

**Кручинин Александр Геннадьевич, зав. лаб., к.т.н., с.н.с.,
Бигаева Алана Владиславовна, м.н.с.,
Гильманов Хамид Халимович, н.с., к.б.н.**
ФГАНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт молочной
промышленности» (Россия, г.Москва)

ВЛИЯНИЕ ФРАКЦИОННОГО СОСТАВА КАЗЕИНА НА ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА СЫРОГО МОЛОКА

Аннотация. В данной статье рассмотрены основные факторы, влияющие на формирование таких технологических свойств сырого молока, как сыропригодность и термоустойчивость. Предметно проанализирован фракционный состав молочного белка и описаны механизмы коагуляций основных фракций казеина и сохранение их стабильности в молоке при тепловом воздействии. Приведены результаты генетических исследований с разными генотипами по влиянию генов белковых фракций молока на технологические свойства.

Ключевые слова: фракции белка, казеин, генотип, сыропригодность, термоустойчивость.

**Kruchinin Alexandr Gennadievich, Laboratory chief, Ph.D., senior researcher,
Bigaeva Alana Vladislavovna, research assistant,
Gilmanov Khamid Khalimovitch, research officer, Ph.D.**
All-Russian Dairy Research Institute (Russia, Moscow)

THE EFFECT OF CASEIN FRACTIONAL COMPOSITION ON RAW MILK TECHNOLOGICAL CHARACTERISTICS

Abstract. The basic factors effecting the formation of such raw milk technological characteristics as cheese suitability and heat stability are considered in the article. Milk protein fractional composition is objectively analyzed and the mechanism of the basic casein fractions and preservation of their stability in milk under heat treatment are described. The results of genetic investigations with different genotypes by impact of milk protein fractions on the technological properties are presented.

Key words: protein fractions, casein, genotype, cheese suitability, heat stability.

По данным Национального союза производителей молока «Союзмолоко», производство сырого молока на территории Российской Федерации в 2019 году увеличилось на 2,1 % (до 29,0 млн. т.) по сравнению с предыдущим периодом. Совокупно с ростом производства сырого молока повысилась и его закупочная стоимость, которая на конец 2019 года составила 25,8 руб./кг (без НДС). Ввиду

постоянно растущих цен на молоко-сырье и увеличивающейся конкуренции на рынке, выпуск питьевого молока становится всё менее маржинален. Так по итогам 2019 года наблюдалась тенденция к перераспределению объемов сырого молока, пошедшего на производство молочной продукции. Подтверждением данного факта может служить снижение объемов производства питьевого молока на 1,5 % и кисломолочной продукции на 2,3 % в сравнении с предыдущим годом. Объем производства таких молочных продуктов как сыры и сухое молоко, наоборот, увеличился на 3,1 % и 10,9 % соответственно. Данные структурные изменения в схеме переработки молочного сырья в первую очередь связаны с сохраняющимся повышенным спросом на данные группы продуктов (сыры, сухое молоко), а также продолжающейся программой импортозамещения [1,2].

Качество, степень использования сырья и выход готовой продукции при производстве сыра и сухого молока напрямую зависит как от биохимического состава молока-сырья (м.д. белка, м.д. жира, кислотность и т.д.), так и от его технологических свойств. К наиболее важным технологическим свойствам молочного сырья при производстве сыров стоит отнести показатель сыропригодности – способность молочных белков коагулировать под действием сычужного фермента с образованием плотного белкового сгустка [3,4]. При производстве сухих молочных консервов и молочных продуктов с длительным сроком хранения, в первую очередь необходимо учитывать показатель термоустойчивости, который определяет устойчивость молочных белков к высокотемпературной обработке [5]. Таким образом, можно отметить, что показатели термоустойчивости и сыропригодности формируются в основном за счет определенного соотношения белковых фракций в сыром молоке, а также напрямую зависят от его минерального состава.

Белки молока представляют собой высокомолекулярные соединения, состоящие из α -аминокислот, связанных между собой характерной амидной (пептидной) связью [6]. Общее содержание белков в молоке колеблется от 2,8 до 4,0 %. Белковый состав молока примерно на 80 % представлен различными фракциями казеинов (среди которых α_{S1} – 31 %, α_{S2} – 10 %, β – 37 % и κ -казеин – 12 %) и на 20 % сывороточными белками (α -лактоальбумин – 30 %, β -лактоглобулин – 50 %, иммуноглобулины – 8 %, альбумин сыворотки крови – 6 %, белок оболочек жировых шариков – 2 %, минорные белки, протеолизированные фрагменты, свободные аминокислоты, ферменты – 4 %)[7,8].

Фракции казеина отличаются друг от друга по составу и функциональным (технологическим) свойствам. Все фракции казеина по Международной классификации являются фосфопротеинами, белками, содержащими в своем составе остатки фосфорной кислоты, которые присоединены к аминокислоте серину при помощи моноэфирной связи. Чувствительность фракций казеина к ионам кальция предопределяется наличием остатков фосфорной кислоты (серинфосфата). В зависимости от фракции казеина варьируется содержание остатков серинфосфата: α_{S1} – 8; α_{S2} – 11; β – 5; κ – 1, а, следовательно, наивысшая чувствительность к ионам кальция наблюдается у фракций α_{S2} , α_{S1} , и β -казеина. Таким образом, чувствительные к ионам кальция фракции казеина при образовании кальциевых мостиков агрегируют и выпадают в осадок. κ -казеин ввиду низкого количества остатков серинфосфата не восприимчив к воздействию ионов кальция. Кроме того,

располагаясь на поверхности казеиновых мицелл κ -казеин выполняет защитную роль по отношению к чувствительным α_{s1} , α_{s2} и β -казеину [9]. Однако в аминокислотной последовательности κ -казеина присутствует специфичная пептидная связь, образованная остатками фенилаланина и метионина (между 105 и 106), чувствительная к расщеплению сычужным ферментом. Расщепление специфичной пептидной связи приводит к распаду κ -казеина на гидрофобный пара-каппа-казеин (аминокислотные остатки с 1 по 105) и гидрофильный гликомакропептид (аминокислотные остатки со 106 по 169) [10,11].

Различия в составе и функциональных свойствах фракций казеина позволили разработать различные типы коагуляции казеина с получением продуктов разной структуры и максимального использования молочного сырья. На сегодняшний день широко применимы три типа коагуляции молочного белка: кислотная коагуляция, термокальциевая коагуляция, сычужная коагуляция [12,13].

Кислотная коагуляция – происходит в результате осаждения белков, молочной кислотой, образующейся молочнокислыми микроорганизмами при сбраживании лактозы в процессе сквашивания молочной смеси, либо при искусственном внесении органических и неорганических кислот. Воздействие кислоты снижает отрицательный заряд мицеллы казеина, т.к. ионы водорода (H^+) подавляют диссоциацию карбоксильных и гидроксильных групп казеина. В результате этого достигается равенство положительных и отрицательных зарядов в изоэлектрической точке казеина (рН 4,6-4,7). При кислотной коагуляции помимо снижения отрицательного заряда казеина нарушается структура казеинаткальцийфосфатного комплекса (отщепляется фосфат кальция и структурообразующий кальций). Так как кальций и фосфат кальция являются важными структурными элементами комплекса, то их переход в раствор дополнительно дестабилизирует казеиновые мицеллы [14,15].

Сычужная коагуляция происходит в результате действия сычужного фермента на молекулу κ -казеина (по схеме, приведенной выше), которая в свою очередь, распадается на гидрофобный пара-казеин и гидрофильный гликомакропептид. Отщепление гликомакропептида снижает отрицательный заряд, уменьшает степень гидратации. Каппа-казеин, а именно пара- κ -казеин, от которого отщеплен гликомакропептид, теряет способность стабилизировать структуру казеиновых мицелл. Дестабилизированные мицеллы казеина (параказеина), собираются в агрегаты, образуя сгусток, т.е. происходит гелеобразование [16].

Кальциевая коагуляция происходит в результате влияния положительно заряженных ионов кальция (Ca^{2+}) на мицеллу казеина, что в итоге приводит к снижению общего отрицательного заряда. Кальций вносится в молочную смесь в виде 40% раствора хлорида кальция ($CaCl_2$). Коагуляцию фракций казеина хлоридом кальция обычно проводят либо в сочетании с сычужной коагуляцией, либо в сочетании с высокой температурой обработки реакционной смеси (до 85-90 °С). Так степень использования белков при сычужной коагуляции составляет около 85 %, при термокальциевой коагуляции – порядка 95 %. Увеличение степени использования белков при термокальциевой коагуляции связано с температурной денатурацией сывороточных белков на поверхности мицелл казеина с их последующей коагуляцией [14,15].

Помимо использования способности казеина к коагуляции огромное значение имеет получение качественных молочных продуктов, подвергающихся высокотемпературной обработке в процессе производства, что в немалой степени зависит от термоустойчивости сырья, а именно, от способности казеиновых фракций оставаться в состоянии коллоидной суспензии при значительном тепловом воздействии [17].

В свежесвыдоенном молоке мицеллы казеина находятся в сравнительно стабильном состоянии и устойчивы при механической обработке (очистка, сепарирование, гомогенизация) и тепловой обработке сырого молока при высоких температурах, обеспечивающих микробиологическую безопасность готовой продукции. Стабильность мицелл казеина в основном зависит от фракционного состава казеина, содержания в молоке растворимых солей кальция, кислотности молока и других факторов. Устойчивость коллоидных частиц казеина в молоке обусловлена электрическим зарядом и гидрофильностью. Мицеллы казеина имеют суммарный отрицательный заряд, в основном за счет находящейся в конце углеводных цепей к-казеина карбоксильной группы сиаловой кислоты, а также гидроксильных групп остатков фосфорной кислоты (α_s и β -казеина). Между заряженными коллоидными частицами действуют силы взаимного притяжения и отталкивания. Устойчивость коллоидной системы зависит от соотношения этих сил. В свежем молоке силы отталкивания между казеиновыми мицеллами преобладают над силами притяжения, и коллоидная система молока находится в устойчивом состоянии. Немаловажную роль в устойчивости коллоидной системы играет солевое равновесие молока, а именно соотношение анионов цитрата и фосфата и катионов кальция и магния. Нарушение солевого равновесия, особенно при избытке кальция, может приводить к снижению термоустойчивости и коагуляции белка [9,15,17].

На сегодняшний день в зоотехнической науке одной из первоочередных задач является селекция пород коров высокопродуктивного молочного направления, имеющих не только высокий удой и массовую долю жира, белка в молоке, но и молоко которых обладает определенными технологическими свойствами, позволяющими получать качественные продукты [18].

В качестве наиболее вероятных ДНК-маркеров, определяющих молочную продуктивность и качественные показатели молока коров, изучаются аллельные варианты генов белков молока, гормонов и ферментов. Большой массив данных получен при исследовании термоустойчивости и сыропригодности молока коров с разными генотипами по генам белковых фракции молока, таких как α_{s1} -казеин (CSN1S1), β -казеин (CSN2), к-казеин (CSN3) и β -лактоглобулин (BLG) [16,18]. Установлено, что аллель В гена α_{s1} -казеина (CSN1S1) влияет на количественные показатели удоев, а аллель С связана с повышенным количеством белка в молоке. Аллельный вариант В гена β -казеина (CSN2), оказывающий положительное воздействие на сыропригодность молока, является синергистом аналогичного влияния аллеля В к-казеина. В то же время аллельный вариант А по гену CSN2 оказывает положительное влияние на термоустойчивость молока. Ген к-казеина (CSN3) в совокупности определяет общее количество белка и технологические свойства молока. Принято считать, что с более высокой массовой долей белка, а также с увеличением выхода творога и сыра из молока связан аллельный вариант В по гену CSN3 [19].

Так, одним из наиболее широко используемых в селекционной работе является тестирование биоматериала и/или молочного сырья по локусу гена казеина (CSN3), что коррелирует с его особым положением среди остальных казеиновых фракций. На сегодняшний день уже существует практика совершенствования традиционной селекции крупного скота с применением ДНК-маркеров, в частности генотипирование по генам белков молока, а также применение методов геномной селекции и диагностики, показывающие определенные положительные результаты [20].

Выводы. Проведенные аналитические исследования показали различия фракций казеина в строении, специфических реакциях и технологических свойствах. Так наиболее чувствительные к ионам кальция фракции α_{s1} , α_{s2} и β -казеина, в то время как κ -казеин склонен к расщеплению сычужным ферментом. Ввиду этого промышленная комбинация различных типов коагуляции, построенных на основе специфических реакций различных фракций казеина, позволяет получить продукт с различной структурой сгустка, а также повысить степень использования белка.

Результаты многочисленных исследований доказывают, что устойчивость к тепловому воздействию молока во многом обусловлена стабильностью казеиновых фракций, на которую в первую очередь влияет солевое равновесие, а именно соотношение анионов цитрата и фосфата и катионов кальция и магния.

Анализ литературы выявил отчетливую тенденцию положительного влияния генотипа CSN3 BB на массовую долю белка в молоке и его сыропригодность, а генотипа CSN3 AA – на высокую удойность и термоустойчивость.

Список литературы

1. Молоко и молокопродукты Российской Федерации: внутреннее производство, внешняя торговля, ценовая конъюнктура // Национальный союз производителей молока: Информационно-аналитический отчет о ситуации в молочной отрасли 2019. URL: <http://www.souzmoloko.ru/materiali/Predvaritelnye-itogi-2019.pdf> (дата обращения: 13.04.2020).
2. Харитонов В.Д. Глубокая переработка молочного сырья и вторичных ресурсов // Молочная промышленность. 2018. № 6. С. 30-31.
3. Glantz M., Devold TG, Vegarud GE, Mansson HL Importance of casein micelle size and milk composition for milk gelation // Journal of Dairy Science. 2010. Т. 93. № 4. С. 1444-1451.
4. Гуньков С. В. Влияние технологических свойств молока на выход и качество творога: дис. ... кандидата техн. наук. Санкт-Петербург, 2006. – 158 с.
5. Petrov A.N., Galstyan A.G., Radaeva I.A., Turovskaya S.N., Illarionova E.E., Semipyatniy V.K., et al. Indicators of quality of canned milk: Russian and international priorities // Food and Raw material. 2017. V. 5. № 2. P. 151-161. DOI: <https://doi.org/10.21603/2308-4057-2017-2-151-161>.
6. Остроумова Т. А. Химия и физика молока: Учебное пособие // Кемеровский технологический институт пищевой промышленности. 2004. 196с.
7. Gellrich K. et al. Composition of major proteins in cow milk differing in mean protein concentration during the first 155 days of lactation and the influence of season as well as short-term restricted feeding in early and mid-lactation // Czech Journal of Animal Science. 2014. Т. 59. № 3. С. 97-106.

8. Мельденберг Д.Н., Юрова Е.А. Изменение белкового состава коровьего, козьего и овечьего молока в процессе хранения // Пищевые системы: теория, методология, практика. 2017. С. 211-211.
9. Просеков А.Ю., Курбанова М.Г. Анализ состава и свойств белков молока с целью использования в различных отраслях пищевой промышленности // Техника и технология пищевых производств. 2009. №4. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/analiz-sostava-i-svoystv-belkov-moloka-s-tselyu-ispolzovaniya-v-razlichnyh-otraslyah-pischevoy-promyshlennosti> (дата обращения: 13.04.2020).
10. Танана Л.А. и др. Использование ДНК-тестирования по гену CSN3 в селекции молочного крупного рогатого скота: монография. Гродно: ГГАУ, 2014. – 193 с. ISBN 978-985-537-055-1.
11. Кацы Г.Д., Коюда Л.И., Кривич Т.В., Скляревская Е.С. Биологические методы оценки продуктивности животных // Методическое пособие по изучению дисциплины «Биология продуктивности»). Луганск: Элтон-2, 2008. 110 с.
12. Зобкова З.С., Зенина Д.В., Фурсова Т.П., Гаврилина А.Д., Шелагинова И.Р. Влияние ферментной модификации на фракционный состав белка творога и сыворотки // Молочная промышленность. 2017. №. 4. С. 50-52.
13. Зобкова З.С., Харитонов В.Д., Зенина Д.В., Фурсова Т.П., Гаврилина А.Д., Шелагинова И.Р. История развития технологии творога // Молочная промышленность. 2016. № 2. С. 32.
14. Lucey J. A. Formation, structural properties, and rheology of acid-coagulated milk gels // Cheese. Academic Press, 2017. С. 179-197.
15. Горбатова К.К., Гунькова П.И. Биохимия молока и молочных продуктов: учеб.; под общ. ред. К. К. Горбатовой // С-Пб .: ГИОРД, 2010. 336 с.
16. Шляпникова С.В., Батырова Э.Р. Особенности коагуляции молока: сычужный ферментный препарат и его аналоги // Биомика.2017. Т. 9. № 1. С. 33-41.
17. Галстян А.Г. Развитие научных основ и практические решения совершенствования технологий, повышения качества и расширения ассортимента молочных консервов: автореф. дис. ... доктора техн. наук. Москва, ВНИМП им. В.М. Горбатова. 2009. – 50 с.
18. Tyulkin S.V., Vafin R.R., Gilmanov Kh.Kh., Rzhanova I.V., Galstyan A.G., Bigaeva A.V., Khurshudyan S.A., Nurmukhanbetova D.E DNA markers – a prediction criterion for yield and quality of raw milk // News of the National Academy of Sciences of the Republic of Kazakhstan. Series of Geology and Technical Sciences. 2019. № 6 (438). С. 177-183. DOI: 10.32014/2019.2518-170X.168.
19. Тюлькин С.В. Молекулярно-генетическое тестирование крупного рогатого скота по генам белков молока, гормонов, фермента и наследственных заболеваний: дис. ... доктора биол. Наук. Казань, 2019. – 349 с.
20. Neamt R.I., Saplacan G., Acatincai S., Cisztter L.T., Gavojdian D., Ilie D.E. The influence of CSN3 and LGB polymorphisms on milk production and chemical composition in Romanian Simmental cattle // Acta Biochimica Polonica. 2017.Vol. 64. № 3. P. 493-497. DOI:10.18388/abp.2016_1454.