

БИОХИМИЯ

В. Н. Кюркчян и Б. А. Шахбазян

О составе свободных аминокислот в рассольных сырах

(Представлено М. А. Тер-Карпетяном 2. IX. 1957)

Биохимический процесс созревания рассольных сыров протекает в жидкой среде (рассол). В отличие от воздушной, рассольная среда входит во взаимодействие с сыром, вымывая из него ценные продукты распада белковых веществ и зольных элементов. Изменение азотистых соединений за период созревания и в рассольных сырах происходит в сторону нарастания азотистых соединений, переходящих в растворимую форму и меньше в направлении более глубокого их распада (до аминокислот и дезаминирования).

Количество воднорастворимого азота в зрелых сырах колеблется от 23 до 31% (от общего азота). Количество азотистых соединений в фильтрате от трихлоруксусной кислоты (небелковый азот) находится в пределах 11—15%. Азотистые соединения в фильтрате после осаждения вольфрамом натрия (остаточный азот) составляет от 6 до 13%, а аммиачный 1—1,2^(1,2). Одновременное изучение азотистых соединений в сыре и в рассоле показало, что в рассол переходит от 10 до 15% растворимых азотистых соединений сыра⁽¹⁾.

В брынзе содержание растворимого азота колеблется в пределах 14—18%, а небелкового 9—13%^(3,4).

До последнего времени исследования сыров ограничивались, в основном, определениями вышеуказанных форм азотистых соединений, тогда как биохимический процесс созревания их характеризуется и накоплением свободных аминокислот. Как уже установлено многими исследователями, состав свободных аминокислот играет большую роль в создании специфического вкуса и аромата сыров⁽⁵⁻⁷⁾.

В связи с разработкой метода хроматографии распределения на бумаге, стало возможным развертывание более полного изучения аминокислотного состава сыров. Этот состав рядом исследователей уже изучен у многих твердых и мягких сыров стеллажного типа⁽⁸⁻¹²⁾.

Объектом наших исследований служили зрелые рассольные сыры чанах и брынза. Последняя была местной выработки без выраженного

кисло-молочного вкуса. Выделение свободных аминокислот производилось методом Буланже и Бизерт по описанию А. И. Чеботарева (8), с внесением некоторых изменений для нашего объекта исследования.

Пробы сыра предварительно высушивались в термостате при 50°, затем обезжиривались в аппарате Сокслета. Навеска бралась 10 г, так как при меньших количествах сырного порошка экстракт получался недостаточно концентрированным для идентификации аминокислот. Экстракция аминокислот производилась четырехкратно подкисленным ацетоном с дальнейшей фильтрацией и выпариванием последнего. Сухой остаток заливался 20—15 мл эфира и после удаления его растворялся в 0,1 мл воды. Хроматографирование производилось двумя способами: одномерной нисходящей с применением в качестве растворителя смеси *n*-бутанол-уксусная кислота—вода в соотношении 4:1:5 и двухмерной восходящей с применением в качестве второго растворителя — 1) водонасыщенного фенола, 2) этанола-метанола-воды в соотношении 45:45:10 по объему + 0,5% (вес/объем) мочевины (13) и 3) этанола 80% (8).

При одномерном хроматографировании для лучшего разделения аминокислот растворитель пропускаться через бумагу два раза. Проявлялись хроматограммы 0,1% раствором нингидрина в водонасыщенном *n*-бутаноле. Идентификация аминокислот производилась путем применения свидетелей.

По сыру чанах на одномерных хроматограммах обнаруживалось шесть пятен (рис. 1). Пятна с большим R_f были темнее, что указывает на сравнительно большее содержание этих аминокислот в сыре. Первое пятно с наименьшим значением R_f соответствовало свидетелям серину и глицину, второе — аланину, третье — тирозину. Четвертое пятно по своему расположению соответствовало метионину и валину. Пятое было фиолетового цвета, шестое — красного. Пятое пятно по цвету и расположению соответствовало свидетелю фенил-аланину, а шестое по тем же признакам — группе лейцинов.

Уточнением на двухмерных хроматограммах полученное первое пятно в феноле свидетельствовало о наличии только глицина, а второе в том же растворителе соответствовало — аланину. В этанол-метанол-мочевине третье пятно оказалось действительно тирозином, а четвертое не разделялось и совпадало только со свидетелем метионином (рис. 2). В 80-процентном этаноле пятое и шестое пятна полностью отделялись друг от друга и идентифицированы нами как фенил-аланин и лейцин (рис. 3)*.

По брынзе на одномерных хроматограммах получалась почти аналогичная картина с сыром чанах (рис. 1). Первое пятно и здесь соответствовало серину и глицину, второе — аланину. Следующее пятно.

* Ввиду схожести хроматограмм приведен один снимок, изображающий картину брынзы.

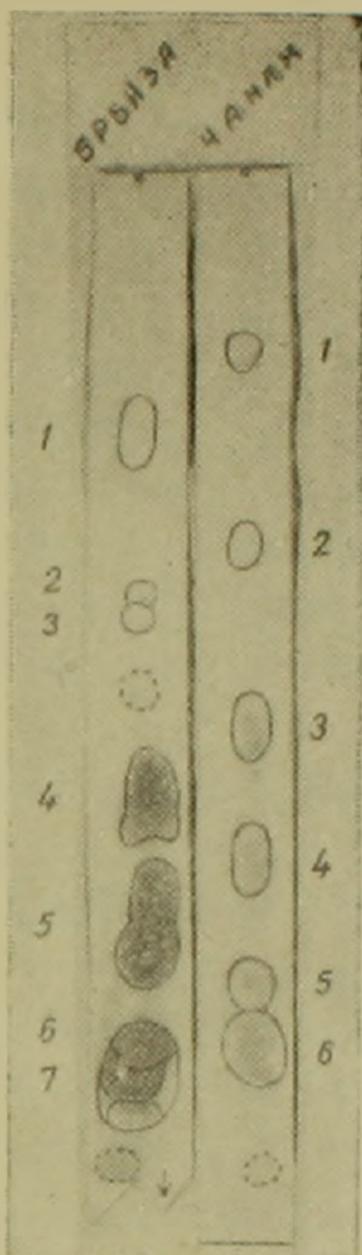
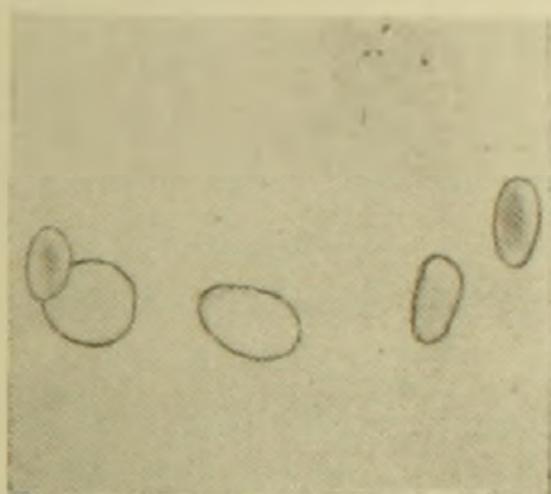
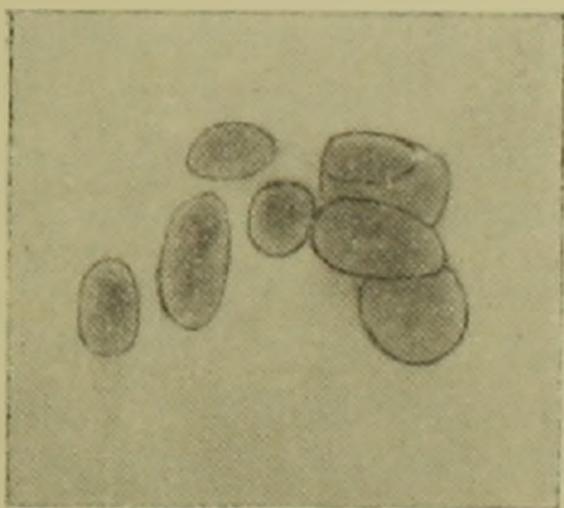


Рис. 1.



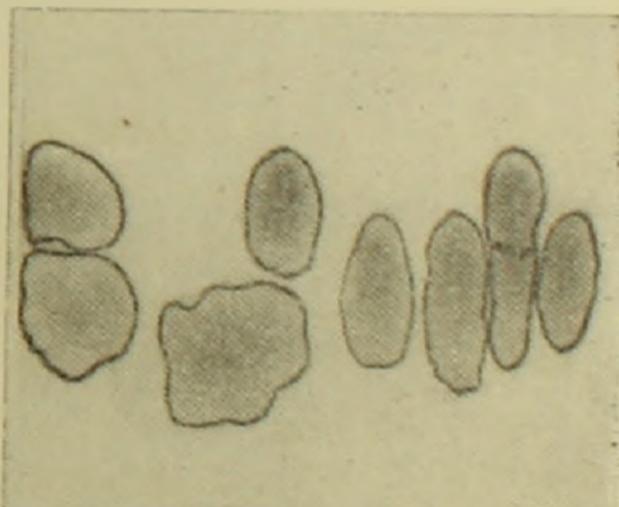
вал.
тироз.
этанол-метанол-мочвина
мет.

Рис. 2.



этанол 80% брынза
лейц.
корлейц.
ф.-агланин

Рис. 3.



мет.
вал-мет.
тироз.
тироз,
вал.
этанолметанол-мочев.

Рис. 4.

светло-оранжевого цвета, вплотную прилегающее к аланину, совпадало со свидетелем пролином. Остальные пятна оказались также темнее первых трех пятен, следовательно и в брынзе этих аминокислот содержится больше. Четвертое пятно соответствовало тирозину, а пятое — также двум аминокислотам: валину и метионину. Последние два пятна, шестое фиолетового и седьмое красного цвета соответствовали фенил-аланину и группе лейцинов.

На двухмерной хроматограмме в феноле, первое и второе пятна идентифицированы также, как в сыре чанах. Третье пятно не всегда удавалось идентифицировать. В этанол-метанол-мочевине подтвердилось, что четвертое пятно было тирозином, а пятое — разделялось на два пятна, которые совпадали со свидетелями метионином и валином (рис. 4). Шестое и седьмое пятна в 80-процентном этаноле, аналогично сыру чанах, полностью отделялись друг от друга, не вызывая сомнения, что одно пятно это фенил-аланин, а другое — группа лейцинов (рис. 3).

Вышеизложенные данные приводят нас к следующим выводам.

1) В исследованных сырах обнаружены: глицин, аланин, тирозин, метионин, фенил-аланин и лейцин. Кроме перечисленных свободных аминокислот в брынзе найдены валин и пролин. Наличие последнего требует дополнительного уточнения.

2) Свободных аминокислот в рассольных сырах по численности обнаружено меньше, чем то указано в литературе для стеллажного типа сыров.

3) Свободные аминокислоты, по-видимому, входят в состав остаточного азота. Низкое содержание последнего в рассольных сырах указывает на небольшое количество свободных аминокислот в этих сырах.

4) Получение истинной картины аминокислотного состава рассольных сыров, очевидно, требует параллельного исследования в процессе созревания и хранения не только сыра, но и рассола.

В освоении метода хроматографического исследования нам оказана помощь академиком М. А. Тер-Карапетяном, за что выражаем ему благодарность.

Армянский научно-исследовательский
институт животноводства и ветеринарии
МСХ Армянской ССР

Վ. Ն. ՔՅՈՒՐՔՅՅԱՆ ԵՎ Բ Ա. ՇԱՀԲԱԶՅԱՆ

Ազատ ամինոթթուների բաղադրությունն աղաջրային պանիրներում

Մինչև վերջին ժամանակներս աղաջրային պանիրների հասունացման բիոքիմիական պրոցեսի ուսումնասիրումը սահմանափակված էր ազոտային միացությունների առանձին խմբերի որոշմամբ:

Այժմ թղթի վրա բաժանման խրոմատոգրաֆիկ մեթոդը ինարավորություն է ստեղծում ծավալելու ավելի խոր ուսումնասիրություն պանիրների ամինոթթուների նկատմամբ:

Այս աշխատանքում բերվում են չանախ և բրինձա պանիրների ազատ ամինոթթու-
նների բաղադրության տվյալները, որոնք ստացվել են թղթի վրա խրոմատոգրաֆիկ մե-
թոդի կիրառմամբ:

Աշխատանքի արդյունքները, որոնք բերվում են № 1, 2, 3, 4, նկարներում թույլ
են տալիս հանդելու հետևյալ եզրակացություններին՝

1. Ուսումնասիրված պանիրներում հայտնաբերված են՝ գլիցին, ալանին, տիրոզին,
մետիոնին, ֆենիլ-ալանին և լեյցին: Բացի թվարկած ազատ ամինոթթուներից, բրին-
ձայի մեջ հայտնաբերված է նաև վալին և պրովին: Վերջինիս ներկայութունը պահան-
ջում է լրացուցիչ ուսումնասիրում:

2. Հետազոտված պանիրներում հայտնաբերված ամինոթթուները թվով ավելի քիչ
են, քան թե այդ նշված է զրականության մեջ թարեբային (ոչ աղաջրային) պանիրների
նկատմամբ:

3. Ազատ ամինոթթուները բոտ երևույթին մտնում են մնացորդային ազոտի բաղա-
դրության մեջ: Վերջինիս դաժը պարունակությունը աղաջրային պանիրներում ցույց է
տալիս ազատ ամինոթթուների ոչ բարձր քանակը այդ պանիրներում:

4. Աղաջրային պանիրների ազատ ամինոթթուների բաղադրության իրական պատ-
կերը կազմելու համար անհրաժեշտ է ուսումնասիրել հասունացման և պահպանման պրո-
ցեսում պանիրն զուլընթաց նաև աղաջուրը:

Л И Т Е Р А Т У Р А — Գ Ր Ա Կ Ա Ն Ո Ւ Թ Յ Ո Ւ Ն

- ¹ В. Н. Кюркчян, Б. А. Шахбазян, А. Т. Магакян, Труды Ин-та животноводства МСХ АрмССР, 3, 187 (1950). ² П. А. Кометиани, Т. Э. Цуладзе, А. Билисейшвили, Сборник трудов Гос. зоовет. ин-та НКЗ ГрузССР, т. III, 3 (1941). ³ В. Н. Кюркчян, Б. А. Шахбазян, А. Т. Магакян, Труды Ин-та животноводства МСХ АрмССР, т. V, 129 (1955). ⁴ В. Н. Кюркчян, Б. А. Шахбазян, Известия АН АрмССР, серия биол. и сельхоз. наук, т. VIII, 4, 55 (1955). ⁵ А. И. Виртанен, М. С. Креула, В. Т. Нурмикко, Материалы XII международного конгресса работников молочного дела, 93, М. (1951). ⁶ В. Ж. Харпер, А. М. Свансон, Матер. XII междунар. конгр. работ мол. дела, 95. ⁷ Т. Сторгардс, М. Хиетаранта, Матер. XII междунар. конгр. работ. мол. дела, 99. ⁸ А. И. Чеботарев, Труды Вологодского молочного ин-та, XIII, 215 (1955). ⁹ Ф. В. Косиковский, J. Dairy, Science, 3 (1951). ¹⁰ Долежалек, Průmysl potravin, Prag, 7, 175 (1956). ¹¹ Де-Паолис, Mondo latte, 9, 10, 660, (1955). ¹² Ягер, Milchwiss, 5, 2, 93 (1955). ¹³ Р. Блок, Р. Лестранж, Г. Цвейг, Хроматография на бумаге, М. (1954).