

**Библиографический список**

1. Тимошенко Н.В. Проектирование предприятий мясной промышленности: учеб.-метод. пособие / КубГАу. – Краснодар, 2005. – 304 с.  
 2. Маракулина И.В. Проблемы и перспективы управления ассортиментом в овощеводческих организациях Кировской области. – Аграрная наука Евро-Северо-Востока. – 2005. – № 6. – С. 158-161.  
 3. Окара А.И. О качестве мясных продуктов с позиции товароведа // Мясная индустрия. – 2007. – № 8. – С. 46-48.  
 4. Николаев С. Мясной рынок в России будет расти до 2010 года // Товароведение продовольственных товаров. – 2007. – № 9. – С. 67-69.

5. ГОСТ 9959-91 «Продукты мясные. Общие условия проведения органолептической оценки».  
 6. ГОСТ 9793-74 «Продукты мясные. Методы определения влаги».  
 7. ГОСТ 29299-92 «Мясо и мясные продукты. Метод определения нитрита».  
 8. ГОСТ 9957-73 «Колбасные изделия и продукты из свинины, баранины, говядины. Методы определения хлористого натрия».  
 9. СанПиН 2.3.2.560-96 «Гигиенические требования к качеству и безопасности продовольственного сырья и пищевых продуктов».  
 10. ГОСТ 52196-03 «КОЛБАСЫ ВАРЕНЫЕ. Технические условия».



УДК 637.136.045:664.162.036.2

**М.Г. Курбанова,  
 С.М. Масленникова,  
 О.Н. Бондарчук**

**ИССЛЕДОВАНИЕ ЗАКОНОМЕРНОСТЕЙ ПОЛУЧЕНИЯ  
 КИСЛОТНЫХ ГИДРОЛИЗАТОВ КАЗЕИНА**

***Ключевые слова:** кислота, гидролиз, казеин, белок, степень гидролиза, пептиды, аминокислоты, гидролизаты.*

**Введение**

Белковыми гидролизатами называют продукты гидролитического расщепления белков, состоящие в основном из отдельных аминокислот, их натриевых солей и полипептидных остатков. В процессе гидролиза происходит разрыв пептидных связей белковой молекулы с образованием ди- и трипептидов, а также свободных аминокислот, что увеличивает усвоение белковых веществ в живом организме. Так, смеси пептидов различной длины всасываются в пищеварительном тракте быстрее и полнее. Кроме того, в белковых гидролизатах могут присутствовать различные физиологически активные пептиды, необходимые для регуляции ряда важных функций живого организма. Следует принять во внимание возможное положительное влияние пептидов, содержащихся в гидролизатах, на усвоение некоторых эссенциальных микронутриентов.

На основе гидролиза белков получают препараты, применяемые как кровезаменители, для парентерального питания в медицине; для компенсации белкового дефицита, повышения резистентности и улучшения развития молодняка в ветеринарии; как источник аминокислот и пептидов для бакте-

риальных и культуральных питательных сред в биотехнологии. В составе гидролизатов казеина присутствуют пептиды, способные образовывать прочные координационные (хелатные) соединения с ионами кальция и значительно усиливать эффективность их всасывания [2-4]. Однако и в этом случае есть данные, что фосфопептиды бета-казеина, так же как и гликомакропептид каппа-казеина и пептиды белков молочной сыворотки, значительно повышают биодоступность железа и могут рассматриваться как факторы, способствующие профилактике анемии.

В связи с этим гидролизаты белков молока широко используются в пищевой, биотехнологической, медицинской и фармацевтической промышленности, а также в парфюмерии в качестве компонентов, являющихся богатым источником низкомолекулярных соединений азота, аминокислот и белка.

Химические методы, используемые для гидролиза молочных белков, просты и не требуют редких, дорогостоящих ферментов, но они характеризуются жесткими условиями. Получение кислотных белковых гидролизатов проводят обычно при температуре 100-130<sup>0</sup>С, рН 1-2 с использованием минеральных кислот (соляной, серной, ортофосфорной). Скорость высвобождения и деструкции индивидуальных аминокислот

зависит в основном от природы белка и присутствия в нем солей и металлов.

Пептидные связи  $\text{H-N-C=O}$ , образующие полимерную цепь белковой молекулы, в присутствии кислот или щелочей гидролизуются, при этом происходит разрыв полимерной цепи, что в конечном итоге может привести к исходным аминокислотам. Пептидные связи, входящие в состав  $\alpha$ -спиралей или  $\beta$ -структур, более устойчивы к гидролизу и различным химическим воздействиям (по сравнению с теми же связями в одиночных цепях) [1]. В процессе изучения закономерностей гидролиза казеина химическим способом обнаружены значительные структурные изменения белковых субъединиц. Наряду с этим в спектре имеются сведения о разрушении и рацемизации, хотя и в меньшей степени, оксикислот, дикарбоновых кислот и других соединений. Имеются сообщения, что в низкомолекулярных пептидах, которые являются биологически активными соединениями, образуются концевые структурные деформации, в результате чего они становятся неузнаваемыми для рецепторов клетки [4, 5, 7]. Однако в некоторых литературных источниках отмечаются преимущества кислотного гидролиза: достаточная глубина расщепления белка и исключение бактериального (в том числе продуктами метаболизма) загрязнения гидролизата.

Необходимо исследовать биотехнологические и физико-химические закономерности получения гидролизатов казеина кислотным способом. Для достижения поставленной цели определены задачи исследования: провести кислотный гидролиз казеина в присутствии соляной и серных кислот; изучить состав полученных гидролизатов казеина; исследовать молекулярно-массовое распределение белков и пептидов при проведении гидролиза.

#### Объекты и методы исследования

В качестве субстрата был использован казеин пищевой, с массовой долей белка 85%. Во избежание разложения лабильных аминокислот кислотный гидролиз проводили трижды перегнанной 6 М соляной (серной) кислотой в герметичных условиях в режиме вакуума при температуре  $110 \pm 5^\circ\text{C}$  в течение  $(4-24) \pm 0,05$  ч. После гидролиза ампулу охлаждали, вскрывали, содержимое переносили в небольшую коническую или круглодонную колбу. Соляную (серную) кислоту упаривали досуха на ротационном испарителе при температуре  $4065^\circ\text{C}$ . Для удаления соляной (серной) кислоты добавляли в колбу 1,5 мл воды и снова упаривали. Последнюю операцию проводили дважды. Определение общего азота проводили с

помощью анализатора белка RAPID N ELEMENTAR в соответствии с европейскими стандартами. Содержание общего белка рассчитывали умножением общего азота на пересчетный коэффициент для белков. Определение аминного азота проводили спектрофотометрическим методом с использованием 2,4,6-тринитробензолсульфоновой кислоты (ТНБС). Метод основан на спектрофотометрическом определении хромофоров, образующихся при реакции первичных аминов с ТНБС. Степень гидролиза определяли как отношение аминного азота к общему азоту. Молекулярно-массовое распределение белков и пептидов в получаемых гидролизатах оценивали с помощью белкового электрофореза методом Лэмпли.

#### Результаты и их обсуждение

При постановке ряда экспериментов определяли рациональные условия гидролиза казеина, которые обеспечивали бы возможно большее сохранение аминокислот в гидролизатах. Известно, что казеины в отличие от некоторых глобулярных белков хорошо расщепляются химическими агентами, поскольку уже в нативном состоянии имеют малоупорядоченную конформацию, подобную дезорганизованной структуре денатурированных глобулярных белков [3]. Это объясняется очень низким содержанием  $\alpha$ -спиралей и низкой структурной организацией основных компонентов казеина. Данный факт обусловлен высоким содержанием пролина в этих белках – от 8,5 до 16%, что, по-видимому, деформирует спираль в беспорядочный клубок [1, 6].

Состав гидролизатов казеина, полученных в результате обработки 6 М соляной кислотой, представлен в таблице 1.

Данные, представленные в таблице 1, свидетельствуют о том, что при соотношении субстрат-кислота 1:25 при температуре  $110 \pm 5^\circ\text{C}$  процесс гидролиза имеет необходимую и достаточную направленность, в результате чего степень гидролиза за  $4,00 \pm 0,05$  ч составляет  $32,75 \pm 2,29\%$ ,  $8,00 \pm 0,05$  ч –  $65,50 \pm 4,59\%$ , а за  $24,00 \pm 0,05$  ч достигает своего максимального значения и составляет  $96,20 \pm 6,73\%$ . При уменьшении концентрации кислоты (при соотношении субстрат-кислота 1:15 и 1:20) наблюдается снижение степени гидролиза до  $82,69 \pm 5,79$  и  $92,99 \pm 6,50\%$  при продолжительности процесса  $24,00 \pm 0,05$  ч. Возможно, это связано с недостаточной атакуемостью полипептидной цепи раствором соляной кислоты. Кроме того, установлено, что с увеличением продолжительности процесса гидролиза молекул казеина происходит накопление аммиака. Так, при увеличении продолжительности процесса гидролиза

с 4,00 до 24,00 ч и соотношении субстрат-кислота 1:15, 1:20 и 1:25 массовая доля аммиака повышается с 0,015 до 0,095, с 0,034 до 0,156 и с 0,085 до 0,200% соответственно.

Аналогичная динамика наблюдается и с массовой долей аминного азота. Данный факт, очевидно, связан с увеличением числа расщепленных амидных связей отдельных аминокислот. Для сравнения в аналогичных условиях нами был проведен гидролиз казеина 6 М серной кислотой. Результаты, полученные при проведении исследований, представлены в таблице 2.

В результате анализа данных, представленных в таблице 2, можно сделать вывод о том, что с увеличением продолжительности гидролиза происходит накопление аминного азота и аммиака, а также отмечается увеличение степени гидролиза, причем чем большее соотношение составляет субстрат-

кислота, тем интенсивнее протекают процессы.

Так, при соотношении субстрат-кислота 1:15 и продолжительности процесса  $24,00 \pm 0,05$  ч степень гидролиза составляет  $74,42 \pm 5,20\%$ , в то время как при соотношении субстрат-кислота 1:25 и продолжительности процесса  $24,00 \pm 0,05$  ч это значение составляет  $88,52 \pm 6,19\%$ .

При этом в образце, где соотношение субстрат-кислота составляет 1:15, массовая доля аммиака возрастает в 1,78 раза, в то время как при соотношениях субстрат-кислота 1:20 и 1:25 это увеличение составляет 2,81 и 3,49 раза соответственно. Установленный факт не противоречит данным, полученным другими исследователями [3-5, 7].

Таким образом, выясняется, что гидролиз казеина под действием химических агентов идет быстрее и эффективнее с использованием 6 М соляной кислоты.

Таблица 1

Состав гидролизатов казеина, полученных в результате обработки 6 М соляной кислотой

Продолжительность, ч	Массовая доля, %			Степень гидролиза, %
	общего азота	аммиака	аминного азота	
Исходный образец казеина	$13,32 \pm 0,93$	0	0	0
Соотношение субстрат-кислота 1:15				
$4,00 \pm 0,05$	$13,32 \pm 0,93$	$0,015 \pm 0,001$	$0,076 \pm 0,005$	$19,48 \pm 1,36$
$8,00 \pm 0,05$		$0,062 \pm 0,004$	$0,310 \pm 0,022$	$39,30 \pm 2,75$
$24,00 \pm 0,05$		$0,095 \pm 0,007$	$1,976 \pm 0,138$	$82,69 \pm 5,79$
Соотношение субстрат-кислота 1:20				
$4,00 \pm 0,05$	$13,32 \pm 0,93$	$0,034 \pm 0,002$	$0,136 \pm 0,010$	$26,15 \pm 1,83$
$8,00 \pm 0,05$		$0,138 \pm 0,010$	$0,550 \pm 0,039$	$52,38 \pm 3,67$
$24,00 \pm 0,05$		$0,156 \pm 0,011$	$3,126 \pm 0,219$	$92,99 \pm 6,50$
Соотношение субстрат-кислота 1:25				
$4,00 \pm 0,05$	$13,32 \pm 0,93$	$0,085 \pm 0,006$	$0,284 \pm 0,020$	$32,75 \pm 2,29$
$8,00 \pm 0,05$		$0,144 \pm 0,024$	$1,148 \pm 0,0080$	$65,50 \pm 4,59$
$24,00 \pm 0,05$		$0,200 \pm 0,070$	$3,880 \pm 0,272$	$96,20 \pm 6,73$

Таблица 2

Состав гидролизатов казеина, полученных в результате обработки 6 М серной кислотой

Продолжительность, ч	Массовая доля, %			Степень гидролиза, %
	общего азота	аммиака	аминного азота	
Исходный образец казеина	$13,32 \pm 0,93$	0	0	0
Соотношение субстрат-кислота 1:15				
$4,00 \pm 0,05$	$13,32 \pm 0,93$	$0,014 \pm 0,001$	$0,068 \pm 0,004$	$17,54 \pm 1,23$
$8,00 \pm 0,05$		$0,056 \pm 0,004$	$0,279 \pm 0,02$	$35,37 \pm 2,47$
$24,00 \pm 0,05$		$0,356 \pm 0,025$	$1,778 \pm 0,12$	$74,42 \pm 5,20$
Соотношение субстрат-кислота 1:20				
$4,00 \pm 0,05$	$13,32 \pm 0,93$	$0,031 \pm 0,002$	$0,122 \pm 0,008$	$23,54 \pm 1,64$
$8,00 \pm 0,05$		$0,124 \pm 0,008$	$0,495 \pm 0,034$	$47,14 \pm 3,30$
$24,00 \pm 0,05$		$0,140 \pm 0,01$	$2,813 \pm 0,19$	$88,19 \pm 6,17$
Соотношение субстрат-кислота 1:25				
$4,00 \pm 0,05$	$13,32 \pm 0,93$	$0,077 \pm 0,005$	$0,256 \pm 0,01$	$29,48 \pm 2,06$
$8,00 \pm 0,05$		$0,099 \pm 0,02$	$1,033 \pm 0,07$	$58,95 \pm 4,12$
$24,00 \pm 0,05$		$0,190 \pm 0,006$	$3,492 \pm 0,24$	$88,52 \pm 6,19$

Таблица 3

Молекулярно-массовое распределение белков и пептидов при проведении гидролиза 6 М соляной кислотой

Продолжительность, ч	Относительное содержание, %, при молекулярной массе, кДа			
	более 20	10-20	5-10	менее 5
Соотношение субстрат-кислота 1:15				
4,00±0,05	14,02±0,98	38,50±2,69	26,00±1,82	21,48±1,50
8,00±0,05	6,02±0,42	14,12±0,98	37,06±2,59	42,80±2,99
24,00±0,05	0±0,07	7,02±0,49	8,42±0,59	84,56±5,92
Соотношение субстрат-кислота 1:20				
4,00±0,05	12,72±0,89	26,25±1,84	30,40±2,13	30,63±2,14
8,00±0,05	4,02±0,28	10,12±0,71	33,06±2,31	52,80±3,69
24,00±0,05	0±0,06	2,10±0,15	3,52±0,25	94,38±6,61
Соотношение субстрат-кислота 1:25				
4,00±0,05	10,27±0,72	20,42±1,43	40,80±1,94	28,51±1,36
8,00±0,05	3,73±0,26	7,53±0,53	21,62±1,51	67,12±4,69
24,00±0,05	0±0,06	0,52±0,03	1,87±0,13	97,61±6,83

Таблица 4

Молекулярно-массовое распределение белков и пептидов при проведении гидролиза 6 М серной кислотой

Продолжительность, ч	Относительное содержание, %, при молекулярной массе, кДа			
	более 20	10-20	5-10	менее 5
Соотношение субстрат-кислота 1:15				
4,00±0,05	14,24±0,99	39,19±2,74	27,95±1,96	18,62±1,30
8,00±0,05	8,17±0,57	15,06±1,05	38,58±2,70	38,19±2,67
24,00±0,05	0±0,08	7,12±0,50	15,92±1,11	76,96±5,39
Соотношение субстрат-кислота 1:20				
4,00±0,05	12,24±0,86	29,19±2,04	32,95±2,30	25,62±1,79
8,00±0,05	7,17±0,50	12,06±0,84	30,58±2,14	50,19±3,51
24,00±0,05	0±0,08	1,92±0,13	7,12±0,50	90,96±5,39
Соотношение субстрат-кислота 1:25				
4,00±0,05	10,45±0,73	17,20±1,20	41,84±2,93	30,51±2,14
8,00±0,05	3,41±0,23	8,56±0,59	25,91±1,81	62,12±4,35
24,00±0,05	0±0,06	3,92±0,27	5,47±0,38	90,61±6,34

С целью более детальной оценки свойств полученных кислотных гидролизатов изучали влияние продолжительности гидролиза на молекулярно-массовое распределение белков и пептидов в полученных гидролизатах. Результаты исследований представлены в таблице 3.

В ходе проведения ряда экспериментов выяснили, что накопление белков и пептидов происходит пропорционально продолжительности протекания гидролиза. Так, при продолжительности гидролиза 4,00±0,05 ч состав реакционной смеси характеризуется преимущественно пептидами с молекулярной массой более 20 кДа, при 8,00±0,05 ч гидролиза – 5–20 кДа, при 24,00±0,05 ч – менее 5 кДа независимо от соотношения субстрат-кислота.

Аналогичная картина наблюдается и при использовании в качестве химического агента для проведения гидролиза казеина 6 М серной кислоты (табл. 4). Так, при соотношении субстрат-кислота 1:15 при продолжительности гидролиза 4,00±0,05 ч на относительное содержание пептидов с молекуляр-

ной массой более 20 кДа приходится 14,24%.

С увеличением продолжительности гидролиза количество пептидов с молекулярной массой более 20 кДа снижается до 8,17±0,57% и полностью исчезает при 24,00±0,05 ч гидролиза в связи с атакой химическим агентом полипептидной цепи и накоплением более мелких по молекулярной массе азотсодержащих молекул. В связи с этим возрастает содержание пептидов с молекулярной массой менее 5 кДа, которое при 4,00±0,05 ч гидролиза составляет 18,62±1,30%, а по истечении 24,00±0,05 ч гидролиза их количество возрастает в 4,1 раза по сравнению с 4 ч гидролиза. Также отмечено, что с повышением концентрации химического агента происходит увеличение степени гидролиза, что приводит к нарастанию количества пептидов с молекулярной массой менее 5 кДа: при продолжительности гидролиза 24,00±0,05 ч содержание пептидов с молекулярной массой менее 5 кДа возрастает с 76,96±5,39 до 90,61±6,34%.

Также необходимо отметить, что с увеличением продолжительности гидролиза наблюдается интенсивное накопление свободных аминокислот. Доля разрушения таких аминокислот, как серин, треонин, цистин, тирозин и фенилаланин, несколько выше, чем при гидролизе молекул казеина 6 М соляной кислотой. Данный факт, очевидно, связан с тем, что серная кислота обеспечивает более жесткие условия проведения процесса гидролиза, чем соляная, являясь по своей структуре двухосновной. Максимальное накопление аминокислот наблюдается при соотношении субстрат-кислота 1:25 при продолжительности гидролиза 24 ч.

#### Выводы

В ходе проведенных исследований изучен гидролиз казеина кислотным способом в присутствии соляной и серной кислот. В ходе постановки экспериментов, на основании изучения характеристик полученных гидролизатов казеина выяснено, что соотношение субстрат-кислота 1:20 является оптимальным для проведения гидролиза кислотным способом, с увеличением продолжительности гидролиза казеина наблюдается интенсивное накопление свободных аминокислот. Также под действием химических агентов гидролиз казеина идет быстрее и эффективнее с использованием 6 М соляной кислоты.

#### Библиографический список

1. Горбатова К.К. Физико-химические и биохимические основы производства молочных продуктов. – М.: ГИОРД, 2003. – 352 с.

2. Круглик В.И. Молекулярно-массовое распределение пептидов в глубоких гидролизатах молочных белков // Продукты питания и рациональное использование сырьевых ресурсов: сб. науч. работ.– Кемерово: КемТИПП, 2007. – Вып. 14. – С. 128-129.

3. Круглик В.И., Сажин Г.Ю. Научные и практические аспекты создания продуктов для детского питания. – Кемерово: Кузбасвузиздат, 2005. – 195 с.

4. Круглик В.И., Сажин Г.Ю. Разработка технологии гидролизатов молочных белков направленного химического состава и оценка их качества // Получение свойств и применение молочно-белковых и растительных концентратов: сб. науч. тр. – М.: ВНИКМИ, 1991. – С. 106-110.

5. Курбанова М.Г. Научное обоснование и технологические аспекты гидролиза казеина: монография. – Кемерово, 2012. – 126 с.

6. Патент № 2199233 Российская Федерация, МПК<sup>7</sup> А 23 J 1/20. Способ производства молочно-кислотного казеина / Г.С. Михалкина, А.В. Татьянчиков, Л.И. Васильева, С.П. Петрова, В.Д. Харитонов; заявитель и патентообладатель ООО «Компания «Торос». – № 2000112570/13; заявл. 22.05.00; опубл. 27.02.03.

7. The effect of hydrolyzed cow's milk formula for allergy prevention in the first year of life: The German Infant Nutritional Intervention Study, a randomized double-blind trial / V. Vigovsky, N. Konop, P. Malov, A.N. Malov // J Allergy Clin. Immunol. – 2003. – V. 111. – P. 533-540.



УДК 664.785/786

**А.И. Гусев,  
М.А. Янова**

### ПОЛУЧЕНИЕ ОБОГАЩЕННЫХ КРУПЯНЫХ ПРОДУКТОВ ПОД ДЕЙСТВИЕМ ЗВУКОВОГО ПОЛЯ

**Ключевые слова:** крупа перловая, крупа овсяная, функциональные продукты, обогащенные продукты, зерно, технология

обогащения, ультразвук, белок, клетчатка, жир, зольность.