

НАТИВНАЯ СЫВОРОТКА КАК СЫРЬЕ ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ПЕПТИДОВ

ОРИГИНАЛЬНАЯ СТАТЬЯ

Светлана Александровна Кузнецова, аспирант¹, директор²

Елена Ивановна Мельникова, д-р техн. наук, профессор, профессор кафедры¹, начальник отдела технологического контроля и развития³

Екатерина Борисовна Станиславская¹, д-р техн. наук, доцент, профессор кафедры

E-mail: tereshkova-katia@yandex.ru

¹Воронежский государственный университет инженерных технологий, г. Воронеж

²Калачеевский сырзавод – филиал ПАО Молочный комбинат «Воронежский», пос. Пригородный

³ПАО Молочный комбинат «Воронежский», г. Воронеж

В качестве сырья для получения биологически активных пептидов используют различные источники растительного и животного белка. Целью работы являлось исследование возможности использования нативной сыворотки как нового сырьевого источника для получения биологически активных пептидов. В качестве объекта исследования рассматривали нативную сыворотку, полученную в условиях филиала ПАО Молочный комбинат «Воронежский» «Калачеевский сырзавод».

В работе применяли стандартные и общепринятые методы исследований, в том числе математической статистики.

Нативная сыворотка представляет собой пермеат, полученный в процессе микрофильтрации обезжиренного молока.

В работе проанализирован состав нативной сыворотки, выполнено сравнение с составом подсырной сыворотки. Показано, что белковый и минеральный профиль нативной сыворотки зависят от условий микрофильтрации при ее получении.

Для получения белкового изолята нативную сыворотку подвергали обратноосмотическому концентрированию с последующей ультрафильтрацией. Полученный изолят характеризовался массовой долей белка $90,8 \pm 0,7\%$ в сухом веществе и был использован в качестве субстрата для ферментативного гидролиза с применением ферментных препаратов Protamex и Flavourzyme. Степень гидролиза составила 35 %. Результаты работы подтверждают целесообразность применения нативной молочной сыворотки как сырья для получения комплекса биологически активных пептидов.

Ключевые слова: специализированное питание, микрофильтрация, обезжиренное молоко, сыворотка, гидролиз белка, биологически активные пептиды

Для цитирования: Кузнецова, С. А. Нативная сыворотка как сырье для получения биологически активных пептидов / С. А. Кузнецова, Е. И. Мельникова, Е. Б. Станиславская // Молочная промышленность. 2025. № 4. С. 11–15. <https://doi.org/10.21603/1019-8946-2025-4-51>

ВВЕДЕНИЕ

К одному из важных направлений развития отечественной пищевой промышленности относится производство продуктов функционального и специализированного питания. Наиболее наукоемкими и динамично развивающимися являются индустрии детского, лечебного и спортивного питания. Неотъемлемый компонент таких продуктов – источники белка и его производные, среди которых значимое место занимают биологически активные пептиды. В составе специализированной пищевой продукции они оказывают положительное действие на работу основных систем организма: сердечно-сосудистую, пищеварительную, эндокринную, иммунную и нервную. Некоторые пептиды снижают риск развития хронических заболеваний, способствуют повышению иммунитета [1–5].

В качестве сырья для получения биологически активных пептидов используют источники растительного и животного белка. Положительные результаты получены при выделении биологически активных

пептидов из белков молочного сырья. В работе M. B. O'Keeffe et al. [6] в качестве сырьевого источника использован концентрат сывороточных белков; полученные гидролизаты характеризовались высокой антиоксидантной активностью. В работе F. S. Fajardo-Espinoza et al. [7] показано получение биологически активных пептидов с антиоксидантными, минералсвязывающими свойствами, способностью ингибировать ангиотензинпревращающие ферменты (АПФ) из белков коровьего молозива. A. B. Shazly et al. [8] были подтверждены антиоксидантные свойства биологически активных пептидов, выделенных из казеина буйволиного молока. В исследованиях F. J. Espejo-Carpio et al., H. Gong et al. [9, 10] фракции как казеина, так и сывороточных белков козьего молока гидролизованы с высвобождением пептидов, ингибирующих АПФ и участвующих в снижении уровня глюкозы в крови. В работах M. Abdel-Hamid et al., A. Wali et al. исследованы свойства биологически активных пептидов верблюжьего молока. Большое научное и практическое значение в качестве нового источника биологически активных пептидов принадлежит нативной сыворотке.



Источник изображения: unsplash.com

Цель работы – исследование возможности использования нативной сыворотки как сырья для получения биологически активных пептидов.

ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В качестве объекта исследования рассматривали нативную сыворотку, полученную в условиях филиала ПАО Молочный комбинат «Воронежский» «Калачеевский сырзавод». В работе использовали коммерческие ферментные препараты: Protamex (Novozymes) (оптимум pH 5,5–7,5, температура 50 °C, активность 1,5 AU/g) и Flavourzyme 500L (Novozymes) (оптимум pH 5,0–7,0, температура 50–55 °C, активность 500 LAPU/g).

В работе применяли стандартные и общепринятые в исследовательской практике методы. Массовую долю сухих веществ объектов исследования определяли гравиметрическим методом, общего, истинного белка – методом Кильдаля, жира – кислотным методом Гербера, лактозы – поляриметрическим методом, золы – весовым методом после озоления пробы. Содержание отдельных минеральных веществ устанавливали спектрометрическим методом. Идентификацию и количественную оценку фракционного состава белков проводили методом высокоеффективной жидкостной хроматографии. Плотность объектов исследования оценивали ареометрическим, титруемую кислотность – титриметрическим, активную кислотность – потенциометрическим методом. Степень гидролиза белка оценивали как выраженное в процентах количество расщепленных в белке пептидных связей по отношению к общему числу пептидных связей в этом белке.

Количество расщепленных пептидных связей рассчитывали по содержанию аминного азота, определяемого спектрофотометрическим методом. Полученные экспериментальные данные анализировали с помощью однофакторного дисперсионного анализа ANOVA с использованием статистического программного обеспечения STATISTICS (версия 13, StatSoft Inc., США). Различия при $p < 0,05$ считались статистически значимыми.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Нативная сыворотка представляет собой пермеат, полученный в процессе микрофильтрации обезжиренного молока для нормализации его состава в сыроделии или при выработке концентрата мицеллярного казеина [13, 14]. Состав нативной сыворотки (табл. 1) практически идентичен подсырной, однако характеризуется некоторыми особенностями.

Таблица 1. Состав и свойства нативной сыворотки

Наименование показателя	Значение показателя для сыворотки	
	подсырной	нативной
Массовая доля сухих веществ, %	6,31–7,32	5,00–5,49
Массовая доля общего белка, %	0,81–1,04	0,50–1,17
Массовая доля истинного белка, %	0,47–0,88	0,29–0,99
Массовая доля небелкового азота, %	0,026–0,033	0,028–0,035
Массовая доля жира, %	0,39–0,57	0,00–0,02
Массовая доля лактозы, %	4,90–5,16	4,63–4,66
Массовая доля золы, %	0,47–0,55	0,38–0,47
Титруемая кислотность, °Т	16–17	9–14
Активная кислотность, ед. рН	6,39–6,61	6,70–6,77
Плотность, кг/м ³	1018–1027	999–1021

В отличие от подсырной, в состав нативной сыворотки входят белки в нативной форме, она не содержит фрагментов жизнедеятельности заквасочных культур и протеолитических ферментов, казеиновой пыли, гликомакропептида. В производстве сыра часть мелких жировых шариков не задерживается пространственной структурой сычужного сгустка, свободно переходя в подсырную сыворотку. Микрофильтрационная мембрана в большей степени удерживает жир, препятствуя его переходу в нативную сыворотку. Некоторыми различиями характеризуется и минеральный профиль. Так, в подсырную сыворотку переходит нитрат натрия, применяемый в сыроподелии. При использовании для микрофильтрации полупроницаемых мембран с размером пор, не превышающих 0,2 мкм, полученную нативную сыворотку можно считать стерильной. Это характеризует ее как уникальный сырьевой источник, в том числе для получения комплекса биологически активных пептидов сывороточных белков.

Для выделения биологически активных пептидов важное значение имеют соотношения сывороточных белковых фракций. Как показали результаты исследований (табл. 2), белковый состав нативной сыворотки зависит от условий ее получения.

Различия в перераспределении β -казеина в процессе микрофильтрации при разных температурах связаны со специфическими свойствами этого белка.

Согласно [15], он располагается внутри мицеллы казеина. При низкой температуре гидрофобные взаимодействия ослабеваются, β -казеин мигрирует на поверхность мицеллы и далее переходит в плазму молока, где находится в форме мономера. По мере повышения температуры мономеры β -казеина начинают самоассоциироваться, образуя мицеллы β -казеина с одновременным увеличением в объеме. При высоких температурах гидрофобные взаимодействия достаточно сильны, чтобы удерживать эту фракцию внутри мицелл казеина. Нативная сыворотка, полученная при 50 °C, не содержит в своем составе β -казеин. Поскольку именно β -казеин является преобладающей казеиновой фракцией в женском молоке, получение нативной сыворотки, а также продуктов ее модификации (нативный изолят и концентрат сывороточных белков), обогащенных β -казеином, представляет практическую значимость для использования в детских молочных смесях. Содержание α -лактальбумина и β -лактоглобулина в нативной сыворотке не зависит от температуры обработки. Наблюдаемые незначительные различия могут быть связаны со взаимодействием белков с осадком, образующимся на поверхности мембранны.

Температура микрофильтрации оказывает влияние и на содержание кальция и фосфора в нативной сыворотке (табл. 3).

Таблица 2. Фракционный состав белков нативной сыворотки в зависимости от температуры микрофильтрации

Наименование белковой фракции	обезжиренное молоко	Содержание белковой фракции, г/л			
		нативная сыворотка, полученная при температуре, °C	4	15	50
β -казеин	11,0 ± 1,3 ^a	2,04 ± 0,22 ^b	0,96 ± 0,11 ^c	отсутствует	
α -лактальбумин	1,1 ± 0,1 ^a	0,78 ± 0,09 ^b	0,81 ± 0,08 ^b	0,82 ± 0,09 ^b	
β -лактоглобулин	2,0 ± 0,2 ^b	2,14 ± 0,23 ^a	2,32 ± 0,26 ^a	2,24 ± 0,26 ^a	

Примечание: значения представляют собой средние значения ± стандартное отклонение от среднего значения для группы $n = 5$. Средние значения в столбце без общей надстрочкой буквы различаются ($p < 0,05$) по данным однофакторного дисперсионного анализа и теста Тьюки.

Таблица 3. Сравнительная характеристика минерального профиля нативной сыворотки

Наименование минеральных веществ	подсырная сыворотка	Содержание минеральных веществ, мг%			
		нативная сыворотка, полученная при температуре, °C	4	15	50
Кальций	22,53 ± 0,45 ^d	51,21 ± 1,02 ^a	28,80 ± 0,58 ^b	23,90 ± 0,51 ^c	
Фосфор	37,82 ± 5,43 ^d	45,30 ± 6,71 ^a	41,40 ± 6,21 ^b	37,94 ± 5,61 ^c	
Калий	146,33 ± 14,71 ^a	139,20 ± 16,72 ^a	146,40 ± 12,45 ^a	141,67 ± 13,94 ^a	
Магний	5,40 ± 0,70 ^a	5,77 ± 0,29 ^a	5,87 ± 0,53 ^a	5,30 ± 0,43 ^a	
Натрий	38,85 ± 1,94 ^a	31,50 ± 1,57 ^b	29,40 ± 1,41 ^b	30,80 ± 1,54 ^b	

Примечание: значения представляют собой средние значения ± стандартное отклонение от среднего значения для группы $n = 5$. Средние значения в столбце без общей надстрочкой буквы различаются ($p < 0,05$) по данным однофакторного дисперсионного анализа и теста Тьюки.



Источник изображения: unsplash.com

Более высокое содержание кальция и фосфора отмечено при получении нативной сыворотки при 4 °C. При низких температурах наблюдается увеличение растворимости коллоидного фосфата кальция, что увеличивает концентрацию как кальция, так и фосфора в плазме молока. В результате эти макроэлементы проходят через микрофильтрационную мембрану, не задерживаясь в ретентате.

Среди существующих способов получения биологически активных пептидов наиболее технологичным является ферментативный гидролиз. При его реализации создаются сравнительно мягкие условия (рН, температура), обеспечивающие максимальное сохранение пищевой ценности и получение продукта с заданной степенью гидролиза. Для повышения эффективности гидролиза, как правило, применяют высококонцентрированные белковые формы (изоляты). Важным технологическим преимуществом нативной сыворотки в получении белкового изолята является практически полное отсутствие жира в ее составе. Это позволяет исключить дополнительный технологический процесс микрофильтрации [16] для его удаления, сократить потери сырья и продолжительность обработки.

Для получения белкового изолята на основе нативной сыворотки ее подвергали обратноосмотическому концентрированию с последующей ультрафильтрацией. По достижению массовой доли

белка в сухих веществах концентрата на уровне 50–70 % проводили процесс диафильтрации, разбавляя концентрат ультрачистой водой. Диафильтрация позволила не только повысить долю белка в ретентате, но и значительно снизить содержание минеральных солей и лактозы в нем. Полученный изолят нативной сыворотки характеризовался массовой долей белка $90,8 \pm 0,7\%$ в сухом веществе (табл. 4) и был использован в качестве субстрата для ферментативного гидролиза.

Для выделения комплекса биологически активных пептидов проводили ферментативный гидролиз нативного белка препаратами Protamex и Flavourzyme производства компании Novozymes. В последующем концентрат биологически активных пептидов отделяли от высокомолекулярной фракции с помощью ультрафильтрации. Пермеат подсушивали и высушивали. Состав полученного ингредиента представлен в таблице 5.

Таблица 5. Состав белкового ингредиента, содержащего комплекс биологически активных пептидов

Наименование показателя	Значение показателя
Массовая доля влаги, %	$3,47 \pm 0,17$
Массовая доля белка, %	$71,50 \pm 0,30$
Массовая доля а-лактальбумина, %	$1,42 \pm 0,21$
Массовая доля β -лактоглобулина, %	$5,01 \pm 0,75$
Массовая доля альбумина сыворотки крови, %	$0,31 \pm 0,05$
Массовая доля лактоферрина, %	$0,0040 \pm 0,0006$
Массовая доля лактозы, %	$10,43 \pm 0,52$
Массовая доля золы, %	$6,47 \pm 0,18$
Содержание кальция, мг/100 г	$428,35 \pm 55,57$
Содержание фосфора, мг/100 г	$325,49 \pm 39,06$
Содержание калия, мг/100 г	$2389,09 \pm 262,80$
Содержание натрия, мг/100 г	$364,82 \pm 43,77$
Содержание магния, мг/100 г	$77,22 \pm 6,95$
Расчетная степень гидролиза, %	35,0

Примечание: значения представляют собой средние значения \pm стандартное отклонение от среднего значения для группы $n = 5$.

ВЫВОДЫ

Результаты работы подтверждают целесообразность применения нативной молочной сыворотки как сырья для получения комплекса биологически активных пептидов. Перспективы дальнейших исследований связаны с подтвер-

ждением функциональных свойств полученных пептидных комплексов для их использования в качестве пищевых ингредиентов специализированного питания лиц с различными метаболическими нарушениями, а также в спортивном и детском питании. ■

Поступила в редакцию: 07.04.2025
Принята в печать: 16.06.2025

NATIVE WHEY AS RAW MATERIAL FOR BIOLOGICALLY ACTIVE PEPTIDES

Elena I. Melnikova^{1,2}, Ekaterina B. Stanislavskaya^{1,3}, Svetlana A. Kuznetsova¹

¹Voronezh State University of Engineering Technologies, Voronezh

²Kalacheevsky Cheese Factory – branch of Dairy Factory «Voronezhsky», Prigorodny

³Dairy Factory «Voronezhsky», Voronezh

ORIGINAL ARTICLE

Bioactive peptides come from various plant and animal protein sources, e.g., native whey. Native whey is a permeate obtained in the process of skim milk microfiltration. This research involved native whey obtained at the Kalacheevsky Cheese Factory, Voronezh Dairy Plant. Its composition was studied using standard methods, including mathematical statistics, to compare it with the composition of cheese whey. The protein and mineral profile of the native whey appeared to depend on the microfiltration conditions during processing. To obtain a protein isolate based on native whey, it was subjected to reverse osmosis concentration followed by ultrafiltration. The resulting native whey isolate had a protein mass fraction of $90.8 \pm 0.7\%$ and served as a substrate for enzymatic hydrolysis, which involved two different enzyme preparations, Protamex and Flavourzyme. The hydrolysis degree was 35%. The research confirmed the feasibility of using native whey as a raw material for biologically active peptides.

Keywords: specialized nutrition, microfiltration, skim milk, whey, protein hydrolysis, biologically active peptides

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Кручинин, А. Г. Биологически активные пептиды молока: обзор / А. Г. Кручинин, Е. Ю. Агаркова // Пищевая промышленность. 2020. № 12. С. 92–96. <https://doi.org/10.24411/0235-2486-2020-10151>; <https://www.elibrary.ru/puiqsa>
2. Abebay Tadesse, S. Production and processing of antioxidant bioactive peptides: A driving force for the functional food market / S. Abebay Tadesse, S. A. Emire // Heliyon. 2020. Vol. 6(8). e04765. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e04765>
3. Chen, L. Collaborative optimization and molecular docking exploration of novel ACE-inhibitory peptides from bovine milk by complex proteases hydrolysis / L. Chen [et al.] // Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology. 2020. Vol. 48(1). P. 180–187. <https://doi.org/10.1080/21691401.2019.1699824>
4. Okagu, I. U. Recent findings on the cellular and molecular mechanisms of action of novel food-derived antihypertensive peptides / I. U. Okagu [et al.] // Food Chemistry: Molecular Sciences. 2022. Vol. 4. 100078. <https://doi.org/10.1016/j.foodchms.2022.100078>
5. Samtiya, M. Health-promoting and therapeutic attributes of milk-derived bioactive peptides / M. Samtiya [et al.] // Nutrients. 2022. Vol. 14(15). 3001. <https://doi.org/10.3390/nu14153001>
6. O'Keeffe, M. B. Identification of angiotensin converting enzyme inhibitory and antioxidant peptides in a whey protein concentrate hydrolysate produced at semi-pilot scale / M. B. O'Keeffe [et al.] // International Journal of Food Science & Technology. 2017. Vol. 8(52). P. 1751–1759. <https://doi.org/10.1111/ijfs.13448>
7. Fajardo-Espinoza, F. S. Production of bioactive peptides from bovine colostrum whey using enzymatic hydrolysis / F. S. Fajardo-Espinoza [et al.] // Revista Mexicana de Ingeniería Química. 2020. Vol. 19(1). P. 1–9. <https://doi.org/10.24275/rmq/Alim525>
8. Shazly, A. B. Fractionation and identification of novel antioxidant peptides from buffalo and bovine casein hydrolysates / A. B. Shazly [et al.] // Food Chemistry. 2017. Vol. 232, P. 753–762. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.04.071>
9. Espejo-Carpio, F. J. Angiotensin I-converting enzyme inhibitory activity of enzymatic hydrolysates of goat milk protein fractions / F. J. Espejo-Carpio [et al.] // International Dairy Journal. 2013. Vol. 32(2). P. 175–183. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2013.04.002>
10. Gong, H. Identification of novel peptides from goat milk casein that ameliorate high-glucose-induced insulin resistance in HepG2 cells / H. Gong [et al.] // Journal of Dairy Science. 2020. Vol. 103(6). P. 4907–4918. <https://doi.org/10.3168/jds.2019-17513>
11. Abdel-Hamid, M. Camel milk whey hydrolysate inhibits growth and biofilm formation of *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* / M. Abdel-Hamid [et al.] // Food Control. 2020. Vol. 111. 107056. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2019.107056>
12. Wali, A. Isolation and identification of three novel antioxidant peptides from the Bactrian camel milk Hydrolysates / A. Wali [et al.] // International Journal of Peptide Research and Therapeutics. 2020. Vol. 26. P. 641–650. <https://doi.org/10.1007/s10989-019-09871-x>
13. Мельникова, Е. И. Особенности получения и применения мицеллярного казеина в технологии молокоемких белковых продуктов / Е. И. Мельникова [и др.] // Техника и технология пищевых производств. 2022. Т. 52. № 3. С. 592–601. <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2022-3-2389>
14. Reale, E. Effects of the depletion of whey proteins from unconcentrated milk using microfiltration on the yield, functionality, and nutritional profile of Cheddar cheese / Reale, E. [et al.] // Journal of Dairy Science. 2020. Vol. 103(11). P. 9906–9922. <https://doi.org/10.3168/jds.2020-18713>
15. Ельчанинов, В. В. Номенклатура и свойства белков молока коровы (*Bos taurus*) / В. В. Ельчанинов. – Барнаул : Алтайский государственный университет, 2022. – 300 с.
16. Мельникова, Е. И. Обоснование параметров мембранный фильтрации при производстве изолята сывороточных белков / Е. И. Мельникова [и др.] // Пищевые системы. 2024. Т. 7, № 2. С. 246–252. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2024-7-2-246-252>; <https://elibrary.ru/vktzxd>