



Использование трансглутаминазы в производстве реструктурированных ветчин

И.И. Кишенько, д.т.н., профессор, Национальный университет пищевых технологий,

Ю.П. Крыжова, к.т.н., доцент, Национальный университет биоресурсов и природопользования Украины,

С.В. Страценко, главный технолог ООО «Торговый дом «Технология Трейд»

В настоящее время в мясоперерабатывающей промышленности широкое применение нашли ферментные препараты, которые, являясь катализаторами различных биохимических процессов, способны тем самым усовершенствовать технологию различных видов мясных продуктов.

мясным продуктам. Однако рассматриваемые классы ферментов не нашли широкого применения в промышленности по причине зависимости необходимого технологического результата от различных внешних факторов и вариабельности состава мясного сырья, фарша и т.п.

В то же время возрос интерес к применению ферментов, способных «сшивать» белковые молекулы в монолитную структуру, а именно — к ферменту трансглутаминаза.

Трансглутаминазы в различных формах встречаются в природе повсеместно — от микроорганизмов [1] и ракообразных до растений [2, 3, 4] и позвоночных [5, 6], включая людей [7]. Считается, что трансглутаминазы в той или иной форме уча-

из растительных источников [8], поэтому на данный момент, с экономической точки зрения, целесообразным является применение только микробиологических форм трансглутаминаз (мТГаз). Микробиальная трансглутаминаза была получена с помощью промышленного культивирования микроорганизма из рода *Streptovercillium* sp., что обеспечило ей широкое применение в пищевой промышленности, а микроорганизм *Streptovercillium* sp. является единственным продуцентом пищевой трансглутаминазы, официально разрешенным на основании всесторонних исследований на безопасность.

В мясоперерабатывающей промышленности используют два основных ферментных препарата, в состав которых входит трансглутаминаза, — фермент микробиального происхождения, используемый в Японии, и система на основе крови животных, при изготовлении которой кровь разделяется по факторам свертывания, а затем рекомбинируется [7]. Необходимо также отметить, что тендеризирующие ферменты обычно нивелируют воздействие модифицирующей трансглутаминазы в мясных системах, за исключением случаев, когда они применяются поверхностно уже после завершения связывания трансглутаминазой.

С биохимической точки зрения, транс-

Возрос интерес к применению ферментов, способных «сшивать» белковые молекулы в монолитную структуру, а именно — к ферменту трансглутаминаза.

Для применения в мясной промышленности были изучены ферменты класса протеиназ и коллагеназ животного и растительного происхождения, обладающие способностью расщеплять белковые молекулы, обеспечивая тем самым «нежную» текстуру

ствуют в процессе метаболизма практически любого живого организма.

Выделять трансглутаминазы в достаточном количестве из млекопитающих трудно и дорого, в настоящее время ведутся работы по получению трансглутаминаз



ТЕХНОЛОГІЯ PLUS

Експерт м'ясної індустрії

Існуючи з 1995 року, компанія-виробник «Технологія PLUS» вповнено утримує статус експерта м'ясної індустрії і є надійним партнером провідних підприємств України, Литви, Ізраїлю та інших країнах-партнерах.

Завітавши до нас чи подзвонивши по нижче вказаним телефонам, Вас радо зустрінуть співробітники компанії і нададуть професійну технологічну консультацію на хвилююче Вас запитання. Ласкаво просимо до співпраці!



Смако-ароматичні композиції



Функціональні добавки



Сітки для ковбас



Петлі для ковбас

ВИТРАТНІ МАТЕРІАЛИ



Україна, м.Вінниця, вул.Кірова 16 \ +38 (0432) 612-623 \ +38 (067) 650-19-93 \ vinnica@t-pluss.com \ www.t-pluss.com

глутаміназа (γ -глутамилтрансфераза, EC 2.3.2.13) — это фермент, образующий поперечные шивки между белками за счет переноса ацильной группы от первичного амина к γ -карбоксамиду глутамина, связанного с пептидом или белком, что приводит к образованию ϵ -(глутамил-) лизиновой поперечной шивки. Эта реакция, как правило, приводит к образованию ковалентной поперечной шивки между глутамином и входящим в состав белковых молекул лизином. Благодаря такому своему действию трансглутаминаза обладает способностью выполнять в мясе и других пищевых системах функции связывающего или текстурообразующего вещества.

В различных условиях трансглутаминаза по-разному реагирует с отдельными белками [9, 10]. Глубина реакции преимущественно определяется наличием доступности в белке глутамина и лизина, а также фактическими условиями реакций (значение pH, температура), которые должны соответствовать диапазону активности фермента. По этой причине содержащие трансглутаминазу ферментные препараты разрабатывают таким образом, чтобы они содержали фермент и белок-субстрат (или иной носитель) в нужном соотношении.

Когда говорят о белке-субстрате для TГазы, то подразумевают, что не все белки одинаковы. В различных условиях TГазы

по-разному реагирует с отдельными белками. Глубина реакции преимущественно определяется наличием в белке глутамина и лизина, а также фактическими условиями реакции. TГазы прекрасно реагирует с казеинатом натрия, желатином, соевым белком и миозином, и несколько хуже — с пшеничным белком, коллагеном и яичным желтком. Реакции с сывороточными белками, яичным альбумином и миоглобином зависят от условий реакции и от самих белков. TГазы слабо реагирует или вообще не вступает в реакции с мышечным белком актином. Хотя трансглутаминаза не способствует гелеобразованию в смеси сывороточных и мясных белков при нагревании, она стабилизирует эмульсии, изготовленные из смеси миофибриллярных и сывороточных белков, применяемых в качестве эмульгаторов [4]. Подобные эмульсии при нагревании легко превращаются в полутвердые смешанные гели, и этот процесс усиливается вследствие образования поперечных шивок между мембранами жировых глобул.

Важно отметить, что условия производства можно отрегулировать так, что реакционная способность многих белков усилится за счет повышения доступности входящих в их состав глутамина и лизина и соответствующего увеличения скорости реакции, катализируемой TГазой. Несмотря на всю трудо-

емкость этого процесса, реакционную способность пищевого белка относительно TГазы можно оценить, расщепив исследуемый белок до фактической ϵ -(γ -глутамил) лизиновой поперечной шивки и определив затем количество таких шивок.

Одной из серьезных технологических проблем при производстве реструктурированных продуктов из говядины является достижение монолитной целостности структуры и нежной консистенции. При решении данной проблемы на практике используется широкий спектр структурообразующих компонентов, таких, как различные виды гидроколлоидов, растительные и животные белки, введение которых в мясные продукты зачастую приводит к снижению их биологической и пищевой ценности.

Исследования были направлены на использование в качестве белка-субстрата сывороточного белкового препарата «Drip free cas» в технологии реструктурированных ветчины в оболочке из говядины 1 сорта. Выбранный белковый препарат характеризуется низким содержанием лактозы и высоким содержанием белка, обладает высокой растворимостью и высокими органолептическими показателями, поэтому является перспективным для использования в мясной промышленности.

Для оценки уровня введения гидратированного белкового препарата «Drip free

cas» вырабатывались опытные образцы реструктурированных ветчин без замены мясного сырья (контрольный образец) и с заменой мясного сырья 3,0; 4,5; 6,0; 7,5% гидратированным белковым препаратом «Drip free cas». В соответствии с рекомендациями производителя и ранее изученными функциональными свойствами, степень гидратации сыровоточного белкового препарата составила 1:2.

Исследование структурно-механических характеристик показало, что разработанные образцы с заменой 6% и 7,5% мясного сырья гидратированным белковым препаратом лучше контрольного по показателям напряжения среза на 7% и 7,6% соответственно.

Рекомендуемая дозировка фермента зависит от источника и содержания белка, от доступности нужных аминокислот для образования поперечных сшивок, от времени реакции и температуры ее проведения, от применяемой технологии и присутствия в рецептуре иных компонентов, при этом скорость реакции транскляминазы с мышечными белками различна.

В исследованиях, направленных на усовершенствование технологии реструктурированных ветчин из говядины 1 сорта нами была использована микробная форма кальцийнезависимого фермента, продуцируемого бактериями *Streptococcus thermophilus*, активностью 50 ед./г порошка. Такая транскляминаза продуцируется генетически немодифицированным микроорганизмом [1]. Температурный диапазон активности транскляминазы составляет от 0 до 65°C, причем оптимальная химическая активность достигается примерно при 55°C. Денатурация транскляминазы начинается при температурах выше 65°C и, как правило, полностью завершается при температуре 70-75°C, что обеспечивает безопасность ее использования в производстве мясопродуктов. Этот фермент активен в достаточно широком интервале pH (4-9), причем оптимальное значение pH составляет 6-7. В активном центре фермента присутствует цистеиновый остаток, так что при определенных условиях фермент может окисляться.

Как и для других ферментов, в производстве конкретных продуктов не исключена передозировка транскляминазы. Это может привести к снижению выхода после тепловой обработки, а также к получению более сухого и жесткого продукта. Практически для каждого продукта существует своя оптимальная дозировка фермента, позволяющая придать готовому изделию требуемые органолептические и технологические свойства. Из-за различий в технологии следует подбирать индивидуальную дозировку для конкретного продукта и вида сырья.

Из литературных источников известно, что положительное влияние на степень свя-

зывания микробальной транскляминазы оказывают соль и фосфаты, что обусловлено их способностью сольбилизовать поверхностные мышечные белки. Поэтому с целью определения рационального количества микробальной транскляминазы в составе рассола для массирования готовили модельные образцы реструктурированных ветчин из говядины 1 сорта без замены или с частичной заменой основного сырья гидратированным сыровоточным белком в количестве 6%. При изготовлении модельных образцов из говядины ее предварительно измельчали на волчке с диаметром отверстий решетки 25 мм и массировали в массаже в течение 3 часов в режиме: 15 мин массирования, 15 мин покоя, в присутствии 25% рассола. В состав рассола для массирования вводили 2,5% поваренной соли, 0,3% смеси триполифосфатов, 0,3% сахара и 0,0075% нитрита натрия. По окончании массирования мясную массу выгружали и выдерживали в посоле при температуре $2\pm 2^\circ\text{C}$ в течение 24 часов, затем повторно подвергли массированию в мешалке с добавлением 6% к массе сырья гидратированного белкового препарата «Drip free cas» и перемешивали на протяжении 10 мин. После этого посоленное сырье делили на четыре части, в три из которых вводили 65 мг/кг, 75 мг/кг и 85 мг/кг транскляминазы, предварительно разведенной в небольшом количестве холодной воды температурой 4°C, и также массировали 15 мин (одна часть мясного сырья осталась контрольной). По окончании массирования проводили формовку мясной массы в оболочку во избежание хаотичного ее склеивания. Сформованные батоны выдерживали в холодном помещении на протяжении 8-10 часов при температуре 6°C до тепловой обработки, после чего подвергли тепловой обработке до достижения температуры в центре образца 72°C, охлаждение проводили до 8°C. Хранили готовую продукцию на протяжении 12 часов при температуре $6\pm 2^\circ\text{C}$.

Внесение транскляминазы в количестве 75 мг/кг приводило к увеличению напряжения среза опытных образцов ветчин, по сравнению с образцами ветчин, содержащими 65 мг/кг фермента. При увеличении количества вносимой в рассол транскляминазы до 85 мг/кг значимого возрастания напряжения среза не происходило — увеличение значения данной характеристики составило 0,3-0,9%. Поэтому для дальнейших исследований с экономической целесообразности было выбрано рациональное количество — 75 мг/кг к массе мясной системы.

Необходимо отметить, что «сшивание» компонентов мясной массы фарша начинается происходить при тщательном перемешивании и не требует применения длительного массирования. Это объясняется тем, что при формировании структуры ветчины из

отдельных кусочков мяса между ними возникает гель из раствора водорастворимых и солерастворимых белков. Эти растворенные белки при интенсивном механическом воздействии эмульгируют и стабилизируют жир в мясной системе. В такой системе транскляминаза путем формирования ковалентной связи увеличивает количество поперечных сшивок между растворенными белками, образуя равномерный, более жесткий матрикс, что придает эмульсии повышенную стабильность, увеличивает выход.

Литература

1. Ando H., Adachi M., Umeda K., Matsuura A., Nonaka M., Uchio R. Purification and characteristics of a novel transglutaminase derived from microorganisms // *Agricultural Biological Chemistry*. 1989. Vol. 53. P. 2613-2617.
2. Ickson I., Apelbaum A. Evidence for transglutaminase activity in plant tissue // *Plant Physiology*. 1987. Vol. 84. P. 972-974.
3. Sakamoto H., Kumazawa Y., Motoki M. Strength of protein gels prepared with microbial transglutaminase as related to reaction conditions // *J. of Food Science*. 1994. Vol. 59 (4). P. 866-871.
4. Schwimmer S. Source book, of food enzymology. Westport: AVI Publishing, 1981. 986 p.
5. Kumazawa Y., Nakanishi K., Yasueda H., Motoki M. Purification and characterization of transglutaminase from walleye pollack liver // *Fisheries Science*. 1996. Vol. 62. P. 959-964.
6. Kumazawa Y., Sakamoto H., Kawajiri H., Seguro K., Motoki M. Determination of γ -(-glutamyl) lysine in several fish eggs and muscle proteins // *Fisheries Science*. 1996. Vol. 62. P. 331-332.
7. Chung S. I., Lewis M. S., Folk J. E. Relationships of the catalytic properties of human plasma and platelet transglutaminases (activated blood coagulation factor XIII) to their subunit structures // *J. of Biological Chemistry*. 1974. Vol. 249. P. 940-950.
8. Carvajal-Vallejos P. K., Campos A., Fuentes-Prior P., V. Villalobos E., Almeida A. M., Barbera E., Torne J., Santos M. Purification and in vitro refolding of maize chloroplast transglutaminase over-expressed in *Escherichia coli* // *Biotechnology Letters*. 2007. Vol. 29. P. 1255-1262.
9. Kim S.-H., Carpenter J. A., Lanier T. C., Wicker L. Polymerization of beef actomyosin induced by transglutaminase // *J. of Food Science*. 1993. Vol. 58. P. 473-474.
10. Kuraishi C., Sakamoto J., Yamazaki K., Susa Y., Kuhara C., Soeda T. Production of restructured meat using microbial transglutaminase without salt or cooking // *J. of Food Science*. 1997. Vol. 62. P. 488-490.