

*Л.Л. Богданова, к.т.н., Е.В. Ефимова, к.т.н., Е.М. Дмитрук, С.И. Вырина
Институт мясо-молочной промышленности, Минск, Республика Беларусь*

ИЗУЧЕНИЕ ТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ ОСОБЕННОСТЕЙ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ АЦИЛТРАНСФЕРАЗЫ ПРИ ПРОИЗВОДСТВЕ МОЛОЧНЫХ ПРОДУКТОВ

*L. Bogdanova, E. Efimova, E. Dmitruk, S. Virina
Institute for Meat and Dairy Industry, Minsk, Republic of Belarus*

STUDY OF TECHNOLOGICAL FEATURES OF USE OF ACYLTRANSFERASE IN THE PRODUCTION OF DAIRY PRODUCTS

e-mail: bogdanova_ll@tut.by, overie@mail.ru, elenadm210187@gmail.com, svetlantana@mail.ru

В статье представлены результаты исследований по изучению влияния трансглутаминазы на технологический процесс производства молочных продуктов. Установлено увеличение продолжительности сквашивания и замедление нарастания кислотности при внесении трансглутаминазы. Определена более высокая вязкость молочных продуктов, выработанных с использованием трансглутаминазы, и меньший прирост титруемой кислотности при хранении.

The article presents the results of studies on the effect of transglutaminase on the technological process of dairy production. An increase in the duration of fermentation and a slowdown in the increase in acidity with the addition of transglutaminase have been established. The higher viscosity of dairy products produced using transglutaminase and a lower increase in titratable acidity during storage were determined.

Ключевые слова: ацилтрансфераза; трансглутаминаза; фермент; ацильный перенос; реологические показатели; влагоудерживающие свойства.

Keywords: acyltransferase; transglutaminase; enzyme; acyl transfer; rheological parameters; water-retaining properties.

Введение. В настоящее время развитие биотехнологии позволяет получать ферментные препараты микробного происхождения высокого качества и с достаточно низкой себестоимостью. Это создало предпосылки для развития производства пищевых продуктов с заданными свойствами. В молочной промышленности широко используются ферменты из классов гидролаз (молочосвертывающие ферментные препараты, препараты β -галактозидазы, лизоцим), эстераз (липазы). Около 20 лет назад в США и Европе появились ферментные препараты, относящиеся к классу трансфераз, способные связывать не гидролизуя белковые молекулы, что обусловило их быстрое распространение в пищевой промышленности. К таким ферментам относят трансглутаминазу [1, 2].

Трансглутаминаза катализирует 3 типа реакций: 1) ацильного переноса между γ -карбоксамидными группами остатков глутамина в белках или пептидах и различными первичными аминами; 2) если роль акцептора ацила выполняет ϵ -аминогруппа лизина, то протекает реакция полимеризации с образованием изопептида с ϵ -(γ -глутамил)-лизиновыми мостиками; 3) реакцию дезаминирования. Трансглутаминаза стабильна в диапазоне pH от 5,0 до 9,0, оптимальный диапазон pH от 6 до 7 [3] (по некоторым сведениям оптимальный диапазон pH 4,5 – 7 [4]). Образованная ферментом белковая матрица подобна естественной структуре белковой ткани [3, 4].

На сегодняшний день указанный ферментный препарат не получил официального разрешения на использование в соответствии с законодательством комиссии Кодекс Алиментариус и Европейского союза и Парламента, и используется

только в соответствии с законодательством отдельных стран (в Швейцарии и Германии – только в мясных продуктах с обязательным декларированием его применения; в США сведения о его использовании при изготовлении пищевой продукции обязательно выносятся на ее маркировку). В настоящее время Европейским агентством по безопасности пищевых продуктов рассматривается возможность использования в пищевой промышленности двух видов трансглутаминазы. На территории ЕАС оценка критериев безопасности и рисков ее применения пока не проводилась. Действие данного препарата при изготовлении молочных продуктов также изучено не достаточно: не в полной мере исследовано влияние трансглутаминазы на микробиологические и физико-химические процессы, которые протекают при производстве и при хранении молочных продуктов, выработанных с ее использованием.

Цель исследований – изучение технологических особенностей использования ацилтрансферазы при производстве молочных продуктов.

Материалы и методы исследований. Объектами исследований являлись: препараты трансглутаминазы, молочные продукты, выработанные с использованием трансглутаминазы, и без ее использования.

Определение физико-химических, микробиологических показателей и органолептических характеристик молочных продуктов, выработанных с использованием трансглутаминазы и без ее использования, осуществляли в лаборатории технологий цельномолочных продуктов и концентратов и производственно-испытательной лаборатории РУП «Институт мясо-молочной промышленности», при этом использовались стандартные методы.

Проводилось изучение ферментативных свойств ацилтрансферазы при производстве молочных продуктов, ее влияние на технологический процесс их производства и реологические показатели молочных смесей путем проведения выработок контрольных образцов молочных продуктов (творог, йогурт, сметана) и экспериментальных образцов молочных продуктов по технологии творога, йогурта и сметаны с добавлением трансглутаминазы.

Для выработки экспериментальных образцов с трансглутаминазой использовался ферментный препарат Saprona MCC LM в рекомендуемом количестве 0,1% от массы сырья.

Сквашивание проводилось с использованием заквасок для производства йогурта, творога и сметаны (изготовитель – РУП «Институт мясо-молочной промышленности»).

Выход продуктов определяли по формуле (1):

$$V_{\text{пр}} = \frac{M_{\text{г.пр}}}{M_{\text{с}}} \cdot 100\%, \quad (1)$$

где – $V_{\text{пр}}$ – выход продукта, %;
 $M_{\text{г.пр}}$ – масса готового продукта, г;
 $M_{\text{с}}$ – масса исходного сырья, г.

Степень использования сухих веществ определяли по формуле (2):

$$\text{СИСВ} = \frac{M_{\text{г.пр}} \cdot \text{СВ}_{\text{г.пр}}}{M_{\text{с}} \cdot \text{СВ}_{\text{с}}} \cdot 100\%, \quad (2)$$

где – СИСВ – степень использования сухих веществ, %;
 $\text{СВ}_{\text{г.пр}}$ – содержание сухих веществ в готовом продукте, %;
 $\text{СВ}_{\text{с}}$ – содержание сухих веществ в исходном сырье, %.

Оценка вкуса, запаха и внешнего вида образцов осуществлялась посредством органолептического анализа [5].

Оценка вязкости образцов продуктов осуществлялась с помощью ротационного вискозиметра марки Брукфильда, модель LVDV-II+PRO (производство США) при различных скоростях вращения ротора (об/мин) и градиенте скорости (с-1) при температуре 20°C.

Результаты и их обсуждение. Для изучения влияния внесения транsgлютаминазы на технологический процесс производства молочных продуктов были проведены выработки в трех повторностях творога, йогуртов, сметаны и молочных продуктов с транsgлютаминазой по технологии творога, йогуртов и сметаны по следующей схеме:

1. Контрольные образцы без использования транsgлютаминазы.

2. Экспериментальные образцы с внесением транsgлютаминазы в количестве 0,1% до пастеризации сырья, с выдержкой 30 мин и дальнейшей тепловой обработкой.

3. Экспериментальные образцы с добавлением транsgлютаминазы после пастеризации и охлаждения сырья в количестве 0,1% одновременно с внесением закваски.

Значения титруемой кислотности творожных сгустков в конце сквашивания до отваривания представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Значения титруемой кислотности творожных сгустков, выработанных с использованием транsgлютаминазы и без ее использования

Показатели	№1 (контрольный образец)	Экспериментальный образец творога	
		№2 (внесение транsgлютаминазы до пастеризации сырья)	№3 (внесение транsgлютаминазы после пастеризации сырья)
Титруемая кислотность творожного сгустка в конце сквашивания, °Т	79±2	66±1	75±3

Источник данных: собственная разработка.

Как следует из представленных в таблице 1 данных, творожные сгустки, при производстве которых транsgлютаминаза вносилась и до, и после пастеризации сырья, имели более низкое значение титруемой кислотности, по сравнению с контрольным образцом, при производстве которого транsgлютаминаза не использовалась. Все творожные сгустки имели одинаково плотную однородную консистенцию, и хорошие органолептические характеристики. Реологические показатели творожных сгустков представлены на рисунке 1.

Как видно из представленных данных, наибольшее значение эффективной вязкости имели творожные сгустки, для получения которых транsgлютаминаза вносилась в молоко после его пастеризации одновременно с закваской.

Физико-химические, микробиологические показатели и органолептические характеристики готового творога и молочных продуктов, выработанных по технологии творога с использованием транsgлютаминазы, а также сыворотки творожной на примере одной из выработок представлены в таблице 2.

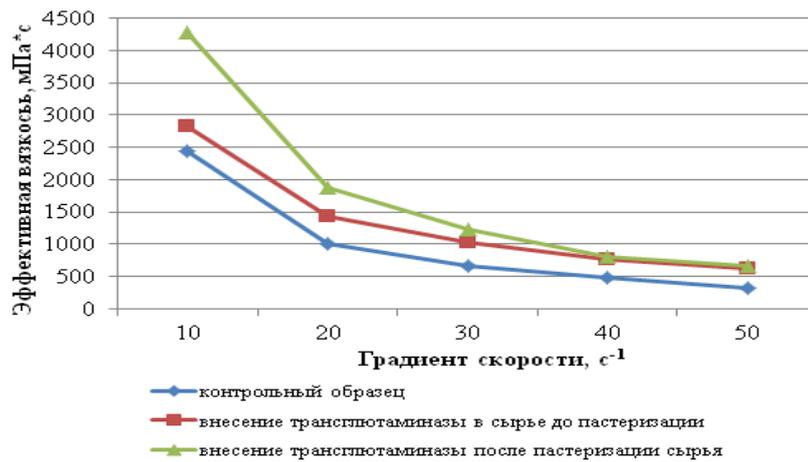


Рисунок 1 – Реограмма творожных сгустков, выработанных с использованием трансглутаминазы и без ее использования
Источник данных: собственная разработка.

Таблица 2 – Показатели творога и молочных продуктов, выработанных по технологии творога с использованием трансглутаминазы, и сыворотки творожной

Показатели	№1 (контрольный образец)	Экспериментальный образец творожного продукта	
		№2 (внесение трансглутаминазы до пастеризации)	№3 (внесение трансглутаминазы после пастеризации)
Физико-химические показатели творога и творожных продуктов			
Выход продукта			
г	204,4	201,1	220,9
%	22,7	22,3	24,5
Степень использования сухих веществ, %	54,9	53,7	58,8
Массовая доля влаги, %	69,3	69,5	69,6
Массовая доля белка, %	14,0	12,4	15,1
Массовая доля, %:			
казеина	13,62	11,34	14,08
сывороточных белков	0,16	0,62	0,88
Титруемая кислотность, °Т			
– 1 сутки хранения	144	141	140
– 7 суток хранения	160	152	150
Микробиологические показатели			
Количество молочнокислых микроорганизмов по окончании процесса изготовления, КОЕ/г	1,6·10 ⁹	2,4·10 ⁸	9,1·10 ⁸
Показатели творожной сыворотки			
Массовая доля сухих веществ, %	6,8	6,7	6,7
Плотность, кг/м ³	1024	1023	1023
Кислотность титруемая, °Т	63	65	65
активная, ед.рН	4,58	4,54	4,55
Органолептические характеристики творога и творожных продуктов			
Консистенция	Мягкая, мажущаяся		
Вкус и запах	Чистый, без посторонних привкусов и запахов		
Цвет	Белый, однородный		

Источник данных: собственная разработка.

Анализ данных, представленных в таблице 2, показывает, что при внесении трансглутаминазы в пастеризованное сырье выход творожного продукта повышается на 7,9% по сравнению с контрольным образцом за счет повышения содержания белка в продукте. Также при данном способе внесения трансглутаминазы повышается степень использования сухих веществ на 7,1% по сравнению с контрольным образцом.

Внесение трансглутаминазы в сырье перед пастеризацией с дальнейшей выдержкой, тепловой обработкой при производстве творожных продуктов, приводит к потерям белка и, соответственно, к снижению выхода продукта на 1,8% и степени использования сухих веществ сырья на 2,2% по сравнению с контрольным образцом.

Титруемая кислотность контрольного образца творога за 7 суток увеличилась на 16°Т, а в образцах с трансглутаминазой на 11°Т (образец №2) и 10°Т (образец №3).

Анализ микробиологических показателей творога и творожных продуктов показывает, что образцы творожных продуктов, выработанных с использованием трансглутаминазы, имеют более низкое содержание молочнокислых микроорганизмов ($2,4 \cdot 10^8$ КОЕ/г и $9,1 \cdot 10^8$ КОЕ/г) по сравнению с контрольным образцом ($1,6 \cdot 10^9$ КОЕ/г).

Титруемая кислотность йогуртных сгустков в процессе сквашивания на примере одной из выработок представлена в таблице 3.

Таблица 3 – Титруемая кислотность йогуртных сгустков в процессе сквашивания

Наименование образца	Продолжительность сквашивания, ч			
	0	3	4	4,5
№1 (контрольный образец)	16	39	68*	-
№2 (внесение трансглутаминазы до пастеризации)	16	27	58	65*
№3 (внесение трансглутаминазы после пастеризации)	16	34	60	66*
* начало охлаждения остановлено				

Источник данных: собственная разработка.

Как видно из данных, представленных в таблице 3, использование трансглутаминазы при производстве йогуртных продуктов замедляет процесс кислотообразования, удлиняя время сквашивания на 0,5 часа.

Реологические показатели йогуртов и йогуртных продуктов, выработанных с использованием трансглутаминазы, представлены на рисунке 2.

Анализ полученных данных показывает, что йогуртные продукты, при производстве которых использовалась трансглутаминаза, имели более высокую вязкость по сравнению с контрольным образцом йогурта. Наибольшее значение эффективной вязкости было у образца №3, при производстве которого трансглутаминаза вносилась после пастеризации.

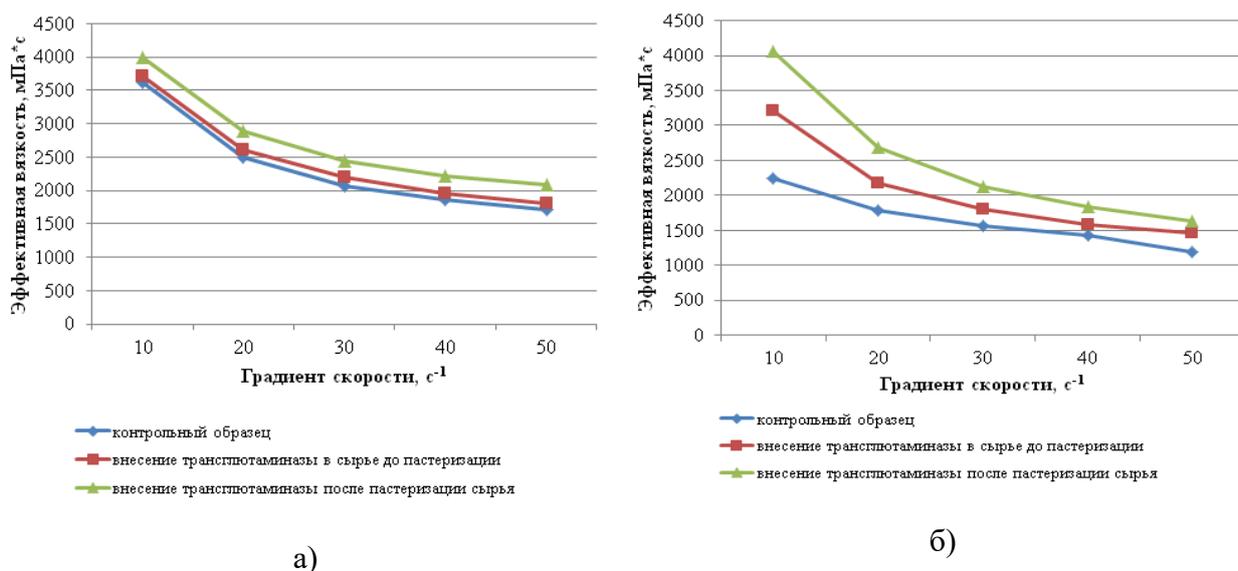


Рисунок 2 – Реограмма йогуртов и йогуртных продуктов, выработанных с использованием трансглутаминазы и без ее использования:

а) через 1 сутки хранения; б) через 7 суток хранения

Источник данных: собственная разработка.

Физико-химические, микробиологические показатели и органолептические характеристики йогурта и молочных продуктов, выработанных по технологии йогурта с использованием трансглутаминазы, представлены в таблице 4.

Таблица 4 – Показатели йогурта и молочных продуктов, выработанных по технологии йогуртов с использованием трансглутаминазы

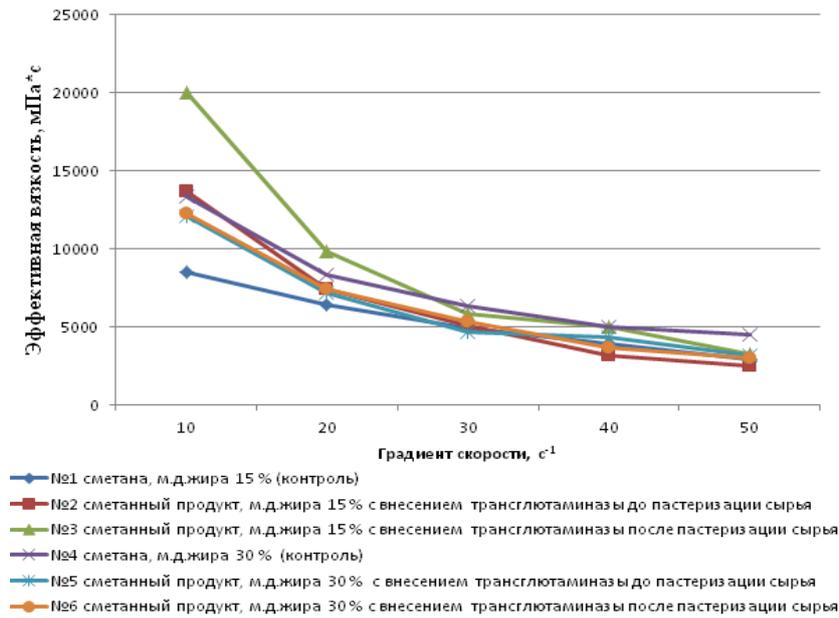
Показатели	№1 (контрольный образец)	Экспериментальный образец йогурта	
		№2	№3
Физико-химические показатели			
Титруемая кислотность, °Т:			
– на первые сутки хранения	90	84	86
– на третьи сутки хранения	95	90	90
– на седьмые сутки хранения	105	92	96
– на десятые сутки хранения	115	98	102
Микробиологические показатели			
Количество, КОЕ/г			
– болгарской палочки	$1,2 \cdot 10^5$	$1,0 \cdot 10^5$	$8,5 \cdot 10^4$
– термофильного стрептококка	$6,6 \cdot 10^8$	$5,3 \cdot 10^8$	$5,6 \cdot 10^8$
Органолептические характеристики йогурта и йогуртных продуктов			
Консистенция	Однородная		
Вкус и запах	Чистый, без посторонних привкусов и запахов		
Цвет	Белый, однородный		

Источник данных: собственная разработка.

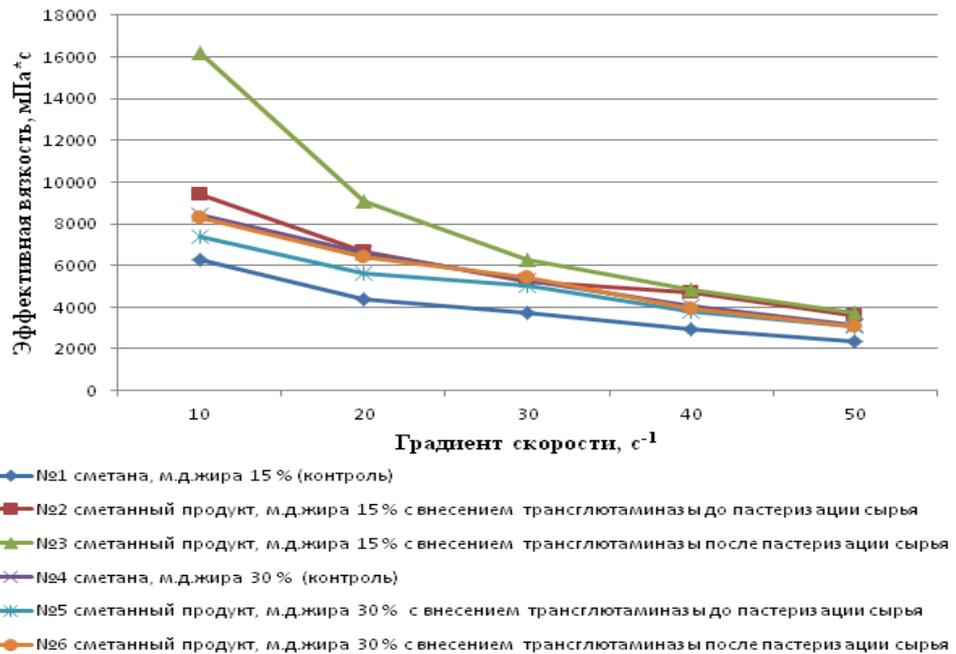
Анализ полученных данных показывает, что в йогуртных продуктах, выработанных с использованием трансглутаминазы, титруемая кислотность за 7 суток хранения увеличилась на 8–10°Т, в контрольном образце без трансглутаминазы – на 15°Т.

Для изучения влияния трансглутаминазы на технологический процесс производства сметанных продуктов были проведены выработки сметаны и молочных продуктов по технологии сметаны с использованием трансглутаминазы.

Реологические показатели сметаны и молочных продуктов, выработанных по технологии сметаны, до перемешивания представлены на рисунке 3.



а)



б)

Рисунок 3 – Реограмма сметаны и сметанных продуктов, выработанных с использованием трансглутаминазы, без нарушения сгустка:

а) 1 сутки хранения; б) 7 суток хранения

Источник данных: собственная разработка.

Анализ полученных данных показывает, что при использовании трансглутаминазы для производства молочного продукта по технологии сметаны путем внесения в сливки после пастеризации, вязкость сметанного продукта с массовой долей жира 15%, была выше вязкости сметанного продукта с массовой долей жира 30%.

Физико-химические, микробиологические показатели и органолептические характеристики сметаны и сметанных продуктов, выработанных с использованием трансглутаминазы, на примере одной из выработок представлены в таблице 5.

Таблица 5 – Показатели сметаны и молочных продуктов, выработанных по технологии сметаны с использованием трансглутаминазы

Показатели	Наименование образца					
	сметана, м.д. жира 15%	сметанный продукт, м.д.жира 15% с внесением трансглутаминазы		сметана, м.д. жира 30%	сметанный продукт, м.д.жира 30% с внесением трансглутаминазы	
	конт- роль, №1	до пасте- ризации сырья, №2	после пасте- ризации сырья, №3	конт- роль, №4	до пастери- зации сырья, №5	после пастери- зации сырья, №6
Физико-химические показатели						
Титруемая кислотность, °Т:						
– после созревания	78	76	78	86	80	82
– на второй день хранения	84	80	80	90	84	86
– на четвертый день хранения	90	82	82	96	89	92
– на седьмой день хранения	96	84	88	106	92	94
Микробиологические показатели						
Количество молочнокислых микроорганизмов, КОЕ/г, в том числе количество ароматобразующих микроорганизмов, КОЕ/г	1,2·10 ⁹	9,0·10 ⁸	1,3·10 ⁹	1,2·10 ⁹	9,9·10 ⁸	1,1·10 ⁹
	2,8·10 ⁸	2,3·10 ⁸	3,0·10 ⁸	3,0·10 ⁸	2,5·10 ⁸	2,6·10 ⁸
Органолептические показатели сметаны и сметанных продуктов						
Консистенция	Однородная					
Вкус и запах	Чистый, без посторонних привкусов и запахов					
Цвет	Белый, однородный					

Источник данных: собственная разработка.

Как видно из представленных данных, в сметанном продукте с трансглутаминазой независимо от способа ее внесения кислотность за 7 суток хранения увеличивалась на 8–12°Т, а в сметане на 18–20°Т.

Закключение. На основании проведенных исследований установлено, что при производстве молочных продуктов внесение трансглутаминазы удлиняет процесс образования сгустка и замедляет нарастание кислотности. Определено, что молочные продукты, выработанные с использованием трансглутаминазы, имели более высокую вязкость по сравнению с молочными продуктами, выработанными без использования трансглутаминазы. Кроме того в молочных продуктах с трансглутаминазой наблюдается меньшее нарастание титруемой кислотности при хранении.

Следовательно, в случае получения законодательного разрешения, трансглутаминаза может использоваться для улучшения физических свойств продуктов (текстуры, прочности, вязкости). Применение трансглутаминазы повышает влагоудерживающую способность и выход продуктов, повышается вязкость продукта и снижается синерезис, что также может позволить увеличить срок хранения продукта.

Список использованных источников

1. Шлейкин, А.Г. Эволюционно-биологические особенности трансглутаминазы. Структура, физиологические функции, применение / А.Г. Шлейкин, Н.П. Данилов // Журнал эволюционной биохимии и физиологии. – 2011. – т.47, – №1. – С. 3–14.
2. Яшкин, А.И. Использование фермента трансглутаминазы в молочной промышленности / А.И. Яшкин // Сборник научных трудов. — Гос. науч. учреждение Сиб. науч.-исслед. ин-т сыроделия Сиб. отд-ния Рос. акад. с.-х. наук; гл. ред. А.А. Майоров. – 2014. – С. 30–36.
3. Влияние микробной трансглутаминазы на процессы модификации молочных белков при производстве йогурта / З. С. Зобкова [и др.] // Молочная промышленность. – 2014. – № 5. – С. 57–59.
4. Шлейкин, А.Г. Применение трансглутаминазы в производстве пищевых продуктов / А.Г. Шлейкин, Н.П. Данилов, А.Е. Аргымбаева // Низкотемпературные и пищевые технологии в XXI веке. – С. 358–361.
5. Меркулова, Н. Г. Производственный контроль в молочной промышленности : практ. рук. / Н. Г. Меркулова, М. Ю. Меркулов, И. Ю. Меркулов. – СПб.: Профессия, 2010. – 653 с.
1. Shlejkin, A.G. Jevoljucionno-biologicheskie osobennosti transgljutaminazy. Struktura, fiziologicheskie funkcii, primenenie [Evolutionary and biological features of a transglyutaminaza. Structure, physiological functions, application] / A.G. Shlejkin, N.P. Danilov // Zhurnal jevoljucionnoj biohimii i fiziologii. – 2011. – t.47, – №1. – S. 3–14.
2. Jashkin, A.I. Ispol'zovanie fermenta transgljutaminazy v molochnoj promyshlennosti [Use of transglutaminase enzyme in dairy industry] / A.I. Jashkin // Sbornik nauchnyh trudov. — Gos. nauch. uchrezhdenie Sib. nauch.-issled. in-t syrodेलija Sib. otd-nija Ros. akad. s.-h. nauk; gl. red. A.A. Majorov. – 2014. – S. 30–36.
3. Vlijanie mikrobnnoj transglutaminazy na processy modifikacii molochnyh belkov pri proizvodstve jogurta [Effect of microbial transglutaminase on milk protein modification processes in yogurt production] / Z. S. Zobkova [i dr.] // Molochnaja promyshlennost'. – 2014. – № 5. – S. 57–59.
4. Shlejkin, A.G. Primenenie transglutaminazy v proizvodstve pishhevyh produktov [Use of transglutaminase in food production] / A.G. Shlejkin, N.P. Danilov, A.E. Argymbaeva // Nizkotemperaturnye i pishhevye tehnologii v XXI veke. – S. 358–361.
5. Merkulova, N. G. Proizvodstvennyj kontrol' v molochnoj promyshlennosti [Manufacturing control in the dairy industry] : prakt. ruk. / N. G. Merkulova, M. Ju. Merkulov, I. Ju. Merkulov. – SPb.: Professija, 2010. – 653 s.