

Молокосвертывающая активность ферментов базидиальных грибов

И. А. Шпирная*, С. В. Шляпникова, В. О. Цветков,
Р. И. Ибрагимов

Башкирский государственный университет

Россия, Республика Башкортостан, г. Уфа, 450076, ул. Заки Валиди, 32

**Email:i-shia@yandex.ru*

С увеличением мирового производства сыров возникла проблема дефицита сычужного фермента. Отбор эффективных продуцентов молокосвертывающих ферментов среди культур высших грибов является актуальной задачей. Исследовали казеинолитическую активность 5-ти видов базидиальных грибов. Показано, что уровень активности молокосвертывающих ферментов базидиальных грибов сопоставим с активностью коммерческого препарата, используемого для приготовления сыров.

Ключевые слова: базидиомицеты, фермент, казеин, коагуляция молока.

Коагуляция казеинов под действием сычужных ферментов является ключевым моментом при получении сыров и творога.

В связи с дефицитом сычужного фермента, а также его высокой стоимостью, стали широко использовать ферменты, близкие по своему действию к сычужному – комплексы пепсинов и других энзимов, продуцируемых различными микроорганизмами [1].

Протеолитические ферменты базидиомицетов давно и успешно применяются в пищевой промышленности. К настоящему времени накоплены данные о способности высших базидиальных грибов продуцировать молокосвертывающие ферменты [2,3].

Целью данной работы является рассмотрение некоторых базидиальных грибов в качестве потенциальных продуцентов молокосвертывающих ферментов.

В качестве объектов исследования использовали культуральный фильтрат и водный экстракт мицелия грибов: шиитаке, опенка японского Намеко (ООО «Агрофирма Аэлита»), вешенки индийской, вешенки золотой (Агро – ПАК Poisk), культуральный фильтрат и водные экстракты плодовых тел природных изолятов трутовика чешуйчатого, трутовика серно-желтого. В качестве контроля использовали ферментный препарат – микробиальный пепсин (Meito sangyo co., Ltd (Япония)).

Определение концентрации белка в растворах проводили по методу Bradford. Определение активности протеиназ по гидролизу казеина, желатина в геле агарозы [4], опре-

деление молокосвертывающей активности по методу Пятницкого [5]. Культивировали объекты глубинным методом в среде Чапека в термостатируемом шейкере.

Соотношение казеинолитической и общей протеолитической активности является важнейшей характеристикой молокосвертывающих ферментов используемых в сыроделии [6]. При относительно высокой протеолитической активности наблюдается расщепление не только к-казеина, но и других групп белков молока, что ведет к образованию нестабильного сгустка при сыроделии.

Инкубируя исследуемые образцы в течение 16-ти суток, измеряли уровень активности ферментов (казеиназ и желатиназ) культуральной жидкости и определяли соотношение казеинолитической активности к общей протеолитической активности (*табл. 1*).

Таблица 1. Соотношение казеинолитической и общей протеолитической активности ферментов базидиомицетов

Продуцент	Активность протеолитических ферментов		КА / ПА
	Казеиназы, Е/мл	Желатиназы, Е/мл	
Контроль	9.2±0.08	1.5±0.12	6.10
Вешенка золотая	0.2±0.01	3.65±0.10	0.05
Вешенка индийская	5.9±0.06	2.7±0.10	2.10
Опенок намеко	0.5±0.04	2.9± 0.12	0.17
Т.чешуйчатый	0.8±0.06	2.6±0.09	0.30
Трутовик серно-желтый	0.6±0.07	3.0±0.10	0.2

КА/ПА – отношение казеинолитической активности к протеолитической активности.

Как видно из *табл. 1* несколько образцов обладают довольно высокой активностью казеиназ. Наибольшей казеинолитической активностью характеризуется вешенка индийская. По отношению к желатину активность фермента данного базидиомицета оказалась значительно ниже (КА/ПА-2.1), что говорит о большей специфичности ферментов данного образца к молочному белку.

Способность ферментов быстро вызывать коагуляцию молока и осаждение творожного сгустка называют молокосвертывающей активностью.

Для определения данной активности использовали водный экстракт плодовых тел трутовых грибов и культуральную среду образцов (см. табл. 2). Определяли время начала коагуляции белков молока и время образования устойчивого сгустка

Таблица 2. Время коагуляции молока и содержание белка в экстрактах и культуральной жидкости плодовых тел трутовых грибов

Образец	Время коагуляции, сек	Время образования сгустка, мин	Белок, мг/мл	Время коагуляции /белок	Время образования сгустка/белок
Контроль	6±0.49	0.3±0.01	6.6	0.9	0.05
В.золотая	17.0±0.93	12.0±1.20	11±1.42	1.5	1.1
В.индийская	9.0±1.20	16.0±1.50	4.2±0.91	2.1	7.6
О.намеко	26.0±0.90	-	6.0±0.13	4.3	-
Т.серно-желтый (экстракт ПТ)	15.0±0.70	2.0±0.92	9.1±0.89	1.6	0.2
Т.серно-желтый (КЖ)	12.0±0.33	-	8.0±0.16	1.5	-
Т.чешуйчатый (экстракт ПТ)	9.0±0.69	15.0±1.55	3.5±0.09	2.6	4.3
Т.чешуйчатый (КЖ)	11.0±0.92	4.0±0.76	1.5±0.03	7.3	2.7

КЖ – культуральная жидкость; ПТ-плодовое тело; «-» – сгусток не образуется

Как видно из данных таблицы, наибольшей эффективностью характеризуется трутовик чешуйчатый (наименьшее время начала коагуляции). При действии ферментов данного базидиомицета образовывался хлопьеобразный белый сгусток, четко отделяющийся от водной части молока.

Для вешенки индийской характерно наименьшее время свертывания молока. Однако образовавшийся после 16-ти минут сгусток не отделялся от водной части молока и был мелкодисперсным.

Секретируемые ферменты трутовика серно-желтого проявляли высокую молокосвертывающую активность, однако образование сгустка не происходило, что является неприемлемым для использования таких ферментов в сыроделии. Однако, экстракт плодовых тел данного трутовика, не только активно коагулировал белок молока, но и эффективно действовал на формирование сгустка (2 мин).

Коагуляция молока под действием ферментов опенка японского происходила в течение продолжительного времени и без образования молочного сгустка.

Таким образом, среди исследованных образцов, секретируемые ферменты вешенки золотой, трутовика чешуйчатого, а также экстрактивные ферменты трутовиков характеризуются наибольшей молокосвертывающей активностью. Ферментативная активность молокосвертывающих ферментов базидиомицетов сопоставима со стандартным коммерческим препаратом – пепсином микробиальным.

Литература

1. Гудков А. В. Сыроделие: Технологические, биологические и физико-химические аспекты, М. 2004. С.804.
2. Лебедева Г. В., Проскураков М. Т., Кожухова М. А. Выделение и характеристика фермента сычужного действия из плодовых тел вешенки обыкновенной. 2008. №1. С.114–115.
3. Кутафьева Н. П. Морфология грибов: учеб. Пособие для студ. вузов, общ. по спец. Биология. Новосибирск. 2003. №2. С. 215
4. Шпирная И. А., Умаров И. А., Шевченко Н. Д., Ибрагимов Р. И. Определение активности гидролаз и их ингибиторов с использованием субстратов, иммобилизованных в геле агарозы // Прикладная биохимия и микробиология. 2009. Т. 45. №4. С. 497–501.
5. Пятницкий Н. П., Проскураков М. Т. Определение активности химотрипсина по скорости створаживания молочно-ацетатной смеси // Материалы 17-й науч. конф. физиологов Юга России. РСФСР. Т. 2. – Ставрополь, 1969. – С. 80–82.
6. Белов, А. Н. Молокосвертывающие препараты / А. Н. Белов, В. В. Ельчанинов, А. Д. Коваль // Молочная промышленность. – 2003. – №2. – С. 45- 47.

Статья рекомендована к печати кафедрой биохимии и биотехнологии БашГУ

Milk-Coagulation enzyme activity of Basidiomycetes

I. A. Shpirnaya*, S. V. Shlyapnikova, V. O. Tsvetkov, R. I. Ibragimov

Bashkir state university

Russia, Republic of Bashkortostan, Ufa, 450076, St. Zaki Validi 32

**Email: i-shia@yandex.ru*

With the increase in world production of cheese there was a problem of deficiency of rennet. The selection of efficient producers of milk- coagulation enzymes among the higher fungi cultures is an urgent task. Studied caseinolytic activity 5 species of Basidiomycetes. It has been shown that the level of activity of milk-coagulation enzymes of Basidiomycetes is comparable to the commercial activity of the drug, used to make cheese.

Keywords: Basidiomycetes, Enzyme, Casein, Milk Coagulation.