

ПОЛУЧЕНИЕ И ИСПЫТАНИЕ ИММОБИЛИЗОВАННОГО
СЫЧУЖНОГО ФЕРМЕНТА

Т. А. ТАРЛАМАЗЯН, В. А. АБЕЛЯН, Э. К. АФРИКЯН

Институт микробиологии НАН Армении, г. Абовян

Молокооствертывающий фермент—реннин—иммобилизованные ферменты.

Одной из важнейших задач современного сыроделия является разработка и внедрение в производство эффективных методов получения и использования молокооствертывающих ферментов [2]. В этой связи исключительно большой научно-практический интерес представляют работы по выработке молокооствертывающих ферментов микробного происхождения, производство которых налажено в ряде стран, в частности Японии, Франции и США и др. [4].

Успехи в области получения и применения иммобилизованных ферментов и клеток открывают в данном направлении весьма перспективные пути практического внедрения подобных препаратов.

Особенности молокооствертывающего фермента, характеризующегося специфическими свойствами активности при различных температурах, позволяют разработать и использовать его иммобилизованные формы с возможностями многократного и эффективного использования [1].

В работе обобщены собственные данные по получению и применению иммобилизованного сычужного фермента.

Материал и методика. В опытах использовали сычужный фермент Энгельского кисевого завода по ОСТ 49144-79 и молоко, отвечающее всем требованиям сыропроизводства [2]. Пастеризацию проводили при 60–63° в течение 30 мин. Использовали различные методы иммобилизации фермента: включение в полиакриламидный гель (ПААГ) [6], и альгинат кальция [7] и ковалентное связывание на силихроме С 80 в альдегидной форме [5]. Сырный сгусток исследовали на желатиновую пробу (плотность), синерезис (выход сыворотки) и другие качественные показатели согласно существующим ГОСТам. Плотность сгустка определяли методом Ребиндара-Семенки по плетомеру [3].

Результаты и обсуждение. В основе наших работ положен дифференцированный подход к действию молокооствертывающего фермента при различных температурах, а именно возможность перелома казеина в параказеин при низкой температуре (6°–10°) и последующего образования сырного сгустка (кальций параказеинатный комплекс) при температуре свертывания 35°. В этих целях воздействие иммобилизованного фермента осуществлялось только при температуре 6°–10°.

Результаты опытов показали, что включение сычужного фермента в ПААГ и высокие концентрации кальций альгината не обеспечивают необходимого массообмена с казеином молока. Наилучшие данные

получены при использовании 2% геля альгината кальция и ковалентной сшивки на силохроме С-80 в альдегидной форме (табл.)

Остаточная активность иммобилизованных форм сычужного фермента

Дозировка носителя	Остаточная активность
Включение в 11АМ	0
Включение в 5% раствор казеина при pH 7	0
Включение в 1% раствор казеина при pH 7	0
Включение в 2% раствор казеина при pH 7	80
Включение в 1% раствор казеина при pH 7	1
Ковалентное связывание на силохроме С-80	83

Для осуществления непрерывного процесса свертывания молока иммобилизованный на силохроме сычужный фермент применялся в колончатых биореакторах. Испытания показали, что при этом возможно добиться высокой эффективности процесса с коэффициентом пропускания молока в соотношении к объему реактора в пределах 8—10 об/об/час⁻¹.

Забивка колонки может иметь место при более высоких температурах (от 10° и выше), что наступает при свертывании молока.

Пропущенное через колонку молоко нагревается до 35° на водяной бане с добавлением раствора 40%-ного хлористого кальция в количестве 4 г на 10 л молока. При этом обеспечивается более стойкое, плотное и полное образование сгустка. Исследования показали, что при непрерывной подаче молока колонка с иммобилизованным сычужным ферментом обеспечивает перевод казеина в параказеиновый комплекс (серный сгусток) фактически без потери активности в течение 15 суток.

После падения активности на 50%, меньшего места сгустка 4 недели, при дополнительном введении сычужного фермента в количестве 1 г на 100 л молока, сгусток также получался нормальным.

С использованием разработанной технологии получены опытные партии рассольных сыров, качество которых существенно не отличалось от контрольных (ГОСТ 7616-55 Оценка сыров). Созревали сыры на 10—15 дней раньше контрольных.

Резюмируя полученные результаты, можно отметить, что охлажденное молоко (6—10°) проходило непрерывно через биореактор определенной удельной скоростью (8—10 час⁻¹), заполненный иммобилизованным и иницируемым от солей сычужным ферментом, в количестве 2—4 мг на 1 г носителя без потери активности в течение 15 суток. После падения активности на 50% через 4 недели в молоко, прошедшее через биореактор, дополнительно вводили заводской сычужный фермент в количестве 1 г на 100 л молока.

ЛИТЕРАТУРА

1. Березин И. В. Имобилизованные ферменты. М., 1976
2. Диланян Э. Х. Сыроделие. М., 1982
3. Ишихов Г. С., Брюн Н. Г. Методы анализа молока и молочных продуктов. М., 1971.
4. Шиллер Г. Производство сыра: технологии и качество. М., 1989.
5. Авторское свидетельство СССР № 837770, 1982.
6. Shibata I., Taka T., Sato F. *Arch. Microbiol.*, 27, 5, 373—385, 1974.
7. Kierstan M., Bucke C. *Biotechnol. Bioeng.*, 19, 257—297, 1977

Поступило 15. 11. 1991 г.

Биолог. журн. Армении. № 2.(46) 1993

УДК 6/2.11/12—616.15.092

ВЛИЯНИЕ ВЫСОКОЧАСТОТНОЙ ЭЛЕКТРОСТИМУЛЯЦИИ AVL НА ПРОЦЕСС СВЕРТЫВАНИЯ КРОВИ

М. В. НАДИРЯН, С. В. АМИРЯН, И. Б. ОВСЕЯН

Ереванский государственный университет, кафедра
физиологии человека и животных

Амигдала—базолатеральная группа ядер—свертывание крови—гиперкоагуляция

Известно, что электрическая стимуляция центрального ядра амигдаларного комплекса вызывает гиперкоагуляционные изменения параметров свертывания крови, что, очевидно, свидетельствует об участии в изучаемом процессе важнейших норадренергических образований мозга [5].

Целью настоящего исследования явилось изучение влияния высокочастотного электрического раздражения AVL на процесс свертывания крови. Исследовались изменения биохимических и тромбоэластографических показателей свертывания крови.

Материал и методика. Опыты проводили на полновозрастных крликах массой 2,5—3,0 кг в условиях хирургического эксперимента. Наркозизацию проводили нембуталом (40 мг/кг) внутривенно.

Животное фиксировали в стерильно-сухом приборе. В AVL вводили биполярные константопные электроды (диаметр 100 мкм, межэлектродное расстояние 2 мм, сопротивление 10—20 кОм), по координатам атласа [8]. Опыты проводили через 10 дней после операции. Электрическую стимуляцию AVL осуществляли током частотой 100 Гц, напряжением 10—15 В (единовременно в течение 30 с, а также дробно в течение 1 мин. по 15 с, с перерывами в 10 с).

Для проведения биохимического анализа из левого желудочка сердца фиксированного животного брали 4 мл крови, которую смешивали с оксаладом натрия (9:1). Затем в центрифугированной плазме (3000 об/мин, в течение 4 мин) определяли биохимические показатели свертываемости крови: время рекальцификации [10], содержание протромбина [12], концентрацию фактора VIII [11], свободного гепарина [7], концентрацию фибриногена [6] и фибринолитическую активность.

Сокращения: AVL—базолатеральная группа ядер амигдаларного комплекса.