

# Fermento lizocimo įtaka grūdėtos varškės kokybei laikymo metu

**Sigita Urbienė,**

**Lina Sasnauskaitė**

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

Straipsnyje ištirta fermento lizocimo priedo įtaka grūdėtos varškės kokybei laikymo metu. Grūdėtos varškės mėginiai su įvairiais lizocimo kiekiais buvo lyginami su mėginiais be konservanto ir su mėginiais, kuriuose buvo cheminio konservanto E 202. Mėginiai buvo laikomi 17–18 parų 8 °C temperatūroje.

Į grūdėtą varškę gamybos metu buvo dedama – 0,08, 0,1, 0,12 % lizocimo. Grūdėtos varškės kokybės rodikliai – pieno rūgšties kiekis %, laisvosios lakiosios riebalų rūgštys (LLRR) ir peroksidų skaičius – buvo nustatyta prieš laikymą ir laikymo metu.

Nustatyta, kad skirtingas lizocimo kiekis neturi įtakos pieno rūgšties kiekio susidarymui. Tačiau mėginiuose su cheminiu konservantu ir mėginiuose be konservanto pieno rūgšties kiekis laikymo metu buvo didesnis, negu mėginiuose su lizocimu.

Gauta, kad skirtingas lizocimo kiekis turi įtakos peroksidų susidarymui. Su mažiausiu lizocimo kiekiu (0,08 %) peroksidai formavosi sparčiau. Po 7 parų laikymo ir jų kiekis buvo didžiausias – 1,65–1,7 mekv/kg. Su didesniais lizocimo kiekiais (0,1, 0,12 %) peroksidai formavosi (oksidacijos procesas) lėčiau. Maksimalus kiekis susidarė tik po 10 parų ir buvo mažesnis atitinkamai 1,5 ir 1,4 mekv/kg. Mėginių su konservantu E 202, lizocimu (0,1 %) ir be konservanto tyrimų rezultatai parodė, kad mėginiuose be konservanto ir mėginiuose su konservantu E 202 peroksidų susidarymo procesas mažai tesiskyrė. Juose po 7–8 parų susidarė 2,1–2,2 mekv/kg peroksidų. Kur kas lėčiau oksidacijos procesas vyko mėginiuose su lizocimu (0,1 %). Mėginyje po 10 parų susidarė tik 1,5 mekv/kg peroksidų.

Ištirtas LLRR kiekio susidarymas. Gauta, kad skirtingas lizocimo kiekis (laikant grūdėtą varškę iki 18 parų) neturėjo didelės įtakos LLRR kiekiui. Tačiau lyginant mėginius su lizocimu (0,1 %), su konservantu E 202 ir mėginius be konservanto nustatyta, kad mėginiuose be konservanto per pirmąsias 10 laikymo parų LLRR formavosi labai intensyviai. Po 10–11 parų LLRR kiekis pradėjo mažėti. Lyginant LLRR kiekį mėginiuose su konservantu E 202 ir su lizocimu (0,1 %) po 18 laikymo parų gauta, kad pastarajame jų susidarė 21,43 % mažiau.

Atlikti tyrimai parodė, kad oksidacijos procesai grūdėtos varškės laikymo metu buvo gerokai lėtesni mėginiuose su lizocimo priedu, palyginus juos su mėginiais be konservanto ar su cheminiu konservantu E 202.

**Raktažodžiai:** grūdėta varškė, lizocimas, laisvosios lakiosios riebalų rūgštys, pieno rūgšties kiekis, peroksidų skaičius, laikymas

## ĮVADAS

Vienas pieno produktų, itin mėgstamų vartotojų tiek Lietuvoje, tiek užsienyje, yra grūdėta varškė. Grūdėta varškė – tai baltyminis, mažo rūgštingumo, švelnaus skonio pieno produktas, turintis gerą skonį ir savitą grūdėtą struktūrą. Tai produktas, tinkamas kasdieniam vartojimui. Grūdėtą varškę Lietuvoje gamina tik viena pieno perdirbimo įmonė AB „Pieno žvaigždės“ Panevėžyje esančiame filiale. Dauguma produkcijos eksportuojama į užsienį, todėl produkto

galiojimo laikas yra ilgesnis. Labai svarbu, kad per visą laikymo laiką produktas išliktų gryno pienarūgščio skonio ir kvapo. Ypač svarbu, kad per šį laiką produkto saugą ir kokybę lemiantys veiksniai išliktų nepakitę, svarbu, kad nevyktų oksidacijos procesai. Dėl to naudojami konservantai. Šiuo metu maisto pramonėje, taip pat pieno pramonėje naudojami konservantai yra sintetiniai cheminiai junginiai. Tačiau konservantai gali būti ir natūralūs. Dabar, siekiant užtikrinti maisto saugumą, reikalaujama, kad priedai būtų natūralūs, kad jie nekenktų žmogaus sveikatai. Šie reikalavimai

išdėstyti Vyriausybės patvirtintoje „Valstybinėje maisto ir mitybos strategijoje“<sup>1</sup>.

Grūdėtos varškės, eksportuojamos į užsienį, galiojimo laikas yra 24 paros. Lietuvoje realizuojamo produkto galiojimo laikas kur kas trumpesnis. Kadangi grūdėtos varškės sudėties pagrindas yra baltymai ir grietinė, produkto skonis ir kvapas labai priklauso nuo jų. Grūdėtos varškės skonių 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.) (Gyosheva, 1982). Laisvųjų lakiųjų riebalų rūgščių nemažai yra šviežiam piene (Blanc, 1984; Needs, Ford, Owen et al., 1983). Nuo bendrojo riebalų kiekio jos sudaro iki 1 %. Visos laisvosios lakiosios riebalų rūgštys yra mažo molekulinio svorio (Ogawa, Hara, Totani, 1995). Yra įrodyta, kad šios rūgštys oksiduojasi kur kas greičiau, lyginant su sočiosiomis riebalų rūgštimis. Be to, yra žinoma, kad laisvosios lakiosios riebalų rūgštys mažina maistinę riebalų vertę, o jų skilimo produktai yra net toksiški žmogaus organizmui (Grininė, 1998, 2000). Oksidacijos procesą lydi peroksidų, aldehydų, ketonų bei kitų, oksidacijai būdingų, junginių susidarymas, kuris pasireiškia nemaloniu kvapu, apkartusiu skoniu.

Be biocheminių procesų, grūdėtoje varškėje 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 (Urbienė, 2006). Todėl pagal laisvųjų lakiųjų riebalų rūgščių kiekį galima spręsti apie produkte įvykusios ar vykstančios riebalų hidrolizės laipsnį (Walstra, Geurts, Noomen et al., 1999).

Riebalų oksidacijos laipsnis gali būti apibūdinamas nuostatant oksidacijos procesą lydinčius rodiklius: peroksidus, ketonus bei kitus. Pirmiausia susidaro peroksidai, po kelių dienų jie skyla ir produkte atsiranda pastarųjų skilimo produktai. Yra žinoma, kad pirminiai oksidacijos procesai, nepaisant laikymo temperatūros, vyksta laikant produktą pirmąsias 4–5 paras (Urbienė, Zaurienė, 2007). 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 (Nickson, Laurent, 1991). Žinomi darbai, įrodantys, kad oksidacijos procesus stabdo uogos bei vaisiai (Gülcin, Beydemir, Sat et al., 2005; Lambelet, Wille, Aeschbach, 1995; Wang, Lin, 2000). Lietuvoje taip pat atlikta darbų, įrodančių, kad riebalų, aliejų oksidacinį stabilumą padidina įvairūs vaistinių augalų (šalavijo, čiobrelis ir kt.) ekstraktai (Bandonienė, Venskutonis, Gruzdienė et al., 2002; Dapkevičius, Venskutonis, van Beek et al., 1998; Dorman, Peltoketo, Hiltunen et al., 2003; Miliauskas, van Beek, Venskutonis et al., 2004a; Miliauskas, van Beek,

Venskutonis et al., 2004b; Venskutonis, Gruzdienė, Bandonienė ir kt., 1998). Tačiau būtina atkreipti dėmesį į tai, kad šie priedai turi ženklų įtaką produkto skoniui bei kvapui ir jų vartojimas ne visiems produktams yra tinkamas. Jie netiktų ir grūdėtos varškės gamyboje, panaudoti augaliniai antioksidantai iškreiptų šio produkto skonį bei kvapą.

Žinomi tyrimai (Cross, 1988; Visser, Paulsson, 2001), kurių metu nustatyta, kad peroksidų susidarymui turi įtakos baltyminės kilmės antioksidantai, šiuo atveju buvo panaudoti antioksidacinių savybių turintys išrūgų baltymai (Urbienė, 1995). Žinoma, kad ir sausosios išrūgos yra tinkamas priedas siekiant pagerinti produkto kokybę. Nustatyta, kad įdėjus 2 % sausųjų išrūgų, peroksidų susidarė 50 % mažiau. Taigi sausųjų išrūgų priedą galima naudoti kaip vertingą natūralų antioksidantą (Cross, 1988; Visser, Paulsson, 2001). Šis priedas nepakeičia produkto natūralumo, nes į pieno produktą pridedama tos pačios kilmės sudėtinųjų dalių (sausųjų išrūgų).

Be sausųjų išrūgų bei ultrafiltracijos būdu gautų išrūgų baltymų, pasižyminčių antioksidacinėmis savybėmis, 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 (Walstra, Geurts, Noomen et al., 1999; Urbienė, 2006). Tačiau kai kuriais atvejais gali būti iki 0,2 mg/100 ml (Walstra, Geurts, Noome et al., 1999). Labai aktyvus yra motinos pieno lizocimas. Tai rodo, kad lizocimas yra svarbi biologiškai aktyvi medžiaga augančiam organizmui. Teigiama, kad lizocimas turi priešūždegiminių, imunoregulatorinių, antitoksinių ir priešvėžinių savybių (Dick, 1981; Pollock et al., 1984; Stelzner et al., 1982). Yra žinomos ir baktericidinės lizocimo savybės (Walstra, Geurts, Noomen et al., 1999).

Lizocimo bakteriologinis veikimas pasireiškia bakterijų, ypač gramteigiamų, ištirpinimu (Lesnierowski, Kijowski, 1995; Peck, Fernandez, 1995). Todėl jis kaip natūralus konservantas naudojamas maisto produktų gamyboje (Holzapfel, Geisen, Schillinger, 1995). Nustatyta, kad lizocimas neigiamai veikia bakterijų *E. coli*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis* ir kt. augimą (Labbe, Chang, 1995; San Lang Wang, Chi Sun Pai, Sun Tung Shieh., 1995; San Lang Wang, Sun Tung Shieh, Chyi Sheng Pai, 1995). Tyrimais įrodyta, kad lizocimas trukdo vystytis *Clostridium botulinum* (Johnson, Dell'Acqua, 1995; Peck, Fernandez, 1995). Piene ir jo produktuose lizocimas trukdo vystytis *Listeria monocytogenes*, *Clostridium perfringens* ir *Clostridium tyrobutyricum* (Fuglsang, Johansen, Christgau et al., 1995; Payne, Oliver, Davidson, 1994; Scherer, 1995). Ypač svarbu, kad lizocimas neigiamai veikia šių bakterijų sporų vystymąsi (Bachman, 1995; Fuglsang, Johansen, Christgau et al., 1995; Labbe, Chang, 1995). Todėl lizocimas yra naudojamas kaip konservantas fermentinių sūrinių gamyboje (Bachman, 1995; Toppino, Contarini, Degano, 1987).

Lietuvos žemės ūkio universitete (LŽŪU) atlikti tyrimai, kurių metu nustatyta lizocimo įtaka technologinėms

<sup>1</sup> Dėl Valstybinės maisto ir mitybos strategijos ir jos įgyvendinimo priemonių 2003–2010 m. planas. *Valstybės žinios*. 2003. Nr. 101-4556.

pieno savybėms. Jos yra svarbios raugintų pieno produktų bei fermentinių sūrių gamyboje (Urbienė, Avižienis, Šapošnikova, 2006). 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. Laikant raugintą grietinę su lizocimo, kaip konservanto, priedu, gauta, kad oksidacijos laipsnis 5–6 paras išlieka toks pats kaip ką tik pagamintoje grietinėje, kur kas mažiau susidaro peroksidų bei laisvųjų lakiųjų riebalų rūgščių (Urbienė, Poderytė, 2007).

Šio darbo tikslas buvo ištirti fermento lizocimo panaudojimo grūdėtos varškės gamybos technologijoje galimybes, gauto produkto kokybę, taip pat grūdėtos varškės kokybės kitimą laikymo metu nustatant joje pieno rūgšties kiekį, susidariusių peroksidų kiekį ir laisvųjų lakiųjų riebalų kiekį.

## TYRIMO OBJEKTAS IR METODAI

Grūdėtos varškės gamybos tyrimai buvo atlikti pieno perdirbimo įmonėje AB „Pieno žvaigždės“ Panevėžyje esančiame filiale 2008–2009 m. Produkto kokybės tyrimai atlikti LŽŪU Inžinerijos fakulteto Šilumos ir biotechnologijų inžinerijos katedroje, Žemės ūkio produktų kokybės tyrimų laboratorijoje. Tyrimams buvo naudojama ką tik pagaminta šviežia grūdėta varškė, skirta Lietuvos rinkai, natūrali be konservantų, grūdėta varškė, skirta užsienio rinkai, su cheminiu konservantu E202 (kalio sorbatas), ir grūdėta varškė su skirtingais lizocimo priedais (0,08, 0,1, 0,12 %). Grūdėtos varškės rūšys pagamintos AB „Pieno žvaigždės“, Panevėžio pieno perdirbimo įmonėje. Grūdėta varškė gaminama pagal įmonėje naudojamą gamybos technologiją.

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

Technologinio grūdėtos varškės gamybos proceso metu į grietinėlę buvo dedama 0,08, 0,1 ir 0,12 % lizocimo. Grietinėlės rūgštingumas buvo 20–22 °T. Skonis ir kvapas – grynas, šiek tiek salstelėjęs, be šalutinių, grietinei netipiškų prieskonių. Konsistencija – vienalytė, be riebalų kruopelių ar baltymų dribsnių. Spalva – balta su kreminiu atspalviu, vienoda visos masės.

Tyrimams naudojami penki grūdėtos varškės mėginiai: natūrali grūdėta varškė (be konservantų), grūdėta varškė su cheminiu konservantu, su 0,08 % lizocimo, 0,1 % lizocimo, 0,12 % lizocimo. Visi mėginiai buvo laikomi 8 °C temperatūroje 17–18 parų. Laikymo metu tiriamas mėginių rūgštingumas titravimo metodu perskaičiuojant į pieno rūgšties kiekį % (Urbienė, 1999), peroksidų kiekis – jodometrinio būdu

pagal ISO 3960 (Kačerauskienė, 1999), laisvosios lakiosios riebalų rūgštys – panaudojant rūgšties pieno produktams skirtą metodiką, kurios esmę sudaro bandinio distiliacija (Urbienė, Zaurienė, 2007). Siekiant įvertinti grūdėtos varškės kokybę, prieš mėginių laikymą buvo nustatytos sausosios medžiagos pagal ISO 5334 (Kačerauskienė, 1999) ir riebalų kiekis pagal LST 1275 (Kačerauskienė, 1999).

Grūdėtos varškės kokybės rodikliai laikymo metu buvo nustatomi kas 3–4 paros. Rodikliai laikymo metu nustatyti apskaičiuojant aritmetinį vidurkį iš 5 serijų pakartojimo. Duomenys statistškai apdoroti, apskaičiuotos duomenų vidurkių atsitiktinės paklaidos.

## TYRIMŲ REZULTATAI IR JŲ APTARIMAS

Pagamintos grūdėtos varškės kokybės rodikliai visose gamybos serijose atitiko normatyvinių dokumentų reikalavimus.

Grūdėtos varškės riebumas kito nuo 7,0 iki 7,2 %, sausųjų medžiagų kiekis – nuo 20,0 iki 21,0 %.

Produkto laikymo metu buvo svarbu ištirti tuos rodiklius, kurie parodytų grūdėtos varškės kokybės pokyčius. Labai svarbu nustatyti ir įvertinti grūdėtos varškės gedimo pradžią. Kadangi laikymo metu greičiausiai kinta riebalai, vyksta jų oksidacija, todėl buvo tiriamas peroksidų susidarymas. Riebalų pokyčius parodo ir laisvųjų lakiųjų riebalų rūgščių kiekis (LLRR). Laikymo metu buvo nustatomas jų kitimas, taip pat pieno rūgšties kiekis.

Grūdėtos varškės po pagaminimo (prieš laikant) kokybės rodikliai pateikti lentelėje.

Iš lentelėje pateiktų tyrimų rezultatų matyti, kad visuose mėginiuose pradiniai (prieš laikymą) kokybės rodikliai yra praktiškai tokie pat.

Visi mėginiai buvo laikomi iki 17–18 parų 8 °C temperatūroje. Kokybės rodikliai (pieno rūgštis, peroksidų skaičius ir LLRR kiekis) buvo nustatomi atitinkamais laiko intervalais.

Kadangi į mėginius dėta skirtingai lizocimo (nuo 0,08 iki 0,12 %), buvo svarbu nustatyti, ar tiriamose ribose fermento kiekis turėjo įtakos pieno rūgšties susidarymui.

Gauti rezultatai (1 pav.) rodo, kad praktiškai lizocimo kiekis (nuo 0,08 iki 0,12 %) neturi įtakos pieno rūgšties susidarymui. Pieno rūgšties susidarymo laikomuose mėginiuose kitimo tendencija buvo beveik identiška. Tačiau matyti, kad laikymo metu mėginiuose su lizocimu pieno rūgšties kiekis padidėja nuo 0,270 iki 0,369 %. Tai rodo, kad laikymo metu vykstant biocheminiams pokyčiams (kintant riebalams bei baltymams) mėginiuose padaugėja rūgštinių grupių, kurių kiekį ir parodo (1 pav.) pieno rūgšties padidėjimas.

Parodytas (2 pav.) pieno rūgšties kitimo proceso, vykstančio mėginiuose su konservantu E 202, be konservanto ir su lizocimu, palyginimas.

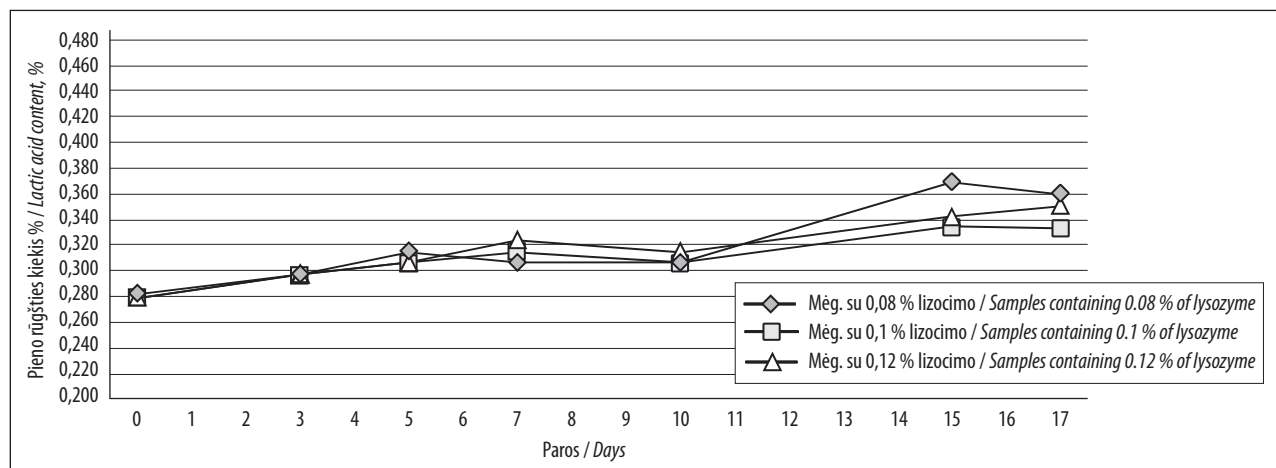
Kadangi buvo nustatyta, kad lizocimo kiekis neturi ženklios įtakos pieno rūgšties susidarymui, palyginimui pateikiame rodiklius mėginio tik su 0,1 % lizocimo.

Tyrimo duomenys rodo, kad mėginiuose su konservantais, tiek lizocimu, tiek E 202, pieno rūgšties susidarymo

Lentelė. Grūdėtos varškės kokybės rodikliai

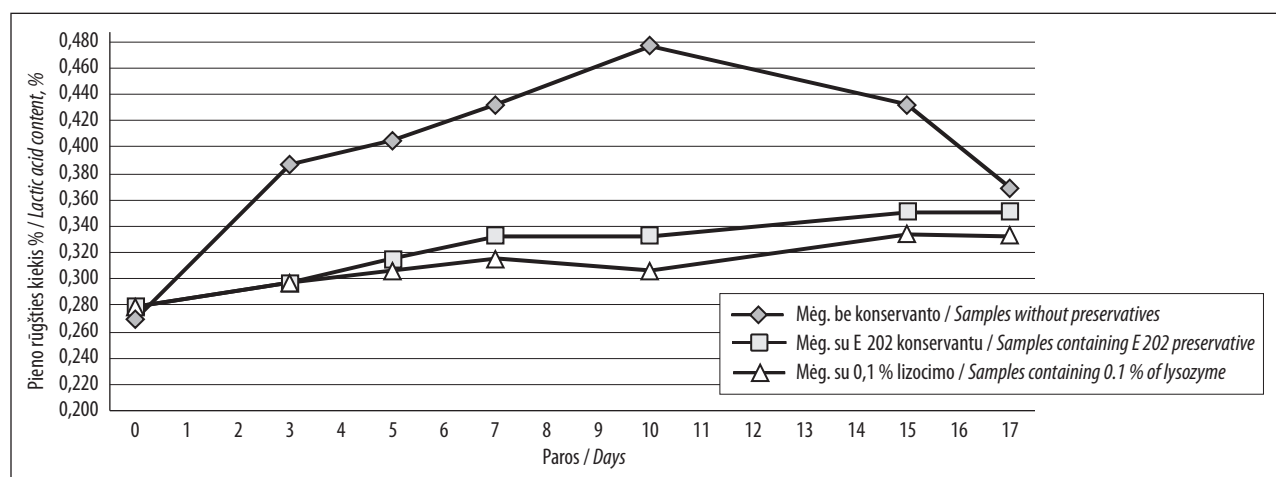
Table. Cottage cheese quality indicators

Mėginiai / Samples	Pieno rūgšties kiekis % Lactic acid, %	Peroksidų skaičius mekv/kg Number of peroxides, mekv/kg	LLRR kiekis ml 0,1 N NaOH / 100 g/l LLRR quantity ml 0.1 N NaOH / 100 g/l
Kontrolinis (be konservanto) Auditorial (without preservatives)	0,2712 ± 0,00029	1,01 ± 0,01	1,16 ± 0,02
Su konservantu E202 / With preservative E 202	0,2724 ± 0,00018	0,89 ± 0,13	1,1 ± 0,012
Su lizocimo priedu % With the supplement of lysozyme %			
0,08	0,2764 ± 0,00024	0,84 ± 0,1	1,22 ± 0,02
0,1	0,2746 ± 0,00020	0,94 ± 0,08	1,18 ± 0,02
0,12	0,2744 ± 0,00020	0,92 ± 0,06	1,17 ± 0,03



1 pav. Pieno rūgšties kiekio kitimas mėginiuose su skirtingais lizocimo priedais laikymo metu

Fig. 1. Change of lactic acid content in samples with different lysozyme content during storage



2 pav. Pieno rūgšties kiekio kitimas mėginiuose be konservanto, su cheminiu konservantu ir lizocimu (0,1%)

Fig. 2. Change of lactic acid content in samples without preservatives and in samples containing a chemical preservative and lysozyme (0.1%)

kitimo tendencija buvo panaši. Tačiau mėginiuose su cheminiu konservantu (E 202) pieno rūgšties (laikymo metu) susidaro šiek tiek daugiau negu mėginiuose su lizocimu (0,1%). Visiškai kitoks pieno rūgšties susidarymo procesas vyko mėginiuose be konservanto. Juose pieno rūgšties kiekis iki 10 parų intensyviai kito – didėjo, o vėliau sumažėjo. Manoma, kad rūgštingumo sumažėjimas susijęs su produkte išsivysčiusiais gedimo procesais. Taigi po 10 parų produktas jau nebetinkamas vartoti.

Ryškesniai produkte vykstančius oksidacijos procesus parodo peroksidų kiekis. Kadangi tiriamojo produkto sudėtyje yra 7% riebalų, šio rodiklio tyrimai ypač svarbūs. 3 paveiksle parodyta lizocimo kiekio (0,08, 0,1 ir 0,12%) įtaka peroksidų susidarymui grūdėtos varškės mėginių laikymo metu. Iš gautų rezultatų matyti, kad laikant grūdėtą varškę, peroksidų kitimas, apibūdinantis riebalų oksidacijos procesus, vyksta dviem stadijomis. Gauti rezultatai neprieštarauja žinomiems tyrimams (Wassef, 1996; Urbienė, Poderytė, 2007),

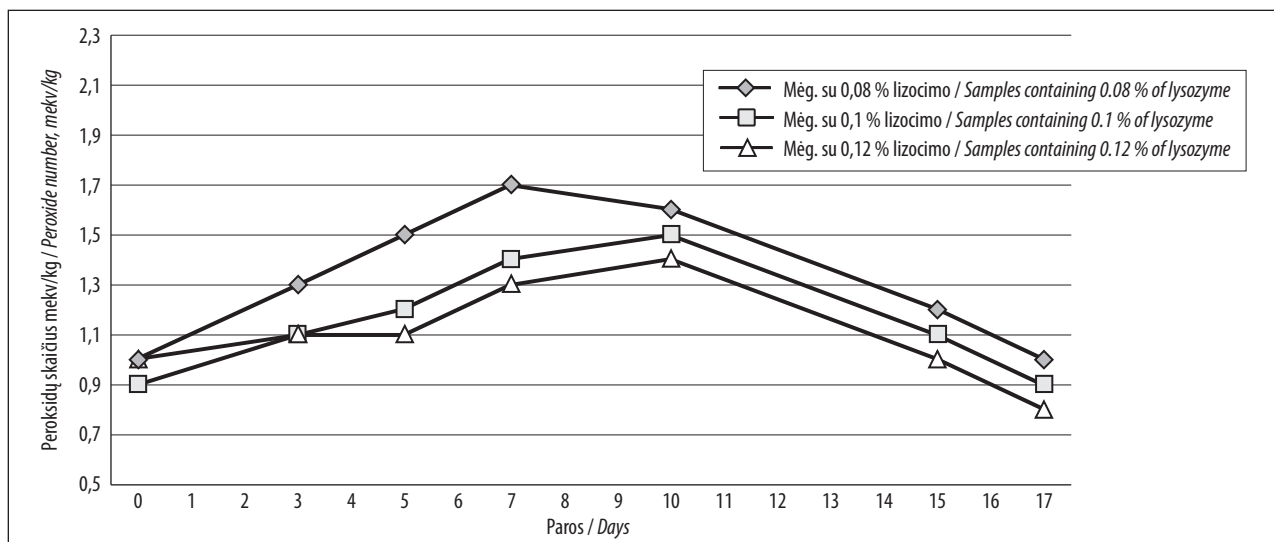
kurių metu buvo nustatyta, kad peroksidai pieno produktuose kinta dviem stadijomis: riebalų oksidacijos pradžioje jų kiekis didėja, vėliau mažėja. Teigiama, kad vykstant ryškesniam riebalų gedimo procesui peroksidai skyla, todėl jų kiekis sumažėja. Produkte susidaro aldehydai, ketonai ir kiti oksidacijai būdingi junginiai.

Tyrimų rezultatai (3 pav.) rodo, kad lizocimo kiekis (0,08, 0,1 ir 0,12 %) turėjo įtakos peroksidų susidarymui. Ryškiausias peroksidų kitimas buvo nustatytas mėginiuose su mažiausiu (0,08 %) lizocimo kiekiu. Juose peroksidų daugėjo laikant iki 7 parų, o po to mažėjo. Didžiausias peroksidų skaičius buvo 1,65–1,7 mekv/kg ir po 17 laikymo parų sumažėjo iki 1,0 mekv/kg.

Mėginiuose su didesne lizocimo koncentracija (0,1 ir 0,12 %) peroksidai kito mažiau. Be to, daugiausia peroksidų susidarė tik po 10 parų. Mėginiuose su 0,1 % lizocimo peroksidų skaičius siekė 1,5 mekv/kg, o su 0,12 % lizocimo – tik 1,4 mekv/kg. Taigi nustatyta, kad lizocimo kiekis trukdo peroksidų susidarymui, kuo daugiau mėginiuose lizocimo, tuo lėčiau juose vyksta oksidacijos procesai.

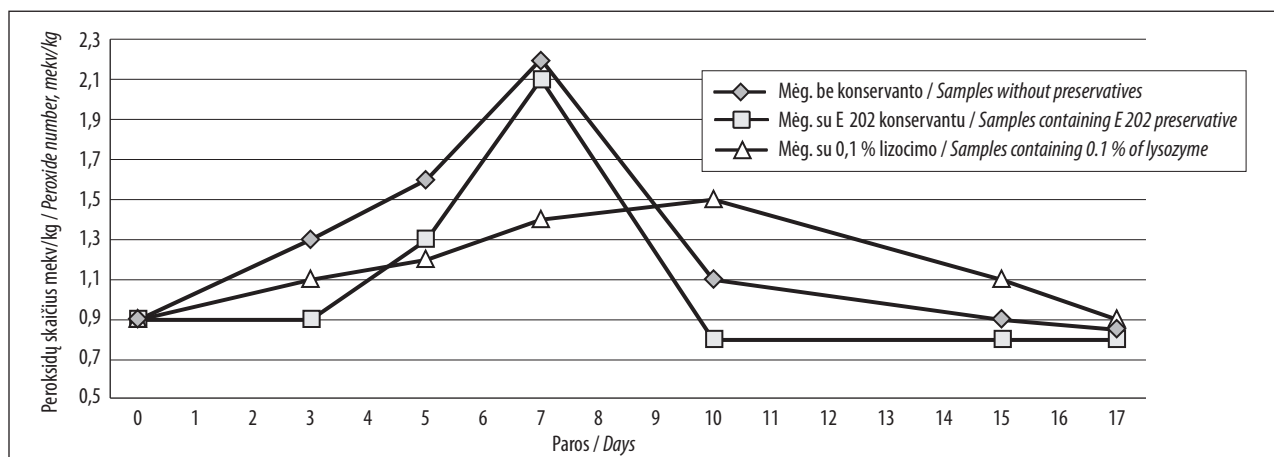
Peroksidų susidarymas mėginiuose su konservantu E 202, lizocimu (0,1 %) ir be konservanto parodytas 4 paveiksle. Tyrimų rezultatai rodo, kad peroksidai mėginiuose su konservantu E 202 ir lizocimu susidarė skirtingai. Mėginiuose be konservanto ir mėginiuose su konservantu E 202 peroksidų susidarymo procesas mažai skyrėsi. Pastaraisiais atvejais peroksidų susidarymo procesas buvo gana intensyvus. Gauta, kad daugiausia peroksidų susidarė po 7–8 parų ir siekė 2,1–2,2 mekv/kg. Kur kas lėčiau, palyginti su kitais mėginiais, oksidacijos procesas vyko mėginiuose su lizocimu. Didžiausias jo kiekis (1,5 mekv/kg) susidarė tik po 10 laikymo parų.

Rezultatų analizė akivaizdžiai parodo svarbią lizocimo savybę – jo antioksidacinę aktyvumą. Ši jo savybė buvo nustatyta ir ankstesniuose tyrimuose (Urbiienė, Poderytė, 2007). Taigi matyti, kad lizocimo priedas, trukdantis peroksidų susiformavimui, padidina produkto saugą. Kuo lėčiau susidaro peroksidai, tuo mažiau ir jų skilimo produktų, mažiau susidaro žmogaus organizmui pavojingų junginių (aldehydų, ketonų ir kt.). Taigi natūralus fermentas lizocimas,



3 pav. Peroksidų kiekis mėginiuose su skirtingais lizocimo priedais laikymo metu

Fig. 3. Peroxide content in samples with different lysozyme content during storage



4 pav. Peroksidų kiekio mėginiuose be konservanto, su cheminiu konservantu ir 0,1 % lizocimo palyginimas

Fig. 4. Comparison of peroxide content in samples without preservatives, in samples containing chemical preservative and 0.1 % of lysozyme

trukdantis vystytis oksidacijos procesams, gali būti gerokai geresniu konservantu, palyginti su naudojamu E 202.

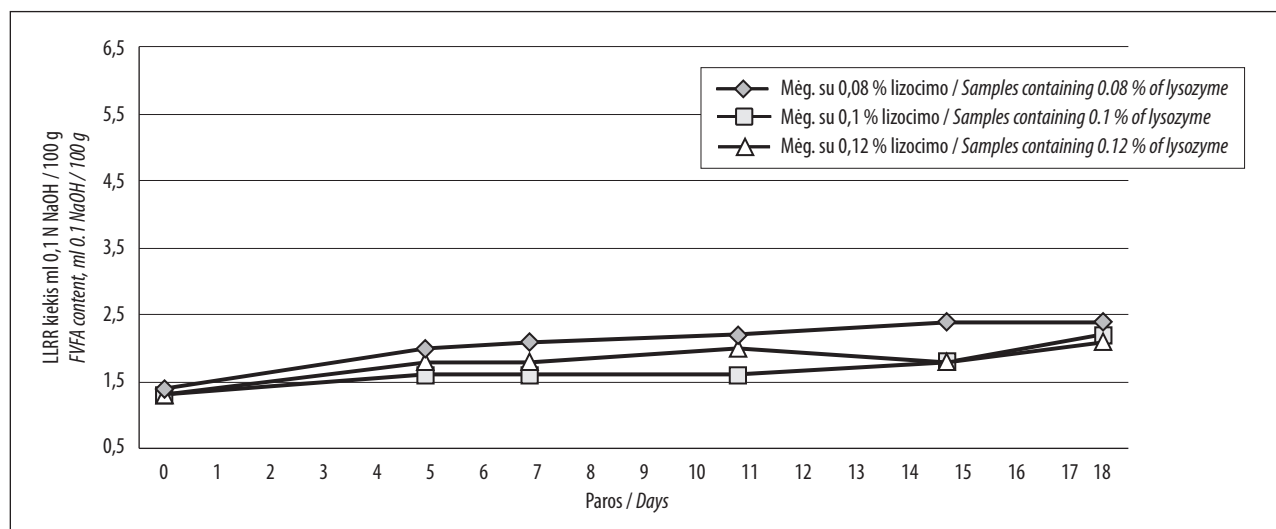
Laisvųjų lakiųjų riebalų rūgščių (LLRR) pokyčiai produktų laikymo metu netiesiogiai apibūdina riebalų hidrolizės laipsnį.

Parodyta (5 pav.) lizocimo kiekio įtaka LLRR susidarymui grūdėtos varškės laikymo metu. Iš gautų rezultatų matyti, kad lizocimo kiekis (0,08, 0,1 ir 0,12 %) turi labai nežymią įtaką LLRR susiformavimui, laikant grūdėtą varškę iki 18 parų. Pastebėta, kad laikant mėginius, kuriuose yra 0,08 % lizocimo, viso proceso metu LLRR susidaro tik šiek tiek daugiau, negu mėginiuose, kuriuose lizocimo yra daugiau (0,1 ir 0,12 %). Taip pat nustatyta, kad laikymo metu visuose mėginiuose LLRR nuolat daugėjo.

Parodytas (6 pav.) LLRR kiekio kitimas laikant grūdėtos varškės mėginius be konservanto, su konservantu E202 ir lizocimu (0,1 %). Šie rezultatai rodo, kad LLRR

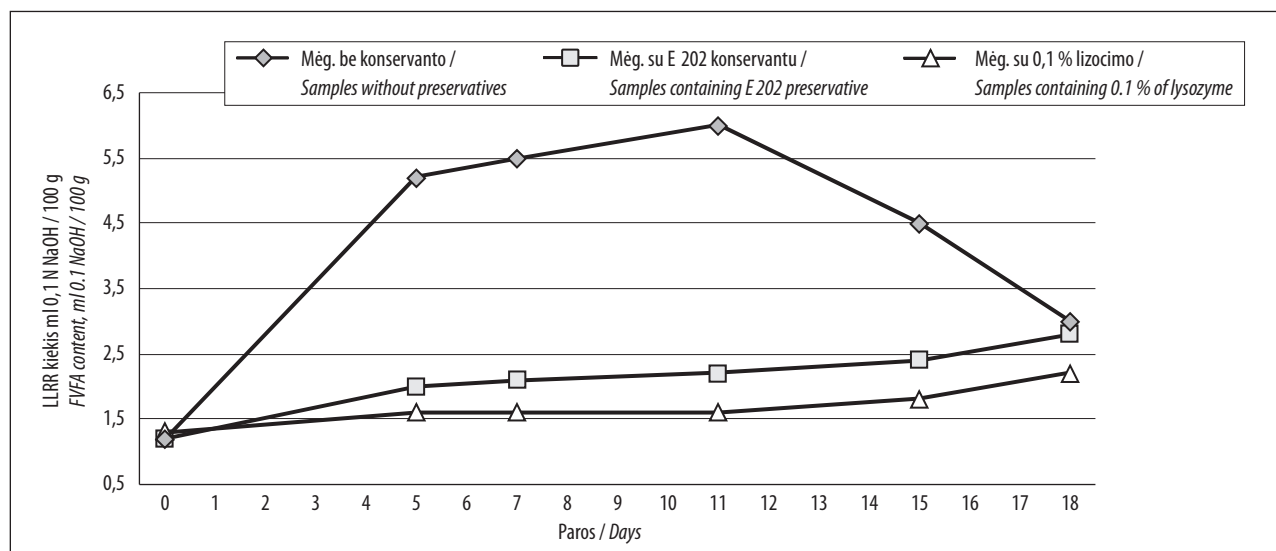
susiformavimas laikymo metu labai priklauso nuo pridėtų į mėginius konservantų. Mėginiuose be konservantų per pirmąsias 10 laikymo parų LLRR formavosi labai intensyviai. Toks LLRR kiekio padidėjimas rodo, kad pagrindinės riebalų rūgštys intensyviai skilo. Matyt jų skilimo metu ir padaugėjo LLRR. Po 10–11 parų LLRR kiekis pradėjo mažėti. Tai netiesiogiai parodo, kad vyko žymesni riebalų rūgščių pokyčiai ir iš jų susidarė junginiai, kurie nebuvo nustatinėjami šių tyrimų metu.

Be abejonės šie skilimo produktai turi neigiamą įtaką produkto kokybei ir vartotojų saugai. Palyginus LLRR susidarymą mėginiuose su konservantu E 202 ir su lizocimu (0,1 %) LLRR po 18 laikymo parų susidarė 21,43 % mažiau. Tokia tendencija buvo nustatyta laikymo metu. Manoma, kad mažiausias LLRR kiekis apibūdina produkto kokybę bei saugą. Kuo mažesnis LLRR kiekis, tuo produktas yra geresnės kokybės ir saugesnis vartotojui.



5 pav. Laisvųjų lakiųjų riebalų rūgščių kiekis mėginiuose su skirtingais lizocimo kiekiais laikymo metu

Fig. 5. Content of free volatile fatty acids in samples with different lysozyme content during storage



6 pav. Laisvųjų lakiųjų riebalų rūgščių kiekio mėginiuose be konservanto, su cheminiu konservantu ir 0,1 % lizocimo palyginimas

Fig. 6. Comparison of free volatile fatty acid content in samples without preservatives and in samples containing chemical preservative and 0.1 % of lysozyme

## IŠVADOS

1. Nustatyta, kad fermento lizocimo priedas (0,08, 0,1, 0,12 %) grūdėtoje varškėje turi teigiamą įtaką produkto kokybės išsilaikymui. Grūdėtoje varškėje su lizocimo priedu lėčiau vyksta oksidacijos procesai, kinta rūgštingumas, susidaro laisvosios lakiosios riebalų rūgštys.

2. Pieno rūgštis mėginiuose be konservanto susidarė dviem stadijomis. Per pirmąsias 10–11 parų pieno rūgšties kiekis didėjo iki 0,477 %, ilgiau laikant mažėjo. Mėginiuose su konservantu E 202 ir lizocimu pieno rūgšties kiekis laikymo metu (17 parų) nuolat nežymiai didėjo. Intensyviau jis didėjo mėginiuose su konservantu E 202, lėčiau – su lizocimo priedu.

3. Peroksidų kiekis visuose grūdėtos varškės mėginiuose laikymo metu kito dviem stadijomis. Laikant 7–10 parų jis intensyviai didėjo, vėliau mažėjo. Šiems procesams įtakos turėjo lizocimo kiekis. Mėginiuose su mažiausiu lizocimo kiekiu (0,08 %) peroksidadai greičiausiai susidarė po 7 parų ir jų kiekis siekė 1,65–1,7 mekv/kg. Tuo tarpu mėginiuose su didesniu lizocimo kiekiu peroksidadai susiformavo tik po 10 laikymo parų (tik 1,5 mekv/kg). Palyginus mėginius be konservanto, su konservantu E 202 bei su 0,1 % lizocimo, daugiausia peroksidų po 7 laikymo parų susidarė mėginiuose be konservanto ir su cheminiu konservantu E 202. Peroksidų skaičius siekė 2,1–2,2 mekv/kg.

4. Laisvųjų lakiųjų riebalų rūgščių kiekis grūdėtos varškės mėginiuose su skirtingais lizocimo priedais laikymo metu kito panašiai. Tačiau mėginiuose su lizocimu LLRR kiekis buvo 21,43 % mažesnis. Mėginiuose be konservantų LLRR kiekis po 10–11 laikymo parų buvo 63,3 % didesnis, nei mėginiuose su lizocimo priedu.

Gauta 2010 02 15

Priimta 2010 03 30

## Literatūra

- Bachman H. P. Butyric acid fermentation in cheese: a literature review. *AgrarForschung*. 1995. Vol. 2. N 11/12. P. 523–526.
- 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.
- Blanc B. The nutritional value of fermented dairy products. *IDF Bulletin*. 1984. No. 179. P. 33–53.
- Cross H. R. *Meat Science, Milk Science and Technology*. New York: Elsevier Science Publishers, 1988. P. 175–271.
- 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.
- Dick W. *Klinische Bedeutung des Lysozym in Säuglinge und Kleinkinderalter Terapiwoche*. 1981. Bd. 31. N 31. S. 1740–1745.
- 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.
- 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.
- Grinienė E. *Biochemija*. Kaunas, 1998. 267 p.
- Grinienė E. *Sveikai mitybai – sveikas maistas. Šiek tiek apie riebalus*. Kaunas, 2000. 79 p.
- Gyosheva H. Compounds forming the aroma complex in Bulgarian sour milk. *Milchwissenschaft*. 1982. N 37(5). P. 267–269.
- 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.
- Holzappel 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.
- Johnson E. A., Dell'Acqua E. Composition Active Against Botulism. United States Patent US 5393545, 1995.
- Kačerauskienė G. *Pieno ir jo produktų cheminės analizės metodai*. Maisto institutas, 1999. 111 p.
- 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.
- Lambelet P., Wille H. J., Aeschbach R. Stabilisation of foods: protection against oxidation. *Lebensmitteltechnik*. 1995. Vol. 27. No. 5. P. 42, 44–46.
- Lesnierowski G., Kijowski J. Lysozyme activity and use as a food preservative. *Przemysł Spożywczy*. 1995. Vol. 49. N 4. P. 116–119.
- Miliauskas G., van Beek T. A., Venskutonis P. R. et al. Antioxidative activity of *Geranium macrorrhizum*. *European Food Research and Technology*. 2004a. Vol. 218(3). P. 253–261.
- Miliauskas G., van Beek T. A., Venskutonis P. R. et al. Antioxidant activity of *Potentilla fruticosa*. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 2004b. Vol. 84(15). P. 1997–2009.
- Needs E. C., Ford G. D., Owen A. J. et al. A method for the quantitative defermentation 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.
- 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.
- 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.
- Payne K. D., Oliver S. P., Davidson P. M. Comparison of EDTA and apolactoferrin with lysozyme on the growth of foodborne pathogenic and spoilage bacteria. *Journal of Food Protection*. 1994. N 57(1). P. 62–65.

25. 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.
26. Pollock I. I. et al. *In vitro* and *in vivo* studies of cellular lysis of oral bacteria by a lysozyme – protease – inorganic mono-valent anion antibacterial system. *Journal of Infections Immunology*. 1984. Vol. 46. N 3. P. 876–878.
27. San Lang Wang, Chi Sun Pai, Sun Tung Shieh. Production of lytic enzyme from *Pseudomonas aeruginosa* M1001. *Proceedings of the National Science Council, Republic of China, Part B: Life Sciences*. 1995. N 19(4). P. 216–224.
28. San Lang Wang, Sun Tung Shieh, Chyi Sheng Pai. Production, purification and characterization of two proteinaceous heneggwhite lysozyme inhibitors from *Pseudomonas aeruginosa* M1001. *Proceedings of the National Science Council, Republic of China, Part B: Life Sciences*. 1995. N 19(3). P. 166–175.
29. Scherer S. Biological control of pathogens in food: option or fiction? *Lebensmittelindustrie und Milchwissenschaft*. 1995. N 116(10). S. 432–439, 442.
30. Stelzner A. et al. Lysozym. 2. Mitteilung: Biologische Funktion. *Deutsche Gesundheitswesen*. 1982. Bd. 87. N 48. S. 2033–2038.
31. Toppino P. M., Contarini G., Degano L. Estimation of formaldehyde, benzoic acid and lysozyme in Provolonecheese. *Scienza e Tecnica Lattiero Casearia*. 1987. N 38(6). P. 534–546.
32. Urbienė S., Avižienis V., Šapošnikova J. Lizocimo įtaka technologinėms pieno savybėms. *Žemės ūkio mokslai*. 2006. Nr. 2. P. 42–50.
33. Urbienė S., Poderytė L. Fermento lizocimo panaudojimas grietinės kokybei pagerinti. *Žemės ūkio mokslai*. 2007. T. 14. Nr. 4. P. 45–52.
34. 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. 148 p.
35. Urbienė S. A. *Pieno ir jo produktų cheminės analizės metodai*. Kaunas, 1999. 243 p.
36. Urbienė S. A. *Pieno sudėtis ir savybės. Žaliava produktų gamybai*. Akademija, 2006. 127 p.
37. Urbienė S., Zaurienė R. Sausųjų išrūgų priedo įtaka grietinės kokybei. *Žemės ūkio mokslai*. 2007. T. 14. Nr. 1. P. 39–47.
38. Venskutonis R., Gruzdienė D., Bandonienė D. ir kt. Šalavijo (*Salvia officinalis* L.) ir čiobrelio (*Tymus vulgaris* L.) ekstraktų antioksidacinis aktyvumas rapsų aliejuje. *Maisto chemija ir technologija*. 1998. T. 32. P. 153–159.
39. Visser H., Paulsson M. Betalactoglobulin: a whey protein with unique properties. *Industrial Proteins*. 2001. No. 3. P. 9–12.
40. 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.
41. Walstra P., Geurts T. J., Noomen A. et al. *Principles of Milk Properties and Processes*. New York, 1999. 727 p.
42. Wassef W. Lipids. In: Fennema O. R. (ed.). *Food Chemistry*. New York, 1996. P. 225–319.

Sigita Urbienė, Lina Sasnauskaitė

## INFLUENCE OF LYSOZYME ON THE QUALITY OF COTTAGE CHEESE DURING STORAGE

### Summary

Samples of granulated curd with different lysozyme content were compared with samples without preservatives and with samples in which the E202 chemical preservative was added. The samples were stored for 17–18 days at 8 °C.

During the manufacturing of cottage cheese, different lysozyme amounts were added (0.08, 0.1, 0.12%). Quality indicators of cottage cheese (lactic acid content (%), free volatile fatty acids (FVFA) and the number of peroxides) were determined before and after storage.

Different lysozyme amounts were found to have no impact on lactic acid formation; however, the content of lactic acid in samples with and without the chemical preservative was higher during storage than in samples with lysozyme.

Different lysozyme amounts affected peroxide formation. Even the least amount of lysozyme (0.08%) promoted a more intensive formation of peroxides: after a 7-day storage, the content of peroxides was the highest (1.65–1.7 mekv/kg). At a higher content of lysozyme (0.1, 0.12%) peroxide formation (oxidation process) was slower. The maximum amount was formed only after 10 days and was lower (1.5 and 1.4 mekv/kg). Studies of samples with the E202 preservative with lysozyme (by adding 0.1%), and samples without the preservative showed that in the latter the peroxide formation process slightly differed from that in samples with the E202 preservative. The content of peroxides in these samples after 7–8 days amounted to 2.1–2.2 mekv/kg. The oxidation process was significantly slower in samples with lysozyme (0.1%). Peroxides in the samples formed after 10 days, and their content was only 1.5 mekv/kg.

The formation of FVFA was also studied. It was found that different lysozyme amounts (when storing the cottage cheese up to 18 days) had no significant impact on the content of FVFA in the product. However, comparison of samples with lysozyme (0.1%), those with E202 preservative and samples without preservative showed that the formation of FVFA was rather intensive in samples without preservatives during the first 10 days of storage. After 10–11 days, the FVFA content started decreasing. A comparison of FVFA content in samples with E202 and in those with lysozyme (0.1%) after 18 days of storage showed that in the lysozyme-containing samples the content of FVFA was lower (21%, 43%).

The study showed that the quality indicators characterizing oxidation processes while storing cottage cheese were significantly lower in samples with lysozyme addition compared to those without preservatives or samples with the E202 preservative.

**Key words:** cottage cheese, lysozyme, free volatile fatty acids, lactic acid content, number of peroxides, storage