

ВЛИЯНИЕ ТЕМПЕРАТУРЫ И АКТИВНОЙ КИСЛОТНОСТИ НА МОЛОКОСВЕРТЫВАЮЩИЕ ФЕРМЕНТНЫЕ ПРЕПАРАТЫ ЖИВОТНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ

Ю. Г. Стурова, А.В. Кригер, Е.О. Безбородова

Проведено исследование влияния активной кислотности и температуры на молоко-свертывающую активность ферментов животного происхождения. Установлены оптимальные параметры по температуре и активной кислотности для буферных растворов, используемых для растворения молокосвертывающих ферментных препаратов.

Ключевые слова: молокосвертывающая активность ферментных препаратов, сычужный фермент, говяжий пепсин, ВНИИМС СГ-50, химозин, активная кислотность, температура.

Производство сыра – наиболее важная сфера использования молока во всех странах мира. Объемы производства сыров ежегодно увеличиваются в соответствии с постоянным повышением спроса на этот продукт. Согласно данным отчетов организации BusinessStat в 2012 г., общее производство сыров в мире с 2007 до 2011 г. выросло на 5,2 % и составило 21,7 млн. т за 2011 г. Ожидается, что в 2013 году Россия может увеличить производство сыра на 19,7 %. Данная тенденция диктует сыроделам новые подходы к производству сыра. В настоящее время рынок предлагает большой выбор молокосвертывающих препаратов как отечественных, так и зарубежных производителей, и сыроделам порой трудно разобраться в их многообразии, а особенно в качестве. Поэтому зачастую при выборе молокосвертывающего фермента предприятия руководствуются экономическими соображениями и обращают основное внимание на цену препарата, а не на его состав и технологические характеристики.

Правильно подобранный к выпускаемому ассортименту сыров молокосвертывающий препарат является одним из действенных рычагов повышения качества продукции и улучшения экономики сыродельного производства. Молокосвертывающий фермент влияет на характер образовавшегося сгустка, постановку и формирование сырного зерна, отделение сыворотки, потери белка и жира. В силу своей специфичности ферментный препарат направленно регулирует первичные протеолитические процессы в сыре и его созревание. Интенсификация процессов созревания сыра и управление качеством продукции базируется на направленном регулировании всех ферментативных процессов. Основными факторами, влияющими на специ-

фическую ферментативную активность молоко-свертывающих ферментных препаратов, являются pH и температура.

Молокосвертывающие препараты являются необходимым компонентом производства натуральных сыров. В настоящее время на рынке, существует большое разнообразие молокосвертывающих ферментных препаратов (МФП), наиболее популярными в сыроделении, несмотря на развитие современных технологий и расширение ассортимента, являются ферменты животного происхождения. Они принадлежат к кислым протеазам, проявляющим максимальную активность в кислой среде, также характеризуются высоким содержанием дикарбоновых аминокислот, низким содержанием основных аминокислот. Их еще называют аспарагиновыми протеазами, потому что в их активном центре имеются два остатка аспартата.

При оценке пригодности молокосвертывающих ферментных препаратов для производства сыра в первую очередь оценивается специфическая или молокосвертывающая активность (МА). Молокосвертывающая активность важна для свертывания и заключается в расщеплении связи 105 (Phe) - 106 (Met) в молекуле κ -казеина. Она зависит от многих факторов: качества и состава молока, кислотности смеси, доз закваски и хлористого кальция, состава ионов, окислительно-восстановительного потенциала и концентрации образующихся продуктов обмена, а также температуры субстрата при инкубации ферментов и pH буферного раствора, используемого для их приготовления [4].

Температура приготовления раствора молокосвертывающего ферментного препарата оказывает большое влияние на его активность, потому что, она является основным

показателем продолжительности свертывания молока, а значит и качества образования сгустка. С повышением температуры химические реакции ускоряются. Следовательно, скорость ферментативной реакции с повышением температуры также увеличивается. Однако это наблюдается в ограниченном диапазоне температур, так как повышение их влияет не только на скорость катализируемой реакции, но и на денатурацию фермента. При высоких температурах коллоидно-химическая активность ферментов разрушается и в результате они теряют каталитическую активность. Для всех ферментов существуют диапазоны температур, при которых они денатурируют и полностью теряют свою активность.

Температурный оптимум для ферментов животного происхождения составляет 37 °С, для ферментов растительного происхождения от 20 °С до 25 °С и для бактериальных ферментов от 20 °С до 37 °С в зависимости от вида бактерий. Если температура превышает этот оптимум действия ферментов, то активность их заметно падает до тех пор, пока при дальнейшем повышении температуры она полностью не утрачивается. Инактивирование может повлечь за собой частичное разрушение структуры ферментного белка.

Специфическая активность ферментов не восстанавливается. Однако при шоковом нагреве очень часто происходит повторная активация фермента, которая на практике, например при несоблюдении температурных режимов в молочной промышленности, может привести к ошибочным выводам.

Растворы ферментов более чувствительны к тепловым воздействиям, чем высушенные ферментные препараты. Сычужный фермент в водном растворе выдерживает нагревание примерно до 60 °С, в то время как в высушенном состоянии он не теряет активности и при 90 °С [4,5].

При низких температурах скорость реакции настолько замедляется, что активность фермента резко падает. Поскольку ферменты представляют собой коллоидные белковые вещества, то активность их в значительной степени зависит от величины рН. Для каждого фермента существует оптимальное значение рН, то есть такая величина, при которой каталитическая реакция протекает с наибольшей скоростью.

Поэтому целью работы являлось исследование влияния физико-химических факторов на ферментные препараты животного происхождения и проверка выбранных оптимумов при выработке сыра «Витязь».

В исследовании использовались образцы следующих ферментных препаратов: сычужный фермент (СФ), ВНИИМС СГ-50, говяжий пепсин (ГП). Для определения влияния активной кислотности на МА исследуемых ферментных препаратов применяли буферные растворы с различным диапазоном рН от 4,0 до 8,0 условных единиц, с шагом дискретности 1,0 условных единиц.

Из рисунка 1 видно, что МА всех исследуемых ферментных препаратов, приготовленных в растворе с активной кислотностью 7,0 условных единиц рН, находилась приблизительно на одном уровне. Наибольшая активность наблюдалась у ферментных препаратов, приготовленных в растворах, активная кислотность которых находилась в диапазоне от 4,0 до 5,0 единиц рН. С увеличением значений рН МА препаратов существенно снижалась. Использование растворов с активной кислотностью 4,0 единиц рН повышало МА препарата ВНИИМС СГ-50 – на 72 %, говяжьего пепсина – на 94 %, СФ – на 36 % относительно контрольной точки (7,0 единиц рН). Напротив, при активной кислотности 8,0 единиц рН МА значительно снижалась относительно представленных результатов. Это можно объяснить тем, что оптимумом действия всех ферментов является кислая протеаза, а в щелочной среде они начинают терять свою активность, но, тем не менее, она остается в пределах нормы [2].

Препараты с высоким содержанием пепсина более чувствительны к изменениям активной кислотности раствора. Так, сычужный фермент при рН 5,0 условных единиц, увеличивал свою активность на 25 %, и снижал ее на 2,5 % при рН 8,0 единиц, а МА говяжьего пепсина, соответственно, при рН 5,0 условных единиц увеличивалась на 58 %, и затем снижалась на 5,4 %.

На предприятиях для приготовления растворов молокосвертывающих ферментных препаратов используется пастеризованная водопроводная вода. В зависимости от источника получения, ее активная кислотность может изменяться от 7,0 до 8,0 условных единиц рН. Это приводит к инактивации ферментов, особенно их пепсиновой составляющей (область стабильности химозина лежит в диапазоне рН от 5,3 до 6,3; пепсина – от 2,0 до 6,0 ед. рН). Поэтому некоторые предприятия, для решения этой проблемы подкисляют водопроводную воду, в которой готовят раствор молокосвертывающего ферментного препарата (МФП), другие используют подсырную сыворотку. Однако сыворотка может быть источником бактериофагов, что может привести к зна-

ВЛИЯНИЕ ТЕМПЕРАТУРЫ И АКТИВНОЙ КИСЛОТНОСТИ НА МОЛОКОСВЕРТЫВАЮЩИЕ ФЕРМЕНТНЫЕ ПРЕПАРАТЫ ЖИВОТНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ

чительному замедлению молочнокислого процесса и нарушению процесса нарастания кислотности в сыре после прессования, следст-

вием чего является развитие бактерий группы кишечной палочки, а также другой технически вредной микрофлоры [1,3].

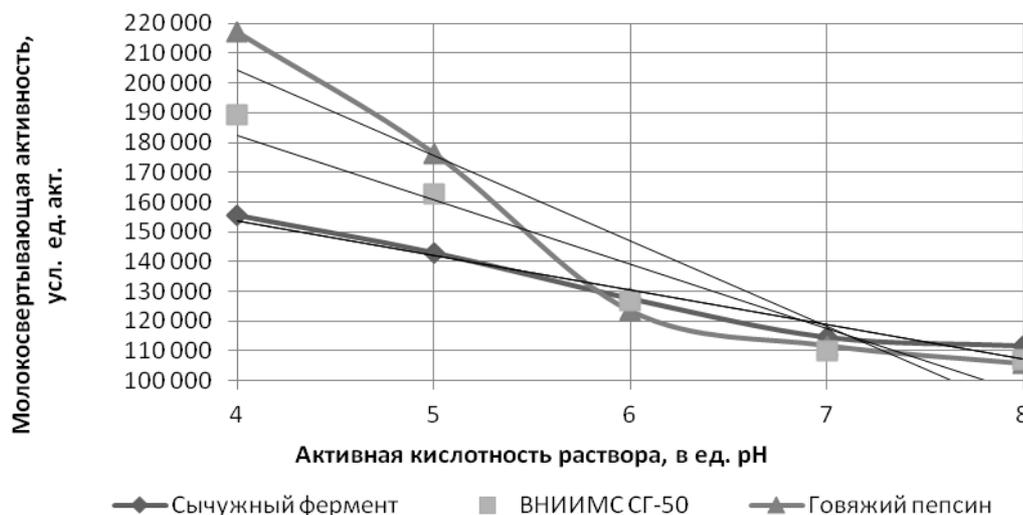


Рисунок 1 – Зависимость уровня молокосвертывающей активности ферментного препарата от уровня активной кислотности раствора

Также очень распространено использование водопроводной воды, для растворения ферментов, при этом рН также приближается к значению 8,0 единиц рН, что отрицательно сказывается на дальнейшем проведении процесса, который может привести к получению рыхлого сгустка или появлению пороков - горького, салостого вкуса в готовом продукте. Поэтому для выработки сыров, как показывает практика и анализ изучения технологических особенностей сыродельных предприятий, оптимальным является применение для растворения МФП буферного раствора с активной кислотностью 6,0 условных единиц рН. Это обеспечивает наилучшие условия для активации ферментов перед их внесением в ванну при выработке сыров, кроме того, данное значение наиболее близко к рН дистиллированной воды, в которой рекомендовано растворять МФП [1].

Проведенное исследование данных ферментных препаратов показало существование расхождений в их устойчивости к температурным воздействиям. Исследования проводились при инкубировании растворов субстрата в диапазоне температур от 31 °С до 35 °С, с шагом 1 °С. Наибольшей чувствительностью к изменению температуры отличался говяжий пепсин. При повышении температуры с 32 °С до 33 °С он увеличил 34 % МА, затем темп нарастания активности стал плавным. Это может быть связано с тем, что температурный оптимум для говяжьего пепсина от 30 °С до 35 °С, при дальнейшем повышении температуры активность фермента

растет постепенно. Следовательно, нарастание МА происходит поэтапно, и достигает максимума при 33 °С. МА сычужного фермента и ВНИИМС СГ-50 нарастает последовательно, максимума достигают в интервале от 34 °С до 35 °С, в данном интервале происходит увеличение МА у сычужного фермента до 114512 условных единиц активности и у ВНИИМС СГ-50 до 110000 условных единиц активности. Также с увеличением МА происходило снижение продолжительности свертывания субстрата.

Изменение температуры является важным параметром для образования сгустка. Температурный оптимум молокосвертывающей активности химозина составляет от 42 °С до 45 °С, говяжьего пепсина от 30 °С до 35 °С, при повышении температуры, активность фермента постепенно падает. Наиболее пригодным для сыроделия считается интервал от 33 °С до 35 °С, сгусток будет плотным и не образующим сырной пыли, при повышении температуры до 40 °С, сгусток приобретает резинистую консистенцию, медленно отделяет сыворотку, а значит, плохо разрезается после длительного хранения [4, 5].

Значит, учитывая, что минимальная продолжительность образования сгустка и максимальная МА была выявлена при 35 °С, данное значение предполагается оптимальным для сыроделия. После проведения исследований были проведены испытания выбранных оптимальных параметров температуры и рН при выработке сыра «Витязь» в лабораторных условиях.

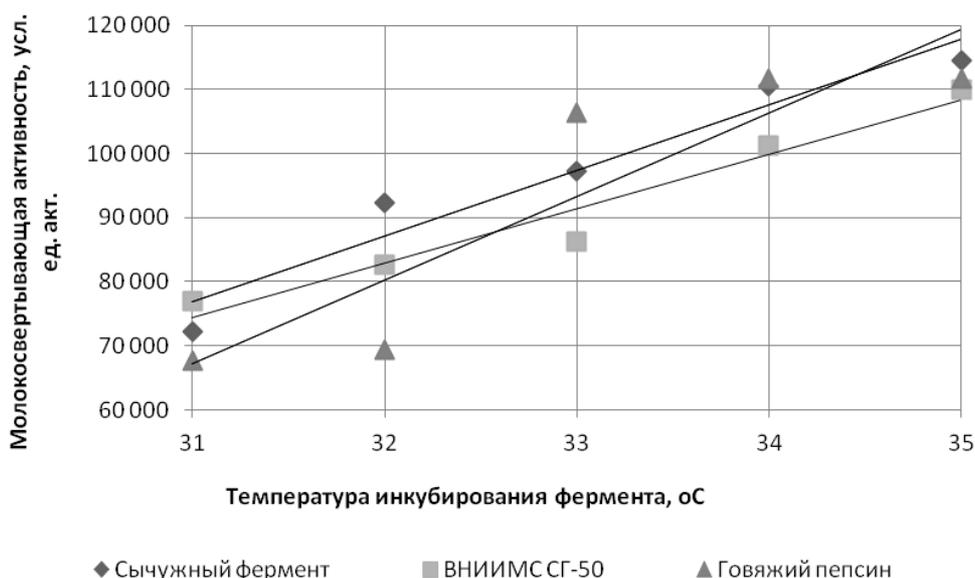


Рисунок 2 – Зависимость уровня молокосвертывающей активности ферментных препаратов от температуры субстрата

Как показывает практика, наилучшими показателями обладал сыр, выработанный с применением сычужного фермента, затем ВНИИМС СГ-50 и говяжьего пепсина.

Сгусток полученный, с применением сычужного фермента, образовался с наибольшей скоростью (рисунок 3), обладал большей плотностью, твердостью и упругостью, а значит наименьшими потерями белка в сыворотку.

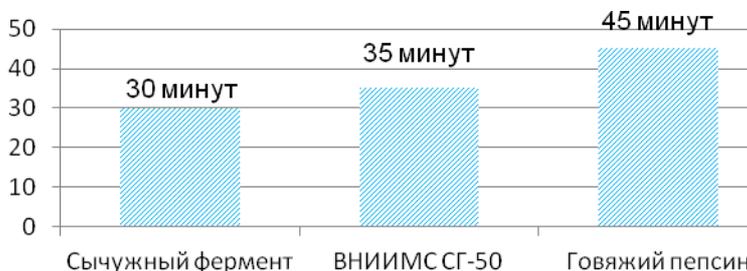


Рисунок 3 – Продолжительность образования сгустка при производстве сыра «Витязь»

Это объясняется различным содержанием химозина в трех образцах, первый и второй образец обладают большим содержанием химозина (70:30, 50:50), что способствует повышению качества готового продукта [5, 6].

При производстве данного сыра, температура второго нагревания находится в интервале от 38 °C до 42 °C, поэтому основная часть молокосвертывающего фермента остается в сгустке и протеолитический гидролиз продолжается во время созревания сыра, ввиду этого нужно тщательно подходить к выбору МФП. Говяжий пепсин, из-за активности пепсина рекомендовано использовать для производства мягких сыров с коротким сроком созревания или без созревания.

Таким образом, температура и активная кислотность, являются основными факторами среды, с помощью которых можно регулировать активность МФП. Они в свою очередь, влияют на характер образовавшегося сгустка, постановку и формирование сырного зерна, отделение сыворотки, потери белка и жира в силу своей специфичности направленно регулируют первичные протеолитические процессы в сыре и его созревание. Для того чтобы повысить эффективность производства сыров предполагается применение для растворения МФП буферного раствора с активной кислотностью 6,0 условных единиц и инкубирование раствора субстрата при температуре 35°C [3, 5, 6].

ВЛИЯНИЕ ТЕМПЕРАТУРЫ И АКТИВНОЙ КИСЛОТНОСТИ НА МОЛОКОСВЕРТЫВАЮЩИЕ ФЕРМЕНТНЫЕ ПРЕПАРАТЫ ЖИВОТНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Кригер, А.В. Влияние состава ферментных композиций на качество сыров / А.В. Кригер, А. Н. Белов // Сыроделие и маслоделие. – 2010. – № 6. – С. 23-25.

2. Кригер, А.В. Исследование влияния активной кислотности растворов молокосвертывающих ферментов на коагуляцию молока при выработке сыра / А.В. Кригер, А.Н. Белов // Актуальные проблемы техники и технологии переработки молока : сб. науч. тр. с междунар. участием / ГНУ Сибирский НИИ сыроделия СО РАСХН. – Барнаул, 2008. – Вып. 5. – С. 180-187.

3. Производство сыра: технология и качество / пер. с фр. Б.Ф. Богомолова; под ред. и с предисл. Г.Г. Шиллера. – М.: Агропромиздат, 1989. – 496 с.

4. Тепел, А. Химия и физика молока / А. Тепел; пер. с нем. С.Н. Фильчаковой. – М.: Профессия, 2012. – 624 с.

5. Теплы, М. Молокосвертывающие ферменты животного и микробного происхождения /

М. Теплы, Я. Машек, Я. Гавлова. – М.: Пищевая пром-сть, 1980. – 272 с.

6. Технология молока и молочных продуктов / Г.В. Твердохлеб [и др.]. – М.: Агропромиздат, 1991. – 464 с.

Стурова Ю.Г., к.т.н., доцент кафедры «Технологии продуктов питания» ФГБОУ ВПО АлтГТУ им. И.И. Ползунова, тел.: 8(3852) 66-99-82; E-mail: y_sturova79@yahoo.com;

Кригер А.В., к.т.н., доцент, с.н.с, лаборатории биохимических исследований ГНУ Сибирский НИИ сыроделия Россельхозакадемии, тел.: 8(3852) 46-56-16; E-mail: y_sturova79@yahoo.com;

Безбородова Е.О. студент кафедры «Технологии продуктов питания» ФГБОУ ВПО АлтГТУ им. И.И. Ползунова, 8(3852) 66-99-82; E-mail: y_sturova79@yahoo.com.