

**МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ХАРЧОВИХ ТЕХНОЛОГІЙ**

ДАЦИШИН КАТЕРИНА ЄВГЕНІВНА



УДК 641.56: 637.344.8: 577.122.2

**РОЗРОБКА ТЕХНОЛОГІЇ НИЗЬКОАЛЕРГЕННОГО ГІДРОЛІЗАТУ
БІЛКІВ СИРОВАТКИ ДЛЯ ЗБАГАЧЕННЯ МОЛОЧНИХ ПРОДУКТІВ
СПЕЦІАЛЬНОГО ПРИЗНАЧЕННЯ**

05.18.04 – технологія м'ясних, молочних продуктів і продуктів з гідробіонтів

АВТОРЕФЕРАТ

дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата технічних наук

Київ – 2021

Дисертацією є рукопис

Робота виконана на кафедрі харчової біотехнології і хімії Тернопільського національного технічного університету імені Івана Пулюя Міністерства освіти і науки України

Науковий керівник: доктор біологічних наук, професор
Юкало Володимир Глібович
Тернопільський національний технічний університет імені Івана Пулюя МОН України, кафедра харчової біотехнології і хімії, професор кафедри харчової біотехнології і хімії Тернопільського національного технічного університету імені Івана Пулюя.

Офіційні опоненти: доктор технічних наук, професор
Поліщук Галина Євгенівна,
Національний університет харчових технологій МОН України, завідувач кафедри технології молока і молочних продуктів

кандидат технічних наук, доцент
Шарахматова Тетяна Євгенівна,
Одеська національна академія харчових технологій МОН України, декан факультету технології та товарознавства харчових продуктів і продовольчого бізнесу

Захист відбудеться «15» квітня 2021 р. об 11⁰⁰ годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 26.058.03 Національного університету харчових технологій за адресою: 01601, м. Київ, вул. Володимирська, 68, у режимі онлайн, вхід за посиланням

<https://zoom.us/j/92090585941?pwd=MDNZUGxwYi9mTVdhV2pSWkkrQW5TZz09>
ID конференції: 920 9058 5941, пароль: grK3H1

З дисертацією можна ознайомитися у бібліотеці Національного університету харчових технологій за адресою: 01601, м. Київ, вул. Володимирська, 68.

Автореферат розісланий «__» березня 2021 р.

Вчений секретар спеціалізованої вченої ради



М.В. Білько

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. Білки сироватки завдяки високій біологічній цінності знайшли широке використання у харчовій промисловості. Останніми роками особливий інтерес викликає їх застосування у гідролізованому стані. Гідролізати білків сироватки призначені для використання в харчових продуктах, таких як сухі суміші, напої, в продуктах спеціального призначення для дитячого харчування, спортивного харчування і харчування літніх людей, в програмах схуднення, для харчування людей, які мають порушення травної функції протеолітичних ферментів, а також при виробництві молочних гіпоалергенних продуктів. Науковими дослідженнями гідролізатів білків сироватки молока займалися вчені багатьох країн світу (Долінський А.А., Новіков В.П., Круглик В. И., Головач Т. Н., Korhonen H., Steenhout P., Bindels J. G, Silvestre M.P.C, Kankanamge R. та інші). Для проведення протеолізу ними найчастіше використовувалися активні протеолітичні препарати рослинного та мікробіологічного походження, які характеризуються широкою специфічністю по відношенню до різних пептидних зв'язків. При підборі ферментних препаратів в першу чергу звертали увагу на вихід пептидів, ступінь протеолізу та органолептичні показники. Проте, на сьогодні встановлено, що протеїни молочної сироватки є не тільки повноцінним джерелом амінокислот, але і великої кількості (близько 200) природних біологічно активних пептидів (БАП). Вони утворюються в результаті протеолізу білків сироватки у фізіологічних умовах. Встановлено, що ці природні БАП позитивно впливають на різні фізіологічні системи організму. При використанні мікробних, рослинних ферментних препаратів або умов протеолізу, відмінних від фізіологічних, утворення таких біологічно активних пептидів неможливе, тобто такі продукти втрачають значну частину своєї біологічної цінності.

В Україні, незважаючи на отримання великої кількості сироватки, як побічного продукту переробки молока, широкомасштабне виробництво гідролізатів не налагоджене і для виробництва продуктів в основному використовуються гідролізати білків сироватки молока імпортного виробництва. Тому встановлення умов отримання гідролізатів білків сироватки зі збереженням природних БАП та розробка на їх основі продуктів спеціального призначення є своєчасним та актуальним завданням.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.

Дисертаційну роботу виконано у рамках держбюджетних тем кафедри харчової біотехнології і хімії Тернопільського національного технічного університету імені Івана Пулюя: «Виділення біологічно активних пептидів з продуктів ферментативного розщеплення білків молока», № держреєстрації 0110U002267 (2010-2012 рр.); «Виділення та ідентифікація попередників біологічно активних пептидів з протеїнів молока», № держреєстрації 0117U002243 (2017-2019 рр.).

Мета і завдання дослідження. *Метою* роботи є розроблення технології гідролізату білків сироватки молока зі збереженими біологічно активними пептидами та зниженою алергенністю для збагачення молочних продуктів спеціального призначення.

Для досягнення поставленої мети було визначено такі **завдання**:

- ✓ розробити методи препаративного виділення основних білків сироватки молока на основі препаративного електрофорезу та гель-фільтрації;
- ✓ розробити експрес-метод для оперативної ідентифікації та кількісної оцінки фракцій білків сироватки молока;
- ✓ обґрунтувати умови отримання гідролізату білків сироватки молока, які забезпечують утворення нативних біологічно активних пептидів серед продуктів протеолізу;
- ✓ з використанням встановлених умов проведення гідролізу, розробити технологію гідролізату концентрату сироваткових білків та охарактеризувати молекулярно-масовий розподіл у ньому пептидів, біологічну активність, алергенні властивості, органолептичні та фізико-хімічні показники;
- ✓ розробити технологічну та апаратурно-технологічну схеми нових видів продуктів спеціального призначення (молочного напою з гідролізатом білків сироватки; низькоалергенного комбінованого продукту, збагаченого гідролізатом білків сироватки молока; сиркового продукту на основі сиру кисломолочного з гідролізатом білків сироватки) та дослідити їхні показники якості;
- ✓ розробити проекти нормативної документації на виробництво гідролізату білків сироватки молока та нових продуктів спеціального призначення, провести промислову апробацію, розрахувати очікувану економічну ефективність, довести соціальну значимість наукової розробки.

Об'єкт дослідження – технологія гідролізату білків сироватки молока зі збереженими біологічно активними пептидами, зниженими алергенними властивостями та продуктів спеціального призначення із його використанням.

Предмет дослідження – гідролізати білків сироватки молока, їх молекулярно-масовий розподіл, біологічна активність та алергенні властивості; молочні продукти, збагачені гідролізатами білків сироватки молока, їх органолептичні та фізико-хімічні показники якості.

Методи досліджень. У роботі використано загальноприйняті і спеціальні біохімічні (виділення і очищення протеїнів та пептидів, протеоліз протеїнових субстратів, визначення протеолітичної активності ензимів ферментних препаратів), фізико-хімічні (гель-фільтрація протеїнів, спектрофотометрія, електрофорез), мікробіологічні, органолептичні, імунологічні, математичні та математично-статистичні (статистична обробка отриманих експериментальних результатів) методи досліджень.

Наукова новизна отриманих результатів.

✓ Вперше розроблені нові науково обґрунтовані умови отримання гідролізатів білків сироватки молока, які забезпечують утворення природних біологічно активних пептидів. Комбінацією методів гель-фільтрації на різних декстранових гелях вперше доведено, що такі гідролізати за молекулярно-масовим розподілом пептидів відповідають відомим природним біологічно активним пептидам білків сироватки молока. Зокрема, показано, що в запропонованих умовах утворюються антигіпертензивні пептиди. Також підтверджено знижену алергенність отриманих гідролізатів.

✓ Для ідентифікації основних попередників біологічно активних пептидів з сироватки молока вперше розроблено спосіб одностадійного виділення цих білків в нативних умовах на основі препаративного диск-електрофорезу. Доведено високу ступінь гомогенності (>95%) отриманих препаратів протеїнів попередників.

✓ Для потреб дослідження гідролізатів білків сироватки молока розроблено спосіб виділення основних фракцій попередників біологічно активних пептидів з сироватки молока методом подвійної гель-фільтрації з розподілом хроматограми на сектори.

✓ Удосконалено методику експрес-аналізу, яка дозволяє ідентифікувати та кількісно оцінити основні фракції попередників біологічно активних пептидів з сироватки молока на основі анодної електрофоретичної системи однорідного поліакриламідного гелю із збереженням ефекту концентрування молекул білків.

✓ Новизна отриманих результатів підтверджена п'ятьма патентами на корисну модель України.

Практичне значення отриманих результатів. До результатів досліджень, що мають найбільше практичне значення, відносяться такі:

✓ Розроблено технологію та проєкт технічних умов отримання гідролізату білків сироватки молока зі збереженням нативного складу біологічно активних пептидів («Гідролізат білків підсирної сироватки» (ТУ У 10.5-05408102-002:2019)). Такі гідролізати можуть бути використані при виробництві продуктів спеціального призначення.

✓ Запропоновано технології молочних продуктів з використанням отриманого гідролізату білків сироватки молока із збереженими природними біоактивними пептидами та низькоалергенного комбінованого продукту, збагаченого гідролізатом білків сироватки молока, із заміною казеїну на інший повноцінний харчовий білок. Використання низькоалергенного гідролізату білків сироватки молока у таких продуктах дозволяє зберегти їх біологічну цінність, а також застосовувати у складі харчування для людей, що страждають на непереносимість білків сироватки молока і казеїнів.

✓ Розроблено технології продуктів, збагачених ГБС та проєкти нормативної документації для їх виробництва: «Молочний напій з ГБС» (ТУ У 10.5-05408102-004:2019), «Соевий продукт з ГБС» (ТУ У 10.5-05408102-003:2019), «Паста сиркова з ГБС» (ТУ У 10.5-05408102-005:2019).

✓ Нові технологічні рішення апробовано на ТОВ «Бучацький сирзавод» (2017 рік) та в умовах експериментального цеху ІПР НААН України (м. Київ).

✓ Запропоновані методи препаративного виділення основних попередників біологічно активних пептидів з сироватки молока можуть бути застосовані для отримання гомогенних білків сироватки молока, аналізу і використання їх при виробництві харчових продуктів.

✓ Розроблений експрес-метод на основі електрофорезу може бути використаним для аналізу харчових систем, що містять у своєму складі білки сироватки молока. Метод характеризується доступністю та підходить для виробничих умов. Також він може бути корисним для встановлення натуральності молочних білкових продуктів.

✓ Результати дисертаційної роботи використовуються у науковій роботі і навчальному процесі кафедри харчової біотехнології і хімії Тернопільського національного технічного університету імені Івана Пулюя.

Особистий внесок здобувача. Аналіз і узагальнення наукових даних по отриманню ферментативних гідролізатів білків сироватки молока та виробництву продуктів підвищеної харчової цінності із їх застосуванням, експериментальні дослідження за темою дисертаційної роботи, статистичну обробку отриманих результатів, підготовку матеріалів досліджень до публікування у вигляді наукових статей і тез, оформлення матеріалів для одержання патентів, організацію промислової апробації розроблених технологій продуктів з гідролізатом білків сироватки молока, розробку проектів нормативної документації дисертантом здійснено особисто за методичної і наукової підтримки наукового керівника доктора біологічних наук, професора Юкала В.Г.

Апробація результатів дисертації. Основні положення роботи доповідалися і обговорювалися на наступних конференціях: міжнародній науково-практичній конференції «Технічні науки: стан, досягнення і перспективи розвитку м'ясної, олієжирової та молочної галузей» (Київ, 2012 р.); міжнародних науково-технічних конференціях «Наукові проблеми харчових технологій та промислової біотехнології в контексті Євроінтеграції» (Київ, 2017, 2018, 2019 рр.); IX, XII, XIII Міжнародних науково-технічних конференціях «Техника и технология пищевых производств» (Білорусь, м. Могильов, 2013, 2018, 2020 рр.); American Dairy Science Association Annual Meeting (USA, Knochville, 2018 р.); щорічних науково-технічних конференціях ТНТУ імені Івана Пулюя.

Публікації. За матеріалами дисертаційної роботи опубліковано 28 наукових праць, із них 13 статей, з яких 9 – у наукових фахових виданнях України, що входять до міжнародних наукометричних баз даних (зокрема – 2 у *Scopus* та 3 у *Web of Science Core Collection*), 2 – у закордонних виданнях; 10 тез доповідей на наукових, науково-практичних і науково-технічних конференціях. За результатами досліджень одержано 5 патентів України на корисну модель.

Структура та обсяг дисертації. Дисертаційну роботу викладено на 166 сторінках основного тексту. Робота складається зі змісту, переліку умовних позначень, вступу, 5 розділів, висновків, списку використаних джерел (253 найменувань на 26 сторінках) та 21 додатком (на 60 сторінках). Дисертацію ілюстровано 67 рисунками та 25 таблицями.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

У вступі обґрунтовано актуальність теми, мету і завдання дисертаційної роботи, яка спрямована на розробку технології гідролізату білків сироватки молока зі збереженими біологічно активними пептидами, зниженою алергенністю для збагачення молочних продуктів спеціального призначення. Наведено зв'язок теми з науковими програмами. Показано наукову новизну та

практичне значення роботи, відображено результати апробації та публікації за темою дисертаційної роботи.

У **першому розділі** «Біологічно активні продукти протеолізу білків сироватки молока, їх отримання та використання у молочних продуктах» висвітлено сучасні уявлення про будову білків сироватки молока, утворення біологічно активних пептидів в процесі протеолізу білків сироватки молока та можливі шляхи їх використання, сучасні способи отримання гідролізатів білків сироватки молока. Також розглянуто технології молочних продуктів з використанням гідролізатів білків сироватки молока.

У **другому розділі** «Матеріали та методи досліджень» охарактеризовано матеріали і викладено методи досліджень. Також у розділі наведено схему проведення теоретичних пошуків та експериментів. Основна частина теоретичних та експериментальних досліджень була проведена у лабораторії технології молока і молочних продуктів кафедри харчової біотехнології і хімії Тернопільського національного технічного університету імені Івана Пулюя; окремі експерименти та аналізи проводилися у Науково-дослідному інституті епідеміології та гігієни Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького, у випробувальній лабораторії державного підприємства «Тернопільстандартметрологія», а також у лабораторії мікробіології молока та молочних продуктів Тернопільського національного технічного університету імені Івана Пулюя.

У **третьому розділі** «Аналіз та фракціонування білків сироватки молока» наведено результати досліджень щодо розробки доступних та ефективних методів для препаративного виділення основних протеїнів сироватки молока на основі повторної гель-фільтрації та препаративного диск-електрофорезу, а також експрес-методу на основі електрофорезу в однорідному поліакриламідному гелі (ПАГ) для їх кількісного аналізу. Експериментально доведено, що повторна гель-фільтрація з виділенням окремих секторів хроматографічних піків дозволила відділити електрофоретично гомогенні (> 90%) фракції IG і β -LG. Типове розділення протеїнів сироватки молока у запропонованому варіанті препаративного диск-електрофорезу показано на рис. 1 (1). Денситограма (рис. 1(2)) свідчить про хороше розділення основних фракцій сироватки молока у даній системі, що дозволяє отримати їх у гомогенному стані зі ступенем очистки близько 95%.

Для проведення серійних досліджень, розробки технології гідролізату і продуктів із сироватки молока необхідне проведення регулярного аналізу фракційного складу сироваткових білків. У зв'язку з цим нами розроблений експрес-метод електрофоретичного аналізу протеїнів сироватки молока на основі електрофорезу в нативних умовах у однорідній системі ПАГ зі збереженням ефекту концентрування білків. Така система дозволяє надійно ідентифікувати основні білкові фракції сироватки через 25-30 хв після завершення електрофорезу (рис. 2).

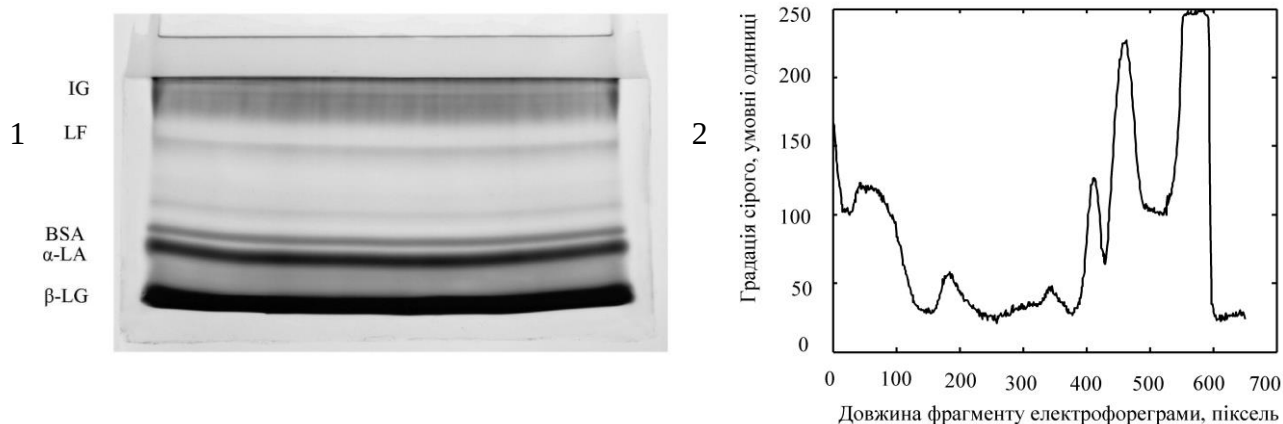


Рисунок 1 – Електрофореграма (1) і денситограма (2) протеїнів сироватки молока у препаративному варіанті диск-електрофорезу

Запропонована електрофоретична система дозволяє оперативно аналізувати фракційний склад протеїнів сироватки, а також гомогенність

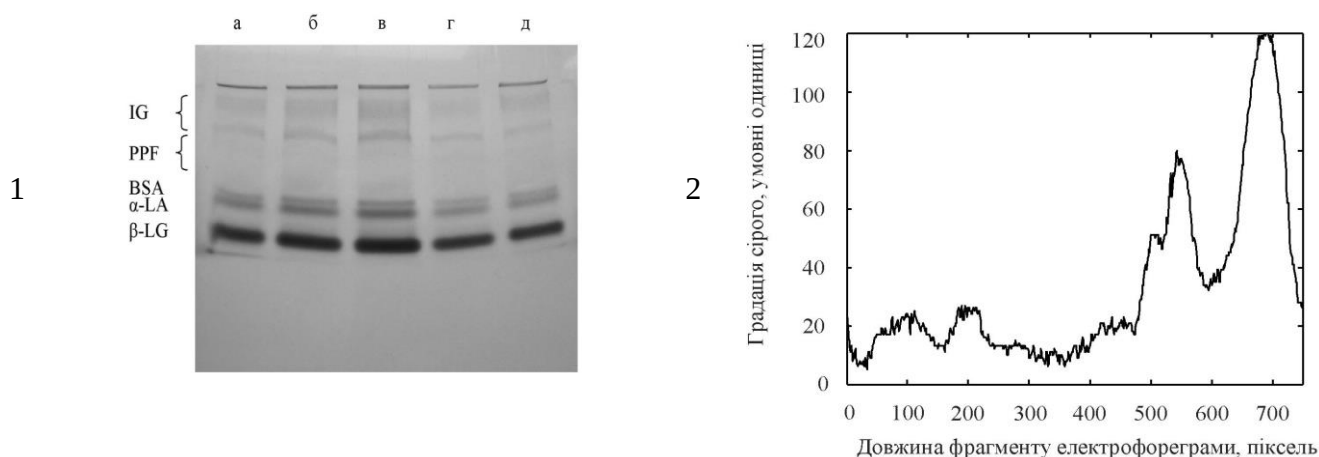


Рисунок 2 – Електрофореграма (1) зразків сироватки молока, отримана в запропонованій системі для пластинок однорідного ПАГ: а – зразок 1; б – зразок 2; в – зразок 3; г – зразок 4; д – зразок 5 та денситограма (2)

окремих фракцій в процесі їх виділення і була використана нами при роботі з харчовими системами, що містять сироваткові білки, та при дослідженні гідролізатів білків сироватки молока.

У **розділі 4** «Розробка технології гідролізату білків сироватки молока зі збереженими біологічно активними пептидами та зниженими алергенними властивостями» показані результати досліджень, пов'язаних з встановленням умов для отримання гідролізату зі збереженими біологічно активних пептидів (БАП) з сироватки молока, розробка його технології та характеристика гідролізату. Протеоліз проводили при фізіологічних значеннях температури (37°C) і рН (7,9), при яких утворюються всі БАП за дії протеаз підшлункової залози. При проведенні протеолітичних досліджень було вибрано співвідношення ензим:субстрат – 1:20 на основі отриманих результатів (таблиця 1) і літературних даних.

Для встановлення концентрації субстрату «концентрат сироваткових білків» (КСБ) була визначена залежність виходу продуктів протеолізу від концентрації субстрату. Експериментально підтверджено, що при концентрації близько 15% і вище кількість продуктів протеолізу починає повільно знижуватись. Для пояснення цього було проведено визначення в'язкості

Таблиця 1 – Розподіл продуктів протеолізу, отриманих за дії панкреатину на КСБ у фізіологічних умовах ($M \pm m$, $n=3$)

Приклад способу	Продукти протеолізу з молекулярною масою						Загальна кількість продуктів протеолізу*	
	$M \geq 30000$ Да		$1500 \text{ Да} < M < 30000$ Да		$M \leq 1500$ Да			
	мг	%	мг	%	мг	%	мг	%
1 (1 год, 1:20)	4,3±0,7	3	107±9,1	75	31±2,0	22	143±10,0	66
2 (2 год, 1:20)	5,1±0,8	3	109±10,3	72	38,7±3,3	25	153±7,9	71
3 (3 год, 1:20)	3,9±0,3	2,8	110±8,6	71,7	39,5±3,1	25,5	155±6,7	72
4 (2 год, 1:10)	3,6±0,4	2,3	112±7,6	71,6	40,2±2,4	26,1	159±9,3	74
5 (2 год, 1:50)	16,8±1,2	14	91,7±6,5	73	15,9±1,3	13	124±6,9	57

Примітка: відсоток від кількості протеїнів зразка, взятого для гель-фільтрації

розчину КСБ в залежності від його концентрації. Результати свідчать, що кінематична в'язкість розчину субстрату різко зростає при концентраціях вище 15%. Порівняльну характеристику дії протеолітичних препаратів проводили на субстраті КСБ. Результати показані на рис. 3.

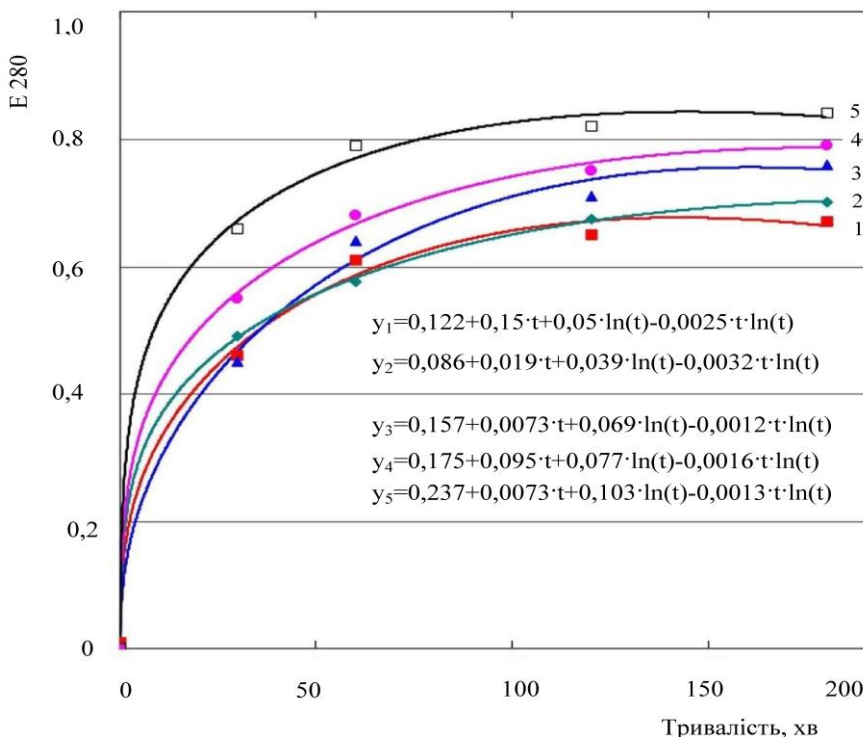


Рисунок 3 - Протеоліз концентрату сироваткових білків протеолітичними препаратами: 1 – хімотрипсин; 2 – трипсин; 3 – папаїн; 4 – панкреатин; 5 – нейтральна протеаза

Як видно із графіків, протеоліз інтенсивно проходить перших 60 хвилин і в основному завершується до 120 хвилини. Найвищий ступінь протеолізу показали нейтральна протеаза і панкреатин. Для встановлення молекулярно-масового розподілу, отриманих поліпептидів і пептидів була проведена гель-фільтрація реакційної суміші після осадження нерозщеплених протеїнів 5% трихлороцтовою кислотою (ТХО), яку відбирали на 60-й і 120-

й хвилини протеолізу. Результати гель-фільтрації продуктів протеолізу на сефадексі G-50 показані на рисунку 4.

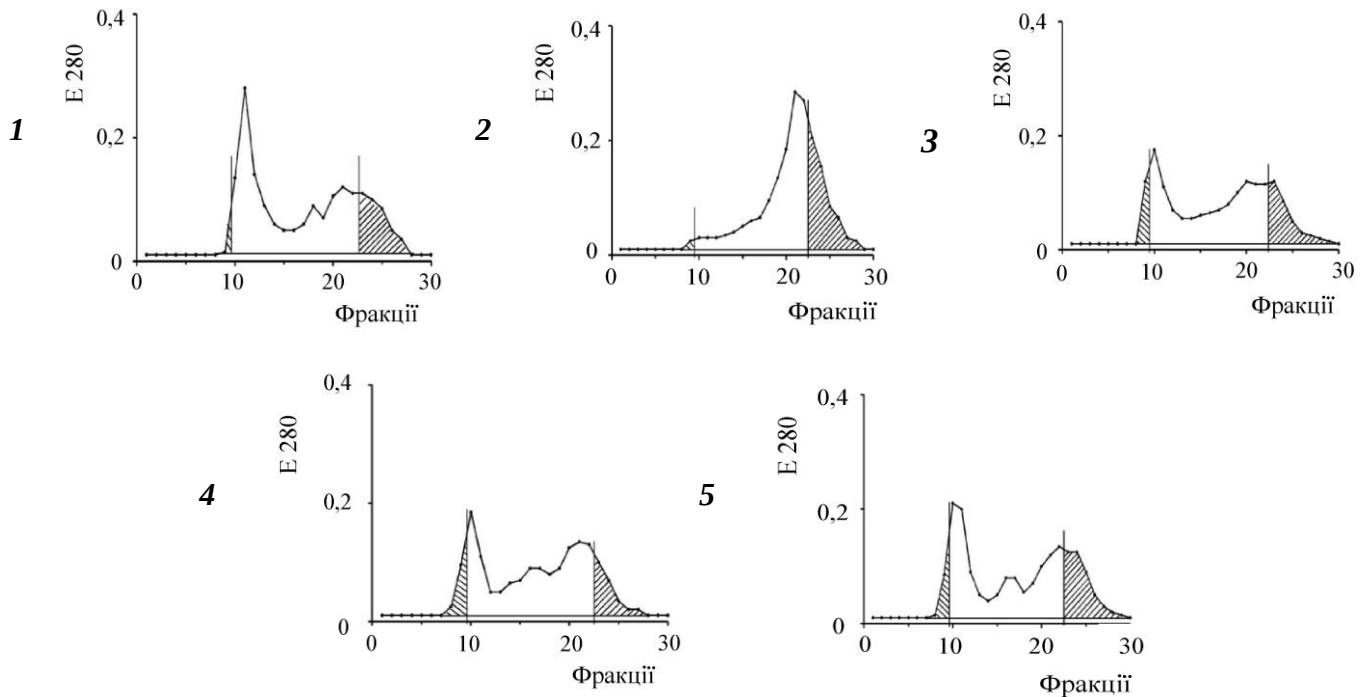


Рисунок 4 - Хроматограми продуктів протеолізу КСБ, отримані на 120-й хвилині протеолізу за дії різних ензимних препаратів: 1 – папаїн, 2 – нейтральна протеаза, 3 – трипсин, 4 – хімотрипсин, 5 – панкреатин

Найвища кількість низькомолекулярних пептидів ($M < 1500$ Да) була отримана за дії нейтральної протеази (29 %) і панкреатину (25 %). Також важливим результатом є те, що при близьких значеннях ступеню протеолізу співвідношення продуктів за молекулярними масами і, відповідно, хроматографічні профілі продуктів протеолізу суттєво відрізняються. У таблиці 2 наведені значення у відсотках кількості продуктів протеолізу, розчинних у 5 % ТХО, від загальної кількості протеїнів і пептидів у КСБ, які були використані для проведення гель-фільтрації. В об'єднаних фракціях за результатами трьох гель-фільтрацій визначали середній вміст продуктів протеолізу з: $M < 1500$ Да, $1500 \text{ Да} < M < 30000$ Да і $M > 30000$ Да.

Таблиця 2 – Молекулярно-масовий розподіл продуктів протеолізу КСБ протеолітичними препаратами за результатами гель-фільтрації на сефадексі G-50 ($M \pm m$, $n=3$)

Протеолітичний препарат	Продукти протеолізу з $M \geq 30000$ Да		Продукти протеолізу з $1500 \text{ Да} < M < 30000$ Да		Продукти протеолізу з $M \leq 1500$ Да		Загальна кількість продуктів протеолізу*	
	мг	%	мг	%	мг	%	мг	%
Тривалість протеолізу 120 хвилин								
Папаїн	2,7±0,5	2	108±6,3	75	33±3,2	23	144±6,7	67
Нейтральна протеаза	2,3±0,4	1	114±8,1	70	46±4,9	29	163±9,1	75
Трипсин	12,3±1,2	9	102±6,4	73	25,6±2,4	18	140±8,7	65
Хімотрипсин	11,3±1,1	8	110±7,3	79	18,7±2,7	13	141±10,5	65
Панкреатин	5,1±0,8	3	109±10,3	72	38,7±3,3	25	153±7,9	71

Примітка: відсоток від кількості протеїнів зразку, взятого для гель-фільтрації

Електрофоретичні дослідження гідролізатів КСБ свідчать про відмінності у доступності різних протеїнових фракцій до дії протеолітичних препаратів.

Найвищий ступінь протеолізу (близько 80 %) фракцій β -LG і α -LA показали панкреатин і нейтральна протеаза. За площею відповідних піків на денситограмах було розраховано залишкову кількість нерозщепленого β -LG і α -LA після 120 хвилин протеолізу. Результати показані на діаграмах (рис. 5).

Враховуючи ці результати, для отримання гідролізату концентрату сироваткових білків було обрано умови, при яких досягається достатній рівень

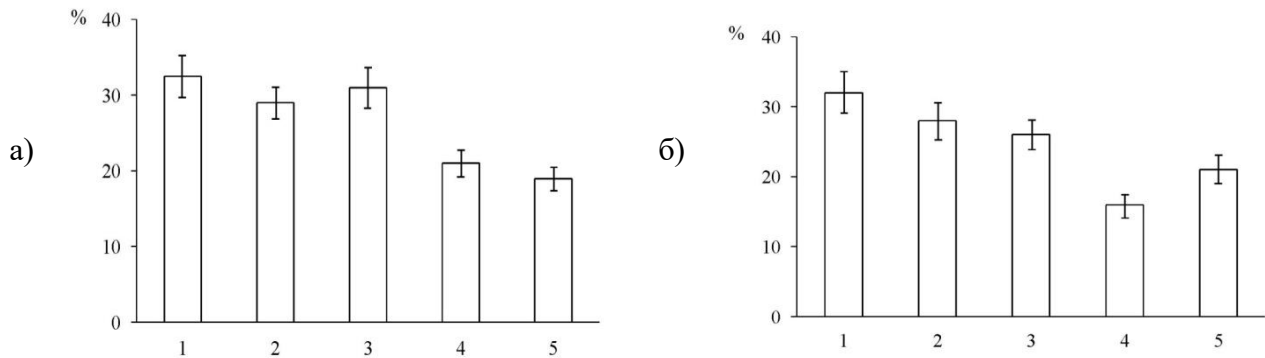


Рисунок 5 - Відсоток негідролізованих протеїнових фракцій КСБ за дії папаїну (1), трипсину (2), хімотрипсину (3), нейтральної протеази (4) і панкреатину (5): а – β -LG; б – α -LA

протеолізу та вдається максимально зберегти природні біологічно активні пептиди. Такі умови створюються при фізіологічних значеннях температури 37°C та рН 7,9, співвідношенні ензимного препарату «Панкреатин» : субстрат 1:20, концентрації субстрату 15% і тривалості протеолізу 120 хв.

З врахуванням підібраних умов було розроблено технологічну та апаратурно-технологічну (рис. 6, А) схеми виробництва гідролізату концентрату сироваткових білків. Основними технологічними операціями його отримання є: приготування 15% розчину КСБ, пастеризація р-ну ($t=72\pm 2^\circ\text{C}$; $\tau=15-20$ с), охолодження р-ну КСБ до температури гідролізу (37-38°C), ферментативний гідроліз р-ну КСБ панкреатином (ферментативний гідроліз панкреатином $\tau=120$ хв; $t=37-38^\circ\text{C}$; $\text{pH}=7,9$; $[\text{E}]:[\text{S}]=1:20$), інактивація ферментного препарату ($t=80\pm 1^\circ\text{C}$, $\tau=7-8$ хв), сушіння (t на вході $170\pm 10^\circ\text{C}$, t на виході – $80\pm 5^\circ\text{C}$). Технологію виробництва гідролізату КСБ апробовано на ТОВ «Буцацький сирзавод».

Перед використанням отриманого гідролізату для збагачення молочних продуктів, було проведено його більш детальну оцінку за молекулярно-масовим розподілом. Значення молекулярних мас відомих БАП з білків сироватки молока знаходяться в межах від 100 до 2000 Да. Тому, якщо при використанні панкреатину у фізіологічних умовах для протеолізу білків сироватки молока, утворюються пептиди із такою молекулярною масою, велика ймовірність, що серед них будуть природні БАП. Для характеристики молекулярно-масового розподілу відбирали зразки через 120 хвилин протеолізу. На цей момент кількість продуктів протеолізу, що не осаджуються 5% ТХО становить більше 70%. Для проведення гель-фільтрації продуктів протеолізу КСБ були вибрані три типи сефадексів з низькими значеннями

молекулярних мас діапазону фракціонування пептидів: G-10, G-25 та G-50. За молекулярними масами було виділено п'ять діапазонів. Результати розрахунків вмісту пептидів кожного діапазону і їх відсоток від загального вмісту продуктів протеолізу показані в таблиці 3. В результаті проведених досліджень встановлено, що до двох із п'яти діапазонів, що були виділені за молекулярними масами (0-700 Да і 700-1500 Да), входять майже 40% всіх продуктів протеолізу, які можуть містити близько 80% всіх відомих БАП з протеїнів сироватки молока. Зокрема, нами було експериментально підтверджено наявність антигіпертензивних пептидів.

Отриманий у фізіологічних умовах гідролізат білків сироватки (ГБС) молока було досліджено на алергенність. Результати аналізу вказують на те, що панкреатинний гідролізат концентрату сироваткових білків не викликав алергічних реакцій у групи піддослідних тварин, що свідчить про його знижену алергенність.

Таблиця 3 - Молекулярно-масовий розподіл продуктів протеолізу КСБ панкреатином ($M \pm m$, $n=3$)

Діапазон молекулярних мас (Да)	> 30000	30000>M>5000	5000>M>1500	1500>M>700	>700
Кількість продуктів протеолізу (мг)	4 $\pm$ 1	21 $\pm$ 3	65 $\pm$ 5	18 $\pm$ 3	36 $\pm$ 4
Відсоток від загальної кількості продуктів протеолізу (%)	3	14	45	13	25

Отриманий гідролізат білків сироватки молока характеризувався хорошими органолептичними показниками, чистим кисломолочним смаком та запахом з легким присмаком альбуміну. Також були визначені фізико-хімічні та мікробіологічні показники продукту, що свідчать про безпечність та якість отриманого продукту. Такий гідролізат було використано нами для збагачення молочних продуктів спеціального призначення.

У розділі 5 «Розробка технології молочних продуктів спеціального призначення збагачених гідролізатом білків сироватки молока» наведено технології продуктів: «Молочний напій з ГБС», «Паста сиркова з ГБС» та «Соевий продукт з ГБС», збагачених отриманим гідролізатом білків сироватки молока. Гідролізат білків сироватки у продукти вносили із розрахунку середньої кількості сироваткових білків у молоці, що становить близько 15-22% від усіх білків молока. Оскільки відомо, що гідролізат може надавати продуктам присмаку альбуміну, то основним критерієм для обґрунтування кількості його внесення слугував органолептичний аналіз, що здійснювався дегустаційною комісією. Обґрунтовано технологічні режими їх виробництва, досліджено органолептичні, фізико-хімічні, мікробіологічні показники. Для обґрунтування рецептурного складу запропонованих продуктів дослідження проводили із трьома зразками для молочного напою з ГБС, та п'ятьма зразками для пасты сирової з ГБС та соєвого продукту з ГБС, що містили різну

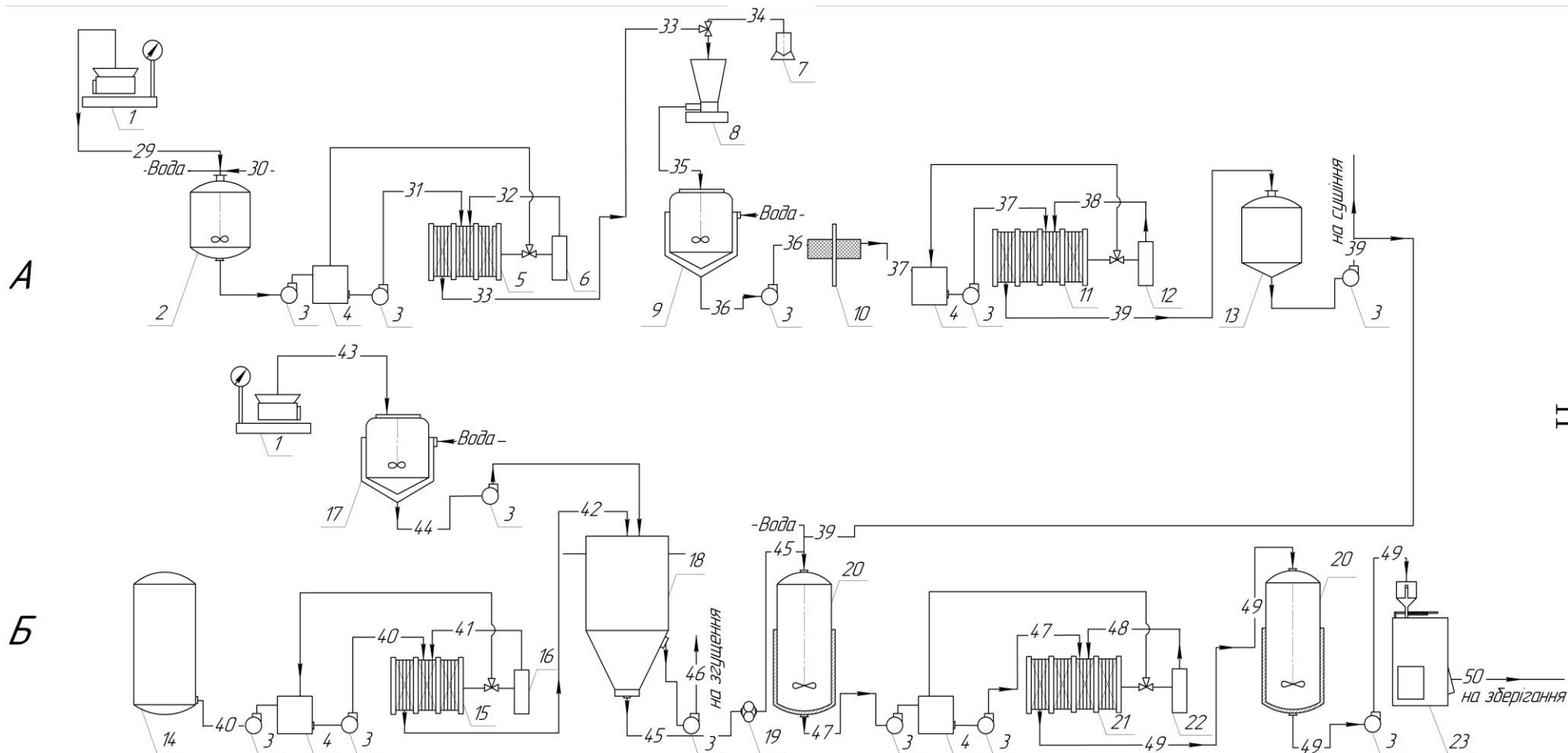


Рисунок 6 – Апаратурно-технологічна схема виготовлення молочного напою з гідролізатом білків сироватки

Умовні позначення:

А – виробництво гідролізату концентрату сироваткових білків; Б – виробництво молочного напою з гідролізатом сироваткових білків.
 1 – ваги; 2 – ємність для приготування розчину КСБ; 3 – відцентровий насос; 4 – зрівнювальний насос; 5, 11, 15, 21 – пластинчаста ПОУ; 6, 12, 16, 22 – витримувач; 7 – ємність для ферментного препарату; 8 – роторно-пульсаційний апарат; 9 – термоізоляційна ємність для гідролізату; 10 – фільтр; 13 – ємність для збору гідролізату; 14 – резервуар для знежиреного молока; 17 – термоізоляційна ємність для приготування розчину пектину; 18 – резервуар для осадження концентрату нативного казеїну; 19 – шестерний насос; 20 – резервуар для приготування молочного напою з ГБС; 23 – фасувальний автомат.

кількість гідролізату. Апаратурно-технологічну схему виробництва молочного напою з ГБС показано на рис. 6. Усі дослідні зразки молочного напою характеризувалися хорошими органолептичними показниками, з присмаком пастеризації та незначним альбумінним присмаком, що залежить від кількості внесеного гідролізату. Фізико-хімічні показники отриманого продукту наведено у таблиці 4. У досліджуваних зразках молочного напою з різною кількістю ГБС досліджено зміну активної та титрованої кислотності протягом рекомендованого терміну зберігання. Встановлено, що додавання ГБС

Таблиця 4 – Фізико-хімічні показники молочного напою з різним вмістом ГБС ($M \pm m$, $n=3$)

Найменування показника	Норма	Значення показника*			
		контролю	молочного напою з ГБС		
			зразок 1	зразок 2	зразок 3
Масова частка білка, %, не менше ніж	3,0	3,736 $\pm$ 0,02	4,1 $\pm$ 0,01	4,23 $\pm$ 0,015	4,32 $\pm$ 0,03
Масова частка жиру, %, не більше ніж	0,01-0,08	0,015 $\pm$ 0,006	0,01 $\pm$ 0,007	0,01 $\pm$ 0,0065	0,01 $\pm$ 0,0058
Титрована кислотність, не більше ніж	21	10 $\pm$ 0,62	12 $\pm$ 0,5	13 $\pm$ 0,58	15 $\pm$ 0,52
Фосфатаза	Відсутня	Відсутня	Відсутня	Відсутня	Відсутня

* зразки, що відповідають вмісту сироваткових білків в молоці: зразок 1 – 0,45%; зразок 2 – 0,54%; зразок 3 – 0,63%. Середній вміст білків сироватки в молоці становить 0,5%.

практично не впливає на показник рН (контроль – 6,6; середнє значення досліджуваних зразків – 6,63) молочного напою, але призводить до збільшення титрованої кислотності у допустимих нормативними документами межах

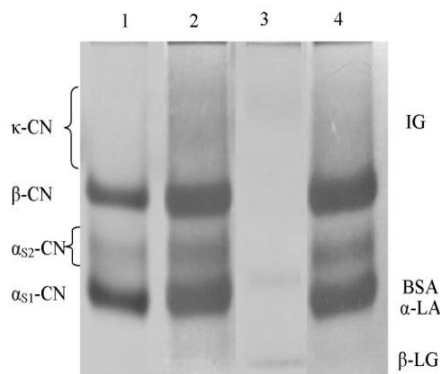


Рисунок 7 - Електрофореграма загального казеїну (1); концентрату нативного казеїну (2); панкреатинного гідролізату білків сироватки (3); молочного напою з ГБС (4), отримана в системі однорідного поліакриламідного гелю у присутності сечовини

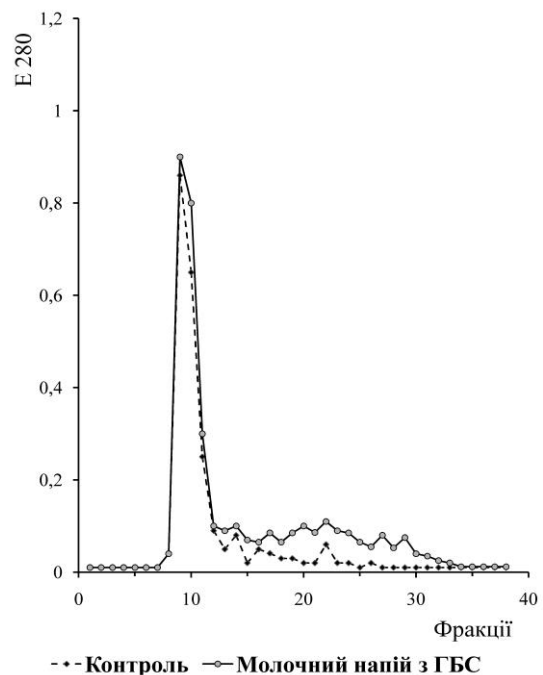


Рисунок 8 - Хроматограма контролю та молочного напою з ГБС, отримана гел'єв'ятрацією на сефадексі G-25

пропорційно збільшенню кількості ГБС у продукті (для контролю – 10⁰Т; для досліджуваних зразків – 12-15⁰Т). Готовий напій також було охарактеризовано з допомогою електрофоретичних та хроматографічних методів (рис. 7, 8).

Результати досліджень підтверджують збільшення кількості низькомолекулярних пептидів у готовому молочному напої та відсутність білків алергенів сироватки молока. Для розширення асортименту нами були розроблені рецептури молочного напою знежиреного з м.ч. лактози 4,7%, молочного напою з м.ч.ж. 3,4% та молочного напою з м.ч.ж. 3,4% та м.ч. лактози 4,7% з різним вмістом ГБС.

Також у даному розділі наведено розроблені технологічні та апаратурно-технологічні схеми виробництва продуктів спеціального призначення «Соевий продукт з ГБС» та «Паста сиркова з ГБС». У готових продуктах проаналізовано органолептичні, фізико-хімічні, мікробіологічні показники. Експериментально підібрано кількість ГБС, що вносили у продукти (рис. 9). Для оцінки були взяті п'ять зразків із різною кількістю ГБС на 100 г продукту (зразок 1 – 2,1 г; зразок 2 – 2,3 г; зразок 3 – 2,5 г; зразок 4 – 2,7 г; зразок 5 – 2,9 г). Найкращими органолептичними показниками характеризувались зразки 2 та 3. Зразки з більшим вмістом ГБС володіли характерним присмаком альбуміну. Також у досліджуваних зразках соєвого продукту з ГБС було охарактеризовано зміну активної та титрованої кислотності, вологоутримуючої здатності протягом терміну зберігання у порівнянні із контрольним зразком.

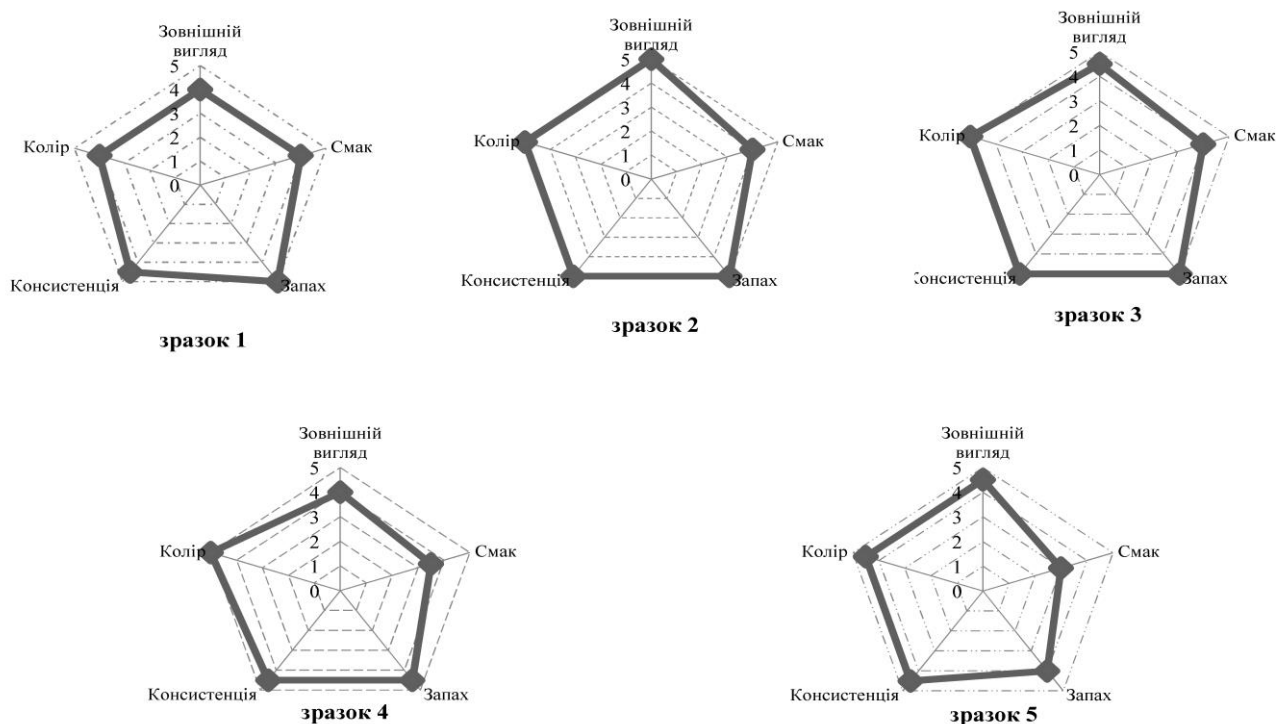


Рисунок 9 - Органолептичні профілі дегустаційної оцінки зразків соєвого продукту із різним вмістом ГБС

Фізико-хімічні показники соєвого продукту (табл. 5) з різним вмістом ГБС знаходяться в межах, встановлених нормативними документами на їх виготовлення. Додавання ГБС дещо підвищує вміст білка у досліджуваних зразках з гідролізатом в порівнянні з контрольним зразком. Встановлено, що

внесення ГБС незначно підвищує вологоутримуючу здатність (ВУЗ) (контрольний зразок – 43,9%, середнє значення для дослідних зразків – 50,39%), титровану (контрольний зразок – 88⁰Т, для дослідних зразків – 95-

Таблиця 5 – Фізико-хімічні показники соєвого продукту з ГБС ($M \pm m$, $n=3$)

Найменування показника		Масова частка білка, %	Масова частка жиру, %	Масова частка вологи, %	pH
Контрольний зразок		14,75±0,06	7,7±0,61	77,2±0,52	4,21±0,012
Дослідні зразки соєвого продукту з різним вмістом ГБС	зразок 1	14,85±0,059	6,83±0,4	78,0±0,45	4,21±0,055
	зразок 2	14,87±0,061	6,75±0,45	78,1±0,47	4,4±0,023
	зразок 3	14,88±0,06	6,67±0,55	78,18±0,51	4,45±0,04
	зразок 4	14,89±0,058	6,58±0,5	78,25±0,5	4,49±0,12
	зразок 5	14,9±0,062	6,5±0,66	78,32±0,53	4,49±0,05

138⁰Т) та активну (контрольний зразок – 4,21; середнє значення для дослідних зразків – 4,4) кислотність готового продукту. Соєвий продукт з ГБС було досліджено з допомогою методу електрофорезу. Результати електрофоретичного дослідження вказують на відсутність основних білків алергенів сироватки молока (рис. 10). Також розроблено рецептури соєвого продукту з різним вмістом ГБС та наповнювачами ванілін, кориця, какао та цукор для покращення органолептичних показників і можливості внесення максимальної із запропонованих кількості ГБС.

Максимальну кількість гідролізату, внесеного в пасту сиркову з ГБС, визначали адекватністю органолептичних властивостей продукту (відсутність присмаку альбуміну). ГБС вносили в кількості від 1 до 5% (кількість ГБС у % відповідає номеру досліджуваного зразка). Результати дегустаційної оцінки

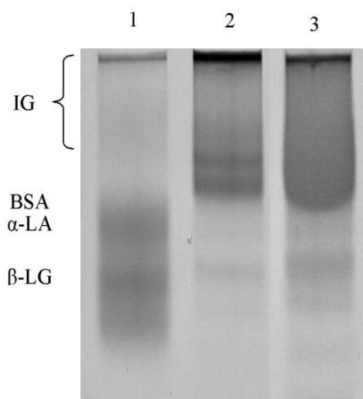


Рисунок 10
Електрофореграма сироватки (1); сої (2); 3 – соєвого продукту з ГБС, отримана в системі однорідного поліакриламідного присутності сечовини

відображено на рисунку 11. У готовому продукті «Паста сиркова з ГБС» досліджено органолептичні, фізико-хімічні, мікробіологічні показники. Органолептичні показники є властивими для сиркових виробів на основі сиру кисломолочного, характерним є незначний присмак альбуміну, що не знижує якість готового продукту при внесенні у запропонованій кількості. Фізико-хімічні показники отриманого продукту наведено у таблиці 6. У досліджуваних зразках пасти сиркової з ГБС досліджено зміну показників ВУЗ, активної та титрованої кислотності протягом рекомендованого терміну зберігання у порівнянні з контрольним зразком. Результати проведених досліджень свідчать про підвищення ВУЗ, титрованої та активної кислотності в отриманому продукті у порівнянні із контрольним зразком без ГБС.

З допомогою проведених електрофоретичних та хроматографічних досліджень встановлено від-

сутність білків алергенів сироватки молока у пасті сирковій з ГБС. Проте, як свідчать дані хроматографічного дослідження, отримані з допомогою

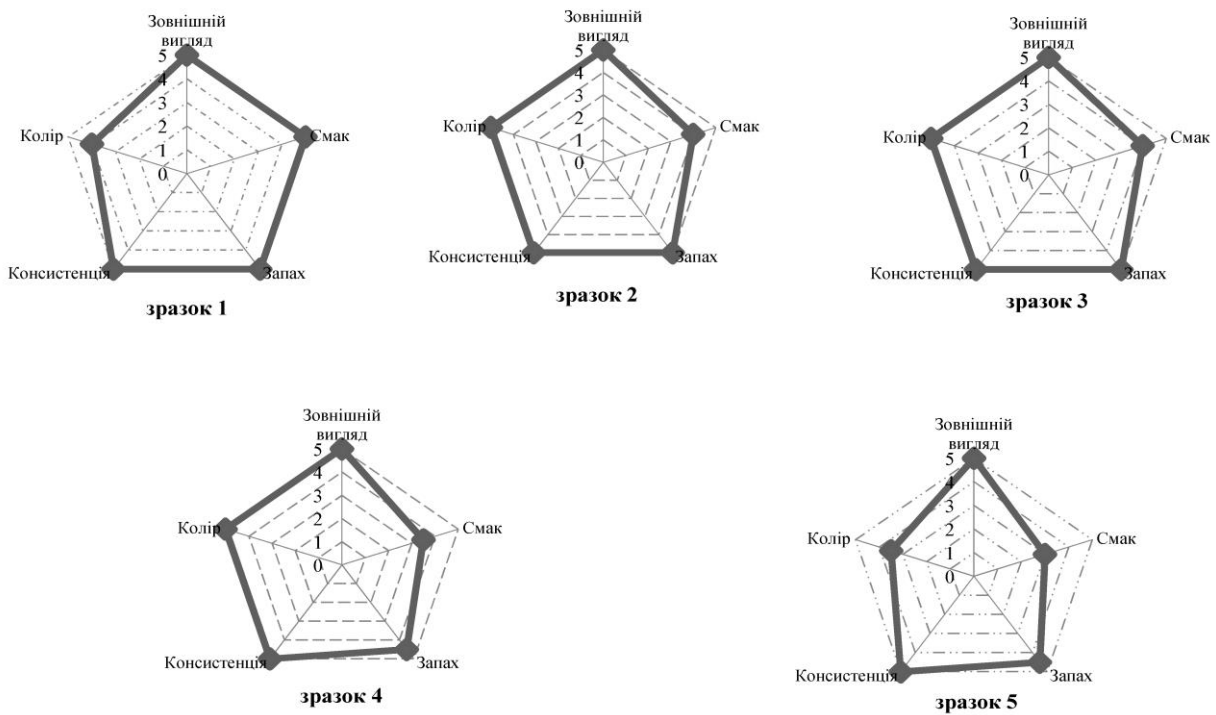


Рисунок 11 - Органолептичні профілі дегустаційної оцінки зразків пасти сиркової із різним вмістом ГБС

гель-фільтрації на сефадексі G-25, у готовому продукті «Паста сиркова з ГБС» спостерігається збільшення кількості низькомолекулярних пептидів.

Мікробіологічні дослідження розроблених продуктів показали, що бактерій групи кишкової палички в 0,1 см³ продукту, плісневих грибів в 1 г продукту, дріжджів у 1 г продукту, патогенних мікроорганізмів в 25 см³ продукту та *Staphylococcus aureus* в 1 см³ продукту не виявлено у жодному із досліджуваних зразків як на початку так і в кінці рекомендованого терміну зберігання.

Таблиця 6 – Фізико-хімічні показники пасти сиркової з ГБС ($M \pm m$, $n=3$)

Найменування показника		Масова частка білка, %	Масова частка жиру, %	Масова частка води, %	Титрована к-ть
Контрольний зразок		15,19±0,05	9,0±0,01	70,6±1,5	140±1,78
Дослідні зразки пасти сиркової з різним вмістом ГБС	зразок 1	15,58±0,08	8,99±0,012	70,16±1,25	152±2,05
	зразок 2	15,97±0,09	8,98±0,0,11	69,72±1,12	164±1,9
	зразок 3	16,36±0,06	8,97±0,01	69,28±1,05	177±1,68
	зразок 4	16,75±0,07	8,96±0,013	68,84±1,59	188±1,96
	зразок 5	17,14±0,045	8,96±0,011	68,4±1,36	191±2,0

Для нових продуктів «Молочний напій з ГБС», «Паста сиркова з ГБС» та «Соевий продукт з ГБС» розроблені технологічні та апаратурно-технологічні схеми виробництва.

Технології розроблених продуктів спеціального призначення апробовано в умовах експериментального цеху ІПР НААН України (м. Київ).

Проведено розрахунок техніко-економічної ефективності згідно діючих статей калькуляції від виробництва 1 т кожного виду продуктів спеціального призначення. Встановлено, що прибуток підприємства від виробництва 1 т молочного напою з ГБС складе 2069,068 грн, 1 т пасти сиркової з ГБС 18995,56 грн, 1 т соєвого продукту з ГБС 11885,57 грн.

ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі на основі теоретичних та експериментальних досліджень розроблено технологію низькоалергенного гідролізату білків сироватки молока в умовах, що забезпечують утворення біологічно активних пептидів та технології продуктів з його використанням. На основі проведених досліджень сформульовано наступні висновки:

1. Розроблено способи отримання основних попередників біологічно активних пептидів з молочної сироватки на основі препаративного електрофорезу та гель-фільтрації. Охарактеризовано їх вихід та гомогенність отриманих препаратів.

2. На основі дослідження аналітичних методів розроблено експрес-метод ідентифікації попередників біологічно активних пептидів з сироватки молока за електрофоретичною рухливістю у однорідному поліакриламідному гелі. Метод характеризується доступністю, дозволяє одночасно та надійно ідентифікувати основні білки молочної сироватки у дев'яти взірцях протягом 60 хв.

3. Проведено порівняльний аналіз гідролізатів білків сироватки молока, отриманих з різними протеолітичними препаратами мікробіологічного, рослинного та тваринного походження. За допомогою електрофоретичних і хроматографічних методів, обґрунтовано умови для утворення нативних біологічно активних пептидів серед продуктів протеолізу. Охарактеризовано вихід пептидів і вміст фракції, яка відповідає за молекулярними масами біологічно активним пептидам.

4. Розроблено технологічну схему виробництва гідролізату концентрату сироваткових білків, який отримано у виробничих умовах на ТОВ «Бучацький сирзавод». Охарактеризовано його склад, досліджено алергенність. Експериментально підтверджено, що панкреатинний гідролізат концентрату сироваткових білків, отриманий у фізіологічних умовах, не викликав алергічних реакцій у групи піддослідних тварин, що свідчить про його знижені алергенні властивості. На основі проведених досліджень показано, що в запропонованих умовах отримання гідролізату утворюються антигіпертензивні пептиди.

5. Розроблено технологічні та апаратурно-технологічні схеми виробництва продуктів спеціального призначення «Молочний напій з ГБС», «Соєвий продукт з ГБС» та «Паста сиркова з ГБС». Обґрунтовано технологічні режими виробництва нових продуктів, досліджено їх органолептичні, фізико-хімічні,

мікробіологічні показники. Експериментальні партії розроблених продуктів було отримано в умовах експериментального цеху ІПР НААН України (м. Київ).

6. За допомогою електрофоретичних та хроматографічних методів встановлено відсутність у готових продуктах білків алергенів сироватки молока та підтверджено підвищення кількості низькомолекулярних пептидів.

7. Розроблено проекти нормативної документації для виробництва гідролізату білків сироватки із збереженими біологічно активними пептидами «Гідролізат білків підсирної сироватки» (ТУ У 10.5-05408102-002:2019) та продуктів з його використанням «Молочний напій з ГБС» (ТУ У 10.5-05408102-004:2019), «Соевий продукт з ГБС» (ТУ У 10.5-05408102-003:2019), «Паста сиркова з ГБС» (ТУ У 10.5-05408102-005:2019).

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСТЕРТАЦІЇ

Публікації у наукових фахових виданнях України:

1. Юкало, В.Г., & Дацишин, К.Є. (2017). Підбір умов для препаративного електрофорезу протеїнів сироватки молока у нативних умовах. *Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького*, 19(80), 13-17. (Науковий журнал входить до затвердженого МОН Переліку фахових видань України з технічних наук; міжнародна індексація: Google Scholar та ін.). **Особистий внесок:** проведення експериментальних досліджень, обробка та узагальнення отриманих результатів, підготовка матеріалу до друку.

2. Юкало, В.Г., & Дацишин, К.Є. (2018). Декстранові гелі для ексклюзивної хроматографії протеїнів сироватки молока. *Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького*, 20(85), 3-8. (Науковий журнал входить до затвердженого МОН Переліку фахових видань України з технічних наук; міжнародна індексація: Index Copernicus, Google Scholar та ін.). **Особистий внесок:** проведення експериментальних досліджень, обробка та узагальнення отриманих результатів, підготовка матеріалу до друку.

3. Yukalo, V.G., Storozh, L.A., Datsyshyn, K.Ye., & Krupa, O.M. (2018). Electrophoretic systems for preparative fractionation of protein precursors of bioactive peptides from cow's milk. *Food science and technology*, 12(2), 26-32. (Науковий журнал входить до затвердженого МОН Переліку фахових видань України з технічних наук; міжнародна індексація: Web of Science Core Collection, Food Science and Technology Abstracts та ін.). **Особистий внесок:** проведення експериментальних досліджень, обробка та узагальнення отриманих результатів, підготовка матеріалу до друку.

4. Yukalo, V.G., & Datsyshyn, K.Ye. (2018). Gel filtration of cow milk whey proteins. *Food science and technology*, 12(4), 72-78. (Науковий журнал входить до затвердженого МОН Переліку фахових видань України з технічних наук; міжнародна індексація: Web of Science Core Collection, Food Science and Technology Abstracts та ін.). **Особистий внесок:** проведення експериментальних досліджень, обробка та узагальнення отриманих результатів, підготовка матеріалу до друку.

5. Yukalo, V., **Datsyshyn, K.**, & Storozh, L. (2019). Electrophoretic system for express analysis of whey protein fractions. *Eastern-European Journal of Enterprise Technologies*, 2/11 (98), 37–44. (Науковий журнал входить до затвердженого МОН Переліку фахових видань України з технічних наук; міжнародна індексація: Scopus, Index Copernicus Journals Master List, Applied Science & Technology Source та ін.). **Особистий внесок:** проведення експериментальних досліджень, обробка та узагальнення отриманих результатів, підготовка матеріалу до друку.

6. Yukalo, V., **Datsyshyn, K.**, & Storozh, L. (2019). Comparison of products of whey proteins concentrate proteolysis, obtained by different proteolytic preparations. *Eastern-European Journal of Enterprise Technologies*, 5/11(101), 40-47. (Науковий журнал входить до затвердженого МОН Переліку фахових видань України з технічних наук; міжнародна індексація: Scopus, Index Copernicus Journals Master List, Applied Science & Technology Source та ін.). **Особистий внесок:** проведення експериментальних досліджень, обробка та узагальнення отриманих результатів, підготовка матеріалу до друку.

7. Юкало, В., & **Дацишин, К.** (2019). Технологія низькоалергенного молока з гідролізатом білків сироватки. *Науковий вісник ЛНУ ветеринарної медицини і біотехнологій. Серія: Харчові технології*, 21 (92), 14-18. (Науковий журнал входить до затвердженого МОН Переліку фахових видань України з технічних наук; міжнародна індексація: Index Copernicus, Google Scholar та ін.). **Особистий внесок:** проведення експериментальних досліджень, обробка та узагальнення отриманих результатів, підготовка матеріалу до друку.

8. Юкало, В.Г., **Дацишин, К.Є.**, & Семенишин, Г.М. (2019). Характеристика молекулярних мас продуктів протеолізу концентрату сироваткових білків, отриманих за дії панкреатину. *Наукові праці НУХТ*, 25(5), 233-239. (Науковий журнал входить до затвердженого МОН Переліку фахових видань України з технічних наук; міжнародна індексація: Index Copernicus, Google Scholar та EBSCO host). **Особистий внесок:** проведення експериментальних досліджень, обробка та узагальнення отриманих результатів, підготовка матеріалу до друку.

9. Юкало, В.Г., & **Дацишин, К.Є.** (2019). Технологія соєво-молочного комбінованого продукту спеціального призначення з гідролізатом білків сироватки молока. *Наукові праці НУХТ*, 25(6), 201-209. (Науковий журнал входить до затвердженого МОН Переліку фахових видань України з технічних наук; міжнародна індексація: Index Copernicus, Google Scholar та EBSCOhost). **Особистий внесок:** проведення експериментальних досліджень, обробка та узагальнення отриманих результатів, підготовка матеріалу до друку.

10. Yukalo, V., **Datsyshyn, K.**, Krupa, O., & Pavlistova, N. (2019). Obtaining of β -LG, α -LA and BSA protein fractions from milk whey. *Ukrainian Food Journal*, 8(4), 788-798. (Науковий журнал входить до затвердженого МОН Переліку фахових видань України з технічних наук; міжнародна індексація: Web of Science Core Collection, Food Science and Technology Abstracts, Google Scholar та ін.). **Особистий внесок:** проведення експериментальних досліджень, обробка та узагальнення отриманих результатів, підготовка матеріалу до друку.

Публікації у закордонних виданнях:

11. Yukalo, V., **Datsyshyn, K.**, & Storozh, L. (2019). Obtaining of β -lactoglobulin by gel filtration of cow milk whey. *EUREKA: Life Sciences*, 2, 33–39. (Міжнародна індексація: Index Copernicus Journals Master List, CrossRef, Google Scholar та ін.). **Особистий внесок:** проведення експериментальних досліджень, обробка та узагальнення отриманих результатів, підготовка матеріалу до друку.

12. Yukalo, V., **Datsyshyn, K.**, & Storozh, L. (2019). Improvement of the method of comparative study of milk whey proteins enzymatic hydrolysis. *EUREKA: Life Sciences*, 5, 52-57. (Міжнародна індексація: *Index Copernicus Journals Master List*, CrossRef, Google Scholar та ін.). **Особистий внесок:** проведення експериментальних досліджень, обробка та узагальнення отриманих результатів, підготовка матеріалу до друку.

Публікації у інших наукових виданнях:

13. Юкало, А.В., **Дацишин, К.Є.**, & Юкало, В.Г. (2013). Біоактивні пептиди протеїнів сироватки молока корів (*Bos Taurus*). *Biotechnologia Acta*, 6(5), 49-61. (Міжнародна індексація: *Index Copernicus*, EBSCO host, CABI Full Text та ін.) **Особистий внесок:** проведення аналізу літератури, підготовка матеріалу до друку.

Патенти України на корисну модель:

14. Юкало, В. Г., Крупа, О. М., & **Дацишин, К. Є.** (2017). Патент України на корисну модель. 120890. Київ: Міністерство економічного розвитку і торгівлі України. **Особистий внесок:** узагальнення експериментальних даних, проведення патентного пошуку, підготовка матеріалу до друку.

15. Юкало, В.Г., Крупа, О.М., **Дацишин, К.Є.**, & Сторож, Л.А. (2019). Патент України на корисну модель. 135225. Київ: Міністерство економічного розвитку і торгівлі України. **Особистий внесок:** узагальнення експериментальних даних, проведення патентного пошуку, підготовка матеріалу до друку.

16. Крупа, О.М., **Дацишин, К.Є.**, & Юкало, В.Г. (2020) Патент України на корисну модель. 143299. Київ: Міністерство розвитку економіки, торгівлі та сільського господарства України. **Особистий внесок:** узагальнення експериментальних даних, проведення патентного пошуку, підготовка матеріалу до друку.

17. **Дацишин, К.Є.**, Крупа, О.М., & Юкало, В.Г. (2020) Патент України на корисну модель. 143805. Київ: Міністерство розвитку економіки, торгівлі та сільського господарства України. **Особистий внесок:** узагальнення експериментальних даних, проведення патентного пошуку, підготовка матеріалу до друку.

18. Юкало, В.Г., Крупа, О.М., & **Дацишин, К.Є.** (2020) Патент України на корисну модель. 144410. Київ: Міністерство розвитку економіки, торгівлі та сільського господарства України. **Особистий внесок:** узагальнення експериментальних даних, проведення патентного пошуку, підготовка матеріалу до друку.

Публікації у матеріалах наукових конференцій:

19. Юкало, В.Г., **Дацишин, К.Є.**, & Сторож, Л.А. (2012). Виділення гомогенних фракцій α -лактальбуміну і β -лактоглобуліну із білків сироватки молока. Матеріали міжнародної науково-практичної конференції «Технічні науки: стан, досягнення і перспективи розвитку м'ясної, олієжирової та молочної галузей». Київ: НУХТ. **Особистий внесок:** проведення експериментальних досліджень, обробка та узагальнення отриманих результатів, підготовка матеріалу до друку.

20. Юкало, В., Юкало, А., Рибак, О., Сторож, Л., & **Дацишин, К.** (2015). Додаткові функції протеїнів молока і шляхи їх використання. Матеріали міжнародної науково-технічної конференції «Стан і перспективи харчової науки і промисловості», 8-9 жовтня 2015 р. Тернопіль : ТНТУ. **Особистий внесок:** проведення експериментальних досліджень, обробка та узагальнення отриманих результатів, підготовка матеріалу до друку.

21. Юкало, В., & Дацишин, К. (2017). *Біологічна активність продуктів протеолізу протеїнів сироватки молока*. Матеріали IV міжнародної науково-технічної конференції «Стан і перспективи харчової науки і промисловості», 11-12 жовтня 2017 р. Тернопіль : ТНТУ. **Особистий внесок:** проведення експериментальних досліджень, обробка та узагальнення отриманих результатів, підготовка матеріалу до друку.

22. Юкало, В., & Дацишин, К. (2017). *Отримання попередників біоактивних пептидів із сироватки молока*. Матеріали міжнародної науково-технічної конференції «Наукові проблеми харчових технологій та промислової біотехнології в контексті Євроінтеграції», 7-8 листопада 2017 р. Київ : НУХТ. **Особистий внесок:** проведення експериментальних досліджень, обробка та узагальнення отриманих результатів, підготовка матеріалу до друку.

23. Yukalo, V., Tsisaryk, O., & Datsyshyn, K. (2018). *Isolation of protein fractions of serum of milk by preparative disc-electrophoresis*. Abstracts of the 2018 American Dairy Science Association Annual Meeting, June 24–27. Journal of Dairy Science. Volume 101, Supplement 2. Knoxville: Tennessee (USA). **Особистий внесок:** проведення експериментальних досліджень, обробка та узагальнення отриманих результатів, підготовка матеріалу до друку.

24. Юкало, В.Г., Дацишин, К.Є., & Кушнірук Н.В. (2018). *Виділення протеозо-пептонної фракції з сироватки молока гель-фільтрацією*. Тези матеріалів VII-ї Міжнародної науково-технічної конференції «Наукові проблеми харчових технологій та промислової біотехнології в контексті Євроінтеграції», 6-7 листопада 2018 р. Київ : НУХТ. **Особистий внесок:** проведення експериментальних досліджень, обробка та узагальнення отриманих результатів, підготовка матеріалу до друку.

25. Юкало, В., Дацишин, К., & Олесницька, В. (2019). *Гідроліз протеїнів сироватки молока ензимними препаратами з підшлункової залози*. Матеріали V Міжнародної науково-технічної конференції «Стан і перспективи харчової науки та промисловості», Тернопіль, 10-11 жовтня 2019 р. Тернопіль: ТНТУ. **Особистий внесок:** проведення експериментальних досліджень, обробка та узагальнення отриманих результатів, підготовка матеріалу до друку.

26. Юкало, В., Дацишин, К., & Лучканін, Н. (2019). *Експрес-метод аналізу протеїнів сироватки молока*. Матеріали VIII Міжнародної науково-технічної конференції «Наукові проблеми харчових технологій та промислової біотехнології в контексті євроінтеграції», Київ, 5-6 листопада 2019 р. Київ: НУХТ. **Особистий внесок:** проведення експериментальних досліджень, обробка та узагальнення отриманих результатів, підготовка матеріалу до друку.

27. Дацишин, Е.Е., Юкало, В.Г., & Голдаєвич, Т.В. (2020). *Технология пасты творожной с гидролизатом белков сыворотки молока*. Тезисы докладов XIII Международной научно-технической конференции «Техника и технология пищевых производств», 23-24 апреля 2020 г. Могилев (Беларусь) : МГУП. **Особистий внесок:** проведення експериментальних досліджень, обробка та узагальнення отриманих результатів, підготовка матеріалу до друку.

28. Юкало, В., Дацишин, К., Сторож, Л., Крупа, О. (2020). *Отримання сироваткових гідролізатів в умовах збереження природних біоактивних пептидів*. Матеріали Міжнародної науково-технічної конференції «Фундаментальні та прикладні проблеми сучасних технологій», 14-15 травня

2020 р. Тернопіль : ТНТУ. *Особистий внесок: проведення експериментальних досліджень, обробка та узагальнення отриманих результатів, підготовка матеріалу до друку.*

АНОТАЦІЯ

Дацишин К.Є. Розробка технології низькоалергенного гідролізату білків сироватки для збагачення молочних продуктів спеціального призначення. – Кваліфікаційна наукова робота на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата технічних наук за спеціальністю 05.18.04 – технологія м'ясних, молочних продуктів і продуктів з гідробіонтів. – Тернопільський національний технічний університет імені Івана Пулюя МОН України, Національний університет харчових технологій МОН України, Київ, 2021.

Дисертаційна робота присвячена розробці технології низькоалергенного гідролізату білків молочної сироватки, що отриманий в умовах, які забезпечують утворення біологічно активних пептидів для збагачення продуктів спеціального призначення.

Науково обґрунтовано необхідність отримання гідролізатів білків сироватки молока в умовах, що забезпечують збереження природних біологічно активних пептидів та перспективність використання таких гідролізатів у продуктах спеціального призначення. Розроблено технологію виробництва гідролізату білків сироватки молока у фізіологічних умовах та отримано такий гідролізат у промислових масштабах.

В отриманому гідролізаті білків сироватки молока було проведено характеристику молекулярно-масового розподілу продуктів протеолізу. В результаті проведених досліджень встановлено, що до двох із п'яти діапазонів, які були виділені за молекулярними масами (0-700 Да і 700-1500 Да), входять майже 40% всіх продуктів протеолізу, що можуть містити близько 80% всіх відомих БАП з протеїнів сироватки молока. Зокрема показано, що в запропонованих умовах утворюються антигіпертензивні пептиди.

Експериментально доведено, що гідролізат концентрату сироваткових білків, отриманий у фізіологічних умовах, не викликав алергічних реакцій у піддослідних тварин, що свідчить про його знижену алергенність.

Такий гідролізат було використано для отримання продуктів: «Молочний напій з гідролізатом білків сироватки молока», «Паста сиркова з гідролізатом білків сироватки молока» та «Соевий продукт з гідролізатом білків сироватки молока» із зниженими алергенними властивостями та підвищеною біологічною цінністю. Отримані продукти охарактеризовано за органолептичними, фізико-хімічними та мікробіологічними показниками. Підтверджено відсутність у готових продуктах білків алергенів сироватки молока та підвищення вмісту біологічно активних низькомолекулярних пептидів за рахунок внесення гідролізату білків сироватки.

Ключові слова: гідролізати білків сироватки молока, біоактивні пептиди, алергенність, продукти спеціального призначення.

АННОТАЦИЯ

Дацишин Е.Е. Разработка технологии низкоаллергенного гидролизата белков сыворотки для обогащения молочных продуктов специального назначения. - Квалификационная научная работа на правах рукописи.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата технических наук по специальности 05.18.04 – технология мясных, молочных продуктов и продуктов из гидробионтов. – Тернопольский национальный технический университет имени Ивана Пулюя МОН Украины, Национальный университет пищевых технологий МОН Украины, Киев, 2021.

Диссертационная работа посвящена разработке технологии низкоаллергенного гидролизата белков молочной сыворотки, который получен в условиях, обеспечивающих образование биологически активных пептидов для обогащения продуктов специального назначения.

Научно обоснована необходимость получения гидролизатов белков сыворотки молока в условиях, обеспечивающих сохранность природных биологически активных пептидов и перспективность использования таких гидролизатов в продуктах специального назначения. Разработана технология производства гидролизата белков сыворотки молока в физиологических условиях и получен такой гидролизат в промышленных масштабах.

В полученном гидролизате белков сыворотки молока было проведено характеристику молекулярно-массового распределения продуктов протеолиза. В результате проведенных исследований установлено, что в двух из пяти диапазонов, выделенных по молекулярным массами (0-700 Да и 700-1500 Да), входят почти 40% всех продуктов протеолиза, которые могут содержать около 80% всех известных БАП с протеинов сыворотки молока. В частности, показано, что в предложенных условиях образуются антигипертензивные пептиды

Экспериментально доказано, что гидролизат концентрата сывороточных белков, полученный в физиологических условиях, не вызывал аллергических реакций у группы подопытных животных, что свидетельствует о его пониженной аллергенности.

Такой гидролизат был использован для получения продуктов: «Молочный напиток с гидролизатом белков сыворотки молока», «Паста творожная с гидролизатом белков сыворотки молока» и «Соевый продукт с гидролизатом белков сыворотки молока» с пониженными аллергенными свойствами и повышенной биологической ценностью. Полученные продукты охарактеризованы по органолептическим, физико-химическим и микробиологическим показателям. Подтверждено отсутствие в готовых продуктах белков аллергенов сыворотки молока и повышение содержания биологически активных низкомолекулярных пептидов за счет внесения гидролизата белков сыворотки.

Ключевые слова: гидролизаты белков сыворотки молока, биоактивные пептиды, аллергенность, продукты специального назначения.

ABSTRACT

Datsyshyn K.Ye. Development of technology of low-allergenic whey protein hydrolysate for special dairy products enrichment. - Qualifying scientific work on the rights of the manuscript.

The dissertation for the candidate degree of technical sciences on the specialty 05.18.04 – technology of meat, dairy products and products from hydrobionts. – Ternopil Ivan Puluj National Technical University of the Ministry of Education and Science of Ukraine, National University of Food Technologies of the Ministry of Education and Science of Ukraine, Kyiv, 2021.

The dissertation is devoted to the development of technology of low-allergenic whey proteins hydrolysate for special purpose dairy products enrichment.

The need to obtain whey proteins hydrolysates in conditions that ensure saving of natural biologically active peptides and the perspectivity for the use of such hydrolysates is scientifically substantiated in the work. A comparative analysis of whey proteins hydrolysates obtained with different proteolytic enzymes of microbiological, plant and animal origin have been done. It is shown that at close values of the proteolysis degree, the ratio of products by molecular weights can significantly differ. Electrophoretic studies of hydrolysates of whey protein concentrate indicate differences in the accessibility of different protein fractions to the action of proteolytic enzymes. The highest degree of proteolysis (about 80%) of β -LG and α -LA fractions, according to the results of the research, showed pancreatin and neutral protease. The conditions of proteolysis that provide the formation of native biologically active peptides among the proteolysis products have been scientifically substantiated in the work. Chromatographic characterization of proteolysis products fractions, which include native biologically active peptides, has been performed.

On the basis of substantiated physiological conditions of proteolysis, which provide the yield of native biologically active peptides, technological regulations for the whey proteins hydrolysate (WPH) obtaining have been developed on the Department of Food Biotechnology and Chemistry of Ternopil Ivan Puluj National Technical University. Obtained in such conditions hydrolysate was used to develop special products technologies. The whey proteins hydrolysate was evaluated by molecular weight distribution before use. It has been found that two of the five ranges selected by molecular weight (0-700 Da and 700-1500 Da) contain almost 40% of all proteolysis products, which may contain about 80% of all known BAP from whey proteins.

The scientific novelty of the obtained results lies in the fact that the conditions of whey proteins hydrolysates obtaining, which ensure the formation of natural biologically active peptides, are scientifically substantiated for the first time. The presence of lactokinins - peptides with antihypertensive effect in the obtained hydrolysate was experimentally confirmed. The obtained results indicate that the most promising ingredients for the creation of products with antihypertensive action are low molecular weight products of whey proteins proteolysis.

It is experimentally proven that the whey proteins hydrolysate obtained in physiological conditions did not cause allergic reactions in experimental animals,

which indicates its reduced allergenicity. Whey proteins hydrolysate was characterized by good organoleptic characteristics, pure sour milk taste and odor with a slight albumin taste. Physicochemical and microbiological parameters of the hydrolysate have been also determined, which confirmed its quality and safety for consumers.

Technologies of dairy products with the obtained whey proteins hydrolysate with saved natural bioactive peptides, and low-allergenic combined product enriched with whey proteins hydrolysate with replacement casein by another high-value food protein are proposed. The use of low-allergenic whey proteins hydrolysate in such products allows to save their biological value, as well as to use them in the diet for people with intolerance to whey proteins and caseins.

On the basis of the conducted researches the technological schemes of special products manufacturing «Milk drink with WPH», «Cheese paste with WPH» and «Soy product with WPH» have been developed. Technological regulations of new products manufacturing have been substantiated, their organoleptic, physicochemical, microbiological indicators have been investigated. It was found that the introduction of whey proteins hydrolysate to products has little effect on the value of active acidity, but leads to the increase of titratable acidity of all new products and moisture retention capacity of paste with WPH and soy product with WPH. Electrophoretic and chromatographic methods established the absence of whey protein allergens in the obtained products and confirmed increasing in the content of the fraction of low molecular weight peptides, which include BAP. Microbiological studies of the developed products showed that *E. coli* bacteria in 0.1 cm³ of product, fungi in 1 g of product, yeast in 1 g of product, pathogens in 25 cm³ of product and *Staphylococcus aureus* in 1 cm³ of product were not detected in any of the studied samples both at the beginning and at the end of the recommended storage time.

Normative documentation projects for the production of whey proteins hydrolysate with saved biologically active peptides «Whey protein hydrolysate» (TU U 10.5-05408102-002:2019) and special products with its using «Milk drink with WPH» (TU U 10.5-0540810-004: 2019), «Cheese paste with WPH» (TU U 10.5-05408102-005: 2019), «Soy product with WPH» (TU U 10.5-05408102-003: 2019) have been developed.

Because of the absence of effective and available methods for the preparative isolation of biologically active peptides precursors from whey and express quantitative analysis of their composition, we have developed for the first time:

- one-stage isolation of homogeneous precursors of biologically active peptides from milk whey in native conditions on the basis of preparative disc-electrophoresis. A high degree of homogeneity (> 95%) of the obtained protein precursor preparations has been proved.

- a method for isolating the main fractions of biologically active peptides precursors from milk whey by repeated gel-filtration with chromatogram division into sectors.

- a method of express analysis, which allows to identify and quantify the main fractions of precursors of biologically active peptides from milk whey based on the

anode electrophoretic system of homogeneous polyacrylamide gel with the concentration effect saving.

Developed methods of preparative isolation of the main precursors of biologically active peptides from whey, can be used to obtain homogeneous whey proteins for analysis, research and use in food production. The express method is suitable for the analysis of food systems that contain whey proteins. The method is characterized by availability and can be used in production conditions. The proposed express method can be useful for establishing of the dairy protein products naturalness.

The calculation of technical-economic efficiency according to the current costing items for the production of 1 ton of each type of special products has been conducted. It is established that the profit of the enterprise from production of 1 ton of milk drink with WPH will be 2069,068 UAH; 1 ton of cheese paste with WPH - 18995,56 UAH; 1 ton of soy product with WPH - 11885,57 UAH.

The social significance of scientific development is:

- increasing the biological value of products with whey proteins hydrolysates;
- expanding the range of dairy products for special purposes with high biological value and reduced allergenic properties.

Industrial approbation of new technological decisions has been carried out in the production conditions of Buchach Cheese Factory (2017) and in the conditions of the experimental department of Institute of Food Resources (Kyiv).

The results of the dissertation are used in scientific work and educational process of the Department of Food Biotechnology and Chemistry of Ternopil Ivan Puluj National Technical University.

Key words: whey protein hydrolysates, bioactive peptides, allergenicity, special purpose products.