

ДОСЛІДЖЕННЯ амінокислотного складу

та перетравлюваності згущених молочних продуктів з фруктозою

Всерпні 2003 року в торговій мережі з'явився новий продукт — молоко згущене з фруктозою, що виробляється ВАТ «Овруцький молочноконсервний комбінат».

Молоко згущене з фруктозою, а також молоко комбіноване згущене з фруктозою розроблені у тісній співпраці фахівців ВАТ «Овруцький МКК» та кафедри технології молока і молочних продуктів Національного університету харчових технологій. Зазначені молочні консерви не містять цукру, тому придатні для вживання різними групами населення, а особливо людьми, хворими на цукровий діабет, з порушеннями обміну речовин, серцево-судинними захворюваннями. За органолептичними показниками згущене молоко з фруктозою максимально наближене до традиційного, має прийнятний солодкий смак, аромат пастеризованого молока, однорідну помірно в'язку консистенцію, а прийнятний кремовий колір, рівномірний по всій масі, дозволяє відрізнити новий продукт від молока згущеного з цукром [1, 2?]. Новинки містять фруктозу, яка легко засвоюється організмом, не спричиняючи шкідливого впливу на здоров'я людини. При засвоюванні фруктоза не перетворюється на жир, тому згущені молочні продукти з фруктозою можуть використовуватись в раціоні харчування людей, які

Пухляк А.Г., аспірант, Скорченко Т.А., к.т.н., доцент

Національний університет харчових технологій

Вітт Ф.А., Голова Спостережної ради ВАТ «Овруцький молочноконсервний комбінат»

мають надлишкову вагу, схильних до ожиріння, осіб похилого віку. Передбачено випуск нових продуктів з різним вмістом жиру — від 8,5 % до знежиреного. Масова частка білка у розроблених консервах складає 10,2–10,8 %.

Відомо, що харчова цінність білка зумовлена його складом, наявністю і збалансованістю всіх амінокислот, ступенем перетравлюваності та доступності його для людського організму. Дослідження вказаних характеристик проведені лише у деяких видах згущених молочних консервів: молока згущеного з цукром та згущеного стерилізованого молока геродієтичного призначення [3, 4].

Недостатня увага до цієї проблеми спонукала до вивчення амінокислотного складу розроблених згущених молочних консервів з фруктозою та перетравлюваності їх комплексом протеолітичних ферментів пепсин-трипсин. Аналіз отриманих результатів дозволить отримати інформацію про харчову та біологічну цінність нових згущених молочних продуктів.

Основними дослідними зразками були обрані: молоко незбиране згущене з фруктозою, молоко комбіноване згущене

з фруктозою та молоко незбиране згущене з цукром (контроль). Молоко комбіноване згущене з фруктозою виготовлено із суміші коров'ячого і соєвого молока, при цьому масова частка сухих речовин сої у готовому продукті складала 10 %.

Методи досліджень

Амінокислотний склад згущених молочних консервів визначали методом хроматографічного іонообмінного аналізу [5].

В основі іонообмінної колонної хроматографії лежать кислотно-лужні властивості амінокислот. Для поділу їх на колонках використовуються дрібнозернисті катіонообмінники (смоли), при чому для скорочення тривалості аналізу необхідні смоли з малим розміром зерен. Для того, щоб відбувався поділ попередньо підготовленої суміші амінокислот на колонці, катіонообмінник попередньо врівноважується буферним розчином цитрату натрію або літію. При нанесенні на колонку суміші амінокислот при рН 2,2 їх молекули притягуються іонними силами до сульфогрупи смоли своєю позитивно зарядженою аміногрупою і витискають іони Na⁺ або Li⁺, розподіляючись у колонці в залежності від розміру позитивного заряду. Відразу з'єднуються зі смолою основні амінокислоти (лізин, аргінін, гістидин), які мають найбільший позитивний заряд, кислі амінокислоти проходять через всю колонку і з'єднуються зі смолою останніми, тому що мають найменший позитивний заряд. Далі відбувається елюція (вимивання) амінокислот на великій швидкості, при підвищеному тиску і температурі та використанні п'ятьох етапів зміни елюентів. Послідовність виходу окремих амінокислот із хроматографічної колонки визначається складом катіонообмінника, складом і температурою елюентів.

Для реєстрації амінокислот в елюатах використовується метод детекції нінгідрином. В результаті кольорової реакції амінокислоти з нінгідрином утворюється сполука, що дає забарвлення в області 560 нанометрів (винятком є сполучення з проліном і оксипроліном, що мають максимум поглинання при 440 нанометрів).

Якісний і кількісний склад суміші амінокислот визначають, порівнюючи хрома-

Амінокислотний склад згущених молочних консервів

Таблиця 1.

Найменування амінокислоти	Молоко незбиране згущене з фруктозою	Молоко комбіноване згущене з фруктозою	Молоко незбиране згущене з цукром (контроль)
	Кількість г в 100 г продукту	Кількість г в 100 г продукту	Кількість г в 100 г продукту
Лізин	0,699	0,548	0,442
Треонін	0,431	0,357	0,263
Метіонін + цистин	0,198	0,124	0,111
Валін	0,478	0,371	0,301
Ізолейцин	0,377	0,272	0,226
Лейцин	0,822	0,626	0,525
Фенілаланін + тирозин	0,749	0,485	0,380
Триптофан	0,114	0,092	0,076
Гістидин	0,201	0,164	0,110
Аргінін	0,207	0,163	0,138
Серин	0,512	0,436	0,340
Аспарагінова кислота	0,694	0,663	0,556
Глютамінова кислота	2,071	1,732	1,472
Пролін	0,755	0,545	0,575
Гліцин	0,183	0,202	0,124
Аланін	0,329	0,317	0,204
Загальна сума	8,790	7,261	6,524

тограми стандартної досліджуваної суміші амінокислот та розрахунком площі піка кожної амінокислоти.

Перетравлюваність (атакуємість) білків *in vitro* здійснювали за вдосконаленим методом на приладі Покровського-Ертанова [6, 7].

Прилад складається з десяти комірок, тісно пов'язаних між собою, а кожна комірка із двох стаканів: зовнішнього і внутрішнього, при цьому дном останнього є напівпроникна мембрана з попередньо відвареного целофану. Для імітації умов травлення в шлунково-кишковому тракті використовується термостатування вмісту стаканів шляхом циркуляції через міжстінний простір зовнішніх стаканів водоглицеринової суміші та перемішування рідини у внутрішньому стакані. Підтримка температури здійснюється за допомогою ультратермостата на рівні $(37,0 \pm 0,5)^\circ\text{C}$.

Процес гідролізу складається з двох стадій: пепсинової і трипсинової.

На першій стадії наважки продуктів, що містять 150 мг білка, розтирають в ступці в присутності $5\text{--}7\text{ см}^3$ гліцинового буфера з рН 2,2 (від загальної кількості 15 см^3) і кількісно переносять у внутрішні стакани з рештою гліцинового буфера. Їх вміщують у робочі комірки, а в зовнішні стакани заливають по 65 см^3 аналогічного буфера з рН 2,2, забезпечуючи рівність гідростатичних рівнів. Через 15–20 хвилин після досягнення температури $(37,0 \pm 0,5)^\circ\text{C}$ у внутрішніх стаканах в них вносять по 15 мг кристалічного пепсину і вмикають мішалку. Процес триває три години при постійному термостатуванні та перемішуванні. Кожну годину із зовнішніх стаканів відбираються проби для аналізу.

На початку другої стадії здійснюється нейтралізація вмісту внутрішніх стаканів розчином NaOH, після чого в кожний стакан доливається по 15 см^3 лужного буфера з рН 8,4. Із зовнішніх стаканів все видаляється за допомогою груші, вони ополіскуються водою, яка теж видаляється, і заливається буфер з рН 8,4, забезпечуючи рівність гідростатичних рівнів. Через 15–20 хвилин після досягнення температури $(37,0 \pm 0,5)^\circ\text{C}$ у внутрішніх стаканах в них вносять по 15 мг кристалічного трипсину і вмикають мішалку. Процес також триває три години при постійному термостатуванні та перемішуванні. Кожну годину із зовнішніх стаканів відбираються проби гідролізату для аналізу.

У відібраних пробах визначають кількість тирозину за допомогою спектрофотометра при довжині хвилі $\lambda = 750\text{ нм}$. За кількістю тирозину, що пройшов через мембрану із внутрішнього стакана у зовнішній, судять про ефективність гідролізу білків досліджуваного продукту.

Таблиця 2.

Амінокислотний SKOP згущених молочних консервів

Найменування амінокислоти	Еталон ФАО/ВОЗ, г на 100 г «ідеального» білка	Амінокислотний SKOP, %		
		молока незбираного згущеного з фруктозою	молока комбінованого згущеного з фруктозою	молока незбираного згущеного з цукром (контроль)
Лізин	5,8	140	142	139
Треонін	3,4	124	127	114
Метіонін + цистин	2,5	65	52	55
Валін	3,5	110	106	104
Ізолейцин	2,8	109	97	98
Лейцин	6,6	135	128	130
Фенілаланін + тирозин	6,3	144	115	110
Триптофан	1,1	129	127	130

Результати досліджень

Результати досліджень амінокислотного складу представлені у таблиці 1. Виявлено: вміст кожної амінокислоти, як і загальний у згущених молочних консервах з фруктозою, вищий в порівнянні з контролем, що обумовлено збільшенням масової частки сухого знежиреного молочного залишку в розроблених продуктах на 7–10 %, але співвідношення амінокислот в досліджуваних зразках подібне.

Було розраховано амінокислотний SKOP есенціальних амінокислот і виявлено, що лімітуючою амінокислотою в групі досліджуваних продуктів є метіонін + цистин (табл. 2).

Надлишковий вміст амінокислот використовується організмом на енергетичні потреби, тому для оцінки ступеня використання білка розраховано коефіцієнт різни-

ці амінокислотного SKOPу (КРАС), який є середнім арифметичним надлишків SKOPу незамінних амінокислот відносно SKOPу лімітуючої амінокислоти [8]. Як видно з рис. 1, максимальний надлишок, характерний для групи дослідних зразків, забезпечується лізином, а мінімальний — ізолейцином. Найбільше значення КРАС для кожної амінокислоти, крім групи фенілаланін + тирозин, спостерігається у молока комбінованого згущеного з фруктозою.

Через коефіцієнт різниці амінокислотного SKOPу визначили біологічну цінність (БЦ) продуктів за формулою:

$$\text{БЦ} = 100 - \text{КРАС}, \%$$

При цьому біологічна цінність молока згущеного з цукром і молока згущеного з фруктозою майже однакова, а в комбінованому продукті цей показник дещо знижується.

Різниця амінокислотного SKOPу есенціальних амінокислот згущених молочних консервів

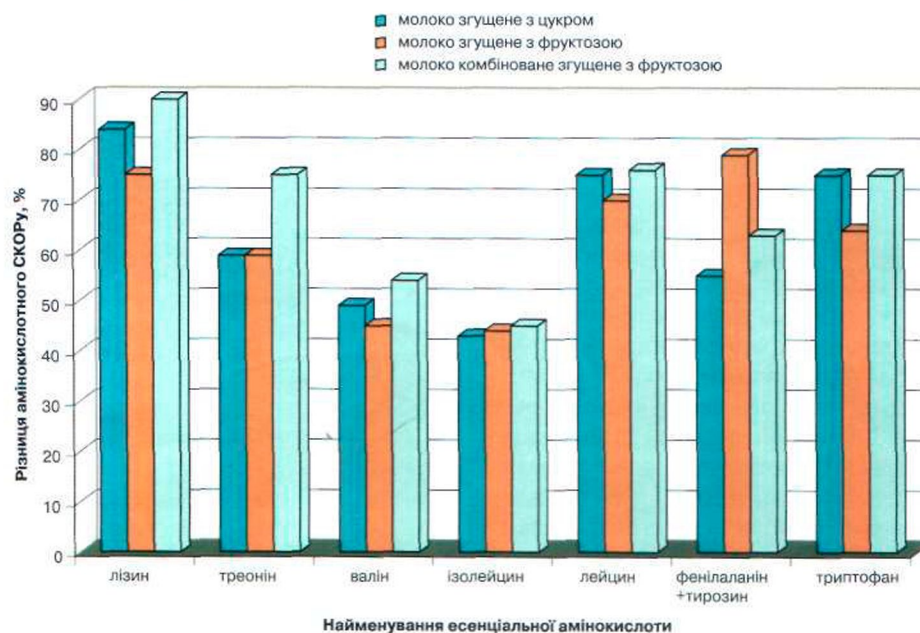


Рис. 1.

Показники біологічної цінності згущених молочних консервів

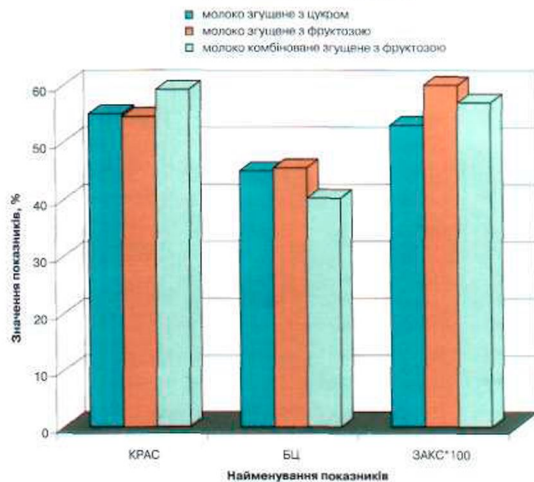


Рис. 2.

Про збалансованість амінокислотного складу (ЗАКС) можна судити за відношенням суми незамінних амінокислот ($\Sigma K_{\text{НАК}}$) до суми замінних ($\Sigma K_{\text{ЗАК}}$).

$$\text{ЗАКС} = \frac{\Sigma K_{\text{НАК}}}{\Sigma K_{\text{ЗАК}}}$$

де ЗАКС — збалансованість амінокислотного складу продукту;

$\Sigma K_{\text{НАК}}$ — сума кількості незамінних амінокислот продукту, мг;

$\Sigma K_{\text{ЗАК}}$ — сума кількості замінних амінокислот продукту, мг.

«Ідеальне» значення ЗАКС для білка приблизно дорівнює 0,4.

Зробивши відповідні розрахунки, визначили, що ЗАКС для:

- молока незбираного згущеного з цукром складає 0,53;
- молока незбираного згущеного з фруктозою — 0,60;
- молока комбінованого згущеного з фруктозою — 0,57.

Таким чином, найбільш збалансований амінокислотний склад за показником ЗАКС має молоко незбиране згущене з цукром, а за показником КРАС молоко згущене з фруктозою і контроль мають майже однакові позиції (рис. 2).

Для цілісного уявлення про якість створених продуктів було проведено дослідження їх перетравлюваності, а саме придатності білків згущених молочних консервів до атаки комплексом протеолітичних ферментів: пепсином і трипсином, *in vitro*. Результати експерименту представлені на рис. 3, де видно, що графічні залежності перетравлюваності досліджуваних продуктів мають аналогічні тенденції. При порівнянні пепсинової і трипсинової стадій виявлено, що процес гідролізу більш інтенсивний в першу годину обох стадій, коли утворюється найбільша концентрація продуктів розщеплення. Проте існують відмінності:

Перетравлюваність білків згущених молочних консервів системою ферментів пепсин-трипсин *in vitro*

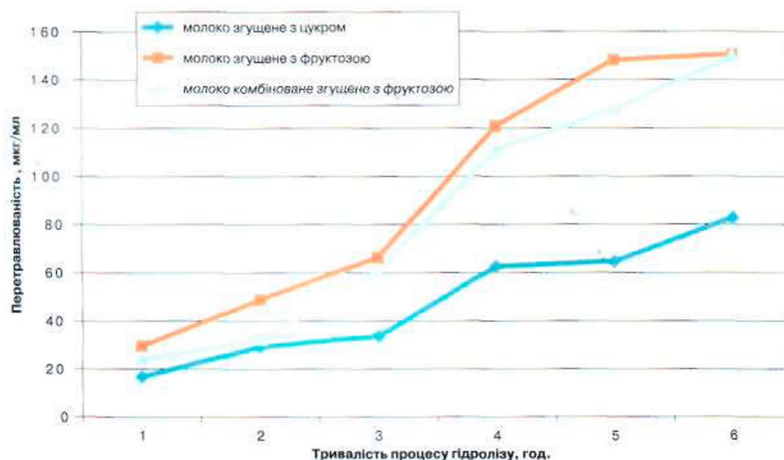


Рис. 3.

- 1) гідроліз пепсинової стадії молока комбінованого згущеного з фруктозою після уповільнення процесу протягом другої години стрімко прискорюється на третій годині;
- 2) гідроліз згущеного молока з цукром має подібну тенденцію, але в трипсинової стадії.

Для першого це пояснюється наявністю білків сої, процес перетравлювання яких дещо уповільнений у порівнянні з молочним білком. Щодо гідролізу другого — існує гіпотеза гальмування процесу засвоєння молочних продуктів з надлишковим вмістом вуглеводів [9]. В цілому, розроблені згущені молочні консерви з фруктозою можна віднести до першої групи харчових продуктів, які характеризуються швидким темпом перетравлюваності білка згідно з класифікацією Покровського А.А. [6].

Відмічено, що згущені молочні продукти з фруктозою мали вищий ступінь розщеплення білка порівняно з молоком згущеним з цукром. Це можна пояснити відмінним співвідношенням білків, жирів та вуглеводів у зазначених консервах.

Висновки

1. Вивчено амінокислотний склад згущених молочних консервів з фруктозою. Виявлено, що продукти містять всі незамінні амінокислоти; домінуючою амінокислотою є глютамінова кислота, а лімітуючою — група метіонін + цистин.

2. Повна заміна цукру на фруктозу не знизила біологічної цінності розроблених згущених молочних продуктів. Визначено, що біологічна цінність молока незбираного згущеного з фруктозою становить 45,5%, а молока комбінованого згущеного з фруктозою — 40,25%. Збалансованість їх амінокислотного складу — 0,6 і 0,57 відповідно.

3. Знижений вміст вуглеводів сприяє кращій перетравлюваності нових згущених молочних продуктів з фруктозою, які можна віднести до першої групи харчових продуктів, що характеризуються швидким темпом перетравлюваності білка згідно з класифікацією Покровського.

Література

1. ТУ У 15.8-02070938-025-2002. Молоко згущене з фруктозою. Технічні умови.
2. Використання цукрозамінників у молочній промисловості. / Пухляк А.Г., Ромоданова В.О., Скорченко Т.А., Вітт Ф.А., Костіна Н.Б. // Харчова промисловість, № 2, 2003. — с. 22-23.
3. Хранимоспособность новых молочных консервов. / Чекулаева Л.В., Голубева Л.В., Полянский К.К., Анохина Л.А., Григоров В.И. // Молочная промышленность, № 5, 2000. — с. 27-28.
4. Дідух Н.А. Розробка технології згущеного молока геродієтичного призначення: Автореферат дис. канд. техн. наук: 05.18.04 / Одеська держ. акад. Харч. Технологій. — Одеса, 2000. — 18 с.
5. Высокоэффективная жидкостная хроматография в биохимии: Пер. с англ. / Под ред. Хеншен А. и др. — М.: Мир, 1988. — 688 с.
6. Покровский А.А., Ертанов И.Д. Атакуемость белков пищевых продуктов протеолитическими ферментами *in vitro* // Вопросы питания. — 1965. — № 1. — с. 38-44.
7. Липатов Н.Н. (мл.), Юдина С.Б., Лисицын А.Б. Усовершенствованный прибор и методика для определения переваримости белков «in vitro» // Вопросы питания. — 1994. — № 4. — с. 43-44.
8. Черников Н.П. О химических методах определения качества пищевых белков // Вопросы питания. — 1986. — № 1. — с. 42-45.
9. Шидловская В.П. Доступный лизин — показатель биологической ценности молока и молочных продуктов. // Молочная промышленность, № 6, 2002. — с. 40-43.