Биохимические и физико-химические процессы при производстве кисломолочных продуктов

План

1. Брожение лактозы.

2. Коагуляция казеина.

3. Биохимические свойства кисломолочных продуктов.

4. Биотехнология в переработке молока.

Основные биохимические процессы, протекающие при выработке кисломолочных продуктов - это молочнокислое и спиртовое брожение молочного сахара, протеолиз, коагуляция казеина и гелеобразование, в результате которых формируются консистенция, вкус и запах готовых продуктов.

По характеру брожения лактозы кисломолочные продукты принято делить на 2 группы: 1 - продукты, в основе изготовления которых лежит молочнокислое брожение (простокваша, ацидофилин, йогурт, творог, сметана); 2 - продукты со смешанным брожением - кефир, кумыс, курунга и др.

Протеолиз более интенсивно протекает в продуктах второй группы, по сравнению с большинством продуктов первой группы.

## 1. Брожение лактозы

При производстве большинства молочных продуктов в молоко или сливки вносят специально подобранные штаммы молочнокислых, пропионовокислых бактерий и дрожжей.

В результате жизнедеятельности микроорганизмов происходит глубокий распад молочного сахара, липидов и белков молока с образованием многочисленных химических соединений.

В основе изготовления целого ряда молочных продуктов лежат процессы глубокого распада молочного сахара под действием микроорганизмов, называемые брожением.

Существует несколько типов брожения лактозы, различающихся составом конечных продуктов.

Начальным этапом всех типов брожения является расщепление молочного сахара на глюкозу и галактозу под влиянием фермента лактазы (β-галактозидазы).

Далее брожению подвергается глюкоза.

Галактоза при участии уридиндифосфатглюкозы переходит в глюкозо-1-фосфат, который после изомеризации в глюкозо-6-фосфат включается в схему превращения глюкозы:

Галактоза + АТФ галактокиназа галактозо-1-фосфат + АДФ

Галактозо-1-фосфат + УДФГ галактозо-1-фосфат-уридилилтрансфераза УДФГал + глюкозо-1-фосфат

УДФГал 4-эпимераза УДФГ

Все типы брожения до образования пировиноградной кислоты идут с получением одних и тех же промежуточных продуктов и по одному и тому же пути - пути Эмбдена-Мейергофа.

Дальнейшие превращения пировиноградной кислоты могут идти в разных направлениях, которые будут определяться специфическими особенностями данного микроорганизма и условиями среды.

Конечными продуктами брожения могут быть молочная, пропионовая, уксусная, масляная кислоты, спирт и другие соединения.

Молочнокислое брожение является основным процессом при изготовлении заквасок, сыра и кисломолочных продуктов, а молочнокислые бактерии - наиболее важной группой микроорганизмов для молочной промышленности.

Молочнокислые бактерии по характеру продуктов сбраживания глюкозы относят к гомоферментативным или гетероферментативным.

Гомоферментативные бактерии образуют главным образом молочную кислоту (более 90%) и лишь незначительное количество побочных продуктов.

Гетероферментативные бактерии около 50% глюкозы превращают в молочную кислоту, а остальное количество - в этиловый спирт, уксусную кислоту и СО2.

Для гомоферментативных бактерий (Str. lactis, Str. cremoris, Str. diacetilactis, Lbm. bulgaricum, Lbm. acidophilum, Lbm. casei) характерным является сбраживание глюкозы по гликолитическому пути Эмбдена-Мейергофа:

C6H12O6 + 2Фн + 2АДФ → 2C3H6O3 +2АТФ + H2O

Превращение глюкозы в пировиноградную кислоту в результате ряда последовательных реакций происходит при участии 10 ферментов.

Из 1 моль глюкозы образуется 2 моль молочной кислоты с одновременным синтезом 2 моль АТФ.

Гетероферментативные бактерии не могут сбраживать глюкозу по гликолитическому пути, так как у них отсутствует ключевой фермент альдолаза, необходимый для расщепления фруктозо-1,6-дифосфата на две молекулы триозофосфата.

Поэтому Str. citrovorus, Str. paracitrovorus, Lbm. brevis сбраживают глюкозу пентозофосфатным путем:

C6H12O6 + Фн + АДФ → C3H6O3 + C2H5OH + CO2 +АТФ

В ходе реакций по пентозофосфатному пути из каждого моль глюкозы образуется моль молочной кислоты, моль этанола и CO2.

В аэробных условиях возможно образование двух молекул АТФ, тогда ацетилфосфат превращается не в этанол, а в уксусную кислоту.

Спиртовое брожение глюкозы имеет место при выработке кефира, кумыса, курунги и других кисломолочных продуктов.

Возбудителями спиртового брожения являются дрожжи Sacch. cartilaginosus, Sacch. fragilus, Sacch. cerevisiae и др. Они сбраживают глюкозу с образованием этанола и углекислоты:

C6H12O6 + 2Фн + 2АДФ → 2C2H5OH + 2CO2 +2АТФ.

Возбудителем пропионовокислого брожения являются пропионовокислые бактерии Propionibacterium, которые превращают глюкозу или молочную кислоту в пропионовую и уксусную кислоты.

Пропионовокислое брожение углеводов и молочной кислоты играет важную роль в процессе созревания твердых сыров с высокой температурой второго нагревания:

3C6H12O6 + 8Фн + 8АДФ → 4CH3CH2COOH + 2CH3COOH + 2CO2 + 2H2O + 8АТФ.

Маслянокислое брожение происходит в молочных продуктах под действием маслянокислых бактерий (Cl. butyricum и др.), сбраживающих как глюкозу, так и молочную кислоту.

Известно несколько типов маслянокислого брожения, различающихся образующимися продуктами. Например:

2C6H12O6 + 2H2O + 7Фн + 7АДФ → CH3CH2CH2COOH + 2CH3COOH + 4CO2 + 6H2 + 7АТФ.

При других типах маслянокислого брожения наблюдается образование бутилового и изопропилового спиртов, этанола, ацетона.

Маслянокислое брожение является причиной порчи кисломолочных продуктов и является нежелательным процессом в молочной промышленности.

## 2. Коагуляция казеина

Важнейшими процессами, происходящими при выработке кисломолочных продуктов, являются коагуляция казеина и гелеобразование (переход коллоидной системы молока из свободнодисперсного состояния, золя, в связаннодисперсное состояние - гель).

Коагуляция казеина при производстве кисломолочных продуктов может осуществляться двумя способами - кислотным или сычужным.

Кислотная коагуляция казеина вызывается молочной кислотой, которая накапливается в молочных продуктах в результате брожения лактозы. Молочная кислота снижает отрицательный заряд мицелл казеина и переводит его в изоэлектрическое состояние (рН 4,6-4,7), в котором макромолекулы белка теряют свою растворимость и устойчивость. Кроме того, происходит переход в плазму фосфата кальция и органического кальция казеинаткальцийфосфатного комплекса, что дестабилизирует мицеллы казеина и вызывает их диспергирование.

Сычужная коагуляция казеина включает 2 стадии - ферментативную и коагуляционную. Механизм как первой, так и второй стадии окончательно не установлен. Наиболее убедительной считается теория протеолитического действия сычужного фермента (гидролитическая теория). Согласно этой теории, на первой стадии под действием основного компонента сычужного фермента химозина происходит разрыв пептидной связи фенилаланин-метионин в полипептидных цепях κ-казеина ККФК, в результате чего молекулы κ-казеина расщепляются на гидрофобный пара-κ-казеин и гидрофильный гликомакропротеид. Гидратная оболочка мицелл частично разрушается, силы электростатического отталкивания между частицами уменьшаются и дисперсная система теряет устойчивость. На второй стадии частично дестабилизированные мицеллы казеина (параказеина) собираются в агрегаты, которые затем соединяются продольными и поперечными связями в единую сетку, образуя сгусток.

Процесс гелеобразования - агрегирование частиц казеина и формирование единой пространственной сетки молочного сгустка.

Независимо от способа коагуляции, различают 4 стадии формирования сгустка:

1 - индукционный период;

2 - сдадия флоккуляции - массовая коагуляция;

3 - стадия метастабильного равновесия - уплотнение сгустка;

4 - стадия синерезиса - самопроизвольное уплотнение структуры за счет перегруппировки частиц и увеличения числа контактов между ними, т.е. сжатие геля и выпрессовывание из него дисперсионной среды.

При структурообразовании дисперсных систем могут образовываться два типа пространственных структур - коагуляционные (тиксотропно-обратимые) и конденсационные (необратимо-разрушающиеся). Коагуляционные структуры обладают эластичностью, пластичностью и малой прочностью, так как частицы удерживаются только межмолекулярными силами. В конденсационных структурах частицы соединены прочными химическими связями, которые обеспечивают их прочность, но делают их хрупкими, неэластичными.

Сгустки кисломолочных продуктов имеют, как правило, смешанный характер с преобладанием необратимо-разрушающихся либо тиксотропно-обратимых связей. Соотношение этих связей зависит от целого ряда факторов, правильное использование которых позволяет получать сгустки с заданными свойствами.

## 3. Факторы, влияющие на состав и свойства сгустков

К факторам, влияющим на свойства сгустков, относятся: состав молока и бактериальных заквасок; режимы пастеризации и гомогенизации; способ и продолжительность коагуляции белков молока.

Содержание сухих веществ, количество казеина и размер мицелл казеина обусловливают скорость кислотной коагуляции белков, определяющую прочность полученных сгустков. От состава молока зависит развитие молочнокислых бактерий закваски и, следовательно, скорость накопления молочной кислоты.

Длительное хранение сырого молока при низких температурах вызывает изменение структуры и состава мицелл казеина, в результате увеличивается вязкость и прочность образующихся кислотных сгустков, синерезис замедляется. Следовательно, молоко, хранившееся при низких температурах, целесообразно направлять на производство кисломолочных напитков, а не использовать для выработки творога.

Введение в состав заквасок энергичных кислотообразователей способствует получению плотного сгустка с интенсивным отделением сыворотки, а малоэнергичных кислотообразователей - более нежного сгустка. Путем комбинирования различных видов молочнокислых бактерий можно получить продукт нужной консистенции.

С повышением температуры пастеризации увеличивается прочность кислотного и кислотно-сычужного сгустков и снижается интенсивность отделения ими сыворотки. Это можно объяснить увеличением содержания в сгустках денатурированных сывороточных белков, главным образом β-лактоглобулина, которые усиливают жесткость их пространственной структуры и влагоудерживающую структуру.

Вязкость кисломолочных продуктов повышается пропорционально давлению гомогенизации сырья. При гомогенизации увеличивается дисперсность жира с одновременной адсорбцией на поверхности шариков жира сывороточных белков, затрудняющих синерезис сгустка.

Сгустки, образующиеся при кислотной коагуляции белков, состоят из более мелких частиц, имеют меньшие вязкость и прочность, чем сгустки, полученные при кислотно-сычужной коагуляции.

Определение момента готовности сгустка перед перемешиванием или разрезкой осуществляется визуально, по прочности, а также по вязкости и нарастанию кислотности. Для кефира рН сгустка должен быть 4,4-4,5, для ацидофилина - 4,7-4,55, ряженки - 4,45-4,35, для жирного и полужирного творога - 5,05-5,15.

## 4. Формирование биохимических свойств кисломолочных продуктов

Биохимические свойства кисломолочных продуктов определяются накоплением молочной кислоты, этилового спирта, углекислоты, ароматических веществ, растворимых форм азота, витаминов, антибиотиков и т.д.

**Состав некоторых кисломолочных продуктов**

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Продукт | Кислотность, 0Т | Содержание, % | | | |
| Молочной  кислоты | Лактозы | Спирта | Углекислоты |
| Простокваша обыкновенная, Мечниковская | 80-110 | 0,97 | 4-4,1 | - | - |
| Ацидофилин | 75-120 | 1 | 3,8 | - | - |
| Йогурт | 80-140 | 1 | 3,5 | - | - |
| Кефир жирный | 85-120 | 0,98 | 4,1 | 0,01-0,03 | 0,05-0,07 |
| Кумыс из коровьего молока | 100-120 | 1 | 3,8 | 0,2-1 | 0,1-0,3 |
| Кумыс из кобыльего молока | 100-120 | 0,87 | 5 | 1,2-1,9 | 0,1-0,3 |
| Курунга | 180-220 | 1,4-1,8 | 1-3 | 0,55-1 | 0,07-0,08 |
| Творог жирный | 200-225 | 1 | 2,8 | - | - |
| Сметана 30% -ной жирности | 65-100 | 0,7 | 3,1 | - | - |

Таблица. Соотношение значений активной и титруемой кислотности молока и молочных продуктов.

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Сырое молоко | | | Пастеризованное молоко | | |
| титруемая кислотность, оТ | пределы  колебаний рН | среднее значение рН | титруемая кислотность,  оТ | пределы  колебаний рН | Среднее  значение  рН |
| 16 | 6,70 - 6,74 | 6,72 | 16 | 6,63 - 6,65 | 6,66 |
| 17 | 6,65 - 6,69 | 6,68 | 17 | 6,58 - 6,62 | 6,61 |
| 18 | 6,58 - 6,64 | 6,62 | 18 | 6,52 - 6,57 | 6,55 |
| 19 | 6,52 - 6,57 | 6,55 | 19 | 6,46 - 6,51 | 6,49 |
| 20 | 6,46 - 6,51 | 6,49 | 20 | 6,40 - 6,45 | 6,43 |
| 21 | 6,40 - 6,45 | 6,43 | 21 | 6,35 - 6,39 | 6,37 |
| 22 | 6,35 - 6,39 | 6,37 | 22 | 6,30 - 6,34 | 6,32 |
| 23 | 6,30 - 6,34 | 6,32 | 23 | 6,24 - 6,29 | 6,26 |
| 24 | 6,24 - 6,29 | 6,26 | 24 | 6,19 - 6,23 | 6,21 |

Количество спирта и углекислоты в кисломолочных продуктах определяется видом используемых дрожжей, количеством молочного сахара в исходном сырье, температурой, рН среды, а также продолжительностью созревания продукта.

Накопление ароматических веществ (летучих кислот, ацетальдегида, диацетила и др.) осуществляют ароматобразующие и другие молочнокислые бактерии, дрожжи. Летучие кислоты (уксусная, пропионовая и др.) особенно активно накапливаются в кефире, курунге и твороге, диацетил и ацетоин - в кефире, кумысе, сметане; ацетальдегид - в йогурте.

Протеолитические процессы особенно интенсивно протекают при созревании кумыса. За сутки созревания содержание пептидов в кумыса увеличивается в 1,9 раз, а аминокислот - в 2,5 раза.

По сравнению с витаминным составом молока, кисломолочные продукты характеризуются повышенным количеством витаминов группы B - тиамина, рибофлавина и ниацина, (аскорбиновой кислоты, цианокобаламина).

Многие кисломолочные продукты содержат антибиотические вещества, способные задерживать рост возбудителей кишечных заболеваний, стафилококков, туберкулезной палочки. К таким веществам относятся низин, бензойная кислота, диплококкцин и др.

Низин используется в молочной промышленности при выработке плавленых сыров и молочных консервов. В присутствии низина уменьшается терморезистентность спор бактерий, поэтому при его использовании можно понизить температуру и сократить время стерилизации.

Биотехнология в переработке молока

*Перспективны для молочной промышленности ферментные препараты микробного (плесневого и бактериального) происхождения. B настоящее время на мировом рынке известны следующие ферментные препараты: "Мейто" (Япония), "Фромаза" (Франция), "Супарен" (США), "Пфицер", "Микрознм" (ЧССР), "Руссулин" (CCCP). Установлено, что препараты бактериального происхождения обладают высокой протеолитической активностью. Они вызывают глубокий гидролиз казеина, что приводит к резкому снижению качества сыра (появлению горечи). B этом случае необходимо наряду с ферментными препаратами использовать в составе бактериальных заквасок штаммы молочнокислых бактерий, которые разрушают горькие пептиды. Хорошие результаты получены при совместном применении этих препаратов с препаратами животного происхождения.*

*По действию на белки молока наиболее близки к сычужному ферменту препараты плесневого происхождения. Так, японский препарат "Мейто", получаемый из микроскопического гриба (Mucor pusi11us L), и отечественный препарат "Руссулин" (продуцент Russula decolorans) имеют высокую моло-косвертывающую и низкую протеолитическую активность. Испытания препарата "Руссулин" при производстве сыров с низкой температурой второго нагревания дали положительные результаты.*

Микрофлора, вводимая с закваской, оказывает основное влияние на вкус и аромат сыров, поэтому выбор соответствующих культур является вопросом первостепенной важности.

Компания "Хр. Хансен" работает с культурами для производства сыра во всем мире уже более 50 лет. На сегодняшний день в ассортименте компании 8 линий высококачественных культур для различных продуктов в сыроделии, включая сыры типа "Чеддер".

Закваски прямого внесения (DVS) в сыроделии с успехом конкурируют с промышленными производственными заквасками, так как превосходят их как по активности и скорости подкисления молока в сыродельной ванне, так и по воздействию в процессе созревания, образования аромата. Преимуществом закваски является то, что она вносится в молоко без предварительного разведения и активизации, что существенно упрощает технологический процесс производства сыра. Другим преимуществом является прямое внесение в ванну, это позволяет избежать изменение соотношения между штаммами и потери технологических свойств закваски при пересадках. Увеличивается выход продукта, экономятся затраты, связанные с приготовлением производственной закваски.

Для производства сыра Чеддер целесообразно использование мезофильных гомоферментативных культур R-703,704,707,708. Данные закваски способны работать в молоке с пониженными качественными характеристиками. Они менее чувствительны к фактору сезонности. Использование закваски прямого внесения (DVS) обеспечивает экономию расхода электроэнергии.

В России в условиях неидеального для сыроделия качестка и микробиологической чистоты молока применение культур прямого внесения особенно актуально.

Диетическими считаются продукты, обогащенные витаминами и минеральными веществами полезными - без добавок. Наибольший интерес представляют функциональные продукты, то есть сочетающие в себе свойства обоих предыдущих.

Сделать продукт функциональным можно путем комбинирования жиров различного происхождения. Технологический процесс производства сыров с частичной заменой молочного жира растительным не создает дополнительных проблем: не требуется ни установки специального оборудования, ни изменений существующих параметров производства. Существует жировая система "Союз", использование которой при выработке сыра позволяет получить значительный эффект: сокращается срок созревания сыра и улучшается степень использования сырья, так как увеличивается выход сыра и снижаются потери жира. Эти факторы способствуют увеличению оборачиваемости и, таким образом, приводят к значительному росту экономической эффективности.

По новой рецептуре удается снизить затраты на сырье путем замены молочного жира жировыми системами "Союз" на 50%, при жирности смеси 2,5% и расходе смеси 12 т. /т. экономия сырья составляет примерно 4 т. молока на 1т. сыра. С учетом сложившейся на сырьевом рынке ситуации производство комбинированных продуктов в сыроделии будет активно развиваться в ближайшие годы.

Преимущества применения специализированных растительных жиров, полностью или частично заменяющих молочный жир, очевидны. К важнейшим из них относятся: снижение себестоимости продукции при сохранении или повышении её качества; стабильность производства при отсутствии зависимости от сезонных колебаний поступления молока; увеличение ассортимента и сроков хранения готовой продукции при улучшенных диетических характеристиках; минимальные капиталовложения для переориентации производственных мощностей. Отечественные продукты, выпускаемые по этой технологии, стали успешно конкурировать с импортными аналогами как по цене, так и по качеству.

В Португалии и Нидерландах исследовался вопрос стимулирующего влияния гидролизатов коровьего молока на рост пробиотических культур, влияющих на созревание сыров. Был сделан вывод, что использование смеси B. Lactis и L. Acidophilus в термофильных заквасках при производстве сыра чеддер способствует росту бактерий и накоплению молочной и уксусной кислот, а также повышению пищевой пробиотической ценности конечного продукта.

Для твердых сычужных сыров предлагаются два красителя: водорастворимый краситель "Аннато А-320-WS", полученный из семян аннато; водорастворимая суспензия бета-каротина BC-140-WSS, идентичного натуральному. Аннато является более предпочтительным красителем благодаря уникальному свойству связываться с молекулами белка, образуя при этом устойчивые соединения, и не теряться с сывороткой. Краситель имеет маленькую дозировку и низкую себестоимость в ед. продукта.