

УДК 661.7:547.963.2

Ферментативный способ получения казеина с использованием культуры дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*

Е.А. ЦВЕТКОВА¹, И.Ю. УХАРЦЕВА², Т.В. АРАСТОВИЧ¹

В работе представлен ферментативный способ синтеза протеинов из композиций, содержащих микроорганизмы, в частности способ получения казеина с использованием культуры дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*.

Ключевые слова: молочная сыворотка, казеин-сырец, ферментация, протеин.

A method for the enzymatic synthesis of proteins from the compositions containing the microorganisms, in particular a process for preparing casein with yeast culture *Saccharomyces cerevisiae* is presented.

Keywords: whey, casein raw, fermentation, protein.

Введение. Казеин – это группа гетерогенных фосфопротеидов, самоассоциирующихся в мицеллы в присутствии кальция, цитратов и фосфатов, с молекулярной массой 75–100 тыс., содержащая полный набор незаменимых аминокислот [1], [2]. В своем составе казеин содержит фосфорную кислоту (органический фосфор), присоединенную моноэфирной связью к остаткам серина (рисунок 1). Основная часть казеина (около 95 %) в молоке содержится в виде казеиновых мицелл и лишь незначительная часть (около 5 %) – в виде мономеров, полимеров фракций казеина и субмицелл, имеющих размер менее 20–40 нм. Казеиновый комплекс состоит из агломерата основных фракций: α , β , γ , κ – казеинов, которые имеют несколько генетических вариантов.

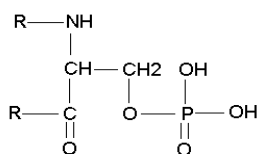


Рисунок 1 – Казеин

Так β -казеин, структура которого напоминает структуру молекулы детергента (гидрофильная «голова» и гидрофобный «хвост»), в растворе формирует детергентоподобные мицеллы, состоящие из гидрофобного ядра и торчащих наружу гидрофильных участков (рисунок 2, б), напоминающие свернувшегося в клубок ежа. Альфа-s1-казеин в растворе образует червеобразные самоассоциаты (цепочки) (рисунок 2, а) за счет связывания друг с другом гидрофобных концов разных молекул. Растворение κ -казеина также сопровождается формированием мицелл, за счет взаимодействия друг с другом гидрофобных N-терминальных участков, образующих неполярное ядро. При этом в системе устанавливается равновесие: мономерный κ -казеин \leftrightarrow мицеллярный κ -казеин. Предполагается, что вторичная структура κ -казеина, особенно в области гидрофобного *para*-казеинового участка, напоминает β -складку. В нативном коровьем молоке каппа-казеин находится в виде локализованных на поверхности мицеллы полимеров, стабилизированных, помимо гидрофобных, еще и дисульфидными связями, но даже после восстановления -S-S- связей каппа-казеин сохраняет способность к самоассоциации и адсорбции на поверхности казеиновых мицелл. Равновесие между силами гидрофобного связывания и электростатического отталкивания регулирует размер агрегатов и силу межмолекулярных взаимодействий [3].

Казеин представлен на рынке сырья в двух основных вариантах: гидролизат казеина и неизмененный казеин (казеинат или мицеллярный казеин). Гидролизат казеина получают ферментативным гидролизом в процессе обработки с целью улучшения скорости его абсорбции в организме человека. Увеличение скорости переваривания или поглощения и доставки аминокислот в

ткани скелетных мышц возникает из-за того, что структура белка по существу уже «предварительно переварена» и расщеплена на более мелкие пептидные фракции по сравнению с его первоначальной исходной структурой. Разработаны различные способы гидролиза, в том числе и с использованием в качестве катализатора селена, позволяющие получить максимальное расщепление белковых молекул [6]. Мицеллярный казеин – это наиболее эффективная форма казеина, которая представляет собой неизменный, природный казеин, получаемый методом тщательной фильтрации. Данная технология не подразумевает использование высоких тепловых режимов или химической обработки, вызывающих денатурацию этого белка, поэтому все его свойства сохраняются неизменными, а воздействие на организм оказывается более полноценное [4].

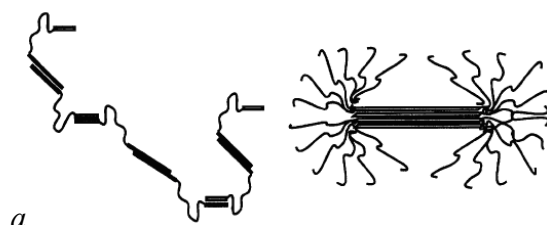


Рисунок 2 – Схемы полимерных структур, формируемых в растворе молекулами $\alpha 1$ -казеина (а) и β -казеина (б) [3]

Классическая технология получения казеина включает следующие операции [7]: обезжиривание молока; подготовку ферментов (пепсина – пищеварительного фермента, расщепляющего белки, или ренина – фермента, вырабатываемого в сычуге – отделе желудка молодых жвачных животных); пастеризацию и подкисление молока молочной или соляной кислотой; инокуляцию – смешение подготовленного молока и фермента; ферментативный катализ смеси при температуре 30–37 °С и рН 6,0–6,2 (сычужный фермент) или 1,5–1,8 (пепсин).

В последние годы при получении казеина для пищевых продуктов наметилась тенденция использования культур различных микроорганизмов. Например, известно применение симбиоза мезофильных, термофильных молочнокислых бактерий, уксуснокислых бактерий и дрожжей как заменителей ренина и пепсина для биоконсервирования отходов переработки молока [8]. При производстве продуктов детского питания казеин получают с использованием культур микроорганизмов из родов *Bacillus* и *Aspergillus* [9]. Применяется также способ с использованием культур молочнокислых палочек *Lactobacillus acidophilus* и *Lactobacillus bulgaricus* [10], заключающийся в сокращении времени сквашивания молока.

Однако существующие технологии предполагают использование дорогостоящих и дефицитных ферментов животного происхождения, а также значительную энергоемкость. В связи с этим актуальным является разработка новых или усовершенствование существующих технологий получения этого ценного продукта.

Таким образом, целью настоящего исследования было изучение возможности использования в технологии производства казеина закваски растительного происхождения; устранение энергоемких дополнительных операций предварительного нагрева молока и тепловой обработки зерен; снижение потерь казеина в процессе сливания сыворотки.

Материал и методика исследований. В качестве сырья использовали цельное коровье молоко (ГОСТ 13264). Для получения молочнокислого казеина закваску готовили на основе дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*. Культуру дрожжей выделяли из корня хрена (*Armoracia rusticana*) и культивировали на молочной сыворотке в течение 24–36 ч при 25–30 °С до образования гомогенной биомассы с рН = 4,5–5,0. Выращенная таким образом культура согласно определителю [11] соответствует *Saccharomyces cerevisiae* (синонимы – *Saccharomyces acetii Santa Maria* 1959, *Saccharomyces acedum lactam*), автор описания – Meyen ex Hansen, 1883 г. Патогенных штаммов среди представителей дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* не обнаружено [12]. Биомассу перемешивали с подготовленным молоком и оставляли при 25–30 °С на сутки. За это время из смеси образовывался твердый пористый сгусток казеина-сырца, плавающий в сыворотке. Сыворотку сливали, сгусток разрезали, казеиновое зерно промывали водой, центрифугиро-

вали и высушивали. В качестве закваски использовали не менее 15 об. % сыворотки, сливаемой после образования сгустка казеина-сырца. Превращение казеиногена в казеин происходило под действием протеолитических ферментов, выделяемых культурой дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*. Их эффективность как катализатора расщепления пептидных связей в белках столь велика, что процесс обржоазования казеинового осадка не требует предварительной пастеризации молока, а окончательную обработку зерен казеина можно проводить без их дозревания при повышенной температуре.

Для сравнения эффективности предлагаемой технологии при получении закваски использовали культуру ацидофильной палочки *Lactobacillus acidophilus* [10]. Обезжиренную молочную основу подогрели, вносили закваску (10 об. %), тщательно перемешивали и термостатировали при 40 °С. После образования сгустка сливали часть сыворотки, сгусток разрезали и выдерживали при 60 °С в течение 35 мин. Затем заливали оставшуюся сыворотку и обрабатывали казеиновое зерно по стандартной процедуре. Отбор и подготовку проб полученного казеина-сырца к анализу проводили в соответствии с ГОСТ 26809. Органолептические показатели оценивали по ГОСТ 28283. Из физико-химических показателей определяли кислотность по ГОСТ 3624, массовую долю влаги по ГОСТ 3626, содержание белка в сыворотке методом Кьельдаля по ГОСТ 23327.

Результаты исследований и их обсуждение. Результаты оценки органолептических и физико-химических показателей экспериментальных образцов казеина-сырца представлены в таблице 1.

Из таблицы видно, что образцы, полученные при использовании дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*, имеют меньшую кислотность сыворотки и казеинового сгустка по сравнению с образцами, полученными с применением культуры ацидофильной палочки *Lactobacillus acidophilus*. При этом казеин-сырец отличается меньшим содержанием влаги и более плотной консистенцией. Реализация предложенного способа сопровождается меньшими потерями белка, остающегося в сыворотке, сливаемой после образования сгустка.

Таблица 1 – Органолептические и физико-химические показатели экспериментальных образцов казеина-сырца

Показатели	на основе дрожжей <i>Saccharomyces cerevisiae</i> , об. %				на культурах ацидофильной палочки <i>Lactobacillus acidophilus</i> , об. %
	5	7	10	15	10
Кислотность, °Т:					
– сыворотки	83	95	95	95	100
– зерен	121	140	140	140	173
Массовая доля влаги зерен, %	89	55	55	53	82
Содержание белка в сыворотке, %	2,43	1,11	1,10	1,09	2,07
Органолептические показатели:					
– консистенция зерен	мажущаяся, рыхлая	пористая, крошащаяся			очень рыхлая
– цвет зерен	светло-кремовый	светло-кремовый			белый

Установлено, что концентрация предложенной закваски в молочной смеси должна быть не менее 7 об. %, т. к. концентрации 5 об. % кислотность смеси недостаточна для полного выпадения белка в осадок, что обуславливает повышенное содержание влаги и рыхлую консистенцию зерен казеина, а также значительные потери белка с сывороткой. Увеличение концентрации закваски до 15 об. % незначительно (по сравнению 10 об. %) снижает влажность зерен, а содержание белка в сыворотке практически не изменяется. Кроме того, использование сыворотки, сливаемой после образования сгустка казеина-сырца, для ферментации следующих порций приготовленного молока приводит к такому же качеству зерен, как применение исходной закваски оптимальной концентрации 7–10 об. %.

Заключение. Предложен ферментативный способ получения казеина с использованием культуры дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*, выделенной из корня хрена *Armoracia rusticana*, позволяющий снизить себестоимость продукта.

Литература

1. Черников, М.П. Казеин. Химическая энциклопедия : в 5 т. / М.П. Черников. – Т. 2. – М. : Сов. энцикл., 1990. – С. 559.
2. Биологический энциклопедический словарь / Гл. ред. М.С. Гилярова ; редкол. : А.А. Баев, Г.Г. Винберг, Г.А. Заварзин [и др.]. – М. : Сов. энциклопедия, 1986. – 831 с.
3. Ельчаинов, В.В. Структура казеинов и механизм сычужного свертывания. Некоторые химические свойства и особенности структуры казеинов / В.В. Ельчаинов [Электронный ресурс]. – Режим доступа : <http://tu.convdocs.org/docs/index-239822.html>. – Дата доступа : 10.10.2014.
4. Казеиновый протеин [Электронный ресурс]. – Режим доступа : http://sportime.by/info_dop/156. – Дата доступа : 10.10.2014.
5. Казеин [Электронный ресурс]. – Режим доступа : <http://dailyfit.ru/pitanie-i-dieta/kazein-vsya-pravda-o-nem>. – Дата доступа : 10.10.2014.
6. Курбанова, М.Г. Исследование и разработка полифункциональных добавок на основе гидролизатов казеина и практическая реализация технологий пищевых продуктов с их использованием / М.Г. Курбанова [Электронный ресурс]. – Режим доступа : <http://sarmedinfo.ru/list/12237>. – Дата доступа : 10.10.2014.
7. Грачева, И.М. Технология ферментных препаратов / И.М. Грачева. – М. : Химия, 1975. – 392 с.
8. Способ получения закваски для высококислотного продукта : пат. РФ 2147405, МПК А 23С 9/12, С 12N 1/20 / Л.Ю. Прудова, Т.Е. Данилова, Е.Г. Инешина, В.Ж. Цыренов ; заявитель Восточно-Сибирский гос. техн. ун-т ; заявл. 13.04.98 ; опубл. 20.04.00.
9. Гидролизат казеина и способ его получения : пат. РФ 2086143 А23J3/00, А23J3/34 / Пер Мунк Нильсен [ДК] ; заявитель Ново Нордиск А/С (ДК) ; заявл. 09.11.92 ; опубл. 10.08.97.
10. Способ производства молочно-кислотного казеина : пат. РФ 2199233, МПК А 23J 1/20 / Г.С. Михалкина, А.В. Татьяначиков, Л.И. Васильева, С.П. Петрова, В.Д. Харитонов ; заявитель ООО «Компания «Торос» ; заявл. 22.05.00 ; опубл. 27.02.03.
11. The Yeasts : a taxonomys study. – 3rd ed. / Ed. N. J. W. Kreger van Rij. – Amsterdam : Elsevier Biomed. Press, 1984. – P. 379–395.
12. Саттон, Д. Определитель патогенных и условно патогенных грибов / Д. Саттон, М. Ринальди. – М. : Мир, 2001. – 354 с.

¹Гомельский государственный университет им. Ф. Скорины

²Белорусский торгово-экономический университет потребительской кооперации

Поступила в редакцию 10.11.2014