

УДК 637.334.2

М.А. Осинцева, В.И. Брагинский, А.М. Осинцев**ИССЛЕДОВАНИЕ ВОЗМОЖНОСТИ ОБОГАЩЕНИЯ МАГНИЕМ
МОЛОЧНЫХ БЕЛКОВ ВО ВРЕМЯ ИХ КОАГУЛЯЦИИ**

На основе гипотезы о дополнительной электростатической стабилизации коллоидного казеинат-кальций-фосфатного комплекса молока при понижении активности ионов кальция предложен метод обогащения магнием молочных белков во время их коагуляции. Экспериментально подтвержден факт перехода ионов магния, внесенных в молоко с пониженной концентрацией ионов кальция, в сгусток в процессе сычужного свертывания молока. Рассмотрена возможность обогащения молочного сгустка ионами других металлов, в частности железа.

Казеинат-кальций-фосфатный комплекс, коллоидная стабильность, магний, коагуляция молока.

Введение

Магний участвует во многих биохимических реакциях. Без него невозможна активация не менее трехсот ферментов, а также витаминов группы В. Магний принимает участие во всех видах обмена: углеводном, липидном и белковом. Особая роль принадлежит магнию в функционировании нервной и мышечной тканей, которые обладают спонтанной электрической активностью и проводимостью: магний в данном случае регулирует проницаемость клеточных мембран для других ионов и обеспечивает адекватную работу калий-натриевого насоса в них. Не последнюю роль играет магний в иммунологических процессах организма.

Дефицит магния остро сказывается на состоянии здоровья человека. При снижении его концентрации в крови наблюдаются хроническая усталость, раздражительность, тревожность, нарушения сна, головные боли, головокружения, ухудшение способности к концентрации, ослабление внимания, ухудшение памяти, нарушения кожной чувствительности и симптомы возбуждения нервной системы вплоть до судорог.

Суточная потребность организма в магнии составляет 0,0005 % от массы тела. В среднем это соответствует примерно 400 мг. Однако, как показали фармакокинетические исследования, неорганические формы магния (оксид, сульфат, хлорид и др.) характеризуются низкой биодоступностью и побочными эффектами [1]. Биодоступность неорганических солей магния не превышает 5 %, остальная часть магниевого неорганического соли попадает в толстый кишечник, где, будучи осмотически активной субстанцией, концентрирует воду, проявляя в конечном итоге выраженный слабительный эффект.

Таким образом, исследование возможности создания обогащенных магнием пищевых продуктов на основе его органических форм вполне актуально.

Одним из самых полноценных продуктов питания, безусловно, является молоко. В состав его минеральных веществ входят практически все элементы периодической системы Менделеева. Однако в первую очередь молоко предназначено для снабжения растущего организма кальцием и фосфором. В 100 г молока содержится примерно 120 мг кальция и лишь около 10 мг магния. Поэтому для профилак-

ки магнием дефицитных состояний использование молочных продуктов, полученных в результате традиционных технологий переработки, неэффективно.

В принципе можно добиться повышения концентрации магния в молочных белковых продуктах введением в них казеината магния. Краткие упоминания о последнем можно найти в основном в научно-популярной литературе, посвященной диетологии. Детали производства казеината магния в литературе не описаны, но, очевидно, такое производство сопряжено с определенными трудностями. Дело в том, что при производстве казеинатов казеин, содержащийся в кислотном сгустке, полученном из обезжиренного молока, растворяют щелочами. На практике чаще всего применяют хорошо растворимый гидроксид натрия и как результат получают казеинат натрия. Гидроксид кальция слаборастворим. Поэтому для получения казеината кальция чаще всего молочный сгусток растворяют предварительно в гидроксиде аммония и лишь после этого добавляют раствор гидроксида кальция в сахарозе. Получить аналогичным образом казеинат магния едва ли возможно, так как гидроксид магния практически не растворим. По-видимому, казеинат магния, как и казеинаты некоторых других металлов, для диетологических или медицинских целей получают с помощью ионообменных технологий.

С другой стороны, можно попытаться обогатить магнием сычужный молочный сгусток непосредственно в процессе его получения. Как известно, понижение активности ионов кальция в молоке ниже 1,5 ммоль/дм³ любым доступным способом приводит к тому, что сычужная коагуляция молока не наблюдается в течение нескольких часов после внесения стандартной дозы сычужного фермента. Однако если в молоко с пониженной концентрацией ионов кальция, ферментированное стандартной дозой фермента в течение времени, достаточного для коагуляции сыропригодного молока (около 20 минут), внести растворимый кальций (в любой форме), то сгусток образуется практически сразу же после его внесения.

Согласно ранее предложенной гипотезе [2], подобный результат может быть объяснен на основе представлений о дополнительной электростатической стабилизации казеиновых мицелл за счет дис-

социации мицеллярного казеината кальция при низкой концентрации ионов кальция в молоке. Образующийся при этом дополнительный отрицательный заряд на молекулах казеинов препятствует слипанию мицелл даже в случае полного разрушения сычужным ферментом защитного слоя из гидрофильных макропептидных остатков κ -казеинов на поверхности мицелл. Внесение дополнительных ионов кальция в молоко с пониженной концентрацией этих ионов приводит к рекомбинации мицеллярного казеината кальция и, как следствие, уменьшению его отрицательного заряда, препятствующего коагуляции.

Можно предположить, что дополнительно внесенные в молоко с пониженным содержанием растворимого кальция ионы магния в силу аналогичности химических свойств могут выполнять роль ионов кальция, замещая их в казеинатных комплексах при коагуляции молока.

Целью данного исследования является не только разработка технологических приемов, ведущих к обогащению магнием молочного сгустка в процессе его образования, но и проверка основных положений модели дополнительной электростатической стабилизации коллоидного казеинат-кальций-фосфатного комплекса молока при понижении активности ионов кальция.

Объекты и методы исследований

Приготовление восстановленного молока. Объектом исследований являлось восстановленное обезжиренное молоко с пониженной концентрацией растворимого кальция. Известно, что процесс производства сухого молока смещает равновесие между растворимыми и нерастворимыми формами солей кальция в сторону последних. Поэтому в восстановленном молоке активность ионов кальция понижена. Для гарантированного понижения активности ионов кальция ниже $1,5 \text{ ммоль/дм}^3$ мы дополнительно уменьшали содержание сухих веществ в восстановленном молоке. С этой целью 60 г сухого обезжиренного молока растворяли в 940 мл дистиллированной воды, тщательно перемешивая. Далее помещали восстановленное молоко в холодильник с температурой $(6 \pm 2)^\circ\text{C}$ на 12 часов. Контрольный образец отличался тем, что в него перед помещением в холодильник добавляли $4,4 \text{ см}^3 10\%$ раствора хлорида кальция (4 ммоль/дм^3).

Приготовление раствора ферментного препарата. Отмеренную на лабораторных весах навеску ферментного препарата «Максирен[®]» (100 % химозин) массой 0,1 г растворяли в 100 см^3 дистиллированной воды.

Приготовление растворов солей. Хлорид кальция (CaCl_2) использовался в виде готового 10 % медицинского раствора в запаянных ампулах. Для приготовления раствора хлорида магния отмеренную на лабораторных весах навеску препарата MgCl_2 массой 9,52 г в пересчете на сухую соль растворяли в 100 см^3 дистиллированной воды. Для приготовления раствора сульфата железа навеску препарата FeSO_4 массой 15,19 г в пересчете на сухую соль растворяли в 100 см^3 дистиллированной воды.

Сычужная коагуляция молока. Мерным цилиндром отмеряли 200 мл восстановленного обезжиренного молока, нагревали его до температуры $(30 \pm 1)^\circ\text{C}$ и добавляли раствор ферментного препарата объемом 5 мл. Убедившись, что коагуляции молока не произошло за время, необходимое для явной коагуляции контрольного образца (что свидетельствовало о недостаточной концентрации ионов кальция), добавляли растворы солей макроэлементов в концентрации 4 ммоль/дм^3 (4 см^3 одномолярного раствора на 1 дм^3 молока).

Момент свертывания молока регистрировали по изменению его эффективной вязкости с помощью одного из датчиков многоканальной автоматизированной системы для контроля коагуляции молока [3]. Принцип работы термометрического датчика вязкости заключается в измерении разности температур между двумя помещенными в молоко термометрами, один из которых подогревается. Если в результате коагуляции вязкость молока увеличивается, интенсивность конвекционного переноса тепла уменьшается, а температура подогреваемого термометра и, следовательно, разность температур между двумя термометрами возрастают.

В устройстве используются четыре группы аналоговых входов для датчиков различного назначения, сгруппированных по типу сигнала, его уровню и входному сопротивлению. Конструкция прибора позволяет использовать его для одновременного мониторинга температуры, вязкости, активной кислотности и активности ионов кальция в процессе гелеобразования. Для сбора данных на основе динамических библиотек, поставляемых вместе с внешним модулем АЦП, использовался также набор виртуальных приборов для среды разработки и мониторинга LabVIEW.

Определение макроэлементов. Определение содержания кальция и магния в молочной сыворотке, полученной после отделения сгустка, проводилось электрофоретическим методом на установке «Капель 105», снабженной спектрофотометрическим детектором. В качестве источника света использовалась деитериевая лампа, а в качестве диспергирующего элемента – дифракционный монохроматор со спектральным диапазоном работы 190–380 нм и шириной спектрального интервала 20 нм. Такой диапазон (ближняя ультрафиолетовая область) позволяет выбрать длину волны детектирования, наиболее чувствительную к анализируемым веществам.

Из-за отсутствия сертифицированной методики для установки «Капель 105» железо в сыворотке определялось йодометрическим методом с окислением двухвалентного железа йодистым калием и количественным определением выделившегося йода посредством титрования тиосульфатом натрия.

Дополнительное количество кальция, магния и железа, перешедшего в молочный сгусток после коагуляции, оценивалось как разность между концентрацией дополнительно внесенных макроэлементов и их содержанием в сыворотке после коагуляции.

Результаты и выводы

Известно, что кальций может химически связываться с фосфосериновыми группами белков казеиновых мицелл [4]. Такие группы в заметном количестве присутствуют в α - и β -казеинах. Кроме того, кальций может связываться кислотными терминальными группами казеинов. Образующееся при этом соединение непостоянного состава принято называть казеинатом кальция. Если предположить, что связывание кальция с фосфосериновыми группами молекул казеинов представляет собой обратимый процесс, то реакцию диссоциации-рекомбинации казеината кальция можно условно представить в виде:



где обозначение CAS выбрано для представления условной «молекулы» казеина.

При заданной концентрации ионов кальция в молоке легко выразить равновесное значение дополнительного заряда мицеллы, возникающего в результате диссоциации казеината кальция. Действительно, константа равновесия для реакции (1):

$$K = \frac{[\text{Ca}^{2+}][\text{CAS}^{2-}]}{[\text{CaCAS}]}. \quad (2)$$

Учтем, что

$$[\text{CaCAS}] + [\text{CAS}^{2-}] = [\text{C}], \quad (3)$$

где [C] – полная молярная концентрация способных к реакции типа (1) фосфосериновых групп казеинов.

Подставляя (3) в (2) и выражая [CAS²⁻], получим следующее выражение для равновесного значения дополнительного заряда мицелл, возникающего при диссоциации мицеллярного казеината кальция:

$$q_{\text{cas}} = 2eV_m N_A [\text{CAS}^{2-}] = 2eV_m N_A \frac{K[\text{C}]}{K + [\text{Ca}^{2+}]}, \quad (4)$$

где e – величина элементарного заряда; V_m – объем мицеллы; N_A – число Авогадро.

Дополнительный заряд мицелл даже при полном гидролизе κ -казеина на их поверхности сычужным ферментом не позволяет мицеллам слипаться. Именно поэтому, на наш взгляд, коагуляция молока при концентрации ионов кальция ниже некоторого порогового значения невозможна.

На практике для улучшения сычужной свертываемости в молоко добавляют растворимые соли кальция (чаще всего CaCl₂). Можно, однако, предположить, что и ионы других (по крайней мере двухвалентных) металлов могут выполнять роль ионов кальция и снижать дополнительный заряд мицеллы, образуя нейтральные комплексы по схеме, аналогичной (1):



Очевидность реакции типа (5) для магния не вызывает больших сомнений в силу значительного химического сходства между кальцием и магнием. В случае ионов других металлов такое предположение менее очевидно и требует дополнительных исследований. Нами, в частности, была проведена серия экспериментов, имеющих целью внедрение в сгусток ионов двухвалентного железа.

Основные результаты исследований показаны в табл. 1, где приведены экспериментальные данные по обогащению сгустка магнием в виде раствора MgCl₂ и железом в виде раствора FeSO₄, вносимых в молоко с пониженной концентрацией ионов кальция, после ферментации химозином в течение 20 минут. Там же для сравнения показаны результаты, полученные при внесении в молоко дополнительного хлорида кальция. Во всех случаях концентрация дополнительно внесенных препаратов составляла 4 ммоль/дм³, а pH всех исходных образцов молока равнялась 6,6. Знак «-» показывает, что вещество в сыворотке не обнаружено или его концентрация не превышает существенно ошибки метода.

Таблица 1

Результаты экспериментов

Внесенное вещество	Концентрация Ca/Mg/Fe в сыворотке исходного молока, ммоль/дм ³	Концентрация Ca/Mg/Fe в сыворотке после свертывания, ммоль/дм ³	pH сыворотки после свертывания
CaCl ₂		3,5±0,3 / - / -	6,4
MgCl ₂	1,4±0,3 / - / -	1,6±0,3 / 2,0±0,3 / -	6,1
FeSO ₄		2,4±0,3 / - / 2,8±0,5	5,5

Из данных, приведенных в таблице, видно, что часть внесенного дополнительно кальция действительно связывается со сгустком, так как конечная концентрация кальция в полученной после коагуляции сыворотке меньше суммы концентраций исходного и добавленного растворимого кальция в сыворотке исходного молока.

Аналогичный результат наблюдается и для дополнительно внесенных ионов магния. Сумма исходной концентрации ионов кальция и концентрации внесенных ионов магния в сыворотке молока меньше суммы установившихся после коагуляции концентраций кальция и магния в сыворотке. Согласно данным табл. 1, для образца объемом 100 мл с казеинат-кальций-фосфатным комплексом связывается примерно 0,2 ммоль магния, что составляет примерно 2,4 мг. Однако в пересчете на сухой остаток (6 %) это составит около 40 мг на 100 г продукта. Конечно, этот результат можно заметно повысить, сильнее обеднив кальцием исходное молоко.

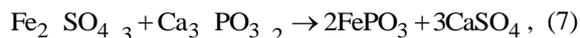
В случае с железом переход его ионов в сгусток также хорошо виден из данных табл. 1. Однако в этом случае речь едва ли может идти об обогащении продукта железом с диетологической точки зрения. Хорошо известно, что кальций существенно снижает всасывание железа в желудочно-кишечном тракте. Установлено, например, что употребление молочных продуктов совместно с препаратами железа снижает усвояемость последнего на 50–60 %.

Результаты по свертыванию молока с добавлением раствора сульфата железа имеют еще одно существенное отличие, заключающееся в заметном увеличении концентрации ионов кальция в сыворотке после образования сгустка. Этот факт можно объяснить возможным протеканием реакции обмена между коллоидным фосфатом кальция и сульфатом железа.

Дело в том, что в присутствии растворенного в воде кислорода двухвалентное железо окисляется до трехвалентной формы:



после чего возможен обмен типа



ведущий в результате диссоциации сульфата кальция к увеличению концентрации ионов кальция в растворе и, как следствие, к снижению дополнительного заряда мицелл.

Таким образом, по крайней мере частично снижение дополнительного заряда мицелл в присутствии ионов железа может осуществляться не за счет непосредственного образования казеината железа, а через промежуточное увеличение концентрации ионов кальция по механизму реакций (6) и (7).

В пользу приведенного объяснения могут свидетельствовать два экспериментальных факта.

Во-первых, сульфат железа является кислой солью, заметно понижающей pH при растворении. Как следствие, увеличивается растворимость коллоидного фосфата кальция и протекание реакции типа (7).

Во-вторых, коагуляция молока с пониженной концентрацией ионов кальция после внесения сульфата железа протекает заметно медленнее, чем после внесения хлоридов кальция или магния. Возможно, этот факт связан с относительно небольшой скоростью протекания реакций типа (6) и (7).

Последний факт проиллюстрирован на рис. 1, где показаны экспериментальные термограммы процесса свертывания трех выбранных образцов.

Отсчет времени для кривых на рис. 1 начинается с момента внесения в модельное молоко сычужного фермента. Значения разности температур автоматически сохранялись в файл ежеминутно.

Как видно, в течение 20 минут вязкость молока практически не изменяется. Резкие колебания термометрической разности температур в области 20 минут связаны с внесением раствора соли и, как следствие,

нарушением структуры конвекционных потоков вблизи термометров.

Дальнейшее увеличение термометрической разности температур связано с ростом эффективной вязкости среды во время образования сгустка.

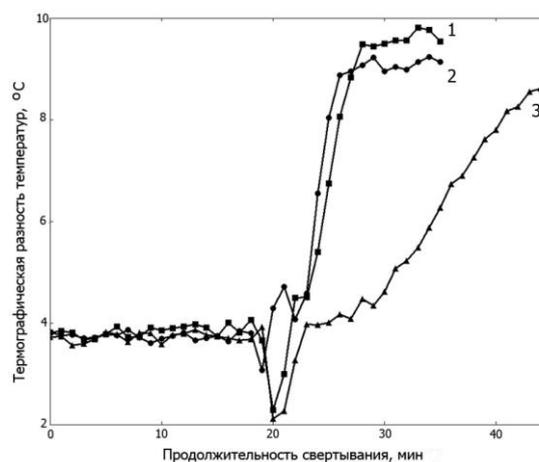


Рис. 1. Термограммы сычужного свертывания молока с пониженной концентрацией ионов кальция при внесении растворов солей различных металлов: 1 – CaCl_2 ; 2 – MgCl_2 ; 3 – FeSO_4

Как видно из рисунка, внесение растворов хлорида кальция или магния resultsруется в очень похожих зависимостях эффективной вязкости модельного ферментированного молока от времени. Сгусток начинает образовываться практически сразу же после внесения растворов солей. Весь процесс гелеобразования после внесения хлоридов кальция или магния занимает примерно 4–5 минут. Отметим все же, что при внесении дополнительного магния сгусток образуется немного быстрее (в среднем на одну минуту при выбранной дозе). С другой стороны, сгусток, образовавшийся после внесения ионов магния, обладает слегка меньшей прочностью по сравнению со сгустком, полученным после внесения дополнительного кальция.

Термограмма сычужного свертывания модельного молока после внесения в него на 20-й минуте раствора сульфата железа выглядит несколько иначе. Прежде всего заметно, что процесс образования сгустка начинается не сразу после внесения раствора соли, а с задержкой в 5–7 минут. Кроме того, сам процесс гелеобразования занимает около 20 минут после внесения сульфата железа. Вполне возможно, что эта особенность объясняется механизмом обмена, описанным выше.

Указанные особенности сычужного свертывания молока с пониженной концентрацией ионов кальция в сыворотке после внесения в него дополнительных ионов двух- или трехвалентных металлов ставят ряд новых вопросов, выходящих за рамки данного исследования. Прежде всего предстоит выяснить форму связи внесенных металлов с казеинат-кальций-фосфатным комплексом молока. Хотя полученные данные косвенно подтверждают, что по крайней ме-

ре ионы кальция и магния, добавленные в молоко, связываются, по-видимому, в форме казеинатов.

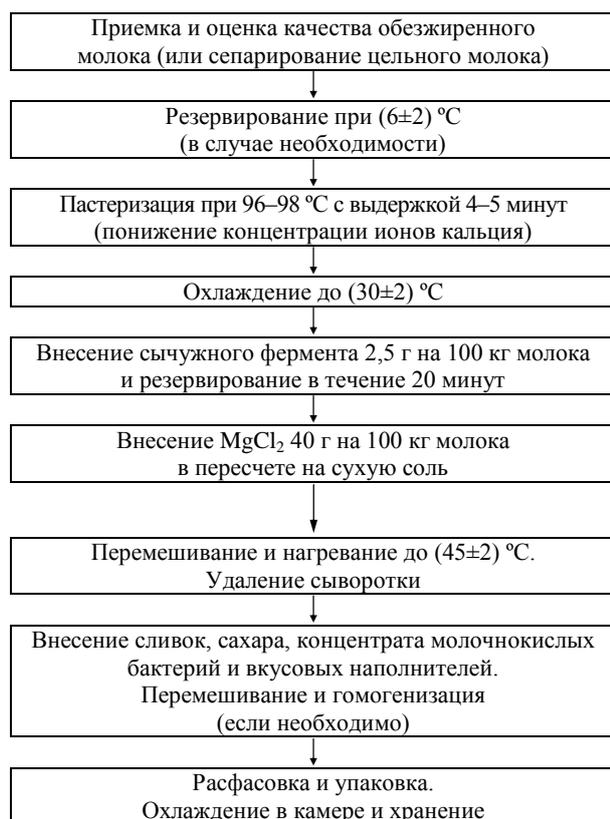


Рис. 2. Принципиальная технологическая схема производства творожного продукта, обогащенного магнием

Дело в том, что растворимость фосфата магния несколько выше, чем у фосфата кальция. Поэтому равновесие реакции обмена типа



должно быть сильно смещено влево.

Как следствие, внесенный магний, скорее всего, должен образовывать со сгустком соединения в форме казеинатов. Сходство кинетических кривых на рис. 1, полученных при внесении кальция и магния, в этом случае должно подтверждать, что относительно быстрое изменение концентрации кальция после его внесения в ферментированное молоко также, скорее всего, связано с образованием казеината кальция, протекающим по схеме (1).

Конечно, исследования, проведенные в ходе данной работы, являются первичными. Однако они уже позволяют предложить принципиальную схему технологии получения обогащенного магнием молочного сгустка, например, в виде творожного продукта, как показано на рис. 2.

Обезжиренное молоко пастеризуют при температуре 96–98 °C с выдержкой 4–5 минут. Такой режим пастеризации применяется для эффективного использования сывороточных белков, что повышает выход готового продукта и улучшает его биологическую ценность, и, главное, для снижения концентрации растворимого кальция. По той же причине перед ферментацией в обезжиренное молоко не вносится раствор хлорида кальция.

Если содержание ионов кальция в молоке после высокотемпературной обработки превышает 2 ммоль/л (измерения можно проводить, например, электродом, чувствительным к ионам кальция), необходимо добавить цитрат натрия, динатрий фосфат или ЭДТА для связывания ионов кальция.

Безусловно, определение конкретных технологических параметров производства продукта и адаптация технологии являются задачами дальнейших исследований.

Список литературы

1. Torshin I.Yu, Gromova O.A. Magnesium and pyridoxine: fundamental studies and clinical practice. Nova Science, 2009: 250 p.
2. Осинцев, А.М. Роль ионов кальция в коллоидной стабильности мицелл казеина / А.М. Осинцев, В.И. Брагинский, О.Ю. Лапшакова, А.Л. Чеботарев // Техника и технология пищевых производств. – 2009. – № 1. – С. 63–67.
3. Патент № 2399047 Российская Федерация. Многоканальная автоматизированная система для контроля коагуляции молока / А.М. Осинцев, О.Ю. Лапшакова, А.Л. Чеботарев, В.И. Брагинский, Н.А. Бахтин. – Заявка № 2009113889/28; заявл. 13.04.2009; опублик. 10.09.2010.
4. Dickinson, E. Influence of calcium ions on creaming and rheology of emulsions containing sodium caseinate / E. Dickinson, M. Golding // Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects. – 1998. – V. 144. – P. 167–177.

ФГБОУ ВПО «Кемеровский технологический институт пищевой промышленности»,
650056, Россия, г. Кемерово, б-р Строителей, 47.
Тел./факс: (3842) 73-40-40
e-mail: office@kemtipp.ru

SUMMARY**M.A. Osintseva, V.I. Braginsky, A.M. Osintsev****INVESTIGATION OF THE POSSIBILITY OF MAGNESIUM ENRICHMENT
OF MILK PROTEINS DURING THEIR COAGULATION**

Based on the hypothesis of an additional electrostatic stabilization of the colloidal caseinate-calcium-phosphate complex of milk with a lack in the activity of calcium ions, the method of magnesium enrichment of milk proteins during their coagulation is proposed. The fact of the transition of magnesium ions added to the milk with a low concentration of calcium ions into the milk clot during rennet coagulation is experimentally confirmed. The possibility of enrichment of milk clot with other metal ions, for example with iron, is considered.

Caseinate-calcium-phosphate complex, colloidal stability, magnesium, milk coagulation.

Kemerovo Institute of Food Science and Technology
47, Boulevard Stroiteley, Kemerovo, 650056, Russia
Phone/Fax: +7(3842) 73-40-40
e-mail: office@kemtipp.ru

