



БИОМИКА/BIOMICS

<http://biomics.ru>



ОСОБЕННОСТИ КОАГУЛЯЦИИ МОЛОКА: СЫЧУЖНЫЙ ФЕРМЕНТНЫЙ ПРЕПАРАТ И ЕГО АНАЛОГИ.

С.В. Шляпникова, Э.Р. Батырова

Башкирский государственный университет, Уфа, shlyapnikova@inbox.ru

Резюме

Традиционно, при производстве сыров используют природные молокосвертывающие ферментные препараты, получаемые из сырья животного происхождения. С увеличением мирового производства сыров возникла проблема дефицита сычужного фермента. Данный обзор посвящен рассмотрению рынка производства молокосвертывающих препаратов.

Ключевые слова: сычужный фермент, пепсин, реннин, сыроделие, молокосвертывающие препараты, альтернативные источники.

Введение

Задачей сыродельных предприятий является производство качественной конкурентоспособной продукции. В настоящее время на рынке представлен широкий ассортимент отечественных и зарубежных молокосвертывающих ферментных препаратов.

На ранних стадиях коагуляции молока именно правильно подобранный, к ассортименту выпускаемых сыров, молокосвертывающий препарат является одним из важнейших факторов, определяющих качество готовой продукции и влияющих на ее себестоимость [Shamtsyan, 2013].

Начиная с 1961 года, масштабы мирового производства сыров увеличились примерно в 3,5 раза, что привело к дефициту сычужного фермента, получаемого из желудка молодых телят. Спрос на коагулирующие ферменты стал превышать предложение почти 50 лет назад и сегодня только 20-30% мирового объема сыра может быть получено с использованием сычужного фермента. Поэтому, в настоящее время остается актуальным поиск альтернативных источников молокосвертывающих ферментов [Farkye, Verdamuthu, 2010].

Белковый состав молока. Казеины

В литературе, касающейся молочной промышленности, систематически публикуются статьи, отражающие биологическую и пищевую ценность концентратов, гидролизатов и других товаров переработки молочных белков, как ценнейших источников незаменимых аминокислот, из которых можно создавать широкий ассортимент пищевых товаров высокого качества. В молоке содержится, в среднем, 3,2 % белков [Anusha, 2013]. Белки молока по строению, биологическим функциям разнообразны. Также в молоке содержатся соединения азота небелковой природы: аминокислоты в свободном состоянии, аммиак, мочевина и др. Количество таких веществ составляет 5% от всего содержания азота в молоке.

Установлено, что в состав молока входят три основные группы белков [Рогов, 2000]. Первую важную группу представляют 4 фракции казеина. Ко второй группе относятся сывороточные белки – α -лактальбумин, β -лактоглобулин, иммуноглобулины и альбумины сыворотки крови. Лактоферрин и некоторые другие, так называемые минорные белки также считаются составными частями молока. Белки оболочек жировых шариков составляют около 1% от белков молока и представляют третью группу [Просеков, 2007]. Казеины относятся к семейству

фосфопротеинов. Белки коровьего молока данного семейства делятся на α s1-, α s2-, β - и κ -казеины, синтез которых контролируется четырьмя специфическими генами. Вместе они составляют около 80% всех белков коровьего молока и содержатся в пропорции примерно 4:1:4:1, соответственно [Кирпичников, 2002]. После синтеза казеины подвергаются двум основным пространственным изменениям – фосфорилированию и гликозилированию. Обе модификации необходимы для их самоассоциации. Гликозилированию подвергается только каппа-казеин. Гликозилируемые аминокислотные остатки треонина (Thr121, Thr131, Thr133, Thr135, Thr136, Thr142, Thr165) и серина (Ser141), расположены на гидрофильном С-терминальном участке молекулы κ -казеина и несут короткие цепи углеводов [Кутузов, 2002]. Однако гликозилируются не все молекулы κ -казеина [Костина, 2002].

Важной посттрансляционной модификацией казеинов является фосфорилирование. Все казеины, в различной степени, фосфорилируются, в основном, по остатку серина, реже – по остатку треонина. Присоединение остатков фосфорной кислоты происходит на определенном участке последовательности аминокислот со структурой: -Ser-X-A-, где X – любая аминокислота; A – Gly, Ser и, реже, Asp [Костина, 2002]. Остатки серина, которые фосфорилированы в аминокислотных последовательностях α s1-, α s2- и β -казеинов образуют кластеры. В молекуле β -казеина имеется один фосфосериловый кластер, в α s1-казеине – два, в α s2-казеине – три [Кутузов, 2002]. Каппа-казеин, в отличие от α s1-, α s2- и β -казеинов, не содержит таких кластеров. Большинство молекул κ -казеинов содержит только один фосфорилированный остаток серина в положении 149. Потенциальные сайты казеинов коровьего молока почти всегда полностью фосфорилированы [Литвинов, 2004]. Влияние степени фосфорилирования сказывается на их способности к кальций-индуцированной преципитации. Наиболее чувствительным к кальцию является белок α s2-казеин, который осаждается в присутствии 2 мМ Ca^{2+} [Лыткин, 2002].

Процесс сворачивания молока можно представить в следующем виде: каппа-казеин связывает свободный кальций, чем вызывает осаждение казеинов, из-за чего молоко свертывается и делится на две фракции – творог (казеины в нерастворенном виде) и сыворотку (в ней содержатся растворимые белки). Это разделение лежит в основе изготовления сыра. Так, количество сыра, получаемого из молока, прямо пропорционально

содержанию в нём каппа-казеина [Мамонтова и др., 2012].

При изучении вторичной структуры казеинов, было выяснено, что определенные участки β - и κ -казеинов включают в себя упорядоченные структуры (так называемые "структурные мотивы") типа полипролин II-спираль и участки, напоминающие β -складки [Syme, 2002]. Однако, по мнению D.S.Horne - автора одной из последних моделей структуры казеиновой мицеллы, - с точки зрения механизмов самоассоциации казеинов и организации казеиновых мицелл большее значение играет амфифильность этих белков [Horne, 2002].

Структура κ -казеина является зеркальным отражением структуры β -казеина, с гидрофильным С-терминальным казеинмакропептидом, который отщепляется химозином, и гидрофобным N-терминальным участком, предшествующим ключевой связи Phe105-Met106 (Рис.1). При этом макропептидный участок не содержит фосфосериловых кластеров, а несет только один фосфорилированный остаток серина в положении 149 [Horne, 2004].

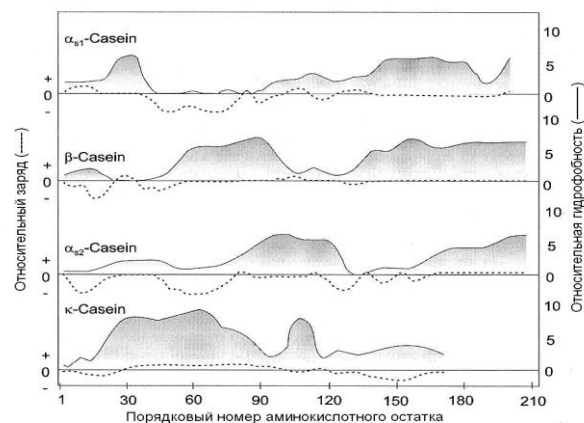


Рис. 1. Распределение относительного электрического заряда и относительной гидрофобности по длине полипептидной цепи казеинов [по Carr et al., 2003].

Гидрофильные свойства казеина и продуктов его распада определяют водосвязывающую и влагоудерживающую способность сырной массы при созревании сыров, консистенцию готового продукта [Горбатова, 2003]. Следовательно, гидрофильность казеина не только определяет устойчивость белковых частиц в молоке при его обработке, но и влияет на ход некоторых технологических процессов.

Сычужный фермент.

Физико-химические параметры

Неочищенный экстракт сычуга телят, обладающий молокосвертывающей активностью (МА), называют сычужным ферментом или реннином. Реннин (химозин) — фермент из класса гидролаз, который вырабатывается системой внутренней секреции желудка млекопитающих, в том числе человека. Что касается жвачных животных, то у них он вырабатывается железами сычуга (4-го отдела желудка) [Шингарева, 2010]. Традиционно молокосвертывающая активность выражается в количестве частей молока, прокоагулированных одной частью фермента [Краюшкин и др., 2004].

При использовании сычужных ферментов происходит воздействие на к-казеиновые поверхности мицеллы. После чего от мицеллы отщепляется наиболее гидрофильная часть — гликомакропептид. Отщепление гликомакропептида снижает отрицательный заряд, уменьшает степень гидратации. Данная реакция относится к ферментативной стадии сворачивания молока. Каппа-казеин, а именно пара-к-казеин, от которого отщеплен гликомакропептид теряет способность стабилизировать структуру казеиновых мицелл. При действии фермента на белок происходит разрыв связи фенилаланин-метионин (Рис. 2).

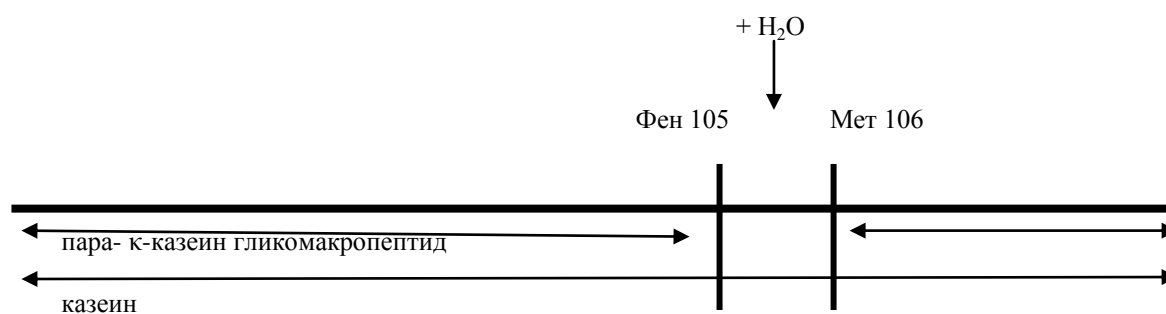


Рис. 2. Ферментативная стадия сворачивания молока. Действие сычужных ферментов на каппа-казеин [по Horne, 2004]

При оценке пригодности молокосвертывающих ферментных препаратов для производства сыра в первую очередь оценивается специфическая или молокосвертывающая активность. Натуральный сычужный фермент обладает лучшими коагулирующими свойствами, так как способен специфически расщеплять к-казеин, а именно связи между Phe105 и Met106. Способность фермента быстро гидролизовать пептидные связи казеина молока называют молокосвертывающей активностью, в отличие от способности гидролизовать другие связи в белках, получившей название протеолитической активности. Общая протеолитическая активность (способность гидролизовать различные связи) ферментов должна быть как можно более низкой по отношению к молокосвертывающей.

Свойства и состав молока играют важную роль в процессе свертывания молока при действии сычужного фермента. Также при этом учитывается режим пастеризации, активность и состав бактериальной закваски и сычужного фермента, температура свертывания молока, доза хлорида кальция [Горбатова, 2004].

Рынок сычужных препаратов

В настоящее время на рынке представлен большой выбор отечественных и зарубежных молокосвёртывающих препаратов, и зачастую сложно разобраться в их многообразии и качестве.

Известно, однако, что наилучшим МФП для сыроделия со всех точек зрения является очищенный от балластных веществ до максимального содержания химозина сычужный фермент.

В настоящее время большой популярностью в производстве сыров пользуются альтернативные коагулянты молока, получаемые микробным синтезом и из растений. Ферментные препараты микробного происхождения за рубежом применяют только для производства отдельных видов сыров [Ahmed, 2009]. В соответствии с большими трудностями классификации микробных протеиназ, их классификация, в первую очередь, основана на источнике получения. В таблице 2 представлены микробные молокосвертывающие ферменты, наиболее часто используемые в пищевой промышленности.

Таблица 1

Состав, торговое название и производители сычужных препаратов на основе сычужного фермента (КФ 3.4.23.4) [по Цикуниб, Гончарова, 2006]

Состав	Торговое название	Производитель
Химозин очищенный 100%	СФ	«МЗСФ», Москва
90÷95% химозин, 10÷5% говяжий пепсин	СФ-90 «Экстра»	«Завод эндокринных ферментов», Московская обл.
96% химозин, 4% говяжий пепсин	Calf rennet Clerici 96/4	«Caglificio Clerici SPA», Италия
90% химозин, 10% говяжий пепсин	Red Label Spain	«Danisko», Франция
95% химозин, 5% говяжий пепсин	Bioren Liquid Rennet Premium 95L	«Hundsichler GmbH», Австрия.
90% химозин, 10% говяжий пепсин	CARLINA 1650	«Danisko», Франция
50% химозин, 50% говяжий пепсин	СГ-50	«МЗСФ», Москва; «Шоко», Ростовская обл.
50% химозин, 50% говяжий пепсин	Clerici 50/50	«Caglificio Clerici SPA», Италия
50% химозин, 50% говяжий пепсин	Bioren Liquid Rennet Standart 50L	«Hundsichler GmbH», Австрия
25% химозин, 75% говяжий пепсин	СГ-25	«МЗСФ», Москва
50% куриный пепсин, 50% говяжий пепсин	СК-50	«МЗСФ», Москва
30÷40% химозин, 30÷40% говяжий пепсин, 40% куриный пепсин	СКГ «Универсал»	«Завод эндокринных ферментов», Московская обл.

Таблица 2

Номенклатура, продуценты и производители микробных молокосвертывающих ферментов [по Цикуниб, Гончарова, 2006]

Название фермента/ КФ*	Продуцент	Торговое название	Производитель
Аспергиллопепсин I (aspergillopepsin I) КФ 3.4.23.18	<i>Aspergillus niger var. Awamori</i>	СНУ-MAX M Liquid	«Chr. Hansen», Дания
Эндофиапепсин (endothiapepsin) КФ 3.4.23.22	<i>Endolhia parasitica</i>	Суперен	«Pfizer», США
Мукорпепсин (mucorpepsin) КФ 3.4.23.23	<i>Mucor miehei</i>	Реннилаза	«Novo Rennet», Дания
		Фромаза	«Wallerstein», США
		Микробиальный ренин	«Meito Sangyo», Япония
		Marzyme	«Danisko», Франция
		Milase	«CSK food enrichment», Нидерланды

*КФ – код фермента по Международной классификации ферментов (энзимов)

Как видно из таблицы 2, распространенными источниками ферментов микробного происхождения являются штаммы микроорганизмов *Aspergillus niger var. awamori*, *Mucor miehei*, *Endothia parasitica* [Скотт, 2005]. Ферментные препараты, полученных на основе *Mucor miehei*, специфически разрушают пептидные связи: Фен-Вал, Лей-Тир, Фен-Фен или Фен-Тир. Оптимальные значения pH для расщепления каппа-казеина, при которой не происходит образование горечи, лежат в диапазоне 5,5-7,0. На основе *M. miehei* выпускается целая серия молокосвертывающих ферментных препаратов микробного происхождения: Rennilasa, Fromase, Milase, Meito [Полковникова, Азолкина, 2012]. Не меньшей популярностью пользуются ферментные препараты, полученные на основе растений. Экстракты растений, которые традиционно считались ферментными коагулянтами молока, таковыми не являются, так как они имеют другой механизм действия или, возможно, содержат микробы, обладающие способностью к коагуляции молока [Старовойтова, 2001].

Сок фигового дерева (*Ficus carica*) обладает высокой молокосвертывающей активностью и используется в районах его распространения. Многие экстракты растительного происхождения способны свертывать молоко, но некоторые из них имеют высокую протеолитическую активность (например, папаин из *Carica papaya*, бромелаин из ананаса *Ananas comosus* и рицин из семян клещевины *Ricinus communis*). Примером использования растительного экстракта может служить выработка португальского сыра *Sena da Estrela* из овечьего молока с помощью водной вытяжки цветков кардона [Шингарева, Раманаускас, 2008]. В таблице 3 представлены экстракты растений, наиболее часто применяемые в молочной промышленности.

Преимуществом использования микробных и растительных ферментных препаратов является низкая себестоимость, а недостатками – низкий выход продукта, более короткий срок хранения по сравнению с сычужными сырами и снижение качества производимых сыров. Технологические испытания известных на мировом рынке молокосвертывающих препаратов микробного происхождения (Мейто и Милкозим (Япония); Фромаза (Франция); Суперен (США) и др.) показали отрицательные технологические черты, связанные с качеством сыра. При использовании некоторых препаратов, снижается вкус и консистенция сыра, на поверхности сыра может вырастать черная плесень, а ферменты из дрожжей приводят к вспучиванию сыра [Федотова, 2006].

Таблица 3

Растения, экстракты которых используются для коагуляции молока [по Федотова, 2006]

Русское название	Латинское название
Кардон (артишок)	<i>Cynaria cardunculus</i>
Репейник	<i>Articum minus</i>
Паслен сладко-горький	<i>Solanum dalcamara</i>
Мальва	<i>Malva sylvestris</i>
Чертополох	<i>Carduus crispus</i>
Инжир	<i>Ficus carica</i>
Василек черный	<i>Centurea spp.</i>
Подмаренник	<i>Galum verum</i>
Крапива	<i>Urtica dioica</i>
Амброзия полыннолистная	<i>Ambrosia artemisiifolia</i>
Лютики	<i>Ranunculus spp.</i>
Молочай	<i>Euphorbia lathyris</i>
Ворсянка	<i>Dipsacus sylvestris</i>
Тысячелистник обыкновенный	<i>Achillea millefolium</i>

Препараты молокосвертывающего действия, полученные на основе рекомбинантного химозина, также нашли широкое применение в производстве. Его получают путем переноса гена прохимозина из сычужной ткани телят некоторым микроорганизмам. На основе данной разработки получен ферментный препарат СНУ-Мах [Смирнова и др., 2012], однако, исследования, проведенные М.В.Полковниковой и Л.Н.Азолкиной, показали, что в сгустках, полученных с использованием препаратов животного происхождения, сыворотка отделяется равномернее, чем из сгустка, полученного с применением рекомбинантного препарата. Микробные и рекомбинантные препараты образуют более мягкий сгусток по сравнению с ферментными препаратами животного происхождения [Полковникова, Азолкина, 2012].

Сейчас в производстве все большей популярностью пользуется методика многократного использования сычужных ферментов - иммобилизация, т.е. включения молекул фермента в какую-либо изолированную фазу, которая отделена от фазы свободного раствора, но способна обмениваться с находящимися в ней молекулами субстрата, эффектора или ингибитора [Клюева, 2014]. Иммобилизация ферментов имеет ряд преимуществ по сравнению со свободными молекулами. Прежде всего, такие ферменты, являясь гетерогенными катализаторами, быстро и легко отделяются от реакционной среды, могут использоваться многократно и обеспечивают

непрерывность ферментативного процесса. Имобилизация не приводит к изменению свойств фермента: субстратной специфичности, устойчивости, зависимости активности от параметров среды. Имобилизованные ферменты долговечны и существенно стабильнее свободных энзимов [Лукин, Ребезов, 2009].

Альтернативные молокосвертывающие препараты на основе высших грибов

В настоящее время особый интерес представляет собой возможность использования культуральной жидкости высших грибов для получения ферментных препаратов протеиназ молокосвертывающего действия. Существует большое количество штаммов чистых культур базидиомицетов – продуцентов заменителя реннина. Однако, лишь некоторые представители могут составить конкуренцию сычужному ферменту и быть перспективными для дальнейших исследований.

Наиболее активными продуцентами реннина являются грибы *Russula decolorans*, *Schizophyllum commune*, *Hirschioporus laricinus*, *Pleurotus ostreatus* [Okamura-Matsui, 2001]. Проведенные исследования молокосвертывающей активности культурального фильтрата грибов порядка *Aphillophorales* показали, что для этой группы грибов, прежде всего для возбудителей белой гнили, свойственно образование в культуре молокосвертывающих ферментов [Чемерис, 2016]. Ферменты, полученные на основе базидиального гриба *Coprinus lagopides*, широко используются в качестве молокосвертывающих при производстве сыра с применением ферментов микробного происхождения. Доказано, что культуры трутовиков ирпекса молочно-белого (*Irpex lacteus*), трутовика окаймленного (*Fomitopsis pinicola*) и сыроежки сереющей (*Russula decolorans*), характеризуются наличием ферментов с молокосвертывающей активностью. Из них выделены, детально изучены и используются в сыроделии заменители сычужного фермента (Лебедева, Проскураков, 2009).

В лаборатории кафедры биохимии и биотехнологии БашГУ нами была исследована молокосвертывающая активность ферментов базидиальных грибов: вешенки обыкновенной (*Pleurotus ostreatus*), вешенки индийской (*Pleurotus pulmonarius*), вешенки золотой (*Pleurotus citrinopileatus*), трутовика чешуйчатого (*Polyporus squamosus*), трутовика серно-желтого (*Laetiporus sulphureus*). Было установлено, что среди исследованных культур макромицетов наиболее эффективно коагулируют молоко ферменты трутовика чешуйчатого и трутовика серно-желтого. Данная молокосвертывающая активность

базидиомицетов сопоставима со стандартным коммерческим препаратом - пепсином микробным торговой марки Meito [Шпирная и др., 2016].

Заключение

Коагуляция казеинов под действием сычужных ферментов является важным моментом при получении сыров и творога. Реакция свертывания молока необходима для перевода казеина и молочного жира в состояние, при котором данные белки могут быть отделены от большей части сыворотки с помощью сравнительно мягких физико-химических методов.

Сычужный фермент животного происхождения является универсальным для получения различных видов сыров, однако нецелесообразно использовать его в крупномасштабном производстве из-за дороговизны. Поэтому актуально проведение исследовательских работ по выявлению эффективных продуцентов молокосвертывающих ферментов и получению альтернативных препаратов на их основе.

Литература

1. Бектенова Г.А., Гладышев П.П., Веколова В.В., Быкова Л.Н., Бектуров Е.А. Имобилизация ферментов-гликопротеинов на кремнеземных носителях. II. Химическая имобилизация глюкозооксидазы и ацетилхолинэстеразы на активированных бороновыми кислотами кремнеземных поверхностях. 2000. № 2. С. 30-39.
2. Белов А.Н., Ельчанинов А.Н., Коваль А.Д. Молокосвертывающие препараты // Молочная промышленность. 2003. № 2. С. 45-47.
3. Белов А.Н., Ельчанинов В.В., Коваль А.Д. Молокосвертывающие препараты // Молочная промышленность. 2003. № 2. С. 45-47.
4. Бисько Н.А., Митропольская Н.Ю., Соломко Э.Ф. Лекарственные грибы – для здоровья и красоты. Наукова думка. 2003. С.40.
5. Гаврилов Г.Б., Кравченко Э.Ф., Гаврилов В.Г. Мембранные процессы для переработки молока и сыворотки / Сыроделие и маслоделие. 2013. №6. С.22-23.
6. Герасименя В.П., Камзолкина О.В., Ефременко О.В. и др. Антимикробные, антиоксидантные, радиопротекторные и радиосорбционные свойства новой биологически активной добавки к пище «Экстракт мицелия вешенки «ОВО-Д» //

- Успехи медицинской микологии. 2001. Т.1. С. 186.
7. Гинойн Р.В., Денисюк Е.А., Кузьменкова А.В. О сычужной коагуляции молока // Вестник НГИЭИ. 2011. Т. 2. С. 155-163.
 8. Горбатова К.К. Физико-химические и биохимические основы производства молочных продуктов. СПб.: ГИОРД. 2003. С.352.
 9. Горбатова К.К. Химия и физика молока. СПб.: ГИОГД. 2004. С.38.
 10. Горина Т.А. Коагулянты и сычужные ферменты для сыроделия // Сыроделие и маслоделие. 2010. № 1. С. 22-23.
 11. Гудков А.В. Сыроделие: Технологические, биологические и физико-химические аспекты, М. Дели принт. 2004. С.804.
 12. Денисова Н.П. Тромболитические свойства ферментов базидиальных грибов // Проблемы медицинской микологии. 2009. Т.11. С.3-10.
 13. Дунаевский Я.Е., Грубань Т.Н., Белякова Г.А., Белозерский М.А. Секретируемые ферменты мицелиальных грибов: регуляция секреции и очистка внеклеточной протеиназы базидиомицетов // Биохимия. 2000. №6. С. 848-853.
 14. Дьяков Ю.Т. Национальная академия микологии общероссийская общественная организация современная микология в России. Том 2. Тезисы докладов второго съезда микологов России. Москва 2008. С.266.
 15. Ельчанинов В.В. Исследование молокозвертывающего фермента из сычужов северных оленей Кемерово. 2005. С.45.
 16. Заикина Н.А., Коваленко А.Е. Основы биотехнологии высших грибов. // СПб. СПбХФИ 2007. С. 37-39.
 17. Кирпичников В.В. Россия на пути развития биотехнологии. //Наука и технологии в промышленности. 2002. № 3-4. С. 10-12.
 18. Клюева М.В. Основные аспекты иммобилизации ферментов на примере липаз // Молодой ученый. 2014. № 8. С. 320-325.
 19. Кожемякина Н.В., Гурина С. В., Ананьева Е.П. Глубинное культивирование некоторых базидиомицетов // Современная микология в России. Т. 2. Материалы 2-го съезда микологов в России. М. Национальная академия микологов. 2008. С. 548.
 20. Колесникова С. С. Ферменты для коагуляции молока в сыроделии // Молочное дело. 2006. № 9. С. 50-51.
 21. Корсун В.Ф., Краснопольская Л.М., Корсун Е.В., Авхукова М.А. Противоопухолевые свойства грибов. М.: 2012. С.112.
 22. Костина Г.А. Сельская тревога. // Эксперт. 2002. № 25. С.18.
 23. Котенко Л.Н. Свойства молокозвертывающих препаратов и их влияние на процесс созревания сыра. 2015. С.41.
 24. Крахмалева Т.М., Манеева Э.Ш. Пищевая химия: учебное пособие. Оренбург. 2012. 155 с.
 25. Краюшкин В.А., Свириденко Ю.Я, Мурунова Г.В., Краюшкина В.Н., Смирнов В.В. К вопросу о моделировании сычужного свертывания молока. Сыроделие и маслоделие. 2004. № 5. С. 39-42.
 26. Крись Г. Н., Храпцов А. Г. и др. Технология молока и молочных продуктов. — М.: Колос. 2004. С. 455.
 27. Крись Г.Н., Шалыгина А. М., Волокитина З. В. Методы исследования молока и молочных продуктов. М.: Колос. 2000. С. 368.
 28. Крутков Е.А. Разработка и исследование технологии творожных продуктов с отрубями пшеницы. Кемерово. 2002. С.432.
 29. Кутафьева Н.П. Морфология грибов: учеб. Пособие для студ. ВУЗов. Новосибирск: Сибирское университетское издательство. 2003. С. 215.
 30. Кутузов Р.Н. Своя наука. Ведомости. 2002. №12. С.27.
 31. Ларичев О.В. Влияние ферментов на качество сыров // Сыроделие и маслоделие. 2003. №3. С. 22-23.
 32. Лебедева Г.В., Проскураков М.Т. Очистка и характеристика молокозвертывающих ферментов вешенки обыкновенной // Прикладная биохимия и микробиология. 2009. Т. 45. С. 690-692.
 33. 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.
 34. Линовицкая В.М., Дзыгун Л.П., Клечак И.Р., Бухало А.С. Влияние различных источников азота и углерода на рост высших древоразрушающих базидиальных грибов // Современная микология в России. 2008. Т. 2 .С. 335.
 35. Литвинов М. А. Определитель микроскопических грибов. 1986. 199 с.

36. Литвинов М.А. Генно-инженерные исследования одобрены тремя академиями // Известия. 2004. № 17. С.56.
37. Лукин А.А., Ребезов М.Б. Особенности использования иммобилизованных ферментов в пщевой промышленности // Проблемы развития АПК СаянАлтая: сб. материалов межрегион. научно-практическая конференция. Абакан: КрГАУ. 2009. С. 33-36.
38. Лыткин Д. Применение биотехнологий в сельском хозяйстве и немедицинской промышленности // Наука и технологии в промышленности. 2002. № 3-4. С.41.
39. Мамонтова Т.В., Айбазов А.М., Русакова О.С. Современные тенденции развития мирового и российского рынка биотехнологий в животноводстве. 2014. Т.2. № 7. С.118-119.
40. Полковникова М.В., Азолкина Л.Н. Исследование свойств различных молокозвертывающих ферментов // Современные проблемы техники и технологии пищевых производств: сб. материалов международная научно-практическая конференция. Алтай. 2012. С. 73.
41. Просеков А.Ю., Курбанова М.Г. Анализ состава и свойств белков молока с целью использования в различных отраслях пищевой промышленности. 2007. С. 13.
42. Рогов И.А., Антипова Л.В., Дунченко Н.И., Жеребцов Н.А. Химия пищи: Белки: Структура, функции, роль в питании. В 2-х кн. Кн.1- М.: Колос. 2000. С.384.
43. Скотт Р., Робинсон Р.К., Уилби Р.А. Производство сыра: научные основы и технологии. 2005. 460с.
44. Смирнова И.А., Гралевская И.В., Штригуль В.К., Смирнов Д.А. Исследование способов коагуляции молока с целью формирования микропартикулятов белков молока // Техника и технология пищевых производств. Кемерово, 2012. С. 43-52.
45. Старовойтова В.В. Изучение функциональных свойств химозина телянка и его рекомбинантных форм. Москва. 2001. 156 с.
46. Федотова А.В. Правильный выбор молокозвертывающих ферментных препаратов - гарантия качества выпускаемых сыров // Молочное дело. Киев. 2006. № 6. С. 39.
47. Чемерис О.В. Штаммовая изменчивость синтеза специфических молокозвертывающих протеиназ у базидиального гриба *Irpex lacteus* // Вестник Московского университета. 2016. № 4. С. 45-49.
48. Шингарева Т.И., Раманаускас Р.И. Производство сыра. 2008. 384 с.
49. Шпирная И.А., Шляпкинова С.В., Цветков В.О., Ибрагимов Р.И. Молокозвертывающая активность ферментов базидиальных грибов. Доклады Башкирского университета. 2016. Том 1. №1. С.63-67.
50. Ahmed S.A. Biochemical studies on some enzymes used in industry // Ph. D Thesis. Cairo: Cario University. 2003. P. 109-135.
51. Ahmed I.A., Morishima I.M., Babiker E.E. Characterisation of partially purified milk clotting enzyme from *Solanum dubium* Fresen seeds // Food Chemistry. 2009. V.116. P.395-400.
52. Anusha R., Maheshwari K.S., Bindhu O.S. Screening of latex producing plants for their milk clotting activity // Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences. 2013. V.4. P.757-761.
53. Ayhan F., Celebi S.S., Tanyolac A. The effect of fermentation parameters on the production of *Mucor miehei* acid protease in a chemically defined medium // J.Chem.Tech. 2001. V.76. P. 153-160.
54. Carr A.J., Southward C.R., Creamer L.K., Fox P. F., McSweeney P.L.H., eds. Advanced Dairy Chemistry-I: Proteins, 3rd Edinon, Part B. Protein hydration and viscosity of dairy fluids. Plenum Publishers. 2003.
55. Farkye N.Y., Verdammuthu E.R. Microbiology of soft cheeses / In Dairy Microbiology Handbook. 2010. P. 13-14.
56. Fox P.F., Kelly A.L. Effect of lactoperoxidase system on the keeping quality of dairy products. 2004. P. 500-516.
57. Hashem A.M. Purification and properties of a milk-clotting enzyme produced by *Penicillium oxalicum* // Biores. Technol. 2000. V. 75. P. 219-222.
58. Horne D.S. Casein structure, self-assembly and gelation / Current Opinion in Colloid and Interface Sci. 2002. V.7. P. 456-461.
59. Horne D.S. Cheese Chemistry, Physics and Microbiology, Third edition, Volume I: General Aspects. Rennet-induced Coagulation of Milk // London, UK: Elsevier Academic Press. 2004. P. 47-70.
60. Liyana-Pathirana C. Shahidi F. Optimization of extraction of phenolic compounds from wheat

- using response surface methodology // Food Chem. 2005. V.93. P. 47-56.
61. Nath, A. Chattopadhyay P.K. Optimization of oven toasting for improving crispness and other quality attributes of ready to eat potato-soy snack using response surface methodology. J. Food Engg. 2007. V.80. P.1282-1292.
62. Ndambi O.A., Kamga, P.B., Imelé H., Mendi, S.D., Fonteh, F.A. Effects of milk preservation using the lactoperoxidase system on processed yoghurt and cheese quality // African Journal of Food, Agriculture, Nutrition and Development. 2008. V. 8. P. 358-374.
63. Okamura-Matsui T. Characteristics of a Cheese-like food produced by fermentation of the mushroom *Schizophyllum commune* // J. Biosci. Bioeng. 2001. V. 92. P. 30-32.
64. Shantsyan M., Dmitrieva T., Kolesnikov D., Denisova N. Novel milk-clotting enzyme produced by *Coprinus lagopides* basidial mushroom // Food Science and Technology. 2014. V. 58. P.343-347.
65. Syme C.D. A Raman optical activity study of rheomorphism in caseins, synucleins and tau. New insight into the structure and behavior of natively unfolded proteins // Eur. J. Biochem. 2002. V.269. P.148-156.
66. Tubesha Z.A., Al-Delaimy K.S. Rennin-like milk coagulant enzyme produced by a local isolate of *Mucor* // Internat. J. Dairy Technol. 2003. V.56. P. 237-241.

FEATURES OF COAGULATION OF MILK. RENNET ENZYME PREPARATION AND ITS ANALOGUES

S.V. Shlyapnikova*, E.R. Batyrova

Bashkir State University, Ufa, 450076, Russia, *e-mail: slyapnikova@inbox.ru

Resume

Traditionally, the manufacture of natural cheeses uses coagulating enzymes obtained from raw materials of animal origin. With increasing world production of cheese there is a problem of shortage of rennet. This review devoted to market of production milk-clotting drugs.

Key words: rennet, pepsin, rennin, cheese-making, milk-clotting drugs, alternative sources.