



Матеріали XXIV Міжнародної науково-практичної конференції
«Екологія. Людина. Суспільство» (5 червня 2024 р., м. Київ, Україна)

Handbook of the XXIV International Science Conference
«Ecology. Human. Society» (June 5, 2024, Kyiv, Ukraine)

ISSN (Online) 2710-3315

<https://doi.org/10.20535/EHS2710-3315.2024.304109>

ДОСЛІДЖЕННЯ ФАКТОРІВ СТІЙКОСТІ СИРОВАТКОВИХ БІЛКІВ У СИСТЕМАХ ОЧИЩЕННЯ СТИЧНИХ ВОД МОЛОЧНИХ ПІДПРИЄМСТВ

Микола ЯЦКОВ^{1,2}, Наталія КОРЧИК^{1,2}, Володимир БЕСЕДЮК², Захар МАЛЕЦЬКИЙ³

¹ВСП "Рівненський технічний фаховий коледж НУВГП"

вулиця Вишиванка, 35, м. Рівне, 33027, Україна

²Національний університет водного господарства та природокористування

вулиця Соборна, 11, м. Рівне, 33000, Україна

³Норвезький університет наук про життя

Elizabeth Stephansens v. 15, Ås, 1433, Норвегія

e-mail: v.y.besediuk@nuwm.edu.ua

Анотація: В роботі досліджено зміни протолітичної дії в процесах дестабілізації/стабілізації сироваткових білків у системах очищення стічних вод молочних підприємств шляхом зміни концентрацій іонів стабілізаторів Ca^{2+} та PO_4^{3-} . Встановлено, що α -лактоальбумін (α -La) є чутливим до високих концентрацій іонів Ca^{2+} , а β - та β -с-лактоглобуліни (β -Lg) до присутності іонів PO_4^{3-} загалом. Для забезпечення вилучення цільових фракцій α -La та β -Lg необхідно вилучати іони Ca^{2+} та PO_4^{3-} відповідно. Отримані результати можливо використовувати для наступного дослідження процесів фракційного вилучення сироваткових білків у системах очищення стічних вод, з метою їх наступної утилізації у виробництві білкових продуктів та адитивів.

Ключові слова: молочна сироватка, сироваткові білки, іони стабілізатори, буферна дія, буферна інтенсивність, системи очищення стічних вод.

Відомо, що молочна сироватка може складати до 90 % від загального обсягу рідких відходів молочних підприємств та потрапляючи у системи очищення стічних вод може викликати порушення їх роботи. Зокрема, дослідження свідчать, що незарегульоване окисно-відновне середовище сироватки може призвести до зниження ефекту очищення як в аеробних так і в анаеробних умовах [1]. Також, відомі результати досліджень, які свідчать про негативний вплив вмісту сироватки на ступінь фізико-хімічного очищення стічних вод. Зокрема, ступінь обробки висококонцентрованих стоків, що містять сироватку, гірший на 50 % порівняно з результатами, отриманими для низькоконцентрованих стоків [2]. Значною мірою труднощі очищення стічних вод, які містять сироватку, пов'язані із високим рівнем органічного навантаження, зокрема із високим вмістом білкових компонентів. Застосування ефективних мембранних методів у системах очищення стічних вод здебільшого є недоступним для вітчизняних підприємств. Таким чином, присутність сироватки у стічних водах впливає як на біологічні, так і на фізико-хімічні процеси очищення, що може викликати забруднення поверхневих водойм та навколишнього середовища загалом.

Водночас з розвитком проблеми очищення та переробки сироватки був сформований новий підхід, згідно з яким сироватка вважається перспективним поживним ресурсом майбутнього. Дослідження показали, що обробка висококонцентрованих стічних вод, що

містять сироватку, потребує значних витрат, що обумовило тенденцію до валоризації сироватки – стійкої обробки та вилучення її цінних компонентів [3]. У цьому контексті важливо також враховувати високу харчову цінність сироватки за усіма її складовими (енергетична цінність, біологічна цінність, фізіологічна цінність та фізіологічна активність) [4]. Найбільш поширеним напрямом валоризації сироватки є виробництво білкових продуктів та інших адитивів із вилучених білкових компонентів молочної сироватки. Окремої уваги потребують такі галузі, як виробництво продуктів дитячого харчування, м'ясна промисловість та виробництво продуктів фізіологічно-функціонального призначення. Це обумовлено тим, що молочна сироватка містить такі білкові фракції як β -лактоглобуліни (β -Lg) та α -лактоальбуміни (α -La). β -Lg не міститься у жіночому молоці і є алергеном для немовлят, водночас даний білок широко використовується у м'ясній промисловості, а α -лактоальбумін, навпаки, є первинним білком жіночого молока та широко використовується у виробництві продуктів дитячого харчування та продуктів фізіологічно-функціонального призначення [5,6]. З огляду на це, *актуальним є дослідження процесів вилучення білкових компонентів сироватки, зокрема таких фракцій як β -Lg та α -La.*

Поряд із цим, вилучення білків пов'язане із порушенням їх агрегативної стійкості, до складових якої входять і стабілізатори, зокрема іони Ca^{2+} та PO_4^{3-} . Відомо, що взаємодія між мінеральними компонентами та білками визначає електростатичний, гідрато-сольвативний та структурний фактори агрегативної стійкості останніх. Водночас агрегативна стійкість білків є тісно пов'язаною із процесами протонування-депротонування, що характеризується протолітичною дією. Відомо, що іонами стабілізаторами зумовлюється до 65 % протолітичної дії сироваткових білків, а стабілізація білків від динамічної рівноваги протонування-депротонування залежить від рН і тісно пов'язана з переносом електрона, а отже і від окисно-відновного потенціалу середовища (Eh). Таким чином, *доцільним є проведення досліджень щодо впливу змін концентрацій іонів Ca^{2+} та PO_4^{3-} на протолітичну дію сироваткових білків, з метою визначення основних закономірностей порушення факторів агрегативної стійкості білків для наступного очищення у системах очищення стічних вод.*

Зміни протолітичної дії досліджували на основі кривих буферної інтенсивності, яка відображає залежність зміни буферної ємності від зміни рН середовища. Досліджувались зразки супернатантів молочної сироватки отримані методом ультрацентрифугування. У таблиці 1 наведені основні характеристики отриманих зразків для аналізу кривих буферної інтенсивності за іонами Ca^{2+} та PO_4^{3-} . На рис. 1 та 2 наведено отриманні криві буферної інтенсивності за іонами Ca^{2+} та PO_4^{3-} відповідно.

Таблиця 1. Концентрації іонів стабілізаторів Ca^{2+} та PO_4^{3-} у зразках, що досліджувались

Крива	Додана концентрація іонів стабілізаторів, г/100 см ³
Зразки сироватки з додаванням іонів Ca^{2+}	
Контроль	0
Крива 1	0,05
Крива 2	0,12
Зразки сироватки з додаванням іонів PO_4^{3-}	
Контроль	0
Крива 1	0,05
Крива 2	0,15
Крива 3	0,2
Крива 4	0,25

Аналізуючи дані з рис. 1, встановлено, що протолітична дія білків в діапазоні рН 6,5-4,5 незначно змінюється для контрольного зразка (зменшується на 10 %), збільшується на 92 % для зразка після додавання Ca^{2+} в концентрації $0,05 \text{ г/100 см}^3$ та збільшується на 580 % після додавання Ca^{2+} з концентрацією $0,12 \text{ г/100 см}^3$. Отже, підвищення концентрації іонів Ca^{2+} викликає спочатку падіння протолітичної дії для рН = 6,5 від 45 до 80 %, а потім забезпечує її стрімкий ріст до 580 % для зразка з вищою концентрацією Ca^{2+} . Водночас для протолітичної дії у досліджуваному діапазоні характерним є коливальний характер із відповідними точками перегину. Для контрольного зразка характерні дві точки перегину: рН = 5,9 з наступним збільшенням, рН = 4,9 з наступним зменшенням. Для зразка № 1 характерні дві точки перегину: рН = 6,1 з наступним збільшенням та рН = 4,9 без помітних змін далі (зміна динаміки у порівнянні з контролем). Для зразка № 2 характерні дві точки перегину: рН = 5,9 з наступним зменшенням (динаміка змінилась у порівнянні з контролем та зразком № 1) та рН = 5,5 з наступним збільшенням (змінилось значення рН точки перегину та динаміка у порівнянні з попередніми зразками). Точки перегину рН = 5,9 та 6,1 для усіх трьох зразків співпадають із значеннями ізоелектричного стану (рІ) для імуноглобулінів (рІ = 5,5-8,3). Точки перегину рН = 4,9 для контрольного зразка та зразка № 1 співпадають із значеннями рІ для α -лактоальбуміну (рІ = 4,2-4,8) та сироваткового альбуміну (рІ = 4,8). Для зразка № 2 з високою концентрацією Ca^{2+} , друга точка перегину дещо змістилась до 5,5, що співпадає із значеннями рІ для β -лактоглобулінів (рІ = 4,9-5,4) та певних груп імуноглобулінів (рІ = 5,5-8,3).

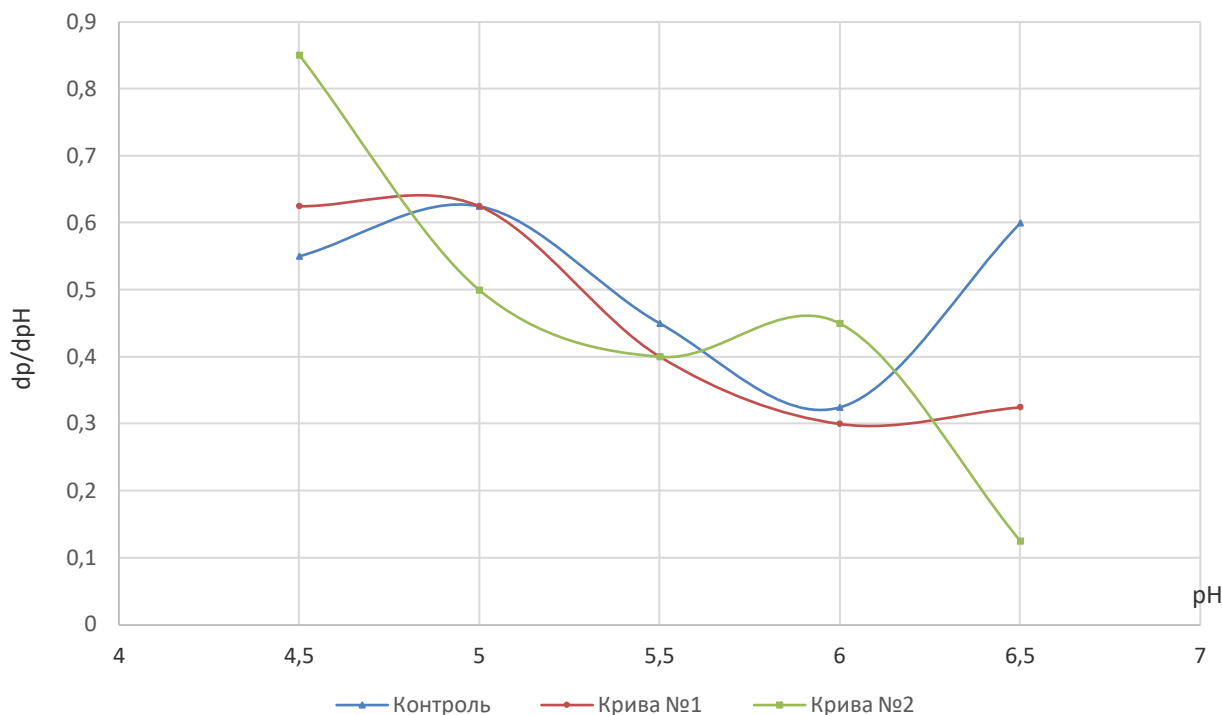


Рис. 1. Криві буферної інтенсивності за іонами Ca^{2+}

Таким чином, дослідження кривих буферної інтенсивності за іонами Ca^{2+} дозволяють ідентифікувати чітку залежність зміни протолітичної дії при зростанні концентрації іонів стабілізаторів Ca^{2+} , а також залежність зміни динаміки протолітичної дії при досягненні значень рІ білкових фракцій. Також, можна стверджувати про вплив концентрації

стабілізатора Ca^{2+} на зміни структури білкових молекул, адже при її зміні змінюються і групи білків, що набувають ізоелектричного стану. Зокрема, встановлено, що для усіх зразків характерним є набуття ізоелектричного стану для таких білків, як імуноглобуліни ($pI = 5,5-8,3$). Водночас для контрольного зразка та зразка з меншою концентрацією Ca^{2+} ($0,05 \text{ г/100 см}^3$) характерним є набуття ізоелектричного стану тими фракціями, які не набувають його у зразку з найвищою концентрацією Ca^{2+} ($0,12 \text{ г/100 см}^3$), зокрема це α -лактоальбумін ($pI = 4,2-4,8$) та Сироватковий альбумін ($pI = 4,8$). Це свідчить про те, що α -лактоальбумін є чутливим до високих концентрацій іонів Ca^{2+} , що може бути пов'язаним із процесами зв'язування білками іонів, що як наслідок унеможливує досягнення ізоелектричного стану, за якого рівень агрегативної стійкості білків є найнижчим.

Аналізуючи дані з рис. 2, встановлено, що більш складна залежність протолітичної дії від вмісту іонів PO_4^{3-} пояснюється взаємодією іонів PO_4^{3-} із молекулами білка та з іонізованим кальцієм. Встановлено, що протолітична дія білків в діапазоні pH 7,0-4,5 для контрольного зразка збільшується на 500 %, для зразка №1 збільшується на 760 %, для зразка № 2 збільшується на 257 %, для зразка № 3 збільшується на 122 %, для зразка № 4 збільшується на 108 %. Отже, підвищення концентрації іонів PO_4^{3-} викликає поступовий спад росту протолітичної дії. Водночас для протолітичної дії у досліджуваному діапазоні характерним є коливальний характер із відповідними точками перегину. Для контрольного зразка характерні три точки перегину: $pH = 5,9$ з наступним зменшенням, $pH = 5,5$ з наступним збільшенням, $pH = 5,1$ з наступним зменшенням. Для зразка №1 характерна одна точка перегину: $pH=5,9$ з наступним зменшенням. Для зразка № 2 характерна одна точка перегину: $pH = 5,1$ з наступним зменшенням. Для зразка № 3 характерна одна точка перегину: $pH = 5,1$ з наступним зменшенням. Для зразка № 4 характерні три точки перегину: $pH = 6,4$ без наступних змін, $pH = 6,1$ з наступним збільшенням, $pH = 5,1$ з наступним зменшенням. Точка перегину $pH = 5,9$ характерна для контрольного зразка та зразка №1, що співпадає із значеннями pI для імуноглобулінів ($pI = 5,5-8,3$), це свідчить, що дані групи білків не досягають ізоелектричного стану при більших концентраціях PO_4^{3-} . Точка перегину $pH = 5,5$ характерна для контрольного зразка та співпадає із значеннями pI для β - та β -лактоглобулінів ($pI = 5,2-5,4$) та певних груп імуноглобулінів ($pI = 5,5-8,3$), це свідчить про те, що представники цих груп білкових фракцій не досягають ізоелектричного стану в присутності іонів PO_4^{3-} . Точка перегину $pH = 5,1$ характерна для усіх зразків окрім зразка № 1 та співпадає із значеннями pI для α -лактоальбуміну ($4,2-4,8$) та сироваткового альбуміну ($pI = 4,8$). При високих концентраціях PO_4^{3-} , для зразка № 4 спостерігаються нові точки перегину: $pH = 6,4$ та $pH = 6,1$, що співпадає із значеннями pI деяких груп імуноглобулінів ($pI = 5,5-8,3$).

Таким чином, дослідження кривих буферної інтенсивності за іонами PO_4^{3-} дозволяють встановити ідентичні закономірності, що спостерігаються при дослідженні кривих буферної інтенсивності за іонами Ca^{2+} , зокрема: зміни протолітичної дії при зростанні концентрації іонів стабілізаторів PO_4^{3-} , залежність зміни динаміки протолітичної дії при досягненні значень pI білкових фракцій. Так само, спостерігається вплив концентрацій стабілізаторів PO_4^{3-} на зміни груп білків, що набувають ізоелектричного стану. Зокрема, встановлено, що практично для усіх зразків характерним є набуття ізоелектричного стану для таких білків як α -лактоальбумін ($4,2-4,8$) та Сироватковий альбумін ($pI = 4,8$). Поряд із цим, імуноглобуліни ($pI=5,5-8,3$) набувають ізоелектричного стану як у контрольному зразку, так і в зразку з найбільшою концентрацією PO_4^{3-} ($0,25 \text{ г/100 см}^3$). Водночас такі групи білків як β - та β -лактоглобуліни ($pI = 5,2-5,4$) набувають ізоелектричного стану тільки у вихідному зразку. Це свідчить про чутливість β - та β -лактоглобулінів до присутності іонів PO_4^{3-} загалом і, як наслідок, неможливості набуття даними фракціями ізоелектричного стану та найнижчих рівнів агрегативної стійкості відповідно.

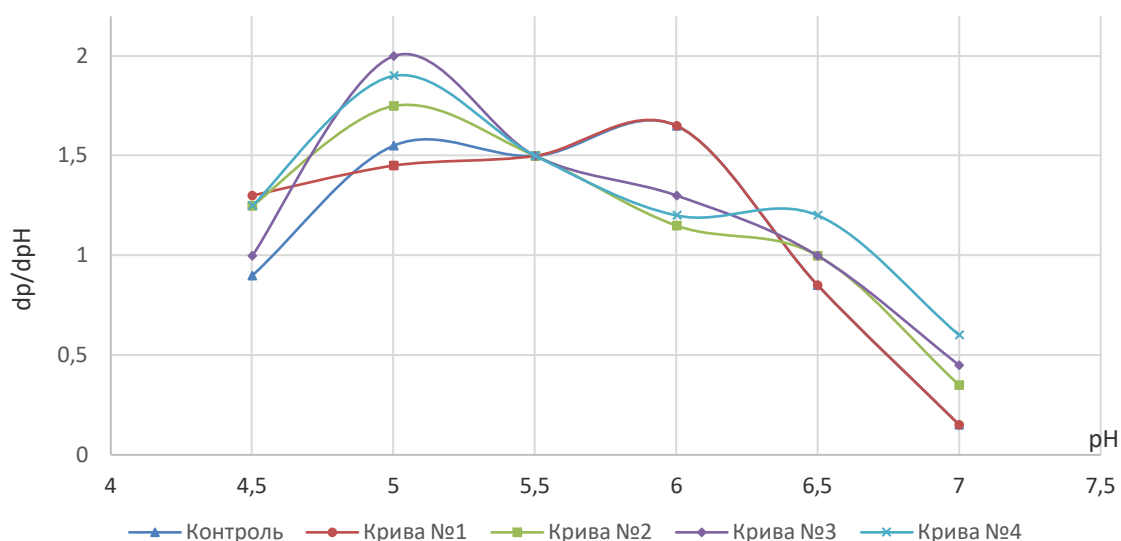


Рис. 2. Криві буферної інтенсивності за іонами PO_4^{3-}

Отже, можна зробити наступні висновки:

1. Вилучення сироваткових білків пов'язане зі зміною концентрацій іонів стабілізаторів Ca^{2+} та PO_4^{3-} , які значною мірою визначають протолітичну дію сироваткових білків.
2. Вміст іонів Ca^{2+} впливає на протолітичну дію α -лактоальбумінів, а вміст іонів PO_4^{3-} значно впливає на протолітичну дію β -лактоглобулінів.
3. Отримані результати можуть бути використані для фракційного вилучення сироваткових білків у системах очищення стічних вод з метою їх наступної утилізації у виробництві білкових продуктів та адитивів.

Література

1. Rosa, F. (2018). Waste Generated by Food Industry and Reuse in A Circular Economy Approach: The Whey Processing. *Con Dai & Vet Sci*, 2(2), 171-173. <https://doi.org/10.32474/CDVS.2018.02.000132>
2. Yatskov, M. V., Korchuk, N. M., Kyrylyuk, S. V., & Besediuk, V. Y. (2015). Study of pH and Eh in ecological technologies of production of milk-whey protein concentrates. *Bulletin of NUWEE, Technical Sciences*, 4(72), 222-234. <https://ep3.nuwm.edu.ua/4814/>
3. Soumati, B., Atmani, M., Benabderrahmane, A., Benjelloun, M. (2023). Whey Valorization – Innovative Strategies for Sustainable Development and Value-Added Product Creation. *Journal of Ecological Engineering*, 24(10), 86-104. <https://doi.org/10.12911/22998993/169505>
4. Яцков, М.В., Корчик, Н.М., Беседюк, В.Ю. (2022). Молочна сироватка як сировина у виробництві продукції фізіологічно-функціонального призначення в системах готельно-ресторанного господарства. *Вісник НУВГП, Технічні науки*, 4(100), 79-90. <https://doi.org/10.31713/vt420226>
5. Khan, M., & Selamoglu, Z. (2019). Nutritional and Medical Perspectives of Whey Protein: A Historical Overview. *J Pharm Care*, 7(4), 112-117. <https://doi.org/DOI:10.18502/jpc.v7i4.2380>
6. Kalaivani, S., & Regupathi, I. (2015). Synergistic extraction of α -Lactalbumin and β -Lactoglobulin from acid whey using aqueous biphasic system: Process evaluation and optimization. *Separation and Purification Technology*, 146, 301–310. <https://doi.org/10.1016/J.SEPPUR.2015.03.057>

**STUDY OF WHEY PROTEINS STABILITY FACTORS IN WASTEWATER
TREATMENT SYSTEMS OF DAIRY ENTERPRISES**

Mykola YATSKOV

Separated structural subdivision Rivne Technical Professional College of The National University of Water and Environmental Engineering, National university of water and environmental engineering, Ukraine

<https://orcid.org/0000-0002-6231-6583>

Nataliia KORCHYK

Separated structural subdivision Rivne Technical Professional College of The National University of Water and Environmental Engineering, National university of water and environmental engineering, Ukraine

<https://orcid.org/0000-0003-4919-6510>

Volodymyr BESEDIUK

National university of water and environmental engineering, Ukraine

<https://orcid.org/0000-0002-0759-496X>

Zakhar MALETSKYI

Norwegian University of Life Sciences, Norway

<https://orcid.org/0000-0002-1356-3588>

DOI: <https://doi.org/10.20535/EHS2710-3315.2024.304109>

Keywords: *whey, whey proteins, stabilising ions, buffering effect, buffering intensity, wastewater treatment systems.*

Abstract

The study demonstrates the changes in protolytic activity in the destabilisation/stabilisation processes of whey proteins in dairy wastewater treatment systems by changing the concentrations of Ca⁺² and PO₄³⁻ stabiliser ions. It was found that λ-lactoalbumin (α-La) is sensitive to high concentrations of Ca⁺² ions, and β₁- and β₂-lactoglobulins (β-Lg) to the presence of PO₄³⁻ ions in general. To ensure the individual extraction of the target α-La and β-Lg fractions, it is necessary to remove Ca⁺² and PO₄³⁻ ions accordingly. The results obtained can be used for further study of the fractional extraction of whey proteins processes in wastewater treatment systems for their subsequent utilisation in the production of protein products and additives.