

Shipulin Valentin Ivanovich, Doctor of Engineering Science, Professor, Director of Mathematics and Nature Sciences Institute, Professor of Foodstuff Technology and Engineering Department, North-Caucasus Federal University. Area of scientific interests: technologies of living systems. Technology of food products of animal origin. E-mail: vshipulin@ncfu.ru

УДК 66.664.38

**Скорых Оксана Геннадьевна, Алиева Людмила Руслановна,
Евдокимов Иван Алексеевич**

ВЛИЯНИЕ ХИТОЗАНА НА ПРОЦЕСС КОАЦЕРВАЦИИ ПРОТЕИНОВ, ЛИПИДОВ, СУХИХ ВЕЩЕСТВ МОЛОКА

Целью данной работы является разработка технологии молочного белково-жирового концентрата с использованием природного комплексообразователя – аминополисахарида хитозана. Объектами исследования служили хитозан, сливки, молочная сыворотка. Экспериментальным путем была установлена способность хитозана связывать в комплекс структурные компоненты молока, протеины и липиды. Изучена эффективность комплексообразования с применением гелей на основе хитозана с различной молекулярной массой. Проведен анализ полученного сгустка и определены оптимальные параметры для разделения системы на фракции.

Ключевые слова: хитозан, протеины молока, липиды молока.

Oksana Skorykh, Ludmila Alieva, Ivan Evdokimov
**THE COACERVATION PROCESS OF MILK PROTEINS, SOLIDS AND LIPIDS,
INDUCED BY CHITOSAN**

The purpose of this work is development of technology of milk protein-fat concentrate with use of a natural coacervation agent – poly-saccharide chitosan. The subject of the research is chitosan, cream, whey. During the experiments, the complexing ability of chitosan to the components of milk, proteins and lipids is also, and the process of coacervation with the use of gel-chitosan, with the different molecular mass, was studied. Characteristics of the coacervate and optimal fractional conditions were analyzed.

Key words: chitosan, milk proteins, milk lipids.

Введение / Introduction. В современном мире все более возрастает значение качества, безопасности и пищевой ценности продуктов питания. За последние годы было предпринято множество попыток заменить продукты нефтехимии возобновляемыми источниками, биокомпонентами. Наиболее сложной частью этого подхода является получение компонентов на биологической основе, свойства которых полностью эквивалентны свойствам синтезированных продуктов с функциональной точки зрения. Имеющиеся в изобилии природные полимеры, такие как крахмал, коллаген, желатин, альгинат, целлюлоза и хитин, представляются весьма перспективными ресурсами. В этом отношении аминополисахарид хитозан является совершенно уникальным биополимером, его собственные природные свойства настолько ценны, что он фактически не имеет нефтехимических аналогов [1]. Качества хитозана напрямую обусловлены его структурой. Присутствие аминогрупп в структуре хитозана отличает его от хитина и придает этому полимеру много особых свойств. Из-за наличия аминогрупп хитозан эффективен как комплексообразователь различных веществ, он способен связывать ионы металлов и поэтому часто применяется для очистки сточных вод [2]. Комплексообразующая способность хитозана также используется для осветления различных напитков. Хитозан с протонированными аминогруппами является поликатионом, который может образовывать ионные комплексы с

широким разнообразием природных или синтетических анионных частиц [3], таких как липиды, протеины, ДНК, и с некоторыми синтетическими полимерами, такими как полиакриловая кислота [3]. Фактически хитозан является единственным положительно заряженным природным полисахаридом. Как полиэлектролит хитозан, в частности, может быть использован для получения многослойных пленок с использованием послойного осаждения. Кроме того, хитозан обладает целым рядом других полезных свойств: антибактериальной, а также противогрибковой, мукоадгезивной, обезболивающей и гемостатической активностью. Данные качества хитозана открыли уникальные возможности для его применения в различных сферах. Дальнейшее изучение механизмов взаимодействия хитозана позволит наиболее эффективно использовать его в медицине, фармацевтике, косметическом и пищевом производстве.

Материалы и методы / Materials and methods. В качестве объектов исследований были использованы:

- хитозан с различной молекулярной массой (20 кДа, 100 кДа, 200 кДа), предоставленный институтом элементоорганических соединений им. А. Н. Несмеянова РАН, г. Москва;
- сливки, жирностью 10 %, ГОСТ 31451-2013.

При проведении экспериментальных исследований применялись методы определения следующих показателей:

- содержание сухих веществ в молоке по ГОСТ 3626-73 «Молоко и молочные продукты. Методы определения влаги и сухого вещества»;
- содержание жира по ГОСТ 5867-90 «Молоко и молочные продукты. Методы определения жира».

Результаты и обсуждение / Results and discussion. При производстве молочных продуктов питания большое значение имеет сохранение биологической и пищевой ценности концентратов, гидролизатов и других продуктов на основе белков молока как ценнейших источников незаменимых аминокислот. В молоке содержится в среднем около 3,2 % белков. Белки, входящие в состав молока, разнообразны по строению, физико-химическим свойствам и биологическим функциям. К первой основной группе относится казеин, содержащий 4 фракции и их фрагменты. Вторая группа представлена сывороточными белками: лактоглобулином, лактальбумином, иммуноглобулинами и альбумином сыворотки крови. Кроме того, в нее входят лактоферрин и некоторые другие, так называемые минорные белки. К третьей группе относят белки оболочек жировых шариков, которые составляют 1 % от всех белков молока [6]. Довольно часто традиционные технологии переработки молока приводят к тому, что большинство компонентов молока, включая ценнейшие сывороточные белки, утрачивают свои природные полезные и функциональные свойства. Также в настоящее время при производстве молочных белково-жировых продуктов для обеспечения пластичности и однородности консистенции широко применяются химические стабилизаторы структуры, а для повышения хранимостойкости – консерванты. В этой связи особый научно-исследовательский интерес представляет создание качественно новых процессов комплексной сорбции сывороточных белков, казеина и жиров с максимальным сохранением пищевой и биологической ценности, а также повышением хранимостойкости продукта. Нами проведен анализ процесса комплексообразования при внесении геля-хитозана на основе молочной сыворотки в сливки и в смесь молока с растительным маслом. Гели на основе хитозана являются очень перспективными биоматериалами с научной точки зрения. Они состоят из твердой фазы, которая, как правило, составляет менее 10 % от общего объема геля, и жидкой фазы. В гидрогелях жидкая фаза может представлять собой воду или другие вещества. Твердая фаза обеспечивает консистенцию геля, что делает его способным поглощать большое количество влаги, оставаясь при этом нерастворимой в жидкой фазе [4]. Основные виды гидрогелей на основе хитозана были разработаны на основе представлений обратимого или необратимого гелеобразования. Хитозан может быть физически связан, скоординирован с ионами металлов или быть необратимо химически

сшитым в гидрогелях. Формирование «физических» гидрогелей основано на обратимых взаимодействиях, которые происходят между полимерными цепями. Это имеющие нековалентную природу взаимодействия, такие как: электростатические взаимодействия, гидрофобные взаимодействия или водородные связи [5]. Эти взаимодействия зависят от различных параметров: рН, концентрация, температура, – что делает их не очень стабильными, демонстрируя обратимое гелеобразование. Разбухание этих гидрогелей может контролироваться путем регулировки количества каждого компонента, для того чтобы увеличить или уменьшить число взаимодействий. Как правило, меньшее количество взаимодействий будет приводить к образованию более мягкого геля, в то время как большее будет давать более плотный и жесткий гель. Формирование «химических» гидрогелей происходит путем образования ковалентных связей между полимерными цепями. Полученные гидрогели намного более стабильны, чем предыдущие физически связанные гидрогели, поскольку данное гелеобразование является необратимым. Примечательно, что хитозан способен образовывать гель и сам по себе, без каких-либо добавок, данный процесс обусловлен нейтрализацией аминогрупп хитозана. Формирование гидрогеля происходит через водородные связи, гидрофобные взаимодействия и кристаллиты хитозана [7]. Крайне важным для эффективного процесса комплексообразования является то, что гель-хитозан необходимо выдерживать не менее 6 часов для полного набухания.

Нами была установлена способность хитозана связывать структурные компоненты молока, протеины и липиды. Применение гель-хитозана позволяет обеспечить стабильность консистенции сгустка, а также увеличить сроки хранения за счет бактерицидных свойств хитозана. Проведено также исследование процесса коацервации с применением гелевых растворов хитозана с различной молекулярной массой (рис. 1).

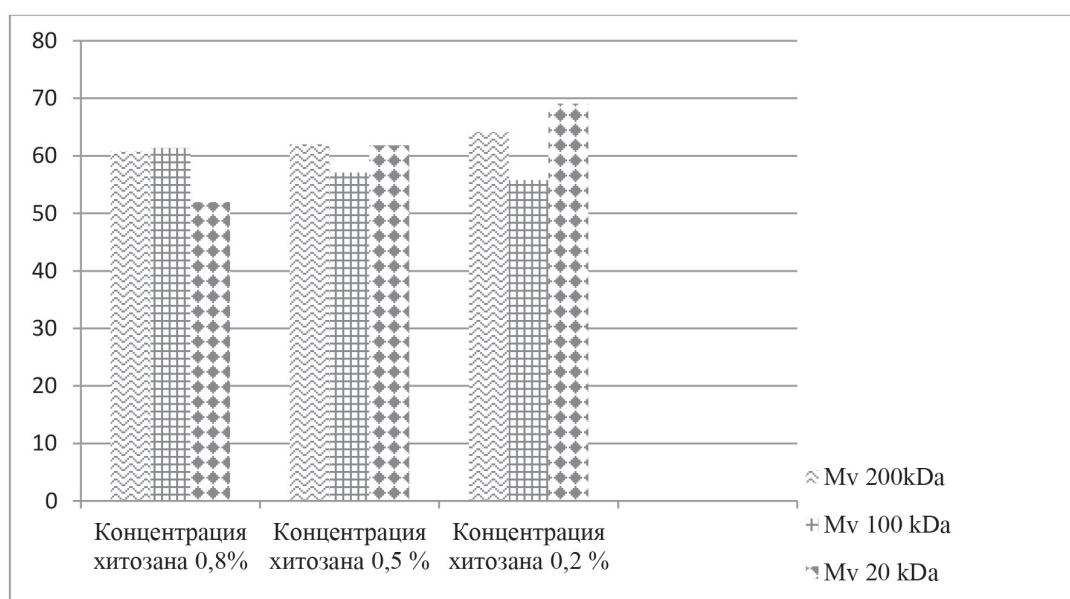


Рис. 1. Влияние доз хитозана с различной молекулярной массой на степень перехода сухих веществ в белково-жировую фракцию, %.

На основании выполненных исследований определены оптимальные параметры для разделения системы на фракции.

Установлено, что процесс разделения системы происходит особенно эффективно при температуре среды 30 °С. Для разделения смеси требуется 15–60 минут. Дальнейшее повышение температуры нецелесообразно из-за возможных изменений структуры белковых комплексов. Это приводит

к образованию плотного сгустка, а впоследствии и к формированию жесткой консистенции готового продукта. В то же время с повышением температуры до 60 °С уменьшается количество белковых веществ в сыворотке без увеличения количества жира.

В процессе комплексобразования происходит формирование единой пространственной сетки молочного сгустка, в петли которой захватываются дисперсионная среда с жировыми шариками и другими составными частями молока. Образуется плотный сгусток, хорошо отделяющий сыворотку и удерживающий мельчайшие капельки жира. Это свойство оправдывает решение о нормализации смеси по жиру в пределах 5–10 %. Массовая доля жира в смеси обеспечивает получение готового продукта с заданными физико-химическими и органолептическими свойствами. С увеличением массовой доли жира свыше 8 % структура сгустков становится более текучей, а консистенция готового продукта – сильно мажущейся. Продукт получают с повышенным содержанием влаги. Проведенные нами исследования процесса разделения молочного сырья с добавлением растительных масел на белково-жировую и осветленную фракции показали, что независимо от исходной массовой доли жира в образцах, степень перехода жиров в белковую массу приближается к 100 % (рис. 2).

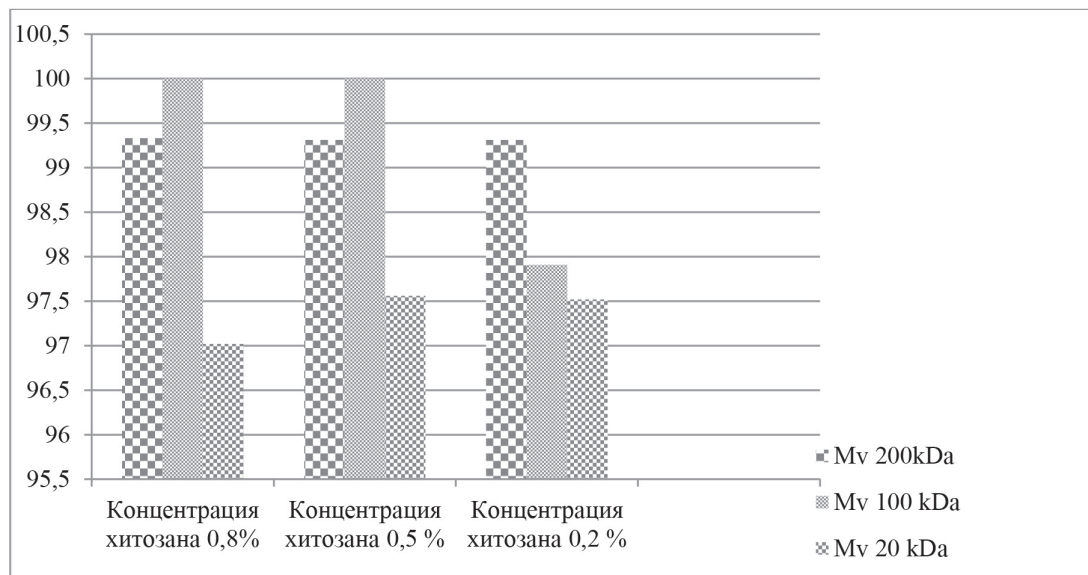


Рис. 2. Влияние доз хитозана с различной молекулярной массой на степень перехода липидов в белково-жировую фракцию, %.

Заключение / Conclusion. Исследование процесса коацервации в присутствии хитозана показало, что степень выделения сухих веществ молока достигает 70 %, а липидов – до 100 %. Таким образом, хитозан как комплексообразователь позволяет обеспечить высокий выход протеинов и липидов молока с сохранением их пищевых и биологических свойств и может применяться в разработке функциональных продуктов питания нового поколения.

ЛИТЕРАТУРА

1. Liu X., Ma L., Mao Z., Gao C. Chitosan based biomaterials for tissue repair and regeneration. Chitosan for biomaterials II. // Jayakumar R., Prabakaran M., Muzzarelli RAA, editors. Advances in polymer science. Heidelberg: Springer Berlin, 2011. Pp. 81–127.
2. Leedy M., Martin H., Norowski P., Jennings J., Haggard W., Bumgardner J. Use of chitosan as a bioactive implant coating for bone-implant applications. Chitosan for biomaterials II. // Jayakumar R., Prabakaran M., Muzzarelli RAA, editors. Advances in polymer science. Heidelberg: Springer Berlin, 2011. Pp. 129–165.

3. Madihally S. V., Matthew H. W. T. Chitosan scaffolds for tissue engineering // *Biomaterials*. 1999. V. 20. Pp. 1133–1142.
4. Riva R., Ragelle H., des Rieux A., Duhem N., Jérôme C., Prétat V. Chitosan and chitosan derivatives in drug delivery and tissue engineering. Chitosan for biomaterials II. // Jayakumar R., Prabakaran M., Muzzarelli RAA, editors. *Advances in polymer science*. Heidelberg: Springer Berlin, 2011. Pp. 19–44.
5. Berger J., Reist M., Mayer J. M., Felt O., Gurny R. Structure and interactions in chitosan hydrogels formed by complexation or aggregation for biomedical applications // *Eur J Pharm Biopharm*. 2004. V. 57. Pp. 35–52.
6. Химия пищи. Белки: структура, функции, роль в питании: в 2 кн. Кн. 1 / И. А. Рогов, Л. В. Антипова, Н. И. Дунченко, Н. А. Жеребцов М.: Колос, 2000. 384 с.
7. Dash M., Chiellini F., Ottenbrite R. M., Chiellini E. Chitosan – a versatile semi-synthetic polymer in biomedical applications // *ProgPolymSci*. 2011. V. 36. Pp. 981–1014

REFERENCES

1. Liu X., Ma L., Mao Z., Gao C. Chitosan based biomaterials for tissue repair and regeneration. Chitosan for biomaterials II. // Jayakumar R., Prabakaran M., Muzzarelli RAA, editors. *Advances in polymer science*. Heidelberg: Springer Berlin, 2011. Pp. 81–127.
2. Leedy M., Martin H., Norowski P., Jennings J., Haggard W., Bumgardner J. Use of chitosan as a bioactive implant coating for bone-implant applications. Chitosan for biomaterials II. // Jayakumar R., Prabakaran M., Muzzarelli RAA, editors. *Advances in polymer science*. Heidelberg: Springer Berlin, 2011. Pp. 129–165.
3. Madihally S. V., Matthew H. W. T. Chitosan scaffolds for tissue engineering // *Biomaterials*. 1999. V. 20. Pp. 1133–1142.
4. Riva R., Ragelle H., des Rieux A., Duhem N., Jérôme C., Prétat V. Chitosan and chitosan derivatives in drug delivery and tissue engineering. Chitosan for biomaterials II. // Jayakumar R., Prabakaran M., Muzzarelli RAA, editors. *Advances in polymer science*. Heidelberg: Springer Berlin, 2011. Pp. 19–44.
5. Berger J., Reist M., Mayer J. M., Felt O., Gurny R. Structure and interactions in chitosan hydrogels formed by complexation or aggregation for biomedical applications // *Eur J Pharm Biopharm*. 2004. V. 57. Pp. 35–52.
6. Khimiya pishchi. Belki: struktura, funktsii, rol' v pitanii (Food chemistry. Proteins: structure, functions, role in nutrition): v 2 kn. Kn. 1 / I. A. Rogov, L. V. Antipova, N. I. Dunchenko, N. A. Zhrebtsov. Kn. 1. M.: Kolos, 2000. 384 p.
7. Dash M., Chiellini F., Ottenbrite R. M., Chiellini E. Chitosan – a versatile semi-synthetic polymer in biomedical applications // *ProgPolymSci*. 2011. V. 36. Pp. 981–1014.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Скорых Оксана Геннадьевна, соискатель, Северо-Кавказский федеральный университет. E-mail: skorykh@inbox.ru
Алиева Людмила Руслановна, кандидат технических наук, доцент, начальник отдела международных проектов и программ, Северо-Кавказский федеральный университет. E-mail: LAlieva@ncfu.ru
Евдокимов Иван Алексеевич, доктор технических наук, профессор, заведующий базовой кафедрой молока и молочных продуктов, Северо-Кавказский федеральный университет. E-mail: ievdokimov@ncfu.ru

INFORMATION ABOUT AUTHORS

Skorykh Oksana Gennadiyevna, candidate for a degree, North-Caucasian Federal University. E-mail: skorykh@inbox.ru
Alieva Ludmila Ruslanovna, Ph.D., Associate Professor, Head of International Projects and Programs Department, North-Caucasian Federal University. E-mail: LAlieva@ncfu.ru
Ievdokimov Ivan Alekseevich, Doctor of Technical Sciences, Professor, Head of the Department of Milk and Dairy Products, North-Caucasian Federal University. E-mail: ievdokimov@ncfu.ru