УДК 637.14

**Е.В. Ульрих, О.В. Кригер, Н.Л. Потураева, В.Г. Будрик,
С.Г. Ботина, Е.Ю. Агаркова, В.Ф. Долганюк, И.Е. Драгунов**

ТЕХНОЛОГИЯ СТРУКТУРИРОВАННОГО ГИПОАЛЛЕРГЕННОГО ПРОДУКТА*

Исследованы свойства молочной сыворотки, определены ее основные параметры. Исследовано распределение пептидов, полученных при гидролизе белков молочной сыворотки ферментами Alcalase и Protamex по молекулярной массе, определен фракционный состав белков обезжиренного молока, изучены мембранные методы переработки гидролизованной молочной смеси, выбраны режимы и основные параметры процесса получения мусса молокосодержащего. Рассчитана эффективность и надежность, экономические составляющие процесса получения мусса молокосодержащего, предназначенного для профилактического питания взрослых, страдающих аллергией на молочные белки. Технологический процесс диспергирования и газонаполнения должен обеспечивать однородность структуры гидролизованной молочной смеси, стойкость и плотность взбитой смеси на протяжении установленного срока хранения. Продукты, полученные с использованием данных приемов, будут менее дорогими и станут доступными для профилактического питания благодаря снижению затрат на дорогостоящий процесс гидролиза.

Аллергия, гипоаллергенные продукты, сыворотка, деминерализация, ферментативный гидролиз, ультрафильтрация, диспергирование, газонаполнение, мусс молокосодержащий.

*Работа осуществляется при финансовой поддержке Министерства образования и науки в рамках Федеральной целевой программы «Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технологического комплекса России на 2007–2013 годы», государственный контракт № 12.527.11.0008.

Введение

В настоящее время аллергия является проблемой здравоохранения глобальных масштабов. Одной из наиболее распространенных форм аллергических заболеваний является пищевая аллергия [1, 2]. Каждый третий житель России подвержен аллергии. На сегодняшний день известно более 170 различных видов продуктов питания, для которых зарегистрированы проявления пищевой аллергии. Основной причиной аллергии является нарушение функционирования иммунной системы, связанное с непереносимостью отдельных компонентов пищи, в частности молочных белков, содержащихся в коровьем молоке и продуктах его переработки. При попадании в организм эти белки вследствие наличия в их структуре определенных антигенов распознаются иммунной системой и организм становится сенсибилизированным (то есть повышается чувствительность к специфическому аллергену, содержащему данный антиген). При повторном попадании аллергена в организм происходит развитие аллергической реакции и проявляются все ее симптомы.

Полное исключение молочных продуктов из питания больных с пищевой аллергией (за исключением тяжелых клинических случаев) не будет рациональным подходом, поскольку они являются источниками наиболее легко усвояемого белка с полноценным аминокислотным составом. Коррекцию рациона питания больного за счет использования специализированных продуктов проводят, как правило, лишь в случае тяжелых форм заболеваний, поскольку данные продукты имеют достаточно высокую стоимость – от 770 до 3817 руб. за кг. Речь в основном идет о специализированном питании детей до трех лет. Для других возрастных групп предлагаются продукты на основе соевых изолятов, однако недостатками их использования в рецептурах продуктов являются нарушения функционирования желудочно-кишечного тракта и развивающаяся аллергия к белкам сои. До сих пор коммерчески доступных функциональных молочных продуктов, предназначенных для питания взрослых и детей старше трех лет, страдающих непереносимостью белков молока, не существует.

Таким образом, создание молочных продуктов с пониженным содержанием основных аллергенных белков молока является объективно необходимым, поскольку другие подходы не охватывают всей массы людей, подверженных непереносимости белков молока. Наиболее перспективным методом снижения аллергенности молочных продуктов является биокаталитическая конверсия молочных белков, направленная на получение их гидролизатов с заданным молекулярно-массовым распределением и остаточной аллергенностью.

В свете современных представлений о здоровом питании медики и диетологи во всем мире рекомендуют низкокалорийные продукты. Однако по вкусовым характеристикам потребитель отдает предпочтение продукции с нежной консистенцией и выраженным сливочным вкусом [3]. Удовлетворить такие, казалось бы, противоречивые пожелания потребителей могут аэрированные молочные продукты, относящиеся к классу муссов. Широчайшая гамма вкусовых характеристик и оптимальные диетические свойства, а также привлекательный внешний вид (за счет многослойности, добавления топингов и т.д.) обеспечивают муссам устойчивый покупательский спрос. Аэрированные молочные продукты не требуют дополнительной подготовки перед употреблением, хорошо усваиваются организмом. С введением различных пищевых добавок они приобретают заданные функциональные свойства.

Целью данной работы является разработка технологических процессов и операций ферментативного гидролиза, каскадно-селективной ультрафильтрации, диспергирования и газонаполнения при получении мусса молокосодержащего, обладающего гипоаллергенными свойствами.

Объекты и методы исследования

Объектом исследования в данной работе является деминерализованная молочная сыворотка с уровнем деминерализации 50–60 %. Деминерализация осуществлялась с использованием ионообменных смол КУ-2Н-8 в аммонийной форме и сильноосновного анионита АВ-17-8.

Гидролиз сывороточных белков осуществляли ферментным препаратом Protamex линия Bacillus активностью 1,5 ед/г. Для изучения взаимодействия различных факторов, влияющих на процесс ферментативного гидролиза, были применены математические методы планирования эксперимента.

Каскадную ультрафильтрацию проводили на лабораторной мембранной фильтрационной установке МФУ с рулонными мембранными элементами. Использовали ультрафильтрационные мембраны из ароматического полисульфонамида «Сульфон-4Т» с отсечкой по молекулярной массе 50, 20, 10, 5 кДа. Температура фильтрации (45±5) °С при рабочем давлении 0,6 МПа.

Концентрацию белковых веществ определяли методом Лоури. Для построения калибровочной кривой использовали стандартные растворы казеина. Содержание низкомолекулярных пептидов определяли модифицированным методом Лоури с предварительным осаждением белков и высокомолекулярных пептидов трихлоруксусной кислотой.

Содержание аминного азота в растворе определяли методом формольного титрования.

Определение молекулярной массы белка проводили методом гель-хроматографии с использованием колонки, заполненной полимерным гелем Молселект G-75 (рабочий диапазон 3000–70 000 Да). Для построения калибровочного графика использовали стандартные растворы белков в концентрации 1 мг/мл. В собранных фракциях определяли содержание белковых веществ по поглощению при длине волны 280 нм.

Результаты и их обсуждение

На основании результатов предварительных исследований составлен план многофакторного эксперимента для гидролиза сывороточных белков ферментом Protamex с тремя вариабельными параметрами: времени экспозиции, температуры и процентного соотношения дозы вносимого ферментного препарата от количества белка. Все изучаемые факторы со-

вместимы и некоррелируемы между собой, пределы их изменения приведены в табл. 1.

Таблица 1

Уровни вариации независимых параметров в многофакторном эксперименте по оптимизации условий гидролиза

Параметр	Переменная	Уровень варьирования		
		–1	0	1
Температура, °С	$X1$	45	50	55
Продолжительность, мин	$X2$	30	60	90
Доза ферментного препарата, % от массы белка	$X3$	1	2,5	4

Изучено влияние вариабельных параметров на степень гидролиза белков молочной сыворотки ферментом Protamex при среднем уровне третьего фактора (начальное содержание белка 1 %). После статистической обработки данных с учетом значимости коэффициентов получено уравнение регрессии, описывающее процесс ферментативного гидролиза под влиянием исследуемых факторов:

$$Y = 4{,}9428 - 0{,}4614X1 - 2{,}0708X1^2 + 0{,}8794X2 - 0{,}4184X2^2 + 0{,}6209X3 - 0{,}0761X2X3.$$

Из анализа коэффициентов уравнения регрессии и графического анализа поверхностей отклика установлено, что наибольшее влияние на степень гидролиза белков оказывает температура ферментации, при повышении которой степень гидролиза увеличивается. При отклонении от оптимальных температурных режимов степень гидролиза снижается. Исследования и анализ уравнения регрессии позволяют определить параметры получения гидролизата молочной сыворотки с максимальной степенью гидролиза: $T_{опт}$ = 50,56 °С; t = 61,55 мин; E/S – max.

Изменение степени гидролиза коррелируется с изменением молекулярно-массового состава гидролизата, что связано с образованием низкомолекулярных пептидов. Методом электрофореза проведена оценка молекулярно-массового состава гидролизатов. В табл. 2 представлены результаты по изучению влияния продолжительности гидролиза белков ферментом Protamex на молекулярно-массовое распределение продуктов гидролиза молочной сыворотки.

Из данных табл. 2 следует, что по мере увеличения продолжительности гидролиза происходит изменение молекулярной массы белковых фракций. После 30-минутного гидролиза в образцах наблюдается присутствие веществ с молекулярной массой больше 10 кДа. Через 60 мин после начала гидролиза количество таких веществ снижается на 4 %. В образцах, гидролизованных в течение 90 мин, преобладают вещества с молекулярной массой менее 2000 Да.

Таблица 2

Молекулярно-массовое распределение продуктов гидролиза белков молочной сыворотки ферментом Protamex

Диапазон молекулярных масс, Да	Относительное содержание фракций, %, при продолжительности гидролиза, мин		
	30	60	90
≥ 10 000	16	12	10
10 000–5000	20	22	25
5000–2000	25	27	28
≤ 2000	37	39	40

Таким образом, результаты электрофоретического исследования образцов гидролизованной молочной сыворотки показывают, что гидролизаты имеют в своем составе низкомолекулярные пептиды, что говорит об эффективности процесса гидролиза белков ферментным препаратом Protamex и возможности использования гидролизатов в технологии функциональных молочных продуктов с гипоаллергенными свойствами.

В результате ферментативного гидролиза белков молочной сыворотки не удается получить продукты, полностью свободные от остаточных количеств нерасщепленного или частично расщепленного белка. Применение ферментативного гидролиза препаратами Protamex позволяет значительно (хотя и не полностью) элиминировать остаточные количества макромолекулярных белковых структур. Однако при этом в гидролизате возрастает количество материала ферментных препаратов. Все эти макромолекулы могут обладать аллергенными свойствами, поэтому их присутствие в составе функциональных молочных продуктов с пониженной аллергенностью нежелательно.

Гидролизованная молочная сыворотка, предназначенная для использования в составе гипоаллергенного структурированного продукта, нуждается в дальнейшей очистке. Эта очистка может быть осуществлена различными методами, но предпочтительными из них в свете достижений современной технологии являются методы мембранной фильтрации.

В проводимых исследованиях использовалась каскадно-селективная ультрафильтрация для обработки гидролизованной молочной сыворотки для отсечения белков с молекулярной массой свыше 10 кДа. Эта величина существенно ниже молекулярной массы подавляющего количества антигенных белков коровьего молока, а также большей части материала ферментных препаратов, не подвергшихся глубокому автолизу.

В табл. 3 представлены результаты проведения исследований молекулярно-массового распределения пептидов в ультрафильтрационных концентратах белков подсырной сыворотки.

Таблица 3

Молекулярно-массовое распределение пептидов гидролизата подсырной сыворотки после мембранной обработки

Диапазон молекулярных масс, кДа	Относительное распределение пептидов по молекулярным массам, %			
	Ультрафильтрат 50 кДа	Ультрафильтрат 20 кДа	Ультрафильтрат 10 кДа	Ультрафильтрат 5 кДа
Более 20,0	9,5	0	0	0
20,0–15,0	2,3	1,2	0	0
15,0–10,0	2,5	2,2	2,0	0
10,0–5,0	14,6	12,3	12,0	7,6
Менее 5	71,1	84,3	86,0	92,4

Исследование молекулярно-массового распределения белковых веществ в полученных пробах пермеатов показало, что часть белковых веществ, проходящая через мембраны, соответствует протеозопептонной фракции молочной сыворотки (молекулярная масса < 5000 Да). При этом в ультрафильтратах с отсечкой по молекулярной массе 5 и 10 кДа наблюдается минимальное присутствие крупных молекул сывороточных белков (молекулярная масса 18 000–20 000 Да).

Показатели интегральной селективности для мембран составляют более 90 %. Для каскадно-селективной ультрафильтрации гидролизованной молочной сыворотки были выбраны мембранные рулонные элементы с отсечкой по молекулярной массе 20 и 10 кДа, обладающие наибольшей производительностью (10–12 л/м^2·ч).

Структурированный гипоаллергенный продукт предназначен для профилактического питания взрослых, страдающих аллергией на молочные белки. Технологический процесс диспергирования и газонаполнения должен обеспечивать однородность структуры гидролизованной молочной сыворотки, стойкость и плотность взбитой смеси на протяжении установленного срока хранения.

К основным показателям качества дисперсных продуктов сложного состава относятся дисперсность, однородность, устойчивость (стабильность) и консистентность (структурно-механические свойства). Устойчивость и консистентность во многом определяются как физико-химическими свойствами компонентов, так и их способом обработки.

Для обоснования технологических решений процесса диспергирования и газонаполнения изучали влияние температуры и продолжительности взбивания на качественные характеристики мусса (табл. 4).

На основании описания и обоснования оптимальных решений технологических процессов разработаны, обоснованы и выбраны отдельные технологические решения процессов и операций ферментативного гидролиза, каскадно-селективной ультрафильтрации, диспергирования и газонаполнения для мусса молокосодержащего.

1. Для обеспечения ферментативного гидролиза молочной сыворотки обосновано применение ферментного препарата Protamex с активностью 1,5 ед/г. Для обеспечения максимальной степени гидролиза процесс проводят при pH реакционной смеси 7,0, температуре (50±1) °С, продолжительности процесса (60±1) мин, доза фермента составляет 4 % от массы белка. В данных условиях происходит расщепление высокомолекулярных белковых фракций. Количество фракций с молекулярной массой более 10 кДа составляет не более 10 %.

Таблица 4

Выбор технологических режимов получения мусса и его основные характеристики

Температура, ^{0}С	Продолжительность взбивания, ч	Характеристика мусса
6	1,0	Пена образуется плохо, мусс расслаивается
15	0,5	Пена устойчива, плотность 400 кг/м^3, мусс не расслаивается в течение 3 суток
25	0,15	Пена устойчива, мусс не расслаивается в течение 14 суток, плотность пены 630 кг/м^3
35	0,5	Пена устойчива, плотность 350 кг/м^3, мусс не расслаивается в течение 2 суток
60	2,0	Пена не образуется, мусс не образуется

2. Процесс каскадно-селективной ультрафильтрации применяется для отделения из гидролизованной молочной смеси негидролизованных высокомолекулярных белковых фракций и ферментных препаратов с молекулярной массой более 10 кДа. Для осуществления процесса выбраны рулонные мембранные элементы, выполненные из полимерного материала. Для каскадной ультрафильтрации гидролизованной молочной смеси используют два ультрафильтрационных модуля с различным диаметром пор мембран. Первая ступень – с отсечкой по молекулярной массе 20 кДа. Фильтрат поступает в накопительную емкость, концентрат направляется на гидролиз. На второй ступени в мембранных аппаратах отсекаются вещества с молекулярной массой больше 10 кДа. Пептиды, оседающие на мембранах, поступают в реактор, где проходят повторный гидролиз, после чего цикл повторяется. Каждая ступень представляет собой циркуляционную петлю, включающую фильтрационные аппараты, центробежный насос, теплообменник, приборы, показывающие и контролирующие давление и температуру сыворотки внутри циркуляционной петли.

3. Технологическую операцию диспергирования и газонаполнения проводят при температуре (25±1) °С в течение (10±1) мин, рабочем давлении 1 атм, скорости вращения 1000–3000 об/мин. Выбранные технологические решения обеспечивают стойкость и плотность пены на протяжении 15 суток хранения.

Список литературы

1. Брагинский, Л.Н. Перемешивание в жидких средах: физические основы и инженерные методы расчета / Л.Н. Брагинский, В.И. Бегачев, В.М. Барабаш. – Л.: Химия, 1984. – 336 с.

2. Круглик, В.И. Теоретическое обоснование и практическая реализация технологий гидролизатов молочных белков и специализированных продуктов с их использованием: автореф. дис. … д-ра. техн. наук: – М., 2008.

3. Симоненко, С.В. Научно-практические аспекты в детском питании / С.В. Симоненко, Т.А. Антипова, Б.М. Мануйлов // Пищевая промышленность. – 2010. – № 2. – С. 8–9.

4. Федорович, Ж.В. Пищевая аллергия у детей первого года жизни: учеб.-метод. пособие / Ж.В. Федорович, Д.Т. Петрова. – Минск: Эдит ВВ, 2007. – С. 49.

5. Frenhani P.B., Burini R.C. Mechanisms of absorption of amino acids and oligopeptides. Control and implications in human diet therapy // Arq. Gastroenterol. – 1999b. – V. 36. – № 4. – P. 227–237.

ГНУ Всероссийский научно-исследовательский институт
молочной промышленности Россельхозакадемии,
115093, Россия, г. Москва, ул. Люсиновская, д. 35.
Тел./факс: (495) 236-31-64
e-mail: Vnimi5@rambler.ru

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

**E.V. Ulrikh, O.V. Kriger, N.L. Poturaeva, V.G. Budrik,
S.G. Botina, E.J. Agarkova, V.F. Dolganjuk, I.E. Dragunov**

TECHNOLOGY OF STRUCTURISED HYPOALLERGENIC FOOD PRODUCT

The properties of whey were investigated and its basic parameters were defined. The distribution of peptides obtained by hydrolysis of whey proteins with Alcalase Protamex enzymes through molecular mass was studied. The fractional composition of skim milk proteins was determined. Membrane processing techniques of milk mixture were studied. The mode of producing the milk-containing mousse was selected. Defined were the basic parameters of producing the milk-containing mousse. The efficiency and reliability, the economic component of producing the milk-containing mousse were calculated. The milk-containing mousse was designed for preventive nutrition of adults suffering from allergy to milk proteins. The technological process of dispersion and gas filling should ensure the structural uniformity of hydrolyzed milk mixture, firmness and density of the whipped mixture over a set period of storage. Food products produced with the methods developed will be less expensive and will be available for preventive nutrition due to reducing the cost of the expensive process of hydrolysis.

Allergy, hypoallergenic food products, whey, demineralization, enzymatic hydrolysis, ultrafiltration, dispersion, gas filling, milk-containing mousse.

All-Russian Scientific Research Dairy Institute
35, Lyusinovskaya street, Moscow, 115093, Russia
Phone/Fax: (495) 236-31-64
e-mail: Vnimi5@rambler.ru

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