOI: 10.1016/b978-0-12-420119-4.00001-x.
23. Van Koningsveld GA, Gruppen H, De Jongh HHJ, et al. Effects of Ethanol on Structure and Solubility of Potato Proteins and the Effects of Its Presence during the Preparation of a Protein Isolate. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2002;50(10):2947-2956. DOI: 10.1021/jf011202x.
24. Biter AB, Pollet J, Chen W, et al. A method to probe protein structure from UV absorbance spectra. *Analytical Biochemistry*. 2019;587. DOI: 10.1016/j.ab.2019.113450.

Статья принята к публикации 12.12.2025 / The article accepted for publication 12.12.2025

Информация об авторах:

Валентин Игоревич Ущачовский, младший научный сотрудник лаборатории переработки лубяных культур

Любовь Анатольевна Зайцева, младший научный сотрудник лаборатории переработки лубяных культур

Ирина Эдуардовна Миневич, главный научный сотрудник лаборатории переработки лубяных культур, доктор технических наук

Information about the authors:

Valentin Igorevich Ushchapovskiy, Junior Researcher, Laboratory of Bast Crops Processing

Lyubov Anatolyevna Zaytseva, Junior Researcher, Laboratory of Bast Crops Processing

Irina Eduardovna Minevich, Chief Researcher at the Laboratory of Bast Crops Processing, Doctor of Technical Sciences

