

Fermento lizocimo panaudojimas grietinės kokybei pagerinti

Sigita Urbienė,

Lina Poderytė

*Lietuvos žemės ūkio universitetas,
Studentų g. 11, LT-53361 Akademija,
Kauno rajonas
El. paštas: Sigita.Urbienė@lzuu.lt*

Ištirta fermento lizocimo priedų – 0,03 g/l, 0,05 g/l ir 0,07 g/l – įtaka grietinės gamybos technologiniam procesui bei jos kokybei. Taip pat nustatytas grietinės kokybės kitimas laikant grietinę 18°C temperatūroje. Laikymo metu buvo tiriami grietinės riebalų oksidaciniai procesai, kuriuos apibūdino tokie rodikliai, kaip peroksidų kiekis, laisvųjų lakiųjų riebalų rūgščių (LLRR) kiekis bei oksidacijos laipsnis, nustatomas pagal oksidacijos metu susidariusių junginių reakciją su tiobarbitūro rūgštimi.

Nustatyta, kad lizocimo priedas neturėjo įtakos grietinės rauginimo technologiniam procesui. Šio proceso metu rūgštingumo kitimas tiek kontroliniame mėginyje, tiek mėginiuose su lizocimo priedu buvo vienodas. Rauginimo proceso trukmė visuose mėginiuose praktiškai buvo tokia pati.

Oksidacijos proceso intensyvumas (po 5 parų laikymo), apibūdinamas pagal peroksidų kiekį, parodė, kad lizocimo priedas 0,07 g/l grietinės 3,3 karto sumažina peroksidų kiekį, todėl ir laisvųjų radikalų kiekį produkte. Laisvųjų lakiųjų riebalų rūgščių dėl lizocimo priedo susidaro 10% mažiau. Ši tendencija išlieka ir viso grietinės laikymo metu. Grietinės oksidacijos laipsnis, nustatomas pagal oksidacinių junginių reakciją su tiobarbitūro rūgštimi, grietinės mėginiuose su lizocimo priedu buvo iki 30% mažesnis, lyginant su kontroliniu grietinės mėginiu.

Atlikti tyrimai parodė, kad grietinės, pagamintos su lizocimo priedu, kokybė laikymo metu kito labai nežymiai, o kontroliniame mėginyje ryškiai blogėjo.

Tyrimai parodė, kad lizocimo priedas įgalina išsaugoti grietinės kokybę laikymo metu. Be to, gauti tyrimų rezultatai padėjo nustatyti, kad unikalias fermento lizocimo savybes galima papildyti dar viena itin svarbia jo savybe – antioksidaciniu aktyvumu.

Raktažodžiai: grietinė, lizocimas, rauginimo procesas, laikymas, peroksidų skaičius, laisvosios lakiosios riebalų rūgštys, oksidacijos laipsnis

ĮVADAS

Pastaruoju metu maisto produktų saugai ir kokybei skiriama itin daug dėmesio. Yra labai svarbu naudoti naujas technologijas, užtikrinančias gerą gaminamo produkto kokybę, įgalinančias garantuoti produkto saugą ne tik po jo pagaminimo, bet ir laikymo metu. Ypač svarbu, kad produkto saugą lemiantys veiksniai išliktų nepakitę visą laikymo laiką. Tuo tikslu naudojami įvairūs priedai, konservantai. Dabar, siekiant užtikrinti maisto saugumą, reikalaujama, kad priedai būtų natūralūs, kad bet kuris jų kiekis nekenktų žmogaus sveikatai. Tokie reikalavimai keliami daugelyje pasaulio šalių, taip pat Lietuvoje. Šios nuostatos išdėstytos Vyriausybės patvirtintoje „Valstybinėje maisto ir mitybos strategijoje“ [8].

Ypač svarbu, kad kokybiškumu ir saugumu pasižymėtų kasdienio vartojimo produktai. Vieni tokių yra pieno produktai, tarp jų įvairaus riebumo grietinė. Po pagaminimo grietinė yra gryno pienarūgščio skonio ir kvapo, neturi jokio šalutinio kvapo bei skonio. Labai svarbu, kad šios savybės išliktų kuo ilgesnį laiką. Grietinės skonį ir kvapą formuoja lakieji aromatiniai junginiai (acetonas, acetaldehidai, diacetilai, etanolai ir kt.). Nemažą

įtaką turi laisvosios lakiosios riebalų rūgštys (kaprono, kaprilo, valerijono, propiono ir kt.) [14]. Laisvųjų lakiųjų riebalų rūgščių nemažai yra šviežiame piene [3, 24]. Nuo bendro riebalų kiekio jos sudaro iki 1%. Taigi grietinėje jų gali būti iki 3–3,5%. Visos laisvosios lakiosios riebalų rūgštys yra mažo molekulinio svorio [26]. Yra įrodyta, kad šios rūgštys oksiduoja žymiai greičiau, lyginant su sočiosiomis riebalų rūgštimis. Todėl tokiam produkte, kaip grietinė, gali greičiau vykti oksidacijos procesai, lyginant su produktu, turinčiu mažiau lengvai besioksiduojančių riebalų [26]. Be to, yra žinoma, kad laisvosios lakiosios riebalų rūgštys mažina maistinę riebalų vertę, o jų skilimo produktai yra netoksiški žmogaus organizmui [12, 13].

Po pagaminimo laikant grietinę toliau vyksta biocheminiai, mikrobiologiniai ir fermentiniai procesai. Jų intensyvumas priklauso nuo laikymo temperatūros. Kuo aukštesnė laikymo temperatūra, tuo intensyvesni visi šie procesai [4, 6]. Pagrindiniai procesai susiję su riebalų oksidacija. Šį procesą lydi peroksidų, aldehidų, ketonų bei kitų, oksidacijai būdingų, junginių susidarymas, kuris pasireiškia nemaloniu kvapu, apkartusiu skoniu.

Be biocheminių procesų, grietinėje lygiagrečiai vyksta ir fermentiniai procesai. Veikiant fermentui lipazei vyksta riebalų

hidrolizė. Šio proceso esmę sudaro trigliceridų skilimas į di- ar monogliceridus ir laisvųjų lakiųjų riebalų rūgščių susidarymas [47]. Todėl pagal laisvųjų lakiųjų riebalų rūgščių kiekį galima spręsti apie grietinėje įvykusios ar vykstančios riebalų hidrolizės laipsnį [45, 49].

Riebalų oksidacijos laipsnis gali būti apibūdinamas nustatant oksidacijos procesą lydinčius rodiklius: peroksidus, ketonus bei kitus. Pirmiausia susidaro peroksidai, po kelių dienų jie skyla ir grietinėje atsiranda pastarųjų skilimo produktai. Yra žinoma, kad pirminiai oksidacijos procesai, nepaisant laikymo temperatūros, vyksta laikant grietinę pirmąsias 4–5 paras [41, 49]. Peroksidai susidaro net ir laikant produktą gana žemoje (6°C) temperatūroje. Todėl yra svarbu ieškoti būdų, kaip šį procesą pristabdyti. Yra duomenų, rodančių, kad vitaminai C ir E didina oksidacinį riebalų stabilumą [25]. Lietuvoje daug atlikta darbų, įrodančių, kad oksidacijos procesus stabdo uogos bei vaisiai [15, 20, 44]. Riebalų, aliejų oksidacinį stabilumą padidina įvairūs vaistinių augalų (šalavijo, čiobrelio ir kt.) ekstraktai [2, 7, 10, 22, 23, 42]. Tačiau būtina atkreipti dėmesį į tai, kad šie priedai turi ženkliai įtaką produkto skoniui bei kvapui ir jų vartojimas ne visiems produktams yra tinkamas. Siekiant pagerinti tradicinės grietinės kokybę augalinių antioksidantų panaudojimas nėra galimas, nes iškreiptų grietinės skonį bei kvapą.

Atlikti tyrimai rodo [5, 43, 52], kad peroksidų susidarymui turi įtakos baltyminės kilmės antioksidantai, šiuo atveju buvo panaudoti antioksidacinių savybių turintys išrūgų baltymai [38]. Gauta, kad ir sausosios išrūgos yra tinkamas priedas siekiant pagerinti grietinės kokybę. Nustatyta, kad įdėjus 2% sausųjų išrūgų, peroksidų susidarė 50% mažiau. Taigi sausųjų išrūgų priedą galima naudoti kaip vertingą natūralų antioksidantą [5, 43, 52]. Šis priedas nepakeičia produkto natūralumo, nes į pieno produktą pridedama tos pačios kilmės sudėtinių dalių (sausųjų išrūgų). Tiek išrūgų baltymai, tiek sausosios išrūgos ne tik sumažina oksidacinių procesų intensyvumą, bet ir padidina biologinę produkto vertę. Produkte padidėja smulkiadispersinių baltymų, mineralinių medžiagų (Ca, P, Na ir kt.) kiekis. Šie komponentai yra ypač vertingi žmogaus organizmui, siekiant padidinti jo atsparumą aplinkos taršai.

Be sausųjų išrūgų bei ultrafiltracijos būdu gautų išrūgų baltymų unikalių savybių, piene yra ir kitų biologiškai aktyvių, ypač vertingų medžiagų. Viena tokių medžiagų yra fermentas lizocimas. Šio fermento yra visuose gyvūnų organizmuose ir augaluose. Piene jo yra nedaug – apie 13 µg/100 g [37, 40]. Tačiau kai kuriais atvejais gali būti iki 0,2 mg/100 ml [45]. Labai aktyvus yra motinos pieno lizocimas. Tai rodo, kad lizocimas yra svarbi biologiškai aktyvi medžiaga augančiam organizmui. Pirmiausia lizocimu susidomėta fermentinių sūrų gamyboje. Teigiama [45], kad šio fermento priedas gali pakeisti nitratinės druskas, nes neleidžia vystytis sviesto rūgšties bakterijoms, dėl kurių nokinant sūrius gali kilti sūrų išsipūtymas. Šiuo atveju pasireiškia unikalios baktericidinės lizocimo savybės. Be to, yra teigiama, kad lizocimas turi priešuždegiminių, imunoregulatorinių, antioksidacinių ir priešvėžinių savybių [9, 29, 33].

Lizocimo bakteriologinis veikimas pasireiškia bakterijų, ypač gramteigiamų, ištirpinimu [21, 28, 48]. Todėl jis kaip natūralus konservantas naudojamas maisto produktų gamyboje [16]. Nustatyta, kad lizocimas neigiamai veikia tokių bakterijų, kaip *E. coli*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis* ir kt., au-

gimą [19, 30, 31]. Tyrimais įrodyta, kad lizocimas trukdo vystytis *Clostridium botulinum* [17, 28]. Piene ir jo produktuose lizocimas trukdo vystytis *Listeria monocytogenes*, *Clostridium perfringens* ir *Clostridium tyrobutyricum* [11, 27, 32]. Ypač svarbu, kad lizocimas neigiamai veikia šių bakterijų sporų vystymąsi [1, 11, 19]. Todėl lizocimas gali būti naudojamas kaip konservantas fermentinių sūrų gamyboje [1, 35].

Kita vertus, labai svarbu, kad lizocimas netrukdytų vystytis pieno rūgšties bakterijoms. Priešingu atveju, nokinant sūrius gali nevykti normalūs, pieno rūgšties bakterijų vystymosi procesai, o galutinis rezultatas – sūryje gali susidaryti skonio, kvapo bei konsistencijos ydų.

Yra žinoma, kad lakto- ir bifidobakterijos atsparios lizocimui, tačiau jeigu piene lizocimo yra daug, apie 40–80 µg/ml, tai jį neigiamai veikia pieno rūgšties bakterijų vystymąsi. Tokiu atveju rauginimas gali pailgėti 1–3 valandomis. Todėl gaminant raugintus produktus svarbu pasirinkti tokias pienarūgščio rūgimo bakterijų kultūras, kurios atsparios lizocimo poveikiui [34]. Lizocimas yra inaktyvuojamas esant aukštesnei kaip 60°C temperatūrai, todėl pieno produktus praturtinant šiuo fermentu reiktų jį dėti po pasterizacijos proceso.

Lietuvos žemės ūkio universitete (LŽŪU) atlikti tyrimai, kurių metu nustatyta lizocimo įtaka technologinėms pieno savybėms. Jos yra svarbios raugintų pieno produktų bei fermentinių sūrų gamyboje [36]. Tyrimų duomenys leido padaryti išvadą, kad lizocimo priedas fermentinės struktūros susidarymo trukmę sutrumpina 12–15%, pagerina sinerezės procesą, taip pat neturi neigiamos įtakos pieno rauginimo procesui bei susidariusios rūgštinės struktūros savybėms.

Šio darbo tikslas buvo pratęsti tyrimus nustatant fermento lizocimo įtaką grietinės technologinio proceso eigai, gauto produkto kokybei, taip pat ištirti grietinės kokybės kitimą laikymo metu nustatant joje susidariusių peroksidų kiekį, LLRR kiekį bei oksidacijos laipsnį.

TYRIMO OBJEKTAS IR METODAI

Tyrimams buvo naudojama šviežia grietinė, gauta iš įmonės AB „Pieno žvaigždės“, Kauno pienas.

Lizocimas (EC 3.2.1.17) – „Delvocyme G“, granuliuotas lizocimo chloridas, apie 95% švarumo, gautas iš Novo-Nordish (Danija) firmos. Lizociminis aktyvumas 20000 skugas vienetų/mg fermento (lizocimo aktyvumo vienetu laikomas *Micrococcus lysodeikticus* substrato suspensijos optinio tankio sumažėjimas (ΔA) 0,001 per vieną minutę esant substrato pH 6,24 ir temperatūrai 25°C. Matuojama esant 450 nm bangos ilgiui kiuvete, kurios plotis 1 cm.

Technologinis grietinės gamybos procesas buvo tiriamas rauginant grietinės mėginus su skirtingu lizocimo kiekiu (0,03 g/l; 0,05 g/l ir 0,07 g/l) ir lyginamas su kontroliniu mėginiu, į kurį lizocimo nebuvo dėta. Lizocimo buvo dedama po grietinės pasterizavimo, prieš tai jį ištirpinus nedideliame grietinės kiekyje.

Grietinės rūgštingumas buvo 20–22°T.

Skonis ir kvapas – grynas, šiek tiek salstelėjęs, be šalutinių, grietinėlei netipškų prieskonių.

Konsistencija – vienalytė, be riebalų kruopelių ar baltymų dribsnių.

Spalva – balta su kreminiu atspalviu, vienoda visos masės.

Grietinei surauginti buvo naudojamas XT-312 raugas, gautas iš Danijos Ch. Hansen laboratorijos. Raugas sudarytas iš grynų pienarūgščių bakterijų (*Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*, *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *cremoris* ir *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* biovar *diacetylactis*), kurių panaudojimas įgalina pagaminti grietinę pasižymintį geru specifiniu skoniu ir aromatu.

Grietinė buvo rauginama panaudojant laboratorinį standą, pagal kurį imituoti gamyboje vykdomi technologiniai procesai. Grietinės rauginimo temperatūra buvo 30–31°C. Raugo į visus mėginius buvo dedama vienodai – 5%. Grietinė buvo rauginama iki 70–75°C rūgštingumo. Grietinės rūgštingumas buvo nustatomas titravimo metodu [39], peroksidų kiekis – jodometrinio būdu pagal ISO 3960 [18], laisvosios lakiosios riebalų rūgštys – panaudojant rūgšties pieno produktams skirtą metodiką, kurios esmę sudaro bandinio distiliacija [41]. Oksidacijos laipsnis nustatomas tiobarbitūro rūgštimi, matuojant optinį tankį.

Visą laikymo laiką grietinės juslinių rodiklių įvertinimas buvo atliekamas trijų specialistų. Jusliškai grietinės kokybė įvertinta pagal metodiką [39].

Grietinės kokybės rodikliai ir oksidacijos pokyčiai buvo nustatomi laikant mėginius 10 parų. Iširti mėginiai su skirtingais lizocimo kiekiais, juos laikant 18°C temperatūroje. Ši laikymo temperatūra pasirinkta siekiant nustatyti aiškesnius riebalų oksidacijos procesus.

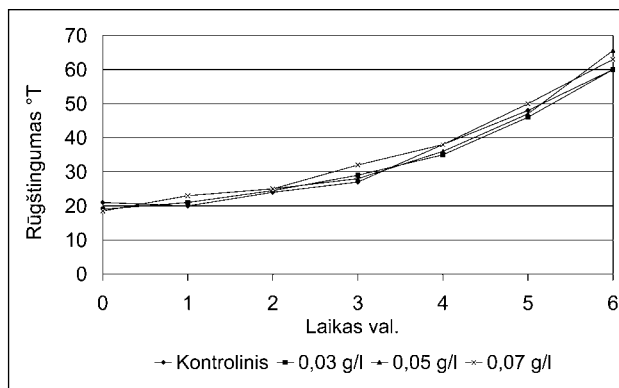
Kiekvieno rodiklio analizė pakartota 2 kartus. Tačiau rodikliai laikymo metu nustatyti apskaičiuojant aritmetinį vidurkį iš 5 serijų pakartojimo.

Mėginių rodiklių skirtumų patikimumo tikimybė *P* buvo nustatoma pagal Stjudento kriterijų. Procesų tyrimų rezultatams apdoroti panaudota regresinė analizė.

TYRIMŲ REZULTATAI IR JŲ APTARIMAS

Literatūroje aptinkami prieštaringi rezultatai, apibūdinantys lizocimo įtaką pieno rūgšties bakterijų vystymuisi. Yra teigiama, kad lizocimas iki tam tikros koncentracijos netrukdo vystytis pieno rūgšties bakterijoms. Prieš keletą metų (LŽŪU) atlikti tyrimai parodė, kad net nedidelis lizocimo priedas šiek tiek pristabdo pieno rūgšties bakterijų vystymąsi rauginant pieną [36] bei turi įtakos rūgštinio gelio formavimuisi ir klampumui.

Mūsų tyrimai apsiribojo lizocimo įtaka 30% riebumo grietinei. Todėl pirmoje tyrimų serijoje buvo nustatyta lizocimo įtaka pieno rūgšties bakterijų vystymuisi rauginant 30% grietinėlę. Tyrimai (1 pav.) apsiribojo rūgštingumo kinetikos nustatymu rauginimo proceso metu, kuris nuo raugo įdėjimo pradžios tęsėsi 6 val.



1 pav. Rūgštingumo kitimo kinetika grietinės rauginimo proceso metu

Gauti tyrimo rezultatai parodė, kad lizocimo priedas neturi įtakos pieno rūgšties bakterijų vystymuisi, nes rūgštingumas visuose mėginiuose su skirtingais lizocimo kiekiais praktiškai nesiskyrė nuo kontrolinio mėginio rūgštingumo.

Suraugintos ir subrandintos per 18 val. grietinės fizikiniai cheminiai ir biocheminiai rodikliai pateikti 1 lentelėje.

Grietinės tyrimai parodė, kad lizocimo priedas turi įtakos jos biocheminiams rodikliams (peroksidų kiekiui, LLRR kiekiui bei oksidacijos laipsniui). Net ir šviežioje grietinėje, pagamintoje su lizocimu, peroksidų kiekis buvo mažesnis negu kontroliniame mėginyje. Be to, peroksidų kiekis grietinėje mažėjo didėjant lizocimo priedui. Įdėjus 0,03 mg/l lizocimo peroksidų kiekis, lyginant su kontroliniu mėginiu, buvo mažesnis tik 4,5%, tuo tarpu įdėjus 0,07 mg/l lizocimo peroksidų sumažėjo 25%. Laisvosios lakiosios riebalų rūgštys taip pat priklausė nuo lizocimo kiekio grietinėje. Nustatyta, kad didesnis lizocimo kiekis sąlygojo mažesnį laisvųjų lakiųjų riebalų rūgščių susiformavimą grietinėje jos rauginimo ir brandinimo metu. Mėginyje su 0,07 mg/l lizocimo LLRR kiekis, lyginant su kontroliniu mėginiu, buvo 10% mažesnis. Kituose mėginiuose su mažiau lizocimo šis skirtumas buvo atitinkamai mažesnis.

Šie tyrimų rezultatai parodė, kad dėl biologiškai aktyvaus priedo – fermento lizocimo mažiau susidaro nepageidautinų junginių jau gaminant produktą, o tai teigiamai veikia grietinės kokybę, ypač jos saugą.

Jusliniai visų pagamintų mėginių rodikliai buvo gana panašūs.

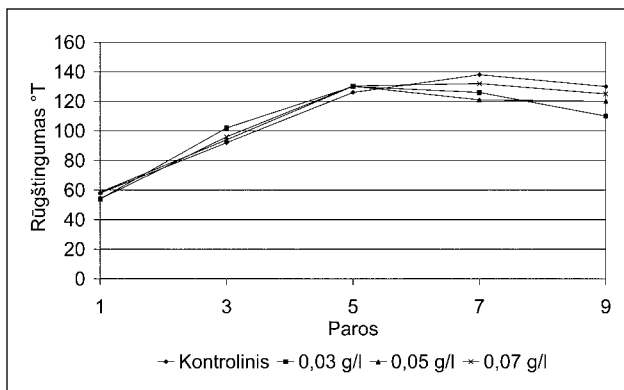
Skonis ir kvapas – grynas pienarūgštis. Kvapas būdingas raugintai grietinei, pagamintai iš pasterizuotos grietinėlės. Visi mėginiai neturėjo jokio šalutinio kvapo ar prieskonio.

Konsistencija – klampi, vienalytė, be baltymų ir riebalų kruopelių, tiršta, blizganti.

Spalva – gelsvo atspalvio, vienoda visos masės.

1 lentelė. Grietinės fizikiniai cheminiai ir biocheminiai rodikliai

Mėginiai	Rūgštingumas °T	Pieno rūgšties kiekis %	Peroksidų kiekis mekv/kg	LLRR kiekis ml 0,1 N NaOH/100 ml	Oksidacijos laipsnis
Kontrolinis	75	0,675	4,4	7,45	1,3
Su 0,03 g/l lizocimo	72	0,648	4,2	7,20	1,25
Su 0,05 g/l lizocimo	74	0,666	3,8	7,02	1,2
Su 0,07 g/l lizocimo	73	0,657	3,3	6,7	1,1



2 pav. Rūgštingumo kitimo kinetika grietinės laikymo metu

Juslinių rodiklių analizė parodė, kad iki 0,07 mg/l lizocimo neturi jokios įtakos pagaminto produkto skoniii, kvapui bei konsistencijai ir spalvai.

Po pagaminimo grietinė buvo laikoma 18°C temperatūroje 9 paras. Laikymo metu buvo tiriama peroksidų kiekis, LLRR kiekis ir oksidacijos laipsnis, rūgštingumo kitimo kinetika, taip pat atliekama juslinė analizė.

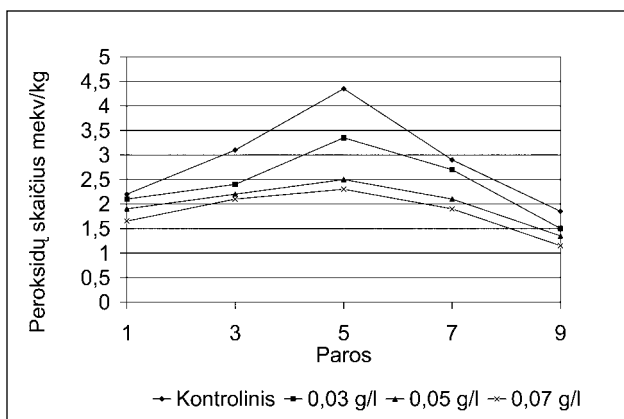
Pirmiausia apibūdiname rūgštingumo ir juslinių rodiklių kitimą. Rūgštingumo kitimas per 9 paras parodytas 2 pav. Matyti, kad laikymo pradžioje rūgštingumas dar didėja ir per 5 paras pieno rūgšties kiekis pasiekia 1,08%. Po to laikotarpio iki 7 parų pieno rūgšties kiekis praktiškai nekinta, o laikant ilgiau pastebėta jo mažėjimo tendencija.

Juslinių rodiklių pokyčiai pateikti 2 lentelėje.

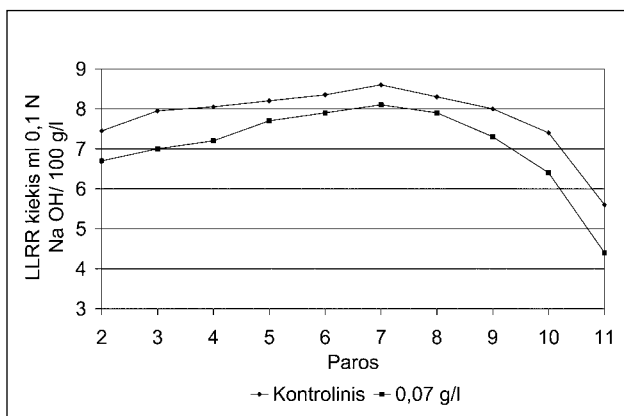
Juslinių rodiklių analizė rodo, kad laikymo metu lizocimo priedas turi įtakos grietinės kokybei. Kuo didesnis lizocimo kiekis, tuo grietinės skonis ir kvapas laikymo metu kinta mažiau.

2 lentelė. Grietinės juslinių savybių kitimas laikymo metu

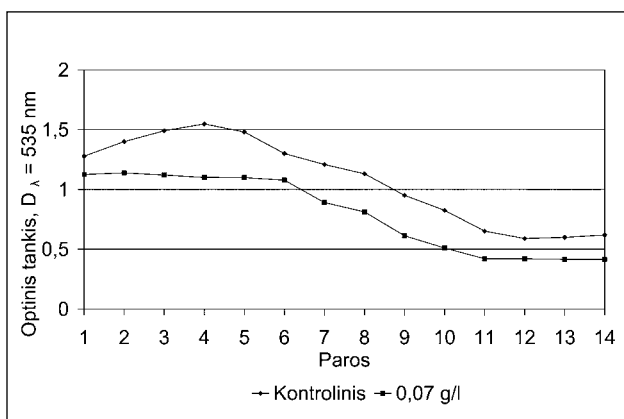
Nr.	Mėginiai	Laikas paromis	Jusliniai rodikliai	
			Skonis, aromatas	Konsistencija
1.	Kontrolinis (belizocimopriedo)	1	Grynas pienarūgštis, be pašalinių prieskonių ir kvapų.	Vienalytė, klampi.
		3	Pienarūgštis, bet šiek tiek jaučiamas gendančių riebalų skonis.	Vienalytė, klampi.
		5	Negrynas pienarūgštis, aiškiai jaučiamas gendančių riebalų skonis, pereinantis į kartumą.	Matyti 0,5% išsiskyrusių išrūgų.
		7	Negrynas pienarūgštis, aiškiai jaučiamas gendančių riebalų skonis. Pradeda vystytis pelėsiai.	Matyti 0,8–0,9% išsiskyrusių išrūgų.
		9	Aitrus, kartus skonis, būdingas sugedusiai grietinei. Vystosi pelėsiai.	2–3% išsiskyrusių išrūgų.
2.	0,03 g/l lizocimo	1	Grynas pienarūgštis, be šalutinių prieskonių ir kvapų.	Vienalytė, klampi.
		3	Pienarūgštis, bet šiek tiek jaučiamas gendančių riebalų skonis.	Vienalytė, klampi.
		5	Negrynas pienarūgštis, jaučiamas gendančių riebalų skonis, pereinantis į kartumą.	Matyti truputis išsiskyrusių išrūgų.
		7	Negrynas pienarūgštis, aiškiai jaučiamas gendančių riebalų skonis. Pradeda vystytis pelėsiai.	Matyti 0,5% išsiskyrusių išrūgų.
		9	Aitrus, kartus skonis, būdingas sugedusiai grietinei. Vystosi pelėsiai.	Skystoka, matyti iki 1% išsiskyrusių išrūgų.
3.	0,05 g/l lizocimo	1	Grynas pienarūgštis, be šalutinių prieskonių ir kvapų priedų.	Klampi, vienalytė.
		3	Pienarūgštis.	Klampi, vienalytė.
		5	Pienarūgštis, bet šiek tiek jaučiamas gendančių riebalų skonis.	Šiek tiek mažiau išsiskyrusių išrūgų nei kituose mėginiuose.
		7	Negrynas pienarūgštis, jaučiamas gendančių riebalų skonis, pereinantis į kartumą.	Mažiau išsiskyrusių išrūgų nei kituose mėginiuose.
		9	Negrynas pienarūgštis, aiškiai jaučiamas gendančių riebalų skonis. Po truputį pradeda vystytis pelėsiai.	Matyti iki 0,5% išsiskyrusių išrūgų.
4.	0,07 g/l lizocimo	1	Grynas pienarūgštis, be šalutinių prieskonių ir kvapų.	Klampi, vienalytė.
		3	Grynas pienarūgštis, be šalutinių prieskonių ir kvapų.	Klampi, vienalytė.
		5	Negrynas pienarūgštis.	Klampi, vienalytė.
		7	Negrynas pienarūgštis, jaučiamas gendančių riebalų skonis.	Klampi, vienalytė.
		9	Negrynas pienarūgštis, jaučiamas gendančių riebalų skonis. Pelėsių vystymosi nepastebėta.	Klampi, matyti iki 0,5% išsiskyrusių išrūgų.



3 pav. Peroksidų skaičiaus kitimas grietinės laikymo metu



4 pav. Laisvųjų lakiųjų riebalų rūgščių kitimas grietinės laikymo metu



5 pav. Oksidacijos laipsnio kitimas grietinės laikymo metu

Pagrindinis dėmesys buvo kreipiamas į tokius grietinės kokybės rodiklius, kaip peroksidų kiekis, LLRR ir oksidacijos laipsnis. Peroksidų kitimas grietinės laikymo metu parodytas 3 pav.

Gauti rezultatai rodo, kad laikymo metu peroksidadai kinta dviem stadijomis. Peroksidadai susidaro per pirmąsias penkias paras. Šiuo metu peroksidų kiekis didėja, o vėliau pradeda mažėti. Literatūroje paskelbti tyrimų rezultatai teigia, kad po kelių parų laikymo peroksidų kiekis mažėja, nes jie skyla, susidaro antriniai oksidacijos proceso junginiai – aldehidai, ketonai ir kiti [46], kurių susiformavimas šiame darbe netirtas. Tyrimų rezultatai leido

atskleisti labai svarbią lizocimo savybę – antioksidacinę aktyvumą. Iki šiol ši lizocimo savybė literatūros šaltiniuose nebuvo minima. 3 pav. matyti, kad net ir nedaug lizocimo priedo sumažina peroksidų susiformavimą, o esant didesniai lizocimo kiekiui (0,05 ar 0,07 g/l) peroksidadai formuojasi labai nežymiai. Per 5 laikymo paras kontroliniame mėginyje susidaro 95% peroksidų, tuo tarpu esant 0,05 ar 0,07 g/l lizocimo peroksidų kiekis padidėja tik 31–39%. Taigi lizocimo priedas, trukdantis peroksidų susidarymui grietinėje jos laikymo metu, yra itin svarbus vartotojams, nes ryškiai padidina grietinės saugą, trukdo susidaryti žmogaus organizmui pavojingiems junginiams.

Kita bandymų serija buvo skirta LLRR kiekiui ištyrimui grietinės laikymo metu (4 pav.).

Iš pateiktų tyrimo rezultatų matyti, kad laisvosios lakiosios riebalų rūgštys grietinės laikymo metu iki 5–7 paros turi tendenciją didėti, o vėliau jų kiekis mažėja. Matyt prasideda jų tolesnis skilimas, kurio metu, kaip teigia literatūros duomenys, susidaro taip pat žmogaus organizmui toksiški junginiai.

Tyrimai (4 pav.) rodo, kad lizocimo priedas turi įtakos ir LLRR susidarymui. Mėginiuose su lizocimo priedu grietinėje jos laikymo metu susidaro mažesnis LLRR kiekis, matyt dėl lėtesnio hidrolizės proceso. Vykstant hidrolizei riebalai skyla į trigliceridus, digliceridus ir LLRR [47]. Taigi LLRR kiekis grietinėje netiesiogiai rodo hidrolizės proceso intensyvumą [45]. Taip pat galima tikėtis, kad esant mažesniai LLRR kiekiui mažiau susidarys ir jų skilimo produktų, o tai taip pat teigiamai veiks produkto kokybę bei saugą.

Apie oksidacijos proceso laipsnį gali būti sprendžiama pagal linoleno ir arachido rūgščių skilimą. Dėl šių rūgščių skilimo ir vėliau vykstančio oksidacijos proceso susidaro dialdehidai. Pagal vieno iš susiformuojančių dialdehidų reakciją su tiobarbitūro rūgštimi ir buvo sprendžiama apie grietinės riebalų oksidacijos laipsnį.

Gauti rezultatai apie oksidacijos laipsnio kitimą kontroliniame grietinės mėginyje ir mėginyje su lizocimo priedu parodyti 5 pav.

Rezultatų analizė rodo, kad laikymo metu kontroliniame mėginyje oksidacijos laipsnis didėja. Šis kitimas–didėjimas trunka 4–5 paras, o po to prasideda mažėjimas. Gali būti, kad vėliau vyksta dialdehidų skilimas, susidaro kiti junginiai, todėl reakcijos intensyvumas su tiobarbitūro rūgštimi mažėja.

Mėginiuose su lizocimo priedu oksidacijos laipsnio padidėjimo nenustatyta. Jis išlieka pastovus laikant grietinę 5–6 paras, o vėliau mažėja kaip ir kontroliniame mėginyje. Lyginant oksidacijos laipsnius kontroliniame mėginyje ir mėginiuose su lizocimu matyti, kad lizocimo priedas oksidacijos laipsnį grietinėje jos laikymo metu gali sumažinti iki 30%.

Po 10 parų laikymo oksidacijos laipsnio kitimo tiek kontroliniame mėginyje, tiek mėginiuose su lizocimu, panaudojant reakciją su tiobarbitūro rūgštimi, jau nepastebima. Matyt visi susidarę dialdehidai jau yra suskilę.

IŠVADOS

1. Nustatyta, kad antioksidacinės lizocimo savybės labai išreikštos. Grietinės su lizocimu (0,07 g/l) kokybė laikymo metu kito labai nežymiai, lyginant su kontroliniu mėginiu.
2. Gauta, kad lizocimo priedas neturėjo įtakos grietinės rauginimo procesui. Grietinės rūgštingumo intensyvumas

- rauginimo proceso metu tiek kontroliniame mėginyje, tiek mėginiuose su lizocimo priedais (0,03 g/l; 0,05 g/l ir 0,07 g/l) kito vienodai.
3. Peroksidai grietinės laikymo metu kito dviem stadijomis. Per pirmąsias laikymo dienas peroksidų kiekis grietinėje didėjo. Šis procesas tęsėsi 5 paras. Kontroliniame mėginyje peroksidų kiekis padidėjo 95%, o mėginiuose su 0,07 g/l lizocimo – tik apie 30%. Dėl lizocimo priedo 3,3 karto mažiau susidarė peroksidų.
 4. Laisvųjų lakiųjų riebalų rūgščių kiekis grietinės laikymo metu didėjo iki 7 parų, vėliau pradėjo mažėti. Mėginiuose su lizocimu LLRR kiekis, lyginant su kontroliniu mėginiu, visą laikymo periodą buvo mažesnis.
 5. Gauta, kad mėginiuose su lizocimo priedu grietinės riebalų oksidacijos laipsnis jos laikymo metu, lyginant su kontroliniu mėginiu, gali būti 30% mažesnis.
- Gauta 2007 08 10
Priimta 2007 10 18

Literatūra

1. Bachman H. P. Butyric acid fermentation in cheese: a literature review // *AgrarForschung*. 1995. Vol. 2. N 11/12. P. 523–526.
2. Bandonienė D., Venskutonis P. R., Gruzdienė D. et al. Antioxidative activity of sage (*Salvia officinalis* L.), savory (*Satureja hortensis* L.) and borage (*Borago officinalis* L.) extracts in rapeseed oil // *European Journal of Lipid Science and Technology*. 2002. Vol. 104. P. 286–292.
3. Blanc B. The nutritional value of fermented dairy products // *IDF Biulletin*. 1984. No. 179. P. 33–53.
4. Butkienė A., Garmienė G., Kačerauskis D. ir kt. Lietuvoje pagaminto sėmenų aliejaus cheminė sudėtis ir savybės // *Maisto chemija ir technologija*. 1995. T. 29. P. 6–9.
5. Cross H. R. *Meat Science, Milk Science and Technology*. New York: Elsevier Science Publishers, 1988. P. 175–271.
6. Čeksterytė V. Effect of temperature and storage time on hydrogen peroxide content in honey of different biological origin // *Biologija*. 2000. N 2. P. 296–298.
7. Dapkevičius A., Venskutonis R., van Beek T. A. et al. Antioxidant activity of extracts obtained by different isolation procedures from some aromatic herbs grown in Lithuania // *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 1998. Vol. 77. P. 140–146.
8. Dėl Valstybinės maisto ir mitybos strategijos ir jos įgyvendinimo priemonių 2003–2010 metų planas // *Valstybės žinios*. 2003. Nr. P. 101–4556.
9. Dick W. Klinische Bedeutung des Lysozyms in Säuglinge und Kleinkinderalter Therapiewoche. 1981. Bd. 31. N 11. P. 1740–1745.
10. Dorman H. J. D., Peltoketo A., Hiltunen R. et al. Characterisation of the antioxidant properties of deodorised aqueous extracts from selected Lamiaceae herbs // *Food Chemistry*. 2003. Vol. 83. P. 255–262.
11. Fuglsang C. C., Johansen C., Christgau S. et al. Antimicrobial enzymes: applications and future potential in the food industry // *Trends in Food Science and Technology*. 1995. N 6(12). P. 390–396.
12. Grinienė E. *Biochemija*. Kaunas, 1998. P. 267.
13. Grinienė E. Sveikai mitybai – sveikas maistas // *Šiek tiek apie riebalus*. Kaunas, 2000. P. 79.
14. Gyosheva H. Compounds forming the aroma complex in Bulgarian sour milk // *Milchwissenschaft*. 1982. N 37(5). P. 267–269.
15. Gülcin I., Beydemir S., Sat I. G. et al. Evaluation of antioxidant activity of cornelian sherry (*Cornus mas t.*) // *Acta Alimentaria*. 2005. Vol. 34. P. 193–202.
16. Holzapfel W. H., Geisen R., Schillinger U. Biological preservation of foods with reference to protective cultures, bacteriocins and food grade enzymes // *International Journal of Food Microbiology*. 1995. Vol. 24. N 3. P. 343–362.
17. Johnson E. A., Dell'Acqua E. Composition Active Against Botulism. United States Patent. US 5393545. 1995.
18. Kačerauskienė G. Pieno ir jo produktų cheminės analizės metodai. Maisto institutas, 1999. P. 111.
19. Labbe R. G., Chang C. A. Recovery of heat injured spores of *Clostridium perfringens* types B, C and D by lysozyme and an initiation protein // *Letters in Applied Microbiology*. 1995. N 21(5). P. 302–306.
20. Lambelet P., Wille H. J., Aeschbach R. Stabilisation of foods: protection against oxidation // *Lebensmitteltechnik*. 1995. Vol. 27. No. 5. P. 42, 44–46.
21. Lesnierowski G., Kijowski J. Lysozyme activity and use as a food preservative // *Przemysł Spożywczy*. 1995. Vol. 49. N 4. P. 116–119.
22. Miliauskas G., van Beek T. A., Venskutonis P. R. et al. Antioxidative activity of *Geranium macrorrhizum* // *European Food Research and Technology*. 2004. Vol. 218(3). P. 253–261.
23. Miliauskas G., van Beek T. A., Venskutonis P. R. et al. Antioxidant activity of *Potentilla fruticosa* // *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 2004. Vol. 84(15). P. 1997–2009.
24. Needs E. C., Ford G. D., Owen A. J. et al. A method for the quantitative determination of individual free fatty acids in milk by ion exchange resin adsorption gas-liquid chromatography // *Journal of Dairy Research*. 1983. Vol. 50. P. 321–329.
25. Nicklson I. W. G., Laurent A. M. Effect of forage type and supplemental dietary vitamin E on milk oxidative stability // *Canadian Journal of Animal Science*. 1991. Vol. 71. No. 4. P. 1181–1186.
26. Ogawa H., Hara S., Totani Y. Antioxidative behavior of unsaturated fatty acids in different molecular forms // *Journal of the Japan Oil Chemists Society*. 1995. Vol. 44. No. 12. P. 1055–1059.
27. Payne K. D., Oliver S. P., Davidson P. M. Comparison of EDTA and apo-lactoferrin with lysozyme on the growth of foodborne pathogenic and spoilage bacteria // *Journal of Food Protection*. 1994. N 57(1). P. 62–65.
28. Peck M. W., Fernandez P. S. Effect of lysozyme concentration, heating at 90 degree, and then incubation at chilled temperatures on growth from spores of nonproteolytic *Clostridium botulinum* // *Letters in Applied Microbiology*. 1995. N 21(1). P. 50–54.
29. Pollock I. I. et al. *In vitro* and *in vivo* Studies of cellular lysis of oral bacteria by a lysozyme – protease – inorganic

- monovalent anion antibacterial system // *Journal of Infections Immunology*. 1984. Vol. 46. N 3. P. 876–878.
30. San Lang Wang, Chi Sun Pai, Sun Tung Shieh. Production of lytic enzyme from *Pseudomonas aeruginosa* M-1001 // *Proceedings of the National Science Council, Republic of China, Part B: Life Sciences*. 1995. N 19(4). P. 216–224.
 31. San Lang Wang, Sun Tung Shieh, Chyi Sheng Pai. Production, purification and characterization of two proteinaceous hen-egg-white lysozyme inhibitors from *Pseudomonas aeruginosa* M-1001 // *Proceedings of the National Science Council, Republic of China, Part B: Life Sciences*. 1995. N 19(3). P. 166–175.
 32. Scherer S. Biological control of pathogens in food: option or fiction? // *DMZ Lebens-mittelindustrie und Milchwissenschaft*. 1995. N 116(10). S. 432–439, 442.
 33. Stelzner A. et al. Lysozym. 2. Mitteilung: Biologische Funktion // *Deutsche Gesundheits-Wesen*. 1982. Bd. 87. N 48. S. 2033–2038.
 34. Swaisgood H. E. Characteristics of milk // Fennema O. K. (ed.). *Food Chemistry*. New York, 1996. P. 1064.
 35. Toppino P. M., Contarini G., Degano L. Estimation of formaldehyde, benzoic acid and lysozyme in Provolone-cheese // *Scienza e Tecnica Lattiero Casearia*. 1987. N 38(6). P. 534–546.
 36. Urbienė S., Avižienis V., Šapošnikova J. Lizocimo įtaka technologinėms pieno savybėms // *Žemės ūkio mokslai*. 2006. Nr. 2. P. 42–50.
 37. Urbienė S., Rumpis M. Nitratų ir nitritų pieno produktuose // *Visuomenės sveikata*. 2004. Nr. 2. P. 64–69.
 38. Urbienė S. A. Scientific substantiation and practical application of the development of new cultured milk product with high biological value // *Technical Science Chemical Technology. Summary of habilitation thesis*. Kaunas, 1995. P. 148.
 39. Urbienė S. A. Pieno ir jo produktų cheminės analizės metodai. Kaunas, 1999. P. 243.
 40. Urbienė S. A. Pieno sudėtis ir savybės. Žaliava produktų gamybai. Akademija, 2006. P. 127.
 41. Urbienė S., Zaurienė R. Sausųjų išrūgų priedo įtaka grietinės kokybei // *Žemės ūkio mokslai*. 2007. T. 14. Nr. 1. P. 39–47.
 42. Venskutonis R., Gruzdienė D., Bandonienė D. ir kt. Šalavijo (*Salvia officinalis* L.) ir čiobrelio (*Thymus vulgaris* L.) ekstraktų antioksidacinis aktyvumas rapsų aliejuje // *Maisto chemija ir technologija*. 1998. T. 32. P. 153–159.
 43. Visser H., Paulsson M. Beta-lactoglobulin: a whey protein with unique properties // *Industrial Proteins*. 2001. No. 3. P. 9–12.
 44. Wang S. Y., Lin H. S. Antioxidant activity in fruits and leaves of blackberry, raspberry and strawberry varies with cultivar and development stage // *Journal Agriculture Food Chemistry*. 2000. Vol. 48. P. 140–146.
 45. Walstra P., Geurts T. J., Noomen A. et al. *Principles of Milk Properties and Processes*. New York, 1999. P. 727.
 46. Wassef W. Lipids // Fennema O. R. (ed.). *Food Chemistry*. New York, 1996. P. 225–319.
 47. Алексеева Н. Ю. и др. Состав и свойства молока, как сырья для молочной промышленности. Москва: Агропромиздат, 1986. С. 239.
 48. Кузнецова Т. А., Кислухина О. В., Авиженис В. Ю. Лизис микроорганизмов ферментными препаратами // *Ферментная и спиртовая промышленность*. 1985. № 6. С. 38–39.
 49. Урбене С. Изменение биохимических свойств кисломо-лочных продуктов во время хранения // *Maisto chemija ir technologija*. 1995. T. 29. P. 97–101.

Sigita Urbienė, Lina Poderytė

INFLUENCE OF ENZYME LYSOZYME ADDITIVE ON SOUR CREAM QUALITY

Summary

The influence of additive 0.03 g/l, 0.05 g/l and 0.07 g/l of enzyme lysozyme on the technological process of sour cream production and its quality and changes of sour cream quality during its storage period (storage temperature 18 °C) have been analysed. During the storage period, oxidation processes of sour creams fat characterized by such indices as the number of peroxides, free volatile fatty acids and the oxidation degree defined according to the compounds' reaction with the tiobarbituric acid have been studied.

Lysozyme additive was found not to influence the technology process of sour cream fermentation. During this process, changes of acidity both in control samples and in samples with the lysozyme additives were the same. The time of fermentation process in all samples was also the same.

The intensity of the oxidation process (after 5 days of storage), which is characterized according to the number of peroxides, showed that the lysozyme additive (0.07 g/l of sour cream) reduces the formation of peroxides 3.3 times and of free volatile fatty acids by 10%. This tendency remained in all the period of sour cream storage. The degree of sour cream oxidation depended on the reaction of oxidation compounds with tiobarbituric acid, which in sour cream samples with the lysozyme additive was reduced by 30% in comparison with sour cream samples without lysozyme.

The results of analyses showed that the quality of sour cream produced with the lysozyme additive, in the storage period improved in comparison with the control cream.

Lysozyme additive allows to preserve the quality of sour cream during its storage period. Furthermore, the results revealed a unique enzyme lysozyme to possess an extremely important property – antioxidative effect.

Key words: sour cream, lysozyme, fermentation process, storage, number of peroxides, free volatile fatty acids, oxidation degree

Сигита Урбене, Лина Подерите

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ФЕРМЕНТА ЛИЗОЦИМА ДЛЯ УЛУЧШЕНИЯ КАЧЕСТВА СМЕТАНЫ

Резюме

В статье исследовано влияние добавления фермента лизоцима (0,03 г/л, 0,05 г/л и 0,07 г/л) на технологический процесс производства сметаны и её качество. Также установлено изменение качества сметаны во время её хранения при температуре 18°C. Во время хранения исследовались оксидационные процессы жиров сметаны, которые характеризовали такие показатели, как число перекисей, число свободных летучих жирных кислот и степень ок-

сидации, определяемая в соответствии с реакцией соединений, образовавшихся во время оксидации с тиобарбитуровой кислотой.

Установлено, что добавление лизоцима не оказывало влияния на ход технологического процесса сквашивания сметаны, поскольку во время этого процесса повышение кислотности как в контрольных образцах, так в образцах с добавлением лизоцима было одинаковым. Время процесса сквашивания во всех образцах (контрольных и с добавлением лизоцима) практически было одинаковым.

Интенсивность процесса оксидации (после выдержки образцов в течение 5 суток), характеризуемая образованием перекисей, показала, что добавление 0,07 г/л лизоцима в сметану в 3,3 раза сокращает образование перекисей, а в результате этого уменьшается и количество свободных радикалов в продукте. Добавление лизоцима на 10% сокращает образование свободных летучих жирных кислот. Данная тенденция сохраняется на протяжении всего

времени выдержки сметаны. Степень оксидации сметаны, определяемая в соответствии с реакцией оксидационных соединений с тиобарбитуровой кислотой, в образцах сметаны с добавлением лизоцима была до 30% ниже, чем в контрольных.

Полученные результаты показали, что качество сметаны, изготовленной с добавлением лизоцима, во время хранения изменялось весьма незначительно, а в контрольных образцах явно ухудшалось.

Исследования показали, что добавки лизоцима могут значительно улучшить качество сметаны во время выдержки. Кроме того, полученные результаты помогли установить, что уникальные свойства фермента лизоцима можно дополнить ещё одним особенно важным его свойством – антиоксидационной активностью.

Ключевые слова: сметана, лизоцим, процесс сквашивания, хранение, число перекисей, свободные летучие жирные кислоты, степень оксидации