

RESEARCH OF PROTEOLYSIS IN BLUE-VEINED BRIE CHEESE

U. Orluk, M. Stepanischev
Institute of Food Resources NAAS

Key words:

Cheese with mold
Proteolysis
Total nitrogen
Soluble nitrogen
Amino acid composition

Article history:

Received 13.04.2013
Received in revised form
27.04.2013
Accepted 15.05.2013

Corresponding author:

E-mail:
npnuht@ukr.net

ABSTRACT

For an assessment of the proteolysis intensity in Blue-veined brie cheese, its indicators that characterize proteolysis were compared to indicators of Roquefort and Camembert cheeses. The ratio of soluble nitrogen to the general content was investigated by Kjeldahl method, the structure of proteinaceous fractions was investigated by an electrophoresis method and amino acid, by chromatographic method on 21st day of ripening.

ДОСЛІДЖЕННЯ ПРОТЕОЛІЗУ В СИРІ, ЩО ВИЗРІВАЄ ЗА УЧАСТІ ДВОХ ВИДІВ ПЛІСНЯВИ

Ю.Т. Орлюк, М.І. Степанищев
Інституту продовольчих ресурсів НААН

Для оцінки інтенсивності протеолізу в сирі, що визріває за участі двох видів плісняви, його показники, що характеризують протеоліз порівняли з показниками сирів Рокфор та Камембер. Відношення розчинного азоту до загального в досліджуваних зразках сиру визначали методом К'ельдаля, склад білкових фракцій — методом електрофорезу, амінокислотний склад — хроматографічним методом на 21 день визрівання.

Ключові слова: сир з пліснявою, протеоліз, загальний азот, розчинний азот, амінокислотний склад.

Останні десять років в Україні простежується збільшення споживання сирів, що визрівають за участі плісняви. Нажаль вітчизняні підприємства випускають обмежений асортимент цих сирів та не можуть повністю задовольнити попит. Виробництво сирів з плісенню має високу рентабельність в порівнянні з твердими сирами, через менші витрати сировини на виготовлення одиниці готового продукту [14]. У Західній Європі до 40 % сирів припадає на м'які сири, в тому числі сири з пліснявою [15]. Завдяки високій біологічній цінності та індивідуальним органолептичним показникам частка у загальному об'ємі таких сирів в світі зростає з кожним роком. За оцінками експертів сири з білою поверхневою пліснявою складають приблизно (7 – 8) % об'єму виробництва сирів в Європі та (2 – 3) % від світового виробництва [5].

Основним недоліком вітчизняних сирів з плісенню залишається нестабільність показників якості. Використання іноземних технологій виробництва сирів з пліснявою без внесення змін з

урахуванням особливостей вітчизняних виробництв не може гарантувати стабільних показників якості готової продукції. Тому актуальною є потреба в дослідженні існуючих вітчизняних технологій виробництва сирів з плісенню та в розробці нових технологій.

Метою даної роботи є дослідження протеолізу в сири з двома видами плісняви під час визрівання.

Об'єктами дослідження були сири виготовлені з нормалізованого молока (м.ч.ж. 3,2 %), пастеризованого за температури (72 ± 2) °C з витримкою (15 – 20) сек. Молоко охолоджували до температури зсідання (32 ± 1) °C, вносили хлорид кальцію та молокозсідальний фермент. Згусток, що утворився, розрізали на кубики зі сторонами (1 – 3) см, тривалість обробки сирного зерна складала 40 хв. Готове сирне зерно направляли у форми діаметром 10 см та висотою 20 см для формування. Соління сиру здійснювали в розсолі з концентрацією солі (18 – 20) % за температури (10 – 12) °C упродовж: (90 ± 10) хв для сиру Камамбер, (130 ± 10) хв для досліджуваного сиру з двома видами плісені, (180 ± 10) хв для сиру Рокфор. Після соління сирні головки просушували упродовж 20 хв, проколнували отвори діаметром 3 мм і направляли в камери визрівання з температурою (8 – 14) °C та відносною вологістю повітря (94 – 96) % на 60 дб. Пліснява *Penicillium roqueforti* (препарат фірми Danisco) вносили у сирну масу під час формування. Пліснява *Penicillium camemberti* (препарат фірми Danisco) наносили на поверхню сирної головки розпилюванням.

Рівень протеолізу у сири під час визрівання оцінювався за вмістом азотистих речовин (загального азоту, загального розчинного азоту, азоту розчинних небілкових сполук та амінного азоту). Їх вміст визначали методом К'ельдаля з модифікацією ВНДІМСу [12]; кількісний та якісний склад амінокислот в сирах — на амінокислотному аналізаторі «Biotronik LC 2000» [13]. Казеїни та продукти їхнього розщеплення визначали методом електрофорезу у поліакриламідному гелі [7].

Сири з пліснявою відрізняються від звичайних сирів наявністю мікрофлори плісняви, яка характеризується високою протеолітичною активністю. Присутність плісняви поглиблює процес визрівання, надає сирам характерного зовнішнього вигляду, а також специфічного смаку і аромату. Обираючи параметри технологічного процесу виробництва сиру, режими його визрівання і склад мікрофлори, можна керувати процесами протеолізу, ліполізу та гліколізу, що формують органолептичні показники сиру. З цих трьох основних біохімічних перетворень, що відбуваються під час визрівання сиру, протеоліз є найважливішим процесом у виробництві всіх видів сиру. Він несе відповідальність за структурні зміни і робить значний внесок у формування смаку і аромату сиру. Інтенсивність процесу протеолізу в сирах з пліснявою доволі значна в порівнянні з іншими сирами [1, 2, 3, 9, 10, 11]. Головним критерієм інтенсивності процесу протеолізу в сирах є відношення розчинного азоту до загального, що кількісно характеризує вміст невеликих пептидів. У сирах з блакитною пліснявою вміст розчинного азоту складає (50 – 65) % [4, 6]. Інтенсивність протеолізу в сирах з білою поверхневою пліснявою також висока, але менша, ніж у сирах з блакитною плісенню. Так, у зовнішньому шарі головки сиру Камамбер вміст розчинного азоту складає 35 % від загального вмісту азоту, у внутрішньому шарі сиру вміст розчинного азоту — 25 % [8]. Для повнішої характеристики інтенсивності протеолізу в сири, що визріває за участі двох видів плісняви, його основні показники було порівняно з відповідними показниками сирів Рокфор (Контроль 1) та Камамбер (Контроль 2). Вибір контролю пов'язаний з приналежністю цих сирів до групи сирів з плісенню та схожістю процесу визрівання. Дослідний та контрольні сири виробляли в аналогічних умовах. Відмінності в технології виробництва цих сирів наведено в табл. 1.

Рівень протеолізу в досліджуваних сирах під час визрівання показано на рис. 1. Зростання показника рівня протеолізу в дослідному зразку сиру відбувалось рівномірно упродовж всього процесу визрівання. У контрольному сири №2 можна виділити три періоди зростання показника рівня протеолізу: від початку визрівання до 14 доби — стрімке, з 14 доби до 21 доби визрівання — помірне, з 21 доби до 60 доби — повільне, що пояснюється поступовим зниженням рівня активної кислотності сиру. Під час визрівання контрольного сиру № 1 до 21 доби зростання показника рівня протеолізу відбувалось повільно, а з 21 доби до 60 доби — стрімко.

Таблиця 1. Технологічні особливості виробництва сирів з пліснявою

Назва сиру	Масова частка солі в сирній масі, %	Масова частка вологи в сирній масі, %	Вид плісняви, що вноситься	Маса головки сиру, кг	Температура визрівання, °С
Контроль 1	3	50	<i>Pen. roqueforti</i>	1,5	8
Дослідний сир (з двома видами плісняви)	2	50	<i>Pen. roqueforti</i> , <i>Pen. camemberti</i>	1,0	10
Контроль 2	1	60	<i>Pen. camemberti</i>	0,5	14

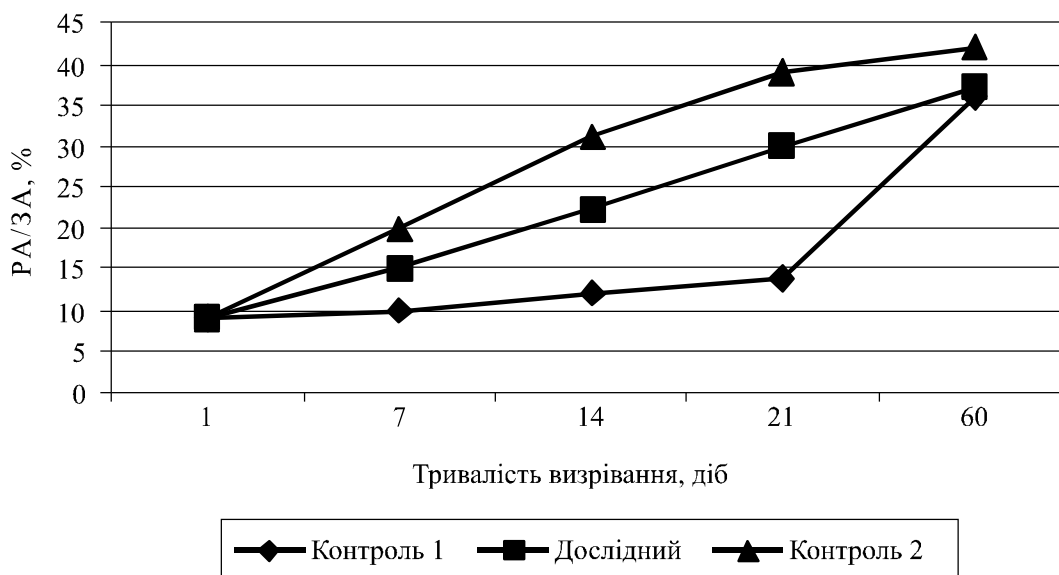


Рис. 1. Зміна рівня протеолізу в сирах з пліснявою під час визрівання.
РА — розчинний азот; ЗА — загальний азот.

Після стадії формування сирної маси вміст α - і β -казеїну в дослідному і контрольних сирах з плісенню був близьким. Під час визрівання спостерігали зменшення кількості казеїнових фракцій, яке було різним для кожного виду сиру (табл. 2). Так, частка α -казеїну в контрольному сирі № 1 на 21 добу визрівання зменшилась на 18 %, у контрольному сирі № 2 на 53 %, а в дослідному сирі — на 39 %. Аналогічну тенденцію спостерігали для β -казеїну: упродовж визрівання контрольного сиру №1 вміст цієї фракції зменшився з 37,52 % до 29,84 %, контрольного сиру № 2 — з 36,21 % до 27,19 %, дослідного сиру — з 36,73 % до 28,57 %. За однаковий період визрівання розщеплення β -казеїну в контрольних сирах №1, №2 та дослідному сирі відбувалось на 20,5 %, 25,0 % та 22,2 % відповідно.

Упродовж визрівання сирів спостерігали накопичення мінорних фракцій казеїну. Вміст поліпептидів з молекулярною масою 120-70 кДа, 28-26 кДа, 20-18 кДа та 16-12 кДа у дослідному сирі на 21 день визрівання в порівнянні з сиром після самопресування збільшився у 3,2; 2,4; 2,1 та 2,3 рази відповідно. Вміст цих поліпептидів у контрольному сирі № 1 збільшився у 2,1; 1,8; 2,0 та 3,5 рази, а в контрольному сирі № 2 у 3,6; 3,0; 2,4 та 2,5 рази відповідно (табл. 2).

Фракціонування казеїну в дослідному сирі та контрольному сирі № 2 було ширшим і глибшим, ніж в контрольному сирі № 1, про що свідчать дані електрофорезу досліджуваних сирів (табл. 2). Це можна пояснити більшою активністю протеолітичної системи плісняви *P. camemberti* в порівнянні з протеолітичною системою плісняви *P. roqueforti*.

Істотною характеристикою рівня протеолізу в сирах є накопичення вільних амінокислот. У дослідному сирі загальний вміст вільних амінокислот на 21 день

визрівання був на 23 % меншим, ніж у контрольному сири № 2, та на 19 % більшим, ніж у контрольному сири № 1 (рис. 2). Амінокислотний склад дослідного сиру відрізняється від контрольного сиру № 1 значним вмістом аспарагінової кислоти, валіну, метіоніну, ізолейцину, лейцину, глютамінової кислоти.

Таблиця 2. Вміст білкових фракцій в сирах упродовж визрівання

Зразок сиру	Фракційний склад білків, відн. %					
	Пептиди 120-70 кДа	α -казеїн	β -казеїн	Пептиди 28-26 кДа	Пептиди 20-18 кДа	Пептиди 16-12 кДа
Контроль 1						
Після самопресування	3,26	41,48	37,52	5,39	5,28	1,07
21 день визрівання	6,86	34,01	29,84	9,62	10,31	3,78
Контроль 2						
Після самопресування	3,41	40,85	36,21	5,64	6,37	1,74
21 день визрівання	12,24	19,20	27,19	16,85	15,57	4,35
Дослідний						
Після самопресування	3,88	41,02	36,73	5,24	5,93	1,52
21 день визрівання	12,21	25,02	28,57	12,72	12,37	3,56

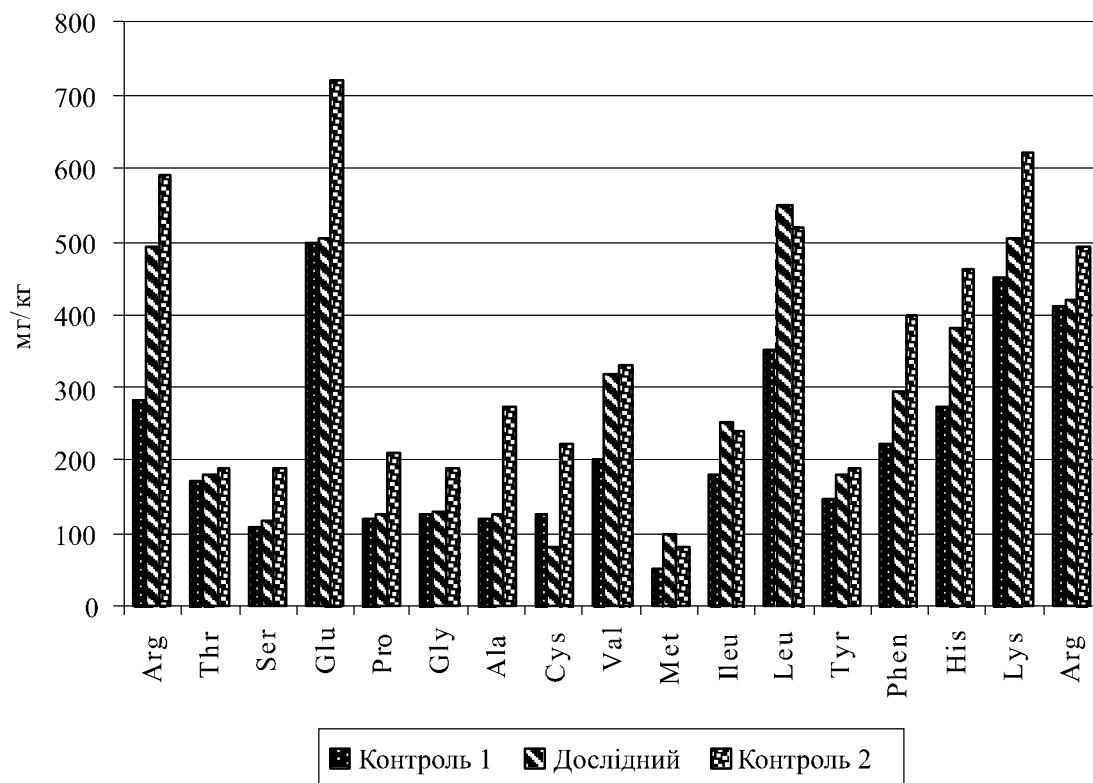


Рис. 2. Вміст амінокислот на 21 добу визрівання в дослідному та контрольних сирах.

Висновок

Результати проведених досліджень сирів з плісінню дозволяють стверджувати, що внесення плісені *P. camemberti* підвищує інтенсивність протеолізу в блакитних сирах.

Література

1. *Fernandez-Salguero J.* Proteolysis of Cabrales cheese and other European blue vein cheese varieties / J. Fernandez-Salguero, A. Marcos, M. Alcala and M.A. Esteban // *J. Dairy Res.* — 1989. — Vol. 56. — P. 141-145.
2. *Gonzalez de Llano D.* Microbiological and physicochemical characteristics of Gamonedo blue cheese during ripening / D. Gonzalez de Llano, M. Ramos, A. Rodriguez, A. Montilla, M. Juarez // *Int. Dairy J.* — 1992. — Vol. 2. — P. 121-135.
3. *Gonzalez de Llano D.* Study of proteolysis in artisanal cheeses: high performance liquid chromatography of peptides / D. Gonzalez de Llano, C.M. Polo, M. Ramos // *J. Dairy Sci.* — 1995. — Vol. 78. — P. 1018-1024.
4. *Gripon J.C.* Major Cheese Groups / J.C. Gripon // In: «Cheese: Chemistry, Physics, and Microbiology». V.2. London etc. Chapman Hall. — 1993. — P. 111-136.
5. *Gripon J.C.* Cheese — mould-ripened cheeses / J.-C. Gripon // In: Roginski, H.; Fuquay, J. and Fox, P. eds. *Encyclopedia of Dairy Sciences*. Vol. 1. Academic Press. New-York. — 2002. P. 401-406.
6. *Hewedi M.M.* Ripening of Blue cheese: characterization of proteolysis / M.M. Hewedi, P.F. Fox // *Milchwissenschaft.* — 1984. — Vol. 39. — P. 198-201.
7. *Laemmli U.K.* Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4 / U.K. Laemmli // *Nature.* — 1970. — Vol. 227. — P. 680-685.
8. *Lenoir J.* Sur la dégradation des protides au cours de la maturation du Camembert / J. Lenoir // *C. R. Acad. Agric.* — 1962. — Vol. 48. — P. 160-169.
9. *Marcos A.* Electrophoretic patterns of European cheeses: comparison and quantitation / A. Marcos, M.A. Esteban, E. Leonand, J. Fernandez-Salguero // *J. Dairy Sci.* — 1979. — Vol. 62. — P. 892 – 900.
10. *Trieu-Cuot P.* Etude electrophoretique de la proteolyse au cours de l'affinage des fromages il pate persillee du type Bleu d'Auvergne / P. Trieu-Cuot, J.C. Gripon. // *Lait.* — 1983. — Vol. 63. — P. 116 – 128.
11. *Zarmpoutis I.V.* Proteolysis in blue-veined cheeses: an intervarietal study / I.V. Zarmpoutis, P.L.H. McSweeney, P.E. Fox // *Irish J. Agric. Food Res.* — 1997. — Vol. 36. — P. 219 – 229.
12. *Инихов Г.С.* Методы анализа молока и молочных продуктов / Г.С. Инихов, Н.П. Брио // — М. -Пищев. пром. — 1971. — 275 с.
13. *Крусь Г.Н.* Методы исследования молока и молочных продуктов / Г.Н. Крусь, А.М. Шалыгина, З.В. Волокитина // -М. -Колос. -2000. — 300 с.
14. *Шергина И.А.* Мягкие сыры — расширение ассортимента, проблемы рентабельности производства / И.А.Шергина // *Сыроделие и маслоделие.* — 2006. — № 5. — 14 – 17 с.
15. *Шергина И.А.* Классификация и особенности производства мягких сыров / И.А. Шергина // *Сыроделие и маслоделие.* — 2008. — №4. — 8 – 9 с.

ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОТЕОЛИЗА В СЫРЕ, КОТОРЫЙ ВЫЗРЕВАЕТ С УЧАСТИЕМ ДВУХ ВИДОВ ПЛЕСЕНИ

Ю.Т. Орлюк, М.И. Степанищев

Институт продовольственных ресурсов НААН

Для оценки интенсивности протеолиза в сыре, который вызревает при участии двух видов плесени, его показатели, что характеризуют протеолиз сравнили с показателями сыров Рокфор и Камамбер. Отношение растворимого азота к общему исследовали методом Кьельдаля, состав белковых фракций — методом электрофореза, аминокислотный состав — хроматографическим методом на 21 день созревания.

Ключевые слова: сыр с плесенью, протеолиз, общий азот, растворимый азот, аминокислотный состав.