

Л.Л. Богданова, к.т.н.

Институт мясо-молочной промышленности, Минск, Республика Беларусь

ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ ЛИЗОЦИМА НА ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ СЫРОВ

L. Bahdanava

Institute for Meat and Dairy Industry, Minsk, Republic of Belarus

STUDY OF THE INFLUENCE OF LYSOZYME ON THE MAIN INDICATORS OF CHEESES. 1. PHYSICOCHEMICAL INDICATORS

e-mail: bogdanova_ll@tut.by

В статье представлены результаты исследований по изучению влияния лизоцима на основные физико-химические показатели сыров. Определено, что наличие маслянокислых бактерий в сырах изменяет жирнокислотный состав молочного жира в сторону увеличения содержания масляной и стеариновой жирных кислот и уменьшения содержания пальмитиновой кислоты.

This article presents the results of a study examining the effect of lysozyme on the key physicochemical properties of cheeses. It was determined that the presence of butyric acid bacteria in cheeses alters the fatty acid composition of milk fat, increasing the content of butyric and stearic fatty acids and decreasing the content of palmitic acid.

Ключевые слова: ферментный препарат, лизоцим, мезофильные анаэробные лактатсбраживающие бактерии

Keywords: enzyme, lysozyme, mesophilic anaerobic lactate-fermenting bacteria

Введение. Совершенствование способов использования антимикробных препаратов для защиты от развития нежелательной микрофлоры в сырах является одной из главных задач, стоящих перед отечественным сыроделием, и имеет большое значение для обеспечения качества и безопасности вырабатываемых сыров, а также рентабельности сыродельных предприятий.

Для подавления роста технически вредной микрофлоры (в частности, маслянокислых бактерий) в сыроделии практически на всех молокоперерабатывающих предприятиях республики используют лизоцим. Согласно имеющимся публикациям, ключевыми преимуществами использования лизоцима является природное происхождение (яичный белок), он может способствовать пролонгированию сроков годности, не оказывает критичного влияния на заквасочную микрофлору. Недостатки: неэффективность против дрожжей и плесени. В настоящее время в пищевой промышленности разрешено использование лизоцима, полученного из яичного белка, однако анализ зарубежного рынка показал, что лизоцим микробного происхождения набирает большую популярность. Микробиологический лизоцим – фермент, продуцируемый пищевыми культурами, в основном используемый для лизиса грамположительных бактерий.

Эффективность применения лизоцима в сыроделии зависит от исходной контаминации молока-сырья и активности применяемых препаратов. Самая высокая опасность контаминации сырья маслянокислыми бактериями приходится на период кормления животных силосом, так как в случаях нарушения технологии силосования

имеется большая вероятность развития в таком сырье указанных микроорганизмов и, как следствие, контаминации молока-сырья. Следует учитывать, что как маслянокислые бактерии, так и заквасочные микроорганизмы могут иметь разную устойчивость к лизоциму и в больших количествах лизоцим может оказывать ингибирующее действие на рост и активность заквасочных культур. Поэтому данные о дозах лизоцима, которые можно использовать в сыроделии без потери активности закваски, существенно разнятся [1–6]. Исследований по оценке эффективности использования лизоцима микробного происхождения в сыроделии ранее не проводилось. В связи с изложенным, актуальным этапом исследований является формирование экспертной позиции по влиянию лизоцима микробного происхождения на заквасочную микрофлору сыра в процессе его изготовления, а также на органолептические, физико-химические и микробиологические показатели готовой продукции.

Цель исследований – изучение влияния лизоцима микробного происхождения на основные физико-химические показатели сыров.

Материалы и методы исследований. Проведение экспериментальных выработок осуществлялось в лаборатории технологий сыроделия и маслоделия РУП «Институт мясо-молочной промышленности». Для проведения экспериментальных выработок использовали закваску для производства сыра «Сыр-1» (изготовитель – РУП «Институт мясо-молочной промышленности»), жидкий сычужный фермент Agroren 225, препарат микробного лизоцима Lysoch®G4 (сухая форма, активность 35 000 ед. акт/мг, заявленная активность – 35 000 ед. акт/мл (FIP)) (Handary, Бельгия) и лизоцима животного происхождения DELWOZYME L (активность 9 804 000 ед. акт/мл (FIP), заявленная активность – 9 000 000 ед. акт/мл (FIP)). Методы исследований:

1. Отбор проб молока и молочных продуктов, подготовку их к анализам проводили в соответствии с ГОСТ 26809. В исходном молоке контролировали: плотность по ГОСТ 3625, п.2; активную кислотность pH по ГОСТ 26781.

2. Наиболее вероятное число споровых и вегетативных форм мезофильных анаэробных лактатсбраживающих бактерий определяли по ГОСТ 32012.

3. Жирнокислотный состав определяли по ГОСТ 32915; ГОСТ 31663.

Средства измерений, вспомогательные оборудование: сыроизготовитель «Casaro» (Ярославль, Россия), электроплита ЭПЧ 2,2, шкаф сушильный HS 61 A, магнитная мешалка MM2A, pH –метр HI 8314, ультратермостат U2, весы ВСЛ-400/1, хладотермостат воздушный ХТ-3/40, холодильник ШВУ-0,4-1,3-20, весы EW 6200, печь муфельная SNOL 7,2/1100, прибор для определения влажности Testo 625, центрифуга MPW-210, комплекс аппаратно-программный для медицинских исследований на базе хроматографа «Хроматэк-Кристалл 5000» (исполнение 2).

Результаты и их обсуждение. В ходе работы проведены четыре серии лабораторных выработок сыров с использованием различных дозировок сухой формы микробного лизоцима и различных дозировок и различных форм (и жидкой, и сухой) животного лизоцима, а также вариантов без его использования.

В ходе выработок получены следующие образцы сыра:

1–1. Сыр полутвердый (с внесением жидкого животного лизоцима, дозировка 0,02 см³/дм³ молочной смеси; проведение искусственной контаминации молочной смеси *Clostridium* до стадии термообработки). Опытный образец.

2–1. Сыр полутвердый (с внесением сухого микробного лизоцима, 1,00 мг/кг молочной смеси; проведение искусственной контаминации молочной смеси *Clostridium* до стадии термообработки). Опытный образец.

3–1. Сыр полутвердый без внесения лизоцима. Контроль.

1–2. Сыр полутвердый (с внесением жидкого животного лизоцима, 0,135 см³/дм³ молочной смеси; проведение искусственной контаминации молочной смеси *Clostridium* после стадии термообработки). Опытный образец.

2–2. Сыр полутвердый (с внесением сухого микробного лизоцима, 27,50 мг/кг молочной смеси; проведение искусственной контаминации молочной смеси *Clostridium* после стадии термообработки). Опытный образец.

3–2. Сыр полутвердый без внесения лизоцима. Контроль.

1–3. Сыр полутвердый (с внесением сухого животного лизоцима, 22,80 мг/кг молочной смеси; проведение искусственной контаминации молочной смеси *Clostridium* после стадии термообработки). Опытный образец.

2–3. Сыр полутвердый (с внесением сухого микробного лизоцима, 27,50 мг/кг молочной смеси; проведение искусственной контаминации молочной смеси *Clostridium* после стадии термообработки). Опытный образец.

3–3. Сыр полутвердый без внесения лизоцима. Контроль.

1–4. Сыр полутвердый (с внесением сухого животного лизоцима, 11,40 мг/кг молочной смеси). Опытный образец.

2–4. Сыр полутвердый (с внесением сухого микробного лизоцима, 13,75 мг/кг молочной смеси). Опытный образец.

3–4. Сыр полутвердый без внесения лизоцима. Контроль.

Параметры и условия выработок приведены в таблице 1.

Таблица 1 – Технологические параметры экспериментальных выработок сыров

Физико-химические характеристики		Молоко-сырье
М. д. жира, %		2,4–2,8
рН		6,61–6,56
Контаминация бактериями рода <i>Clostridium</i> : серия выработок 1 – до пастеризации; серии выработок 2, 3 – после пастеризации; серия выработок 4 – не проводилась		
Операция	Параметр	Значение
1	2	3
Пастеризация	Температура, °С	73±1
Охлаждение	Температура, °С	32±1
Кальций хлористый	Количество, см ³ /дм ³	0,625
Внесение закваски	Наименование	«Сыр–1»
Внесение закваски	Время активизации, мин	25–40
	Начальный рН, ед. рН	6,52–6,56
	Конечный рН, ед. рН	6,49–6,50
	ΔрН, ед. рН	0,03–0,07
Фермент (Лизоцим) микробного происхождения	Наименование	DELWOZYMEL (животный)/ Lysoch®G4 (микробный)
	Количество фермента/ количество молока	варьировало
Молокосвертывающий фермент	Наименование	Agroren 225
	Количество, см ³ /дм ³ молока	0,1
Свертывание	Время, мин	31–47
Удаление сыворотки	Количество, %	35
Добавление пастеризованной воды	Количество, %	10
Второе нагревание	Температура, °С	37±1
Обсушка зерна		
Формование		
Самопрессование: 1–1,5 ч		
Прессование: 2–2,5 ч; ступенчатое повышение давления		

Продолжение таблицы 1

1	2	3
Посолка	Рассол	20% NaCl
	Продолжительность, ч	в зависимости от массы
	Температура, °С	11±1
рН после посолки, ед.рН	жив. лизоцим	5,33–5,36
	микр. лизоцим	5,56–5,60
	контроль	5,45–5,54
Созревание	Температура, °С	11±1

Источник данных: собственная разработка.

В ходе изучения установлено, что лизоцим микробного происхождения на стадии образования сгустка, посолки и обсушки не влияет на физико-химические показатели: продолжительность свертывания, изменение активной кислотности, время обработки сырного зерна на всех этапах выработки было сопоставимо с контрольными вариантами. рН сыров с микробным лизоцимом сразу после посолки был незначительно (на 0,02–0,15 ед.рН) выше, чем контрольных вариантов.

В таблице 2 представлено наиболее вероятное число (НВЧ) маслянокислых бактерий, определяемых в молоке-сырье способом прямого посева.

Таблица 2 – Исследование наиболее вероятного числа (НВЧ) мезофильных лактатсбраживающих бактерий для молока-сырья

Параметры	Значение для серии выработок			
	№ 1	№ 2	№ 3	№ 4
Вегетативные мезофильные анаэробные лактатсбраживающие бактерии, НВЧ/г	2,5	700,0	13,0	110,0
Споровые мезофильные анаэробные лактатсбраживающие бактерии, НВЧ/г	1,3	2,5	2,5	6,0

Источник данных: собственная разработка.

Согласно полученным результатам, количество вегетативных форм мезофильных анаэробных лактатсбраживающих бактерий в молоке-сырье варьировало в широком диапазоне: от 2,5 до 700 НВЧ/см³, в то время как количество споровых форм указанных микроорганизмов способом прямого посева практически не определялось (не более 6,0 НВЧ/см³), что ставит под сомнение 100 %-ную эффективность входного контроля молока-сырья по данному показателю.

В процессе созревания проводилось исследование активной кислотности, степени зрелости сыров.

Физико-химические показатели сыров в ходе созревания представлены в таблице 3.

Таблица 3 – Физико-химические показатели сыров в процессе созревания

Параметры		Значение для серии выработок						
		№ 1	№ 2	№ 3	№ 4			
		Срок созревания, сутки						
		32	30	37				
Активная кислотность, ед. рН	жив. лизоцим	5,16	5,13	4,90				
	микр. лизоцим	5,02	4,87	4,75				
	контроль	5,03	5,05	4,88				
Зрелость по Шиловичу, °Ш	жив. лизоцим	25	35-40	30				
	микр. лизоцим	30	40	30-35				
	контроль	30	35-40	35-40				
Массовая доля влаги, %	жив. лизоцим	44,5–47,2						
	микр. лизоцим	45,6–48,1						
	контроль	45,8–47,0						
Параметры		Срок созревания, сутки						
		47	42	45	41			
Активная кислотность, ед. рН	жив. лизоцим	5,21	5,04	5,00	5,06			
	микр. лизоцим	4,99	4,86	4,79	4,98			
	контроль	5,07	5,02	5,16	5,05			
Зрелость по Шиловичу, °Ш	жив. лизоцим	45	55	45-50	55			
	микр. лизоцим	50	40	55	52			
	контроль	45	40	50	50			
Параметры		Значение для серии выработок						
		№ 1	№ 2		№ 3	№ 4		
		Срок созревания, сутки						
		61	70	61	98	70	91	112
Активная кислотность, ед. рН	жив. лизоцим	5,15	5,04	5,14	5,43	5,04	5,34	5,41
	микр. лизоцим	4,87	4,88	4,87	5,12	4,82	5,25	5,36
	контроль	5,28	5,00	5,10	5,29	5,21	5,24	5,30
Зрелость по Шиловичу, °Ш	жив. лизоцим	60	70	60–65	73	70	72	85
	микр. лизоцим	55	60	60	65–70	68	70	80
	контроль	60	60	55–60	60	55	60	64

Источник данных: собственная разработка.

Исходя из результатов таблицы 3, после 30–32 суток созревания физико-химические показатели сыров не имели существенных различий: степень зрелости по Шиловичу незначительно (на 5°Ш) ниже, а активная кислотность, соответственно, на 0,02–0,13 ед. рН выше в экспериментальных образцах с животным лизоцимом. Это может объясняться тем, что в случае использования лизоцима животного происхождения при изготовлении сыров в рекомендуемых изготовителями указанного ферментного препарата дозировках на начальных этапах созревания сыра происходит незначительное ингибирование развития заквасочной микрофлоры. После 41–47 суток созревания отмеченные на предыдущем этапе различия в степени зрелости и показателем активной кислотности полностью нивелированы, что свидетельствует о нормальном протекании процесса созревания во всех исследованных образцах. При более длительном созревании (более 61 суток) активная кислотность всех образцов сыра увеличилась, что свидетельствует о протекании процессов протеолиза, приводящих к образованию аминокислот, пептидов и аминов, которые могут повышать рН. Однако степень зрелости по Шиловичу экспериментальных сыров серий выработок №№ 2, 3 и 4 увеличилась существенно больше, чем контрольного варианта и достигла значений 65–85 °Ш, что свидетельствует о нормальном протекании процесса созревания. В контрольных вариантах наблюдается снижение интенсивности процессов протеолиза, выражаемое параллельным снижением изменения показателя степени зрелости, который для всех перечисленных выработок даже после созревания в течение 112 суток не превышает 64 °Ш. Наиболее вероятной

причиной указанных изменений служит то, что начальная контаминация молока-сырья мезофильными анаэробными лактатсбраживающими бактериями для указанных выработок была выше, чем контаминация сырья серии выработок №1 и, следовательно, в контрольных образцах сыров указанных выработок протекало более интенсивное развитие маслянокислых бактерий.

На следующем этапе работы с целью повышения достоверности интерпретации результатов исследований проведен сравнительный анализ влияния лизоцима микробного и животного происхождения на жирнокислотный состав молочного жира сыров образцов №№ 1–4, 2–4 и 3–4 после 112 суток созревания. Результаты представлены в таблице 4.

Таблица 4 – Жирнокислотный состав молочного жира образцов сыра

Наименование показателя	Номер образца		
	№ 1–4	№ 2–4	№ 3–4
	Фактическое значение, % от \sum жирных кислот		
масляная	2,06	2,24	2,69
капроновая	1,89	2,22	2,50
каприловая	1,38	1,30	1,50
декановая	3,63	3,37	3,69
ундекановая	0,13	0,12	0,10
лауриновая	4,15	4,12	4,23
тридекановая	0,19	0,18	0,14
миристиновая	11,85	12,01	11,55
миристолеиновая	1,22	1,24	0,98
пентадекановая	1,59	1,55	1,30
пальмитиновая	30,99	32,29	28,91
пальмитолеиновая	1,98	2,00	1,52
маргариновая	0,72	0,70	0,65
стеариновая	9,54	9,15	12,56
элаидиновая	0,35	0,36	0,55
олеиновая	23,88	22,89	23,46
линолелаидовая	0,11	0,12	0,15
линолевая	2,88	2,85	2,10
гамма-линоленовая	0,03	0,03	0,03
альфа-линоленовая	0,40	0,43	0,45
арахиновая	0,15	0,15	0,20
гондоиновая	0,09	0,09	0,08
Цис-11,14 эйкозациеновая	0,04	0,03	0,06
генэйкозановая	0,06	0,06	0,03
Цис-8,11,14-эйкозатриеновая	0,13	0,13	0,10
C20:4+C20:3	0,21	0,21	0,18
бегеновая	0,06	0,06	0,08
эруковая	0,15	0,06	0,06
тимнодоновая	0,04	0,04	0,04
C22:2+C23:0	0,03	0,03	0,04
лигноцериновая	0,06	0,07	0,08

Источник данных: собственная разработка.

Из результатов, приведенных в таблице 4, следует, что наличие маслянокислых бактерий в сырах контрольной варки в количестве 1100 НВЧ/г (в сырах с микробным лизоцимом 25 НВЧ/г, в сырах с животным лизоцимом маслянокислые бактерии способом прямого посева не определялись) существенно изменяет жирнокислотный состав молочного жира в сторону увеличения а) содержания масляной кислоты в сравнении с сырами, при изготовлении которых применяли лизоцим животного и микробного происхождения, на 30,6 % и 20,1 % соответственно и б) стеариновой кислоты – на 31,7 % и 37,3 % соответственно. Одновременно происходит не такое существенное, но стабильное в отношении обоих экспериментальных вариантов сыров, уменьшение содержания пальмитиновой кислоты – на 6,7 % и 10,5 % в сравнении с сырами с лизоцимом животного и микробного происхождения соответственно. Следовательно, при оценке степени контаминации сыра маслянокислыми бактериями, когда имеются сомнения в результатах прямого посева, целесообразен дополнительный контроль жирнокислотного состава молочного жира.

Выводы. Таким образом, в ходе исследований показано, что при использовании лизоцима процесс нарастания активной кислотности молочной смеси и сыворотки от стадии внесения закваски до обсушки протекает так же, как и процесс без внесения лизоцима. В продолжительности свертывания, синерезисе сгустка, времени обсушки сырного зерна также отличий не выявлено.

В случае наличия маслянокислых бактерий в молочном сырье в количестве, равном либо превышающем 700 НВЧ/см³ препараты лизоцима животного и микробного происхождения при изготовлении сыров в рекомендуемых изготовителями указанного ферментного препарата дозировках не являются достаточно эффективными средствами от возникновения в сырах порока «позднего вспучивания». Использование более высоких дозировок не рекомендуется вследствие возможного ингибирования заквасочной микрофлоры.

Наличие маслянокислых бактерий в сырах меняет жирнокислотный состав молочного жира в сторону увеличения содержания масляной и стеариновой жирных кислот и уменьшения содержания пальмитиновой кислоты.

Список использованных источников

1. Zhu, Y. Butyric acid production from acid hydrolysate of corn fibre by *Clostridium tyrobutyricum* in a fibrous-bed bioreactor / Y. Zhu, Z. Wu, S.-T. Yang // *Process Biochemistry*. – 2018. – № 38. – P. 657–666
2. Червоткина, Д. Р. Антимикробные препараты природного происхождения: обзор свойств и перспективы применения / Д. Р. Червоткина, А. В. Борисова // *Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология*. – 2022. – Т. 12, № 2. – С. 254–267.
2. Chervotkina, D. R. Antimikrobnye preparaty prirodnogo proishozhdeniya: obzor svoystv i perspektivy primeneniya [Antimicrobial drugs of natural origin: review of properties and application prospects] // *Izvestiya vuzov. Prikladnaya himiya i biotekhnologiya*. – 2022. – Т. 12, № 2. – S. 254–267.
3. *Enzymes in Food Technology* / M. van Oort, X. Liu, T. Dodge [et al.]. – 2nd ed. – Hoboken : Wiley-Blackwell, 2010. – 416 p.
4. Karaman, A. D. Effect of different lysozyme treatments on the properties of Kashar cheese properties / A. D. Karaman, F. Yıldız-Akgül, N. Günay, H. N. Akgül // *Grasas y Aceites*. – 2024. – Vol. 75, № 1. – URL: <https://doi.org/10.3989/gya.1109222> (date of access: 13.12.2024).

5. Уайтхерст, Р. Дж. Ферменты в пищевой промышленности / Р. Дж. Уайтхерст, М. ван. Оорст // Пер. с англ. д-ра хим. наук С. В. Макарова. – СПб : Профессия, 2013. – 408 с.

5. Uajtherst, R. Dzh. Fermenty v pishevoj promysh-lennosti [Enzymes in the Food Industry] / R. Dzh. Uajtherst, M. van. Oorst // Per. s angl. d-ra him. nauk S. V. Makarova. – SPb : Professiya, 2013. – 408 s.

6. Khorshidian, N. An overview of antimicrobial activity of lysozyme and its functionality in cheese. / N. Khorshidian, E. Khanniri, M. R. Koushki [et al.] // *Frontiers in Nutrition*. – 2022. –Vol. 9, № 3. – URL: <https://doi.org/10.3389/fnut.2022.833618> (date of access 16.12.2024).