

На правах рукописи



ШЕВЯКОВА КСЕНИЯ АЛЕКСАНДРОВНА

**РАЗРАБОТКА ГИДРОЛИЗАТА СЫВОРОТОЧНЫХ БЕЛКОВ И
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕШЕНИЯ ЕГО ПРИМЕНЕНИЯ В ТЕХНОЛОГИЯХ
ПИЩЕВЫХ СИСТЕМ**

Специальность 05.18.04 – Технология мясных, молочных и рыбных продуктов и
холодильных производств

Автореферат

диссертации на соискание ученой степени
кандидата технических наук

Кемерово 2018

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Кемеровский государственный университет» (ФГБОУ ВО «КемГУ»)

Научный руководитель: доктор технических наук, доцент
Курбанова Марина Геннадьевна

Официальные оппоненты: **Майоров Александр Альбертович**, доктор технических наук, профессор, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный Алтайский научный центр агробiotехнологий», Сибирский научно-исследовательский институт сыроделия, заместитель директора

Коновалов Сергей Александрович, кандидат технических наук, доцент, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Омский государственный аграрный университет им. П.А. Столыпина», кафедра продуктов питания и пищевой биотехнологии, заведующий кафедрой

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Дальневосточный государственный аграрный университет»

Защита диссертации состоится «22» декабря 2018 года в 12.00 ч. на заседании диссертационного совета Д 212.088.10 в ФГБОУ ВО «Кемеровский государственный университет» по адресу: 650056, г. Кемерово, б-р Строителей, 47, 4 лекц. ауд., тел.: (8-384-2)39-05-37.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на официальном сайте ФГБОУ ВО «Кемеровский государственный университет» <https://kemsu.ru/science/dissertation-councils/diss-212-088-10/protects/1603/>

Отзывы на автореферат опрашивать по адресу: 650000, г. Кемерово, ул. Красная, 6.

Автореферат разослан « _____ » _____ 2018 года.

Ученый секретарь
диссертационного совета

О.В. Кригер

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность работы. Тенденция настоящего времени показывает существенные отклонения в пищевом рационе современного человека основных белковых веществ, как в количественном, так и в качественном отношении. Одним из перспективных, экономически приемлемых и научно обоснованных путей решения проблемы, связанной с коррекцией структуры питания, по мнению многих ученых и практиков в России и за рубежом, является производство и внедрение биологически активных добавок и пищевых функциональных ингредиентов, которые содержат в необходимом количестве комплекс веществ животного и растительного происхождения, необходимых организму.

Молочные сывороточные белки считаются самыми полноценными в природе пищевыми белками. Для ускорения обмена веществ и увеличения усвоения белковых компонентов в организме необходимо, чтобы белки поступали в виде короткоцепочных пептидов и аминокислот. Одним из перспективных способов их получения является ферментативный гидролиз, в результате которого образуются белковые гидролизаты – продукты, обладающие высокой биологической ценностью, за счет сбалансированного содержания свободных аминокислот и пептидов. Кроме этого, благодаря своим ценным функциональным и технологическим свойствам гидролизаты сывороточных белков (ГСБ), могут быть использованы как в качестве готового продукта, так и в качестве аминокислотного обогатителя в технологиях пищевых продуктов.

В условиях экономических санкций и отсутствия на рынке гидролизатов сывороточных белков, выпускаемых отечественной промышленностью, возникает необходимость создания технологии их получения. Все вышеизложенное указывает на актуальность темы настоящей диссертационной работы.

Степень разработанности темы исследования. Существенный вклад в исследование белковой системы молока и изучение процесса гидролиза белков молочного сырья внесли К.К. Горбатова, Г.Б. Гаврилов, З.Х. Диланян, П.Ф. Дьяченко, И.А. Евдокимов, П.Ф. Крашенинин, В.И. Круглик, Г.Н. Крусь, Н.Н. Липатов, Н.Н. Липатов (мл.), А.А. Майоров, Л.А. Остроумов, А.Ю. Просеков, Г.Ю. Сажин, В.Д. Харитонов, А.Г. Храмцов, А.М. Шалыгина, М. К. Schmide, S. L. Taylor, J. A. Nordlee, W. J. Lahl, S. D. Braun, и другие отечественные и зарубежные ученые. Исследованиям параметров сушки продуктов питания посвятили свои труды О.Н. Буянов, А.С. Гинзбург, В.А. Ермолаев, Т.Е. Кокшарова, П.О. Крашенинин, И.А. Короткий, П.Д. Лебедев, А.В. Лыков, В.Д. Харитонов и другие отечественные ученые.

Цель и задачи. Целью данной диссертационной работы является исследование биотехнологических закономерностей получения гидролизата сывороточных белков и рассмотрение возможности его применения в технологиях пищевых систем.

В соответствии с поставленной целью были определены следующие задачи:

- подобрать энзиматическую систему для гидролитического расщепления сывороточных белков;
- исследовать закономерности ферментативного гидролиза концентратов сывороточных белков;
- определить рациональные параметры вакуумной сушки гидролизатов сывороточных белков (ГСБ) ;
- разработать технологию сухого гидролизата сывороточных белков;
- провести комплексное исследование показателей качества и безопасности сухого гидролизата сывороточных белков;
- разработать нормативную техническую документацию на сухой гидролизат сывороточных белков;
- разработать технологическое решение по включению гидролизата сывороточных белков в состав кисломолочного продукта;
- оценить экономическую эффективность производства сухого гидролизата сывороточных белков.

Научная новизна. Экспериментально исследована и научно обоснована биотехнологическая сущность получения гидролизатов сывороточных белков молока ферментативным способом. Подобраны энзиматические системы для проведения ферментативного гидролиза концентрата сывороточных белков, позволяющие получить максимальное расщепление белковых молекул. Получены зависимости, описывающие динамику накопления свободных аминокислот, молекулярно-массовое распределение белков и пептидов в результате ферментативного гидролиза.

Установлены режимы вакуумной сушки гидролизатов сывороточных белков, а также наличие корреляции между режимами сушки и количеством удаленной влаги. Определены параметры сушки гидролизатов сывороточных белков позволяющие получить качественный продукт.

Разработаны технологические параметры производства сухого гидролизата сывороточных белков.

На основании результатов проведенных исследований показана возможность использования сухого гидролизата сывороточных белка в составе пищевых систем.

Разработан проект нормативной технической документации на сухой гидролизат сывороточных белков.

Теоретическая и практическая значимость. Полученные в работе результаты могут явиться основой для дальнейших перспективных разработок в области создания новых формул гидролизатов сывороточных белков и продуктов питания повышенной пищевой и биологической ценности.

Практическая значимость работы состоит в разработке технологии сухого гидролизата сывороточных белков, который в свою очередь может быть использован в технологических решениях производства пищевой продукции, адаптированной к условиям отечественного производства.

Отдельные этапы работы выполнены в рамках финансовой поддержки гранта Президента Российской Федерации МК 6996.2013.4, договор №14.124.13.6996 МК по теме «Исследование и разработка технологии новых белковых препаратов направленного действия для использования в биотехнологии производства функциональных продуктов».

Теоретические и практические аспекты работы используются в учебном процессе кафедры «Бионанотехнология» и в деятельности Научно-исследовательского института биотехнологии ФГБОУ ВО «Кемеровский государственный университет». Применяются при проведении лекционных и практических занятий для бакалавров и магистров по направлению подготовки «Биотехнология».

Осуществлен выпуск опытной партии кисломолочного продукта с добавлением гидролизата сывороточных белков на предприятии ООО «МПК».

Методология и методы исследования. Экспериментальные исследования проводили с учетом современной методологии исследования сложных явлений с помощью общепринятых, стандартных и оригинальных методов биохимического, хроматографического, физико-химического и микробиологического анализа с использованием последних достижений науки и техники.

Основные положения, выносимые на защиту. Закономерности ферментативного гидролиза концентрата сывороточных белков; результаты исследований влияния технологических параметров на процесс вакуумной сушки и качественные показатели сухого сывороточного гидролизата; технологическая схема и описание технологии сухого гидролизата сывороточных белков и кисломолочного продукта.

Степень достоверности результатов и апробация работы.

Основные положения и результаты диссертационного исследования были предметом обсуждения на научно-практических конференциях международного, межрегиональных уровнях: II Международная научно-практическая конференция «Высокие интеллектуальные технологии в науке и образовании» (Санкт-Петербург, 2017); Международная научно-практическая конференция «Актуальные направления научных исследований» (Самара, 2017); Международная научно-практическая конференция «Современные проблемы и перспективные направления инновационного развития науки» (Оренбург, 2017); Международная научно-практическая конференция «Новые информационные технологии» (Челябинск, 2017); XIV Международная научно-практическая конференция «Пища. Экология. Качество труда» (Новосибирск, 2017); XV Международная научно-практическая конференция «Пища. Экология. Качество труда» (Новосибирск, 2018); Международная научно-практическая конференция «Становление и развитие новой парадигмы инновационной науки в условиях современного общества» (Стерлитамак, 2018), Международная научно-практическая конференция «Внедрение результатов инновационных разработок: проблемы и перспективы» (Казань, 2018).

Соответствие диссертации паспорту научной специальности. Содержание диссертации соответствует паспорту научной специальности

05.18.04 – технология мясных, молочных и рыбных продуктов и холодильных производств:

- изучение состава и свойств сырья и закономерностей формирования заданных качественных показателей мясных, молочных и рыбных продуктов, их холодильной обработки и хранения.

- разработка принципов переработки сырья животного происхождения, включая побочные продукты, создание технологий производства и хранения мясных, молочных и рыбных продуктов, в том числе для детского, здорового и специального питания;

- производство модифицированных пищевых добавок и продуктов с использованием мясного, молочного и рыбного сырья;

- создание технологий мясных, молочных и рыбных продуктов с использованием микробиологических, ферментных, биокорректирующих, биологически активных и функциональных веществ, пищевых красителей и ароматизаторов.

Публикации. По материалам диссертации опубликовано 11 печатных работ, в том числе 2 статьи в журналах, рекомендованных ВАК РФ.

Содержание и структура диссертации. Диссертационная работа состоит из введения, 4 глав основного текста, выводов, списка литературы, включающего 214 источников информации. Основное содержание работы изложено на 132 страницах машинописного текста, содержит 37 таблиц и 33 рисунка.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОЙ РАБОТЫ

Во введении обоснована актуальность темы, сформулированы цель и задачи исследования, раскрыта научная новизна, определена теоретическая и практическая значимость работы.

В первой главе приведен анализ отечественных и зарубежных источников научно-технической литературы, в котором оповещено состав и ценность сывороточных белков молока, рассмотрены технологические аспекты получения сывороточных белков. Дана характеристика влажных материалов как объекта сушки, проанализирована классификация форм связи влаги. Представлен анализ способов сушки пищевых продуктов и основных типов сушильных установок с описанием преимуществ и недостатков. Проанализирован спектр практического применения гидролизатов сывороточных белков.

Вторая глава посвящена организации эксперимента, описанию объектов и методов их исследования. Основные этапы теоретических и экспериментальных исследований работы проводились на базе кафедры «Бионанотехнология» Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Кемеровский государственный университет» в соответствии с поставленными задачами.

Ряд исследований проводили в научно-исследовательском институте биотехнологии (НИИ биотехнологии) при ФГБОУ ВО «КемГУ». Диссертационное исследование проводилось согласно методологической схеме, которая приведена на рисунке 1. Весь цикл исследований состоял из нескольких взаимосвязанных этапов.



Рисунок 1 - Общая схема проведения исследований

В третьей главе представлены результаты собственных исследований и их изучение.

Самыми ценными с физиологической стороны являются белковые гидролизаты, полученные ферментативным способом. Поэтому для создания гидролизатов сывороточных белков, необходимо определить рациональные параметры ферментативного гидролиза, позволяющие перевести белковый материал в растворимые пептидно-аминокислотные смеси.

Для гидролиза сывороточных белков целесообразно использование ферментных препаратов, характеризующихся экзо- и эндопептидазной активностью. Эндопептидазы характеризуются более широким спектром pH, при кото-

ром они проявляют наибольшую протеолитическую активность по сравнению с экзопептидазами.

На данном этапе исследования был проведен сравнительный анализ ферментных препаратов, обладающих эндопептидазной активностью: термолизин (КФ 3.4.24.27), папаин (КФ 3.4.22.2), бромелайн (КФ 3.4.22.32(33)). В качестве субстрата использовали образцы концентрата сывороточных белков, с массовой долей белка 60 %. Ферментативное расщепление сывороточных белков осуществляли при температуре реакционной среды (50 ± 1) °C, pH ($7,5 \pm 0,1$) и постоянном помешивании в течение ($10 \pm 0,05$) ч, при фермент-субстратном соотношении 1:100.

По результатам эксперимента установлено, что процесс ферментативного гидролиза протекает одинаково эффективно при использовании в качестве протеолитических агентов ферментных препаратов термолизин (КФ 3.4.24.27) и бромелайн (КФ 3.4.22.32(33)). Степень гидролиза концентрата сывороточных белков составила ($32,45 \pm 1,6$) % и ($33,59 \pm 1,7$) % соответственно. При использовании ферментного препарата папаин (КФ 3.4.22.2) степень гидролиза составила ($30,68 \pm 1,5$) %.

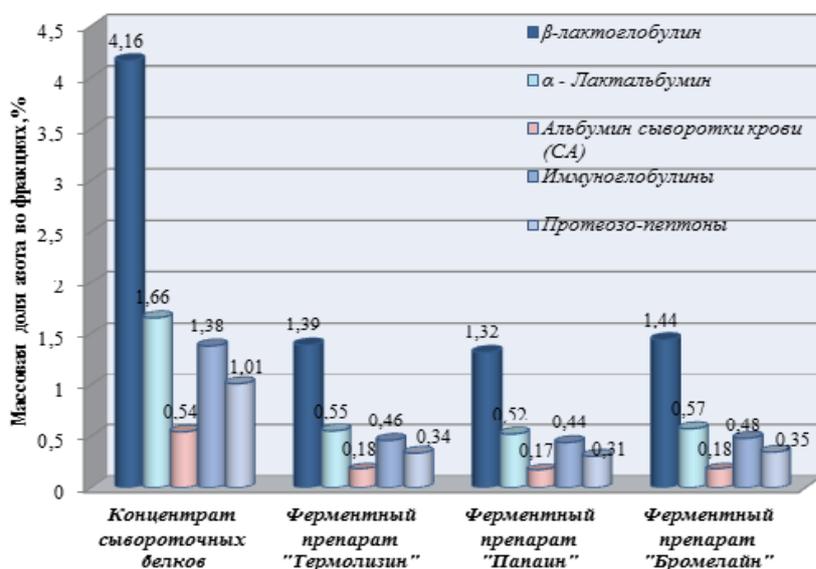


Рисунок 2– Фракционный состав концентрата сывороточных белков до и после ферментативного гидролиза (n=5)

на рисунке 2, можно отметить, что после внесения ферментных препаратов наблюдается сокращение массовой доли каждой из фракций сывороточных белков, что говорит о расщеплении белковых молекул.

Также с целью оценки свойств ферментных препаратов определяли общее содержание свободных аминокислот, среди которых было установлено наличие незаменимых (валин, изолейцин, лейцин, лизин, метионин, треонин, триптофан, фенилаланин) и заменимых (аланин, аргинин, аспарагиновая кислота, гистидин, глицин, глутаминовая кислота, пролин, серин, тирозин, цистеин) аминокислот. Полученные результаты позволили выбрать для дальнейшей работы ферментные препараты, обладающие эндопептидазной активностью – термолизин и бромелайн.

Для получения гидролизата сывороточных белков с высокой степенью гидролиза в последующей серии экспериментов наряду с эндопептидазами ис-

Белковые гидролизаты, полученные с применением разных ферментов, могут иметь близкие или одинаковые значения степени гидролиза, но совершенно разное содержание отдельных белковых фракций. На рисунке 2 приведены данные фракционного состава концентрата сывороточных белков до и после ферментативного гидролиза.

На основании представленных данных

пользовали экзопептидазы– карбоксипептидазу А (КФ 3.4.17.1) и лейцинаминопептидазу (КФ 3.4.1.1) при равноколичественном соотношении 1:1:1.

Дальнейшая работа велась в направлении изучения влияния продолжительности гидролиза концентрата сывороточных белков энзиматическими системами на состав и свойства получаемых гидролизатов. Гидролиз вели при активной кислотности рН ($7,5 \pm 0,1$), оптимальной температуре для данных комплексов (50 ± 1) °С в течение ($24 \pm 0,05$) ч (таблица 1).

Таблица 1 – Степень гидролиза концентрата сывороточных белков энзиматическими системами при различной продолжительности процесса (n=5)

Степень гидролиза в присутствии энзиматических систем, %	Продолжительность гидролиза, ч			
	4±0,05	8±0,05	16±0,05	24±0,05
Термолизин, карбоксипептидаза А, лейцинаминопептидаза (1:1:1)	18,54±0,8	34,59±1,7	51,84±1,9	79,19±2,1
Бромелайн, карбоксипептидаза А, лейцинаминопептидаза (1:1:1)	20,44±0,6	38,33±1,3	54,71±1,3	82,11±2,6

Представленные данные позволяют заключить, что при проведении ферментативной модификации сывороточных белков с использованием протеолитических ферментных систем степень гидролиза возрастает с увеличением продолжительности процесса.

С целью детального анализа закономерностей ферментативного гидролиза с применением ферментного комплекса анализировали фракционный состав сывороточных белков (таблица 2).

Таблица 2 – Фракционный состав сывороточных белков в результате обработки энзиматическими системами (n=5)

Образец	Массовая доля азота во фракциях, %					
	общее содержание	β-лактоглобулин	α - Лактальбумин	альбумин сыворотки крови	иммуноглобулины	протеозопептоны
До ферментации	8,75±0,51	4,16±0,13	1,66±0,08	0,54±0,02	1,38±0,08	1,01±0,05
После ферментации термолизином, карбоксипептидазой А, лейцинаминопептидазой (1:1:1)	1,82±0,16	0,55±0,04	0,25±0,04	0,23±0,01	0,21±0,05	0,58±0,05
После ферментации бромелайном, карбоксипептидазой А, лейцинаминопептидазой (1:1:1)	1,68±0,13	0,54±0,04	0,20±0,02	0,13±0,01	0,17±0,05	0,64±0,05

Согласно данным приведенным в таблице 2, можно сделать вывод о том, что энзиматические системы практически полностью гидролизуют β-лактоглобулиновую фракцию, остальные фракции сывороточных белков подвергаются биохимической трансформации.

Для изучения глубины гидролиза комплексом протеолитических ферментов определяли молекулярно-массовое распределение белков и пептидов, в зависимости от продолжительности процесса ферментации. В таблице 3 представлены данные по молекулярной массе, образовавшихся продуктов ферментативного гидролиза.

Таблица 3 – Молекулярно-массовое распределение белков и пептидов в результате ферментативного гидролиза энзиматическими системами при различной продолжительности процесса (n=5)

Молекулярная масса, кДа	Продолжительность гидролиза, ч			
	4±0,05	8±0,05	16±0,05	24±0,05
Массовая доля фракций при обработке энзиматической системой термолизин, карбоксипептидаза А, лейцинаминопептидаза, %				
Более 30	5,56±0,28	2,21±0,06	-	-
20-30	10,32±0,52	3,45±0,17	1,10±0,06	-
20-10	20,36±1,02	21,69±1,08	11,72±0,59	4,89±0,24
10-5	26,64±1,28	29,15±1,45	24,05±1,20	14,67±0,63
Менее 5	37,12±1,91	43,50±2,22	63,13±3,16	80,44±4,12
Массовая доля фракций при обработке энзиматической системой бромелайн, карбоксипептидаза А, лейцинаминопептидаза, %				
Более 30	5,14±0,26	1,44±0,07	-	-
20-30	12,21±0,61	4,88±0,24	1,23±0,06	-
20-10	22,66±1,13	21,36±1,07	13,22±0,66	4,55±0,23
10-5	24,44±1,22	26,89±1,34	17,21±0,86	9,81±0,49
Менее 5	35,55±1,78	45,43±2,27	68,34±3,42	85,64±4,28

Установлено, что продолжительность гидролиза влияет не только на вовлечение в процесс новых молекул белка с тем же распределением пептидных продуктов реакции, но и на динамику накопления свободных аминокислот в образующемся гидролизате (таблицы 4 и 5).

Таблица 4 – Динамика накопления свободных аминокислот в результате гидролиза энзиматической системой бромелайн, карбоксипептидаза А, лейцинаминопептидаза при различной продолжительности процесса, % (n=5)

Аминокислоты	Исходный образец белка	Продолжительность гидролиза, ч			
		4±0,05	8±0,05	16±0,05	24±0,05
Незаменимые аминокислоты					
Валин	5,63±0,33	1,23±0,06	2,29±0,11	4,27±0,21	5,36±0,27
Изолейцин	6,21±0,26	0,96±0,05	1,80±0,09	2,02±0,10	4,56±0,23
Лейцин	12,3, ±0,46	1,69±0,08	3,26±0,16	5,02±0,25	9,59±0,48
Лизин	9,12±0,33	1,21±0,06	2,25±0,11	3,52±0,18	6,30±0,32
Метионин	2,29±0,13	0,48±0,02	0,80±0,04	1,19±0,06	2,28±0,11
Треонин	5,25±0,20	0,75±0,04	1,40±0,07	1,89±0,09	2,59±0,13
Триптофан	1,32±0,07	0,35±0,01	0,56±0,03	0,66±0,03	0,95±0,05
Фенилаланин	4,58±0,23	0,85±0,04	1,58±0,08	2,11±0,11	3,55±0,18
Заменимые аминокислоты					
Аланин	2,78±0,14	0,51±0,03	0,96±0,05	1,96±0,09	2,47±0,12
Аргинин	4,09±0,20	0,76±0,04	1,41±0,07	2,21±0,11	3,01±0,15
Аспарагиновая кислота	5,39±0,32	1,20±0,06	2,24±0,11	4,51±0,23	6,29±0,31
Гистидин	2,22±0,11	0,41±0,02	0,77±0,04	0,93±0,05	1,10±0,06

Глицин	2,09±0,13	0,50±0,02	0,93±0,05	1,12±0,06	1,82±0,09
Глутаминовая кислота	16,18±0,96	3,45 ±0,17	6,83±0,34	10,02±0,50	15,43±0,77
Пролин	9,45±0,47	1,75±0,09	3,37±0,17	4,02±0,20	5,85±0,29
Серин	6,81±0,34	1,36±0,06	2,46±0,12	3,55±0,18	4,67±0,23
Тирозин	3,86±0,29	1,09±0,05	2,03±0,10	2,76±0,14	2,99±0,15
Цистеин	0,43±0,02	0,09±0,01	0,15±0,01	0,28±0,01	0,60±0,03
Всего	100±5,0	18,64±0,8	35,09±1,7	52,04±1,9	84,41±2,1

Таблица 5 – Динамика накопления свободных аминокислот в результате гидролиза энзиматической системой термолизин, карбоксипептидаза А, лейцинаминопептидаза при различной продолжительности процесса, % (n=5)

Аминокислоты	Исходный образец белка	Продолжительность гидролиза, ч			
		4±0,05	8±0,05	16±0,05	24±0,05
Незаменимые аминокислоты					
Валин	5,63±0,33	1,23±0,06	3,29±0,16	4,27±0,21	5,26±0,26
Изолейцин	6,21±0,26	0,96±0,05	2,80±0,14	3,32±0,17	4,96±0,25
Лейцин	12,3, ±0,46	1,79±0,09	4,16±0,21	5,82±0,34	10,39±0,52
Лизин	9,12±0,33	1,21±0,06	3,25±0,16	4,72±0,24	6,10±0,31
Метионин	2,29±0,13	0,58±0,02	0,90±0,04	1,19±0,06	2,28±0,11
Треонин	5,25±0,20	0,75±0,04	1,40±0,07	1,86±0,09	3,89±0,19
Триптофан	1,32±0,07	0,35±0,01	0,46±0,02	0,66±0,03	0,95±0,05
Фенилаланин	4,58±0,23	0,85±0,04	1,58±0,08	2,61±0,13	3,25±0,16
Заменимые аминокислоты					
Аланин	2,78±0,14	0,69±0,03	0,96±0,05	1,96±0,10	2,17±0,11
Аргинин	4,09±0,20	0,86±0,04	1,41±0,07	2,11±0,11	3,11±0,15
Аспарагиновая кислота	5,39±0,32	1,20±0,06	2,34±0,11	4,61±0,25	5,29±0,26
Гистидин	2,22±0,11	0,41±0,07	0,77±0,04	0,83±0,05	1,20±0,06
Глицин	2,09±0,13	0,60±0,03	0,93±0,04	1,12±0,06	1,82±0,09
Глутаминовая кислота	16,18±0,96	4,37 ±0,22	6,63±0,33	10,02±0,55	14,43±0,72
Пролин	9,45±0,47	1,85±0,09	3,27±0,16	4,02±0,20	8,78±0,43
Серин	6,81±0,34	1,36±0,07	2,63±0,13	3,65±0,19	4,75±0,24
Тирозин	3,86±0,29	1,19±0,06	2,1±0,11	2,76±0,15	2,99±0,15
Цистеин	0,43±0,02	0,09±0,01	0,15±0,01	0,28±0,01	0,70±0,04
Всего	100±5,0	20,34±0,6	39,03±1,3	55,81±1,3	82,32±2,6

В ходе серии экспериментов отмечено, что с увеличением продолжительности гидролиза наблюдается увеличение массовой доли свободных аминокислот в гидролизате. Из данных, представленных в таблицах 4 и 5 видно, что при продолжительности ферментации (24,00±0,05) ч концентрация свободных аминокислот изменялась от (82,32±2,6) % до (84,41 ±2,1) %. Наиболее интенсивно накапливаются такие аминокислоты, как лейцин, лизин, валин, изолейцин, пролин, глутаминовая и аспаргиновая кислоты.

На следующем этапе исследований анализировали влияние фермент-субстратного соотношения на характер протекания гидролиза сывороточных бел-

ков энзиматическими системами. Ферментативный гидролиз проводили при различном фермент-субстратном соотношении – 1:50, 1:100 и 1:200 (рисунках 3 и 4).

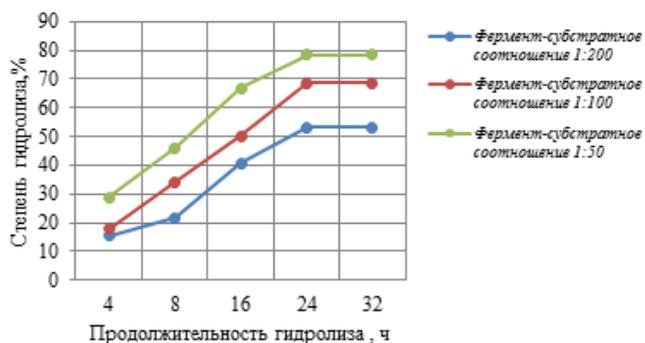


Рисунок 3 – Степень гидролиза сывороточных белков энзиматической системой термолитин, карбоксипептидаза А, лейцинаминопептидаза, %

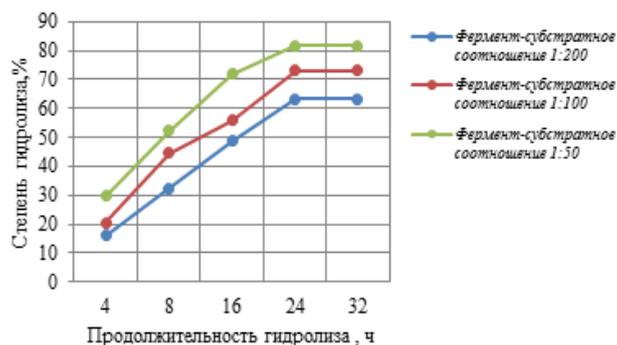


Рисунок 4 – Степень гидролиза сывороточных белков энзиматической системой бромелайн, карбоксипептидаза А, лейцинаминопептидаза, %

На основании представленных кривых на рисунках 3 и 4 можно сделать вывод о том, что наиболее рациональным фермент-субстратным соотношением является 1:50, степень протеолитического гидролиза изменялась от $(78,31 \pm 3,9)\%$ до $(81,59 \pm 4,1)\%$ в зависимости от применяемой энзиматической системы. При фермент-субстратном соотношении 1:100 и 1:200 наблюдалось значительное уменьшение степени расщепления белковых молекул, что является нерациональным использованием данных фермент-субстратных соотношений в связи с увеличивающимися затратами на использование данных ферментов.

Дальнейшие исследования были посвящены определению рациональных режимных параметров для вакуумной сушки гидролизатов сывороточных белков. Результаты представлены в таблице 6.

Таблица 6 – Показатели вакуумной сушки гидролизатов при подборе температуре, остаточном давлении и плотности теплового потока

Наименование параметра	Предел определения	Показатели вакуумной сушки		
		Длительность сушки, мин	Содержание влаги, %	Удельные затраты энергии, кВт/кг удаленной влаги
Температура в камере, °С	40,0	260±15	4,9±0,1	2,87±0,15
	50,0	220±15	4,7±0,1	3,11±0,15
	60,0	180±15	5,0±0,1	3,45±0,15
	70,0	160±15	5,2±0,1	3,78±0,15
Остаточное давление, кПа	4,0-5,0	180±15	4,5±0,1	4,21±0,15
	9,0-10,0	220±15	4,7±0,1	3,11±0,15
	14,0-15,0	280±15	4,9±0,1	3,44±0,15
Плотность теплового потока, кВт/м ²	2,5	360±15	5,2±0,1	2,55±0,15
	4,0	260±15	4,9±0,1	2,87±0,15
	5,5	220±15	4,7±0,1	3,11±0,15
	7,0	180±15	4,6±0,1	3,64±0,15
	8,5	160±15	4,7±0,1	4,51±0,15

Толщина слоя сушки, мм	6,0	180±15	4,6±0,1	3,64±0,15
	12,0	220±15	4,7±0,1	3,42±0,15
	18,0	260±15	4,8±0,1	3,24±0,15
	24,0	320±15	5,2±0,1	3,08±0,15

На основании приведенных в таблице 6 данных следует, что при определении величины рациональной температуры вакуумной сушки наиболее глубокое удаление влаги из гидролизата наблюдается при температуре 50 °С. При таком режиме конечное содержание влаги в продукте составляет (4,7±0,1)%. С увеличением температуры наблюдалось значительное ухудшение качества ГСБ по органолептическим показателям.

Величина остаточного давления существенно влияет на процесс вакуумной сушки. Для подбора данного параметра были проведены эксперименты по сушке гидролизатов при остаточном давлении в камере 4,0-5,0 кПа, 9,0-10,0 кПа и 14,0-15,0 кПа. Представленные данные свидетельствуют о том, что с повышением остаточного давления происходит снижение скорости удаления влаги из продукта. Наименьшие удельные затраты энергии (3,11±0,15) кВт/кг отмечено при остаточном давлении 9,0-10,0 кПа.

От плотности теплового потока (тепловой нагрузки) зависит скорость нагрева температуры в камере и продукте. Сушка сывороточных гидролизатов при плотности теплового потока менее 5,5 кВт/м² характеризовалась менее эффективным обезвоживанием – конечное содержание влаги при тепловой нагрузке в 4,0 кВт/м² и 2,5 кВт/м² составляет (4,9±0,1) % и (5,2±0,1) % соответственно, что на 0,2-0,5 % выше, чем при остальных параметрах теплового потока.

Толщину слоя сушки варьировали от 6 до 24 мм с шагом в 6 мм. В ходе проведения серии экспериментов установлено, что увеличение толщины слоя обуславливает повышение времени прогрева продукта и более длительный процесс обезвоживания, а также менее эффективное удаление влаги – остаточное содержание влаги при толщине слоя 6 мм составляет (4,6±0,1)%, в то время как при толщине слоя 24 мм это значение равно (5,2±0,1)%. При этом, несмотря на увеличение продолжительности сушки, удельные затраты энергии при толщине слое 24 мм ниже, чем при толщине слоя 6 мм. При снижении толщины слоя сушки среди всех органолептических показателей наибольшему влиянию подверглась консистенция, поскольку условия удаления влаги при этом ухудшаются.

Четвертая глава посвящена практической реализации результатов. На основании анализа отечественной и зарубежной информации, а также собственных исследований, разработана технология производства сухого гидролизата сывороточных белков, а также предложено технологическое решение по включению его в состав кисломолочного продукта (рисунок 5). По органолептическим и физико-химическим показателям разработанный гидролизат сывороточных белков соответствовал данным, представленным в таблице 7.

По микробиологическим показателям и содержанию токсичных элементов ГСБ соответствовал требованиям нормативной документации.

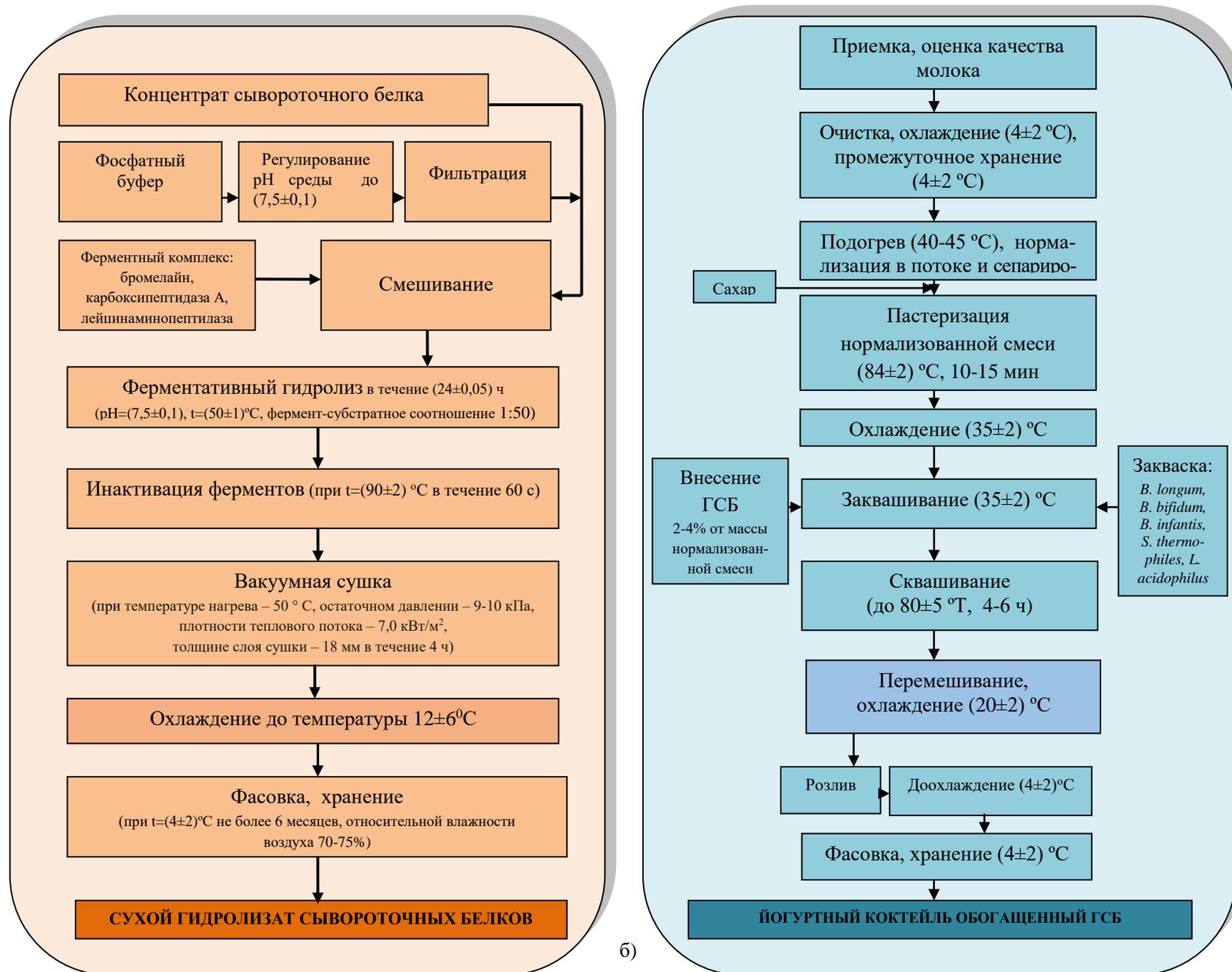


Рисунок 5 – Технологическая схема производства: а) сухого гидролизата сывороточных белков; б) йогуртного коктейля, обогащенного ГСБ

Таблица 7 – Органолептические и физико-химические показатели сухого гидролизата сывороточных белков

Наименование показателя	Характеристика
<i>Органолептические показатели</i>	
Консистенция	Мелкий сухой порошок однородной консистенции. Допускается наличие легко рассыпающихся комочков
Внешний вид	Цвет молочно-белый без оттенков
Вкус и запах	Чистый, молочный с наличием легкой горечи
<i>Физико-химические показатели</i>	
Массовая доля сухих веществ, % не менее	95,20±0,10
Массовая доля влаги, %	4,80±0,10
Массовая доля аминокислот, %	83,86±4,19

Для уменьшения наличия легкой горечи, была предпринята попытка составления композиций на основе сухого гидролизата сывороточных белков и плодово-ягодного порошка местного сырья Сибирского региона (на примере малины, земляники, шиповника) в соотношениях 1:1, 1:2, 1:3, 1:4 и 1:5. Анализируя сенсорные профили, было выявлено, что наиболее приемлемыми по органолептическим показателям являлись образцы с соотношением ГСБ и ПП – 1:3 и 1:4. Данные образцы обладали гармоничным вкусом, который компенсирует наличие оттенка легкой горечи.

Большую ценность для человека с точки зрения физиологии питания представляют кисломолочные продукты. Максимальное количество вносимого в продукт ГСБ определяли адекватностью органолептических свойств продукта (отсутствие привкуса легкой горчи). ГСБ вносили в количестве от 2 до 12 %. Наивысшими оценка были отмечены испытываемые образцы с массовой долей ГСБ 2 - 4 %. Данные образцы имели наивысшие оценки по следующим показателям: запах, цвет и вкус и консистенции. Кроме этого, при использовании ГСБ в качестве функционального пищевого ингредиента было отмечено повышение биологической ценности йогуртного коктейля, величина аминокислотного сора изменялась в пределах 100,0–135,4 %.

ВЫВОДЫ

1. Исследован процесс гидролиза сывороточных белков различными ферментными препаратами, на основании чего были подобраны энзиматические системы, включающие в качестве эндопептидаз – термолизин (КФ 3.4.24.27) и бромелайн (КФ 3.4.22.32(33)), экзопептидаз – карбоксипептидазу А (КФ 3.4.17.1) и лейцинаминопептидазу (КФ 3.4.1.1). Использование данных систем в процессе гидролиза сывороточных белков позволило провести гидролитическое расщепление белков до коротких пептидов и аминокислот.

2. Установлены наиболее рациональные параметры направленного ферментативного гидролиза концентрата сывороточных белков комплексом эндо- и экзопептидаз: температура (50±1) °С, продолжительность (24±0,05) ч, соотношение фермент–субстрат 1:50. Заявляемые параметры позволили получить ферментативный гидролизат сывороточных белков с повышенной

биологической ценностью, степень накопления свободных аминокислот достигала $(82,32 \pm 2,6) - (84,41 \pm 2,1) \%$. При этом обнаружено, что массовая доля таких незаменимых аминокислот как лейцин, лизин и валин превышает содержание других незаменимых аминокислот.

3. Проанализировано влияние технологических режимов вакуумной сушки сывороточного гидролизата на различные критерии эффективности данного процесса: остаточное содержание влаги, удельные энергозатраты, продолжительность процесса. На основании выбранных в процессе экспериментов оптимальных параметров было установлено, что гидролизат сывороточных белков целесообразно обезвоживать при температуре нагрева $50 \text{ }^\circ\text{C}$, остаточном давлении $9,0 - 10,0 \text{ кПа}$, плотности теплового потока $7,0 \text{ кВт/м}^2$ и толщине слоя сушки $18,0 \text{ мм}$. Подобранные условия позволили достичь приемлемых органолептических показателей высушенного продукта.

4. На основании полученных закономерностей в ходе исследований разработана технологическая схема производства сухого гидролизата сывороточных белков. Определены органолептические, физико-химические и микробиологические показатели, свидетельствующие о безопасности и качестве конечного продукта. Установлены сроки и условия хранения готового продукта: 180 суток при температуре $(4 \pm 1) \text{ }^\circ\text{C}$. Разработан проект нормативной технической документации.

5. Предложено технологическое решение по включению гидролизата сывороточных белков в состав кисломолочного продукта, позволяющее повысить его биологическую ценность. Установлено допустимое количество внесения гидролизата сывороточных белков в продукт, которое составило $2 - 4 \%$. Результаты работы апробированы на молокоперерабатывающем предприятии.

6. Рассчитана экономическая эффективность по производству сухого гидролизата сывороточных белков. Определена структура себестоимости по группам затрат при установленном объеме производства сухого ГСБ, что позволило спрогнозировать планируемую прибыль от последующей реализации готового продукта. На основе расчетных данных и порога рентабельности (20%) эффект в виде прибыли составит $81507,86$ рублей при заданном объеме производства.

По материалам диссертации опубликованы следующие работы:

1. **Шевякова, К.А.** Изучение возможности применения комплекса энзиматических систем при переработке концентрата сывороточных белков / **К.А. Шевякова**, М.Г. Курбанова // Молочнохозяйственный вестник.– 2017.– № 3.– С.134-142.

2. Курбанова, М.Г. Исследование параметров вакуумной сушки для гидролизатов сывороточных белков / М.Г. Курбанова, **К.А. Шевякова** // Достижение науки и техники АПК.–2018.– Т. 32.– № 7.– С. 86-90.

3. Курбанова, М.Г. Исследование влияния фермент-субстратного соотношения на процесс гидролиза сывороточных белков Вестник современных исследований / М.Г. Курбанова, **К.А. Шевякова** // Вестник современных исследований –2017.– №8.– С. 38-40.

4. Курбанова, М.Г. Анализ ферментных препаратов, осуществляемых протеолиз сывороточных белков / М.Г. Курбанова, **К.А. Шевякова** // Высокие интел-

лектуальные технологии в науке и образовании: материалы II Международной научно-практической конференции.– Санкт-Петербург, 2017.– С. 103-105.

5. Курбанова, М.Г. Исследование влияния фермент-субстратного соотношения на процесс гидролиза сывороточных белков Вестник современных исследований / М.Г. Курбанова, **К.А. Шевякова** // Актуальные направления научных исследований: сборник статей Международной научно-практической конференции.– Самара, 2017.– №8.– С. 38-40.

6. Курбанова, М.Г. Изучение влияния величины остаточного давления на процесс вакуумной сушки гидролизатов сывороточных белков / М.Г. Курбанова, **К.А. Шевякова** // Современные проблемы и перспективные направления инновационного развития науки: Международная научно-практическая.– Оренбург, 2017.– С. 105-107.

7. Курбанова, М.Г. Подбор плотности теплового потока при вакуумной сушке гидролизатов сывороточных белков / М.Г. Курбанова, **К.А. Шевякова** // Новые информационные технологии: Международная научно-практическая конференция.– Челябинск, 2017.– С. 53-55.

8. Курбанова, М.Г. Исследование рациональных температурных параметров вакуумной сушки для функциональной добавки / М.Г. Курбанова, **К.А. Шевякова** // Пища. Экология. Качество: труды XIV Международной научно-практической конференции.– Новосибирск, 2017.– С. 343-347.

9. **Шевякова, К.А.** Современная тенденция создания биологической активной добавки на основе гидролизата сывороточных белков / **К.А. Шевякова** // Пища. Экология. Качество: труды XV Международная научно-практическая конференция.– Новосибирск, 2018.– С. 716-718.

10. **Шевякова, К.А.** Определение оптимальных сроков хранения сухой биологически активной добавки на основе гидролизата сывороточных белков / **К.А. Шевякова** // Становление и развитие новой парадигмы инновационной науки в условиях современного общества: материалы Международная научно-практическая конференция.– Стерлитамак, 2018.– С. 95-97.

11. Курбанова, М.Г. Создание биологической активной добавки для коррекции структуры питания современного человека/М.Г. Курбанова, А.В. Позднякова, **К.А. Шевякова** // Внедрение результатов инновационных разработок: проблемы и перспективы: Международная научно-практическая конференция.– Казань, 2018.– С.719-721.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

ГОСТ – государственный стандарт

КСБ – концентрат сывороточных белков

ГСБ – гидролизат сывороточных белков

ПП – плодово-ягодный порошок

Подписано в печать _____. Формат 60x86/16. Тираж ____ экз. Объем 1,0 п.л. Заказ№ ____.

Кемеровский государственный университет.

650056, г. Кемерово, ул. Красная, 6

Отпечатано в лаборатории множительной техники КемГУ

650056, г. Кемерово, ул. Мичурина, 13а