

УДК 577+637

Заведующий кафедрой А.Г. Шлейкин, инженер Н.П. Данилов,
магистрант А.Е. Аргымбаева

(Университет ИТМО) кафедра химии и молекулярной биологии.

тел. (812) 575-69-08

E-mail: shleikin@yandex.ru

доцент С.В. Рыков

(Университет ИТМО) кафедра информатики и прикладной математики-2.

тел. (812) 314-78-64

E-mail: togg1@yandex.ru

Head of department A.G. Shleikin, engineer N.P. Danilov,
master student A.E. Argymbaeva

(St. Petersburg, Russia, ITMO University) Department of chemistry and molecular biology.

phone (812) 575-69-08

E-mail: shleikin@yandex.ru

associate Professor S.V. Rykov

(St. Petersburg, Russia, ITMO University) Department of informatics and applied mathematics -2.

phone (812) 314-78-64

E-mail: togg1@yandex.ru

Модификация структуры йогурта с помощью амарантового экстракта и трансглутаминазы

Yoghurt structure modification with amaranth extract and transglutaminase addition

Реферат. Получение функциональных молочных продуктов – важный вопрос для улучшения рациона питания населения. Данная статья посвящена разработке йогурта с использованием фермента трансглутаминазы. Трансглутаминаза (КФ 2.3.2.13) осуществляет поперечное связывание белков, укрепляя структуру продукта. Трансглутаминаза была использована в концентрации 4 ед./г белка (0,1 %). Амарантовый экстракт из амарантовой муки, использованной в количестве 5 % от объема сквашиваемых образцов, был применен в качестве растительной добавки для получения йогурта. Йогурт готовили термостатным способом. Молоко подогрелось до 37 °С, добавлялся амарантовый экстракт и трансглутаминаза. Проведено исследование образцов различных рецептур. 1 – йогурт с амарантовым экстрактом (200 мл молока + 100 мл амарантового экстракта), 2 – йогурт с амарантовым экстрактом, приготовленный с добавлением трансглутаминазы (200 мл молока + 100 мл амарантового экстракта + 0,3 г трансглутаминазы) и контрольный образец (300 мл молока). Амарант имеет в своем составе разнообразные питательные компоненты, ценные белки, витамины, сквален, обладающий противоопухолевой активностью. Исследовано влияние добавленных компонентов на структурные и органолептические свойства ферментированного продукта. Результаты показали, что прочность амарантового йогурта выше прочности контрольного на 6 %, а прочность амарантового йогурта с трансглутаминазой выше на 18 %, чем прочность контрольного. Выявлены улучшение консистенции, вязкости и органолептических свойств термостатного йогурта.

Summary. To obtain functional dairy products is an important issue to improve the diet of the population. This article is devoted to development of yoghurt with transglutaminase enzyme. Transglutaminase (EC 2.3.2.13) performs cross-linking of proteins, strengthening the structure of the product. The concentration of transglutaminase used was 4 U/g of protein (0.1 %). Amaranth extract prepared from amaranth flour weighed in 5 % concentration per fermented samples volume was used as a vegetable additive to get yogurt. Yogurt was prepared a thermostately method. Milk was warmed up to 37 °C, amaranth extract and a transglutaminase was added. Study of samples of different compoundings is carried out. 1 – yogurt with amaranth extract (200 ml of milk + 100 ml of amaranth extract), 2 – the yogurt with amaranth extract prepared with adding of a transglutaminase (200 ml of milk + 100 ml of amaranth extract + 0.3 g of a transglutaminase) and a control sample (300 ml of milk). Amaranth is composed of a variety of nutrients, valuable proteins, vitamins, squalene with antitumor activity. Influence of used additives on the fermented product structure and organoleptic properties was investigated. Results showed that durability of amaranth yogurt of high strength control for 6%, and durability of amaranth yogurt from the transglutaminase is 18% higher, than durability of the control. It was found consistence, viscosity and organoleptic properties had been improved.

Ключевые слова: йогурт, транслутаминаза, ферментное связывание, амарант.

Keywords: yoghurt, transglutaminase, enzyme's cross-kinking, amaranth.

© Шлейкин А.Г., Данилов Н.П.,
Аргымбаева А.Е., Рыков С.В., 2015

В настоящее время стоит вопрос о создании новых видов продуктов с высокой питательной ценностью, обогащенных полезными веществами и витаминами, для улучшения качества питания населения и расширения ассортимента продукции. Для целей здорового питания важно создавать продукты, полезные разным возрастным категориям.

В целях улучшения структуры молочных продуктов целесообразно исследовать возможности модификации белков молока. Структура белка может быть модифицирована несколькими способами: физическими, химическими и ферментативными. В связи с этим, представляют интерес ферменты, способные связывать белковые молекулы и не гидролизовать их. К таким ферментам относят трансглутаминазу (ТГ) [3]. Схема связывания белков с помощью ТГ представлена на рисунке 1.

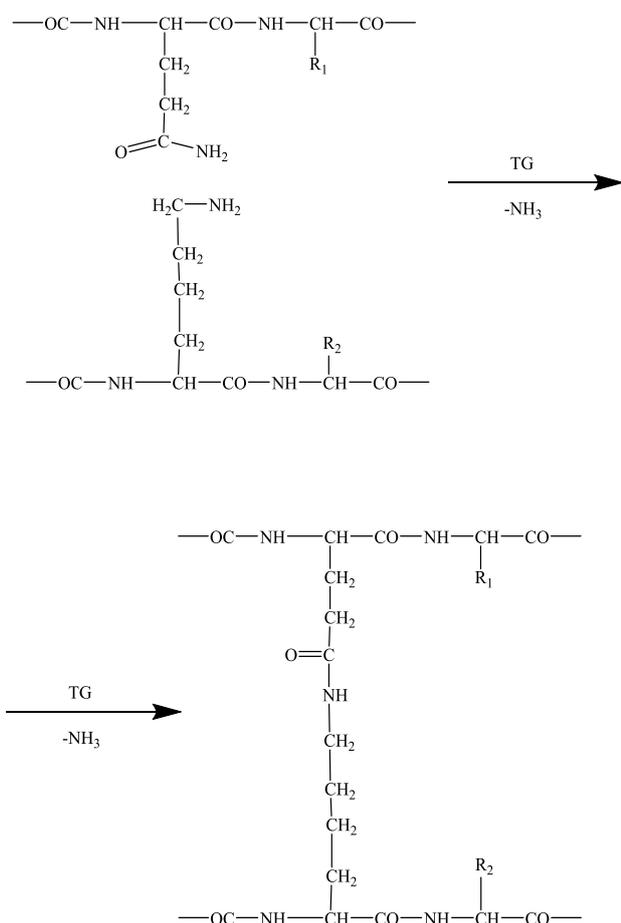


Рисунок 1. Схема реакции связывания белков с помощью ТГ

Как видно на рисунке 1, под действием ТГ происходит реакция связывания в белковой системе, что ведет к упрочнению структуры. Модификация белков с участием ТГ дает возможность изменять их термостабильность, раство-

римость, реологические свойства, свертываемость сычужным ферментом. ТГ может применяться для повышения структурной прочности, вязкости и снижения потерь белка, некоторого капсулирования липидов и повышения стабильности жировой эмульсии, улучшения вкуса и влагоудерживающей способности. ТГ применяют также для повышения биологической ценности продукта за счет поперечного связывания белков, содержащих разные лимитирующие аминокислоты, защиты лизина от различных химических реакций и для снижения аллергенности белков [4]. Предположительный механизм действия и субстратная специфичность ТГ рассмотрены нами ранее в работе [10].

В производстве молочных продуктов ТГ имеет широкое применение. Ранее нами сообщалось о целесообразности использования ТГ для решения проблемы утилизации молочной сыворотки [9]. Молочная сыворотка является побочным продуктом производства молочных продуктов, поэтому часто сливается без переработки в сточные воды, что ухудшает экологическое состояние. Молочная сыворотка имеет в своём составе ценные питательные белки. Изобретение [8] позволяет снизить концентрацию остаточного белка в сыворотке на 15 %. Нами также показано положительное влияние ТГ на снижение синерезиса до 17 % при производстве ферментированного молочного продукта [13]. Интенсивные исследования по вопросу применения ТГ в производстве молочных продуктов проводит ВНИИ молочной промышленности. В частности, в работе [2] сообщается об увеличении вязкости простокваши с 13,7 до 21,2 Па*с и увеличении выхода творога на 10 – 15 % при использовании ТГ. Jaros и Rohm, анализируя исследования разных учёных, делают вывод об улучшении текстурных свойств и снижении синерезиса термостатного йогурта, а также об увеличении вязкости резервуарного йогурта при использовании ТГ [12]. В работе [11] сообщается об успешности применения ТГ для производства сыра Эдам. Выход продукта повысился на 4 % при использовании ТГ, при этом органолептические характеристики не претерпели изменений. ТГ используют в дозах от 0,001 до 20 ед. на 1 г белка (0,003 – 0,07 %). Для получения молочного продукта с улучшенными органолептическими и физико-химическими показателями необходимо правильно подобрать корректную концентрацию ТГ [3].

Одним из перспективных видов растительного сырья для получения широкого ассортимента различных пищевых добавок функционального назначения является амарант [5].

Если оценивать содержание восьми незаменимых аминокислот в растительном сырье по 100-балльной шкале, то пшеница набирает 57, соя – 63, амарант – 75. В белках сои, чечевицы, гороха, фасоли недостаточно серосодержащих аминокислот: метионина, цистеина; также в белках злаков невысокое содержание лизина, треонина, фенилаланина, тогда как белок амаранта по соотношению аминокислот входит в число лучших белков растительного происхождения. Использование в пищу белка семян амаранта делает питание человека более полноценным и сбалансированным по аминокислотному составу [6].

Широко распространённым молочным продуктом является йогурт. Этот продукт богат белком и содержит кальций, калий, витамины А, В и С, а также содержит лактобактерии, которые благоприятно воздействуют на работу кишечника, способствуя одновременно тому, чтобы предотвратить риск развития рака толстой кишки [7]. Цель настоящей работы – исследовать влияние амарантового экстракта и ТГ на структурные и органолептические свойства йогурта.

В работе было использовано пастеризованное молоко с содержанием белка 2,5 % и содержанием жира 4 %. ТГ использовалась в форме препарата TG Next с заявленной активностью 100 ед./г. В качестве закваски применялась сухая закваска AiBi 22.11 R3 (лиофилизированный концентрат *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus bulgaricus* – $5.0 \cdot 10^{10}$ КОЕ/г).

Приготовление амарантового экстракта описано ниже. Амарантовый экстракт был приготовлен следующим образом: вносили 30 г (5 % по отношению к объему сквашиваемых проб 600 мл) амаранта в 300 мл нагретого до 50 °С молока, выдерживали. Суспензию центрифугировали на лабораторной центрифуге с фактором разделения $K = 3000$ в течение 5 мин. Получали 200 мл экстракта. Полученный экстракт декантировали и пастеризовали при 72 °С в течение 20 с.

Далее опишем процесс получения йогуртов. Йогурт готовили термостатным способом. Молоко подогревали до 37 °С, разливали по трем стеклянным емкостям объемом 0,35 л, добавляли амарантовый экстракт и ТГ следующим образом: 1 – контрольный (300 мл молока), 2 – образец йогурта с амарантовым экстрактом (200 мл молока + 100 мл амарантового экстракта), 3 – образец йогурта с амарантовым экстрактом, приготовленный с добавлением ТГ в концентрации 4 ед./г белка (0,1 %): 200 мл молока + 100 мл амарантового экстракта + 0,3 г ТГ). Смеси пере-

мешивали, помещали в термостат при 37 °С на 1 ч. После этого молоко из емкости 3 пастеризовали при 95 °С в течение 5 мин (для прекращения действия ТГ). Охлаждали до 37 °С. Затем во все образцы вносили сухую закваску йогуртовых культур в расчёте 1г/л. Образцы перемешивали, помещали в термостат при 37 °С, сквашивали 4 – 5 часов до кислотности 90 – 100 °Т.

Измерение вязкости йогуртов проводили следующим образом. Образцы йогуртов в емкостях объемом 0,35 л охлаждали до 4 °С, измеряли вязкость на ротационном вискозиметре типа Брукфильда МТ-202 (ООО "Метротекс") с 4 роторами, позволяющими измерять вязкость в диапазоне 0 – 2000000 мПа*с.

Процесс измерения структурных свойств заключался в следующем. Для измерения структурных свойств образцы йогуртов в емкостях объемом 0,35 л охлаждали до 4 °С, измеряли прочность и работу пенетрации на анализаторе текстуры TA-XTPlus (StableMicroSystemsLtd., UK) с тензодатчиком 5 кг. Проводили тест на компрессию для получения графиков профилей структуры. Использовали многоигольчатый зонд А/МРР, задавали следующие параметры: скорость движения зонда до испытания (пре-тест) 1 мм/с, во время испытания (тест) 2 мм/с и после испытания (пост-тест) 10 мм/с. Дистанция погружения зонда 10 мм. Сила нагрузки 30 г. Работа пенетрации – площадь графика между усилиями 35 г и максимальным.

Далее приведем процесс органолептической оценки. Органолептическая оценка качества полученных образцов йогурта проводилась в соответствии с ГОСТ Р ИСО 22935-2-2011, ГОСТ Р ИСО 22935-3-2011. В охлажденных образцах йогуртов оценивались параметры: внешний вид, запах, аромат, консистенция. Баллы выставлялись следующим образом: 5 – нет отклонения от заранее установленных требований к свойству, 4 – минимальное отклонение, 3 – заметное отклонение, 2 – значительное отклонение, 1 – очень значительное отклонение.

Вязкость полученных образцов йогурта измеряли в соответствии приведенной выше методикой, результаты представлены на рисунке 2.

Как видно из рисунка 2, значения вязкости образца йогурта с амарантовым экстрактом выше на 8 % вязкости контрольного образца, а образца йогурта, приготовленного с амарантовым экстрактом с добавлением ТГ в концентрации 4 ед./г (0,1 %) на 23 % превышали вязкость контрольного образца. Стабилизирующее действие амаранта объясняется наличием в зернах разных видов амаранта от 55 до 62 % крахмала.

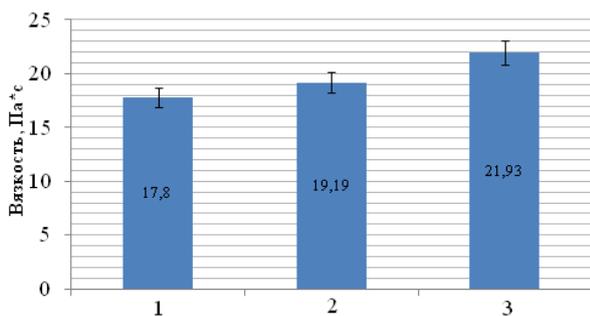


Рисунок 2. Вязкости образцов йогурта: 1 – контрольный образец, 2 – образец йогурта с амарантовым экстрактом, 3 – образец йогурта с амарантовым экстрактом, приготовленный с добавлением 4 ед./г (0,1 %) ТГ

Гранулы крахмала у этого растения мелкие, 0,8 – 2,5 мкм (у картофеля – от 15 до 100 мкм).

Размер гранул определяет физико-химические и функциональные свойства. Для крахмала амаранта характерны повышенная набухаемость, вязкость и желатинизация. Он состоит из полисахаридов двух типов – амилозы и амилопектина, которые отличаются по своим физическим и химическим свойствам: молекула первого представляет собой линейный полимер, а второго – разветвленный. При желатинизации амилоза дает гель вне гранул крахмала, в то время как амилопектин остается внутри набухших гранул и медленно перекристаллизуется [1].

В ходе измерения структурных свойств были получены кривые: усилие-время (g-s) и проанализированы данные с помощью программы Texture Exponent Application (Stable Micro Systems Ltd, UK). Рассчитаны структурные параметры: прочность и работа пенетрации. Результаты рассчитывались как среднее из трех измерений с учетом стандартного отклонения. Данные представлены на рисунке 3.

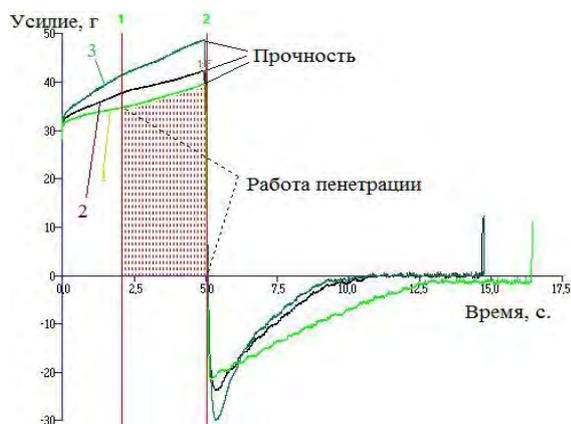


Рисунок 3. Определение прочности и работы пенетрации многоиглольным зондом: 1 – контрольный образец, 2 – образец йогурта с амарантовым экстрактом, 3 – образец йогурта с амарантовым экстрактом, приготовленный с добавлением 4 ед./г (0,1 %) ТГ

Из рисунка 3 следует, что прочность амарантового йогурта выше прочности контрольного на 6 %, а прочность амарантового йогурта с ТГ выше на 18 %, чем прочность контрольного.

Работа пенетрации зонда по погружению в амарантовый йогурт на 63 % выше работы пенетрации зонда по погружению в контрольный, работа пенетрации зонда по погружению в амарантовый йогурт с ТГ выше на 89 % по сравнению с контрольным. Увеличение вязкости структурных показателей йогурта с ТГ связано с образованием поперечных ε-(γ-глутамил) лизиновых связей в молочных белках под действием фермента. Результаты органолептической оценки качества полученных йогуртов представлены на рисунке 4.

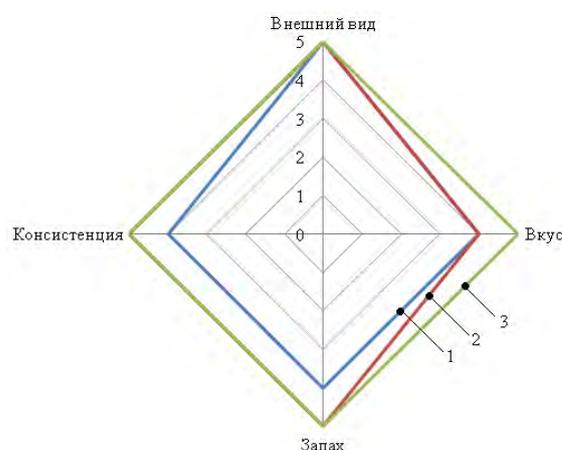


Рисунок 4. Органолептическая оценка качества образцов йогурта: 1 – контрольный образец, 2 – образец йогурта с амарантовым экстрактом, 3 – образец йогурта с амарантовым экстрактом, приготовленный с добавлением 4 ед./г (0,1 %) ТГ

Как видно из рисунка 4, было отмечено улучшение консистенции образцов йогурта с амарантовым экстрактом и амарантовым экстрактом и ТГ по сравнению с контрольным образцом, что связано с упрочнением структуры продукта. Также отмечено улучшение запаха и вкуса образца йогурта с амарантовым экстрактом и ТГ. Применение амаранта в виде экстракта и ТГ оправдано для улучшения органолептических свойств продукта.

Таким образом, применение амарантового экстракта и ТГ в производстве йогурта ведет к увеличению вязкости, улучшению структурных и органолептических свойств продукта. Выявлен синергизм действия амарантового экстракта и ТГ на увеличение вязкости и структурных свойств термостатного йогурта. Полученные данные свидетельствуют о целесообразности использования ТГ и амаранта для получения йогурта.

- 1 Железнов А.В. Амарант – хлеб, зрелище и лекарство // Химия и жизнь. 2005. № 6. С. 56-61.
- 2 Зобкова З.С., Зенина Д.В., Трубникова О.А. Влияние энзимов на реологические характеристики кисломолочных продуктов // Молочная промышленность. 2011. № 3. С. 79.
- 3 Зобкова З.С., Фурсова Т.П., Зенина Д.В. Об изменении молекулярной структуры молочных белков под действием микробной трансглутаминазы // Хранение и переработка сельхозсырья. 2013. № 3. С. 52-53.
- 4 Зобкова З.С., Фурсова Т.П., Зенина Д.В., Шидловская В.П., Гаврилина А.Д., Шелагинова И.Р. Использование трансглутаминазы при производстве йогурта // Молочная промышленность. 2013. № 12. С. 52-53.
- 5 Евстигнеева Т.Н., Хомидов Ф.Б. Изучение влияния компонентного состава кисломолочного напитка с мукой амаранта на формирование качества продукта // Электронный научный журнал *Apriori*. 2014. № 3.
- 6 Кононков П.Ф., Гинс В.К., Гинс М.С. Амарант перспективная культура XXI века. М.: Издат. дом Евгения Федорова, 1997. 160 с.
- 7 Отчет о лечебно-профилактическом действии йогурта [Электронный ресурс]. Режим доступа: http://gazeta.ua/ru/articles/science-life/_cem-polezen-jogurt-dlya-zdorovya-/304100.
- 8 Пат. RU2432769. Способ получения молочной сыворотки с пониженной концентрацией остаточного белка // Шлейкин А.Г., Данилов Н.П. Опубл. 10.11.2011.
- 9 Шлейкин А.Г., Данилов Н.П., Красникова Л.В. Влияние трансглутаминазы на связывание сывороточных белков // Пищевая промышленность. 2009. № 7. С. 9.
- 10 Шлейкин А.Г., Данилов Н.П. Эволюционно-биологические особенности трансглутаминазы. Структура, физиологические функции, применение // Журнал эволюционной биохимии и физиологии. 2011. Т. 47. № 1. С. 3-14.
- 11 Aaltonen T., Huuonen I., Myllärinen P. Controlled transglutaminase treatment in Edam cheese-making // *International Dairy Journal*. 2014. V. 38, Issue 2. P. 179-182.
- 12 Jaros D., Rohm H. Enzymes Exogenous to Milk in Dairy Technology [Transglutaminase // *Encyclopedia of Dairy Sciences (Second Edition)*. 2011. P. 297-300.
- 13 Shleikin A.G., Krasnikova L.V., Danilov N.P. Substrate specificity of transglutaminase. Influence of transglutaminase on milk whey protein cross-linking // *Food technology operations*. New Vistas monography, edited by W. Kopec and M. Korzeniowska, Wrocław. 2009. P. 101-112.

- 1 Zheleznov A.V. Amaranth – bread, a show and medicine. *Khimiya i zhizn'*. 2005, no. 6, pp. 56-61. (In Russ.).
- 2 Zobkova Z.S., Zenina D.V., Trubnikova O.A. Influence of enzymes on rheological characteristics of fermented milk products. *Molochnaya promyshlennost'*. 2011, no. 3, pp. 79. (In Russ.).
- 3 Zobkova Z.S., Fursova T.P., Zenina D.V. About change of molecular structure of milk proteins under the influence of a microbic transglutaminase. *Khranenie i pererabotka sel'khozsyrya*. 2013, no 3, pp. 52-53. (In Russ.).
- 4 Zobkova Z.S., Fursova T.P., Zenina D.V., Shidlovskaya V.P., Gavrilina A.D, Shelaginova I.R. Use of a transglutaminase by production of yogurt. *Molochnaya promyshlennost'*. 2013, no 12, pp. 52-53. (In Russ.).
- 5 Evstigneeva T.N., Khomidov F.B. Study of influence of component composition of dairy drink with amaranth flour on formation of quality of a product. *Elektronnyi nauchnyi zhurnal Apriori*. 2014, no 3. (In Russ.).
- 6 Kononkov P.F., Gins V.K., Gins M.S. Amaranth perspective culture of the XXI century. Moscow, Izdat. dom Evgeniya Fedorova, 1997. 160 p. (In Russ.).
- 7 Report on treatment-and-prophylactic effect of yogurt. Available at: http://gazeta.ua/ru/articles/science-life/_cem-polezen-jogurt-dlya-zdorovya-/304100 (In Russ.).
- 8 Method of receiving whey with the under concentration of residual protein / Shleikin A.G., Danilov N.P. Patent RF, no. 2432769, 2011. (In Russ.).
- 9 Shleikin A.G., Danilov N.P., Krasnikova L.V. Influence of a transglutaminase on binding of serumal proteins. *Pishchevaya promyshlennost'*. 2009, no. 7, pp. 9. (In Russ.).
- 10 Shleikin A.G., Danilov N.P. Evolutionary and biological features of a transglutaminase. Structure, physiological functions, application. *Zhurnal evolyutsionnoi biokhimii i fiziologii*. 2011, vol. 47, no 1, pp. 3-14. (In Russ.).
- 11 Aaltonen T., Huuonen I., Myllärinen P. Controlled transglutaminase treatment in Edam cheese-making. *International Dairy Journal*. 2014, vol. 38, issue 2, pp. 179-182.
- 12 Jaros D., Rohm H. Enzymes Exogenous to Milk in Dairy Technology [Transglutaminase. *Encyclopedia of Dairy Sciences (Second Edition)*, 2011, pp. 297-300.
- 13 Shleikin A.G., Krasnikova L.V., Danilov N.P. Substrate specificity of transglutaminase. Influence of transglutaminase on milk whey protein cross-linking. *Food technology operations*. New Vistas monography, edited by W. Kopec and M. Korzeniowska, Wrocław, 2009, pp. 101-112.