

И.С. Хамагаева, д-р техн. наук, проф., e-mail: tmpp@eestu.ru

А.В. Щёктова, канд. техн. наук, e-mail: anna-krivonosova@yandex.ru

И.В. Хамаганова, д-р техн. наук, e-mail: trop@esstu.ru

Восточно-Сибирский государственный университет технологий и управления, г. Улан-Удэ

УДК 637.045: 663.052:546.722

КОНЦЕНТРАТ СЫВОРОТОЧНЫХ БЕЛКОВ, ОБОГАЩЕННЫЙ ЖЕЛЕЗОМ

Авторами статьи доказана возможность получения железосодержащего белкового продукта методом химической модификации сывороточных белков и последующим ферментированием белковой массы бифидобактериями. Изучены и теоретически обоснованы закономерности тепловой денатурации белков творожной сыворотки при использовании в качестве коагулянта сульфата железа. Отмечено, что ионы железа повышают биохимическую активность бифидобактерий и интенсифицируют технологический процесс производства ферментированных продуктов. Установлено, что денатурированные сывороточные белки активно атакуются протеиназами бифидобактерий с образованием более простых соединений. На основании проведенных исследований авторами разработана технология ферментированного концентрата сывороточных белков, обогащенного железом. Установлено, что полученные белковые концентраты обладают высокими функциональными и потребительскими свойствами, отличаются повышенным содержанием легкоусвояемого железа и высоким количеством жизнеспособных клеток бифидобактерий.

Ключевые слова: концентрат сывороточных белков, железо, ферментация, бифидобактерии.

I.S. Khamagaeva, Dr. Sc. Engineering, Prof.

A.V. Shchyokotova, Cand. Sc. Engineering

I.V. Khamaganova, Dr. Sc. Engineering

WHEY PROTEIN CONCENTRATE FORTIFIED WITH IRON

The authors have proved the possibility of obtaining iron-containing protein product by the method of chemical modification of whey proteins and subsequent fermenting protein bifidobacteria. They have researched and theoretically grounded patterns of thermal denaturation of whey proteins when used as the coagulant ferric sulphate. It is noted that iron ions increase the biochemical activity of bifidobacteria and intensify the technological process of fermented products' production. It is established that denatured whey proteins are actively attacked by the enzymes of bifidobacteria with the formation of more simple compounds. On the basis of the conducted research the authors have developed the technology of fermented whey protein concentrate fortified with iron. It has been found that the received protein concentrates have high functional and consumer properties and have the increased content of digestible iron and a high number of viable cells of bifidobacteria.

Key words: whey protein concentrate, iron, fermentation, bifidobacteria.

Введение

Концепция оптимального питания предполагает в качестве одного из важнейших условий сохранения здоровья человека адекватную обеспеченность его организма как макро-, так и микронутриентами, в том числе и эссенциальными микроэлементами, в частности железом. Железодефицитные состояния по-прежнему остаются актуальной и во многих отношениях нерешенной проблемой современной медицины. Недостаток железа в организме приводит ко многим негативным последствиям. Одним из них является развитие железодефицитной анемии [1].

Учитывая, что в повседневной жизни человек потребляет железо в составе растительных и животных продуктов и что наличие аминокислот и пептидов, а также белков животного происхождения способствует лучшему усвоению организмом этого микроэлемента,

представляется целесообразным обогащать рационы питания именно органическими формами железа [2]. Известно, что лучше усваиваются хорошо растворимые (хелатированные) препараты железа, в которых элемент находится в виде Fe^{2+} . Примером классического хелата служит гемоглобин, где атом железа окружен белковой оболочкой [3].

По нашему мнению, наиболее удобным объектом для обогащения железом являются сывороточные белки, поскольку они близки к глобинам и обладают высокой биологической ценностью. Сывороточные белки могут служить дополнительным источником незаменимых аминокислот. Это позволяет отнести их к полноценным белкам, используемым организмом для структурного обмена, образования гемоглобина и плазмы крови.

Выделение сывороточных белков основано на их физико-химических свойствах. В настоящее время широко распространены кислотно-тепловой способ коагуляции при значениях pH, близких к изоэлектрической точке, и мембранные методы (ультрафильтрация, ионный обмен, электродиализ и др.) [4]. Коагуляция белков из сыворотки с введением химических реагентов изучена недостаточно. В связи с этим, представляет интерес исследование режимов выделения сывороточных белков комплексным методом, тепловой денатурацией и введением реагентов, содержащих двухвалентное железо.

Денатурация сывороточных белков и последующая биологическая обработка с помощью бифидобактерий позволят снизить алергизирующее действие сывороточных белков. Кроме того, бифидобактерии будут обеспечивать поддержание нормального состава и функциональной активности микрофлоры кишечника человека [5].

Цель данной работы – разработка технологии ферментированного концентрата сывороточных белков, обогащенного железом для диетической коррекции железодефицитных состояний.

Материалы и методы

В качестве сырья для концентрата сывороточных белков (КСБ) использовалась творожная сыворотка. Выделение сывороточных белков осуществлялось тепловой денатурацией с добавлением 10% раствора $FeSO_4$. Для ферментации белковой массы применялась активная закваска бифидобактерий *B. longum* В 379М (ТУ 9229-001-02069473-98).

Физико-химические показатели определяли по стандартным методикам: массовую долю железа определяли по ГОСТ 26928-86; протеолитическую активность определяли по методике Э.Г. Грудзинской и А.К. Максимовой по сумме трех свободных аминокислот (тирозина, триптофана и цистеина в пересчете на тирозин); титруемую кислотность по ГОСТ 3624-92; активной кислотности – потенциметрическим методом на приборе pH-222.2 по ГОСТ 26781; массовую долю влаги – по ГОСТ 29246-91; индекс растворимости – по ГОСТ 30305.4-95. Микробиологические показатели определяли в соответствии с нормативной базой: количество клеток бифидобактерий определяли методом предельных разведений на плотной агаризованной среде ГМК по ТУ 10-10-02-789-192-95.

Обработка результатов экспериментов проводилась с помощью известных методов математической статистики с использованием MS Excel.

Результаты и обсуждение

С целью получения белков, обогащенных железом на первом этапе исследований изучали влияние дозы коагулянта и режимы тепловой обработки на степень использования сывороточных белков (табл. 1).

Полученные данные свидетельствуют о том, что процесс коагуляции в зависимости от дозы сульфата железа и продолжительности выдержки идет в узких пределах и скачкообразно. Максимальная степень использования сывороточных белков отмечена при температуре 95 °С, дозе сульфата железа 1,0 г/л и продолжительности выдержки 5 мин. При этом степень использования белка составляет 86,6% (см. табл. 1). Дальнейшая выдержка не приводит к заметному повышению степени использования сывороточных белков.

Таблица 1

Влияние режимов коагуляции на степень использования сывороточных белков

Температура коагуляции, °С	Доза FeSO ₄ , г/л	Выдержка, мин	Степень использования белков, %	Мутность сыворотки, в усл. ед.
90	0,8	7	65,9	0,023
	1,0	5	68,2	0,021
	1,2	3	70,2	0,018
95	0,8	7	84,3	0,016
	1,0	5	86,6	0,007
	1,2	3	86,8	0,007
98	0,8	7	85,5	0,014
	1,0	5	86,8	0,007
	1,2	3	86,9	0,006

Согласно литературным данным существенное влияние на минеральный обмен оказывают бифидобактерии, которые составляют основу нормальной микрофлоры желудочно-кишечного тракта [6]. Поэтому в дальнейших исследованиях концентрат сывороточных белков ферментировали активной закваской чистых культур бифидобактерий.

Ферментацию проводили при оптимальной для *B. longum* В 379М температуре культивирования: (37±1)°С с внесением различной дозы закваски. Изменение титруемой и активной кислотности, а также количества жизнеспособных клеток бифидобактерий при ферментации белковых сгустков представлено на рисунках 1 и 2.

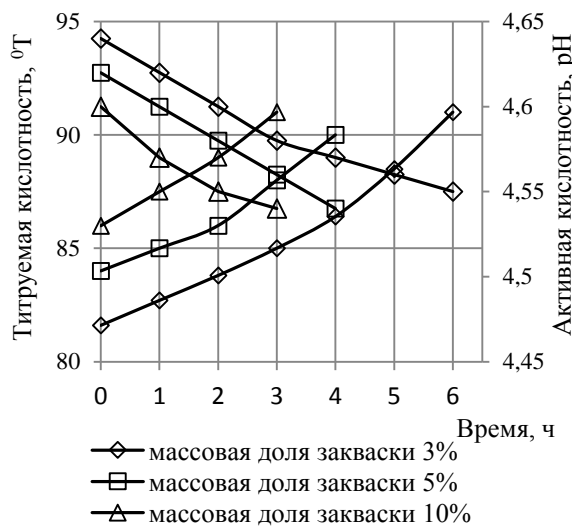


Рисунок 1 – Влияние дозы закваски на активность кислотообразования

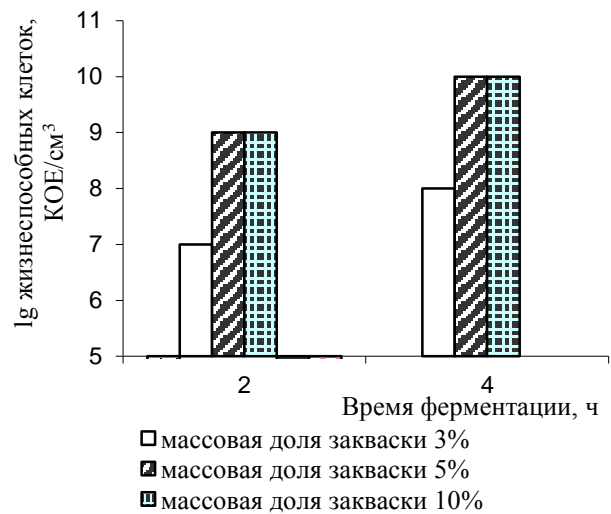


Рисунок 2 – Влияние дозы закваски бифидобактерий на рост клеток

Анализ данных рисунка 1 показывает, что с увеличением дозы закваски с 3 до 5 % наблюдается повышение титруемой кислотности. При этом процесс ферментации при внесении 5 % закваски сокращается на 2 ч. Количество клеток бифидобактерий при данной дозировке закваски через 4 ч ферментации составляет 10¹⁰ КОЕ/см³ (рис. 2). Дальнейшее повышение дозы закваски до 10% не дает значительного эффекта (см. рис. 1 и 2).

В следующей серии экспериментов изучали процесс протеолиза белков при ферментации. О протеолизе белков судили по накоплению тирозина (рис. 3).

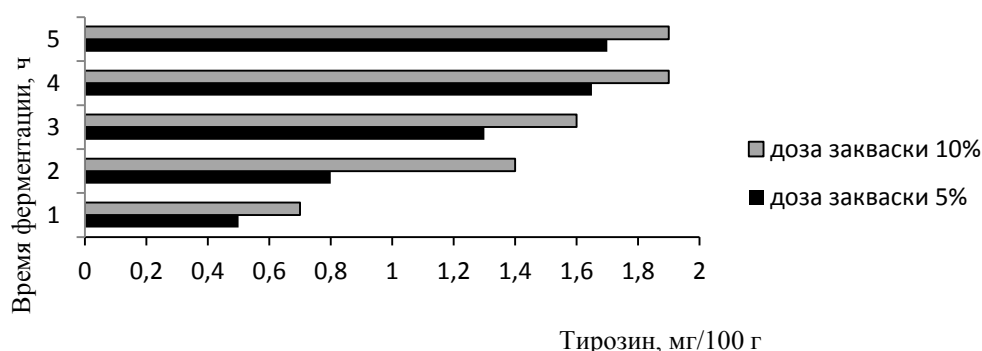


Рисунок 3 – Влияние дозы закваски на протеолиз белков КСБ

Из результатов исследований, представленных на рисунке 3, видно, что накопление тирозина во всех образцах идет достаточно интенсивно. Так, через 2 ч культивирования содержание тирозина при внесении 5 и 10% закваски составляет 0,8 и 1,4 мг/100 г, а в конце ферментации содержание тирозина повысилось до 1,7 и 1,9 мг/100 г соответственно. Это свидетельствует о высокой протеолитической активности бифидобактерий, протеиназы которых расщепляют денатурированные сывороточные белки с образованием более простых соединений. Высокая биологическая ценность сывороточных белков, вероятно, создает благоприятные условия для развития бифидобактерий.

В таблице 2 приведены данные, характеризующие влияние процесса ферментации на основные органолептические и физико-химические показатели белковой массы железосодержащих КСБ.

Таблица 2

Характеристика белковой массы

Показатели	Белковая масса	Ферментированная белковая масса
Вкус и запах	Чистый, со специфическим привкусом сывороточных белков	Чистый, кисломолочный
Консистенция	Однородная, мажущаяся	
Цвет	Белый, с сероватым оттенком	
Массовая доля сухих веществ не менее, %	20	20
Титруемая кислотность, °Т не выше	82	93
Содержание железа, мг/кг	81,8	91,5
Кол-во клеток бифидобактерий, КОЕ/1 см ³	-	10 ⁹

Как видно из данных таблицы 2, процесс ферментации способствует переходу железа в белковую массу и она содержит высокое количество жизнеспособных клеток бифидобактерий.

Для получения белковой массы со стандартными показателями были проведены исследования по определению продолжительности процесса самопрессования. В результате исследований установлено, что процесс самопрессования при температуре (20±2)°С в течение (1-1,5) ч обеспечивает получение готового продукта с требуемыми показателями.

При изучении сроков хранения белковой массы нами обнаружено, что титруемая кислотность ферментированной белковой массы понижалась, и через 12 сут хранения составляла 82 °Т и соответствовала значению титруемой кислотности до ферментации. Это явление, вероятно, можно объяснить взаимодействием ионов железа с молочной кислотой и образованием лактата железа. Снижение кислотности оказывает благоприятное действие на жизнеспособность бифидобактерий в процессе хранения.

Для продления сроков хранения ферментированного КСБ изучали возможность сохранения качества белка методом сублимационной сушки. Температурный режим сушки выби-

рали с учетом термоустойчивости бифидобактерий: температура (40-45)°С, продолжительность (22-24) ч. Продолжительность сушки контролировали по остаточной влажности (не более 5%).

Качественная характеристика комплексной пищевой добавки, полученной методом сублимационной сушки, представлена в таблице 3.

Таблица 3

Характеристика сухой железосодержащей белковой добавки

Показатели		Сухая ферментированная белковая добавка
Вкус и запах		Чистый, кисломолочный
Консистенция		Мелкий сухой порошок. Допускается незначительное количество легко рассыпающихся комочков
Цвет		Белый, с сероватым оттенком
Массовая доля влаги, %		4
Содержание железа, мг/кг		420,1
Растворимость, мл сырого остатка		2
Кол-во клеток бифидобактерий, КОЕ/1 см ³		3·10 ⁹
Масса продукта, г, в котором не допускаются	БГКП (колиформы)	1
	патогенные (в том числе сальмонеллы)	25
	стафилококки <i>S.aureus</i>	1
	листерии <i>L. monocytogenes</i>	–
Дрожжи, плесени, КОЕ/см ³ (г), не более		–

Из данных таблицы 3 следует, что комплексная пищевая добавка содержит железо в легкоусвояемой органической форме. Ферментация белковой массы улучшает органолептические свойства белков и снижает их аллергизирующее действие. Высокое количество жизнеспособных клеток бифидобактерий (10⁹ КОЕ/см³) придает пищевой добавке дополнительные свойства эубиотика, регулирующего состав микрофлоры кишечника.

На основе полученных экспериментальных данных разработана технология производства сухого концентрата сывороточных белков, обогащенного железом (рис. 4).



Рисунок 4 – Технологическая схема производства сухого КСБ, обогащенного железом

Выводы

В результате проведенных исследований выбраны оптимальные технологические режимы выделения сывороточных белков из творожной сыворотки при использовании в качестве коагулянта сульфата железа, а также рациональные режимы ферментации белковой массы (доза закваски – 5%, продолжительность ферментации – 4 ч). Установлено, что *V. longum* В 379М обладает достаточно высокой протеолитической активностью и расщепляет денатурированные сывороточные белки. Подобраны оптимальные режимы процесса самопрессования, обеспечивающие получение продукта с требуемыми показателями. Отмечено, что мягкие режимы сублимационной сушки позволяют получить продукт с высоким количеством жизнеспособных клеток бифидобактерий (10^9 КОЕ/см³) и длительным сроком хранения.

Предлагаемая технология позволяет получить железосодержащую пищевую белковую добавку, обладающую полифункциональными свойствами и высокой биологической ценностью. КСБ, обогащенный железом, представляет собой комплексный белковый продукт, использование которого позволит восполнить дефицит белка, крайне важного микронутриента железа, а также нормализовать микроэкологию желудочно-кишечного тракта.

Библиография

1. Струтынский А.В. Диагностика и лечение железодефицитных анемий // Русский медицинский журнал. – 2014. – № 11. – С. 839–844.
2. Хамагаева И.С., Кривоносова А.В. Влияние сульфата железа на пропионовокислые бактерии // Молочная промышленность. – 2009. – № 6. – С. 71–72.
3. Хелаты // Химическая энциклопедия. – М.: Большая российская энциклопедия, 1998. – Т. 5. – С. 224–225.
4. Ельчанинов В.В. Некоторые технологические аспекты получения сывороточных белков коровьего молока. Получение молочной сыворотки и продуктов, обогащенных сывороточными белками // Молочная промышленность. – 2015. – № 3. – С. 64–66.
5. Булатова Е.М., Богданова Н.М., Лобанова Е.А. и др. Кишечная микробиота: современные представления // Педиатрия. – 2009. – Т. 87, № 3. – С. 104–111.

Bibliography

1. Strutytsky A.V. Diagnosis and treatment of iron-deficiency anemia // Russkij medicinskij zhurnal. – 2014. – N 11. – P. 839–844.
2. Khamagaeva I.S, Krivonosova A.V. The effect of ferrous sulfate on the synthesis of extracellular factors of adaptation of propionic acid bacteria // Molochnaja promyshlennost'. – 2009. – N 6. – P. 71–72.
3. Chelates // Chemical encyclopedia. – M.: Bol'shaja Rossijskaja jenciklopedija, 1998. – Vol. 5. – P. 224–225.
4. Elchaninov V.V. Some technological aspects of obtaining whey proteins of cow's milk. Getting whey and products enriched with proteins // Molochnaja promyshlennost'. – 2015. – N 3. – P. 64–66.
5. Bulatova E.M., Bogdanova N.M., Lobanova E.A. et al. Intestinal micro-biota: current understanding // Pediatrija. – 2009. – Vol. 87, N 3. – P. 104–111.