

УДК 637.33

Т.С. Смирнова, О.В. Лепилкина, А.И. Григорьева, Г.Н. Рогов

ВНИИМС – филиал ФГБНУ «ФНЦ пищевых систем им. В.М. Горбатова» РАН, г. Углич

РЕГУЛИРОВАНИЕ ГАЗООБРАЗОВАНИЯ В ПОЛУТВЕРДЫХ СЫРАХ С ПОМОЩЬЮ ПРОТЕОЛИТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ МОЛОКОСВЕРТЫВАЮЩИХ ФЕРМЕНТОВ

*Исследование посвящено изучению влияния протеолитической активности молоко-свертывающих ферментов на развитие пропионовокислых бактерий и формирование рисунка в полутвердых сырах. Объектами исследования были полутвердые сыры, изготовленные с использованием молокосвертывающих ферментов, обладающих разной протеолитической активностью: *Chu-max Extra* и *Chu-max Supreme 100* (Chr. Hansen, Дания). Установлено, что высокая протеолитическая активность фермента наряду с усилением протеолиза способствовала ускорению роста бактерий *Propionibacterium freudenreichii*, улучшению газообразования и органолептических показателей сыра. Результаты демонстрируют возможность управления процессом созревания сыров через выбор ферментных препаратов.*

Ключевые слова: сыр, молокосвертывающие ферменты, протеолитическая активность, протеолиз, пропионовокислые бактерии, газообразование, рисунок сыра

Протеолиз – это процесс расщепления белков на пептиды и аминокислоты. В сырах это критически важно для получения правильной текстуры, вкуса и аромата. Пропионовокислые бактерии, особенно в сырах типа Маасдам или Эмменталь, играют ключевую роль в формировании характерного рисунка и вкуса. Они преобразуют лактат в пропионовую и уксусную кислоты, придающие сырам узнаваемый пряный и сладковатый вкус, а также выделяют CO_2 , который формирует крупные глазки округлой формы [1, 2]. Для своего роста и метаболизма пропионовокислые бактерии используют продукты протеолиза, образующиеся в результате протеолитического действия молокосвертывающих ферментов, ферментов молочнокислых бактерий закваски, а также ферментов самих пропионовокислых бактерий. Уровень протеолитической активности ферментных препаратов влияет на глубину протеолиза и, соответственно, на развитие пропионовокислых бактерий в сыре во время его созревания [3].

Целью работы было установление возможности регулирования процесса газообразования в сырах с низкой температурой второго нагревания, созревающих с участием пропионовокислых бактерий, путем использования молокосвертывающих ферментов с различной протеолитической активностью.

Актуальность проводимых исследований обусловлена риском получения сыров с недостаточно развитым рисунком, что связано с медленным развитием пропионовокислых бактерий и, как следствие, пониженным газообразованием.

В качестве рабочей гипотезы использовали предположение о том, что для активизации роста пропионовокислых бактерий необходимо усиление протеолиза на первой стадии созревания сыра, чтобы обеспечить пропионовокислые бактерии питательным субстратом в достаточном количестве [4].

Для решения поставленной задачи проведены сравнительные исследования процесса созревания с участием пропионовокислых бактерий *P. freudenreichii* полутвердых сыров с низкой температурой второго нагревания, изготовленных с молокосвертывающими ферментами с высокой (600 IMCU/мл) и низкой (100 IMCU/мл) протеолитической активностью.

Объектами исследования служили полутвердые сыры с массовой долей жира в сухом веществе (45 ± 1) %, изготовленные в сыродельном цехе Всероссийского научно-исследовательского института маслоделия и сыроделия. Перед внесением молокосвертывающего фермента молочную смесь делили на две равные части. В одну часть вносили молокосвертывающий ферментный препарат Chy-max Extra 600 (Chr. Hansen, Дания) с протеолитической активностью 600 IMCU/мл, в другую – ферментный препарат Chy-max Supreme 100 (Chr. Hansen, Дания) с протеолитической активностью 100 IMCU/мл.

Полученные после прессования головки сыра массой от 6,3 до 7,0 кг упаковывали в термоусадочные пакеты с газопроницаемой способностью по CO_2 $1750 \text{ см}^3/\text{м}^2/\text{сут}$ и направляли на созревание сначала в камеру с температурой (10 ± 1) °C на 10 суток, затем – в «теплую» камеру с температурой (24 ± 1) °C на 15 суток, после чего – вновь в камеру с температурой (10 ± 1) °C на 10 суток. В процессе созревания сыров через 10, 25 и 35 суток определяли массовую долю общего [5] и водорастворимого [6] белка методом Кьельдаля. По отношению массовой доли водорастворимого белка к общему белку оценивали степень протеолиза (в %). В водорастворимой фракции сыров определяли пептидные профили методом гельфильтрации высокого разрешения на приборе АКТА pure 25 (Cytiva, Швеция) с использованием хроматографической колонки Superose 6 Increase 10/300 GL с диапазоном разделяемых масс от 1 кДа до 5000 кДа. Элюент – водный раствор 0,05M Na_2HPO_4 + 0,15M NaCl, скорость подачи элюента – 0,5 мл/мин; длина волны детектора – 280 нм. Определение количества выявленных пептидов в водорастворимой фракции сыров проводили по полученным хроматограммам, измеряя площади пиков, соответствующих пептидам с разной молекулярной массой. Площади пиков выражали в условных единицах $\text{min} \cdot \text{mAu}$, представляющих собой произведение единиц времени (min, ось X) на единицы оптического поглощения (mAu, ось Y).

На рис. 1 представлены пептидные профили экспериментальных сыров в разные сроки созревания. Их сравнение показало различия, выражающиеся в высоте пиков: более высокие пики показал пептидный профиль сыра, изготовленного с ферментным препаратом Chy-max Extra 600, что свидетельствует о количественном преобладании продуктов протеолиза в этом сыре.

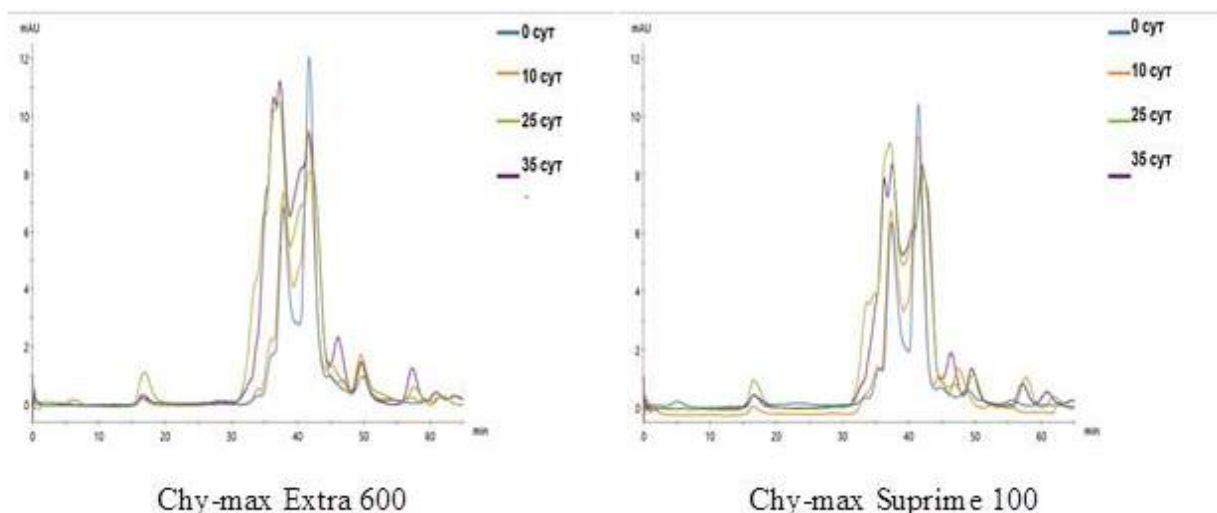


Рисунок 1. Пептидные профили исследованных сыров

Анализ количественного распределения групп пептидов с разной молекулярной массой в разные сроки созревания сыров представлен на рис. 2.

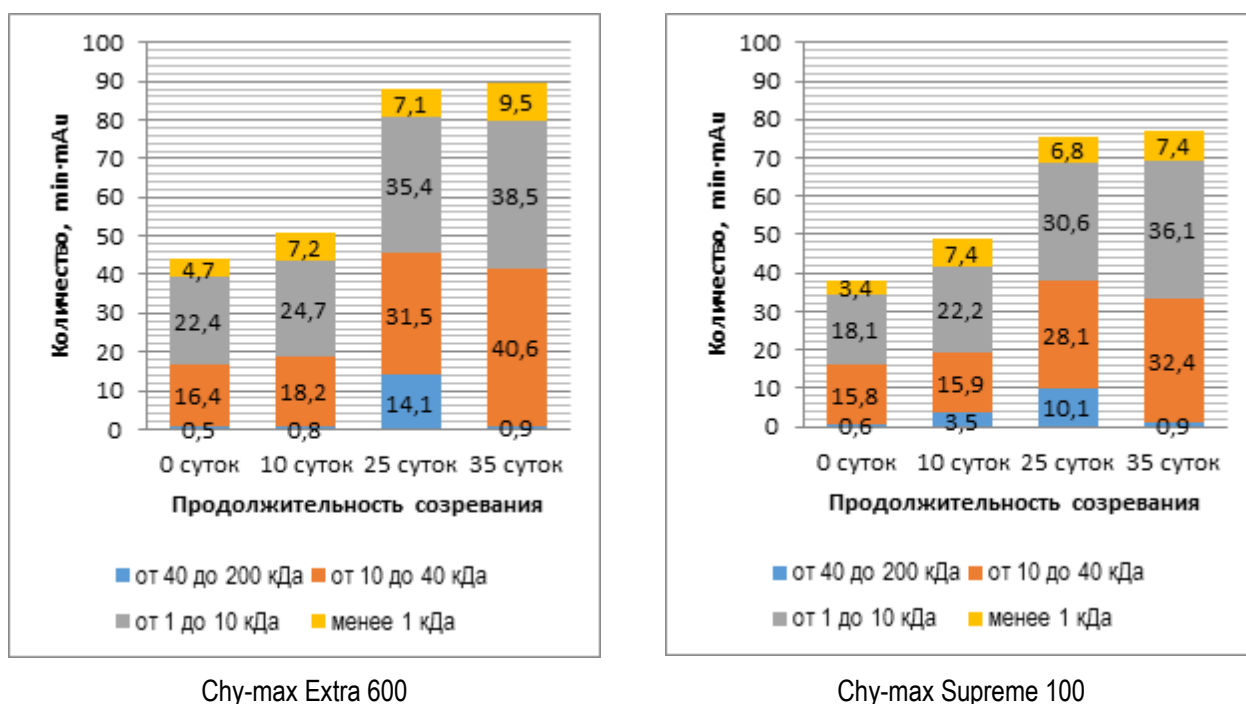
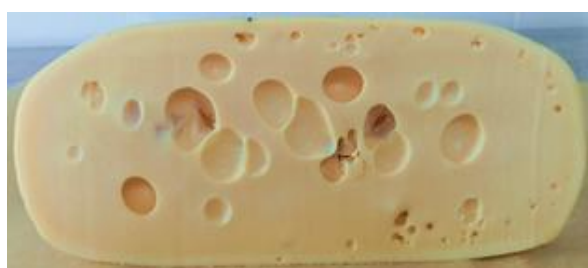


Рисунок 2. Количественное распределение продуктов протеолиза с разной молекулярной массой

Из полученных данных следует, что в процессе созревания в обоих сырах происходит увеличение количества высокомолекулярных (от 10 до 40 кДа), средне- (от 1 до 10 кДа) и низкомолекулярных (менее 1 кДа) пептидов. В начале созревания (0 суток) в составе продуктов протеолиза преобладали высокомолекулярные и среднемолекулярные пептиды, количество которых увеличивалось в процессе созревания. В сыре, изготовленном с использованием молокосвертывающего фермента Chy-max Extra 600, накопление этих фракций пептидов проходило в большей степени.

Примечательно, что на 25-е сутки созревания в обоих сырах отмечен максимум количества полипептидов с молекулярной массой от 40 до 200 кДа. К 35 суткам их количество уменьшалось из-за протеолиза. Вследствие этого пополнялась группа высокомолекулярных пептидов, которые в свою очередь «перетекали» в группу средномолекулярных. Наблюдаемый максимум высокомолекулярной фракции в 25 суток созревания, очевидно, является результатом первичного протеолиза казеиновых белков, обусловленного протеолитическим действием молокосвертывающего фермента.

На рис. 3 приведены фотографии срезов экспериментальных сыров в кондиционной степени зрелости, выработанных с ферментными препаратами, обладающими разной протеолитической активностью.



Chy-max Extra 600



Chy-max Supreme 100

Рисунок 3. Рисунок сыров, изготовленных с молокосвертывающими ферментами с высокой (Chy-max Extra 600) и низкой (Chy-max Supreme 100) протеолитической активностью

Из представленных рисунков видно, что образование газа и, соответственно, рисунка сыра проходило активнее в сыре, выработанном с ферментом Chy-max Extra 600 с высокой протеолитической активностью. Данный факт коррелирует с более высоким уровнем протеолиза в сырах, выработанных с ферментом Chy-max Extra 600, и скоростью развития пропионовокислых бактерий в этих сырах [7].

Проведенные органолептические исследования сыров в 35-суточном возрасте показали, что более высокую оценку за вкус и запах получили сыры, изготовленные с ферментным препаратом Chy-max Extra 600, обладающим более высокой протеолитической активностью (табл. 1).

Таблица 1

Органолептическая оценка сыров в возрасте 35 суток (n=3)

Молокосвертывающий ферментный препарат	Органолептическая оценка	
	Характеристика	Балл
Chy-max Extra 600	Выраженный сырный вкус и аромат, ярко выраженный пряный, сладковатый вкус. Консистенция эластичная. По всей массе сырного теста присутствуют крупные глазки, соответствующие данному виду сыра.	43,2±0,2
Chy-max Supreme 100	Выраженный сырный вкус и аромат, слабовыраженный пряный, сладковатый вкус. Консистенция эластичная. По всей массе сырного теста присутствуют средние глазки, соответствующие данному виду сыра.	41,4±0,1

По сравнению с сырами, изготовленными с молокосвертывающим ферментным препаратом Chy-max Supreme 100 с низкой протеолитической активностью, в них на фоне выраженного сырного вкуса и запаха отмечены яркие сладковато-пряные ноты и приятный запах пропионовокислого брожения. Рисунок этих сыров состоял из более крупных глазков, чем у сыра, изготовленного с Chy-max Supreme 100.

Полученные результаты подтверждают сделанное в рабочей гипотезе предположение о наличии связи между уровнем протеолиза, развитием пропионовокислых бактерий и рисунком, зависящим от их количества и газообразующей способности.

Выводы

Протеолитическая активность молокосвертывающих ферментов напрямую влияет на газообразование в сырах через обеспечение субстратом пропионовокислых бактерий.

Регулирование газообразования в полутвердых сырах с пропионовокислым брожением возможно путем использования молокосвертывающих ферментных препаратов с разной протеолитической активностью.

Использование молокосвертывающих препаратов с более высокой протеолитической активностью позволяет сократить сроки созревания и улучшить органолептические показатели сыров при условии контроля за глубиной протеолиза.

Список использованной литературы:

1. **Bücher, C.** Propionic acid bacteria in the food industry: An update on essential traits and detection methods / C. Bücher, J. Burtscher, K. J Domig // *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 2021. Vol. 20. № 5. P. 4299–4323. <https://doi:10.1111/1541-4337.12804>
2. **Орлова, Т.Н.** Пропионовокислые бактерии и их значение / Т.Н. Орлова, И.А. Функ, Е.Ф. Отт, Р.В. Дорофеев // *Сыроделие и маслоделие*. 2020. № 2. С.28–29. <https://doi:10.31515/2073-4018-2020-1-28-29>
3. **Мягконосов, Д.С.** Протеолитическая активность молокосвертывающих ферментов разного происхождения / Д.С. Мягконосов, Д.В. Абрамов, И.Н. Делицкая, Е.Г. Овчинникова // *Пищевые системы*, 2022 5(1), С. 47–54. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2022-5-1-47-54>
4. **Смирнова, Т.С.** Влияние гидролизата молока на газообразование пропионовокислых бактерий / Т.С. Смирнова, Г.Н. Рогов // *Инновационные биотехнологии природных и синтетических биологически активных веществ: Материалы IX международной научно-практической конференции*. – Ставрополь, 2024. С. 333–336. Elibrary ID: 72545697
5. ГОСТ Р 54662-2012. Сыры и сыры плавленые. Определение белка методом Кьельдаля. М.: Стандартинформ, 2012. 15 с.
6. Способ выделения водорастворимых белков из сыра: пат. 2689755 Рос. Федерация. № 20181322991 / Лепилкина О.В., Тетерева Л.И., Лепилкина О.Н., Кокарева Н.В., Вагачева Н.В.; заявл. 17.09.2018; опубл. 30.05.2019, Бюл. № 16.
7. **Лепилкина, О.В.** О протеолизе в полутвердых сырах с участием пропионовокислых бактерий / О.В. Лепилкина., Т.С. Смирнова, А.И. Григорьева, Г.Н. Рогов // *Сыроделие и маслоделие*. – 2025. №1. С. 34–42. <https://doi.org/10.21603/2073-4018-2025-1-13>