

МОЛОКАНОВА Л.В.

ХОВАНЕЦЬ І.С.

Донецький національний університет економіки і торгівлі  
імені Михайла Туган-Барановського

## ОЦІНКА МОЛОКОЗГОРТАЛЬНОЇ АКТИВНОСТІ ФЕРМЕНТІВ ГРИБНОГО ПОХОДЖЕННЯ

*Здійснено дослідження молокозгортальної активності ферментів, отриманих з вищих базидіальних грибів – продуцентів протеїназ молокозсідальної дії *Hirschioporus laricinus* (Karst.) Ryv. та *Irpex lacteus*, з метою їх застосування для виготовлення кисломолочного сиру*

*Ключові слова: фермент, молокозгортальна активність, час згортання.*

*Молоканова Л.В., Хованець І.С. Оценка молокосвертывающей активности ферментов грибкового происхождения. Проведены исследования молокосвертывающей активности ферментов, полученных из высших базидиальных грибов – продуцентов молокосвертывающего действия *Hirschioporus laricinus* (Karst.) Ryv. та *Irpex lacteus* с целью использования их для изготовления творога*

*Ключевые слова: фермент, молосвертывающая активность, время свертывания.*

*Molokanova L., Hovanets I. Evaluation milk-enzymology of enzyme activity of fungal origin. The research activity of enzymes of milk-derived from the higher basidiomycetes - producers of the milk-proteinase *Hirschioporus laricinus* (Karst.) Ryv. and *Irpex lacteus*, with a view to their use for the production of cheese.*

*Keywords: enzyme, milk-activity, the clotting time.*

**Постановка проблеми у загальному вигляді і її зв'язок з важливими науковими та практичними завданнями.** Споживання кисломолочних продуктів, особливо кисломолочного сиру (творогу) і сиркових виробів, є дуже бажаним для будь-яких груп населення. Кисломолочний сир є концентратом молочного білка казеїну, який до того ж знаходиться в набухлому і частково денатурованому стані, через що значно більш доступний для травних ферментів і засвоюється людиною практично повністю. З цього боку кисломолочний сир справедливо розглядається як ефективне джерело повноцінного тваринного білка, дефіцит якого в раціонах населення України відчувається досить гостро.

На сьогодні кисломолочний сир в промисловості отримують двома способами – кислотним і кислотно-сичуговим. За першим способом згортання молока і утворення згустку здійснюється молочною кислотою, що утворюється після

внесення молочнокислої закваски. Сир, виготовлений цим способом, характеризується яскравим кислим смаком, сухуватою консистенцією білкового зерна і наявністю сироватки, що відокремлюється, вміст молочної кислоти становить 1,3-1,5%. З метою запобігання надмірних втрат молочного жиру, цей спосіб в основному використовується для отримання нежирного сиру.

За другим способом згортання молока здійснюється під дією сичугового ферменту та термофільних стрептококів. Кисломолочний згусток утворюється при значно більш низькій кислотності, а готовий сир характеризується ніжною, м'якою консистенцією, помірно кислим смаком, вміст молочної кислоти становить до 1%. За цим способом виготовляється кисломолочний сир півжирний та жирний [1].

Наявність великої кількості кислоти в кислотному сирі робить його вживання для окремих категорій людей (хворих на гіперактивні гастрити та виразку шлунку) досить проблематичним, через що їм рекомендовано вживання сиру, отриманого кислотно-сичуговим способом. З іншого боку розширення виробництва такого кисломолочного сиру має певні обмеження, що визвані необхідністю застосування реніну – сичугового ферменту, що здобувається з сичугу телят і ягнят (зниження продуктивності тваринництва, низька якість самого реніну, значно більш тривалий час отримання білкового згустку і, як наслідок, підвищена собівартість готового продукту) [2].

Таким чином, однією з проблем і, водночас, перспективним напрямком у вітчизняній молочній промисловості є пошук протеолітичних ферментів молокозсідальної дії в якості ефективних заміників сичугового ферменту. Виходячи з цього, дослідження щодо можливості застосування у виробництві кисломолочного сиру ферментів грибного походження, як альтернативи реніну, є на сьогодні актуальним, представляє науковий і практичний інтерес.

**Аналіз останніх досліджень, у яких започатковано вирішення проблеми.** Очевидним є той факт, що перед молочною промисловістю вже постала необхідність застосування альтернативних методів зсідання молока, перш за все, при виробництві кисломолочних сирів і сиркових виробів. Одним з шляхів вирішення цієї проблеми є застосування молокозсідальних ферментів мікробного і грибного походження. В молочній промисловості Європи відоме використання заміників сичугового ферменту, отриманих з мікроміцетів *Bacillus subtilis*, *Bacillus mezentericus*, *Aspergillus arizae*, *Aspergillus ternicola*, рода *Penicillium*, які є високоефективними з точки зору прискорення технологічних процесів виготовлення сиру [3]. В Україні застосування таких ферментних препаратів вкрай обмежене.

Перспективним є застосування ферментних препаратів, отриманих з вищих

базидіальних грибів – базидіоміцетів. Так, наприклад, в порівняльній характеристиці базидіоміцетів порядку *Aphylophorales* показано, що молокозсідальна активність знайдена у 96,9% досліджених видів грибів, в тому числі 19,6% – активні штами, молокозгортальна активність яких перевищує 10 000 ум.од. [4].

Відносна простота і легкість культивування вищих базидіальних грибів, їх висока фізіологічна і генетична пластичність, відсутність спороношення в культурі виступають суттєвими перевагами базидіоміцетів, як джерела протеїназ, порівняно із мікроміцетами і відкривають великі можливості в промисловій ферментології і селекції штамів продуцентів.

На кафедрі фізіології рослин ДонНУ встановлена досить висока молокозгортальна активність гриба *Hirschioporus laricinus* (Karst.) Ruv., а ферментний препарат, отриманий в результаті культивування штаму М-81 під назвою «Ларицин», визнаний прийнятним для заміни сичугового ферменту в сироробній промисловості для виготовлення сирів швейцарської групи [5].

**Цілі статті.** Виходячи з існуючої проблеми, метою роботи є оцінка молокозгортальної активності ферментних препаратів, отриманих з вищих базидіальних грибів *Hirschioporus laricinus* (Karst.) Ruv. (штами А-031, А-032, М-81, Р-323) та *Irpex lacteus* (штами А-Дон-02, Р-04) та обґрунтовано можливість їх застосування для виготовлення кисломолочного сиру.

**Виклад основного матеріалу дослідження з повним обґрунтуванням отриманих наукових результатів.** Об'єкти дослідження представлено в табл.1.

Таблиця 1

*Ферментні препарати, молокозгортальна активність яких досліджувалася*

Ферментний препарат (ФП)	Штам	Базидіальні гриби	Спосіб отримання ФП
А-031	А-031	<i>Hirschioporus laricinus</i>	З культурального фільтрату при культивуванні штамів А-031, А-032, М-81 <i>H. laricinus</i> при 80% осадженні сірчанокислим амонієм з наступним центрифугуванням і очищенням методом діалізу проти дистильованої води
А-032	А-032		
М-81	М-81		
Р-323	Р-323		
А-Дон-02	А-Дон-02	<i>Irpex lacteus</i>	З культурального фільтрату при культивуванні штамів А-Дон-02 та Р-04 <i>I. lacteus</i> при 80% осадженні сірчанокислим амонієм з наступним центрифугуванням і очищенням методом діалізу проти дистильованої води
Р-04	Р-04		

Дослідження молокозгортальної активності (далі МЗА) ферментних препаратів (далі ФП) здійснено за методом Kawai, Mukai, що оснований на встановленні часу згортання молока [6].

Згідно цього методу, в пробірки з 10 мл субстрату (молоко), що перед цим витримані протягом 2 хв. На водяній бані за температури 35°C, вносили 1 мл ФП, ретельно стряхували і знов поміщали на водяну баню за температури 35°C. В момент страхування пробірки запускали секундомір і вели відлік часу згортання молока, який закінчували при утворенні щільного згустку.

Умовною МЗА, вираженою в хвилинах, вважали час згортання молока, абсолютна МЗА розрахована в умовних одиницях (ум.од.). За одиницю МЗА прийнята така кількість ферменту, яка згортає 100 мл молока за 40 хв. За температури 35°C. Коефіцієнт розведення ФП – 1000.

Субстратом при визначенні МЗА ферментних препаратів служило молоко пастеризоване виробництва ЗАО «Лактіс», відібране безпосередньо на молокозаводі: на першому етапі – незбиране жирністю 3,2%, на другому етапі – знежирене. Для чистоти експерименту в обох випадках регулювання рН молока шляхом підкислення, як того вимагає Технологічна інструкція з виробництва кисломолочного сиру, не здійснювали. Значення рН молока незбираного – 6,86, знежиреного – 6,9.

Результати досліджень подано в табл. 2.

Таблиця 2

*Молокозгортальна активність ферментних препаратів*

Ферментний препарат (ФП)	Молоко незбиране		Молоко знежирене	
	Час згортання молока, хв.	МЗА, ум.од.	Час згортання молока, хв.	МЗА, ум.од.
А-031	25,16	158982	12,67	315706
А-032	20,52	194932	11,32	353357
М-81	27,83	143729	13,43	297840
Р-323	22,10	180995	10,94	365631
А-Дон-02	7,72	518130	7,08	564972
Р-04	7,06	566572	6,6	606060

При виготовленні жирного і півжирного кисломолочного сиру використовується незбиране молоко, тому на першому етапі субстратом обрано молоко із стандартним вмістом молочного жиру – 3,2%.

Отримані дані свідчать, що найвищою МЗА володіють ферментні препарати А-Дон-02 та Р-04, отримані з грибу *Irpex lacteus*, значення якої у 2,7-3,9 вище значень МЗА препаратів з грибу *Hirschioporus laricinus* (рис. 1).

Аналогічні дані отримано і при дослідженні МЗА на субстраті молоко знежирене з тією різницею, що значення МЗА абсолютно усіх ФП зросли, що свідчить про певний вплив на цей показник вмісту жиру в молоці.

Для виробництва досить важливим моментом є «стійкість» ФП (його характеристик) до впливу різних факторів, зокрема вмісту жиру в молоці, який зумовлює жирність кінцевого продукту – кисломолочного сиру. Якщо МЗА ФП вагомо змінюється залежно від жирності молока, при виготовленні жирного, пів жирного та нежирного кисломолочного сиру виникає необхідність постійних перерахунків кількості вносимого в молоко ферментного препарату. Таким чином, чим менше «реагує» ФП на жирність молока, як сировини, тим більш він вигідний в промислових умовах.

Як видно з таблиці 2, різні ФП неоднаково реагують на жирність молока. Так, МЗА ферментних препаратів А-Дон-02 та Р-04 в знежиреному молоці зростає на 8,3 % та 6,5 % відповідно, то МЗА ФП А-031 та А-032 – майже ніж у 2 рази, ФП М-81 та Р-323 – більше, ніж у 2 рази.

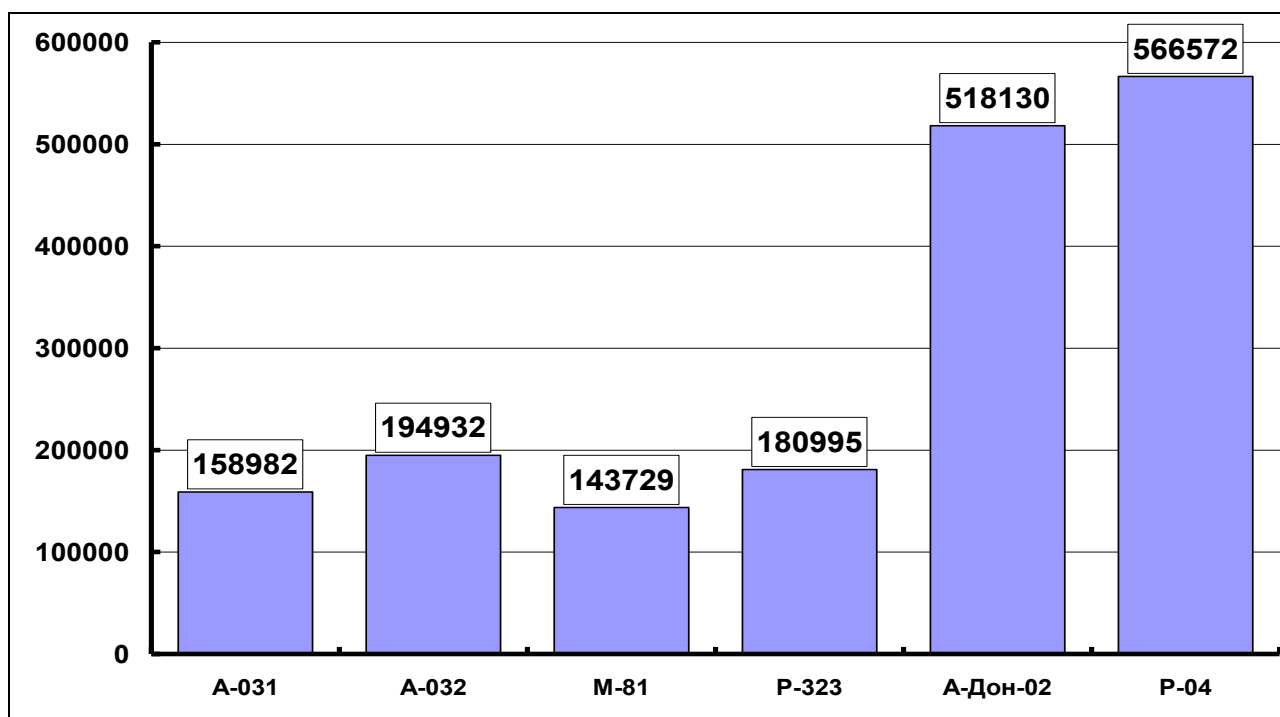


Рис. 1. Молокозгортальна активність ферментних препаратів, ум.од.

**Висновки.** Результати проведених досліджень показують, що високою молокозгортальною активністю та стабільністю характеризуються ферментні

препарати, отримані з грибу *Irpex lacteus*, А-Дон-02 та Р-04, що робить їх дуже перспективними для використання в молочній промисловості при виготовленні кисломолочних сирів.

**Перспективи подальших досліджень.** На даний час тривають дослідження щодо визначення впливу на МЗА ФП А-Дон-02 та Р-04 рН молока, а також порівняння їх МЗА із МЗА сичугового ферменту та кисломолочних заквасок, котрі використовуються для виготовлення сиру на ЗАО «Лактіс».

#### Література:

1. Бачурина О.Н. Технология производство творога: научный и практический аспекты [Текст] / О.Н. Бачурина. М.: Наука.– 2008. – С. 35-40
2. Бражник Р.Д. Стан молочної промисловості в Україні [Текст] / Р.Д. Бражник, В.Ю. Рузиков // Продукты & ингредиенты. – 2011.– № 10. – С. 18-12
3. Колбасюк В. Закваски, ферменты и культуры для сыроделия в Европе. Современные тенденции развития / В. Колбасюк // Переработка молока. – 2005. – № 6. – С. 26-28
4. Федотов О.В. Порівняльна характеристика грибів порядку *Aphyllophorales* – продуцентів молокозгортаючих ферментів / О.В. Федотов, С.Ф. Негруцький, М.І. Бойко // Український ботанічний журнал. – 1997. – Т.54. – №2. – С. 145-152
5. А. с. 1211288 СССР, МКИ С 12 № 9/58, С 12 № 15/00. Штамм *Hirschioporus laricinus* М-81 (Karst.) Руv.- продуцент молокосвёртывающего фермента / Бойко М.И., Негруцкий С.Ф., Мирошниченко Т.И., Соболев М.А., Варенко Ю.С. (СССР). – 3787001/28-13; завл.18.05.94; опубл.15.06.95, Бюл. № 6. – 3 с.
6. Белки, ферменты и стерины базидиальных грибов. Методы исследования. Л.: Наука. – 1979. – С. 28