УДК 637

**А.М. Осинцев, В.И. Брагинский, А.Л. Чеботарев,
М.А. Осинцева, А.П. Сырцева**

ИССЛЕДОВАНИЕ ТЕРМОКИСЛОТНОЙ КОАГУЛЯЦИИ МОЛОКА ТЕРМОГРАФИЧЕСКИМ МЕТОДОМ

Исследована зависимость температуры коагуляции восстановленного обезжиренного молока от его исходной кислотности и содержания ионов кальция. Показано, что температура коагуляции молока понижается как с ростом кислотности молока, так и с увеличением концентрации ионизированного кальция в нем. Более того, имеется возможность корректировать температуру свертывания молока путем одновременного варьирования обоих указанных параметров. На основе полученных экспериментальных данных сформулирован ряд гипотез и предложена физико-химическая модель, описывающая термокислотную и термокальциевую коагуляцию молока в рамках единой схемы.

Термокислотная коагуляция, термографический метод, влияние ионов кальция.

Введение

Для производства сыров используются различные способы коагуляции белков молока. Наиболее распространенными являются сычужное или кислотно-сычужное свертывание молока. Термокислотный (так же как и термокальциевый) способ коагуляции молока чаще применяется для получения технического казеина. Тем не менее, сыры на основе термокислотной коагуляции имеют солидную историю и достаточно широко представлены географически. Например, на территории Южной и Центральной Америки широко распространен Queso blanco (белый сыр), исторически имеющий испанское происхождение. В южной Азии известен термокислотный сыр Paneer. К термокислотным сырам можно отнести и итальянский по происхождению сыр Ricotta. В нашей стране пользуется популярностью сыр Адыгейский и его аналоги.

Технология термокислотного свертывания молока имеет достаточно широкие перспективы благодаря ряду преимуществ. Прежде всего, данный способ получения молочного сгустка характеризуется высокой степенью извлечения белков из молочного сырья за счет осаждения сывороточных белков вместе с казеином. Сывороточные белки имеют сбалансированный аминокислотный состав, что, как следствие, повышает биологическую ценность продуктов, полученных на основе термокислотного свертывания.

Несмотря на развитие практических аспектов термокислотных технологий [1, 2], последовательной теории процесса термокислотной коагуляции белков молока в настоящее время не существует. Чаще всего термокислотное свертывание молока рассматривается как высокотемпературный аналог кислотной коагуляции. Однако такая трактовка не вполне корректна [3].

Концентрация ионов кальция в молоке оказывает заметное влияние как на сычужную [4], так и на кислотную [5] коагуляцию. Поэтому представляет интерес исследование возможного влияния кальция на процесс термокислотной коагуляции молока. Возможность такого влияния вытекает, прежде всего, из схожести термокислотной и термокальциевой коагуляции молока, хотя сколько-нибудь глубокого изучения данного вопроса до сих пор не предпринималось.

Вышеприведенные рассуждения указывают на необходимость более тщательного анализа механизма термокислотного свертывания молока.

Целью данной работы являлось экспериментальное исследование влияния растворимого кальция на процесс высокотемпературной кислотной коагуляции молока. На наш взгляд данное исследование поможет глубже понять физико-химические особенности процесса термокислотной и термокальциевой коагуляции.

Объект и методы исследования

Объектом исследования явилось восстановленное обезжиренное молоко. Для его получения 90 г сухого обезжиренного молока растворялось в 910 мл дистиллированной воды и тщательно перемешивалось. В полученное восстановленное молоко добавлялось необходимое количество 10 %-ного раствора хлорида кальция, после чего оно выдерживалось 12 ч при температуре (6±2) ºС.

Для понижения pH молока использовался 10 %-ный раствор молочной кислоты. Раствор получался путем разбавления пищевого 40 %-ного раствора молочной кислоты.

Для уменьшения концентрации кальция в молоке в качестве хелирующего агента использовался «Trilon B®» (Na_2H_2EDTA – динатриевая соль этилендиаминтетрауксусной кислоты). Концентрация ионов кальция в молоке и его pH измерялись с помощью ионоселективных электродов ELIT.

Момент свертывания молока регистрировался термографически [6] по изменению его эффективной вязкости с помощью связанного с компьютером термометрического датчика вязкости. Непосредственное использование термографического метода для исследования процесса термокислотной коагуляции осложняется тем, что внесение кислоты в нагретое молоко должно сопровождаться интенсивным перемешиванием, препятствующим образованию гелеподобной структуры. В результате ярко выраженного изменения разности температур подогреваемого и неподогреваемого термометров не возникает. Кроме того, турбулентные потоки при перемешивании молока меняют

значение температуры подогреваемого термометра из-за изменения конвективной составляющей теплоотвода.

Для преодоления описанных проблем нами разработана методика мониторинга термокислотной коагуляции молока, суть которой заключается в следующем. В исследуемые образцы молока вносятся кислотные агенты и дополнительные вещества, оказывающие влияние на термокислотное свертывание, в количествах, которые заведомо не вызывают коагуляции при комнатной температуре. Далее подготовленные образцы подвергаются нагреванию на водяной бане до момента возникновения геля, фиксируемого термографически [7]. В отличие от стандартной термограммы [6], на которой ось абсцисс отображает время свертывания, в случае термокислотного свертывания по оси абсцисс откладывается температура молока. Образованию структуры, как и в стандартном случае, соответствует резкое повышение термографической разности температур.

Коагуляция молока осуществлялась в стеклянной кювете объемом 200 мл.

Результаты и выводы

На рис. 1 показаны термограммы образцов молока с различной исходной кислотностью, подвергнутых нагреванию на водяной бане.

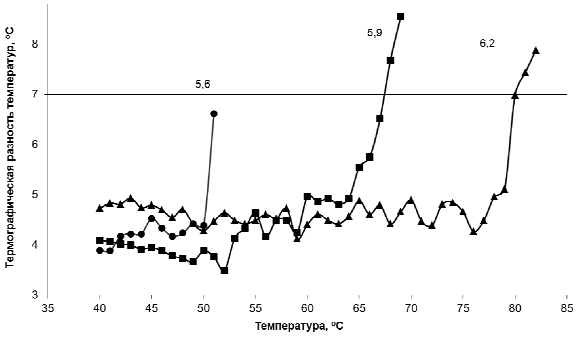

Рис. 1. Термограммы термокислотного свертывания молока
с различной исходной кислотностью

Восстановленное обезжиренное молоко готовилось, как описано выше. Для коррекции кальциевого баланса в процессе восстановления сухого обезжиренного молока в него за 24 ч до исследований было добавлено 4 см^3 10 %-ного раствора $CaCl_2$ на 1 дм^3 молока. Полученное восстановленное молоко имело значение pH, равное 6,7 единицы, и содержание ионизированного кальция 2,9 ммоль/дм^3. Перед проведением опытов pH снижали молочной кислотой.

Как видно из рис. 1, увеличение кислотности молока существенно снижает температуру гелеобразования при термокислотном свертывании. Так, коагуляция молока с исходной кислотностью pH=6,2 происходит при температуре около 80 ºС; молоко с исходной кислотностью pH=5,9 коагулирует при 68 ºС; наконец, если кислотность молока повышена до значения pH=5,2, гелеобразование происходит уже при температуре около 50 ºС.

Важно отметить, что понижение pH приводит к увеличению растворимости коллоидного фосфата кальция, содержащегося в молоке, что заметно повышает концентрацию ионов кальция в молоке. Так, при pH=6,2 концентрация ионов кальция в молоке выросла до 3,5 ммоль/дм^3; при pH=5,9 концентрация ионов кальция составила 4,8 ммоль/дм^3; при pH=5,6 концентрация ионов кальция достигла 6,9 ммоль/дм^3. Все это вместе со сходством термокислотной и термокальциевой коагуляции позволяет предположить о существенной роли ионов кальция в процессе термокислотной коагуляции молока.

Тем не менее, вопрос о том, что именно: кислотность или концентрация ионов кальция – является основным фактором, влияющим на температуру коагуляции при термокислотном свертывании молока, пока остается открытым.

Для исследования роли кальция в термокислотной коагуляции был использован тот факт, что «Трилон Б» одновременно с уменьшением активности ионов кальция понижает pH раствора. С использованием данного свойства была проведена серия опытов, в которой понижение pH осуществлялось одновременным внесением как «Трилона Б», так и молочной кислоты в различных пропорциях.

Восстановленное молоко, в отличие от предыдущего эксперимента, готовилось без добавления хлорида кальция, но в некоторые образцы молока хлорид кальция добавлялся непосредственно перед проведением экспериментов по термокислотному свертыванию.

«Трилон Б» вносился в восстановленное молоко непосредственно перед проведением термокислотной коагуляции в виде раствора, содержащего 3,7 г «Трилона Б» на 100 см^3 дистиллированной воды (0,1 ммоль/дм^3).

На рис. 2 представлены данные по термокислотному свертыванию молока, активная кислотность в котором доводилась до pH=5,6 двумя способами: добавлением раствора трилона или раствора молочной кислоты.

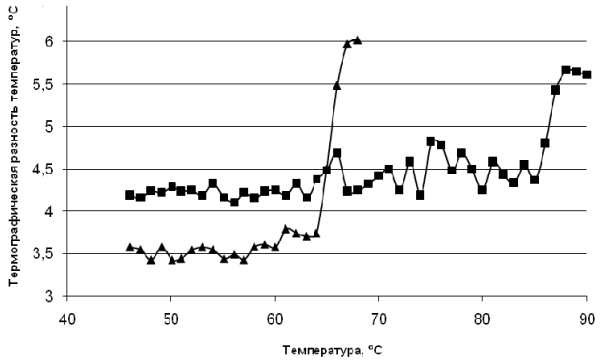

Рис. 2. Термограммы термокислотного свертывания молока с исходным значение pH=5,6:
▲ – понижение pH молочной кислотой;
■ – понижение pH «Трилоном Б»

В первом случае концентрация ионов кальция составила 1,5 ммоль/дм^3, а во втором – 4,8 ммоль/дм^3. Температура коагуляции молока для этих двух случаев составила соответственно 88 и 66 ºС.

Таким образом, эксперимент показывает, что при одном и том же значении pH молока температура его термокислотного свертывания может существенно изменяться при изменении концентрации ионов кальция в исходном молоке.

Для более детального анализа влияния концентрации ионов кальция на устойчивость молока к термокислотному свертыванию была проведена серия дополнительных экспериментов.

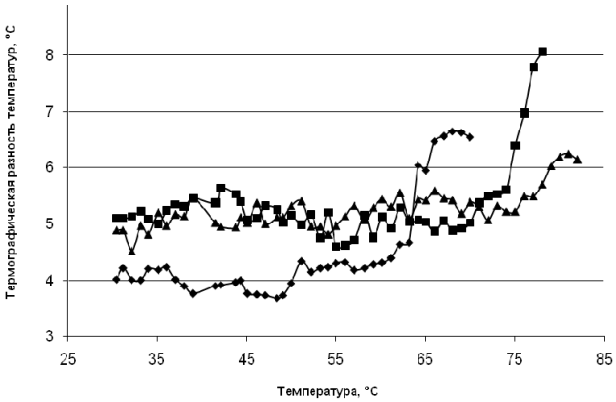

Рис. 3. Термограммы термокислотного свертывания молока с исходным значение pH=5,6:
♦ – $[Ca^{2+}]$ = 4,8 ммоль/дм^3;
■ – $[Ca^{2+}]$ = 3,6 ммоль/дм^3;
▲ – $[Ca^{2+}]$ = 2,5 ммоль/дм^3

Рис. 3 представляет данные о температурах коагуляции образцов молока с исходным значением pH=5,6, в которых активная кислотность устанавливалась введением растворов молочной кислоты и «Трилона Б» в различных пропорциях. В каждом случае объем образца доводился до 100 см^3 добавлением дистиллированной воды.

Было приготовлено три образца. В первом значение pH доводилось до pH=5,6 внесением раствора молочной кислоты. Значение активности ионов кальция в этом образце составило 4,8 ммоль/дм^3.

Во второй образец было добавлено 14 см^3 раствора «Трилона Б», после чего pH образца был доведен до значения 5,6 раствором молочной кислоты. Значение активности ионов кальция в образце составило 3,6 ммоль/дм^3.

Третий образец приготовлен аналогично второму, но доза добавленного раствора «Трилона Б» составила 29 см^3. Активность ионов кальция в данном образце понизилась до значения 2,5 ммоль/дм^3.

На рис. 4 изображены термограммы свертывания для образцов молока с исходным значением pH=5,9. В отличие от образцов, описанных выше, значение pH определялось введением в образцы 14 см^3 раствора «Трилона Б». Кроме того, в два из трех образцов вносился раствор хлорида кальция в объемах 1 и 2 см^3.

Значения активности ионов кальция составили 1,3; 2,6 и 4,4 ммоль/дм^3 соответственно для образцов без внесения $CaCl_2$, с внесением 1 см^3 $CaCl_2$ и с внесением 2 см^3 $CaCl_2$.

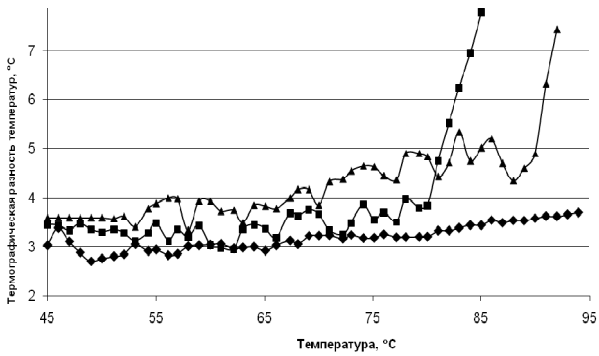

Рис. 4. Термограммы термокислотного свертывания молока с исходным значение pH=5,9:
♦ – $[Ca^{2+}]$ = 1,3 ммоль/дм^3;
■ – $[Ca^{2+}]$ = 2,6 ммоль/дм^3;
▲ – $[Ca^{2+}]$ = 4,4 ммоль/дм^3

Сравнение данных рис. 3 и 4 показывает достаточно сложную зависимость температуры коагуляции от значения pH и концентрации ионов кальция. Так, если значение pH остается постоянным, то ниже оказывается термическая устойчивость образцов с большей концентрацией ионов кальция, тогда как при примерно одинаковых значениях концентрации ионов кальция менее устойчивыми к термическому свертыванию оказываются образцы с более низкими значениями pH.

По-видимому, такое поведение образцов можно объяснить лишь при условии детального анализа ионного баланса в молоке.

Кальций может химически связываться с фосфосериновыми группами белков казеиновых мицелл. Такие группы в заметном количестве присутствуют в α- и β-казеинах [8, 9]. Образующееся при этом соединение, вообще говоря, непостоянного состава, принято называть казеинатом кальция.

Если предположить, что связывание кальция с фосфосериновыми группами молекул казеинов представляет собой обратимый процесс, то реакцию диссоциации-рекомбинации казеината кальция можно условно представить в виде:

$$\mathrm{CaCAS} \underset{k_{C2}}{\overset{k_{C1}}{\rightleftharpoons}} \mathrm{Ca}^{2+} + \mathrm{CAS}^{2-}, \qquad (1)$$

где k_{C1} – константа диссоциации; k_{C2} – константа рекомбинации; условное обозначение CAS выбрано для представления «молекулы» казеина.

Константа равновесия для реакции (1):

$$K = \frac{[\mathrm{Ca}^{2+}][\mathrm{CAS}^{2-}]}{[\mathrm{Ca\ CAS}]}. \qquad (2)$$

Следовательно, понижение концентрации ионов кальция $[Ca^{2+}]$ приводит к возникновению дополнительного электрического заряда мицелл q, пропорционального концентрации диссоциированных казеинатов $[CaCAS^{2-}]$, который, в свою очередь, обратно пропорционален $[Ca^{2+}]$:

$$q \sim [\mathrm{CAS}^{2-}] = \frac{K[\mathrm{Ca\ CAS}]}{[\mathrm{Ca}^{2+}]}. \qquad (3)$$

Необходимо учесть также возникновение заряда на белковых молекулах в результате их гидратации:

$$\mathrm{PROT} + \mathrm{H_2O} \underset{k_{F2}}{\overset{k_{F1}}{\rightleftarrows}} \mathrm{HO\text{-}PROT}^- + \mathrm{H}^+, \qquad (4)$$

где k_{F1} – константа реакции гидратации (первого порядка, т.к. вода присутствует в избытке); k_{F2} – константа дегидратации; условное обозначение PROT условно выбрано для представления зарядообразующих белковых групп казеинов. Можно считать, что в основном именно этот заряд обеспечивает стерическую стабильность волосков к-казеина [10].

Из-за сложности и недостаточной изученности состава коллоидного фосфата кальция (ССР) его гидрирование рассмотрим в рамках упрощенной схемы, включающей всего одну ступень:

$$\mathrm{CCP} + 2\mathrm{H}^+ \underset{k_{P2}}{\overset{k_{P1}}{\rightleftarrows}} \mathrm{CCP}^* + \mathrm{Ca}^{2+}, \qquad (5)$$

где CCP^* – гидрированная форма коллоидного кальций-фосфатного комплекса; k_{P1} и k_{P2} – константы скорости для процессов гидрирования и дегидрирования соответственно. Конечно, следует понимать, что определенные таким образом величины имеют лишь модельный смысл. Поэтому кинетические константы схемы (5) можно понимать лишь как некоторые параметры, отражающие «усредненный» процесс гидрирования кальций-фосфатного комплекса.

Для объяснения термокислотного эффекта будем считать, что константы скоростей реакций (1) и (5) зависят от температуры: с ростом температуры равновесие обеих реакций смещается влево. Отметим, что, если для реакции (5) такая зависимость является установленным фактом, то для реакции (1) такое предположение является рабочей гипотезой. Гипотеза о снижении степени диссоциации казеинатов кальция с ростом температуры основано на сходстве химического взаимодействия кальция с фосфатными группами и фосфосериновыми остатками белков.

Механизм потери устойчивости коллоидной мицеллярной системой при кислотной коагуляции нагретого до высокой температуры молока (т.е. термокислотной коагуляции) можно теперь описать следующим образом. Рост температуры приводит к тому, что в результате смещения равновесия реакции (1) влево дополнительный отрицательный заряд (3) казеиновых молекул уменьшается. Оставшийся на мицеллах дополнительный заряд, по-видимому, все еще достаточен для поддержания коллоидной стабильности системы. Кроме того, стерическую стабильность мицеллам обеспечивает слой заряженных макропептидных остатков к-казеина на поверхности мицелл.

Для компенсации оставшегося заряда нужно внести в систему кислотный агент, что приведет к смещению равновесия реакции (5) вправо и появлению в системе дополнительных ионов кальция, еще более смещающих равновесие реакции (1) влево. Помимо этого внесенные в молоко дополнительные ионы водорода смещают равновесие реакции (4) влево, понижая тем самым заряд макропептидных остатков к-казеина и лишая поверхность мицелл защитного слоя. Отметим, что смещение равновесия реакции (5) влево приводит также к появлению в системе дополнительных ионов водорода, что снижает необходимое для дестабилизации коллоидной системы количество кислотного агента при повышении температуры.

Таким образом, чем выше температура молока, тем меньшее количество кислоты требуется внести для компенсации оставшегося дополнительного заряда мицелл. Именно этот факт и отражен на рис. 1. Интересно отметить, что коагуляция молока, нагретого примерно до 120 °С, может быть, в некоторой степени обусловлена именно этой тенденцией.

С другой стороны, для понижения дополнительного заряда мицелл реакцию (1) можно сместить влево, внося в молоко непосредственно дополнительные ионы кальция (например, в виде раствора хлорида кальция). В этом случае обратная реакция (5) ведет к освобождению дополнительных ионов водорода и, как следствие, смещению реакции (4) влево. В результате снижается заряд слоя макропептидных остатков к-казеинов на поверхности мицелл и система теряет коллоидную стабильность. Именно так можно описать механизм термокальциевой коагуляции молока в рамках гипотезы, определяемой схемами (1), (4) и (5).

Таким образом, термокислотная и термокальциевая коагуляция молока имеют одинаковую природу: и в том и в другом случае происходит понижение дополнительного заряда мицелл, но разными способами. В принципе, оба этих способа можно совместить, добиваясь свертывания молока при различных содержаниях ионов кальция и кислотности, выбирая подходящую температуру коагуляции. Как раз факт совместного влияния уровня кислотности и концентрации ионов кальция в молоке на температуру коагуляции и отражен на рис. 2–4.

В технологической перспективе описанные выше рассуждения могут использоваться для обоснования способов получения продукта с параметрами кислотности, отличающегося от традиционных. То есть наш подход определяет некоторое новое направление в технологии высокотемпературного свертывания молока: «термокислотно-кальциевую» коагуляцию.

Список литературы

1. Исследование процесса термокислотного свертывания молока с использованием различных коагулянтов / Л.А. Остроумов, В.В. Бобылин, И.А. Смирнова, С.Р. Рафалович // Хранение и переработка сельхозсырья. – 1998. – № 7. – С. 26–27.

2. Храмцов, А.Г. Мягкий сыр на основе термокислотной коагуляции белков молока и сыворотки / А.Г. Храмцов, О.А. Суюнчев, А.Ф. Лафишев // Переработка молока. – 2004. – № 1. – С. 10.

3. Феноменологическая модель термокислотной коагуляции белков обезжиренного молока / Л.А. Остроумов, А.М. Осинцев, И.А. Смирнова и др. // Техника и технология пищевых производств. – 2011. – № 1. – С. 133–139.

4. Effect of soluble calcium on the renneting properties of casein micelles as measured by rheology and diffusing wave spectroscopy / S. Sandra, M. Ho, M. Alexander, M. Corredig // Journal of Dairy Science. – 2012. – Vol. 95. – P. 75–82.

5. Осинцев, А.М. Роль ионов кальция в коллоидной стабильности мицелл казеина / А.М. Осинцев, В.И. Брагинский О.Ю. Лапшакова А.Л. Чеботарев // Техника и технология пищевых производств. – 2009. – № 1. – С. 63–67.

6. Термографический метод исследования коагуляции молока / А.М. Осинцев, Н.А. Бахтин, В.И. Брагинский, О.В. Иваненко // Сыроделие и маслоделие. – 2005. – № 5. – С. 20–21.

7. Остроумов, Л.А. Термографический метод определения термокислотной коагуляции молока / Л.А. Остроумов, В.И. Брагинский, А.Л. Чеботарев // Сыроделие и маслоделие. – 2010. – № 5. – С. 43.

8. Dalgleish, D.G. Binding of calcium ions to bovine α_{s1}-casein and precipitability of the protein-calcium ion complexes / D.G. Dalgleish, T.G. Parker // Journal of Dairy Research. – 1980. – Vol. 47. – P. 113–122.

9. Parker, T.G. Binding of calcium ions to bovine β-casein / T.G. Parker, D.G. Dalgleish // Journal of Dairy Research. – 1981. – Vol. 48. – P. 71–76.

10. De Kruif, C.G. κ-Casein as a polyelectrolyte brush on the surface of casein micelles / C.G. De Kruif, E.B. Zhulina // Colloids Surfaces A. – 1996. – Vol. 117. – P. 151–159.

ФГБОУВПО «Кемеровский технологический институт
пищевой промышленности»,
650056, Россия, г. Кемерово, б-р Строителей, 47.
Тел/факс: (3842)73-40-40,
e-mail: office@kemtipp.ru

SUMMARY

A.M. Osintsev, V.I. Braginsky, A.L. Chebotarev, M.A. Osintseva, A.P. Syrtseva

INVESTIGATION OF HEAT-ACID MILK COAGULATION BY MEANS OF THERMOGRAPHIC METHOD

Temperature dependence of reconstituted skim milk coagulation on its initial acidity and concentration of calcium ions is investigated. It is shown that the temperature of milk coagulation decreases with increase of both milk acidity, and ionised calcium concentration in milk. Moreover, there is a possibility to change the temperature of milk coagulation by simultaneous variation of both specified parameters.On the basis of the experimental data some hypotheses are formulated and the physical and chemical model is offered describing heat-acid and heat-calcium milk coagulation within the limits of the uniform scheme.

Heat-acid coagulation, thermographic method, calcium ion effect.

Kemerovo Institute of Food Science and Technology,
650056, Russia, Kemerovo, Boulevard Stroiteley, 47.
Phone/fax: +7(3842) 73-40-40,
e-mail: office@kemtipp.ru

Дата поступления: 02.10.2013