

УДК 637.344.8

Маргус ФРИЕДЕНТАЛЬ*, Эльвира ЭББЕР**

КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ СОСТАВА ОБЕЗЖИРЕННОГО КОНЦЕНТРАТА СЫВОРОТОЧНЫХ БЕЛКОВ МОЛОКА

В разных условиях технологического процесса переработки молочной сыворотки вырабатываются самые различные концентраты белков, состав которых варьируется в широких пределах [1]. Большое внимание привлекают концентраты сывороточных белков (КСБ) с пониженным содержанием жира (менее 1% по сухому веществу).

Перспективным путем обезжиривания КСБ считается обработка их растворов методом микрофльтрации, который позволяет одновременно отфильтровывать как макроглобулы жира, так и микроорганизмы, не задерживая молекул белков [2-4].

С научной точки зрения представляет интерес выявить влияние микрофльтрации на компонентный состав сывороточных белков, которые характеризуют биологическую ценность и иммунные свойства препарата. По данным [5], сывороточные белки молока содержат в среднем 50% β -лактоглобулинов (β -IgA + β -IgB), 12% α -лактальбумина (α -Ia), 10% иммуноглобулинов (Ig), 5% альбумина крупного рогатого скота (BSA) и протеозопептонную фракцию (продукты неспецифического гидролиза казеина). Следовательно, полноценный продукт фльтрации должен иметь вышеупомянутый компонентный состав белков. Только в этом случае обосновано заключение о целесообразности применения метода микрофльтрации для обезжиривания молочной сыворотки.

Целью настоящей работы было определение белкового состава препаратов КСБ после извлечения жира либо экстракцией петролейным эфиром, либо микрофльтрацией. Предусматривалось для этого рассмотреть возможности быстрого фракционирования белков на колонках, заполненных модифицированным сепароном.

Материалы и методы

В качестве фракционируемых белковых препаратов использовали полученные с помощью метода микрофльтрации КСБ, выпускаемые Выруским комбинатом молочных продуктов. Химический состав КСБ соответствовал ТУ 10-02-02-44-87: общее содержание сухих веществ не менее 96%, белка не менее 55%, лактозы не более 30%, золы не более 3%. Жир в ТУ не указывается — среднее содержание жира в КСБ 7—8%.

Приготавливали 10%-ный раствор КСБ, процесс делипидирования осуществляли на сконструированной нами установке тангенциальной микрофльтрации (температура 50 °С). В качестве фильтрующих элементов использовали мембраны «Владпор» типа МФА-А с диаметром пор 0,5—1,0 мкм, диаметр мембраны 293 мм. Обработанные таким образом растворы кон-

* Tallinna Tehnikaülikool (Таллиннский технический университет). 200026, Tallinn, Ehitajate tee 5. Estonia.

** Eesti Teaduste Akadeemia Keemia Instituut (Институт химии Академии наук Эстонии). 200108 Tallinn, Akadeemia tee 15. Estonia.

центрировали путем выпаривания и высушивали либо методом распылительной (препарат 1), либо методом лиофильной сушки (препарат 2). В качестве образца сравнения использовали КСБ, обезжиренный путем экстракции петролейным эфиром (препарат 3).

Для идентификации пиков при хроматографировании использовали отдельные чистые белковые препараты и смесь чистых препаратов фирмы «Serva» (ФРГ).

Фракционирование осуществляли на жидкостном хроматографе системы FPLC с УФ-детектором при длине волны 280 нм. Разделение белков проводили на аналитической ионообменной колонке $150 \times 3,3$ мм, заполненной анионитом, содержащим диэтиламинные группы в боковой цепи (НМА ВЮ DEAE-Separon, ЧСФР).

Для хроматографирования использовали растворы образцов, содержащих 5 мг белка на 1 мл элюента, объем вводимой пробы составлял 200 мкл. Среди разных испытанных условий разделения было выбрано элюирование в линейном градиенте с использованием 1 М NaCl в 0,025 М *трис*HCl-буфере при pH 7. Условия и процесс разделения контролировали на электронном интеграторе LCC-500.

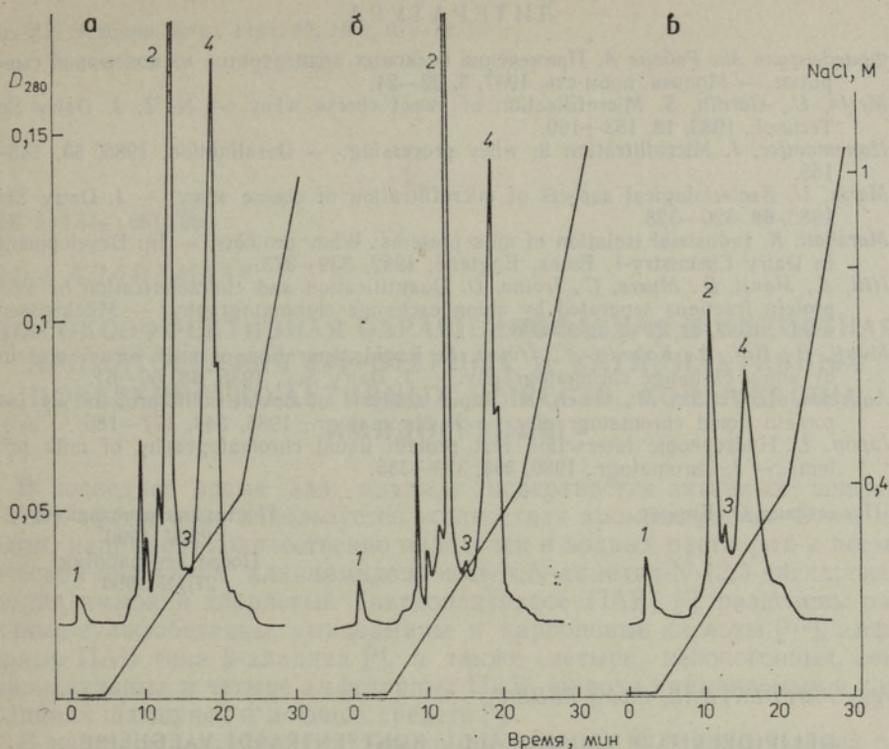
Элюирование начинали с задержкой градиента на 3 мл после ввода пробы. Этот т. н. пустой объем буфера обеспечивает насаждение молекул белков на сорбент и элюцию неадсорбированных веществ из колонки. Последующее прохождение 30 мл солевого буфера увеличило концентрацию ионов Cl^- в колонке от 0 до 0,4 М, что способствовало разделению всех основных компонентов белков молочной сыворотки. За последующие 10 мл элюирования концентрация NaCl увеличилась до 1 М, что обеспечило окончательную регенерацию колонки. И, наконец, протекание 10 мл стартового буфера использовали для уравнивания колонки. Оптимальная скорость подвижной фазы составляла 0,5 мл/мин. Более высокие скорости хроматографирования увеличивали давление в колонке (до 4 МПа) и ухудшали картину разделения, а более низкие скорости намного увеличивали время элюции белков без улучшения разрешения. Полный цикл фракционирования при выбранной скорости подвижной фазы составлял 30 мин.

Результаты эксперимента

Судя по хроматограммам разделения КСБ в вышеописанных условиях, при фракционировании препарата 1 (рисунок, а) получились хорошо разделенные пики Ig, α -1a, BSA и β -lg(A+B). Неидентифицированные пики на хроматограмме принадлежат, вероятно, аминокислотам, протеозопептонам или, возможно, небелковым фракциям [3]. Более четкое разделение β -lgA и β -lgB можно получить на колонке Mono Q, используя ацетат Na для образования градиента [6, 7].

Предложенные условия фракционирования белков позволяют количественно определить состав основных белков молочной сыворотки. Для КСБ, выделенного путем микрофльтрации и высушенного в распылительной сушилке (препарат 1), он составлял: β -lg(A+B) = 46%, α -1a = 31%, BSA = 3%, Ig = 0,6% от общего содержания белка. Высокое процентное содержание α -1a в КСБ объясняется, очевидно, тем, что при микрофльтрации этот белок концентрируется в большей степени по сравнению с другими основными сывороточными белками [3]. Остаток белка (19,4%), как уже отмечалось, является, вероятно, протеозопептонной фракцией белков подсырной сыворотки.

Фракции белков препарата 2 (рисунок, б), разделенного при тех же условиях, практически не отличаются от полученных в случае препарата 1. Количественный состав: β -lg(A+B) = 43%, α -1a = 31%, BSA = 2%,



Разделение препаратов концентрата сывороточных белков молока на колонке NEMA BIO DEAE-Separop: а — 1-й препарат: 1 — иммуноглобулины (0,6%), 2 — α -лактальбумин (31%), 3 — альбумин крупного рогатого скота (3%), 4 — β -лактоглобулины (A+B) (46%); б — 2-й препарат: 1 — иммуноглобулины (1%), 2 — α -лактальбумин (31%), 3 — альбумин крупного рогатого скота (2%), 4 — β -лактоглобулины (A+B) (43%); в — 3-й препарат: 1 — иммуноглобулины (3%), 2 — α -лактальбумин (25%), 3 — альбумин крупного рогатого скота (5%), 4 — β -лактоглобулины (A+B) (46%).

Ig=1% от общего содержания белка. Следовательно, можно предположить, что метод высушивания КСБ не оказывает влияния на количественный состав основных белков.

Сравнительный анализ белковых компонентов первых двух препаратов и 3-го препарата, обезжиренного путем экстракции петролевым эфиром (рисунок, в), показал их идентичность, за исключением более высокого содержания в 3-м препарате BSA (5%) и Ig (3%).

Неожиданным для нас оказался тот факт, что во всех препаратах, включая и 3-й, обнаруживается низкое содержание Ig. Это свидетельствует о том, что уже в самом молоке, применяемом у нас в сыроделии, фракционный состав белков не соответствует оптимально установленному [5]. Пониженное содержание Ig в молоке — признак ухудшения его качества в сторону ослабления иммунных свойств.

Итак, на основании экспериментальных данных можно утверждать, что обезжиривание КСБ методом микрофльтрации не оказывает существенного влияния на компонентный состав основных сывороточных белков. Используемый нами модифицированный сепарон несколько уступает по эффективности, в частности, по разделяющей способности β -IgA и β -IgB, сорбентам Mono Q и Mono S, обычно применяемым в подобных исследованиях [8, 9].

ЛИТЕРАТУРА

1. Фриеденталь М., Ребане А. Применение белковых концентратов из подсырной сыворотки. — Молочн. пром-сть, 1987, 3, 22—24.
2. Merin, U., Gordin, S. Microfiltration of sweet cheese whey. — N. Z. J. Dairy Sci. Technol., 1983, 18, 153—160.
3. Hanemaaijer, J. Microfiltration in whey processing. — Desalination, 1985, 53, 143—155.
4. Merin, U. Bacteriological aspects of microfiltration of cheese whey. — J. Dairy Sci., 1986, 69, 326—328.
5. Marshall, K. Industrial isolation of milk proteins: Whey proteins. — In: Developments in Dairy Chemistry-1. Essex, England, 1982, 339—373.
6. Hill, A., Manji, B., Myers, C., Irvine, D. Quantification and characterization of whey protein fractions separated by anion exchange chromatography. — Milchwissenschaft, 1987, 42, N 11, 693—696.
7. Manji, B., Hill, A., Kakuda, Y., Irvine, D. Rapid separation of milk serum proteins by anion exchange chromatography. — J. Dairy Sci., 1985, 68, 60—61.
8. Andrews, A., Taylor, M., Owen, A. Rapid analysis of bovine milk proteins by fast protein liquid chromatography. — J. Chromatogr., 1985, 348, 177—185.
9. Iapin, L. Hydrophobic interaction fast protein liquid chromatography of milk proteins. — J. Chromatogr., 1986, 363, 329—335.

Представил О. Киррет

Поступила в редакцию
25/V 1990
После переработки
27/IX 1990

Margus FRIEDENTHAL, Elvira EBBER

DELIPIDEERITUD VADAKUVALGU KONTSENTRAADI VALGULISE KOOSTISE MÄÄRAMINE

Viimastel aastatel on hakatud suuremat tähelepanu pöörama vähese rasva jääksisaldusega vadakuvalgu kontsentratsioonidele (VVK). Vadaku töötlemine mikrofiltratsiooni abil kui alternatiivne meetod vadaku selgitamisel võimaldab üheaegselt vähendada nii rasva kui ka bakterite sisaldust vadakus. Delipideeritud VVK bioloogilise väärtuse kontrollimiseks määrati vadakuvalgu fraktsiooniline koostis kromatograafi FPLC abil. Suuri muutusi valgu fraktsioonilises koostises ei täheldatud, küll aga mikrofiltreeritud VVK sisaldas mõnevõrra vähem seerumi albumiini (3% ja 5%) ning immunoglobuliine (1% ja 3%) ekstraktsioonil eraldatud rasvavaba VVK-ga võrreldes.

Margus FRIEDENTHAL and Elvira EBBER

QUANTIFICATION OF PROTEIN COMPOSITION IN DE-FATTED WHEY PROTEIN CONCENTRATE FROM MILK

During the last years whey protein concentrates (WPC) with a low residual fat content have attracted great attention. Microfiltration as an alternative method of clarification in whey processing permits to decrease the fat content and reduce the bacterial counts in one procedure. To prove the high biological value of de-fatted WPC the protein components were determined using the FPLC technique. No significant differences were observed in the isolated protein fractions. Microfiltered WPC appeared to contain a somewhat lower amount of bovine serum albumin (3% and 5%) and immunoglobulins (1% and 3%) than WPC de-fatted by extraction (5% and 3%, respectively).