



УДК 637.146

**И.А. Смирнова, И.В. Гралеvская,  
В.К. Штригуль, Д.А. Смирнов****ИССЛЕДОВАНИЕ СПОСОБОВ КОАГУЛЯЦИИ МОЛОКА  
С ЦЕЛЬЮ ФОРМИРОВАНИЯ МИКРОПАРТИКУЛЯТОВ  
БЕЛКОВ МОЛОКА**

Целью настоящей работы является исследование и разработка технологии производства низкокалорийного имитатора жира на основе казеина для улучшения органолептических свойств молочных продуктов. Прежде чем разработать технологию, необходимо выбрать оптимальный способ коагуляции белков молока. Объектом исследования служило обезжиренное молоко, которое подвергали коагуляции кальциевой, кислотной, сычужной. Для оценки эффективности использовали показатель вязкости. Анализ полученных результатов показал, что наиболее рациональным способом коагуляции для формирования частиц требуемых размеров и форм является сычужная коагуляция. Для этого предлагается запуск и остановка сычужной коагуляции в тот момент, когда белковые частицы уже увеличились в размере, но еще не сформировали сгусток. На основе представленных данных была разработана технология производства белковых микропартикул, которые могут быть использованы в качестве имитаторов жира в молочных продуктах.

Микропартикуляты молочного белка, коагуляция, казеин, имитаторы жира.

**Введение**

Жиры в отличие от казеина не являются необходимым компонентом молочных продуктов: их вырабатывают как из цельного, так и из обезжиренного молока. Однако для низкокалорийных молочных продуктов характерны такие пороки, как невыраженный вкус, чрезмерно жидкая консистенция и другие.

Одним из способов улучшения органолептических свойств нежирных молочных продуктов является использование при их производстве имитаторов жира.

Имитаторы жира – вещества, при употреблении которых во рту создается иллюзия присутствия жира. При этом они либо не содержат, либо содержат незначительное количество калорий.

История имитаторов жира насчитывает 65 лет. В 1943 году Marion White в своей книге «Диета без отчаяния» («Diet without Dispair») предложил использовать не перевариваемое человеческим организмом минеральное масло вместо усваивающихся растительных масел. Однако минеральное масло вызывало расстройства желудочно-кишечного тракта. Следующий шаг был сделан в 1955 году, который можно по праву считать годом рождения индустрии жирозаменителей. О.А. Batista, прокрутив волокна искусственного шелка в миксере, обнаружил, что полученный продукт на вид и на ощупь имитирует свойства жира. Однако его вкусовые качества оставляли желать лучшего. В 1970 году компания Proctor & Gamble разработала первый «фальшивый жир» Olestra® с органолептическими свойствами, идентичными натуральному жиру, однако итогом исследования стала по большому счету лишь зачаточная формула [1].

Имитаторы жира вырабатываются на углеводной, белковой и жировой основе или их комбинациях.

**Углеводные имитаторы жира** получают из камедей, агара, модифицированного пищевого крахмала или зерновых волокон. Углеводные жирозаменители абсорбируют воду и имитируют объем и структуру жира. Используются в производстве мясных деликатесов, спредов, супов, салатных заправок, глазури и замороженных десертов. Данные заменители не пригодны для жарения [2].

Фирмой Cerestar Deutschland GmbH (ФРГ) в 1990 году был предложен заменитель пищевых жиров Snowflake-01906 [2], представляющий собой продукт ферментативного расщепления картофельного крахмала с высоким содержанием мальтодекстрина.

Фирмой Herkules предложен низкокалорийный заменитель жира Slendin, основой которого является пектин. Его получают из кожуры цитрусовых с добавкой сахарозы [2].

Разработан заменитель жира Oatrim [3] – овсяный мальтодекстрин, содержащий 1–12 % растворимых волокнистых частиц бета-глюкана в зависимости от вида зерен овса.

**Имитаторы жира на основе полиэфиров сахарозы и кислот.** В 1970 году компания Proctor & Gamble разработала первый прототип «фальшивого жира» Olestra®, представляющий собой смесь гекса-, гепта- и октаэфиров сахарозы и природных жирных кислот С–С.

L.P. Kleman с соавторами также запатентовали низкокалорийный заменитель жира на основе сложных эфиров [4].

D. Samain, Y. Gibilaro предложили заменитель жира [5], который включает гидрофильную нерастворимую основу (матрицу), окруженную гидрофобным слоем природных жирных кислот.

Также предложены низкокалорийные заменители жиров на основе полвинилолеила, сложных эфиров триоксиметаллканов, триглицеридных смесей, силкоксиэфиров, ацилированных эфиров аминокислот [6].

**Белковые имитаторы жира** вырабатываются путем нагревания и измельчения (микрогранулирования) молока и яичного белка или смеси яичного и сывороточного белков и ксантановой камеди. Они не пригодны для приготовления выпечки и жарения, поскольку при высокой температуре белки денатурируют, их структура разрушается и они теряют способность имитировать жир.

Известные марки белковых имитаторов жира – Simplese<sup>®</sup>, Dairy-Lo<sup>®</sup>, K-Blazer<sup>®</sup>, ULTRA-BAKE<sup>™</sup>, ULTRA-FREEZE<sup>™</sup>, Lita<sup>®</sup>. Технология производства Dairy-Lo<sup>®</sup> сводится к контролируемой термической денатурации белков молока. ULTRA-BAKE<sup>™</sup> вырабатывается из растительных белков [1].

Метод производства микрогранулированных сывороточных белков (МСБ) – Microparticulated whey protein был разработан в 1984 году канадскими изобретателями Norman S. Singer, Shoji Yamamoto и Joseph Latella [7]. Согласно патенту (№ 4734287) Simplese является вторичным молочным продуктом, полученным из сыворотки и/или яичного белка в процессе микрогранулирования. В процессе производства Simplese<sup>®</sup>-100 растворимые молекулы белка были денатурированы и агрегированы в строго контролируемых условиях.

Микрогранулированный белок Simplese<sup>®</sup>-100 действует как суррогатная дисперсная фаза, заменяющая жировые капельки, которые традиционно выполняют функции дисперсной фазы и имитируют мажущую маслянистую консистенцию продуктов. Данная способность заменителя жира обусловлена размером и формой составляющих его частиц. Для создания заменителя жира высокого качества необходимо, чтобы размеры его частиц были в интервале 0,5–2,0 мкм и имели сферическую или близкую к ней форму [8].

Проведенный обзор современных литературных источников и данных по состоянию рынка диетических молочных продуктов свидетельствует о том, что в настоящее время проблема создания низкокалорийных, в том числе обезжиренных, молочных продуктов является актуальной.

Целью настоящей работы является исследование и разработка технологии производства низкокалорийного имитатора жира на основе казеина для улучшения органолептических и реологических свойств молочных продуктов.

#### **Объекты и методы исследования**

Для реализации поставленной цели сформулированы следующие задачи:

- исследовать особенности контроля различных способов коагуляции белков молока;
- сравнить способы коагуляции молока, обосновать наиболее рациональный с точки зрения технологии;
- разработать технологию микропартикулирования казеина.

Теоретические и экспериментальные исследования проведены в МГТУ им. Г.И. Носова города Магнитогорска на кафедре стандартизации, сертификации и технологии пищевых продуктов и в ОАО «Магнитогорский молочный завод».

На первом этапе работы были изучены основные приемы контроля различных способов коагуляции белков молока. Нами рассмотрены сычужная, кислотная, термокислотная и хлоркальциевая коагуляции.

На втором этапе проведен анализ полученных данных по всем видам коагуляции молока. Выбран и обоснован способ коагуляции молока, наиболее приемлемый с точки зрения технологии микропартикулирования молочного белка.

На третьем этапе была разработана технология имитатора жира на основе казеина.

При выполнении работы были использованы стандартные, общепринятые и модифицированные методы исследований физико-химических и реологических свойств сырья.

Органолептический анализ проводился по ГОСТ Р ИСО 3972-2005. Активную кислотность определяли электрометрически на потенциометре в диапазоне измерений от 3 до 8 единиц pH по ГОСТ 26781-85. Масловую долю белка в молоке определяли рефрактометрическим методом по ГОСТ 25179-90. Вязкость молочного сырья определяли на капиллярном вискозиметре ВПЖ-4 по ГОСТ 33-2000. Математическая обработка и графическая визуализация результатов экспериментов были проведены с помощью программы «электронные таблицы» MS Excel.

#### **Результаты и их обсуждение**

В данной работе предлагается использование процесса коагуляции молока для формирования белковых микропартикулятов, которые могут выступать в роли имитаторов жира в молоке.

Для формирования частиц требуемых размеров и форм предлагается запуск и остановка коагуляции в тот момент, когда белковые частицы увеличились до нужных размеров (1 мкм), но еще не сформировали ступок. При этом необходимо, чтобы система получилась устойчивой во времени. Рассмотрены основные способы коагуляции молока, применяемые в молочной промышленности: кислотная, термокислотная, хлоркальциевая, сычужная.

**Термокислотная коагуляция белков молока.** Исследован процесс свертывания молока под действием кислоты и температуры в качестве коагулирующих агентов.

Как способ прерывания процесса коагуляции предлагается воздействие на температурный фактор, а точнее, мгновенное охлаждение в морозильной камере при температуре минус 18 °С в течение 5 минут.

Тип кислоты, ее концентрация и дозы внесения были выбраны в соответствии с уже имеющимися данными исследований термокислотной коагуляции белков молока [9]. Концентрацию кислоты оставляли постоянной, при этом изменяли ее дозу. Для экспериментов был выбран 10%-ный раствор уксусной кислоты, интервал варьирования дозы был установлен в пределах от 0,2 до 1,0 %. Коагуляцию проводили при температурах от 25 до 85 °С с шагом 20 °С.

В контрольный образец вносилось такое же количество коагулянта при той же температуре и выдержке (5 минут), но без последующего охлаждения.

Результаты оценивали по косвенному показателю – кинематической вязкости, которая замерялась

одновременно, то есть через 10 мин после внесения коагулянта.

Результаты измерений представлены табл. 1.

Таблица 1

Изменение вязкости исследуемого сырья  
в зависимости от температуры коагуляции при разной дозе уксусной кислоты

Доза раствора уксусной кислоты, %	Вязкость смеси, мм <sup>2</sup> /с							
	(25±2) °С		(45±2) °С		(65±2) °С		(85±2) °С	
	Без охлаждения (контроль)	С охлаждением	Без охлаждения (контроль)	С охлаждением	Без охлаждения (контроль)	С охлаждением	Без охлаждения (контроль)	С охлаждением
0,2	3,01	3,31	3,51	3,61	4,10	4,40	Явная коагуляция	
0,4	3,03	3,56	3,59	3,86	4,14	4,42	Явная коагуляция	
0,6	3,29	3,59	3,65	3,93	4,40	4,69	Явная коагуляция	
0,8	3,31	3,84	3,86	4,10	4,67	4,69	Явная коагуляция	
1,0	3,59	3,86	3,94	4,14	4,69	4,97	Явная коагуляция	

Как видно из таблицы, доза 10%-ной уксусной кислоты при неизменной температуре проведения эксперимента оказывает незначительное влияние на свертывание молока. При температуре 25 °С добавление кислоты от 0,2 до 1,0 % увеличивало вязкость смеси линейно примерно на 6–8 %. Аналогичные показатели наблюдаются при температурах 45 и 65 °С. При 85 °С образовался видимый сгусток.

Повышение вязкости молока объясняется укрупнением белковых частиц. Это косвенно указывает на снижение стабильности и изменение нативных свойств белка, в результате чего происходит, видимо, разворачивание молекул белка, ассоциация их и образование белковых комплексов. Кроме того, вязкость молока увеличивается в связи с изменениями составных частей молока при охлаждении.

Более значимой для проведения термокислотной коагуляции молока оказалась температура. При изменении температуры от 25 до 45 °С при одних и тех же дозах внесения уксусной кислоты вязкость смеси менялась примерно на 10–15 %. При изменении температуры от 25 до 65 °С при тех же дозах внесения уксусной кислоты вязкость менялась линейно примерно на 34–36 %.

Термическое воздействие на молекулы белков является главным дегидратирующим фактором. Под действием высокой температуры происходит разрыв внутримолекулярных связей и одновременно денатурация белков, эффективность которой усиливается с повышением температуры.

Теоретически коагуляцию можно приостановить, резко уменьшив температуру, так как она несет большой вклад в коагуляционные процессы молока. Однако практически видно, что после выдержки смеси в морозильной камере вязкость нарастала. Это может быть связано с физико-химическими процессами в молоке, происходящими во время охлаждения. Кроме того, любая коллоидная система, в том числе и молоко, характеризуется инертностью. Поэтому требуется время, чтобы изменить ее темпера-

туру. В то время, пока молочная смесь охлаждается, еще может происходить образование конгломератов белка. Следовательно, при кислотной коагуляции невозможно получить стабильную систему. Ввиду высокой скорости изменения состояния белков молока под действием кислоты и температуры не представляется возможным регулирование процесса термокислотной коагуляции, особенно в промышленных условиях.

**Кислотная коагуляция.** Как один из возможных способов формирования белковых имитаторов жира на основе молочного белка была исследована кислотная коагуляция. Для экспериментов были выбраны представители разных групп молочнокислых микроорганизмов, различные по отношению к температуре и степени кислотообразования: *L. lactis*, *Str. thermophilus*, *L. acidophilus*.

Чтобы остановить коагуляцию молока, необходимо воздействовать на коагулирующий агент, им в данном случае являются молочнокислые микроорганизмы. Таким образом, факторы кислотной коагуляции молока сводятся к факторам жизнедеятельности микроорганизмов, используемых в качестве коагулянтов. В лабораторных и промышленных условиях удобнее всего использовать температуру для остановки коагуляции. Поэтому образцы помещали в морозильную камеру на 5 минут при температуре минус 18 °С.

Для формирования белковых частиц требуемых размеров и форм предлагается останавливать коагуляцию за 1 час до того, как происходит значительное увеличение вязкости, то есть через 6 часов для *L. lactis*, 3 часа для *Str. thermophilus* и 4 часа для *L. acidophilus* от начала заквашивания.

Пастеризованное и охлажденное молоко заквашивали чистыми культурами молочнокислых микроорганизмов, которые вносили в виде производственной закваски в количестве 1 %. После этого образцы помещали в термостаты с установленной оптимальной температурой развития микроорганизмов.

Для каждого образца готовился свой контрольный образец. В него вносился 1 % определенной закваски, он также помещался в термостат на то же

время выдержки, что и испытуемые, но не подвергался мгновенному охлаждению в конце заквашивания. Результаты измерений показаны в табл. 2.

Таблица 2

Изменение вязкости в молоке с разной заквасочной культурой с охлаждением и без охлаждения

Заквасочная культура	Вязкость смеси, мм <sup>2</sup> /с	
	Без охлаждения (контроль)	С охлаждением
<i>Str. thermophilus</i>	5,93	6,30
<i>L. lactis</i>	6,15	6,43
<i>L. acidophilus</i>	6,97	7,15

Как видно из таблицы, вязкость молочной смеси, подвергнутой охлаждению, оказалась выше, чем у образцов без охлаждения. Это может быть связано с физико-химическими изменениями, происходящими в молоке при охлаждении, – нарушение гидрофобных связей в мицеллах казеина, в результате чего происходит десорбция ферментов и повышение их активности. Вследствие этого вероятность протеолиза повышается.

Увеличение вязкости связано с агрегацией молекул белка в результате кислотной коагуляции. Молочная кислота, которая накапливается в молоке в результате сбраживания лактозы молочнокислыми микроорганизмами, снижает отрицательный заряд мицелл казеина и переводит его в изоэлектрическое состояние (рН 4,6–4,7). В этот момент снижается потенциал отталкивания между частицами и макромолекулы белка теряют свою растворимость и устойчивость. В контрольном образце медленно, но все же происходило нарастание вязкости из-за развития остаточной микрофлоры молока после пастеризации.

Кислотная коагуляция – сложно контролируемый процесс. Кроме описываемых ранее, на него может влиять множество факторов, которые сложно учесть в производственных условиях. Молоко является средой для развития микроорганизмов и существенно влияет на ход свертывания. Его состав меняется в зависимости от породы коровы, ее индивидуальных особенностей и состояния здоровья, периода лактации, способа ухода и вида корма, санитарных условий получения молока-сырья. Стоит учесть, что на молокоперерабатывающие заводы чаще всего поступает сборное молоко, качество которого сложно контролировать и учесть все значимые факторы.

Развитие молочнокислой микрофлоры является главным условием кислотной коагуляции молока. Заквасочные культуры, используемые в молочной промышленности, в ходе их транспортировки и хранения могут менять свои свойства. Даже во время правильного хранения активность заквасок постепенно падает. В разные партии заквасок могут попасть разные штаммы микроорганизмов с разной возможностью кислотообразования. Однако чаще всего причиной снижения активности микрофлоры заквасок является действие бактериофагов. Снижение активности молочнокислого брожения из-за дей-

ствия бактериофагов наблюдается при выработке 5–15 % ферментированных молочных продуктов [10].

Таким образом, производство белковых имитаторов жира на основе кислотной коагуляции молока сложно организовать и контролировать в производственных условиях.

**Хлоркальциевая коагуляция.** Для исследования возможности применения хлоркальциевой коагуляции белков молока для формирования белковых имитаторов жира на основе казеина был исследован процесс свертывания молока под действием CaCl<sub>2</sub> в качестве коагулянта.

Как более целесообразный способ прерывания процесса коагуляции предлагается мгновенное охлаждение посредством выдержки молочной смеси в морозильной камере 5 минут при минус 18 °С.

Чем больше концентрация CaCl<sub>2</sub>, тем меньше ее требуется. Поэтому мы оставили постоянной концентрацию раствора 40 %, а меняли только его количество – от 0,5 до 1,25 см<sup>3</sup> с шагом 0,25. Для проверки значимости температуры в процессе свертывания молока под действием хлористого кальция опыты проводили с разной температурой – от 25 до 85 °С с шагом в 20 °С.

Для каждого исследуемого образца готовилась отдельная контрольная проба. В нее вносилась та же доза CaCl<sub>2</sub> при той же температуре, но без последующего охлаждения. Для достоверности результатов их контроль производился одновременно через 10 минут после начала эксперимента.

Исследуемым откликом была выбрана вязкость. Результаты представлены в табл. 3.

Как видно из таблицы, доза 40%-ного раствора хлористого кальция при температурах проведения эксперимента 25 и 45 °С оказывает незначительное влияние на свертывание молока. При температуре 25 °С добавление исследуемого реагента от 0,25 до 1,25 % с шагом 0,25 % увеличивало вязкость смеси линейно примерно на 1–2,8 %. Аналогичные показатели наблюдались при температуре 45 °С. При температуре 65 °С изменения вязкости были уже более значительными – добавление 40%-ного раствора хлористого кальция от 0,25 до 1,25 % с шагом 0,25 увеличивало вязкость смеси линейно примерно на 15–17 %. При 85 °С образовался плотный сгусток даже при малом количестве внесения CaCl<sub>2</sub>.

Таблица 3

Влияние дозы 40%-ного раствора  $\text{CaCl}_2$  и температуры на вязкость молочной смеси при хлоркальциевой коагуляции

Доза раствора $\text{CaCl}_2$ , %	Вязкость смеси, мм <sup>2</sup> /с							
	(25±2) °С		(45±2) °С		(65±2) °С		(85±2) °С	
	Без охлаждения (контроль)	С охлаждением	Без охлаждения (контроль)	С охлаждением	Без охлаждения (контроль)	С охлаждением	Без охлаждения (контроль)	С охлаждением
0,25	3,03	3,05	3,30	3,35	3,52	4,21	Явная коагуляция	
0,50	3,07	3,11	3,37	3,42	4,01	4,71	Явная коагуляция	
0,75	3,12	3,15	3,44	3,50	4,74	4,98	Явная коагуляция	
1,00	3,21	3,26	3,48	3,55	5,10	5,50	Явная коагуляция	
1,25	3,30	3,32	3,58	3,61	5,91	6,82	Явная коагуляция	

Повышение вязкости молока объясняется укрупнением белковых частиц. При внесении в свежее молоко  $\text{CaCl}_2$  снижается устойчивость коллоидной дисперсии казеинаткальцийфосфатного комплекса. При этом происходит катионный обмен между Н-ионами казеинового комплекса и Са-ионами раствора хлористого кальция. В результате катионного обмена казеинаткальцийфосфатный комплекс дополнительно обогащается кальцием за счет высвобождения Н-ионов. При этом происходит подкисление молока и снижение рН с 6,5 до 5,0, а также агрегация частиц комплекса.

Более значимой для проведения хлоркальциевой коагуляции молока оказалась температура. Изменяя температуру от 25 до 45 °С при одних и тех же дозах внесения хлористого кальция, мы наблюдали изменение вязкости смеси примерно на 10 %. Если сравнивать показатели вязкости при температурах 25 и 65 °С при тех же дозах хлористого кальция, она увеличивалась от 16 до 79 %.

Термическое воздействие на молекулы белков является главным дегидратирующим фактором. Под действием высокой температуры происходит разрыв внутримолекулярных связей и одновременно денатурация белков, эффективность которой усиливается с повышением температуры. Это связано с реакцией белков, особенно сывороточных, на воздействие температуры.

Теоретически коагуляцию можно приостановить, резко уменьшив температуру, так как она несет большой вклад в коагуляционные процессы молока. Однако практически видно, что после выдержки смеси в морозильной камере вязкость нарастала. Объяснить это можно, учитывая физико-химические свойства молока, которые описаны выше. Следовательно, при хлоркальциевой коагуляции невозможно получить стабильную систему.

Таким образом, можно заключить, что хлоркальциевая коагуляция – процесс, сложно поддающийся контролю и регулированию. Охлаждение может лишь замедлить процесс коагуляции, но не прекратить его. Существенным недостатком является неприятный привкус даже при незначительном добавлении  $\text{CaCl}_2$ .

**Сычужная коагуляция белков молока.** Для исследования целесообразности применения сычужной коагуляции белков молока для формирования частиц

требуемых размеров и форм был исследован процесс сычужного свертывания молока под действием сычужного фермента в качестве коагулянта.

Сычужная коагуляция молока носит необратимый характер и включает две стадии: ферментативную и коагуляционную (рис. 1).



Рис. 1. Процесс сычужной коагуляции

Механизм как первой, так и второй стадии окончательно не установлен. Согласно гидролитической теории на первой стадии под действием сычужного фермента происходит разрыв пептидной связи фенилаланин (105) – метионин (106) в полипептидных цепях к-казеина ККФК. В результате протеолиза молекулы казеина распадаются на гидрофобный пара- $\chi$ -казеин и гидрофильный гликомакропептид.

Отщепление от мицелл МП снижает  $\xi$ -потенциал новых мицелл с минус 10–20 мВ до минус 5–7 кВ, вызывает потерю большей части гидратного слоя и ликвидирует ворсистый внешний слой мицелл, обуславливающий пространственную стабильность системы.

На второй стадии дестабилизированные мицеллы казеина (параказеина) собираются в агрегаты и образуется сгусток, т.е. происходит гелеобразование [11].

Немаловажным является выбор молокосвертывающего фермента из представленных в молочной промышленности.

Перечень наших достижений достаточно широкое применение в молочной промышленности молокосвертывающих энзимов приведен в табл. 4.

Для сычужной коагуляции пригодны энзимы, быстро разрывающие связь между гидрофобной и гидрофильной частями  $\chi$ -казеина (Фен-Мет) и не оказывающие отрицательного влияния на выход и органолептические показатели продукта. Энзимы,

удовлетворяющие этим требованиям, называются молокосвертывающими ферментами.

Таблица 4

Номенклатура и источники молокосвертывающих энзимов

Название	Название (МКФ)*	Другие названия	Источники
Пепсин	Пепсин А ЕС 3.4.23.1	Пепсин П	Жвачные, цыплята, свиньи
Гастрексин	Пепсин С ЕС 3.4.23.3	Пепсин I, парапепсин, пепсин В	Жвачные, свиньи
Химозин	Химозин ЕС 3.4.23.4	Реннин	Жвачные
<i>M. miehei</i> протеиназа (ММР)	ЕС 3.4.23.6	Реннилаза (Novo), ханилаза (Chr. hansen), фромаза (Walterslein), Map ним (Miles)	<i>Mucor miehei</i>
<i>W. pmillus</i> протеиназа (МРР)	ЕС 3.4.23.6	Емпораза (Dairyland), Meftw (Meito Sango), Ноупии (VilM)	<i>Mucor pus ill in var. Lindi</i>
<i>E. parasitica</i> протеиназа ГЕРИ	ЕС 3.4.23.6	Супарен (Pfizer) Суп Курд	<i>Endolhia parasitica</i>

\*МКФ – Международная классификация энзимов (ферментов).

Способность быстро гидролизовать  $\chi$ -казеин – общее свойство молокосвертывающих энзимов, применяемых в молочной промышленности, называют молокосвертывающей активностью в отличие от способности расщеплять другие связи в белках, получившей название общей протеолитической активности. Общая протеолитическая активность молокосвертывающих энзимов по отношению к молокосвертывающей должна быть как можно более низкой.

Химозин обладает самой низкой общей протеолитической активностью по отношению к молокосвертывающей активности. Именно поэтому для нашей технологии больше всего подходит химозин

Факторы в сычужной коагуляции в основном сводятся к работе молокосвертывающего фермента, так как он является основным коагулирующим агентом. Работу молокосвертывающих энзимов можно корректировать, изменяя ионную силу среды, температуру, продолжительность выдержки и концентрацию энзимов.

Исследования молокосвертывающей и общей протеолитической активности показывают явное преимущество химозина (сычужного порошка) перед другими энзимами, он максимально активен при 45 °С.

Необходимое количество фермента в значительной степени зависит от физико-химических свойств молока, но обычно на 100 кг молока вносят примерно 2,5 г препарата с активностью 100 тыс. условных единиц. Чтобы проверить влияние дозы сычужного фермента и продолжительность его действия на коагуляцию молока, провели следующие опыты. В ходе опытов дозы сычужного фермента, принятые в

молочной промышленности, были уменьшены, чтобы не допускать полной коагуляции белков молока. В подготовленное молоко вносили готовый раствор фермента в количестве от 0,02 до 0,1 % от объема смеси с шагом 0,04 % при 40–42 °С для большей эффективности работы фермента.

Контроль осуществляли по вязкости через 10, 20 и 30 минут после внесения всех реагентов.

Результаты представлены в табл. 5.

Таблица 5

Изменение вязкости в зависимости от дозы сычужного фермента и выдержки смеси

Продолжительность выдержки, мин	Доза сычужного фермента (в виде раствора с активностью 100–150 Е), %		
	0,02	0,06	0,1
10	3,07	3,47	4,07
20	3,29	4,46	8,87
30	3,53	5,67	Явная коагуляция
Время полного свертывания, мин	70	60	30

Следует отметить, что чем ниже доза внесения сычужного фермента, тем больше времени требуется для образования сгустка.

Все молокосвертывающие энзимы принадлежат к кислым протеазам, проявляющим максимальную активность в кислой среде. Молокосвертывающие энзимы животного происхождения выделяются в виде проферментов. Активизацию проферментов инициируют водородные ионы, это процесс автокаталитический. Оптимальный pH для гидролиза  $\chi$ -казеина химозином равен примерно 6,0. Общим свойством молокосвертывающих энзимов является снижение общей протеолитической активности при pH среды выше оптимального уровня. В дальнейшем предлагается использование этого свойства для остановки коагуляции.

Для того чтобы увеличить эффективность работы молокосвертывающих ферментов и контролировать процесс коагуляции, необходимо учесть их всевозможные факторы работы [10].

1. *Активность среды (pH)*. Все молокосвертывающие энзимы, достаточно широко используемые в молочной промышленности, принадлежат к кислым протеазам, проявляющим максимальную активность в кислой среде. Оптимальный pH для гидролиза  $\chi$ -казеина химозином равен примерно 6,0, однако в интервале pH от 5,6 до 6,4 разница в скорости реакции невелика.

Общим свойством молокосвертывающих энзимов является снижение общей протеолитической активности при pH среды выше оптимального уровня. Одной из причин этого является инактивация энзимов при высоком pH.

На обе фазы сычужного свертывания влияет ионная сила молока. Влияние ее на энзиматическую фазу обусловлено тем, что энзим и субстрат имеют

отрицательные заряды и поэтому отталкиваются друг от друга. С увеличением ионной силы среды скорость агрегации параказеиновых мицелл может увеличиться и уменьшиться, что зависит от специфичности ионов. Сычужное свертывание молока стимулировали Ca, Mg, Mn, Cd, ингибировали Cu, Ni, Hg. Показано, что добавление в молоко Na, K, Li, Cs снижало концентрацию параказеиновых мицелл, необходимую для осуществления второй фазы сычужного свертывания.

Для изучения влияния pH среды на процесс сычужной коагуляции белков молока был проделан ряд опытов, в ходе которых была изменена активная кислотность среды от 5,80 до 7,00 с шагом 0,40 путем внесения 10%-ного раствора уксусной кислоты. Дозы фермента оставили прежними.

Анализируемым откликом была выбрана кинематическая вязкость, которую измеряли после выдержки. По полученным данным в ходе эксперимента были построены кривые, отражающие влияние дозы сычужного фермента на вязкость смеси при различной активной кислотности среды (рис. 2).

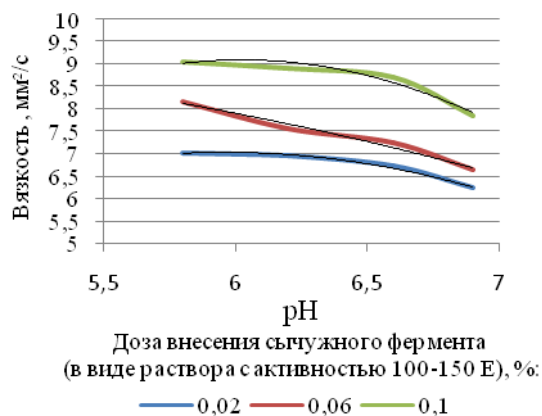


Рис. 2. Влияние дозы сычужного фермента и pH среды на вязкость смеси

Как видно из представленного графика, с уменьшением pH растет вязкость смеси. Это вполне объяснимо, в области pH 5,80 система приближается к изоэлектрической точке, преобладает термокислотная коагуляция. Были выявлены существенные недостатки такого свертывания. Эта область достаточно рискованна для предлагаемой технологии. Поэтому предложено проводить операции по формированию частиц требуемых размеров и форм при pH 6,20.

2. *Температура.* Молокосвертывающие ферменты различаются по отношению к температуре. Молокосвертывающая активность сычужного порошка максимальна при 45 °С.

3. *CaCl<sub>2</sub>.* Кальций не участвует в ферментативной фазе сычужного свертывания, однако изменение его содержания в среде может изменить физико-химические условия через содержание Ca и изменение pH молока. Вторая стадия — флокуляция — может проходить только при наличии в молоке определенного количества ионов Ca. Нормальная концентрация Ca равна 11 мг/100 г, молоко с содержанием меньше 8 мг/100 г Ca является сычуж-

новляемым. Во время пастеризации концентрация ионов Ca в молоке снижается за счет перехода части растворенного в молоке фосфата Ca в нерастворимую форму, что немного замедляет свертывание молока. Для восстановления сычужной свертываемости пастеризованного молока в него вносят хлористый кальций (0,08 %).

Роль ионов Ca в образовании сгустка состоит в том, что они осуществляют перекрестные связи мицелл друг с другом через фосфосерильные остатки казеинов.

Чтобы проверить влияние CaCl<sub>2</sub> на сычужную свертываемость молока, провели следующую серию опытов. В исследуемый образец вносилось рекомендуемое в молочной промышленности количество CaCl<sub>2</sub>. Далее при pH 6,20 добавлялось разное количество раствора сычужного фермента. В контрольный образец вносилось такое же количество фермента при том же pH, но без CaCl<sub>2</sub>. Вязкость измеряли через 5 минут после внесения реагентов. Полученные результаты представлены в табл. 6.

Таблица 6

Влияние хлористого кальция на вязкость смеси при сычужной коагуляции молока

Доза сычужного фермента (в виде раствора с активностью 100–150 Е), %	Вязкость, мм <sup>2</sup> /с	
	6,20	
	CaCl <sub>2</sub>	Контроль
0,02	6,95	6,97
0,06	7,52	7,48
0,1	8,92	8,87

Из таблицы видно, что изменение вязкости молока с внесением CaCl<sub>2</sub> и без него незначительно (в пределах погрешности). Это подтверждает литературные данные о влиянии хлористого кальция на сычужную коагуляцию молока: CaCl<sub>2</sub> на первый этап коагуляции влияет только посредством изменения pH. Так как в нашем эксперименте pH мы оставляли постоянной (оптимальной для работы сычужного фермента), CaCl<sub>2</sub> никак не повлиял на вязкость молочной смеси.

В представленном эксперименте предварительная пастеризация не проводилась. Поэтому весь Ca остался в растворенной форме и его оказалось достаточно для сычужной коагуляции молока. Однако на молокоперерабатывающих заводах, куда приходит сборное молоко (в том числе и сычужновялое), сложно проконтролировать его способность к сычужному свертыванию. Поэтому предлагается вносить минимальную рекомендуемую дозу хлористого кальция в молоко на этапе микропартикуляции казеина во избежание убытков предприятий.

4. *Состав и свойства молока.* Главным показателем молока, характеризующим его сычужную свертываемость, является содержание казеина. Для получения хорошего сгустка содержание казеина должно быть не ниже 2,5 %; молоко с содержанием меньше 0,7 % казеина сычужный сгусток не образует. С содержанием казеина коррелирует содержание в молоке Ca и P, кислотность свежего молока, т.е. пока-

затели, играющие главную роль в сычужном свертывании молока.

5. *Тепловая обработка молока.* Отрицательное влияние пастеризации на сычужную свертываемость молока в основном связано со снижением в нем содержания ионов Са и денатурированием β-лактоглобулина, который взаимодействует с χ-казеином через дисульфидные связи и χ-казеин становится менее доступным для молокосвертывающих энзимов.

6. *Продолжительность выдержки и концентрация энзимов.* Необходимое количество фермента в значительной степени зависит от физико-химических свойств молока. Обычно на 100 кг молока вносят примерно 2,5 г препарата с активностью 100 тыс. условных единиц. Дозу энзима по сравнению с указанной стараются не повышать, так как может протекать неспецифический протеолиз, что может вызвать горечь в продукте.

**Сравнение представленных способов коагуляции молока.** С целью разработки технологии микропартикулирования молочного белка был исследован процесс коагуляции молока различными способами. При выборе способа коагуляции для формирования частиц требуемых размеров и форм были учтены следующие параметры:

- получение смеси с приемлемыми органолептическими свойствами;
- низкая себестоимость коагулянта;
- использование типового оборудования;
- возможность контроля над процессом коагуляции;
- безопасность использования коагулирующих агентов.

Согласно проведенному анализу и исследованию было установлено, что наиболее рациональным способом коагуляции для формирования частиц требуемых размеров и форм является сычужная коагуляция.

Сычужная коагуляция не требует специального оборудования, ее легко контролировать в процессе выполнения. Путем технологических манипуляций посредством сычужной коагуляции можно получить стабильную систему. Реагенты, используемые для сычужной коагуляции молока, не вносят в продукт посторонних запахов и вкусов. Все вносимые реагенты абсолютно безопасны для здоровья человека.

**Разработка этапа микропартикулирования казеина на основе сычужной коагуляции молока.** На основе представленных данных была разработана

технология производства белковых микропартикулатов, которые могут быть использованы в качестве имитаторов жира в молочных продуктах.

На рис. 3 представлена схема процесса сычужной коагуляции и ее прерывания.

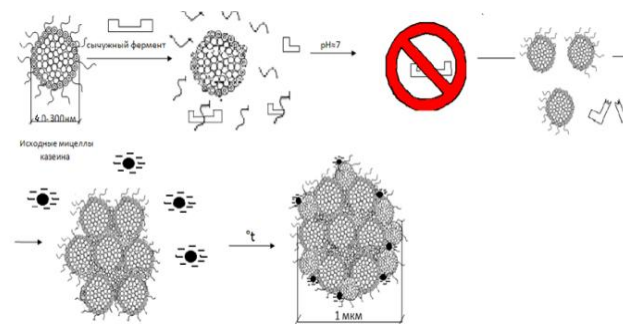


Рис. 3. Схема процесса сычужной коагуляции казеина и ее прерывания

Для формирования частиц требуемых размеров и форм предлагается запуск и остановка сычужной коагуляции в тот момент, когда белковые частицы уже увеличились в размере, но еще не сформировали сгусток. При этом необходимо, чтобы образовалась устойчивая система.

Средний размер нативных мицелл казеина около 40–300 нм. При создании оптимальных условий под действием сычужного фермента (температуры, солей Са, pH) происходит отщепление гликомакропептида с поверхности мицелл и формирование гидрофобных участков, в результате чего мицеллы начинают слипаться.

Для прерывания процесса использовали нейтрализацию среды до pH 7,00 путем внесения щелочных растворов, разрешенных в пищевой промышленности. В результате происходило замедление действия молокосвертывающего фермента. После жесткой термической обработки (96 °С) окончательно инактивируется фермент и на поверхности сформированных микропартикулатов осаждаются денатурированные сычужные белки, придающие микрочастице устойчивость к седиментации и слипанию за счет повышения отрицательного заряда на поверхности частиц. Таким образом, получают частицы нужного размера (1 мкм).

#### Список литературы

1. Dorman, E.S. Fat substitute [Электронный ресурс]. – Режим доступа: [www.madehow.com/Volume-2/index.html](http://www.madehow.com/Volume-2/index.html)
2. Dietary fat replaces. Andrews University Nutrition Department [Электронный ресурс]. – Режим доступа: [www.andrews.edu/NUFS/resource.html](http://www.andrews.edu/NUFS/resource.html)
3. Kucher, J.F. Oatrim – a new fat replacer. Food Ingredients Eur. Conf. Proc., Paris, 8–10 Oct., 1991. – Maarssen, 1991. – С. 168–172.
4. Klemann, L.P. et al. Патент США № 4963386.
5. Samain D., Gibilaro Y. Заявка на патент № 2677225. Франция.
6. Fat substitution gains pace. Food Ingredients and Process. – 1992. – Febr. – С. 28.
7. Патент США № 4734287.
8. Зобкова, З.С. Пищевые вещества, формирующие консистенцию и новые свойства молочных продуктов / З.С. Зобкова, Т.П. Фурсова // Молочная промышленность. – 2007. – № 10. – С. 18.
9. Смирнова, И.А. Биотехнологические аспекты производства термокислотных сыров. – Кемерово, 2002. – 208 с.



10. Гудков, А.В. Сыроделие: технологические, биологические и физико-химические аспекты / под ред. С.А. Гудкова. – 2-е изд., испр. и доп. – М.: ДеЛи принт, 2004. – 804 с.

11. Осинцев, А.М. Теоретическое и экспериментальное исследование процессов, лежащих в основе свертывания молока. – Кемерово, 2003. – С. 14–19.

ФГБОУ ВПО «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

**I.A. Smirnova, I.V. Gralovskaya, V.K. Shtrigul, D.A. Smirnov**

### **INVESTIGATION OF VARIOUS WAYS OF MILK COAGULATION FOR THE PURPOSE OF MILK PROTEIN MICROPARTICLES FORMATION**

The purpose of the present work is the investigation and the development of the production technology of the low-calorie fat imitator on the basis of casein for the improvement of organoleptic properties of dairy products. Before the development of the technology it is necessary to choose an optimum way of milk protein coagulation. The object of the research was skim milk subjected to coagulation. The analysis of the obtained results has shown that the most rational way of coagulation for the formation of particles of the required sizes and forms is rennet coagulation. To form the particles of the required sizes and forms it is offered to start and to stop rennet coagulation at the moment when particles have already increased in size, but haven't yet formed a clot. On the basis of the presented data the production technology of protein microparticles that can be used as fat imitators in dairy products has been developed.

Microparticles of milk protein, coagulation, casein, fat imitator.

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

