

# ХРОМАТОГРАФІЧНЕ ВИЗНАЧЕННЯ АМІНОКИСЛОТНОГО СКЛАДУ МОЛОЧНОЇ СИРОВАТКИ

**Синенко Тетяна Павлівна**

аспірантка

**Скріпкіна Юлія Олександрівна**

студентка

Сумський національний аграрний університет

м. Суми, Україна

**Вступ./Introduction.** На сьогодні в харчовій промисловості спостерігається тенденція до натуральності, використання сировини та харчових добавок природного походження. Ароматичні властивості харчових продуктів при їх виробництві та зберіганні можуть зменшуватися чи зовсім втрачатися. Тому в харчовій індустрії використовуються ароматизатори, які підсилюють чи відновлюють аромат і, відповідно, покращують органолептичні властивості харчових продуктів.

При виробництві ароматизаторів та ароматичних продуктів значне місце посідають біотехнологічні процеси, здебільшого ферментативні. Головною метою таких реакцій є гідролітичне розщеплення або трансформація основних біологічних речовин: білків, жирів, вуглеводів і кислот. Кінцеві продукти ферментативних реакцій є носіями чи попередниками аромату. Так, важливу роль в творенні органолептичних характеристик продукту мають амінокислоти, які вступають в реакцію із редукуючими цукрами (реакція Маяра) і створюють характерні аромати [1, с. 241].

Молочна сироватка вважається цінною вторинною сировиною, оскільки в її складі містяться біологічно важливі компоненти: білкові азотисті сполуки (в першу чергу незамінні амінокислоти), вуглеводи (лактоза), ліпіди, мінеральні солі, вітаміни, органічні кислоти та інші.

Одним із найбільш цінних компонентів молочної сироватки є білкові речовини. Вміст їх у сироватці складає 0,6...0,8%. Найменшою частиною білків

сироватки, близько 10%, є залишки казеїну –  $\gamma$ -фракція, яка не згортається сичужним ферментом. А понад 90% – це група сироваткових білків:  $\beta$ -лактоглобулін,  $\alpha$ -лактальбумін, імуноглобуліни, альбумін сироватки крові, протеозо-пептони, лактоферін, ферменти та інші мінорні білки [2, с. 7]. Сироваткові білки багаті дефіцитними незамінними амінокислотами: лізин, триптофан, метіонін, треонін та інші [3, с. 48]

**Мета роботи./Aim.** Метою дослідження було вивчення та порівняння амінокислотного складу нативної молочної сироватки та гідролізованої протеолітичним ферментом (Папаїн).

**Матеріали та методи./Materials and methods.** Експериментальні дослідження проводилися в лабораторії Сумського національного аграрного університету. Для досліджень використовували свіжу молочну сироватку (сирну), отриману при виробництві кисломолочного сиру, з вмістом лактози 4,0%, з масовою часткою молочного жиру 0,5%, білку – 0,6%. Значення активної кислотності (рН) 4,5 і титрованої кислотності 70°Т. За органолептичними показниками відповідала наступним ознакам: жовтуватого кольору, з вираженим ароматом сирної сироватки і легким кисломолочним відтінком.

Для проведення ферментного гідролізу використовували протеолітичний препарат «Папаїн PSM 400» з активністю 40000 од./г (виробник ТОВ «Алекс»).

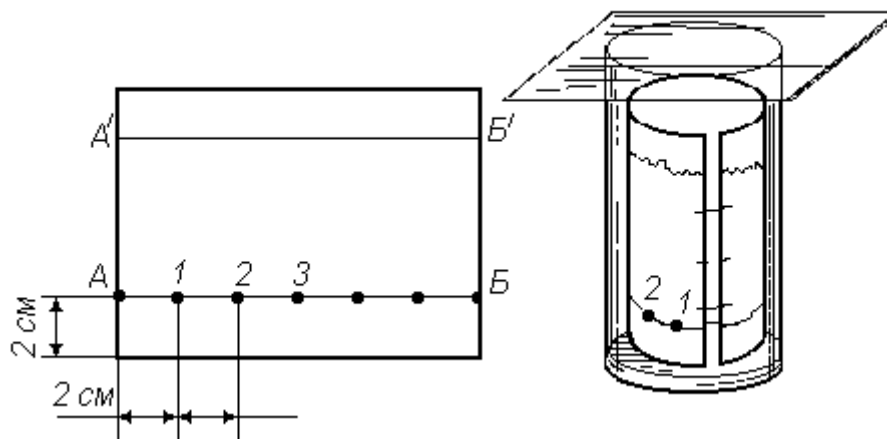
Фермент Папаїн (ЕС 3.4.22.2) – це цистеїнова протеаза, отримана із соку папайї (*Carica papaya*). Каталітична активність папаїна спостерігається при рН 3,0–12,0 (оптимум при рН 6,0–7,0) в температурному діапазоні 20–60°С (оптимум при температурі 40–60°С). Розщеплення білкового субстрату відбувається за амінокислотними залишками цистеїн, лізин, аргінін, фенілаланін [4, с. 160].

Підготовка експериментальних зразків проводилася наступним чином: для ферментативного процесу збільшували значення рН сирної сироватки від 4,0 до 7,0 додаванням 1 н NaOH. На електронних вага відміряли необхідну кількість ферментного препарату (1% в перерахунку на білок) та вносили в

підготовлену сироватку (рН 7,0; t 55°C), добре перемішували. Ферментацію сирної сироватки проводили при температурі 55–60°C і витримкою 90 хв за допомогою магнітної мішалки (оснащеною електричним підігрівачем).

Визначення амінокислотного складу нативної та ферментованої молочної сироватки проводили методом хроматографії на папері [5, с. 15]. Для цього на хроматографічному папері відзначали лінії старту та фінішу. На папір в пронумеровані кільця, скляними капілярами нанести краплі дослідних розчинів та амінокислот-«свідків». Розчин на кожне кільце нанести 5-6 разів після висихання попередньої краплі. Після висихання нанесених крапель, звернути папір у циліндр та зшити аркуш через край так, щоб одержати більш чи менш правильний циліндр. На дно скляного циліндра налити суміш із н-бутанолу, оцтової кислоти та води у співвідношенні 4:1:5 та обережно помістити паперовий циліндр. Скляний циліндр щільно зачинити кришкою і залишити стояти до тих пір, доки розчинник підніметься до лінії фінішу. Тоді обережно вийняти паперовий циліндр, розрізати шов, розпрямити папір та висушити його в сушильній шафі при температурі 70–80°C. На рис. 1 представлена схема проведення аналізу.

Коли розчинник повністю випариться, хроматограму проявити. Як проявник використовувати розчин нінгідрину ( $\omega$ (нінгідрину) 0,5%) в ацетоні. Потім висушити папір на повітрі та прогріти у сушильній шафі при температурі 110°C до появи лілових плям. Проявлені хроматограми піддають якісному аналізу: ідентифікують амінокислотний склад суміші та визначають коефіцієнт розподілу  $R_f$  кожної амінокислоти.



**Рис. 1. Схема паперової хроматографії**

**Результати та обговорення./Results and discussion.** На рис. 2 представлена хроматограма молочної сироватки нативної та ферментованої. Найбільш яркі плями відповідають амінокислотам-«свідкам». Якісний аналіз дослідних зразків показав, що коефіцієнт розподілу  $R_f$  для амінокислот-«свідків» мають наступні значення: валін – 0,51; лейцин – 0,65; фенілаланін – 0,59; метіонін – 0,47.



**Рис. 2. Хроматограма дослідних зразків:**

**1. валін, 2. лейцин, 3. фенілаланін, 4. метіонін 5. сирна сироватка,  
6. ферментована сироватка**

Згідно даних хроматограми (рис. 2), в нативній молочній сироватці амінокислоти валін, лейцин, фенілаланін та метіонін знаходяться в малій концентрації, адже чітких ліній не виявлено, лише ледь помітне забарвлення. При ферментації вміст даних амінокислот збільшується, про що свідчить забарвлення та відстань, по якій можливо ідентифікувати амінокислоти. Таким чином, в ферментованій молочній сироватці присутні валін, лейцин, фенілаланін та метіонін.

**Висновки./Conclusions.** В процесі виконаної експериментальної роботи був досліджений амінокислотний склад нативної молочної сироватки та гідролізованої протеолітичним ферментом (Папаїн) методом хроматографії на папері.

Ароматичний профіль продукту залежить від його амінокислотного складу. Саме кількісний склад амінокислот та їх взаємодія з іншими хімічними компонентами продукту мають особливе значення при розробці ароматичних добавок. Тому наступні дослідження в цій сфері є перспективними.

#### **Список літератури:**

1. Смирнов Е. В. Пищевые ароматизаторы. Справочник. Санкт-Петербург : Профессия, 2008. 736 с.
2. Onwulata C., Huth P. Whey processing, functionality and health benefits. Ames, Iowa : John Wiley & Sons, 2009. 404 p.
3. Храпцов А. Г. Феномен молочной сыворотки. Санкт-Петербург: Профессия, 2011. 804 с.
4. Adler-Nissen J. Protease. In Enzyme in food processing. 3<sup>rd</sup> ed. Nagodawithana T. and Reed G. (eds). San Diego: Academic Press 1993, 159–203.
5. Салюк А. І., Котинський А. В., Семенова О. І., Бублієнко Н. О. Лабораторний практикум для студ. технолог. спец. ден. форм навчання. Київ: НУХТ, 2011. 61 с.