

О. А. Журавлева (асп.), Н. В. Котова (к.х.н, доц.)

КИНЕТИКО-ДИНАМИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ СОРБЦИИ α -ЛАКТАЛЬБУМИНА И β -ЛАКТОГЛОБУЛИНА МОЛОЧНОЙ СЫВОРОТКИ НА СОРБЕНТАХ РАЗЛИЧНОЙ СТРУКТУРЫ

Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет,
научно-образовательный центр биотехнологии и биоинженерии
197376, г. Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, 14; e-mail: mishkina.olga@pharminnotech.com

O. A. Zhuravleva, N. V. Kotova

KINETIC AND DYNAMIC ANALYSIS OF α -LACTOALBUMIN AND β -LACTOGLOBULIN ISOLATED FROM MILK WHEY ON SORBENTS OF VARIOUS STRUCTURES

Saint Petersburg State Chemical-Pharmaceutical University
14, Professora Popova Str., 197376; Saint Petersburg, Russia; e-mail: mishkina.olga@pharminnotech.com

Представлены результаты кинетико-динамического анализа процесса сорбции белков молочной сыворотки с целью выбора эффективного ионита для разработки технологии их выделения и очистки. Рассмотрены сорбенты гелевой и макропористой структуры Purolite C150 (Na), Purolite C160 (Na), Purolite C400 MB (H, OH), Diaion WK100 (H), Amberlite HPR 1100 (Na), Dowex Maraton 11Cl. Получены кинетические кривые сорбции α -лактальбумина и β -лактоглобулина на данных сорбентах, определены коэффициенты диффузии. Показано, что структура ионита влияет на скорость сорбции исследуемых белков, так, на макропористых сорбентах скорость диффузии выше, чем на гелевых. Получены выходные кривые сорбции и десорбции α -лактальбумина и β -лактоглобулина на перечисленных сорбентах, рассчитаны выходы на данных стадиях. Установлено, что наибольший общий выход на стадиях сорбции и десорбции на гелевых сорбентах наблюдается для Purolite C400 и составляет 66.6%, на макропористых сорбентах для Diaion WK100 (H) – 70.9%.

Ключевые слова: α -лактальбумин; β -лактоглобулин; выходные кривые сорбции и десорбции; кинетика; кинетические кривые; молочная сыворотка; сорбенты; сорбция

Низкомолекулярные белки α -лактоальбумин и β -лактоглобулин широко используются в пищевой и фармацевтической промышленности. Одним из источников их получения является молочная сыворотка. Молочная сыворотка в большом объеме образуется в производстве творога,

The results of a kinetic-dynamic analysis of the process of sorption of whey proteins are presented with the aim of selecting an effective ion exchanger for the development of a technology for their extraction and purification. The following sorbents with gel and macroporous structure are considered: Purolite C150 (Na), Purolite C160 (Na), Purolite C400 MB (H, OH), Diaion WK100 (H), Amberlite HPR 1100 (Na), Dowex Maraton 11Cl. Kinetic curves of sorption of α -lactalbumin and β -lactoglobulin on these sorbents were obtained, diffusion coefficients were determined. It is shown that the ion exchanger structure affects the sorption rate of the studied proteins, since the diffusion rate is higher on macroporous sorbents than on gel ones. The sorption and desorption yield curves for α -lactalbumin and β -lactoglobulin on the aforementioned sorbents were obtained, and the yields at these stages were calculated. It was found that the highest overall yield at the sorption and desorption stages on gel sorbents was observed for Purolite C400, amounting to 66.6%, while on macroporous sorbents, it was 70.9% for Diaion WK100 (H).

Key words: kinetic curves; kinetics; sorbents; sorption and desorption terminal curves; sorption; whey; α -lactalbumin; β -lactoglobulin

сыров, казеина и других продуктов, ее выход составляет около 80% от количества перерабатываемого молока. Ранее значительная часть сыворотки не перерабатывалась, однако, в последние годы большинство производителей молочных продуктов изменили свое отношение к ней, вопрос ее переработки актуален ¹. Ввиду этого выделение фракции α -лактальбумина и β -лактоглобулина из

Дата поступления 03.02.26

молочной сыворотки является перспективным направлением, которое позволит сократить выбросы молочной сыворотки и обеспечит производство полезными белками.

Молочную сыворотку часто называют «полу-молоком», потому что в нее переходит значительное количество белковых веществ, витаминов, микроэлементов молока. Распределение основных компонентов в составе сыворотки представлено в табл. 1².

Как видно из таблицы, большая часть сыворотки представлена β -лактоглобулином. Данный белок является источником биологически активных пептидов, которые могут высвобождаться в результате ферментативного протеолиза. После высвобождения эти пептиды играют важную роль в поддержании здоровья человека. В пищевой промышленности β -лактоглобулин используется в качестве эмульгатора и стабилизатора³. Меньше содержание в сыворотке приходится на α -лактальбумин. Данный белок широко используется в производстве детского питания, поскольку хорошо усваивается с первых дней жизни ребенка, а также биологически активных добавок⁴.

Цель настоящей работы – проведение кинетико-динамического анализа процесса сорбции активных белков молочной сыворотки α -лактальбумина и β -лактоглобулина на сорбентах различной структуры с целью выбора эффективного ионита для разработки технологии выделения и очистки данных белков.

Материалы и методы

Молочная сыворотка была получена из пастеризованного обезжиренного молока методом высаливания насыщенным раствором сульфата аммония до степени насыщения 0.5. Объектами исследования выступили сорбенты: Purolite C150 (Na), Purolite C160 (Na), Purolite C400 MB (H, OH), Dowex Marathon 11Cl, Amberlite HPR 1100 (Na), Diaion WK100 (H). Интерес к данным ионообменным смолам обусловлен их химической стойкостью, высокой эффективностью и безопасностью для экологии. Сорбенты были обработаны 0.2 н растворами HCl и NaOH, затем промыты

очищенной водой до нейтрального значения pH. Далее сорбенты сушили на открытом воздухе для дальнейшего хранения и использования.

Кинетику сорбции изучали в статических условиях методом ограниченного объема с изменяющейся концентрацией раствора. Процесс осуществляли при pH=5, концентрация исходного раствора молочной сыворотки составила 3 мг/мл. Отбор проб осуществляли через 3, 5, 10, 15, 30, 60, 120, 180, 210 мин от начала эксперимента. Концентрацию белка определяли по методу Лоури⁵ в каждый момент времени. Для установления лимитирующей стадии процесса сорбции был проведен ряд опытов с прерыванием и возобновлением контакта ионита и раствора⁶.

Коэффициент диффузии рассчитывали по тангенсу угла наклона начального участка кинетической кривой зависимости степени завершенности процесса от корня квадратного из времени $F=f(\sqrt{t})$ ⁷. В ходе работы определили степень завершенности процесса, построили кинетические кривые и рассчитали коэффициенты диффузии.

Процесс сорбции и десорбции α -лактальбумина и β -лактоглобулина молочной сыворотки изучали в динамических условиях: колонка 1.5–10 см; температура 20–22 °C; pH сорбции 5.0; концентрация молочной сыворотки 3.0 мг/мл; раствор для промывки колонки после нанесения пробы: подкисленная уксусной кислотой очищенная вода; элюенты: раствор NaCl pH=12.5, аммиачная вода pH=12.0; объем отбираемых фракций на выходе из колонки: 2 мл. В пробах определяли концентрацию общего белка по методу Лоури⁵. В лабораторную колонку загружали 1.0 г сорбента, стабилизировали его ацетатным буферным раствором до pH=5.0. Подбирали оптимальную скорость сорбции, промывки и десорбции. Скорость пропускания раствора через колонку на стадии сорбции – 0.8 мл/мин.

Результаты и их обсуждение

Внутридиффузионный характер кинетики сорбции был установлен в опытах с «прерыванием» (рис. 1).

Таблица 1

Распределение основных компонентов в составе молочной сыворотки

Сывороточный белок	Концентрация в молочной сыворотке, мг/мл	Молекулярная масса, кДа
β -лактоглобулин	3.2	18.4 – мономера 36.7 – димера
α -лактоальбумин	1.2	14.2
Иммуноглобулин	0.7	161.0
Сывороточный альбумин	0.4	66.4
Лактоферрин	0.1	76.1
Лактопероксидаза	0.03	77.5

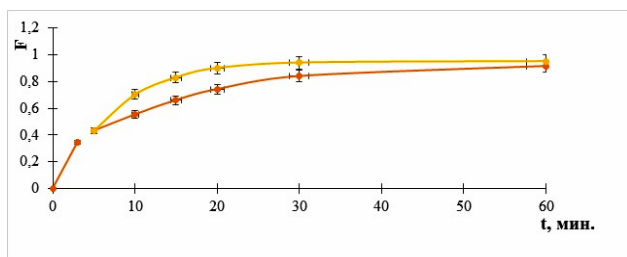


Рис. 1. Скорость сорбции α -лактальбумина и β -лактоглобулина на сорбенте Diaion WK100 (H): F – степень завершения процесса; 1 – опыт с прерыванием контакта фаз; 2 – контрольный опыт; ~ – перерыв 1 ч

Из рис. 1 видно, что градиенты концентраций внутри зерна выравниваются в течение 1 ч, пока обмен с раствором происходит не мог. Вследствие этого сразу после возобновления контакта с раствором скорость обмена оказывается большей, чем перед прерыванием процесса.

Кинетические кривые представлены на рис. 2 и 3, значения коэффициентов диффузии представлены в табл. 1.

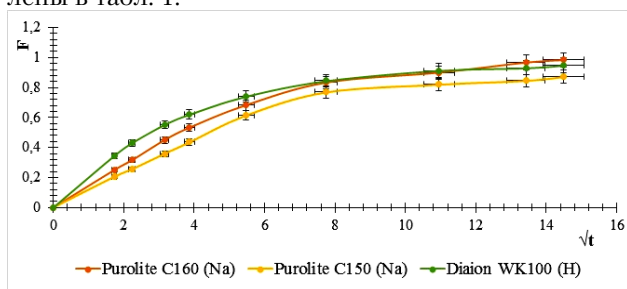


Рис. 2. Кинетические кривые сорбции α -лактальбумина и β -лактоглобулина на макропористых сорбентах Purolite C150 (Na), Purolite C160 (Na), Diaion WK100 (H)

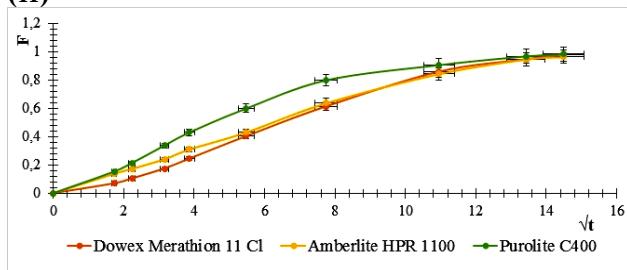


Рис. 3. Кинетические кривые сорбции α -лактальбумина и β -лактоглобулина на гелевых сорбентах Amberlite HPR 1100 (Na), Dowex Marathon 11 (Cl), Purolite C400 MB (H, OH)

При сорбции α -лактальбумина и β -лактоглобулина на исследуемых сорбентах лимитирующей является гелевая кинетика, начальный участок зависимости $F = f(\sqrt{t})$ имеет форму прямой, что позволило рассчитать коэффициенты диффузии по тангенсу угла наклона кинетической кривой.

Из таблицы видно, что значение коэффициента диффузии для сорбентов Purolite C150 (Na), Purolite C160 (Na), Diaion WK100 сопоставимы и на один порядок выше, чем на сорбентах Purolite

C400 MB (H, OH), Amberlite HPR 1100 (Na), Dowex Maraton 11 Cl. Можно предположить, что структура ионита влияет на скорость сорбции исследуемых белков, вследствие чего на макропористых сорбентах скорость диффузии выше, чем на гелевых сорбентах.

Таблица 2

Результаты экспериментов по изучению кинетики сорбции α -лактальбумина и β -лактоглобулина

Сорбент	Коэффициент диффузии, $\text{м}^2/\text{с}$
Purolite C150 (Na)	$(1.3 \pm 0.2) \cdot 10^{-10}$
Purolite C160 (Na)	$(1.6 \pm 0.2) \cdot 10^{-10}$
Diaion WK100 (H)	$(2.4 \pm 0.3) \cdot 10^{-10}$
Purolite C400 MB (H, OH)	$(6.3 \pm 0.4) \cdot 10^{-11}$
Amberlite HPR 1100 (Na)	$(4.6 \pm 0.3) \cdot 10^{-11}$
Dowex Maraton 11 Cl	$(2.2 \pm 0.3) \cdot 10^{-11}$

Исследован динамический процесс сорбции и десорбции фракции α -лактальбумина и β -лактоглобулина молочной сыворотки на исследуемых сорбентах. Показано, что оптимальным элюентом является раствор NaCl с pH=12.5, так как для него характерен выход больше, чем при использовании аммиачной воды. На рис. 4 и 5 представлены примеры выходных кривых сорбции и десорбции на сорбенте гелевой структуры Purolite C400 и макропористом ионите Diaion WK100 (H) соответственно. Данные сорбенты были выбраны, так как в своей группе имеют наибольший общий выход.

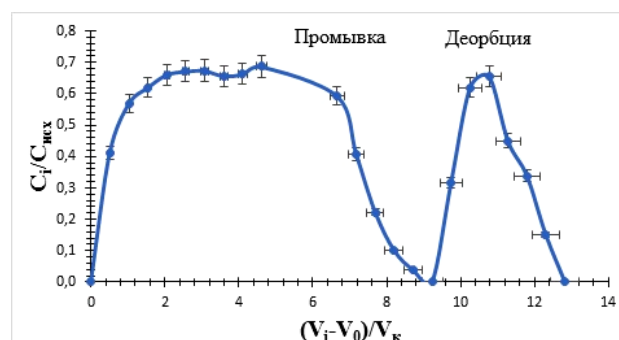


Рис. 4. Выходная кривая сорбции и десорбции на сорбенте Purolite C400

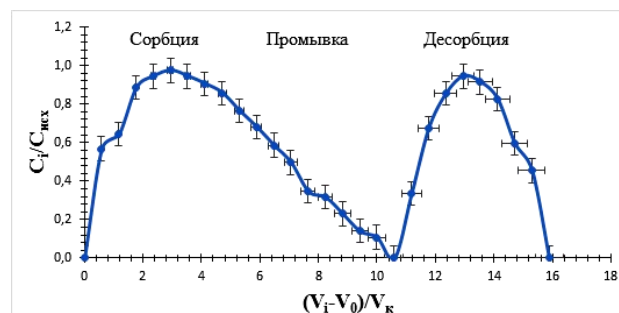


Рис. 5. Выходная кривая сорбции и десорбции на сорбенте Diaion WK100 (H)

Рассчитаны выходы α -лактальбумина и β -лактоглобулина на стадиях сорбции/десорбции всех исследуемых сорбентах. Общий выход на стадиях сорбции и десорбции представлен в табл. 3.

Таблица 3

**Общий выход на стадиях сорбции
и десорбции α -лактальбумина
и β -лактоглобулина**

Сорбент	Общий выход, %
Purolite C150 (Na)	69.2±1.5
Purolite C160 (Na)	68.2±1.6
Diaion WK100 (H)	70.9±1.4
Purolite C400 MB (H, OH)	66.6±1.5
Amberlite HPR 1100 (Na)	64.4±1.6
Dowex Maraton 11 Cl	63.3±1.5

Таким образом, в ходе работы были исследованы кинетико-динамические параметры сорбции α -лактальбумина и β -лактоглобулина на макропористых (Purolite C150 (Na), Purolite C160 (Na), Diaion WK100 (H)) и гелевых сорбентах (Purolite

C400 MB (H, OH), Amberlite HPR 1100 (Na), Dowex Maraton 11Cl). Установлено, что структура сорбента влияет на скорость сорбции α -лактальбумина и β -лактоглобулина. Показано, что коэффициент диффузии на макропористых сорбентах на порядок выше чем на гелевых и составил соответственно $(1.3-2.4) \cdot 10^{-10} \text{ м}^2/\text{с}$ и $(2.2-6.4) \cdot 10^{-11} \text{ м}^2/\text{с}$.

Установлено, что наибольший общий выход на стадиях сорбции и десорбции для гелевых сорбентов получен на Purolite C400 и составил 66.6%, на макропористых сорбентах для Diaion WK100 (H) – 70.9%.

Таким образом, наиболее эффективным сорбентом для разработки дальнейшей технологии выделения α -лактальбумина и β -лактоглобулина из молочной сыворотки является макропористый катионит Diaion WK100 (H), так как обладает высокой емкостью, коэффициентом распределения⁸, коэффициентом диффузии и достаточно высоким выходом на стадиях сорбции/десорбции.

Литература

1. Огнева О.А. Мембранные методы переработки молочной сыворотки // Молодой ученый. – 2015. – №15(95). – С.140-144.
2. Храмов А.Г., Василисин С.В. Промышленная переработка вторичного молочного сырья. Обезжиренное молоко. Молочная сыворотка. – М.: ДеЛи Принт, 2003. – 98 с.
3. Паладий И.В. Молочная сыворотка: обзор работ. Часть 1. Классификация, состав, свойства, производные, применение // Электронная обработка материалов. – 2021. – №57(1). – С.52-69.
4. Layman D.K. Applications for α -lactalbumin in human nutrition // Nutrition Reviews. – 2018. – V.76(6). – Pp.444-460.
5. Биссвангер Х. Практическая энзимология. – М.: БИНОМ; Лаборатория знаний, 2011. – 328 с.
6. Kressman T.R.E., Kitchener J.A. Cation exchange with a synthetic phenolsulphonate resin. Part V. Kinetics // Discussions of the Faraday Society. – 1947. – V.7(90). – Pp.90-103.
7. Глазова Н.В., Кучеренко (Серкова) А.Н., Омелянова А.П. Сорбционно-хроматографические и мембранные методы в процессах выделения и очистки биологических субстанций. – М.: Издательский дом Академии Естествознания, 2023. – 220 с.
8. Журавлева О. А., Кидяева А. В., Котова Н. В. Выделение α -лактальбумина и β -лактоглобулина из молочной сыворотки с использованием сорбционно-хроматографических и мембранных методов // Известия Санкт-Петербургского государственного технологического института (технического университета). – 2025. – №74(100). – С.45-49.

References

1. Ogneva O.A. *Membrannyye metody pererabotki molochnoy syvorotki* [Membrane methods for processing milk whey]. *Molodoy ucheniy* [Young scientist], 2015, no.15 (95), pp.140-144.
2. Khrantsov A.G., Vasilisin S.V. *Proyshlennaya pererabotka vtorichnogo molochnogo syr'ya. Obbezhiroennoe moloko. Molochnaya syvorotka* [Industrial processing of secondary dairy raw materials. Skim milk. Milk whey]. Moscow, DeLi Print, 2003, 98 p.
3. Paladiy I.V. *Molochnaya syvorotka: obzor rabot. Chast' 1. Klassifikatsiya, sostav, svoystva, proizvodnyye, primeneniye* [Milk whey: a review of works. Part 1. Classification, composition, properties, derivatives, application]. *Elektronnaya obrabotka materialov* [Electronic processing of materials], 2021, no.57 (1), pp.52-69.
4. Layman D.K. [Applications for α -lactalbumin in human nutrition]. *Nutrition Reviews*, 2018, vol.76(6), pp.444-460.
5. Bisswanger H. *Prakticheskaya enzimologiya* [Practical Enzymology]. Moscow, BINNOM Publ., 2011, 328 p.
6. Kressman T.R.E., Kitchener J.A. [Cation exchange with a synthetic phenolsulphonate resin. Part V. Kinetics]. *Discussions of the Faraday Society*, 1947, vol.7 (90), pp.90-103.
7. Glazova N.V., Kucherenko (Serkova) A.N., Omelyanova A.P. *Sorbtsionno-khromatograficheskiye i membrannyye metody v protsessakh vydeleniya i ochistki biologicheskikh substantiy* [Sorption-chromatographic and membrane methods in the processes of isolation and purification of biological substances]. Moscow, Academy of Natural Sciences Publ., 2023, 220 p.
8. Zhuravleva O.A., Kidyeva A.V., Kotova N.V. *Vydeleniye α -laktal'bumina i β -laktoglobulina iz molochnoy syvorotki s ispol'zovaniyem sorbtsionno-khromatograficheskikh i membrannykh metodov* [Isolation of α -lactalbumin and β -lactoglobulin from whey using sorption-chromatographic and membrane methods]. *Izvestiya Sankt-Peterburgskogo gosudarstvennogo tekhnologicheskogo instituta* [Bulletin of the St. Petersburg State Technological Institute], 2025, no.74 (100), pp.45-49.