

УДК 664.3.033

UDC 664.3.033

ПОВЫШЕНИЯ ЭФФЕКТИВНОСТИ ВЫДЕЛЕНИЯ БЕЛКОВ ИЗ ВТОРИЧНОГО МОЛОЧНОГО СЫРЬЯ

RAISING EFFICIENCY OF PROTEINS ISOLATION FROM RECYCLED DAIRY RAW MATERIALS

Воробьев Евгений Васильевич
Директор ООО «Червоне солнце», Ставрополь, Россия

Vorobjev Evgeny Vasilievich
Director of LLC “Chervone solntse”, Stavropol, Russia

Евдокимов Иван Алексеевич
д.т.н., профессор

Evdokimov Ivan Alekseevich
Dr.Sci.Tech., professor

Алиева Людмила Руслановна
к.т.н., доцент

Alieva Ludmila Ruslanovna
Cand.Tech.Sci., associate professor

Золоторева Марина Сергеевна
к.т.н., инженер
Северо-Кавказский государственный технический университет, Ставрополь, Россия

Zolotoreva Marina Sergeevna
Cand.Tech.Sci, engineer
North-Caucasus State Technical University, Stavropol, Russia

Представлены результаты исследований совместного выделения белков из обезжиренного молока и творожной сыворотки. Для различного соотношения компонентов в молочной основе определены зоны наиболее эффективного комплексообразования и установлены основные факторы, влияющие на интенсивность процесса разделения и свойства белково-хитозанового комплекса. Теоретически обоснованы закономерности взаимодействия белков молока с хитозаном и исследована эффективность их выделения

Investigation results of dairy proteins coprecipitation from skim milk and curd whey are demonstrated. For different ratio of the components in the milk-whey mixture, the authors determined the parameters providing maximal efficiency of precipitation and outlined the factors stipulating intensity of separation and properties of protein-chitosan complex. Efficiency of whey protein isolation and interaction of chitosan with protein in stable complex are explored

Ключевые слова: ХИТОЗАН, ВТОРИЧНОЕ МОЛОЧНОЕ СЫРЬЕ, БЕЛКОВЫЙ КОМПЛЕКС

Keywords: CHITOSAN, RECYCLED DAIRY RAW MATERIALS, PROTEIN COMPLEX

В связи со вступлением России в ВТО, перед молочной промышленностью страны встаёт ряд задач, в соответствии с которыми необходимо уделять повышенное внимание теоретическим и практическим аспектам совершенствования способов и созданию принципиальных инновационных схем переработки вторичного молочного сырья (ВМС).

В условиях дефицита финансовых средств вопросы ресурсо- и энергосбережения, а также экологичности производства остаются у многих перерабатывающих предприятий на втором плане, и это очень опасно. После вступления России в ВТО у молочной промышленности, как подчеркивает президент Молочного союза России, академик РАСХН В.Д. Харитонов, будет всего 2-3 года на решения этих проблем. И если за это

время отрасль не подтянется, то процесс банкротства и ликвидации многих предприятий станет реальной угрозой [5].

Основные задачи и современные направления развития молочной отрасли отражены в контексте реализации «Доктрины продовольственной безопасности РФ до 2020 г.», утвержденной Указом Президента РФ № 537 от 12.05.09г. «Решение вопроса продовольственной безопасности - комплексная проблема, и ее решение может быть осуществлено лишь с позиций инновационной модели развития экономики и, прежде всего, агропромышленного комплекса», - считает вице-президент РАСХН, директор ВНИИ экономики сельского хозяйства И.Г. Ушачев.

Для России вопросы продовольственной безопасности являются особенно важными не только с экономической, но и с социальной и политической позиций. Государство, не обладающее продовольственной независимостью, не может чувствовать себя безопасным в современном мире.

Фактически «Доктрина продовольственной безопасности» стоит на трех смысловых китах: доля собственного производства по основным видам продовольствия, качество этого продовольствия и его доступность для населения [3].

Основные пути решения этих задач по производству доступной продукции в необходимых объемах лежат, как в сфере сельского хозяйства (прежде всего, в животноводстве), так и в сфере переработки молока.

В сфере переработки главной проблемой является отсутствие комплексности переработки молочного сырья. Прежде всего, это нерациональное использование вторичного молочного сырья, в частности, молочной сыворотки, что приводит к потере ценнейших компонентов, наиболее важными из которых являются сывороточные белки. В период перестройки эта подотрасль по существу деградировала, что способствовало отставанию в техническом уровне отечественных предприятий от иностранных производителей.

В этой связи, в настоящее время актуальным является разработка инновационных ресурсоэнергосберегающих технологий, определяющих конкурентоспособный рынок отечественных молочных продуктов. При этом, конкурентоспособность, по нашему мнению, должна обеспечиваться как за счет комплексного использования ВМС, так и путем придания молочным продуктам новых функциональных качеств, отвечающих приоритетным национальным проектам – развитие АПК и сохранение здоровья.

Нами предлагается один из вариантов решения данных задач, благодаря применению в комплексной переработке молочного сырья полисахарида животного происхождения - хитозана. Разрешение Минздрава РФ и контролирующих организаций ряда зарубежных стран на использование хитозана в качестве пищевой и лечебно-профилактической добавки, открыли широкие перспективы его применения в инновационных технологиях продуктов для здоровья.

Исследование закономерности процесса фракционирования белков из ВМС полисахаридом хитозаном представляет и определенный научный интерес. В большинстве случаев зависимость устойчивости дисперсий от количества добавленного высокомолекулярного соединения (хитозана) проходит через явно выраженный минимум. Снижение устойчивости, наступающее в результате агрегации частиц, вследствие их связывания через молекулы адсорбированного реагента, принято называть флокуляцией. Это определение базируется на представлениях Ла Мера о том, что длинная макромолекула способна одновременно присоединяться к двум или нескольким частицам, связывая их через полимерные мостики [2].

Известно, что хитозан представляет собой длинноцепочечную молекулу с большой молекулярной массой, достигающей до нескольких миллионов Дальтон, которая обладает высокой плотностью положительных зарядов [10]. С другой стороны, белковые частицы молочного сырья, в связи с

превалированием в их структуре карбоксильных групп, обладают отрицательным зарядом, причем, молоко и сыворотка имеют кислую реакцию [4].

Первые исследования по применению хитозана в молочной отрасли в качестве комплексообразователя проводились на кафедре прикладной биотехнологии «Ставропольского государственного технического университета» (ныне СевКавГТУ): Василисиным С.В., Евдокимовым И.А., Храмцовым А.Г., Алиевой Л.Р.[8] и их учениками. В числе последних разработок кафедры - низкотемпературное выделение белков ВМС, предусматривающее использование в качестве сырья смеси обезжиренного молока и творожной сыворотки в различных соотношениях [патент № 2432773]. Технология предусматривает внесение в эту смесь хитозана в виде геля, перемешивание, выдержку, самопроизвольное разделение смеси на белково-хитозановый комплекс (БХК) и безбелковую жидкость.

Взаимодействие двух биополимеров - молочного белка и хитозана - происходит сразу после внесения и интенсивного перемешивание раствора хитозана с молочной основой, что характерно для физической адсорбции или адсорбционной флокуляции.

В качестве комплексообразователя нами использовался кислото-растворимый хитозан, полученный из панцирей крабов, со степенью деацетилирования (83-85)% и молекулярной массой более 200 кДа. Разделение системы происходило при температуре 22 °С, дозировка геля-хитозана при этом варьировалась от 2 до 18%, а время выдержки - 60 мин.

Поэтапное исследование по фракционированию белков молока коллоидным раствором хитозана, наглядно представлено на рисунках 1,2,3,4.



Рисунок 1 – Фотография молочной смеси: 35% обезжиренного молока + 65% творожной сыворотки



Рисунок 2 – Фотография молочной смеси после добавления 4% гель-хитозана и перемешивания



Рисунок 3 – Фотография БХК, выпавшего в осадок

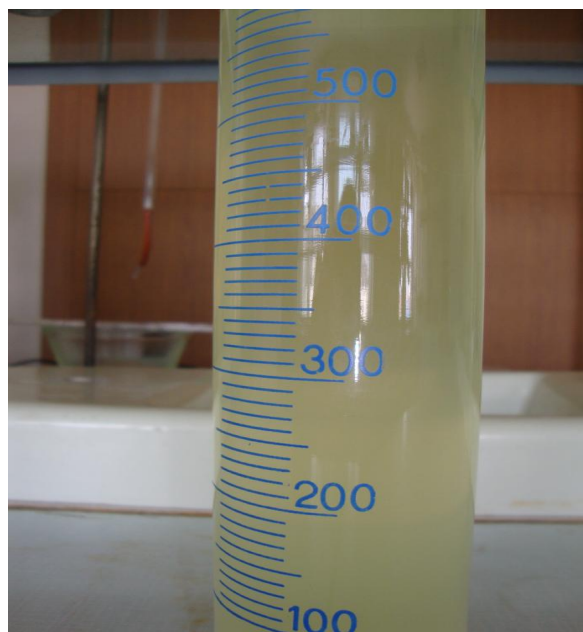


Рисунок 4 – Фотография надосадочной жидкости

Количественное содержание хитозана в образцах БХК, выделенных из систем: «А» - 35% обезжиренное молоко + 65% творожная сыворотка + 4% гель-хитозана; «В» - 35% обезжиренное молоко + 65% творожная сыворотка + 9% гель-хитозана, определяли с использованием колориметрического метода (на спектрофотометре Apel PD-303S), основанного на

взаимодействии аминогрупп хитозана с красителем нингидрином [6]. Результаты экспериментов по количественному определению хитозана в образцах БХК представлены в таблице 1.

Таблица 1- СОДЕРЖАНИЕ ХИТОЗАНА В СОСТАВЕ БХК

Исходные и определяемые данные	Образец А	Образец В
Объем молочной смеси, мл	600	600
Количество 1% раствора хитозана, %	4	9
Теоретическое содержание хитозана, в пересчете на сухой, г	0,24	0,54
Масса сухих веществ БХК, г	8,3	9,4
Масса сухих веществ БХК, после гидролиза, г	0,364	0,523
Содержание хитозана в сухом веществе после гидролиза, %	4,39	5,57
Содержание хитозана в сухом веществе после гидролиза, г	0,193	0,350
Содержание хитозана в сухом веществе после гидролиза, %	53	67
Доля хитозана, связанного белком в БХК, %	80	65

Как видно из данных таблицы 1, при разделении системы основная масса хитозана, переходит в белковый комплекс, что дает основания говорить о функциональных свойствах получаемых БХК, т.к. хитозан обладает рядом уникальных полезных свойств [7]: иммуностимулирующей активностью; хорошей адгезией; биосовместимостью; биоинертностью; бактериостатичностью; способностью поглощать холестеринный комплекс и др.

На молекулярном уровне процесс образования электростатических комплексов можно рассматривать как последовательное присоединение макроионов белка (лигандов комплекса) к макроиону полисахарида (ядру комплекса). Белок можно считать лигандом на том основании, что в комплексе на один макроион полисахарида обычно приходится большое число меньших по размеру макроионов белка. Образование комплекса «белок - полисахарид» может сопровождаться как изменением баланса сил, определяющих характер внутри и межмолекулярного взаимодействия белковых глобул, так и образованием частиц комплексов, различающихся по размеру, форме, заряду, степени гидратации и т.д.

Для различного соотношения компонентов в молочной основе нами найдены зоны наиболее эффективного процесса комплексообразования, установлены основные факторы, определяющие интенсивность процесса разделения и влияющие на реологические свойства БХК (рН системы, время экспозиции, доза внесения гель-хитозана и др.). Остаточное содержание белков в осветленной сыворотке определяли по методу, разработанному ВНИМИ [9], а консистенцию БХК – сенсорными методами. Результаты исследований по эффективности выделения белков приведены в таблице 2.

Таблица 2 - ЭФФЕКТИВНОСТЬ ВЫДЕЛЕНИЯ БЕЛКОВ ПРИ РАЗЛИЧНЫХ ЗНАЧЕНИЯХ ВХОДЯЩИХ ПАРАМЕТРОВ

№ опы-та	рН систе-мы до внесения раствора хитозана	Доза гель-хито-зана, %	Содержание белков в освет-ленной сыво-ротке, %	Эффектив-ность вы-деления белков, %	Консистенция белково-хитозанового комплекса
1	2	3	4	5	6
Молочная смесь: 20% обезжиренного молока + 80% творожной сыворотки					
1	5,0± 0,02	4,0	0,36±0,03	67,6	Нежная, мажущаяся, немно-го липкая творожная масса
2	5,0± 0,02	9,0	-	-	-
3	5,0± 0,02	14,0	-	-	-
Молочная смесь: 20% обезжиренного молока + 80% творожной сыворотки					
4	5,5± 0,02	4,0	0,43±0,04	61,2	Мягкая, мажущаяся, липкая творожная масса
5	5,5± 0,02	9,0	0,32±0,03	71,4	Мягкая, мажущаяся, немно-го липкая творожная масса
6	5,5± 0,02	14,0	-	-	-

Продолжение таблицы 2

1	2	3	4	5	6
Молочная смесь: 20% обезжиренного молока + 80% творожной сыворотки					
7	6,0± 0,02	4	0,52±0,05	53,5	Мажущаяся, творожная масса
8	6,0± 0,02	9	0,54±0,05	51,7	Мажущаяся, творожная масса
9	6,0± 0,02	14,0	-	-	-
Молочная смесь: 35% обезжиренного молока + 65% творожной сыворотки					
10	5,0± 0,02	4,0	0,48±0,05	71,3	Нежная творожная масса

11	5,0± 0,02	9,0	0,43±0,04	80	Творожная масса
12	5,0± 0,02	14,0	0,51±0,05	66,0	Творожная масса
Молочная смесь: 35% обезжиренного молока + 65% творожной сыворотки					
13	5,5± 0,02	4,0	-	-	-
14	5,5± 0,02	9,0	0,24± 0,02	84	Мягкая творожная масса
15	5,5± 0,02	14,0	0,22±0,02	85,3	Нежная слегка плотная творожная масса
Молочная смесь: 35% обезжиренного молока + 65% творожной сыворотки					
16	6,0± 0,02	4	-	-	
17	6,0± 0,02	9	0,57±0,05	62	Нежная творожная масса
18	6,0± 0,02	14,0	0,61±0,06	59,3	Творожная масса
Молочная смесь: 50% обезжиренного молока + 50% творожной сыворотки					
19	5,0± 0,02	4,0	0,37±0,03	80,1	Творожная плотная масса
20	5,0± 0,02	9,0	0,3±0,03	84	Плотная творожная масса, но при этом очень липкая
21	5,0± 0,02	14,0	-	-	-
Молочная смесь: 50% обезжиренного молока + 50% творожной сыворотки					
22	5,5± 0,02	4,0	0,42±0,04	77,6	Плотная творожная масса
23	5,5± 0,02	9,0	0,29±0,03	84,2	Желеобразная плотная творожная масса
24	5,5± 0,02	14,0	0,24±0,02	87,2	Желеобразная плотная сырная масса
Молочная смесь: 50% обезжиренного молока + 50% творожной сыворотки					
25	6,0± 0,02	4	0,36±0,03	80,4	Желеобразная плотная творожная масса
26	6,0± 0,02	9	0,24±0,02	87,2	Желеобразная, сырная масса
27	6,0± 0,02	14,0	0,22±0,02	88,3	Резинистая, сырная масса

В результате проведенных исследований установлено, что процесс разделение системы происходит выше изоэлектрических точек основных фракций белков. Взаимодействие хитозана происходит как с казеином, так и сывороточными белками, в результате чего формируется пространственный каркас, при этом наблюдается образование различного по структуре белкового сгустка. Установлено, что с увеличением доли обезжиренного молока увеличивается доза внесения раствора хитозана, эффективность выделения белка и время разделения смеси, а реологические характери-

ки БХК последовательно изменяются от мягкой сметанообразной консистенции до плотной, желеобразной и даже резинистой структуры.

Зависимость влажности БХК от дозы внесения раствора хитозана для различных соотношений компонентов молочной смеси, представлена на рисунке 2.

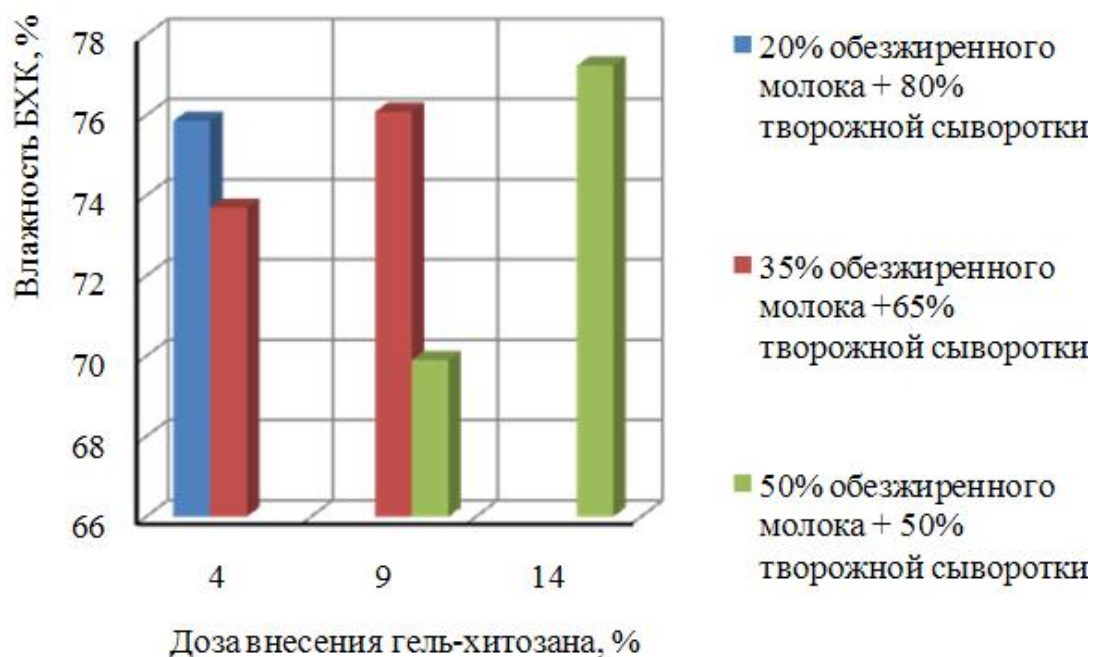


Рисунок 2 - Диаграмма изменения влажности БХК в зависимости от дозы внесения геля-хитозана для различных соотношений компонентов молочной смеси

Исследование гидрофильных свойств БХК, выделенных из систем с различным соотношением компонентов, показывает влияние дозы внесения хитозана на сорбционную способность БХК, увеличивающуюся с повышением относительного содержания хитозана в системе «молочная смесь : раствор хитозана».

Надосадочная безбелковая фракция, получаемая после разделения системы, представляет собой прозрачную жидкость, без характерного запаха сыворотки, состоящую в основном из раствора лактозы и солей. Эта фракция, благодаря остаточному содержанию хитозана, может быть ис-

пользована в качестве основы для различных функциональных напитков, а также в хлебобулочной и кондитерской промышленности [1].

В традиционных способах получения белковых, в том числе творожных продуктов, степень выделения белков относительно невысока (75-80%), при этом 80-85% молочного сырья, в виде молочной сыворотки, используется неэффективно, а энергетические затраты значительны. Использование коллоидного раствора хитозана позволяет осуществить процесс совместного выделения казеина и сывороточных белков из ВМС с большей эффективностью (до 90%) при низких температурах (около 20 °С). Изменяя соотношение между количеством обезжиренного молока и творожной сыворотки в молочной смеси можно приближать БХК к составу белков в женском молоке, что будет способствовать улучшению физических свойств (мягкоствораживаемости) и повышению биологической ценности. Данная технология позволяет регулировать свойства белковых концентратов по влажности и реологическим характеристикам, а за счет содержания хитозана придавать БХК ещё и функциональные свойства.

Технология является экологически безопасной и позволяет исключить ущерб, наносимый окружающей среде в результате сбросов творожной сыворотки.

В качестве примера представлена себестоимость БХК, выделенного из системы, включающей 35% обезжиренного молока + 65% творожной сыворотки + 4% гель-хитозана, в сравнении с творогом 18 % жирности.

Калькуляция себестоимости БХК в сравнении с творогом приведена в таблице 3

Таблица 3 – СРАВНЕНИЕ СЕБЕСТОИМОСТИ БХК И ТВОРОГА

Калькуляция себестоимости творога 18% жирности				Калькуляция себестоимости БХК 18% жирности			
Сырьё	Кол-во на 1000 кг.	Цена, руб. за кг.	Сумма, руб.	Сырьё	Кол-во на 1000 кг.	Цена, руб. за кг.	Сумма, руб.
Обезжиренное				Творожная			

молоко	9372	7,5	70290	сыворотка	11621	0,5	5810
Закваска	9	300	2700	Обезжиренное молоко	6258	7,5	46935
CaCl ₂	4	40	160	Хитозан	7,15	1560	11154
Пепсин	0,007	3200	22,4	Молочная кислота, 80%	9,05	85	769
Заменитель молочного жира	185	62	11470	Заменитель молочного жира	170	62	10540
Итого	84642			Итого	75208		

Разработанная технология адекватна рыночным условиям и не требует капитальных затрат. Она может быть внедрена на имеющемся оборудовании, способствует удешевлению технологического процесса и открывает возможности получения широкого спектра конкурентоспособных молочно-белковых продуктов.

Литература

1. Алиева, Л.Р. Разработка технологии напитков из молочной сыворотки с применением хитозана [Текст] : дис. ... канд. техн. наук : 05.18.04 : защищена 25.06.2003 / Алиева Людмила Руслановна. – Ставрополь, 2003, - 168 с.
2. Баран, А.А. Флокулянты в биотехнологии / А.А. Баран, А.Я. Тесленко // Ленинград: Химия. 1990. - 144 с.
3. Барсукова, С. Ю. Доктрина продовольственной безопасности России: оценка экспертов / ГНУ ВНИИ сельского хозяйства Россельхозакадемии // Internet: <http://www.kapital-rus.ru/articles>.
4. Крашенинин, П.Ф. Получение и использование белков подсырной сыворотки / П.Ф. Крашенинин, В. М. Богданов, А. Г. Храмов, Н.Д. Цветкова, Г.Е. Еремин, Е. Ф. Кравченко. ЦНИИТЭИмясомолпром, Москва 1973. – С. 33.
5. Лабинов, В.В. Текущая ситуация в молочной отрасли мира и России / В.В. Лабинов // Молочная промышленность. – 2011. - №9. - с. 67-68.
6. Лопатин, С.А. Новый колориметрический метод определения хитозана / С.А. Лопатин, С.В. Немцев, В.П. Варламов // Новые перспективы в исследовании хитина и хитозана: материалы Шестой Международной конференции – М.: изд-во ВНИРО. - 2001. – с. 298-299.
7. Новик, А.А. Применение препаратов на основе хитина и хитозана в медицине [Текст] / А.А. Новик, В.Н. Цыган, К.Д. Жоголев, В.Ю. Никитин // Проблемы окружающей среды и природных ресурсов. – М.: ВИНТИ, 2000. – вып. №8. – с.90-106.
8. Патент № 2432773 Российская Федерация, МПК А23J1/20, А23С21/00 Способ получения белкового концентрата из вторичного молочного сырья [Текст] / Евдокимов И.А., Василисин С.В., Воробьев Е.В., Золоторева М.С., Алиева Л.Р., Бучахчан Ж.В.; заявитель и патентообладатель СевКавГТУ - № 2010106529/10; заявл.24.02.2011; опубл. 10.11.2011, Бюл. №31. – 6с.
9. Фетисов, Е.А. Ускоренный метод определения массовой доли белка в сыворотке [Текст] / Е.А. Фетисов, Л.С. Толстухина // Молочная промышленность. – 1982. – №7. – с.14.

10. Kristansen A., Varum K., Gasdalen H. Quantitative Studies of the Nonproductive Binding of Lysozyme to Partially N- acetylated Chitosans.- Internet: <http://elibrary.com>.