

ПРАКТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ПРИМЕНИМОСТИ МЕТОДА ДИНАМИЧЕСКОГО СВЕТОРАССЕЯНИЯ ДЛЯ ОЦЕНКИ РАСТВОРИМОСТИ ГИДРОЛИЗАТА СЫВОРОТОЧНЫХ БЕЛКОВ

Е.И. Мельникова, Е.В. Богданова

Воронежский государственный университет инженерных технологий, г. Воронеж, Россия

Устойчивое развитие молочной отрасли предусматривает ресурсосбережение, снижение выбросов предприятий в окружающую среду и сохранение компонентов молочного сырья на протяжении технологического цикла его переработки. Наличие широкого спектра функциональных ингредиентов в составе молочной сыворотки позволяет рекомендовать ее в качестве сырьевого источника при производстве пищевых продуктов различных ассортиментных групп. Перспективным направлением переработки молочной сыворотки является фракционирование и сушка с получением продуктов с длительным сроком хранения, высокой пищевой и биологической ценностью. Цель работы заключалась в изучении полноты и кинетики растворения гидролизата сывороточных белков. В качестве объектов исследований выбраны подсырная сыворотка, полученная при производстве сыра «Российский» на ПАО МК «Воронежский»; ее ультрафильтрационный концентрат (УФ-концентрат), выработанный с фактором концентрирования по белку 3,7–3,9; гидролизат сывороточных белков, произведенный с применением ферментных препаратов Promod 439L и Flavorpro 766MDP. Полученный гидролизат высушен на распылительной сушилке VRD-5. На основании анализа индекса азота сывороточного белка определены необходимые режимы пастеризации подсырной сыворотки и гидролизата сывороточных белков: $t = (80 \pm 2)^\circ\text{C}$, $\tau = 15$ с при проведении последующего протеолиза в УФ-концентрате; $t = (76 \pm 2)^\circ\text{C}$, $\tau = 15$ с перед непосредственной сушкой гидролизата сывороточных белков. Способность к восстановлению сухого продукта оценивали по его гранулометрическому составу (для образца гидролизата сывороточных белков основной размер частиц составил 56,13 мкм, для УФ-концентрата – 190,5 мкм). Установлено, что гидролизат сывороточных белков подвергался более полной регидратации и с более высокой скоростью в сравнении с УФ-концентратом подсырной сыворотки. Это обусловлено изменением заряда белков и пептидов в процессе протеолиза, благодаря чему увеличилась растворимость азотсодержащих компонентов, а также снижалось количество сорбированного белками воздуха и требовалось меньше времени для разрушения подобных агломератов при восстановлении.

Ключевые слова: УФ-концентрат подсырной сыворотки, протеолиз, гидролизат сывороточных белков, технологическая схема, температура пастеризации, индекс азота сывороточного белка, технологические режимы сушки, метод динамического светорассеяния, гранулометрический состав, кинетика восстановления.

Введение

Доктрина продовольственной безопасности РФ до 2030 года предусматривает обеспечение населения качественной и безопасной пищевой продукцией для активного и здорового образа жизни [1]. При этом ресурсосбережение, соблюдение экологической безопасности, рационального использования природных ресурсов и охраны окружающей среды в настоящее время являются приоритетными направлениями в рамках реализации курса на устойчивое развитие государства [2]. Основной задачей предприятий пищевой промыш-

ленности в РФ является снижение негативно-го влияния своей хозяйственной деятельности на окружающую среду путем внедрения наилучших доступных технологий, которые применительно к молочной отрасли ориентированы на переработку вторичного сырьевого ресурса – молочной сыворотки, объемы которой ежегодно растут [3]. В России общий объем сыворотки в 2020 году составил около 10 млн. т [4], в пересчете на абсолютные сухие вещества это несколько десятков тонн.

Наличие широкого спектра функциональных ингредиентов в составе молочной сыво-

ротки позволяет рекомендовать ее в качестве сырьевого источника при производстве пищевых продуктов различных ассортиментных групп, в том числе диетического, лечебно-профилактического и спортивного питания [5–8]. При этом для расширения сфер ее применения целесообразно снижать аллергенность сывороточных белков, в том числе посредством протеолиза [9]. Перспективным направлением переработки молочной сыворотки также является ее фракционирование и сушка, позволяющая получать продукты с длительным сроком хранения и высокой пищевой и биологической ценностью [10–12].

Поскольку технологические режимы сушки определяют форму и размер высушенных частиц, а тепловая обработка смеси до сушки оказывает влияние на способность сухого продукта к восстановлению, целью работы стало изучение полноты и кинетики растворения гидролизата сывороточных белков, выработанного в условиях филиала ПАО МК «Воронежский» «Калачеевский сырзавод».

Для достижения сформулированной цели были поставлены следующие задачи:

– изучить влияние температурных режимов обработки исходного сырья, УФ-концентрата подсырной сыворотки и гидролизата сывороточных белков на способность к регидратации высушенного продукта;

– установить гранулометрический состав сухого гидролизата сывороточных белков и на основе полученных данных спрогнозировать полноту его растворения при восстановлении.

Объекты и методы исследований

Объектами исследований были подсырная сыворотка, полученная при производстве сыра «Российский» на ПАО МК «Воронежский» («Калачеевский сырзавод», г. Калач Воронежской области); ее ультрафильтрационный концентрат, выработанный на установке MMS Swissflow UF (производитель – Swissflow, Нидерланды) с керамическими мембранами с фактором концентрирования по белку 3,7–3,9; гидролизат сывороточных белков, произведенный с применением ферментных препаратов Promod 439L и Flavorpro 766MDP при их соотношении (1,5–1,7) % и (3,0–3,5) % от массы общего белка в УФ-концентрате соответственно, который сушили на распылительной сушилке VRD-5, (производитель – Vzduchotorg, Словакия, (Калачеев-

ский сыродельный завод, филиал ПАО МК «Воронежский»).

Экспериментальные исследования были проведены на кафедре технологии продуктов животного происхождения, в центре коллективного пользования «Контроль и управление энергоэффективных проектов» ФГБОУ ВО ВГУИТ; в лаборатории технохимического контроля ФГАНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт молочной промышленности» (г. Москва).

Методы исследований – стандартные арбитражные и общепринятые в исследовательской практике, выполненные с применением современных приборов и информационных технологий для оценки свойств и химического состава сырья, полуфабрикатов и готовых продуктов.

Определение степени денатурации. Индекс азота сывороточного белка (WPNI), характеризующего содержание неденатурированных сывороточных белков в пробе, определяли, применяя нефелометрический метод, который основан на извлечении денатурированных сывороточных белков из системы методом осаждения насыщенным раствором хлористого натрия. Оптическую плотность пробы определяли на спектрофотометре ПЭ-5400 УФ (производитель – ЭКРОСХИМ, Россия) при 420 нм и сравнивали со стандартной кривой, которая была получена в результате анализа образцов с известным значением азота сывороточного белка.

Анализ гранулометрического состава высушенного гидролизата сывороточных белков проводили с применением лазерного дифракционного анализатора размера частиц LS 13 320 XR (производитель – Beckman Coulter, США) методом динамического светорассеяния. Преимуществом этого прибора является возможность установления размера частиц в наноземлях и наносuspensions. Эксперименты проводили с использованием сухого модуля и модуля с непрерывной многократной рециркуляцией анализируемого образца, что позволило изучить кинетику его восстановления [13].

Измерения величин осуществляли 5–10 раз в трехкратной последовательности. Расчеты, построение графиков и их описание проводили методами математической статистики с помощью приложений Microsoft Office 16 для Windows 10, Компас График 3D V16. Графические интерпретации и обработку дан-

Пищевые ингредиенты, сырье и материалы

ных осуществляли посредством пакета прикладных программ «MathCad 16.0».

Результаты и их обсуждение

Высушенный гидролизат сывороточных белков получали по технологической схеме, представленной на рис. 1. С целью определения оптимальных режимов пастеризации подсырной сыворотки изучена зависимость показателя индекса азота сывороточных белков

(WNPI) от температуры (см. таблицу). Установлено, что минимальное воздействие на нативную структуру сывороточных белков подсырной сыворотки оказывает температура до 75–76 °С.

Для гидролиза белков стадия связывания фермента с субстратом является определяющей. В случае глобулярных белков большинство пептидных связей расположено внутри

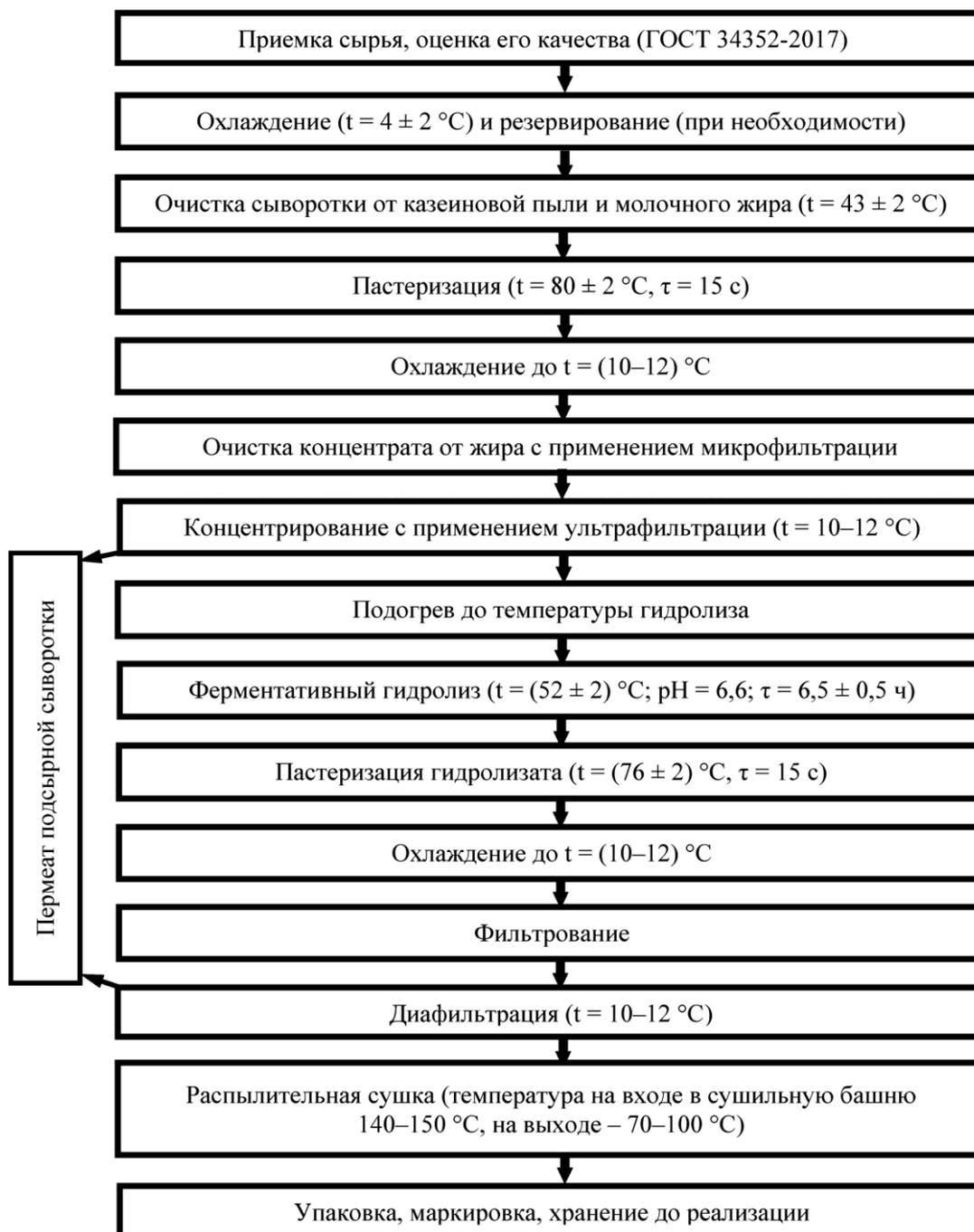


Рис. 1. Технологическая схема получения высушенного гидролизата сывороточных белков

Степень денатурации сывороточных белков в зависимости от температуры тепловой обработки подсырной сыворотки

Температура, °С	72	75	78	81	84	87	90	93	96
WPNI, ед.	0,98	0,91	0,76	0,71	0,62	0,58	0,53	0,49	0,44

молекулы и недоступно для образования фермент-субстратного комплекса. Согласно постулату Линдстрорма-Ланга для расщепления необходима обратимая денатурация белка, которая повышает эффективность гидролитической атаки [14]. В растворе свернутая и денатурированная формы находятся в равновесии. Однако развернутые молекулы доступны для расщепления протеолитическими ферментами. Поэтому для пастеризации подсырной сыворотки, предназначенной для получения УФ-концентрата с последующим гидролизом белков в нем, необходимо применять высокотемпературную обработку.

По результатам проведенных исследований рекомендованы следующие режимы пастеризации подсырной сыворотки и гидролизата сывороточных белков:

- $t = (80 \pm 2) \text{ } ^\circ\text{C}$, $\tau = 15 \text{ с}$ при проведении последующего протеолиза в УФ-концентрате;
- $t = (76 \pm 2) \text{ } ^\circ\text{C}$, $\tau = 15 \text{ с}$ перед непосредственной сушкой гидролизата сывороточных белков.

Первоначально способность к восстанов-

лению полученного сухого продукта оценивали по его гранулометрическому составу (рис. 2) [15]. Для образца гидролизата сывороточных белков основной размер частиц составил 56,13 мкм, для УФ-концентрата – 190,5 мкм. Следовательно, можно предположить, что протеолиз позволил снизить способность белковых частиц сорбировать воздух при сушке и формировать более крупные частицы, стабилизированные избыточными пузырьками воздуха [16].

Это оказывает существенное влияние на продолжительность регидратации сухого продукта (рис. 3) [17]. Поскольку размеры пузырьков воздуха значительно превышают диаметр растворяемых частиц, на кривых распределения воздух находится в диапазоне более 500 нм. По результатам исследований установлено, что гидролизат сывороточных белков подвергался более полной регидратации и с более высокой скоростью в сравнении с УФ-концентратом подсырной сыворотки. Это обусловлено изменением заряда белков и пептидов в процессе протеолиза, благодаря

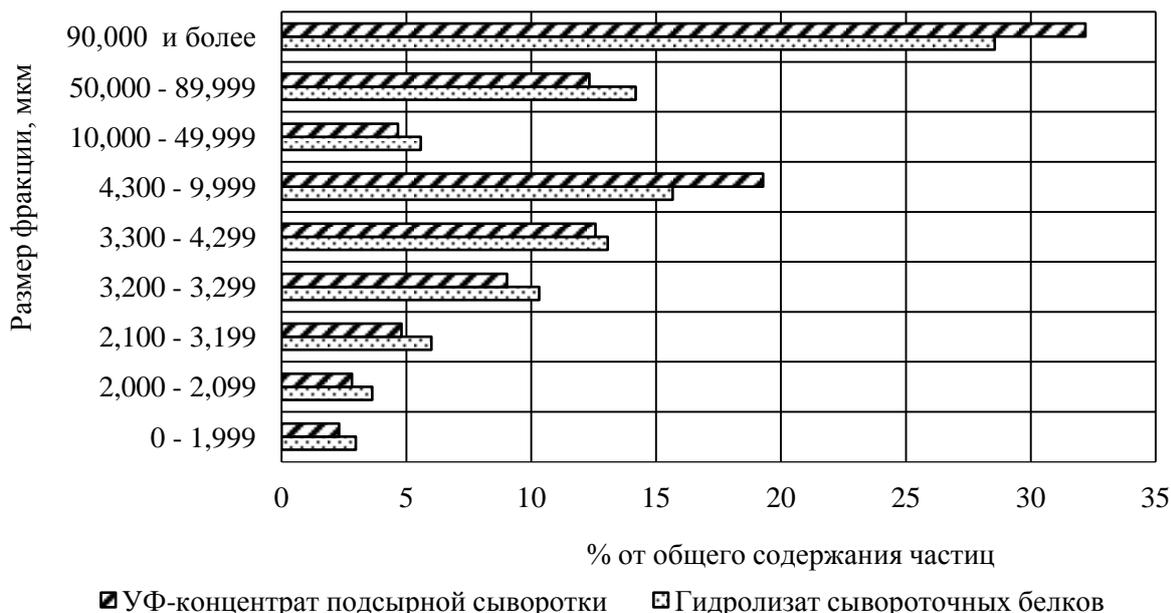


Рис. 2. Распределение высушенных частиц по размерам



Рис. 3. Кривые распределения частиц образцов по размерам

чему увеличилась растворимость азотсодержащих компонентов, а также снизилось количество сорбированного белками воздуха и требовалось меньше времени для разрушения подобных агломератов при восстановлении.

Таким образом, гидролизат сывороточных белков характеризуется лучшими инстантными свойствами в сравнении с УФ-концентратом подсырной сыворотки и может быть рекомендован к применению в технологии продуктов для спортивного питания в качестве источника незаменимых аминокислот и биологически активных пептидов.

Работа выполнялась в рамках гранта Президента РФ на 2020–2021 гг. для молодых ученых – кандидатов наук, соглашение № 075-15-2020-322 (МК-1267.2020.11).

Литература

1. Prosekov A.Y., Ivanova S.A. Food Security: the Challenge of the Present // *Geoforum*. 2018. Vol. 91. P. 73–77.
2. Серафимович А.Е., Просеков А.Ю. Продовольственная безопасность: международно-правовые аспекты и российская правоприменительная практика // *Право. Журнал Высшей школы экономики*. 2018. № 4. С. 235–245.
3. Храмов А.Г., Борисенко А.А., Брацихин А.А., Евдокимов И.А., Борисенко А.А., Борисенко Л.А., Рябцева С.А., Лодыгин А.Д. Вопросы реализации наилучших доступных технологий в пищевой промышленности // *Из-*

вестия высших учебных заведений. Пищевая технология. 2020. № 2-3 (374-375). С. 8–13.

4. Золоторева М.С., Володин Д.Н., Евдокимов И.А., Харитонов В.Д. Мембранные технологии для обеспечения эффективности и безопасности молочного производства // *Молочная промышленность*. 2018. № 5. С. 36–39.

5. Ганина В.И., Ионова И.И. К вопросу о функциональных продуктах питания // *Молочная промышленность*. 2018. № 3. С. 44–47.

6. Потороко И.Ю., Паймулина А.В., Ускова Д.Г., Калинина И.В. Научные и практические аспекты технологий продуктов питания функциональной направленности // *Вестник ЮУрГУ. Серия: Пищевые и биотехнологии*. 2018. Т. 6. № 1. С. 49–59. DOI: 10.14529/food180106

7. Тихомирова Н.А., Титов Е.И., Ионова И.И. Ресурсы вторичного сырья для создания инновационной продукции // *Переработка молока*. 2017. № 10 (216). С. 48–51.

8. Rodionova N.S., Popov E.S., Kustov V.Y., Rodionov A.A., Pozhidaeva E.A., Rodionova N.A., Dyakov A.A. Impact of Mechanical Activation on the Prebiotic Properties of Plant Biological Resources // *International Journal of Civil Engineering and Technology*. 2019. Vol. 10. No 1. pp. 1718–1730.

9. Гарбуз С.А., Забодалова Л.А. Методы получения биологически активных пептидов путем гидролиза молочных белков // *Естественные и технические науки*. 2018. № 2 (116). С. 79–81.

10. Богданова Е.В., Мельникова Е.И. Гидролизаты сывороточных белков в технологии продуктов для спортивного питания // Молочная промышленность. 2018. № 4. С. 45–47.

11. Науменко Н.В., Потороко И.Ю., Калинина И.В., Ненашева А.В., Ботвинникова В.В. Возможности регулирования стресспротекторных свойств продуктов питания для повышения иммунитета организма человека в условиях пандемии Covid-19 // Человек. Спорт. Медицина. 2020. Т. 20. № S1. С. 116–127. DOI: 10.14529/hsm20s115

12. Топникова Е.В., Новокшанова А.Л. Продукты сбалансированного состава для спортивного питания // Молочная промышленность. 2020. № 8. С. 40–42.

13. Бигаева А.В. Продолжительность восстановления сухого обезжиренного молока // Молочная промышленность. 2021. № 6. С. 55–57.

14. Melnikova E.I., Bogdanova E.V. Parameters for proteolysis of β -lactoglobulin derived from cheese whey // Food Biotechnology. 2021. Vol. 35. no 3. pp. 237–251.

15. Тихомирова Н.А., Левин А.Д., Аленичев М.К., Жованник И.Е. Определение размера коллоидных белков молока методом динамического рассеяния света // Молочная промышленность. 2017. № 10. С. 54–55.

16. Радаева И.А., Илларионова Е.Е., Тувровская С.Н., Рябова А.Е., Галстян А.Г. Принципы обеспечения качества отечественного сухого молока // Пищевая промышленность. 2019. № 9. С. 54–57.

17. Effects of Critical Fluctuations of Storage Temperature on the Quality of Dry Dairy Product / A.G. Galstyan, A.N. Petrov, E.E. Illarionova, A.E. Ryabova, [et. al.] // Journal of Dairy Science. 2019. Vol. 102. no 12. pp. 10779–10789. DOI: 10.3168/jds.2019-17229

Мельникова Елена Ивановна, доктор технических наук, профессор кафедры технологии продуктов животного происхождения, Воронежский государственный университет инженерных технологий (г. Воронеж), melnikova@molvest.ru.

Богданова Екатерина Викторовна, кандидат технических наук, доцент кафедры технологии продуктов животного происхождения, Воронежский государственный университет инженерных технологий (г. Воронеж), ek-v-b@yandex.ru.

Поступила в редакцию 16 сентября 2021 г.

DOI: 10.14529/food210405

PRACTICAL ASPECTS OF THE DYNAMIC LIGHT SCATTERING METHOD APPLICABILITY FOR EVALUATION THE SOLUBILITY OF WHEY PROTEIN HYDROLYSATE

E.I. Melnikova, E.V. Bogdanova

Voronezh State University of Engineering Technologies, Voronezh, Russian Federation

Sustainable development of the dairy industry provides for resource saving, reduction of enterprises emissions into the environment as well as preservation of components of raw materials during the processing technological cycle. The presence of a wide range of functional ingredients in the whey composition makes it possible to recommend it as a raw material source in the production of various assortment groups of food products. A promising trend of whey processing is fractionation and drying to obtain products with a long shelf life, high nutritional and biological value. The aim of the work was to study the completeness and kinetics of dissolution of whey protein hydrolysate. The objects of research were the cheese whey obtained during the production of Russian cheese at PJSC DC "Voronezhsky"; its ultrafiltration concentrate (UF-concentrate), developed with a protein concentration factor of 3.7–3.9; whey protein hydrolysate produced using enzyme preparations Promod 439L and Flavorpro 766MDP. The resulting hydrolysate was dried on a spray dryer VRD-5. Based on the analysis of the whey protein nitrogen index the necessary modes of pasteurization of cheese whey and whey protein hydrolysate were determined: $t = (80 \pm 2)^\circ\text{C}$,

$\tau = 15$ sec during subsequent proteolysis in the UF-concentrate; $t = (76 \pm 2)^\circ\text{C}$, $\tau = 15$ sec before direct drying of whey protein hydrolysate. The ability to recombination the dry product was assessed by its particle-size distribution (the main particle size was $56.13 \mu\text{m}$ s for a sample of whey protein hydrolysate and $190.5 \mu\text{m}$ for a UF-concentrate). It was found that the whey protein hydrolysate was subjected to more complete rehydration and at a higher rate in comparison with the UF-concentrate of cheese whey. This is due to a change in the charge of proteins and peptides during proteolysis, which increased the solubility of nitrogen-containing components, as well as reduced the amount of air sorbed by proteins and required less time for the destruction of such agglomerates during recombination.

Keywords: UF-concentrate of cheese whey, proteolysis, whey protein hydrolysate, technological scheme, pasteurization temperature, whey protein nitrogen index, technological drying modes, dynamic light scattering, particle-size distribution, recombination kinetics.

References

1. Prosekov A.Y., Ivanova S.A. Food Security: the Challenge of the Present. *Geoforum*, 2018, vol. 91, pp. 73–77.
2. Serafimovich A.E., Prosekov A.Yu. Food Security: International Legal Aspects and Russian Law Enforcement Practice. *Pravo. Zhurnal Vysshey shkoly ekonomiki* [Pravo. Journal of the Higher School of Economics], 2018, vol. 4, pp. 235–245. (in Russ.)
3. Khrantsov A.G., Borisenko A.A., Bratsikhin A.A., Evdokimov I.A., Borisenko A.A., Borisenko L.A., Ryabtseva S.A., Lodygin A.D. Issues of Implementation of the Best Available Technologies in the Food Industry. *Izvestiya vysshih uchebnykh zavedeniy. Pishchevaya tekhnologiya* [Proceedings of Higher Educational Institutions. Food Technology], 2020, no. 2-3 (374-375), pp. 8–13. (in Russ.)
4. Zolotoreva M.S., Volodin D.N., Evdokimov I.A., Kharitonov V.D. Membrane Technologies to Ensure the Efficiency and Safety of Dairy Production. *Molochnaya promyshlennost'* [Dairy Industry], 2018, no. 5, pp. 36–39. (in Russ.)
5. Ganina V.I., Ionova I.I. On the Question of Functional Food. *Molochnaya promyshlennost'* [Dairy Industry], 2018, no. 3, pp. 44–47. (in Russ.)
6. Potoroko I.Yu., Paimulina A.V., Uskova D.G., Kalinina I.V. Scientific and Practical Aspects of Functional Food Technology. *Bulletin of the South Ural State University. Ser. Food and Biotechnology*, 2018, vol. 6, no. 1, pp. 49–59. (in Russ.) DOI: 10.14529/food180106
7. Tikhomirova N.A., Titov E.I., Ionova I.I. Resources of Secondary Raw Materials for Creating Innovative Products. *Pererabotka moloka* [Processing of milk], 2017, no. 10 (216), pp. 48–51. (in Russ.)
8. Rodionova N.S., Popov E.S., Kustov V.Y., Rodionov A.A., Pozhidaeva E.A., Rodionova N.A., Dyakov A.A. Impact of Mechanical Activation on the Prebiotic Properties of Plant Biological Resources. *International Journal of Civil Engineering and Technology*, 2019, vol. 10, no. 1, pp. 1718–1730.
9. Garbuz S.A., Zabodalova L.A. Methods of Obtaining Biologically Active Peptides by Hydrolysis of Milk Proteins [Metody polucheniya biologicheskii aktivnykh peptidov putem gidroliza molochnykh belkov]. *Estestvennye i tekhnicheskie nauki* [Natural and Technical Sciences], 2018, no. 2 (116), pp. 79–81.
10. Bogdanova E.V., Melnikova E.I. Whey Protein Hydrolysates in Sports Nutrition Technology. *Molochnaya promyshlennost'* [Dairy Industry], 2018, no. 4, pp. 45–47. (in Russ.)
11. Naumenko N.V., Potoroko I.Yu., Kalinina I.V., Nenasheva A.V., Botvinnikova V.V. Possibilities of Regulating Stress-protective Properties of Food to Increase the Immunity of the Human Body in the Context of the Covid-19 Pandemic. *Human. Sport. Medicine*, 2020, vol. 20, no. S1, pp. 116–127. (in Russ.) DOI: 10.14529/hsm20s115
12. Topnikova E.V., Novokshanova A.L. Balanced Sports Nutrition Products. *Molochnaya promyshlennost'* [Dairy Industry], 2020, no. 8, pp. 40–42. (in Russ.)
13. Bigaeva A.V. Duration of Recombination of Skimmed Milk Powder. *Molochnaya promyshlennost'* [Dairy Industry], 2021, no. 6, pp. 55–57. (in Russ.)

14. Melnikova E.I., Bogdanova E.V. Parameters for Proteolysis of β -lactoglobulin Derived from Cheese Whey. *Food Biotechnology*, 2021, vol. 35, no. 3, pp. 237–251.

15. Tikhomirova N.A., Levin A.D., Alenichev M.K., Zhovannik I.E. Determination of the Colloidal Milk Proteins Size by Dynamic Light Scattering. *Molochnaya promyshlennost'* [Dairy Industry], 2017, no. 10, pp. 54–55. (in Russ.)

16. Radaeva I.A., Illarionova E.E., Turovskaya S.N., Ryabova A.E., Galstyan A.G. Principles of Quality Assurance for Domestic Milk Powder. *Pishchevaya promyshlennost'* [Food Industry], 2019, no. 9, pp. 54–57. (in Russ.)

17. Galstyan A.G., Petrov A.N., Illarionova E.E., Semipyatniy V.K., Turovskaya S.N., Ryabova A.E., Khurshudyan S.A., Vafin R.R., Radaeva I.A. Effects of Critical Fluctuations of Storage Temperature on the Quality of Dry Dairy Product. *Journal of Dairy Science*, 2019, vol. 102, no. 12, pp. 10779–10789. DOI: 10.3168/jds.2019-17229

Elena I. Melnikova, Doctor of Sciences (Engineering), Professor of the Department of Technology of Animal-Derived Products, Voronezh State University of Engineering Technologies, Voronezh, melnikova@molvest.ru.

Ekaterina V. Bogdanova, PhD (Engineering), Associate Professor of the Department of Technology of Animal-Derived Products, Voronezh State University of Engineering Technologies, Voronezh, ek-v-b@yandex.ru.

Received September 16, 2021

ОБРАЗЕЦ ЦИТИРОВАНИЯ

Мельникова, Е.И. Практические аспекты применимости метода динамического светорассеяния для оценки растворимости гидролизата сывороточных белков / Е.И. Мельникова, Е.В. Богданова // Вестник ЮУрГУ. Серия «Пищевые и биотехнологии». – 2021. – Т. 9, № 4. – С. 36–43. DOI: 10.14529/food210405

FOR CITATION

Melnikova E.I., Bogdanova E.V. Practical Aspects of the Dynamic Light Scattering Method Applicability for Evaluation the Solubility of Whey Protein Hydrolysate. *Bulletin of the South Ural State University. Ser. Food and Biotechnology*, 2021, vol. 9, no. 4, pp. 36–43. (in Russ.) DOI: 10.14529/food210405
